

Université du Québec
Institut National de la Recherche Scientifique
Centre Eau Terre Environnement

**SPÉCIATION DU PLATINE EN PRÉSENCE DE MATIÈRE ORGANIQUE
NATURELLE ET BIODISPONIBILITÉ POUR L'ALGUE VERTE
*CHLAMYDOMONAS REINHARDTII***

Par
Geneviève Rioux

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

Jury d'évaluation

Président du jury et
examineur interne

Raoul-Marie Couture
INRS-ETE

Examineur externe

Agnès Feurtet-Mazel
Université de Bordeaux

Directeur de recherche

Claude Fortin
INRS-ETE

Codirecteur de recherche

Peter G. C. Campbell
INRS-ETE

REMERCIEMENTS

Tout d'abord, j'aimerais remercier mon directeur de recherche Claude Fortin ainsi que mon co-directeur Peter Campbell pour m'avoir guidé durant ma maîtrise. Merci à vous deux pour votre disponibilité, votre confiance, vos judicieux conseils et votre appui tout au long de ce projet.

Je remercie toute l'équipe du soutien technique des laboratoires de l'INRS pour leur aide remarquable dans la réalisation de mon projet. Un merci particulier à Julie Perrault pour son support lors des analyses à l'ICP-MS.

J'aimerais également remercier toute l'équipe de recherche du professeur Fortin avec qui j'ai passé du temps au laboratoire, soit Rahma Rahal, Andrei Alexis Largo Sierra et Caroline Doose. Je remercie particulièrement Fengjie Liu pour avoir pris le temps de répondre à mes questions et Gbatchin Monsounmola Emeric Kochoni pour son aide lors des expositions avec les algues. Je tiens également à remercier Kim Racine pour son travail hors pair au sein de l'équipe et son aide au laboratoire. Je remercie Isabelle Lavoie pour sa précieuse aide avec les statistiques.

Je remercie les étudiants à la maîtrise en sciences de l'eau avec qui j'ai passé de bons moments. Ce fut un plaisir d'apprendre à vous connaître à l'INRS, mais aussi en dehors de l'INRS. Je remercie entre autres Romain Latapie, Alexandre Royer-Lavallée, Catherine Vaillancourt, Sandrine Bureau et Paul-Michel Farah. Mention spéciale à Marianne Blanchette, pura vida ! Sans oublier Vincent Laderriere, ce fut un plaisir de partager ces deux années avec toi, que ce soit au laboratoire ou dans une activité quelconque. Merci également pour tes conseils côté biologie.

Finalement, j'aimerais remercier mes parents et amis qui se sont intéressés à mon projet de maîtrise. Merci d'avoir pris le temps de m'écouter même si c'était complètement hors de votre domaine d'expertise. Merci pour votre soutien envers ce projet et vos encouragements.

RÉSUMÉ

Les concentrations d'éléments du groupe platine mesurées dans l'environnement ont augmenté durant les dernières décennies. Cette augmentation est principalement causée par l'utilisation de ces métaux pour leurs propriétés physico-chimiques particulières dans les convertisseurs catalytiques des automobiles. Les recherches effectuées sur le platine et le palladium jusqu'à présent ont indiqué que ces éléments ont une toxicité potentiellement élevée pour les organismes aquatiques. La matière organique naturelle (MON) lie fortement les éléments du groupe platine, et peut donc modifier la biodisponibilité du platine et du palladium en les complexant. Ainsi, afin d'évaluer le risque environnemental de ces métaux en milieu aquatique naturel, la présence de ligands tels que la MON doit être considérée. L'objectif de ce projet était d'étudier la spéciation du platine et du palladium en présence de MON (Suwannee River humic acid) et de vérifier l'influence de la MON sur l'absorption et la toxicité de ces métaux chez l'algue verte unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*. La première étape consistait donc à quantifier la complexation des métaux par la MON. Pour ce faire, deux méthodes ont été envisagées : la dialyse à l'équilibre et l'ultrafiltration partielle. La dialyse s'est avérée difficilement reproductible; c'est pourquoi l'ultrafiltration partielle est la technique qui a été privilégiée dans ce projet. La spéciation du palladium n'a pas pu être déterminée expérimentalement dû à une adsorption importante sur la verrerie utilisée (polycarbonate). La deuxième étape de ce projet consistait à exposer *Chlamydomonas reinhardtii* aux milieux caractérisés par ultrafiltration partielle et quantifier la bioaccumulation ainsi que les effets chez l'algue. Deux expositions d'une durée de 96 h en présence de 0 à 150 µg/L de platine non lié à la MON (platine ultrafiltré) ont été réalisées, l'une sans MON et l'autre en présence de 10 mg C/L de MON. Pour une gamme de concentrations de platine non lié à la matière organique similaire, il s'est avéré que le platine était plus toxique en présence de MON. En effet, le retard dans la croissance était plus important pour toutes les concentrations d'expositions et le rendement final était plus faible à des concentrations supérieures à 30 µg/L. L'internalisation de platine par *Chlamydomonas reinhardtii* était plus élevée lors de l'exposition en présence de MON et la valeur de CE₅₀ calculée à 48 h est environ cinq fois plus faible que celle obtenue en absence de MON.

Mots-clés : spéciation, platine, acide humique, ultrafiltration partielle, WHAM, algues vertes, *Chlamydomonas reinhardtii*, internalisation, toxicité

ABSTRACT

Concentrations of platinum-group elements measured in the environment have increased during the past decades. This increase is mainly due to the use of these elements for their unique properties in automotive catalytic converters. Previous research has reported that platinum and palladium can be toxic for aquatic organisms at very low concentrations. To evaluate the environmental risk of these elements in natural waters, ligands such as natural organic matter (NOM) need to be considered, because NOM can bind platinum-group elements and modify their bioavailability. The purpose of this project was to study the speciation of platinum and palladium in the presence of NOM (Suwannee River humic acid) and to verify the influence of NOM on the absorption and toxicity of these metals, using a unicellular green alga (*Chlamydomonas reinhardtii*) as the test organism. The first step was to quantify the complexation of Pt and Pd by NOM. To this end, two methods were considered: equilibrium dialysis and partial ultrafiltration. Because results obtained by equilibrium dialysis were not reproducible, partial ultrafiltration was the technique selected for this project. Because palladium speciation could not be determined experimentally, due to significant adsorption on the polycarbonate glassware used, only platinum was used in the algal experiments. The second step of this project was to expose algae in media which had been characterized by partial ultrafiltration and to quantify platinum bioaccumulation and effects. Two exposures of 96 h in the presence of 0 to 150 µg/L of platinum not bound to NOM were carried out, one without NOM and the other one with 10 mg C/L of NOM. For a similar range of not bound to NOM concentrations, it was found that platinum was more toxic in the presence of NOM. For all exposure concentrations, the delay in growth was more substantial in the presence of NOM and the final yield was lower for platinum concentrations higher than 30 µg/L. For similar concentrations of ultrafilterable platinum, internalization by *Chlamydomonas reinhardtii* was higher during the exposure with NOM than in the exposure without NOM, and the EC₅₀ calculated at 48 h was approximately five times lower than the EC₅₀ calculated for the exposure in the absence of NOM.

Keywords: speciation, platinum, partial ultrafiltration, WHAM, green alga, *Chlamydomonas reinhardtii*, internalization, toxicity

TABLE DES MATIÈRES

| | |
|---|------|
| REMERCIEMENTS..... | III |
| RÉSUMÉ | V |
| ABSTRACT | VII |
| TABLE DES MATIÈRES | IX |
| LISTE DES TABLEAUX | XIII |
| LISTE DES FIGURES | XV |
| CHAPITRE 1 : INTRODUCTION | 19 |
| 1.1 Éléments du groupe platine (ÉGP) | 19 |
| 1.1.1 Caractéristiques..... | 19 |
| 1.1.2 Exploitation | 20 |
| 1.1.3 Utilisations | 21 |
| 1.2 Contamination de l'environnement par les ÉGP | 25 |
| 1.2.1 Cycle naturel..... | 25 |
| 1.2.2 Sources anthropiques d'ÉGP dans l'environnement..... | 26 |
| 1.2.3 Destin dans l'environnement | 28 |
| 1.2.4 Concentrations mesurées dans l'environnement | 31 |
| 1.2.5 Spéciation des ÉGP en milieu aquatique | 36 |
| 1.3 Toxicité mesurée en laboratoire pour les organismes aquatiques | 38 |
| 1.3.1 Organismes invertébrés et poissons | 39 |
| 1.3.2 Microorganismes | 40 |
| 1.3.3 Toxicité en présence de matière organique naturelle (MON) | 41 |
| 1.4 Objectifs du projet | 43 |
| CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES | 45 |
| 2.1 Modèle de spéciation chimique | 45 |
| 2.1.1 Recherche des constantes thermodynamiques | 46 |
| 2.1.2 Tableaux des constantes thermodynamiques..... | 47 |
| 2.2 Dialyse à l'équilibre | 48 |
| 2.2.1 Conditionnement des membranes | 49 |
| 2.2.2 Milieu de dialyse | 49 |
| 2.2.3 Conditions expérimentales | 49 |
| 2.3 Ultrafiltration partielle | 50 |
| 2.3.1 Conditionnement des membranes | 51 |

| | | |
|---|--|----|
| 2.3.2 | Milieu d'ultrafiltration..... | 52 |
| 2.3.3 | Conditions expérimentales..... | 52 |
| 2.4 | Organisme à l'étude..... | 53 |
| 2.4.1 | Chlamydomonas reinhardtii..... | 54 |
| 2.4.2 | Entretien et culture des algues..... | 54 |
| 2.5 | Milieus de culture et d'exposition..... | 55 |
| 2.5.1 | Matériel de laboratoire..... | 55 |
| 2.5.2 | Solutions mères de platine et de palladium..... | 56 |
| 2.5.3 | Matière organique naturelle..... | 56 |
| 2.5.4 | Produits, réactifs et solutions intermédiaires..... | 56 |
| 2.5.5 | Milieu de culture..... | 57 |
| 2.5.6 | Milieu d'exposition au Pt..... | 59 |
| 2.5.7 | Milieus de rinçage..... | 60 |
| 2.6 | Essais de toxicité..... | 61 |
| 2.6.1 | Pré-inoculation..... | 61 |
| 2.6.2 | Exposition des algues..... | 62 |
| 2.6.3 | Décompte cellulaire..... | 63 |
| 2.6.4 | Récupération des algues..... | 64 |
| 2.6.5 | Digestion des algues..... | 64 |
| 2.7 | Analyses des éléments du groupe platine..... | 65 |
| 2.7.1 | ICP-MS..... | 65 |
| 2.7.2 | Paramètres de l'ICP-MS..... | 66 |
| 2.8 | Analyse de la matière organique naturelle..... | 67 |
| 2.8.1 | Fluorescence..... | 67 |
| 2.8.2 | Paramètres du spectrofluorimètre..... | 68 |
| 2.9 | Traitement des données..... | 70 |
| 2.9.1 | Détermination des CE ₅₀ | 70 |
| 2.9.2 | Analyses statistiques..... | 70 |
| CHAPITRE 3 : SPÉCIATION DU PLATINE ET DU PALLADIUM..... | | 71 |
| 3.1 | Spéciation chimique à l'aide du logiciel thermodynamique WHAM..... | 71 |
| 3.1.1 | Le cas du platine..... | 71 |
| 3.1.2 | Le cas du palladium..... | 76 |
| 3.2 | Dialyse à l'équilibre..... | 81 |
| 3.2.1 | Comportement des ÉGP dans le milieu électrolytique simplifié..... | 81 |
| 3.2.2 | Expériences membranes à dialyse de 100 Da..... | 83 |
| 3.2.3 | Expériences membranes à dialyse de 500 Da..... | 84 |
| 3.3 | Ultrafiltration partielle..... | 86 |

| | | |
|--|--|-----|
| 3.3.1 | Spéciation du milieu électrolytique simplifié | 87 |
| 3.3.2 | Effet du pH sur la spéciation du platine..... | 88 |
| 3.3.3 | Spéciation du milieu MHSM-1 | 89 |
| 3.3.4 | Comparaison de la spéciation des milieux MHSM-1 et électrolytique simplifié | 90 |
| 3.4 | Comparaison des résultats obtenus par WHAM et par ultrafiltration | 92 |
| 3.4.1 | Comparaison du milieu électrolytique simplifié à pH = 6 | 92 |
| 3.4.2 | Comparaison du milieu MHSM-1 à pH = 6..... | 94 |
| 3.4.3 | Ajustement de la constante de formation du complexe Pt – HA..... | 95 |
| CHAPITRE 4 : EXPOSITION DE CHLAMYDOMONAS REINHARDTII AU PLATINE..... | | 97 |
| 4.1 | Toxicité du platine en absence d'acide humique | 97 |
| 4.1.1 | Spéciation du Pt dans le milieu d'exposition | 97 |
| 4.1.2 | Comportement du platine dans le milieu de culture | 97 |
| 4.1.3 | Toxicité de Pt chez <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | 98 |
| 4.2 | Toxicité du platine en présence d'acide humique | 109 |
| 4.2.1 | Spéciation du milieu | 109 |
| 4.2.2 | Comportement du platine dans le milieu de culture MHSM-1 en présence d'acide humique | 114 |
| 4.2.3 | Effet de l'acide humique sur la croissance de <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | 115 |
| 4.2.4 | Influence de l'acide humique sur la toxicité de Pt chez <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | 116 |
| 4.2.5 | Influence de l'acide humique sur la croissance..... | 128 |
| 4.2.6 | Influence de l'acide humique sur l'internalisation..... | 131 |
| 4.2.7 | Influence de l'acide humique sur les valeurs de concentrations efficaces moyennes | 134 |
| CHAPITRE 5 : CONCLUSION | | 137 |
| CHAPITRE 6 : RÉFÉRENCES | | 141 |
| ANNEXE I | | 151 |
| ANNEXE II | | 153 |
| ANNEXE III..... | | 155 |
| ANNEXE IV | | 157 |
| ANNEXE V | | 159 |
| ANNEXE VI..... | | 169 |
| ANNEXE VII | | 171 |
| ANNEXE VIII | | 173 |
| ANNEXE IX..... | | 177 |
| ANNEXE X | | 181 |

LISTE DES TABLEAUX

| | | |
|---------------|--|-----|
| Tableau 1.1 : | Réserves mondiales d'ÉGP par pays ainsi que leur production minière en 2015. Source : U.S. Geological Survey. | 21 |
| Tableau 1.2 : | Concentrations maximales d'ÉGP mesurées dans la colonne d'eau de milieux aquatiques naturels (ng/L). | 33 |
| Tableau 1.3 : | Concentrations maximales d'ÉGP mesurées dans les sédiments de milieux aquatiques naturels (ng de métal par g de sédiments). | 34 |
| Tableau 1.4 : | Concentrations maximales d'ÉGP mesurées dans des organismes aquatiques d'eau douce provenant de milieux naturels (ng de métal par g de poids sec). | 36 |
| Tableau 2.1 : | Constantes de formation de complexes avec Pd(II), I = 0 M (sauf indication contraire). . | 47 |
| Tableau 2.2 : | Constantes de formation de complexes avec Pt(II), I = 0 M sauf indication contraire. | 48 |
| Tableau 2.3 : | Concentrations des espèces dans le milieu électrolytique simplifié utilisé pour la dialyse à l'équilibre. | 49 |
| Tableau 2.4 : | Milieu de culture MHSM-1 pour <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> | 58 |
| Tableau 2.5 : | Concentrations des espèces dans le milieu MHSM-1 et les milieux de rinçage. | 59 |
| Tableau 3.1 : | Perte par adsorption du Pd sur les parois des flacons en polycarbonate en présence et en absence de SRHA, [Pd] _{nominale} = 20 µg/L, [SRHA] _{nominales} = 0 – 3 mg C/L, pH = 5. | 83 |
| Tableau 3.2 : | Perte par adsorption du Pt sur les parois des flacons en polycarbonate en présence et en absence de SRHA, [Pt] _{nominale} = 39 µg/L, [SRHA] _{nominales} = 0 – 3 mg C/L, pH = 5. | 83 |
| Tableau 4.1 : | Résultats obtenus expérimentalement par ultrafiltration partielle au départ et à la fin de l'exposition en présence de SRHA, n = 3, [Pt] _{déterminées par UF} = 10 – 150 µg/L, [SRHA] _{nominale} = 10 mg C/L, pH = 6. | 112 |
| Tableau 4.2 : | Concentrations efficaces moyennes calculées pour l'exposition en présence de SRHA, n = 3, [Pt] _{déterminées par UF} = 0 – 150 µg/L, [SRHA] _{nominale} = 10 mg C/L, pH = 6. | 128 |

LISTE DES FIGURES

| | | |
|--------------|--|----|
| Figure 1.1 : | Utilisations des ÉGP à l'échelle mondiale en 2013. Source : Johnson Matthey. | 22 |
| Figure 1.2 : | Valeur marchande (\$ US par once troy ^(a)) du platine (bleu) comparativement à la valeur marchande de l'or (orange) de juillet 1985 à mars 2017. Source : macro trends.net. | 25 |
| Figure 1.3 : | Diagrammes de Pourbaix (Eh – pH) pour le platine (a), le palladium (b) et le rhodium (c) en milieu aqueux, [M] = 1 nM. Les lignes grises représentent la zone de stabilité thermodynamique de l'eau. Source : Colombo <i>et al.</i> (2008). | 30 |
| Figure 2.1 : | Schéma d'un ICP-MS. Adapté de Jens Molecular and Nanoscale Analysis Laboratory, Université Washington à St-Louis. | 65 |
| Figure 2.2 : | Schéma du fonctionnement d'un spectrofluorimètre. | 68 |
| Figure 2.3 : | Spectre de fluorescence de l'acide humique du fleuve Suwannee, [SRHA] = 3 mg C/L, I = 20 mÉq/L, pH = 6,0, λ_{ex} = 350 nm et $\lambda_{em\ max}$ = 463 nm. | 69 |
| Figure 3.1 : | Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu électrolytique simplifié, [Pt] _{tot} = 10 – 59 µg/L, [HA] _{tot} = 1 – 10 mg C/L, pH = 5. | 74 |
| Figure 3.2 : | Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu électrolytique simplifié, [Pt] _{tot} = 10 – 59 µg/L, [HA] _{tot} = 1 – 10 mg C/L, pH = 6. | 74 |
| Figure 3.3 : | Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu MHSM-1, [Pt] _{tot} = 10 – 59 µg/L, [HA] _{tot} = 1 – 10 mg C/L, pH = 6. | 76 |
| Figure 3.4 : | Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu électrolytique simplifié, [Pd] _{tot} = 5 – 32 µg/L, [HA] _{tot} = 1 – 10 mg C/L, pH = 6. | 78 |
| Figure 3.5 : | Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu MHSM-1, [Pd] _{tot} = 5 – 32 µg/L, [HA] _{tot} = 1 – 10 mg C/L, pH = 6. | 79 |
| Figure 3.6 : | Équilibre du Pt à travers la membrane à dialyse pour 11 répétitions sans ajout d'EDTA et pour 4 répétitions avec un excès d'EDTA (facteur 100), milieu électrolytique simplifié, I = 20 mÉq/L, [Pt] _{nominale} = 39 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L, pH = 5, MWCO = 500 Da. | 85 |
| Figure 3.7 : | Spéciation obtenue expérimentalement par ultrafiltration partielle, n = 3, milieu électrolytique simplifié, I = 20 mÉq/L, [Pt] _{nominale} = 39 µg/L, [SRHA] _{nominales} = 1 – 10 mg C/L, pH = 5 – 6. | 88 |
| Figure 3.8 : | Spéciation obtenue expérimentalement par ultrafiltration partielle, n = 3, milieu MHSM-1, I = 10 mÉq/L, [Pt] _{nominale} = 39 µg/L, [SRHA] _{nominales} = 1 – 10 mg C/L, pH = 6. | 90 |

| | | |
|---------------|---|-----|
| Figure 3.9 : | Spéciation obtenue expérimentalement par ultrafiltration partielle, n = 3, milieu MHSM-1 (I = 10 mÉq/L) et milieu électrolytique simplifié (I = 20 mÉq/L), [Pt] _{nominales} = 39 µg/L, [SRHA] _{nominales} = 1 – 10 mg C/L, pH = 6. | 91 |
| Figure 3.10 : | Spéciation obtenue par ultrafiltration partielle (n = 3) et par simulation WHAM, milieu électrolytique simplifié, I = 20 mÉq/L, [Pt] _{nominales} = 39 µg/L, [HA] _{nominales} = 1 – 10 mg C/L, pH = 6. | 93 |
| Figure 3.11 : | Spéciation obtenue par ultrafiltration partielle (n = 3) et par simulation WHAM, milieu MHSM-1, I = 10 mÉq/L, [Pt] _{nominales} = 39 µg/L, [HA] _{nominales} = 1 – 10 mg C/L, pH = 6. | 94 |
| Figure 4.1 : | Concentrations totales de Pt mesurées en solution durant l'exposition en absence de SRHA, n = 3, [Pt] _{nominales} = 0 – 100 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L, pH = 6. Le témoin algues contenait seulement des algues dans le milieu d'exposition; aucun Pt n'a été ajouté. Le témoin 20 µg/L contenait seulement 20 µg/L de Pt dans le milieu d'exposition; aucune algue n'a été ajoutée. | 98 |
| Figure 4.2 : | Courbes de croissance de <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> pour l'exposition au Pt en absence de SRHA, n = 3, [Pt] _{nominales} = 0 – 100 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L, pH = 6. ^{a,b} Concentrations de Pt ayant des valeurs de densité cellulaire statistiquement différentes, à un temps donné. Les couleurs des ^{a,b} sont associées aux couleurs de la légende. | 100 |
| Figure 4.3 : | Courbes de croissance de <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> pour les deux expositions au Pt en absence de SRHA, n = 3, [Pt] _{nominales} = 0 – 150 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L, pH = 6. ¹ résultats obtenus lors de la deuxième exposition. | 102 |
| Figure 4.4 : | Internalisation du Pt par <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> pour l'exposition en absence de SRHA, exprimée en fonction de la concentration de Pt mesurée dans le milieu d'exposition (n = 3, [Pt] _{nominales} = 0 – 100 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L, pH = 6), (a) internalisation normalisée en moles de platine par cellule et (b) internalisation normalisée en moles de platine par µm ³ . Les lignes jaunes sur la figure (a) ne sont pas des régressions linéaires, elles ont simplement été ajoutées afin de montrer visuellement le bris de pente observé entre les concentrations plus faibles et plus élevées. | 104 |
| Figure 4.5 : | Internalisation du Pt par <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> pour les deux expositions en absence de SRHA, exprimée en fonction de la concentration de Pt mesurée dans le milieu d'exposition (n = 3, [Pt] _{nominales} = 0 – 150 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L, pH = 6), (a) internalisation normalisée en moles de platine par cellule et (b) internalisation normalisée en moles de platine par µm ³ . Les lignes jaunes sur la figure (a) ne sont pas des régressions linéaires, elles ont simplement été ajoutées afin de montrer visuellement le bris de pente observé entre les concentrations plus faibles et plus élevées. | 106 |

| | | |
|---------------|--|-----|
| Figure 4.6 : | Densité cellulaire relative à t = 48 h pour l'exposition en absence de SRHA en fonction de la concentration en Pt totale mesurée en solution à t = 48 h, n = 3, [Pt] _{nominales} = 0 – 150 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L, pH = 6. La courbe noire est la fonction intégrée de régression non linéaire (équation 2.9) utilisée pour déterminer la concentration efficace moyenne. | 108 |
| Figure 4.7 : | Spéciation prédite selon le logiciel WHAM7 pour le milieu d'exposition en présence de SRHA, [Pt] _{totales mesurées} = 14,6 – 180 µg/L, [SRHA] _{mesurées} = 8,8 – 8,9 mg C/L, pH = 6. ... | 110 |
| Figure 4.8 : | Spéciation obtenue expérimentalement par ultrafiltration partielle au départ et à la fin de l'exposition des algues en présence de SRHA, n = 3, [Pt] _{déterminées par UF} = 10 – 150 µg/L, [SRHA] _{nominale} = 10 mg C/L, pH = 6. | 113 |
| Figure 4.9 : | Comparaison des fractions complexées obtenues à l'aide du logiciel WHAM et par ultrafiltration partielle (n = 3) au départ de l'exposition en présence de SRHA, [Pt] _{totales mesurées} = 14,6 – 180 µg/L, [SRHA] _{mesurées} = 8,8 – 8,9 mg C/L, pH = 6. | 114 |
| Figure 4.10 : | Concentrations totales de Pt mesurées en solution durant l'exposition en présence de SRHA, n = 3, [Pt] _{déterminées par UF} = 0 – 150 µg/L, [SRHA] _{nominales} = 0 – 10 mg C/L, pH = 6. | 115 |
| Figure 4.11 : | Courbes de croissance de <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> avec et sans SRHA, n = 3, [Pt] = 0 µg/L, [SRHA] _{nominales} = 0 – 10 mg C/L, pH = 6. | 116 |
| Figure 4.12 : | Courbes de croissance de <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> pour l'exposition en présence de SRHA, n = 3, [Pt] _{déterminées par UF} = 0 – 150 µg/L, [SRHA] _{nominale} = 10 mg C/L, pH = 6. ^{a,b,c,d,e} Concentrations de Pt ayant des valeurs de densité cellulaire statistiquement différentes, à un temps donné. Les couleurs des ^{a,b,c,d,e} sont associées aux couleurs de la légende. . | 120 |
| Figure 4.13 : | Diamètre moyen des cellules algales mesuré durant l'exposition en présence de SRHA, n = 3, [Pt] _{déterminées par UF} = 0 – 150 µg/L, [SRHA] _{nominales} = 0 – 10 mg C/L, pH = 6. | 123 |
| Figure 4.14 : | Internalisation du Pt par <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> pour l'exposition en présence de SRHA, n = 3, [Pt] _{mesurées après ultrafiltration à t = 0 h} = 8,0 – 151 µg/L, [SRHA] _{nominale} = 10 mg C/L, pH = 6, (a) internalisation normalisée en moles de platine par cellule et (b) internalisation normalisée en moles de platine par µm ³ | 126 |
| Figure 4.15 : | Densité cellulaire relative à t = 48 h pour l'exposition en présence de SRHA en fonction de la concentration en Pt mesurée après ultrafiltration à t = 0 h, n = 3, [Pt] _{mesurées après UF à t = 0 h} = 8,0 – 151 µg/L, [SRHA] _{nominale} = 10 mg C/L, pH = 6. La courbe noire est la fonction intégrée de régression non linéaire (équation 2.9) utilisée pour déterminer la concentration efficace moyenne. | 127 |

- Figure 4.16 : Comparaison des courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* pour toutes les expositions au Pt, en absence et en présence de SRHA, n = 3, [Pt]_{non liées à SRHA} = 0 – 150 µg/L, [SRHA]_{nominales} = 0 – 10 mg C/L, pH = 6. ¹ résultats obtenus en absence de SRHA lors de la deuxième exposition. * Concentrations de Pt ayant des valeurs de densité cellulaire statistiquement différentes en présence et en absence d'acide humique, à un temps donné. Les couleurs des * sont associées aux couleurs de la légende. 129
- Figure 4.17 : Comparaison de l'internalisation du Pt par *Chlamydomonas reinhardtii* pour les deux expositions au Pt, en absence et en présence de SRHA, n = 3, [Pt]_{mesurées après UF à t = 0 h} = 8,0 – 151 µg/L, [SRHA]_{nominales} = 0 – 10 mg C/L, pH = 6..... 132
- Figure 4.18 : Densité cellulaire relative à t = 48 h en fonction de la concentration en Pt, n = 3, pH = 6 (a) pour l'exposition en absence de SRHA : [Pt]_{totales mesurées} = 4,0 – 134 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L et (b) pour l'exposition en présence de SRHA : [Pt]_{mesurées après UF à t = 0 h} = 8,2 – 145 µg/L, [SRHA] = 10 mg C/L. Les courbes noires représentent la fonction intégrée de régression non linéaire (équation 2.9) utilisée pour déterminer la concentration efficace moyenne. 135

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION

1.1 Éléments du groupe platine (ÉGP)

Dans le tableau périodique, les éléments du groupe platine regroupent les éléments suivants : ruthénium (Ru), osmium (Os), rhodium (Rh), iridium (Ir), palladium (Pd) et platine (Pt). Ces éléments font partie des métaux de transition. Les ÉGP sont rares dans la croûte terrestre, où on les retrouve à des concentrations variant entre 0,05 et 0,4 ng/g (Wedepohl, 1995).

1.1.1 Caractéristiques

Les éléments du groupe platine sont des métaux de transition ayant entre dix et douze électrons dans leur orbitale d. Ce sont des ions mous, qui sont donc plus larges et possèdent un nuage électronique plus déformable que les ions durs. De plus, ils ont tendance à former des complexes stables avec les ligands mous tels que le chlorure, le cyanure, les amines et les sulfures (Dahlheimer *et al.*, 2007; Mountain & Wood, 1988; Mulholland & Turner, 2011).

Les ÉGP sont considérés comme des éléments sidérophiles, c'est-à-dire qu'ils ont tendance à se lier au fer et qu'ils préfèrent former des liaisons métalliques plutôt que des liaisons ioniques. Ils sont également chalcophiles, c'est-à-dire qu'ils ont une forte affinité pour le soufre. Ainsi, ils préfèrent former des liaisons covalentes avec le soufre plutôt que des liaisons ioniques avec l'oxygène (Brenan, 2008). Par conséquent, leur répartition et leur comportement sur la Terre sont déterminés par la présence ou l'absence de composés métalliques et sulfurés (Macdonald, 1987).

En milieu aquatique, les degrés d'oxydation les plus fréquents pour le platine sont (+II) et (+IV), Pt(II) étant l'espèce prédominante en eau douce. On le retrouve plus rarement sous la forme (0). En général, le palladium se retrouve sous la forme (+II) en milieu aquatique. On le retrouve plus rarement sous les degrés d'oxydation (0, +I et +IV). Le degré d'oxydation le plus commun pour le rhodium en milieu aquatique est (+III), mais on peut parfois le retrouver sous les formes (+I et +II) (Mountain & Wood, 1988).

Les éléments du groupe platine sont utilisés dans diverses applications, principalement pour leurs importantes capacités catalytiques, mais ils sont aussi résistants à la corrosion à de hautes

températures, et ils ont un point de fusion élevé, une grande résistance mécanique ainsi qu'une bonne ductilité (Pawlak *et al.*, 2014).

Ces éléments sont utilisés dans les catalyseurs automobiles pour deux propriétés particulières. Tout d'abord, ils sont stables dans l'air, soit en présence d'oxygène, même à des températures relativement élevées et deuxièmement, ils ont la propriété de chimisorber de simples molécules gazeuses telles que le dioxygène et le monoxyde de carbone (Brenan, 2008).

1.1.2 Exploitation

Selon les données présentées au Tableau 1.1, l'Afrique du Sud a de loin la plus importante réserve mondiale en éléments du groupe platine. En effet, elle possédait plus de 95 % de la réserve mondiale d'ÉGP en 2015. L'Afrique du Sud est aussi le plus grand producteur d'ÉGP, sa production minière représentait 51 % de la production mondiale totale en 2015. La Russie et le Canada sont les deuxième et troisième plus grands producteurs avec respectivement 27 et 9 % de la production mondiale. En 2015, la production minière de platine et de palladium estimée à l'échelle mondiale était de 386 000 kg. Durant cette même année et toujours à l'échelle mondiale, environ 125 000 kg de platine, de palladium et de rhodium ont été recyclés. De ce total, approximativement 55 000 kg ont été récupérés dans les convertisseurs catalytiques des automobiles aux États-Unis (U.S. Geological Survey, 2016).

Tableau 1.1 : Réserves mondiales d'ÉGP par pays ainsi que leur production minière en 2015.
Source : U.S. Geological Survey.

| Pays | Réserve ÉGP ^(a) (2015) (kg) | Pourcentage du total mondial (%) | Production minière de platine estimée (2015) (kg) | Production minière de palladium estimée (2015) (kg) |
|----------------------------------|--|--|---|---|
| États-Unis | 900 000 | 1,4 | 3 700 | 12 500 |
| Canada | 310 000 | 0,5 | 9 000 | 24 000 |
| Russie | 1 100 000 | 1,7 | 23 000 | 80 000 |
| Afrique du Sud | 63 000 000 | 95,5 | 125 000 | 73 000 |
| Autres pays | 800 000 | 1,2 | 17 300 | 18 000 |
| Totaux mondiaux (arrondis) | 66 000 000 | | 178 000 | 208 000 |

(a) Défini par le U.S. Geological Survey (2016) comme étant la fraction de la réserve totale qui peut être économiquement extraite ou produite au moment désiré.

L'augmentation de la valeur marchande et de l'utilisation des éléments du groupe platine au cours des dernières décennies a entraîné une hausse des activités d'exploration et des projets d'exploitation minière dans plusieurs pays. Cependant, la plupart du temps, on retrouve de petites quantités de ces métaux dans les gisements et ces derniers sont difficiles à identifier. Pour cette raison, le recyclage des ÉGP est aussi à la hausse depuis quelques années (Koek *et al.*, 2010; Reith *et al.*, 2014).

1.1.3 Utilisations

La Figure 1.1 ci-dessous illustre les principales utilisations des éléments du groupe platine en 2013 (Matthey, 2013).

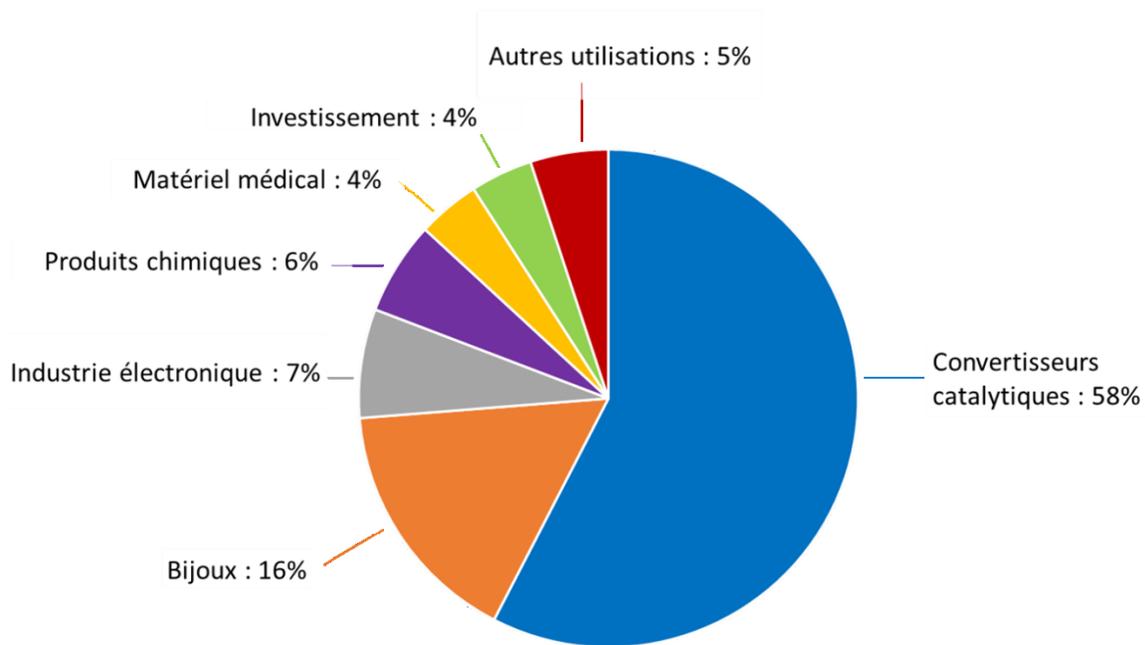


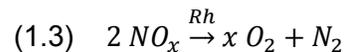
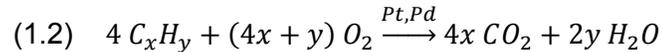
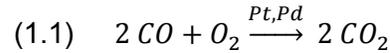
Figure 1.1 : Utilisations des ÉGP à l'échelle mondiale en 2013. Source : Johnson Matthey.

1.1.3.1 Convertisseurs catalytiques

Dans les années 1970, les convertisseurs catalytiques sont devenus obligatoires au Canada, aux États-Unis et au Japon afin de réduire les émissions polluantes des automobiles et ainsi lutter contre le smog atmosphérique. Ils sont devenus obligatoires en Europe, en Australie et en Asie dans les années 1980 tandis que leur utilisation est devenue obligatoire au Mexique, au Brésil et en Inde dans les années 1990 (Fortin *et al.*, 2011).

À l'échelle mondiale, en 2005, on estimait à 500 millions le nombre d'automobiles équipées d'un convertisseur catalytique contenant des éléments du groupe platine (Rauch *et al.*, 2005). Les émissions de platine, de palladium et de rhodium mesurées dans les gaz d'échappement des automobiles sont de l'ordre du ng/km. C'est dans les premiers 0 – 30 000 km que les émissions d'ÉGP sont les plus élevées pour les voitures à essence et à diesel. À long terme, les catalyseurs provenant de voitures diesel relâchent 10 à 100 fois plus de platine que leurs homologues à essence (Moldovan *et al.*, 2002). Les émissions d'ÉGP par les convertisseurs catalytiques des automobiles sont la principale source de platine, palladium et rhodium dans l'environnement. En 2001, l'émission annuelle de platine dans l'environnement due à leur utilisation était estimée entre 500 et 1400 kg (Balcerzak, 2011; Barbante *et al.*, 2001).

Les convertisseurs catalytiques à trois voies sont utilisés dans les voitures à essence. Ceux-ci permettent de catalyser simultanément l'oxydation et la réduction des sous-produits provenant de la combustion incomplète de l'essence (Moldovan *et al.*, 2002). Les convertisseurs catalytiques permettent donc les réactions d'oxydoréductions suivantes :



Le platine et le palladium catalysent les réactions (1.1) et (1.2), soit (1.1) l'oxydation du monoxyde de carbone (CO) en dioxyde de carbone (CO₂) et (1.2) l'oxydation des hydrocarbures (CH) non brûlés en dioxyde de carbone et en eau tandis que le rhodium catalyse la réaction (1.3), soit la réduction des oxydes d'azote (NO_x) en diazote (N₂). Environ 90 % du CO, des CH et des NO_x émis lors de la combustion sont convertis de cette façon (Fortin *et al.*, 2011; Moldovan *et al.*, 2002).

1.1.3.2 Bijoux

La deuxième utilisation des ÉGP est dans les bijoux. C'est surtout le platine qui est utilisé dans les bijoux et ces derniers proviennent principalement de la Chine (Matthey, 2013). En moyenne, les bijoux en platine provenant de la Chine et du Japon contiennent entre 10 et 15 % de palladium. Du palladium peut aussi être présent dans les montures de lunettes en métal (Kielhorn *et al.*, 2002).

1.1.3.3 Industrie électronique

Dans le secteur de l'industrie électronique, le platine est principalement utilisé dans les disques durs des ordinateurs pour augmenter leur capacité de stockage et dans les écrans à cristaux liquides (LCD), tandis que le palladium est principalement utilisé dans les condensateurs céramiques multicouches et pour l'électroplacage (Matthey, 2013; U.S. Geological Survey, 2016).

1.1.3.4 Produits chimiques

Les éléments du groupe platine sont aussi couramment utilisés comme catalyseurs dans la synthèse de nombreux produits chimiques. On les utilise, entre autres, dans la synthèse de l'acide nitrique, de l'acide sulfurique, du méthanol, du peroxyde d'hydrogène, des xylènes et de plusieurs polymères tel que le silicone (Matthey, 2013).

1.1.3.5 Matériel médical

Le platine a la propriété d'inhiber la division cellulaire. Pour cette raison, des médicaments composés de platine, tel que le cisplatine ($\text{cis-}[\text{Pt}(\text{NH}_3)_2\text{Cl}_2]$), sont utilisés dans les traitements anti-cancer (Matthey, 2010). Chez le dentiste, des alliages composés de platine ou de palladium sont également utilisés dans les prothèses et couronnes dentaires (Brenan, 2008); ce sont des alliages composés de palladium (Au – Ag – Cu – Pd) qui sont les plus couramment utilisés (Kielhorn *et al.*, 2002).

1.1.3.6 Investissement

La valeur marchande du platine sur le marché des métaux précieux est élevée; en 2012 elle était de 1 552 \$ US par once (1 once = 28,35 g) (Matthey, 2013). La Figure 1.2 montre la valeur marchande du platine et de l'or de 1985 à 2017. On note que la valeur du platine était plus élevée que celle de l'or durant les années 2000 à 2008, avant que la tendance ne s'inverse par la suite. En 2008, la valeur marchande du platine était deux fois plus élevée que celle de l'or (voir Figure 1.2).



Figure 1.2 : Valeur marchande (\$ US par once troy ^(a)) du platine (bleu) comparativement à la valeur marchande de l'or (orange) de juillet 1985 à mars 2017. Source : macro-trends.net.

(a) L'once troy est une unité de mesure de la masse des métaux précieux. Cette unité date du Moyen Âge et était initialement utilisée dans la ville de Troyes, en France. Un once troy = 31,21 g selon la monnaie royale du Royaume-Uni. Source : investopedia.com.

1.1.3.7 Autres utilisations

Le platine est également utilisé dans le raffinage du pétrole ainsi que dans la fabrication de verre et d'équipement de laboratoire (Matthey, 2013; U.S. Geological Survey, 2016).

1.2 Contamination de l'environnement par les ÉGP

1.2.1 Cycle naturel

Dans la nature, on retrouve les éléments du groupe platine à de très faibles concentrations dans la croûte terrestre (Ravindra *et al.*, 2004). L'abondance de ces éléments dans la partie supérieure de la croûte continentale est estimée à 0,599 ng/g pour le platine, 0,526 ng/g pour le palladium, 0,030 ng/g pour le ruthénium, 0,022 ng/g pour l'iridium et finalement 0,018 ng/g pour le rhodium

(Park *et al.*, 2012). Des phénomènes naturels, tels que les éruptions volcaniques, peuvent mobiliser ces éléments. En effet, Soyol-Erdene *et al.* (2011) ont observé que les pics de concentrations de platine, d'iridium et de rhodium mesurés en Antarctique dans des carottes de glace avant les années 1980 correspondent aux périodes d'éruptions volcaniques. Cependant, depuis les années 1980, une hausse significative des concentrations de platine et de rhodium a été observée. Cette pollution atmosphérique peut être attribuée à l'augmentation des émissions de ces métaux par des sources anthropiques, telles que les catalyseurs automobiles. Ainsi, depuis les années 1980, la mobilisation d'ÉGP provenant de sources naturelles est négligeable comparativement à celle provenant de sources anthropiques (Soyol-Erdene *et al.*, 2011).

1.2.2 Sources anthropiques d'ÉGP dans l'environnement

Jusqu'à présent, seulement trois sources anthropiques responsables du relargage d'éléments du groupe platine dans l'environnement ont été documentées et étudiées. Il s'agit des convertisseurs catalytiques des automobiles, des applications médicales et de l'exploitation minière, incluant la production de métaux. Comme les éléments du groupe platine sont utilisés dans une large gamme d'applications, d'autres sources anthropiques peuvent exister, mais ces dernières n'ont pas été caractérisées jusqu'à maintenant (Rauch & Morrison, 2008).

1.2.2.1 Émission par les convertisseurs catalytiques des automobiles

Les convertisseurs catalytiques, utilisés dans les automobiles ou dans les procédés industriels, sont la source la plus importante d'ÉGP dans l'environnement (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009; Pyrzńska, 2000). Des conditions défavorables dans les convertisseurs catalytiques des automobiles entraînent des émissions d'éléments du groupe platine dans l'environnement. Par exemple, la température très élevée des gaz d'échappement ainsi que les réactions mécaniques et chimiques à la surface des catalyseurs provoquent le relargage d'ÉGP (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009). Les émissions varient selon la vitesse de conduite de l'automobile, le type de moteur, le modèle et l'âge du catalyseur ainsi que les additifs présents dans le carburant (Ely *et al.*, 2001). Depuis l'introduction des convertisseurs catalytiques dans les automobiles aux États-Unis et en Europe, respectivement dans les années 1970 et 1980, un lien clair a été établi entre leur utilisation et l'augmentation des concentrations d'éléments du groupe platine dans l'environnement (Moldovan *et al.*, 2002).

Un convertisseur catalytique conçu pour une voiture familiale moyenne contient environ 1,8 g d'éléments du groupe platine (Pyrzńska, 2000). Moldovan *et al.* (2002) ont constaté que les émissions de platine ont tendance à diminuer avec l'âge du catalyseur. En effet, pour une voiture à essence ayant un catalyseur Pt – Pd – Rh, la moyenne des émissions de platine mesurée entre 0 et 30 000 km est de 112 ng/km tandis que celle-ci est de 8,8 ng/km entre 30 000 et 80 000 km. Ils ont aussi démontré que les catalyseurs des automobiles à essence libèrent de faibles quantités (ng/km) d'éléments du groupe platine tout au long de leur vie, tandis que les catalyseurs des automobiles au diesel libèrent 10 à 100 fois plus de platine que ceux à essence (Moldovan *et al.*, 2002). L'émission globale de platine provenant des catalyseurs automobiles peut être estimée à environ 800 – 6 000 kg par année, en présumant qu'il y a 500 millions d'automobiles équipées de catalyseurs contenant des ÉGP, que le kilométrage annuel moyen d'une automobile est de 15 000 km et que le taux d'émission moyen varie entre 100 et 800 ng/km (Rauch *et al.*, 2005). Notons que la majorité des ÉGP libérés par les catalyseurs à trois voies sont sous forme particulaire (Pt > 95%, Pd > 85% et Rh > 90%) (Moldovan *et al.*, 2002).

1.2.2.2 Émission par les rejets hospitaliers

Le carboplatine et le cisplatine sont couramment utilisés dans les traitements anticancer. Cependant, seulement une petite quantité de ces médicaments est absorbée par le corps humain. En effet, environ 50 à 70 % du carboplatine est excrété dans l'urine 24 h après son administration et 31 à 85 % du cisplatine est excrété durant les 51 jours suivant son administration. Le platine excrété dans l'urine des patients n'étant pas traité de façon particulière, il se retrouve donc dans les eaux usées des hôpitaux qui sont généralement traitées avec les eaux usées domestiques dans les usines municipales d'épuration (Kümmerer & Helmers, 1997). Kümmerer et Hummers (1977) ont mesuré des concentrations de platine dans les effluents d'hôpitaux qui variaient entre 115 et 125 ng/L, mais ces concentrations diminuent entre 1 et 2 ng/L lorsque les effluents sont dilués dans les eaux usées communautaires. Cette contribution dans l'environnement demeure mineure si on la compare aux émissions provenant des convertisseurs catalytiques des automobiles (Kümmerer & Helmers, 1997).

1.2.2.3 Émission par les industries

Niskavaara *et al.* (2004) ont démontré que la production de métaux entraîne des émissions d'ÉGP dans le nord de l'Europe. Ils ont aussi identifié des fonderies de nickel comme source importante

de platine et de palladium dans l'environnement en Russie. Les taux d'émission n'ont cependant pas été déterminés, car les données provenant de la production d'autres métaux doivent être prises en compte afin d'évaluer l'étendue des émissions d'ÉGP liées à la production de métaux (Rauch & Morrison, 2008). Quelques années plus tard, Rauch et Fatoki (2013) ont mesuré les concentrations de platine dans le sol et l'herbe près de mines et de fonderies exploitant ce métal dans le complexe igné du Bushveld, en Afrique du Sud. Selon leurs résultats, les fonderies contaminent davantage l'environnement que les mines. Les concentrations de platine mesurées à quelques km des fonderies sont jusqu'à 250 fois plus élevées que celles mesurées au site de référence.

L'émission de platine provenant de l'industrie chimique n'est pas négligeable. En effet, le platine est utilisé comme catalyseur dans l'oxydation de l'ammoniac. La production d'une tonne d'acide nitrique (HNO_3) entraîne le relargage de 0,061 g de platine dans l'atmosphère (Yuantao & Zhengfen, 1999). De plus, Helmers et Kümmerer (1999) ont calculé que la quantité moyenne de platine émise dans l'atmosphère ou dans les eaux usées lors de procédés de fabrication est de 98 kg/an, et ce seulement pour l'Allemagne. Les ÉGP sous forme particulaire qui sont émis dans l'atmosphère par les industries métallurgiques, telles que les usines de traitement de cuivre et de nickel, sont souvent transportés par le vent et peuvent donc être dispersés sur de grandes zones (Pyrzńska, 2000).

1.2.3 Destin dans l'environnement

Bien que la majorité du platine émis dans l'environnement soit sous forme métallique, une certaine partie est soluble et peut subir des transformations dans l'environnement (Pyrzńska, 2000).

Les ÉGP émis dans l'environnement par les convertisseurs catalytiques des automobiles se retrouvent principalement dans l'air. En effet, les ÉGP sont émis dans l'atmosphère avec les gaz d'échappement et peuvent parcourir de longues distances avant de se retrouver au sol par des processus de dépôts secs ou humides. Ce sont les contacts physiques d'aérosols avec des surfaces (impaction) ainsi que la force gravitationnelle qui sont principalement responsables du processus de dépôt sec tandis que ce sont les précipitations atmosphériques qui causent les dépôts humides (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009; Rustad *et al.*, 1994).

Après l'air, les ÉGP émis par les convertisseurs catalytiques des automobiles se retrouvent majoritairement dans la poussière de route et le sol près des routes. La mobilité des ÉGP dans

le sol dépend de divers facteurs tels que le pH, le potentiel rédox et la salinité du sol. Les mécanismes de transformation des formes métalliques d'ÉGP dans ce compartiment sont généralement l'oxydation chimique, la complexation par des ligands organiques présents dans le sol et les réactions biochimiques avec assistance microbienne (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009). En général, les concentrations d'ÉGP mesurées dans le sol diminuent plus l'échantillon est prélevé loin de la route et plus la profondeur d'échantillonnage est élevée, ce qui suggère un faible déplacement des ÉGP dans ce compartiment environnemental (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009; Zereini *et al.*, 1997).

Les eaux de ruissellement provenant de précipitations atmosphériques constituent également un moyen de transport pour ces métaux dans l'environnement (Godlewska-Zytkiewicz, 2004). Le paramètre principal influant sur la mobilité des ÉGP en milieu aquatique est la solubilité (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009). La mobilité et la biodisponibilité de ces métaux en milieu aquatique sont également affectées par des réactions d'oxydo-réduction, par la complexation avec une variété de ligands et par l'adsorption sur des particules (Fortin *et al.*, 2011). Tel que mentionné dans la section 1.1.1, le palladium et le platine se retrouvent majoritairement sous la forme (+II) en milieu aquatique (Mountain & Wood, 1988). Toutefois, pour le platine, la forme (+IV) peut être l'espèce dominante dans des eaux fortement oxygénées ou très salines en conditions acides à légèrement alcalines (Gammons, 1996). La Figure 1.3 ci-dessous présente les diagrammes de Pourbaix pour le platine, le palladium et le rhodium en milieux aqueux. Pour le platine, c'est la forme $Pt_{(s)}$ qui domine avec l'hydroxyde de platine $Pt(OH)_{2(aq)}$ dans la gamme de stabilité thermodynamique de l'eau et dans la gamme de pH habituellement retrouvée en milieu aquatique naturel, mais on peut aussi retrouver le platine sous la forme $PtO_{2(s)}$. Pour le palladium, les mêmes espèces sont dominantes, soit $Pd_{(s)}$ et $Pd(OH)_{2(aq)}$. Finalement, pour le rhodium, c'est également le $Rh_{(s)}$ qui domine le diagramme, accompagné de l'hydroxyde de rhodium $Rh(OH)_{3(s)}$. Cependant, les auteurs mentionnent qu'en raison du manque de constantes thermodynamiques fiables pour les différents complexes possibles avec les hydroxydes, la contribution des hydroxydes d'ÉGP à la solubilité de ces éléments implique une certaine incertitude. Les diagrammes de Pourbaix vont changer selon l'ajout de ligands inorganiques dans le milieu. Colombo *et al.* (2008) ont également réalisé des diagrammes Eh – pH en présence de soufre, d'azote et de chlore ainsi qu'en présence de ces trois éléments combinés. Dans ce cas, l'importance des différents complexes dépend également des concentrations de ces éléments dans le milieu, mais les hydroxydes d'ÉGP seront généralement les espèces dominantes dans les eaux de surfaces telles que les lacs et les rivières (Colombo *et al.*, 2008).

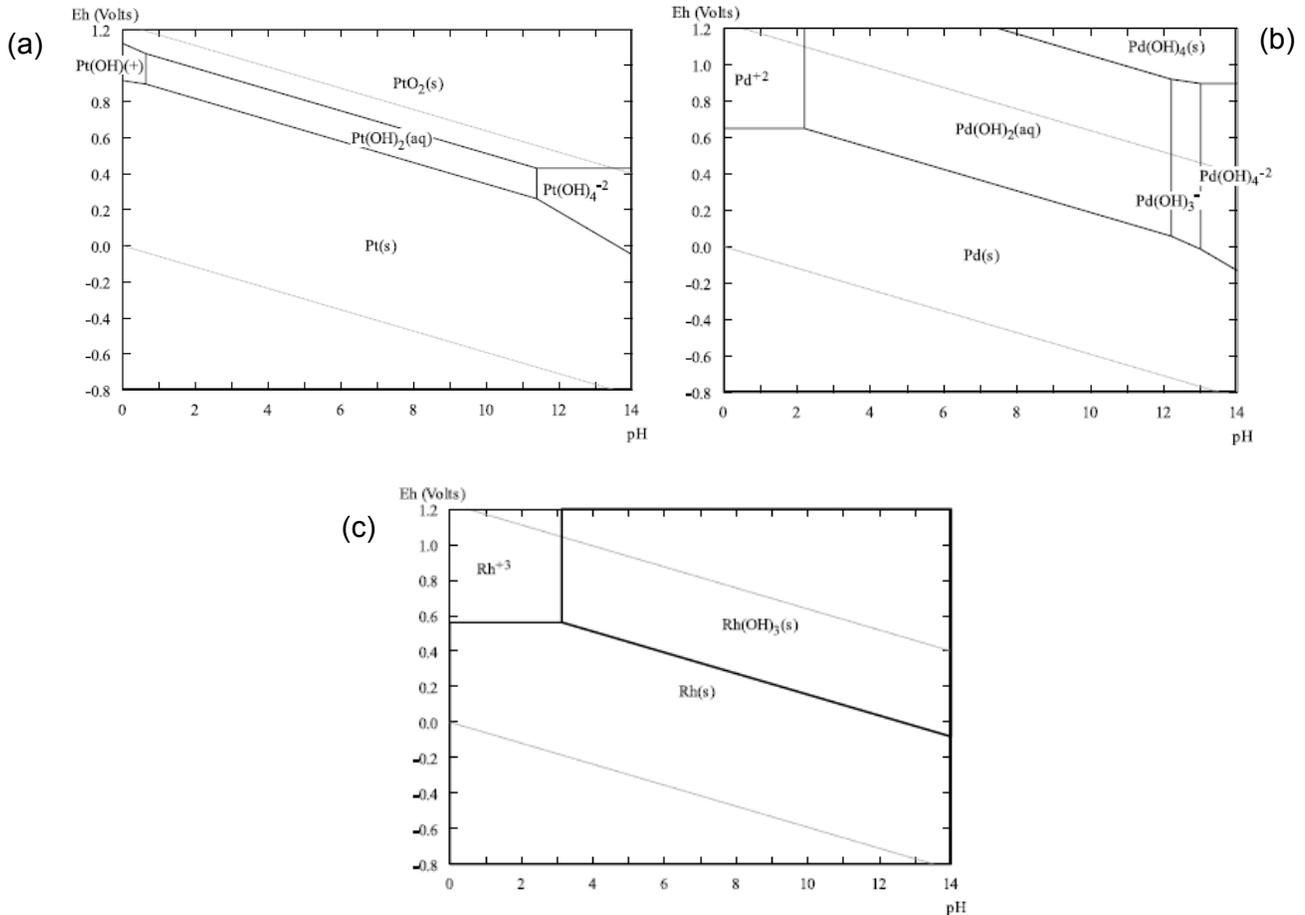


Figure 1.3 : Diagrammes de Pourbaix (Eh – pH) pour le platine (a), le palladium (b) et le rhodium (c) en milieu aqueux, $[M] = 1 \text{ nM}$. Les lignes grises représentent la zone de stabilité thermodynamique de l'eau. Source : Colombo *et al.* (2008).

La section 1.2.5 ci-dessous porte sur la spéciation des ÉGP en milieu aquatique, et la formation de complexes avec des ligands inorganiques et organiques est détaillée dans cette section. L'adsorption et la désorption des éléments du groupe platine en milieu aquatique naturel ont été peu étudiées, mais ces éléments ne sont pas considérés comme étant hautement réactifs (Turner & Wu, 2007). Des trois ÉGP étudiés (Pd, Pt et Rh) par Turner et Wu (2007), le palladium semble montrer la mobilité la plus élevée, la plus faible affinité pour les particules et la plus importante échangeabilité une fois qu'il est adsorbé aux sédiments. Pour ces raisons, ce métal a le plus grand potentiel pour être transporté sur de longues distances et bioaccumulé en milieu aquatique (Turner & Wu, 2007). Lorsque présents en milieu aquatique, les ÉGP peuvent se retrouver en suspension dans la colonne d'eau ou adsorbés sur les sédiments. Les concentrations mesurées

sur le terrain dans ces deux compartiments sont présentées aux sections 1.2.4.1 et 1.2.4.2, respectivement.

1.2.4 Concentrations mesurées dans l'environnement

Au cours des dernières années, le nombre de publications retrouvées dans la littérature scientifique sur les concentrations d'éléments du groupe platine mesurées dans différents compartiments environnementaux a considérablement augmenté (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009). C'est une bonne chose, car ces métaux sont considérés comme des « data-poor metals » c'est-à-dire des métaux pour lesquels peu de données sont disponibles dans la littérature scientifique.

Les concentrations d'ÉGP dans l'air (Rauch *et al.*, 2005; Zereini *et al.*, 2012) ou dans la poussière (Okorie *et al.*, 2015; Wiseman *et al.*, 2016) se situant près de routes achalandées ont été mesurées à maintes reprises au cours des dernières années, car ce sont les deux principaux compartiments où se retrouvent ces éléments lorsqu'ils sont émis par les convertisseurs catalytiques des automobiles (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009). Certains chercheurs ont également mesuré les concentrations de ces éléments en régions plus éloignées. En effet, Soyol-Erdene *et al.* (2011) ont mesuré les taux de déposition d'ÉGP dans la neige de l'Antarctique au cours des 50 dernières années. Les éléments du groupe platine ont également été mesurés en milieu aquatique. Divers milieux ont été analysés au fil des années.

1.2.4.1 Eau douce

Tout d'abord, les concentrations de ces métaux ont été mesurées dans la colonne d'eau de milieux d'eau douce. Les résultats de plusieurs études sont présentés ci-dessous, et les concentrations d'ÉGP maximales mesurées lors de ces travaux sont présentées au Tableau 1.2.

Tout d'abord, Eller *et al.* (1989) ont noté la présence de palladium dans la rivière Schwarzbach ainsi que dans le fleuve Rhin, en 1989. La rivière Schwarzbach est un affluent du fleuve Rhin, ces deux cours d'eau se retrouvant en Allemagne. Le platine et le rhodium ont également été analysés dans ces mêmes rivières, mais leurs concentrations étaient sous la limite de détection (Eller *et al.*, 1989). En 1996, Laschka *et al.* (1996) ont mesuré le platine mobilisé par l'eau de pluie près d'une route dans l'État de Bavière en Allemagne. Plus de 16 000 automobiles circulent chaque jour sur cette route. Dix-huit échantillons provenant du ruissellement de l'eau suite à

divers événements pluvieux ont été analysés. La valeur maximale mesurée dans l'eau de ruissellement était très élevée, mais il faut noter que cette concentration devait être diluée dans la rivière Isar par la suite, un cours d'eau important de la région (Laschka *et al.*, 1996). Moldovan *et al.* (2003) ont mesuré les concentrations de palladium et de platine dans une rivière urbaine près de Göteborg, en Suède. Ils ont également mesuré les concentrations de ces éléments dans trois fontaines situées dans le centre-ville de Madrid, en Espagne. C'est dans les fontaines que l'on retrouvait les concentrations de platine et de palladium les plus élevées, probablement parce qu'elles étaient situées à des endroits où la densité de la circulation était élevée (Moldovan *et al.*, 2003). Plus récemment, van der Horst *et al.* (2012) ont mesuré les concentrations de platine, palladium et rhodium dans deux rivières (Elands et Hex) à proximité de mines qui extraient le platine dans les environs de Rustenburg, en Afrique du Sud. Cependant, dû au faible taux de récupération obtenu par voltamétrie à redissolution anodique lors d'ajouts dosés pour le platine et le rhodium, les concentrations mesurées expérimentalement ne sont pas présentées au Tableau 1.2 (van der Horst *et al.*, 2012). Plus près de nous, Luc Bérubé a mesuré des concentrations de platine et de palladium dans le lac Tantaré, qui se situe au nord de la ville de Québec dans une réserve écologique, et le lac Vose, qui se situe près de la ville de Rouyn-Noranda. Les concentrations de platine dans les échantillons étaient toutes sous la limite de détection. Il a également mesuré les concentrations de ces métaux dans les eaux interstitielles des sédiments. Les concentrations de platine étaient également sous la limite de détection dans ce compartiment (Bérubé, 2005). Gabrielle Roy a mesuré des concentrations de platine et de palladium dans deux rivières de la ville de Québec se situant près d'autoroutes achalandées, soit les rivières Lorette et du Berger, ainsi que dans les conduites pluviales se déversant dans ces deux rivières. Les concentrations les plus élevées d'ÉGP ont été mesurées dans les conduites pluviales. Comme mentionné ci-dessus pour les résultats de Laschka *et al.* (1996), les concentrations les plus élevées, soit celles retrouvées dans les conduites pluviales, seront diluées lorsqu'elles atteindront les rivières.

Tableau 1.2 : Concentrations maximales d'ÉGP mesurées dans la colonne d'eau de milieux aquatiques naturels (ng/L).

| Site d'échantillonnage | Pays | [Pd] (ng/L) | [Pt] (ng/L) | [Rh] (ng/L) | Références |
|----------------------------|-----------|----------------|---------------------|----------------|--|
| Rivière Schwarzbach | Allemagne | 1,0 ± 0,1 | < 0,9 | < 0,5 | Eller <i>et al.</i> (1989) |
| Fleuve Rhin | Allemagne | 0,4 ± 0,1 | < 0,9 | < 0,5 | Eller <i>et al.</i> (1989) |
| Eau de pluie | Allemagne | | 1 100 | | Laschka <i>et al.</i> (1996) |
| Rivière urbaine | Suède | 10,2 ± 1,0 | < LD ^(a) | | Moldovan <i>et al.</i> (2003) ^(b) |
| Fontaines urbaines | Espagne | 84,7 ± 4,1 | 4,4 ± 0,5 | | Moldovan <i>et al.</i> (2003) ^(b) |
| Rivière Hex | Afrique | 100 ± 30 | | | van der Horst <i>et al.</i> (2012) |
| Lac Tantaré | Canada | 2,7 ± 0,2 | < LD ^(a) | | Bérubé (2005) |
| Lac Vose | Canada | 4,8 ± 0,5 | < LD ^(a) | | Bérubé (2005) |
| Eau interstitielle Tantaré | Canada | 6,99 ± 0,05 | < LD ^(a) | | Bérubé (2005) |
| Eau interstitielle Vose | Canada | 8,5 ± 0,2 | < LD ^(a) | | Bérubé (2005) |
| Rivière Lorette | Canada | 39,4 | 0,1 | | Roy (2009) ^(b) |
| Rivière du berger | Canada | 74,5 | 0,1 | | Roy (2009) ^(b) |
| Conduites pluviales | Canada | 830,1 | 8,8 | | Roy (2009) ^(b) |

(a) < LD = sous la limite de détection de la technique analytique utilisée; celle-ci varie selon la référence.

(b) Les concentrations d'ÉGP sont issues d'analyses d'échantillons d'eau filtrée.

1.2.4.2 Sédiments d'eau douce

En plus de l'eau de surface, la présence d'éléments du groupe platine a également été mesurée dans les sédiments de milieux d'eau douce. Les concentrations d'ÉGP maximales mesurées lors des travaux énumérés ci-dessous sont présentées au Tableau 1.3.

Rauch *et al.* (2000) ont mesuré les concentrations de platine et de rhodium dans les sédiments d'une rivière urbaine (rivière Mölndal) située à Göteborg en Suède. Les concentrations de palladium n'ont toutefois pas pu être déterminées à l'aide de leur méthode analytique, à cause d'une interférence lors des analyses. de Vos *et al.* (2002) ont également mesuré les concentrations de platine, de palladium et de rhodium dans les sédiments de la rivière Kentish Stour à Kent en Angleterre. Ils ont prélevé vingt-deux échantillons de sédiments dans cette rivière. Haus *et al.* (2007) ont mesuré les concentrations de platine dans les sédiments de huit sites

urbains différents du quartier de Ruhr en Allemagne, soit quatre étangs, deux ruisseaux ainsi que les rivières Ruhr et Lippe. Du platine a été détecté seulement dans deux étangs et un ruisseau, ce métal était sous la limite de détection dans tous les autres sites. Jackson *et al.* (2007) ont mesuré les concentrations de platine et de palladium dans des échantillons de sédiments provenant de trente-deux rivières et de cinq lacs près de la ville de Sheffield, en Angleterre. Luc Bérubé a mesuré les concentrations de palladium et platine dans les sédiments des lacs Tantaré et Vose, en plus des concentrations dans la colonne d'eau et dans l'eau interstitielle des sédiments. Des profils verticaux ont été effectués pour l'analyse des ÉGP dans les sédiments; les concentrations les plus élevées se situaient à la surface des sédiments. (Bérubé, 2005).

Tableau 1.3 : Concentrations maximales d'ÉGP mesurées dans les sédiments de milieux aquatiques naturels (ng de métal par g de sédiments).

| Site d'échantillonnage | Pays | [Pd] (ng/g) | [Pt] (ng/g) | [Rh] (ng/g) | Références |
|------------------------|------------|----------------|----------------|----------------|------------------------------|
| Rivière Mölndal | Suède | | 1 | 0,67 | Rauch <i>et al.</i> (2000) |
| Rivière Kentish Stour | Angleterre | 5,50 | 4,42 | 0,26 | de Vos <i>et al.</i> (2002) |
| Étangs | Allemagne | | 4,9 | | Haus <i>et al.</i> (2007) |
| Ruisseau | Allemagne | | 3,7 | | Haus <i>et al.</i> (2007) |
| Rivières urbaines | Angleterre | 57 | 85 | | Jackson <i>et al.</i> (2007) |
| Lacs urbains | Angleterre | 11 | 14 | | Jackson <i>et al.</i> (2007) |
| Lac Tantaré | Canada | 2,0 | 2,9 | | Bérubé (2005) |
| Lac Vose | Canada | < 0,3 | 2,7 | | Bérubé (2005) |

1.2.4.3 Organismes aquatiques d'eau douce

Peu d'études de terrain présentent les concentrations d'ÉGP mesurées dans des organismes aquatiques en milieu naturel (Haus *et al.*, 2007), la majorité des résultats ayant été obtenus en laboratoire. Les quelques études présentant ces résultats sont énumérées ci-dessous et les concentrations d'ÉGP maximales mesurées lors de ces travaux sont inscrites au Tableau 1.4.

Tout d'abord, Haus *et al.* (2007) ont mesuré les concentrations de platine dans quatre espèces de crustacés échantillonnées dans huit sites urbains à Ruhr en Allemagne. De faibles concentrations ont été mesurées dans des crustacés provenant de cinq sites différents; les

concentrations mesurées aux autres sites étaient sous la limite de détection. Ces auteurs avaient également mesuré les concentrations de platine dans les sédiments de ces mêmes sites (Haus *et al.*, 2007). Rauch et Morrison (1999) ont mesuré le platine dans le crustacé *Asellus aquaticus* provenant de deux rivières urbaines et un bassin de rétention de l'eau de pluie situés dans la ville de Göteborg en Suède. Les concentrations mesurées dans ce biomoniteur étaient élevées dans les trois milieux étudiés. Ils ont également analysé les concentrations de platine dans la colonne d'eau ainsi que dans les sédiments et ont conclu que les sédiments étaient la principale source d'exposition au platine pour *Asellus aquaticus* dans ces milieux (Rauch & Morrison, 1999). Moldovan *et al.* (2001) ont également vérifié l'internalisation chez le crustacé *Asellus aquaticus* provenant d'une rivière de la ville de Göteborg en Suède. Ils ont cependant mesuré les concentrations de platine, de palladium et de rhodium. Le premier site d'échantillonnage était situé près d'une aire de stationnement tandis que le deuxième était près d'une autoroute ayant une densité de circulation élevée. Les concentrations qu'ils ont mesurées sont élevées et suivent l'ordre d'accumulation généralement observé dans la littérature pour les ÉGP, soit Pd > Pt > Rh (Moldovan *et al.*, 2001). Mays (2009) a mesuré les concentrations de platine chez des moules d'eau douce dans 37 ruisseaux différents en Caroline du Nord, aux États-Unis. Il a observé une corrélation entre les concentrations mesurées dans les mollusques et la population du bassin versant (Mays, 2009). Finalement, Neira *et al.* (2015) ont mesuré les concentrations de platine dans des moules échantillonnées sur la plage urbaine de Samil dans le Ría de Vigo, en Espagne, au fil des années (1991 – 2011). Selon leurs résultats, il est évident que la contamination accrue des moules (augmentation des concentrations de platine mesurées) au cours des deux dernières décennies provient de l'augmentation de la circulation d'automobiles. La variation temporelle de la teneur en platine dans ces organismes aquatiques est donc liée aux activités anthropiques (Neira *et al.*, 2015).

Tableau 1.4 : Concentrations maximales d'ÉGP mesurées dans des organismes aquatiques d'eau douce provenant de milieux naturels (ng de métal par g de poids sec).

| Embranchement | Espèce | [Pd] (ng/g) | [Pt] (ng/g) | [Rh] (ng/g) | Références |
|---------------|----------------------------------|----------------|----------------|----------------|-------------------------------|
| Crustacé | <i>Asellus aquaticus</i> | | 0,54 | | Haus <i>et al.</i> (2007) |
| Crustacé | <i>Gammarus fossarum</i> | | < 0,36 | | Haus <i>et al.</i> (2007) |
| Crustacé | <i>Gammarus pulex</i> | | 1,3 | | Haus <i>et al.</i> (2007) |
| Crustacé | <i>Dikerogammarus villosus</i> | | 0,94 | | Haus <i>et al.</i> (2007) |
| Crustacé | <i>Asellus aquaticus</i> | | 12 400 | | Rauch et Morrison (1999) |
| Crustacé | <i>Asellus aquaticus</i> | 284 | 119 | 48,2 | Moldovan <i>et al.</i> (2001) |
| Mollusque | <i>Elliptio complanata</i> | | 1,98 | | Mays (2009) |
| Mollusque | <i>Mytilus galloprovincialis</i> | | 0,68 | | Neira <i>et al.</i> (2015) |

1.2.5 Spéciation des ÉGP en milieu aquatique

La spéciation est la distribution d'un élément en différentes espèces chimiques dans un système donné à l'équilibre. La spéciation des ÉGP dans l'environnement permet de comprendre les transformations biogéochimiques, la mobilité et la toxicité de ces éléments. Cependant, les données concernant la spéciation chimique et le comportement des ÉGP dans l'environnement sont limitées (Colombo *et al.*, 2008). En effet, peu de constantes thermodynamiques sont disponibles dans la littérature scientifique pour ces métaux (Fortin *et al.*, 2011).

1.2.5.1 Ligands inorganiques

Tel qu'énoncé à la section 1.1.1, les ÉGP sont des ions mous, et ils préfèrent donc se lier à des ligands mous tels que le chlorure, le cyanure, les amines et les sulfures (Dahlheimer *et al.*, 2007; Mountain & Wood, 1988; Mulholland & Turner, 2011). Les ÉGP forment seulement des complexes très faibles avec les carbonates et les phosphates, qui sont des ligands durs (Mountain & Wood, 1988).

En absence de ligands pouvant complexer le palladium, les complexes d'hydroxydes de palladium neutres prédominent sur une large gamme de pH. Cependant, la présence de chlorure entraîne la formation de chlorocomplexes (PdCl_n^{2-n}) et de complexes mixtes (Dubiella-Jackowska

et al., 2009; Turner, 2007). Les complexes de palladium avec les carbonates et les sulfates ne devraient pas être importants dans des conditions environnementales réalistes (Turner, 2007).

Cobelo-García *et al.* (2013) ont étudié le comportement du platine lors du mélange des eaux en estuaire. Les résultats expérimentaux obtenus sont en accord avec les calculs de spéciation réalisés à partir des données thermodynamiques disponibles dans la littérature. En milieu naturel, le platine est présent sous deux degrés d'oxydation, soit Pt(II) et Pt(IV). En milieu marin, les principales espèces inorganiques seraient PtCl_4^{2-} et $\text{PtCl}_5(\text{OH})^{2-}$ et les complexes de Pt(IV) prédomineraient sur ceux de Pt(II) pour la gamme de pH retrouvée typiquement en eau de mer (7,5 – 8,4). En eau douce, les principales espèces inorganiques seraient plutôt $\text{Pt}(\text{OH})_2$ et $\text{Pt}(\text{OH})_5^-$. Dans ce cas-ci, ce sont les complexes de Pt(II) qui prédomineraient sur ceux de Pt(IV). Ainsi, lors du mélange estuarien, le changement de spéciation du platine implique le transfert d'espèces neutres ($\text{Pt}(\text{OH})_2$) vers des espèces chargées ($\text{PtCl}_5(\text{OH})^{2-}$) en plus d'un changement de degré d'oxydation (+II vers +IV) (Cobelo-García *et al.*, 2013).

Moins d'informations sont disponibles sur la spéciation du rhodium, les données sur sa complexation par des ligands inorganiques se limitant aux complexes avec le chlorure; il forme des complexes stables en présence de chlorures, soit $(\text{RhCl}_{6-x}(\text{H}_2\text{O})_x)^{x-3}$, où $0 \leq x \leq 6$ (Turner, 2007).

1.2.5.2 Ligands organiques

Les ÉGP forment des complexes avec des ligands organiques naturels, mais la stœchiométrie et les constantes de formation de ces complexes sont mal définies encore aujourd'hui (Colombo *et al.*, 2008; Lustig *et al.*, 1998; Sures & Zimmermann, 2007). Les composés organiques dissous présents dans l'eau stabilisent le platine et le palladium en les liants sous la forme de complexes. Dans la revue de littérature réalisée par Dubiella-Jackowska *et al.* (2009), les auteurs ont souligné une importante augmentation de la biodisponibilité des ÉGP en présence des ligands organiques suivants : acide humique, acide fulvique, acétates et sidérophores. De plus, le platine devient plus facilement soluble que le palladium en présence de concentrations élevées de ligands organiques (Zimmermann *et al.*, 2003).

Le palladium a démontré des affinités pour l'acide fulvique similaires à celles observées pour le mercure et le cuivre (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009). Les résultats expérimentaux de Zereini *et al.* (2015) ont démontré qu'en présence du ligand EDTA (acide éthylènediaminetétraacétique), une petite quantité de palladium émis dans l'environnement sous forme métallique peut s'oxyder,

ce qui pourrait contribuer à augmenter la mobilité de cet élément et possiblement son éventuelle biodisponibilité. Ils ont également démontré que le type de ligand organique (L-méthionine, EDTA, acide citrique) a une influence plus importante sur la réactivité du palladium élémentaire que le pH (6 – 9) (Zereini *et al.*, 2015).

Lustig *et al.* (1998) ont également étudié la solubilité du platine. Leurs résultats ont démontré que le platine métallique peut être facilement dissous par des agents complexant naturels (adénosine, adénosine diphosphate et triphosphate (ADP et ATP), L-histidine, L-méthionine, pyrophosphate, triphosphate). Cependant, seulement $33 \pm 2 \%$ et $22 \pm 1 \%$ du platine initial provenant de chlorocomplexes (K_2PtCl_4 et $Na_2PtCl_6 \cdot 6 H_2O$) a été mesuré en solution après 30 jours en présence d'acide humique tandis que $95,8 \pm 0,4 \%$ et $87 \pm 4 \%$ de la concentration initiale totale a été mesuré dans un milieu ne contenant pas d'acide humique. Selon les auteurs, cette différence peut s'expliquer par le fait que l'acide humique peut lier le platine dissous afin de former des espèces peu solubles.

Pour le rhodium, il n'y a pas de données thermodynamiques disponibles pour sa complexation avec des ligands organiques (Turner, 2007), mais ce métal semble se lier à la matière organique naturelle (Cobelo-Garcia *et al.*, 2007; Turner, 2007).

1.3 Toxicité mesurée en laboratoire pour les organismes aquatiques

En milieu naturel, les organismes aquatiques peuvent internaliser les ÉGP, tel que vu à la section 1.2.4.3. Afin d'explorer plus en détail les mécanismes d'internalisation et la toxicité de ces éléments chez divers organismes, des études en laboratoire ont été réalisées. Cependant, pour la majorité des valeurs toxicologiques déterminées dans la littérature, les concentrations nominales d'ÉGP dans les milieux d'exposition sont bien au-dessus de celles qu'on retrouve en milieu naturel.

Le modèle du ligand biotique (BLM) a été développé sur la base des connaissances acquises au fil du temps sur les interactions entre les métaux et les organismes aquatiques (Campbell & Fortin, 2013). Ce modèle stipule que la prise en charge de métaux par des organismes aquatiques est proportionnelle à la concentration de métaux libres en solution (M^{Z+}). Ainsi, la réponse biologique de l'organisme va varier en fonction de l'activité de l'ion libre en solution. Selon le BLM, il est impératif de connaître la spéciation des métaux afin d'évaluer leur toxicité; tenir compte de la concentration totale de métaux en solution pourrait surestimer la toxicité et mener à l'obtention de seuils de toxicité différents d'un milieu à l'autre.

1.3.1 Organismes invertébrés et poissons

Zimmermann *et al.* (2005b) ont mesuré le platine, le palladium et le rhodium internalisé par l'anguille *Anguilla anguilla* et par son parasite acanthocéphale *Paratenuisentis ambiguus*. Les concentrations initiales dans les milieux d'exposition étaient de 72 µg/L pour le platine et le rhodium et de 996 µg/L pour le palladium; les ÉGP provenaient de convertisseurs catalytiques broyés. Du platine et du palladium ont été détectés dans les reins et le foie des anguilles ainsi que chez les parasites. Aucun rhodium n'a été détecté chez ces deux organismes. Les concentrations de platine mesurées chez *Paratenuisentis ambiguus* étaient quarante fois plus élevées que celles mesurées dans le foie de leurs hôtes tandis que les concentrations de palladium étaient quatre fois plus élevées dans ces mêmes compartiments (Zimmermann *et al.*, 2005b). Osterauer *et al.* (2009) ont vérifié l'internalisation du platine ainsi que son effet sur le développement des embryons chez le poisson-zèbre *Danio rerio* et chez l'escargot Ramshorn *Marisa cornuarietis*. Trois voies d'internalisation sont possibles pour ces organismes aquatiques, soit la surface du corps, les branchies et le tube digestif. Chez ces deux organismes, l'internalisation du platine était proportionnelle à la concentration de métal dans le milieu d'exposition (202 ng/L à 99 µg/L chez *Danio rerio* et 38 ng/L à 74 µg/L chez *Marisa cornuarietis*). Pour des concentrations d'exposition similaires, l'escargot avait accumulé environ 50 fois plus de platine que le poisson. De plus, le platine a eu un effet sur la fréquence cardiaque moyenne et le succès d'éclosion chez les embryons de ces deux organismes, ces effets étant plus marqués chez *Marisa cornuarietis*. L'impact du platine sur le développement de l'embryon était également plus important chez ce même organisme; le développement des yeux était retardé et le poids des escargots réduit (Osterauer *et al.*, 2009). Zimmermann *et al.* (2017) ont évalué la toxicité du platine, du palladium et du rhodium chez *Daphnia magna*. Ils ont également exposé les daphnies à un mélange combiné de platine et de palladium, afin de comprendre l'effet des interactions des ÉGP sur la toxicité. Pour les trois métaux, les valeurs de CE₅₀ calculées étaient plus faibles que les valeurs de CL₅₀; l'immobilité est donc un paramètre plus sensible que la létalité dans ce cas-ci. Les deux paramètres mesurés (immobilité et létalité) étaient moins importants à 48 h qu'à 24 h; le temps d'exposition avait donc une influence sur la toxicité. Les CE₅₀ et CL₅₀ calculées pour le palladium étaient un ordre de grandeur plus faible que celles pour le platine et trois ordres de grandeur plus faible que celles pour le rhodium, mais les trois métaux avaient des modes d'action comparables chez *Daphnia magna*. Pour l'exposition combinée au platine et au palladium, un effet synergique a été observé. En effet, la toxicité de ces deux métaux était plus qu'additive, mais les modes d'action derrière ce phénomène ne sont pas connus (Zimmermann *et al.*, 2017).

Seulement quelques exemples ont été détaillés dans cette section, mais l'accumulation et la toxicité des ÉGP ont également été mesurées en laboratoire chez d'autres organismes tels que les isopodes (Moldovan *et al.*, 2001), les annélides (Veltz *et al.*, 1996), les écrevisses (Wren & Gagnon, 2014), les moules (Singer *et al.*, 2005; Sures & Zimmermann, 2007; Sures *et al.*, 2002; Zimmermann *et al.*, 2002; Zimmermann *et al.*, 2005a) et diverses espèces de poissons (Sures *et al.*, 2005; Sures *et al.*, 2001; Zimmermann *et al.*, 2004). Lors des expositions en laboratoire, plusieurs sources d'éléments du groupe platine ont été utilisées sur les organismes d'essais, soit des sels d'ÉGP, des matériaux broyés provenant de convertisseurs catalytiques, des sédiments de rivières urbaines et de la poussière provenant de routes ou de tunnels où circulent des automobiles (Zimmermann *et al.*, 2017).

1.3.2 Microorganismes

Contrairement aux invertébrés et aux poissons, les microorganismes n'ont qu'une seule voie d'internalisation des métaux. Il s'agit du transport transmembranaire à travers les parois des cellules. Rauch *et al.* (2004) ont évalué l'internalisation et la toxicité du platine sur du périphyton d'eau douce. L'internalisation augmentait linéairement avec la concentration de platine dans le milieu d'exposition et celle-ci était similaire pour le Pt(II) et le Pt(IV). Aucune toxicité n'a été observée durant cette exposition, même si le platine était internalisé par le périphyton. En effet, l'activité photosynthétique de la communauté exposée n'était pas différente de celle du témoin et la CE₅₀ n'a pas été atteinte dans le temps (24 h) et la gamme de concentrations d'exposition (0,20 – 195 µg/L) (Rauch *et al.*, 2004). Fujiwara *et al.* (2008) ont évalué la toxicité des ÉGP chez l'algue verte *Chlorella kessleri*. Ils ont calculé une valeur de CI₅₀ plus faible pour le rhodium, suivi du platine (IV) et du palladium. Pour les valeurs de CL₅₀, c'est toujours le rhodium qui avait la concentration la plus faible, mais il était suivi du palladium et du platine cette fois. Malgré une différence dans les valeurs de CI₅₀ et CL₅₀, la toxicité observée chez cette algue était similaire pour les trois métaux. Les auteurs mentionnent aussi que parmi les algues vertes, *Chlamydomonas reinhardtii* est reconnue pour être beaucoup plus résistante que *Chlorella kessleri* à la toxicité des métaux (Fujiwara *et al.*, 2008). Vannini *et al.* (2011) ont exposé l'algue verte *Pseudokirchneriella subcapitata* au palladium. Ils ont observé une internalisation de palladium plus importante à des concentrations plus élevées dans le milieu d'exposition. Ils ont également observé une diminution de la croissance (comparativement au témoin) et une inhibition totale de la croissance à la concentration d'exposition la plus élevée, soit 0,15 mg/L; le palladium aurait donc un effet sur le taux de croissance de cette algue. De plus, une diminution significative

de la teneur en pigments (Chl *a*, Chl *b* et caroténoïde) a été observée, et ce pour toutes les concentrations d'exposition (Vannini *et al.*, 2011).

Dans notre groupe de recherche, Gabrielle Roy et Guillaume Tétrault ont évalué la toxicité des ÉGP chez l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*. Selon les résultats de Gabrielle Roy, la toxicité des ÉGP pour *Chlamydomonas reinhardtii* peut être exprimée par l'ordre suivant : Pd > Pt >> Rh. Pour une même gamme de concentrations d'exposition (1 – 100 µg/L), les algues exposées au rhodium ne présentaient aucun signe d'inhibition de leur croissance (Roy, 2009). Guillaume Tétrault a vérifié l'influence du pH et des concentrations de NH₄⁺ et de Ca²⁺ sur la toxicité du palladium chez cette même algue verte, mais c'est seulement l'influence du pH qui a été vérifiée pour le platine. La toxicité de ces deux métaux était plus importante à pH neutre, suivi de pH 6, et peu d'effets ont été observés à pH 8. À pH 6 et 7, les deux métaux affectaient *Chlamydomonas reinhardtii* de façon similaire; ils induisaient un retard dans la croissance. L'internalisation de platine et de palladium par les algues était fortement corrélée avec la concentration de ces métaux dans les milieux d'exposition à ces mêmes pH. Une plus faible concentration de NH₄⁺ a diminué la toxicité du palladium. Cet ion influence la spéciation de ce métal, mais la façon dont ce changement de spéciation modifie la biodisponibilité du palladium n'a pas été déterminée. Finalement, aucune conclusion n'a pu être tirée quant à l'influence du calcium dû à la grande variabilité des résultats (Tétrault, 2014).

1.3.3 Toxicité en présence de matière organique naturelle (MON)

La matière organique naturelle est un polymère hétérogène provenant de la dégradation microbienne de résidus de plantes et d'animaux. Elle est composée majoritairement de carbone (50 – 60 %), mais aussi d'oxygène (30 – 35 %), d'hydrogène (4 – 6 %), d'azote (2 – 4 %) et de soufre (1 – 2 %) (Sutton *et al.*, 2005). Elle contient donc plusieurs groupements fonctionnels susceptibles de lier les éléments du groupe platine. En milieu naturel, les concentrations de MON se situent entre 0,5 mg C/L (milieu marin) et plus de 30 mg C/L (tourbières). Généralement, pour les lacs et rivières, les concentrations en matière organique naturelle mesurées sont entre 2 et 10 mg C/L (Thurman, 1985).

Lors de leur exposition du périphyton au platine, Rauch *et al.* (2004) avaient utilisé deux types d'eau, l'une provenant d'un cours d'eau naturel et l'autre dépourvue de carbone organique dissous et de ligands potentiels. Le taux d'internalisation était plus faible dans l'eau naturelle, possiblement à cause des concentrations élevées de matière organique dissoute et de chlorure

dans cette eau. En effet, ces ligands peuvent complexer le platine et ainsi le rendre moins biodisponible (Rauch *et al.*, 2004). Au contraire, Zimmermann *et al.* (2002) ont observé une internalisation plus importante du platine et du palladium chez les moules zébrées *Dreissena polymorpha* en présence de substances humiques. Afin d'expliquer ces résultats, les auteurs ont supposé que les substances humiques pouvaient augmenter la biodisponibilité du platine et du palladium, mais ils n'ont cependant pas expliqué ce raisonnement. Ils ont également proposé que la dureté de l'eau puisse avoir influencé l'internalisation de ces métaux par les moules, car celle-ci était plus élevée dans le milieu d'exposition contenant des substances humiques (Zimmermann *et al.*, 2002). L'internalisation des ÉGP par *Dreissena polymorpha* a également été vérifiée par Sures et Zimmermann (2007) quelques années plus tard. L'internalisation du palladium était significativement plus importante lors de l'exposition dans l'eau du robinet comparativement à l'eau humique. Bien que le palladium soit habituellement l'élément le plus facilement assimilable des ÉGP, il forme des complexes avec l'acide fulvique qui réduisent son assimilation par les organismes aquatiques (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2009). L'effet contraire a été observé pour le rhodium et le platine (Sures & Zimmermann, 2007); l'internalisation de ces métaux était plus importante dans l'eau humique que dans l'eau du robinet, mais aucune différence significative entre les deux milieux n'a été observée pour le platine. Les quantités accumulées dans les tissus des moules étaient plus élevées pour le palladium, suivi du platine et finalement du rhodium. Le platine, le palladium et le rhodium peuvent avoir des mécanismes de réaction avec les substances humiques distincts dus à leurs différents degrés d'oxydation (Pt(IV), Pd(II) et Rh(III)) et ainsi se lier à différents groupements fonctionnels des substances humiques. Comme la taille et la solubilité des complexes substances humiques – ÉGP varient, certaines formes colloïdales ou particulaires pourraient être filtrées puis ingérées par les moules. Les auteurs ont également vérifié si la dureté de l'eau a un effet décisif sur l'internalisation des ÉGP. Les moules ont été exposées à un milieu ayant une concentration élevée en calcium en plus de substances humiques, mais ils ont conclu que ce sont les substances humiques et non le calcium qui affectaient la biodisponibilité de ces métaux (Sures & Zimmermann, 2007).

Comme on peut le voir avec les exemples présentés ci-dessus, le comportement des ÉGP en présence de matière organique naturelle a été peu étudié et les quelques résultats d'internalisation et de toxicité obtenus sont parfois contradictoires ou ambigus. Parfois, la présence de MON augmente la biodisponibilité des ÉGP ainsi que leur internalisation et d'autres fois l'effet inverse est observé, c'est-à-dire, la MON lie les ÉGP et diminue leur biodisponibilité et leur internalisation. Ainsi, plus d'études sont nécessaires afin de déterminer l'impact de la matière

organique naturelle sur la biodisponibilité et la toxicité des éléments du groupe platine en milieu aquatique naturel.

1.4 Objectifs du projet

Les concentrations d'éléments du groupe platine mesurées dans l'environnement sont détectables et quantifiables. Celles-ci ont augmenté durant les dernières décennies, dues aux activités anthropiques et principalement à l'utilisation de ces métaux dans les convertisseurs catalytiques des automobiles. Les ÉGP peuvent être internalisés par les organismes aquatiques et peuvent avoir une toxicité potentiellement élevée chez ces derniers. Ainsi, comme ces métaux sont de plus en plus présents dans l'environnement, il est important d'avoir des données écotoxicologiques afin d'évaluer leur risque environnemental.

Ce projet de recherche fait partie d'un projet plus vaste financé par Environnement et Changement climatique Canada qui vise à évaluer la toxicité, la mobilité et la biodisponibilité des métaux pour lesquels peu de données sont disponibles. Il constitue également une suite aux travaux réalisés par Guillaume Tétrault sur le platine et le palladium lors de sa maîtrise. Ce dernier avait réalisé des expériences de toxicité sur l'algue verte unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii* dans différentes conditions (pH, $[Ca^{2+}]$, $[NH_4^+]$) en absence de matière organique naturelle. Cependant, afin d'évaluer le risque environnemental de ces métaux en milieu naturel, la présence de ligands tels que la matière organique naturelle doit être considérée. En effet, selon la littérature scientifique, la matière organique naturelle lie fortement les éléments du groupe platine, et elle devrait donc modifier la biodisponibilité de ces éléments en les complexant. Ce projet consiste à intégrer la matière organique naturelle dans les expériences de toxicité avec l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*.

De plus, la spéciation des éléments du groupe platine en présence de matière organique naturelle est difficile à calculer, car peu de données thermodynamiques sont disponibles pour ces éléments. La spéciation du platine et du palladium en présence de matière organique naturelle peut être estimée à l'aide de logiciels de simulations thermodynamiques ou par des méthodes expérimentales, mais l'applicabilité de ces méthodes et la validité de ces résultats doivent être vérifiées. Avoir plus d'informations sur la spéciation des ÉGP va permettre de mieux comprendre la biodisponibilité et la toxicité de ces éléments, car selon le modèle du ligand biotique, ce sont les ions métalliques libres qui peuvent être internalisés par les algues.

Le projet comprend deux objectifs principaux :

- étudier la spéciation du platine et du palladium en présence de matière organique naturelle (Suwannee River humic acid);
- vérifier l'influence de la matière organique naturelle (Suwannee River humic acid) sur l'absorption et la toxicité du platine et du palladium chez l'algue verte unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*.

L'hypothèse pour ce projet de recherche est la suivante :

La matière organique naturelle (Suwannee River humic acid) modifiera la spéciation du platine et du palladium en complexant ces métaux. Cette complexation entraînera une diminution de la disponibilité du platine et du palladium, car pour des concentrations identiques en platine ou en palladium dissous, la concentration en ion métallique libre sera plus faible dans le milieu d'exposition contenant de la matière organique naturelle. Il y aura donc une diminution de l'absorption et de la toxicité de ces éléments chez *Chlamydomonas reinhardtii* en présence de matière organique naturelle.

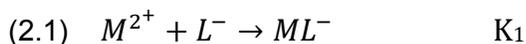
Actuellement, peu de données sont disponibles sur l'impact environnemental des éléments du groupe platine en présence de matière organique naturelle. Ce projet devait permettre d'en apprendre plus sur la spéciation, la biodisponibilité et la toxicité de ces éléments en milieu aquatique naturel.

CHAPITRE 2 : MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Modèle de spéciation chimique

Afin d'estimer la complexation du Pt et du Pd par l'acide humique, des simulations ont été réalisées à l'aide de la version 7 du logiciel *Windermere Humic Aqueous Model* (WHAM7). Il s'agit d'un logiciel permettant de prédire la spéciation d'un élément à partir de données thermodynamiques, soit les constantes de formation des différentes espèces ($\log K$). Les calculs de spéciation sont réalisés dans un système donné, en supposant que l'équilibre est atteint. Le logiciel WHAM7 a été sélectionné, car contrairement à plusieurs autres logiciels de spéciation chimique, celui-ci prend en compte la formation de complexes avec les substances humiques dans ses calculs. Lors des simulations réalisées avec le logiciel WHAM7, nous supposons que l'acide humique est constitué de 50 % de carbone.

Le logiciel thermodynamique WHAM utilise les constantes de formation β plutôt que les constantes de formation K lors de ses calculs de spéciation. Pour un complexe avec plus d'un ligand, β est la constante globale de formation (constante cumulative) tandis que K tient compte de la formation successive des complexes. Un exemple est présenté à l'équation 2.1 ci-dessous; il s'agit de la formation d'un complexe entre un métal M^{2+} et deux ligands L^- selon K et β .



où $\beta_2 = K_1 \cdot K_2$

2.1.1 Corrections force ionique

Le logiciel WHAM utilise les constantes de formation à une force ionique nulle. Ainsi, les constantes ayant une force ionique supérieure à 0 M et inférieure à 0,5 M ont été corrigées à l'aide de l'équation de Davies (équation 2.2) ci-dessous,

$$(2.2) \quad \log \gamma_i = -Az_i^2 \left(\frac{\sqrt{I}}{1+\sqrt{I}} - bI \right)$$

où γ est le coefficient d'activité de l'espèce i , $A = 0,270 + 0,0008T$ où T est la température (K), z est la charge de l'espèce i , I est la force ionique (M) à laquelle la constante de formation a été déterminée et $b = 0,2$ (Lofts, 2012). À partir des coefficients d'activités corrigés à l'aide de l'équation 2.2, il est possible d'obtenir la constante de formation corrigée à l'aide de l'équation 2.3.

$$(2.3) \quad K' = \frac{\gamma_{i,j}}{\gamma_i \gamma_j} K$$

où K' est la constante de formation corrigée du complexe i,j formé à partir des espèces i et j , K est la constante de formation du complexe i,j à force ionique donnée, $\gamma_{i,j}$ est le coefficient d'activité du complexe i,j , et γ_i ainsi que γ_j sont respectivement les coefficients d'activité des espèces i et j .

2.1.1 Recherche des constantes thermodynamiques

Les constantes de formation des différentes espèces sont nécessaires afin d'évaluer la mobilité des ÉGP ainsi que le lien entre la spéciation de ces métaux et leur biodisponibilité et toxicité. Pour les éléments du groupe platine, il y a peu de constantes disponibles dans la littérature (Fortin *et al.*, 2011). Pour le palladium, la majorité des constantes de formation étaient présentes dans la base de données du logiciel WHAM et celle pour le complexe avec l'EDTA a été trouvée dans la version 8 de la base de données 46 de NIST. Les constantes de formation utilisées pour les simulations en présence de Pd sont présentées au Tableau 2.1 ci-dessous. Cependant, pour le platine, aucune constante de formation n'était présente dans le logiciel WHAM et peu de constantes se trouvaient dans la littérature ou dans la base de données NIST version 8. Ainsi, certaines constantes de formation utilisées pour le platine ont été déterminées à une force ionique élevée, soit 1,0 M, et n'ont pas pu être corrigées à l'aide de l'équation de Davies. Pour ces raisons, lors des simulations WHAM avec le platine, il a fallu utiliser certaines constantes de formation pour le palladium. C'est ce que Guillaume Tétrault avait également fait lors de ses travaux de maîtrise, car il avait observé que les constantes de formation de ces deux métaux pour un ligand donné suivent les mêmes tendances (Tétrault, 2014). De plus, Hancock *et al.* (1977) avaient démontré que les constantes de stabilité des complexes de Pd(II) sont fortement corrélées avec celles des complexes de Pt(II) et Pt(IV). Les constantes de formations utilisées pour les

complexes avec le platine sont présentées au Tableau 2.2. Pour la complexation du platine par l'acide humique, c'est la constante de formation présente dans WHAM pour la complexation du palladium par l'acide humique qui a été utilisée.

2.1.2 Tableaux des constantes thermodynamiques

Tableau 2.1 : Constantes de formation de complexes avec Pd(II), I = 0 M (sauf indication contraire).

| Réaction | log K ou log β | Référence |
|--|----------------------|------------------------------|
| $\text{Pd}^{2+} + \text{OH}^- \rightarrow \text{PdOH}^+$ | 12,14 ^(a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $\text{Pd}^{2+} + 2 \text{OH}^- \rightarrow \text{Pd(OH)}_2$ | 24,21 ^(a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $\text{Pd}^{2+} + 3 \text{OH}^- \rightarrow \text{Pd(OH)}_3^-$ | 26,07 ^(a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $\text{Pd}^{2+} + 4 \text{OH}^- \rightarrow \text{Pd(OH)}_4^{2-}$ | 26,64 ^(a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $\text{Pd}^{2+} + \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{PdSO}_4$ | 2,91 ^(a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $\text{Pd}^{2+} + 2 \text{SO}_4^{2-} \rightarrow \text{Pd(SO}_4)_2^{2-}$ | 4,17 ^(a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $\text{Pd}^{2+} + \text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{PdCO}_3$ | 6,83 ^(a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $\text{Pd}^{2+} + 2 \text{CO}_3^{2-} \rightarrow \text{Pd(CO}_3)_2^{2-}$ | 12,53 ^(a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $\text{Pd}^{2+} + \text{Cl}^- \rightarrow \text{PdCl}^+$ | 5,1 ^(a) | Hummel <i>et al.</i> (2002) |
| $\text{Pd}^{2+} + 2 \text{Cl}^- \rightarrow \text{PdCl}_2$ | 8,3 ^(a) | Hummel <i>et al.</i> (2002) |
| $\text{Pd}^{2+} + 3 \text{Cl}^- \rightarrow \text{PdCl}_3^-$ | 10,9 ^(a) | Hummel <i>et al.</i> (2002) |
| $\text{Pd}^{2+} + 4 \text{Cl}^- \rightarrow \text{PdCl}_4^{2-}$ | 11,7 ^(a) | Hummel <i>et al.</i> (2002) |
| $\text{Pd}^{2+} + \text{NH}_3 \rightarrow \text{PdNH}_3^{2+}$ | 9,6 ^(b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $\text{Pd}^{2+} + 2 \text{NH}_3 \rightarrow \text{Pd(NH}_3)_2^{2+}$ | 18,5 ^(b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $\text{Pd}^{2+} + 3 \text{NH}_3 \rightarrow \text{Pd(NH}_3)_3^{2+}$ | 26,0 ^(b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $\text{Pd}^{2+} + 4 \text{NH}_3 \rightarrow \text{Pd(NH}_3)_4^{2+}$ | 32,8 ^(b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $\text{Pd}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightarrow \text{PdEDTA}^{2-}$ | 25,35 ^(c) | Martell <i>et al.</i> (2004) |

(a) Constantes présentes dans la base de données de WHAM.

(b) Force ionique non corrigée (I = 1,0 M).

(c) EDTA = acide éthylènediaminetétraacétique (C₁₀H₁₆N₂O₈).

Tableau 2.2 : Constantes de formation de complexes avec Pt(II), I = 0 M sauf indication contraire.

| Réaction | log K ou log β | Référence |
|---|----------------------|-------------------------------|
| $Pt^{2+} + OH^- \rightarrow PtOH^+$ | 24,91 | Azaroual <i>et al.</i> (2001) |
| $Pt^{2+} + 2 OH^- \rightarrow Pt(OH)_2$ | 29,91 | Azaroual <i>et al.</i> (2001) |
| $Pt^{2+} + SO_4^{2-} \rightarrow PtSO_4$ | 0,56 | Azaroual <i>et al.</i> (2001) |
| $Pt^{2+} + 2 SO_4^{2-} \rightarrow Pt(SO_4)_2^{2-}$ | 2,38 | Azaroual <i>et al.</i> (2001) |
| $Pt^{2+} + 3 SO_4^{2-} \rightarrow Pt(SO_4)_3^{4-}$ | 3,67 | Azaroual <i>et al.</i> (2001) |
| $Pt^{2+} + CO_3^{2-} \rightarrow PtCO_3$ | 6,83 (a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $Pt^{2+} + 2 CO_3^{2-} \rightarrow Pt(CO_3)_2^{2-}$ | 12,53 (a) | Duro <i>et al.</i> (2006) |
| $Pt^{2+} + Cl^- \rightarrow PtCl^+$ | 5,0 (b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $Pt^{2+} + 2 Cl^- \rightarrow PtCl_2$ | 9,0 (b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $Pt^{2+} + 3 Cl^- \rightarrow PtCl_3^-$ | 11,9 (b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $Pt^{2+} + 4 Cl^- \rightarrow PtCl_4^{2-}$ | 14,0 (b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $Pt^{2+} + NH_3 \rightarrow PtNH_3^{2+}$ | 9,6 (a), (b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $Pt^{2+} + 2 NH_3 \rightarrow Pt(NH_3)_2^{2+}$ | 18,5 (a), (b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $Pt^{2+} + 3 NH_3 \rightarrow Pt(NH_3)_3^{2+}$ | 26,0 (a), (b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $Pt^{2+} + 4 NH_3 \rightarrow Pt(NH_3)_4^{2+}$ | 32,8 (a), (b) | Martell <i>et al.</i> (2004) |
| $Pt^{2+} + EDTA^{4-} \rightarrow PtEDTA^{2-}$ | 25,35 (a) | Martell <i>et al.</i> (2004) |

(a) log K pour complexe avec Pd(II).

(b) Force ionique non corrigée (I = 1,0 M).

2.2 Dialyse à l'équilibre

La dialyse à l'équilibre est une technique de séparation basée sur la taille des composés. Cette technique est couramment utilisée afin de déterminer la spéciation d'un métal dans une solution contenant de la matière organique naturelle. En effet, la dialyse a été utilisée pour déterminer la spéciation de l'euporium (Leguay *et al.*, 2016), de l'argent (Chen *et al.*, 2012), du diéthyl-dithiocarbamate de cadmium $Cd(DDC)_2$ et du éthyl-xanthate de cadmium $Cd(XANT)_2$ (Boullemant *et al.*, 2007) en présence d'acide humique (SRHA). Les membranes à dialyse Spectra/Por Float-A-Lyzer G2 de chez Cole Parmer ont été utilisées dans ce projet. Ces sacs sont formées d'ester de cellulose (CE) et ils ont une capacité de 5 mL et un seuil de rétention des molécules (*Molecular weight cut-off* ou MWCO) de 100 ou 500 Daltons.

2.2.1 Conditionnement des membranes

Avant chaque expérience, les membranes étaient conditionnées selon les directives du fournisseur, comme suit : (1) les membranes étaient remplies et submergées dans de l'isopropanol 10 % durant 10 min afin d'enlever la glycérine; (2) l'intérieur et l'extérieur des membranes étaient rincés à l'aide d'eau Milli-Q; (3) à trois reprises, elles étaient remplies et submergées dans de l'eau Milli-Q durant 15 min.

2.2.2 Milieu de dialyse

Le milieu qui a été utilisé pour les expériences de dialyse à l'équilibre est un milieu de culture simplifié. Il contenait les principaux ions majeurs présents dans le milieu de culture de *Chlamydomonas reinhardtii* (MHSM-1). Leurs concentrations respectives sont présentées au Tableau 2.3. La force ionique de ce milieu était de 20 mÉq/L.

Tableau 2.3 : Concentrations des espèces dans le milieu électrolytique simplifié utilisé pour la dialyse à l'équilibre.

| Ions | Concentrations (M) |
|-------------------------------|---|
| Mg ²⁺ | 8,11 x 10 ⁻⁵ |
| SO ₄ ²⁻ | 8,11 x 10 ⁻⁵ |
| Ca ²⁺ | 6,80 x 10 ⁻⁵ |
| K ⁺ | 1,93 x 10 ⁻² |
| Na ⁺ | 1,87 x 10 ⁻⁴ |
| NO ₃ ⁻ | 1,96 x 10 ⁻² |
| Cl ⁻ (a) | 6,44 x 10 ⁻⁶ – 8,26 x 10 ⁻⁵ |

(a) Les ions Cl⁻ proviennent des étalons ICP-MS 1 000 mg/L dans HCl 10 % (SCP Sciences) utilisés comme source de Pt ou Pd. [Cl⁻] varie selon [M]_{tot} en solution et selon le métal.

2.2.3 Conditions expérimentales

Dans ce projet, la dialyse à l'équilibre a été utilisée pour quantifier la complexation du Pt par l'acide humique (SRHA). Lors des expériences, 200 mL de milieu électrolytique simplifié étaient placés dans un flacon en polycarbonate de 250 mL et les concentrations désirées en platine et en acide humique y étaient ajoutées. Le milieu était placé sous agitation et laissé équilibrer durant

24 h, puis la membrane à dialyse y était insérée avec son anneau de flottaison. L'intérieur de la membrane à dialyse était rempli avec seulement 5 mL de milieu électrolytique; aucun métal n'y était ajouté. Le pH était le même dans les solutions interne et externe, et il était vérifié dans le milieu externe avant l'ajout de la membrane à dialyse dans celui-ci et il était vérifié dans la solution interne avant le remplissage de la membrane. Le flacon était ensuite scellé et placé sur une plaque d'agitation orbitale durant le temps nécessaire afin d'atteindre l'équilibre osmotique entre les solutions interne et externe. Les expériences étaient réalisées dans le noir afin d'éviter la photolyse de l'acide humique. Durant les expériences, les substances ayant une masse moléculaire inférieure à 100 ou 500 Da, telles que les ions métalliques libres et les complexes inorganiques, pouvaient passer à travers la membrane tandis que les substances ayant une masse moléculaire supérieure à 100 ou 500 Da, telles que l'acide humique et ses complexes avec les ions métalliques, étaient retenues à l'extérieur de la membrane à dialyse.

À la fin de l'expérience, comme la concentration de métal inorganique est en équilibre à l'intérieur et à l'extérieur de la membrane, il est possible de calculer la concentration de métal liée à l'acide humique en faisant la différence entre les concentrations de métaux à l'extérieur et à l'intérieur de la membrane, selon l'équation 2.4 ci-dessous.

$$(2.4) \quad [M - SRHA] = [M]_{ext.} - [M]_{int.}$$

2.3 Ultrafiltration partielle

L'ultrafiltration est une méthode alternative à la dialyse. Il s'agit également d'une méthode de séparation basée sur la taille des composés. Cette méthode est communément utilisée afin de déterminer la spéciation de métaux en milieux aquatiques naturels, c'est-à-dire en présence de matière organique naturelle (Guo *et al.*, 2000; Hassan *et al.*, 2006; Tanizaki *et al.*, 1985). La principale différence entre l'ultrafiltration est les autres techniques de séparation membranaire est le diamètre des pores. Pour l'ultrafiltration, celles-ci sont dans la gamme de 300 Da à 3 000 kDa, soit approximativement entre 1 et 20 nm (Küchler & Miekeley, 1994).

Dans ce projet, c'est l'ultrafiltration par centrifugation qui a été utilisée. Les dispositifs d'ultrafiltration utilisés sont des flacons Vivaspin 20 mL de Sartorius à usage unique. Il s'agit de flacons de 50 mL en polycarbonate à l'intérieur desquels une membrane en polyéthersulfone (PES) est placée. Dû aux problèmes rencontrés avec les membranes en cellulose régénérée (CR) lors des expériences de dialyse à l'équilibre, des membranes en PES ont été sélectionnées

par rapport à la CR pour l'ultrafiltration. Cependant, les pores des membranes en CR sont souvent plus petits que ceux des membranes en PES, et ce pour un même MWCO fournie par les manufacturiers (Lee *et al.*, 2008).

Le seuil de rétention choisi pour nos expériences est de 3 kDa. Ce seuil est supérieur à celui utilisé pour la dialyse à l'équilibre (100 ou 500 Da), mais c'est le seuil de rétention le plus petit trouvé pour des dispositifs d'ultrafiltration ayant un volume supérieur à 1 mL. Toutefois, des expériences préliminaires ont démontré qu'au moins 95 % de l'acide humique du fleuve Suwannee présent dans le milieu au départ de l'ultrafiltration partielle est retenu par les pores de 3 kDa.

La rétention de composé dépend de ses caractéristiques physico-chimiques et de sa masse moléculaire (Staub *et al.*, 1984). Kùchler *et al.* ont démontré que la rétention de la MON dépend du pH et de la force ionique du milieu, des caractéristiques de la membrane et des caractéristiques des ions telles que leur charge et leur grosseur (Kùchler & Miekeley, 1994).

Revchuk *et al.* ont étudié la capacité de quelques membranes à séparer les différentes fractions de la matière organique naturelle. Ils ont observé une bonne reproductibilité lors de leurs expériences, particulièrement avec les membranes négativement chargées ayant de faibles seuils de rétention, telles que les membranes en cellulose régénérée ayant une MWCO de 1 kDa et celle en polyéthersulfone ayant une MWCO de 5 kDa (Revchuk & Suffet, 2009). Les travaux de Aoustin *et al.* ont démontré que la rétention de SRHA par des membranes de 10 kDa en cellulose régénérée se situe entre 74 et 87 %, bien qu'ils mentionnent que la masse moléculaire moyenne de l'acide humique du fleuve Suwannee est de 2 748 g/mol (Aoustin *et al.*, 2001).

2.3.1 Conditionnement des membranes

Les membranes sont traitées à l'aide de glycérine afin de les préserver avant leur utilisation. Celle-ci est utilisée par les fabricants pour empêcher les membranes de sécher (Aoustin *et al.*, 2001). Les membranes contiennent donc des quantités importantes de carbone organique provenant de la glycérine qui doivent être enlevées avant le début des expériences. Pour ce faire, deux méthodes de rinçage ont été comparées, les résultats sont présentés à l'annexe I. La méthode sélectionnée consiste à laisser tremper les membranes dans de l'eau milli-Q durant 96 h, puis de réaliser trois filtrations de 35 min chacune à 5 000 tr/min (4 193 g), ensuite de laisser tremper les membranes dans le l'eau milli-Q durant 48 h, réaliser à nouveau quatre filtrations de 35 min chacune à 5 000 tr/min (4 193 g), de laisser tremper les membranes durant un autre 48 h

et finalement réaliser trois filtrations de 35 min chacune à 5 000 tr/min (4 193 g). Pour ces filtrations, 20 mL d'eau milli-Q ont été ajoutés dans les dispositifs d'ultrafiltration, soit le volume maximal que ceux-ci peuvent contenir. Le temps de filtration sélectionné (35 min) permet de faire passer environ 15 mL d'eau milli-Q à travers la membrane. Il s'agit du volume maximal pouvant passer à travers la membrane sans sécher celle-ci. Un volume de 20 mL d'eau milli-Q a également été ajouté dans les dispositifs lors des trempages. Ce conditionnement a été réalisé avant chaque utilisation des membranes; il comportait dix ultrafiltrations partielles et 192 h de trempage. Lors d'une expérience préliminaire, une concentration de $2\,320 \pm 40$ mg C/L provenant de la glycérine a été mesurée lors de la filtration d'eau milli-Q sans rinçage préalable des membranes. Une concentration de $1,305 \pm 0,005$ mg C/L a été mesurée dans les mêmes conditions suite au conditionnement des membranes. Cette expérience préliminaire a été réalisée en double et démontre l'efficacité de la méthode de rinçage sélectionnée. En effet, plus de 2 000 mg C/L provenant de la glycérine ont été enlevés suite à ce conditionnement. Cependant, à la fin du conditionnement, on retrouve tout de même des concentrations de carbone organique dissous provenant de la glycérine inférieures ou égales à 2 mg C/L.

2.3.2 Milieu d'ultrafiltration

Deux milieux électrolytiques ont été utilisés pour les expériences d'ultrafiltration, soit le milieu de culture simplifié utilisé pour les expériences de dialyse ainsi que le milieu MHSM-1 utilisé comme milieu d'exposition lors des expériences de toxicité avec *Chlamydomonas reinhardtii*. Les concentrations des ions majeurs composant le milieu de culture simplifié sont présentées au Tableau 2.3 ci-dessus et celles composant le milieu MHSM-1 sont présentées au Tableau 2.5 ci-dessous.

2.3.3 Conditions expérimentales

Lors des expériences, 20 mL de milieu électrolytique contenant les concentrations d'acide humique et de métaux désirées ont été ajoutés au-dessus de la membrane. Le dispositif était alors centrifugé à environ 5 000 tr/min durant 8 min à l'aide d'une centrifugeuse Damon de IEC division possédant un rotor ayant un rayon de 15 cm (4 193 g). Le court temps de filtration et le petit volume filtré permettent d'éviter de concentrer les échantillons contenant la matière organique naturelle, ce qui modifierait la spéciation des métaux dans le milieu, et diminuent

également le risque de formation de dépôts de MON à la surface des membranes qui pourraient bloquer les pores de celles-ci. En effet, la MON est reconnue pour obstruer facilement les pores des membranes (Aoustin *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2008). Plusieurs facteurs peuvent contribuer à l'obstruction des membranes par la matière organique naturelle, tels que la chimie et la morphologie de la surface de la membrane, les conditions hydrodynamiques, la force ionique du milieu et la concentration des ions le composant (Kim *et al.*, 1992).

Durant les expériences, ce sont les forces centrifuge et gravitationnelle qui permettent aux substances ayant une masse moléculaire inférieure à 3 kDa de passer à travers la membrane. Les substances solubles ou colloïdales ayant une masse moléculaire supérieure à 3 kDa sont, quant à elles, retenues à la surface de la membrane. À la fin de l'expérience, les complexes inorganiques ainsi que les ions métalliques libres se retrouvent à des concentrations quasi identiques dans le filtrat et le rétentat tandis que les complexes métal – acide humique se retrouvent principalement dans le rétentat.

La concentration d'acide humique au départ, ainsi que celles dans le filtrat et le rétentat après l'ultrafiltration ont été déterminées à l'aide d'un spectrofluorimètre. Les concentrations en métaux dans ces mêmes fractions ont été déterminées à l'aide d'un ICP-MS. À partir de ces résultats, il est possible de calculer la fraction de métal inorganique ainsi que la fraction de métal liée à l'acide humique selon les équations 2.5 et 2.6 ci-dessous :

$$(2.5) \quad \textit{Fraction inorganique} = \frac{[M]_{\textit{filtrat}}}{[M]_{\textit{rétentat}}} \times 100$$

$$(2.6) \quad \textit{Fraction liée à SRHA} = 100 - \textit{Fraction inorganique}$$

2.4 Organisme à l'étude

L'organisme à l'étude dans ce projet est une algue verte unicellulaire. Les algues sont couramment utilisées dans notre laboratoire, et elles permettent donc de faire des liens entre les projets réalisés par les étudiants au fil des années. De plus, beaucoup d'études ont été réalisées ailleurs dans le monde sur cet organisme. On retrouve donc une quantité importante d'informations sur les algues vertes unicellulaires dans la littérature. Il s'agit de producteurs primaires qui sont présents en milieu terrestre comme en milieu aquatique. Puisqu'elles sont au

bas de la chaîne trophique, leur contamination pourrait avoir un impact sur les maillons trophiques supérieurs.

Les algues peuvent croître dans des milieux relativement simples, ce qui permet de déterminer la spéciation des métaux dans ces milieux à l'aide de modèles thermodynamiques ou de méthodes expérimentales. Elles sont également faciles à manipuler et peuvent être dénombrées rapidement à l'aide d'un compteur de particules.

2.4.1 Chlamydomonas reinhardtii

C'est l'algue verte unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii* qui a été sélectionnée dans ce projet. Il s'agit d'un organisme modèle très utilisé en biologie. Cette algue verte a été utilisée lors de plusieurs expériences de prise en charge de métaux dans le laboratoire du professeur Fortin, notamment dans le cas de l'uranium (Fortin *et al.*, 2004), de l'argent (Lee *et al.*, 2005), du cadmium (Boullemant *et al.*, 2009), des éléments du groupe platine (Tétrault, 2014) et du chrome (Aharchaou *et al.*, 2017). C'est une algue de forme ellipsoïde qui possède deux flagelles qui lui permettent de se déplacer et sa taille se situe entre 3 et 25 μm (Harris *et al.*, 2009). La souche utilisée lors des expériences est *Chlamydomonas reinhardtii* Dang (CPCC11). Celle-ci provenait du *Canadian Phycological Culture Center* (CPCC) situé à l'Université de Waterloo en Ontario.

2.4.2 Entretien et culture des algues

Afin d'assurer un bon état physiologique de *Chlamydomonas reinhardtii*, les algues étaient repiquées chaque semaine. Le transfert s'effectuait en milieu stérile, c'est-à-dire près d'une flamme sous une hotte à flux laminaire, afin d'empêcher la contamination bactérienne des cultures. Lors du transfert, environ 1 mL de la culture algale précédente était ajouté à 100 mL de milieu de culture MHSM-1 stérile. La culture des algues a été effectuée dans des erlenmeyers en verre borosilicaté de 250 mL préalablement autoclavés. Les erlenmeyers étaient placés sur une plaque agitatrice (60 rotations par min) à l'intérieur d'une chambre de croissance (Convicon CMP4030) dont la température et la luminosité étaient gardées constantes, soit $20,0 \pm 0,1$ °C pour la température et 100 ± 10 μE ($\mu\text{mol}/\text{m}^2/\text{s}$) pour la luminosité. La photopériode était de 24 h et l'éclairage était permanent durant cette période. L'absence de bactéries dans les cultures était vérifiée de façon mensuelle par une incubation des algues sur un gel d'agarose à 30 °C.

2.5 Milieux de culture et d'exposition

2.5.1 Matériel de laboratoire

Avant d'être utilisé, tout le matériel de laboratoire a été trempé dans l'acide nitrique 10 % v/v durant 24 h, rincé trois fois avec de l'eau déminéralisée et cinq fois avec de l'eau Milli-Q (eau ultrapure ayant une résistivité de 18 M Ω ·cm), puis séché sous une hotte à flux laminaire.

Des flacons de 250 mL en polycarbonate ont été utilisés pour les expériences de dialyse et les expositions. Des dispositifs d'ultrafiltration en polycarbonate ont également été utilisés. Le polycarbonate a été choisi, car il permet de diminuer l'adsorption du palladium sur les parois des flacons. Ce matériau est couramment utilisé pour les éléments du groupe platine (Roy, 2009; Tétraut, 2014). Gabrielle Roy a comparé l'adsorption du palladium sur les parois de différents contenants durant 96 h. Le téflon (polytétrafluoroéthylène), le polycarbonate et le pyrex (verre borosilicaté) ont été comparés. Ils présentaient tous des pertes en métal du même ordre, bien que la variabilité des résultats était plus élevée avec le téflon (Roy, 2009). Dans le cadre de ce projet, nous avons comparé le polypropylène au polycarbonate et avons observé une diminution de l'adsorption du Pd sur les parois des flacons en utilisant du polycarbonate à la place du polypropylène. En effet, lors des expériences préliminaires, il y avait environ 75 % de la concentration initiale de Pd qui était adsorbée sur les parois des flacons en polypropylène après 3 jours. Lors de l'utilisation de contenants en polycarbonate, c'était environ 50 % de la concentration initiale qui était adsorbée sur les parois. Pour le Pt, l'adsorption sur les parois des flacons était inférieure à 1 % pour le polypropylène et le polycarbonate.

Cobelo-Garcia *et al.* ont également comparé l'adsorption des ÉGP (Pd(II), Pt(IV) et Rh(III)) sur différents matériaux synthétiques. En eau douce, le Pd(II) était le métal le plus problématique. Les auteurs ont conclu que le polytétrafluoroéthylène (PFE) et le verre borosilicaté sont les matériaux à prioriser au polypropylène (PP) et au polyéthylène de basse densité (LDPE) afin de diminuer l'adsorption des ÉGP. Ils ont également conclu que la composition du milieu peut influencer l'adsorption des métaux. En effet, la MON a un effet important sur la récupération des ÉGP. L'adsorption du palladium est diminuée en présence de MON dû à la formation de complexes stables et solubles. Curieusement, l'effet inverse est observé pour le platine. La présence de MON diminue sa récupération, ce qui est potentiellement causé par la formation d'interactions hydrophobes entre les parois des contenants en plastique et les complexes Pt(IV) – matière organique naturelle (Cobelo-Garcia *et al.*, 2007).

2.5.2 Solutions mères de platine et de palladium

Des solutions mères de platine et de palladium ont été préparées à partir d'étalons certifiés PlasmaCal 1 000 ppm dans HCl 10 % de la compagnie SPC science. Les concentrations de celles-ci étaient de 1×10^{-4} M. Elles ont été utilisées comme source de Pt et Pd pour les expériences de dialyse et d'ultrafiltration ainsi que pour les essais de toxicité avec *Chlamydomonas reinhardtii*.

2.5.3 Matière organique naturelle

L'acide humique qui a été utilisé pour ce projet provenait du fleuve Suwannee (SRHA Standard II provenant de l'*International Humic Substances Society* (catalogue number 2S101H, USA)). Une solution mère de 250 mg/L de SRHA a été préparée dans une solution d'hydroxyde de sodium (0,01 M NaOH) selon la méthode présentée par Leguay *et al.* (2016). La solution a été agitée dans le noir à température ambiante durant 24 h afin d'assurer sa dissolution, puis elle a été filtrée sur un filtre en polyéthersulfone (PES) de 0,45 μm . Les échantillons contenant de l'acide humique ainsi que la solution mère étaient conservés dans le noir afin d'éviter la photolyse (Leguay *et al.*, 2016). Une analyse du carbone organique dissous présent dans la solution mère a été réalisée à l'aide de l'appareil Shimadzu VCPH. Cette analyse confirme que l'acide humique du fleuve Suwannee contient environ 50 % de carbone. En effet, la concentration obtenue expérimentalement après trois mesures est de 116 ± 1 mg C/L et la solution mère contenait une concentration nominale de 250 mg/L d'acide humique.

2.5.4 Produits, réactifs et solutions intermédiaires

Les solutions intermédiaires utilisées pour préparer les milieux de culture et d'exposition ont été préparées à partir d'eau Milli-Q et de produits chimiques ayant une pureté égale ou supérieure à 95 %. Celles-ci sont présentées au Tableau 2.4 ci-dessous. Les solutions ont toutes été filtrées sur une membrane Millipore en polycarbonate ayant une porosité de 0,2 μm , à l'exception de la solution de NaOH 1 M qui a été filtrée sur une membrane en polyéthersulfone (PES) ayant également une porosité de 0,2 μm . Cette membrane a été préalablement immergée dans l'eau Milli-Q 24 h avant la filtration. Les solutions intermédiaires étaient conservées à 4 °C à l'abri de la lumière.

2.5.5 Milieu de culture

Le milieu *Modified High Salt Medium* (MHSM-1) a été utilisé pour la culture des algues; il est présenté aux Tableau 2.4 et Tableau 2.5 ci-dessous. Ce milieu a été utilisé par Gabrielle Roy (2009), Guillaume Tétrault (2014) et Kim Racine (2016) lors de leurs travaux de maîtrise afin de cultiver l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii*. Ces derniers travaillaient tous avec les éléments du groupe platine. Afin de préparer ce milieu, 5 mL de la solution Ammonium, 250 µL de la solution Phosphate, 4 mL de la solution Nitrate et 100 mL de tampon MES (acide 2-(4-morpholinyl)éthanesulfonique) ont été ajoutés à une fiole jaugée de 1 L et le volume était complété avec de l'eau Milli-Q. Le pH était ensuite ajusté à 6,0 à l'aide de NaOH 1 M et la solution était autoclavée à 121 °C durant 15 min. Finalement, 1 mL de la solution AAP (Algal Assay Procedure) a été ajouté 24 h plus tard afin de compléter le milieu. Les AAP sont ajoutés après l'autoclavage afin d'éviter la précipitation de composés peu solubles à température élevée. La solution de métaux traces (AAP) doit elle-même être préparée en plusieurs étapes afin d'éviter la formation de précipités. La force ionique de ce milieu est de 8,4 mÉq/L.

Tableau 2.4 : Milieu de culture MHSM-1 pour *Chlamydomonas reinhardtii*.

| Solutions intermédiaires | Volume utilisé ^(a) | Composantes | Concentrations |
|---------------------------------|--------------------------------------|--|-----------------------|
| Ammonium | 5 mL/L | MgSO ₄ ·7H ₂ O | 4,00 g/L |
| | | Ca(NO ₃) ₂ ·4H ₂ O | 3,21 g/L |
| | | NH ₄ NO ₃ | 15,0 g/L |
| Phosphate | 250 µL/L | KH ₂ PO ₄ | 29,6 g/L |
| | | K ₂ HPO ₄ | 57,6 g/L |
| Nitrate | 4 mL/L | KNO ₃ | 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 ^(b) (1 g/L) | 1,59 mg/L |
| | | Co ^(b) (1 g/L) | 0,64 mg/L |
| | | Mo ^(b) (1 g/L) | 2,88 mg/L |
| | | Cu ^(b) (1 g/L) | 4,47 µg/L |
| Tampon | 100 mL/L | MES | 21,33 g/L |
| NaOH (1 M) | Variable ^(c) | NaOH | 40 g/L |

(a) Volume de solution mère nécessaire pour préparer le milieu de culture où volume final = 1 L.

(b) Étalon pour absorption atomique dans une matrice de HNO₃.

(c) NaOH 1 M est utilisé pour ajuster le pH du milieu à 6,0.

Tableau 2.5 : Concentrations des espèces dans le milieu MHSM-1 et les milieux de rinçage.

| Espèces | MHSM-1 (M) | Milieu de rinçage sans EDTA (M) | Milieu de rinçage avec EDTA (M) |
|------------------------|--|--|--|
| BO₃ | 3,01 x 10 ⁻⁶ | - | - |
| Ca | 6,80 x 10 ⁻⁵ | 6,80 x 10 ⁻⁵ | 6,80 x 10 ⁻⁵ |
| Cl | 5,97 x 10 ⁻⁶ | 5,97 x 10 ⁻⁶ | 5,97 x 10 ⁻⁶ |
| Co | 1,09 x 10 ⁻⁸ | - | - |
| CO₃ | atm ^(a) | atm ^(a) | atm ^(a) |
| Cu | 7,03 x 10 ⁻¹¹ | - | - |
| EDTA | 8,06 x 10 ⁻⁷ | - | 1,00 x 10 ⁻⁵ |
| Fe | 5,92 x 10 ⁻⁷ | - | - |
| K | 4,22 x 10 ⁻³ | 4,22 x 10 ⁻³ | 4,22 x 10 ⁻³ |
| Mg | 8,11 x 10 ⁻⁵ | 8,11 x 10 ⁻⁵ | 8,11 x 10 ⁻⁵ |
| Mn | 2,10 x 10 ⁻⁶ | - | - |
| MoO₄ | 3,00 x 10 ⁻⁸ | - | - |
| Na | 4,00 x 10 ⁻³ ^(b) | 1,61 x 10 ⁻⁶ ^(b) | 2,00 x 10 ⁻⁵ ^(b) |
| NH₄ | 9,37 x 10 ⁻⁴ | 9,37 x 10 ⁻⁴ | 9,37 x 10 ⁻⁴ |
| NO₃ | 5,07 x 10 ⁻³ | 5,07 x 10 ⁻³ | 5,07 x 10 ⁻³ |
| PO₄ | 1,37 x 10 ⁻⁴ | 1,37 x 10 ⁻⁴ | 1,37 x 10 ⁻⁴ |
| SO₄ | 8,11 x 10 ⁻⁵ | 8,11 x 10 ⁻⁵ | 8,11 x 10 ⁻⁵ |
| Zn | 2,43 x 10 ⁻⁸ | - | - |
| MES | 1,00 x 10 ⁻² | - | - |

(a) À l'équilibre avec l'atmosphère.

(b) Valeur approximative en fonction du volume de NaOH 1 M ajouté afin d'ajuster le pH du milieu à 6.

2.5.6 Milieu d'exposition au Pt

Le milieu d'exposition était le milieu MHSM-1 présenté aux Tableau 2.4 et Tableau 2.5 ci-dessus, auquel on ajoute les quantités désirées en platine et en acide humique. Ce milieu a été préparé en ajoutant 5 mL de la solution Ammonium, 250 µL de la solution Phosphate, 4 mL de la solution Nitrate et 100 mL de tampon MES pour 1 L de milieu. Le pH était ensuite ajusté à 6,0 et la solution était autoclavée à 121 °C durant 15 min. Le lendemain, 1 mL de la solution AAP a été ajouté. Le milieu était ensuite placé dans des erlenmeyers de 250 mL utilisés pour les expositions, l'acide humique et le platine étaient directement ajoutés à chaque milieu (n=3 pour chaque

concentration). Aucune exposition n'a été réalisée avec le Pd, dû à sa forte adsorption sur les parois des flacons. Pour les expositions sans SRHA, les concentrations nominales de Pt étaient de 5, 10, 20, 30, 50 et 100 µg/L, soit 26, 51, 103, 154, 256 et 513 nM. Il s'agit de la gamme de concentration utilisée lors des essais de toxicité de Guillaume Tétrault (Tétrault, 2014). En plus de ces conditions d'exposition, il y avait des témoins de croissance algale (0 µg/L, n = 3) ainsi que des témoins vérifiant la concentration de platine dans le milieu d'exposition en absence d'algues (20 µg/L, n = 3). Pour les expositions avec SRHA, la concentration nominale d'acide humique était constante dans tous les erlenmeyers, soit 10 mg C/L. Tel que mentionné à la section 1.3.3, les concentrations en matière organique naturelle dans les lacs et rivières se situent généralement entre 2 et 10 mg C/L (Thurman, 1985). Pour cette exposition, les concentrations nominales de Pt étaient de 16, 45, 74, 139 et 200 µg/L, soit 80, 230, 377, 712 et 1025 nM. Les concentrations de Pt et de SRHA ont été sélectionnées en fonction de la fraction de platine liée à l'acide humique. En effet, selon des calculs basés sur les résultats préliminaires d'ultrafiltration partielle, elles permettent d'obtenir des concentrations de Pt inorganique similaires à celles mesurées lors de l'exposition en absence d'acide humique, soit 10, 30, 50, et 100 µg/L. En plus de ces concentrations, il y avait des témoins de croissance algale (0 µg/L, n = 3) et des témoins de croissance algale en présence de SRHA (0 µg/L, n = 3). Un milieu ayant une concentration de Pt inorganique de 150 µg/L a également été testé pour l'exposition en présence de SRHA. Le pH était réajusté au besoin après l'ajout de Pt et/ou de SRHA.

2.5.7 Milieux de rinçage

Deux milieux de rinçage ont été utilisés lors des expériences de toxicité, l'un sans EDTA et l'autre avec EDTA. La composition détaillée de ces milieux est présentée au Tableau 2.5 ci-dessus et leur pH est également de 6,0. Contrairement au milieu MHSM-1, le milieu de rinçage sans EDTA ne contenait pas d'oligoéléments (solution de métaux traces (AAP)) ni de tampon (MES) pour ajuster le pH. Ce milieu a été utilisé pour rincer les algues de la solution mère avant leur remise en suspension. Le milieu de rinçage avec EDTA, quant à lui, contenait 1 mL d'une solution d'EDTA 0,01 M. Il ne contenait pas non plus d'oligoéléments (solution de métaux traces (AAP)) et de tampon (MES) pour ajuster le pH. Ce milieu a été utilisé pour rincer les algues à la fin des expositions (96 h) afin d'enlever les métaux adsorbés à leur surface.

2.6 Essais de toxicité

2.6.1 Pré-inoculation

Les algues étaient conservées en phase de croissance exponentielle durant les 4 j précédents les expositions. Pour ce faire, un volume de 2 mL de culture algale a été transféré dans un erlenmeyer en verre contenant 100 mL de milieu de culture MHSM-1 96 h avant l'exposition et 10 mL de cette culture a été transféré dans un erlenmeyer en verre contenant 500 mL de milieu de culture MHSM-1 48 h avant l'exposition afin de s'assurer d'avoir une quantité d'algues suffisante pour le départ des expositions.

Les expositions ont été réalisées en triple. Pour l'expérience en absence d'acide humique, la croissance des algues dans des milieux contenant six concentrations différentes de platine a été vérifiée. Il y avait également des témoins de croissance algale ainsi que des témoins de la concentration de métal en solution (sans algues), pour un total de 24 échantillons. Pour l'expérience en présence d'acide humique, la toxicité du platine a été déterminée à l'aide de cinq concentrations différentes en platine ayant toutes la même concentration d'acide humique. Il y avait également des témoins de croissance algale ainsi que des témoins de croissance algale en présence d'acide humique. En plus de ces sept conditions, deux expositions contenant seulement du Pt dans le milieu d'exposition (sans SRHA) ont aussi été réalisées. Ces deux conditions nous ont permis de comparer le comportement des algues en présence de platine lors de cette exposition avec celui observé lors de la première expérience. Cette deuxième exposition comportait donc un total de 27 échantillons. Soixante-douze h avant l'inoculation, lors de chacune des expositions, un volume de 100 mL du milieu d'exposition était ajouté à chaque erlenmeyer de 250 mL en polycarbonate utilisé lors de l'expérience. Les volumes nécessaires de solution mère de platine et d'acide humique y étaient ajoutés. Le pH était ajusté à 6,0, puis les erlenmeyers étaient laissés légèrement ouverts sous la hotte à flux laminaire durant 72 h afin d'atteindre l'équilibre des espèces en solution. Le pH a été vérifié dans un seul erlenmeyer de chaque concentration afin de conserver la stérilité des milieux d'exposition. Ainsi, les volumes d'acide ou de base nécessaires afin d'ajuster le pH à 6,0 dans chaque condition étaient notés et ceux-ci étaient ensuite ajoutés aux deux autres erlenmeyers de la même concentration.

2.6.2 Exposition des algues

Le jour de l'inoculation, un échantillon de chaque milieu était prélevé et acidifié à 5 % à l'aide d'acide chlorhydrique de grade *trace metal*. Cet échantillon a permis de déterminer la concentration initiale de platine totale dans chaque milieu. Le pH a été vérifié de nouveau dans un seul erlenmeyer de chaque concentration avant l'inoculation.

Un échantillon de la culture algale de 500 mL a également été prélevé afin de vérifier sa densité cellulaire à l'aide du compteur de particules. Ensuite, la culture algale de 500 mL était filtrée à l'aide d'une rampe à filtration manuelle et les algues étaient récupérées sur des filtres de 2,0 µm en polycarbonate (25 mL de culture algale a été filtré par filtre afin d'éviter la saturation de ceux-ci). Les algues ont été rincées trois fois à l'aide de 10 mL de milieu de rinçage sans EDTA, puis remises en suspension. Pour la remise en suspension, tous les filtres étaient placés dans un tube Falcon^{MD} de 50 mL contenant 20 mL du milieu MHSM-1 sans métal. Les filtres étaient agités dans le tube contenant 20 mL de milieu MHSM-1, puis ils étaient retirés afin d'obtenir seulement les algues en suspension dans le milieu. La densité cellulaire de cette solution a été vérifiée de nouveau. Les erlenmeyers étaient alors tous inoculés à partir de la solution contenant les algues remises en suspension afin d'obtenir une densité cellulaire initiale entre 10 000 et 15 000 cellules/mL. Cette densité cellulaire initiale a été utilisée lors des essais de toxicité réalisés par Guillaume Tétrault (Tétrault, 2014) et Cédric Beaubien (Beaubien, 2015). Il s'agit d'un juste milieu entre la limite de détection du compteur de particules qui se situe aux environs de 10 000 cellules/mL (Roy, 2009) et le fait qu'une population importante de cellules dans un milieu pourrait affecter la spéciation des cations dans ce milieu (Franklin *et al.*, 2002). Les erlenmeyers inoculés étaient ensuite incubés dans une chambre de croissance ayant une photopériode de 24 h (éclairage permanent durant cette période).

À chaque temps, soit 0, 24, 48, 72 et 96 h, une aliquote de chaque erlenmeyer était prélevée afin de mesurer la densité cellulaire au compteur à particules. Le pH était également mesuré dans un erlenmeyer de chaque concentration afin de s'assurer de sa stabilité dans le temps. Pour le dosage du platine total en solution, 1,5 mL étaient prélevés à chaque temps et centrifugés dans un tube Ependorf à 5 000 tr/min durant 10 min dans une centrifugeuse possédant un rotor ayant un rayon 4 cm (1 118 g). Un millilitre du surnageant était ensuite récupéré sans perturber le culot et acidifié à 5 % HCl.

Pour les expositions en présence de SRHA, 3 mL étaient prélevés au départ et à la fin de l'exposition afin de doser la concentration d'acide humique en solution. L'ultrafiltration de 20 mL

du milieu a également été effectuée au départ et à la fin de l'exposition afin de vérifier la fraction de platine complexée par l'acide humique.

2.6.3 Décompte cellulaire

Un compteur de particules a permis de suivre la croissance algale; il s'agit du *Coulter Counter Multisizer III* de la compagnie Beckman Coulter. Le principe de fonctionnement de cet appareil est simple. Une solution électrolytique est introduite dans un tube ayant une ouverture de 70 μm se situant entre deux électrodes. Lorsqu'une particule passe dans ce tube, un volume équivalent de solution électrolytique est déplacé, ce qui crée une impulsion électrique dont l'amplitude est proportionnelle à la taille de la particule. L'appareil peut donc déterminer le nombre et la taille de particules qui passent dans le tube pour un volume ou un temps donné (Beckman, 2014).

Lors des expositions, la densité cellulaire des algues dans chaque erlenmeyer était mesurée toutes les 24 h. Un volume d'échantillon variant entre 100 μL et 1 mL était prélevé, placé dans une cuvette et le volume était complété à 10 mL à l'aide de la solution Isoton II. Un rinçage a été effectué entre chaque mesure et un blanc contenant 10 mL de solution Isoton II a été analysé au début et à la fin de chaque utilisation.

Afin de calculer la densité cellulaire de la solution mère et des échantillons prélevés durant les expositions, l'équation (2.7) ci-dessous était utilisée. La valeur de σ est donnée par l'appareil, le facteur de dilution est la dilution de l'échantillon dans la solution Isoton II afin de ne pas saturer l'appareil et 0,5 mL est le volume prélevé par l'appareil.

$$(2.7) \quad \text{Densité de la culture} \left(\frac{\text{cellules}}{\text{mL}} \right) = \frac{\sigma \times \text{facteur dilution}}{0,5 \text{ mL}}$$

À partir de la densité cellulaire de la solution mère (cellules/mL) et sachant qu'on désire une densité cellulaire initiale entre 10 000 et 15 000 cellules/mL dans les milieux d'exposition, il est possible de calculer le volume de solution algale à inoculer à chaque erlenmeyer contenant 100 mL de milieu d'exposition à l'aide de l'équation (2.8) ci-dessous.

$$(2.8) \quad \text{Volume à ajouter (mL)} = \frac{12\,000 \text{ cellules/mL} \times 100 \text{ mL}}{\text{Densité de la culture} \left(\frac{\text{cellules}}{\text{mL}} \right)}$$

2.6.4 Récupération des algues

La méthode qui a été sélectionnée pour la récupération des algues à la fin des expositions est la filtration, celle-ci ayant été privilégiée à la centrifugation par Guillaume Tétrault (Tétrault, 2014). Les filtrations ont été réalisées sur une rampe à filtration manuelle en s'assurant de ne pas appliquer un vide supérieur à 10 psi. Des filtres de 2,0 µm en polycarbonate ont été utilisés, car ils permettent une meilleure désorption des métaux comparativement aux filtres en nitrocellulose (Tétrault, 2014). Un volume de 40 mL de chaque erlenmeyer a été filtré, un volume qui permet d'obtenir une collecte d'algues maximale sans obstruer le filtre. Le filtrat était récupéré, puis 1 mL était acidifié à 5 % HCl afin de doser la concentration totale de Pt en solution. Pour les expositions en présence de SRHA, 20 mL du filtrat ont été utilisés pour l'ultrafiltration partielle et 3 mL ont été utilisés pour doser la concentration d'acide humique en solution. Les filtres ont été rincés deux fois avec 10 mL du milieu de rinçage avec EDTA afin d'enlever les métaux adsorbés à la surface des algues. Le filtrat de rinçage était également récupéré, acidifié à 5 % HCl et conservé.

2.6.5 Digestion des algues

Les digestions ont été réalisées selon la méthode présentée par Guillaume Tétrault (Tétrault, 2014). Les filtres récupérés étaient placés dans des tubes Falcon^{MD} de 50 mL, puis mis à sécher à l'étuve à 70 °C durant 48 h. Les tubes étaient ensuite placés sous la hotte chimique et 2,5 mL d'acide chlorhydrique concentré a été ajouté dans chacun des tubes. Les algues et les filtres étaient laissés digérer à froid durant 48 h. Le volume du tube était ensuite complété à 50 mL avec de l'eau Milli-Q afin d'obtenir une concentration en HCl de 5 %.

Des contrôles de digestion ont été réalisés lors de chaque expérience. Le matériel de référence certifié qui a été utilisé est le IAEA-450 de l'Agence internationale de l'énergie atomique (IAEA), il s'agit d'une micro algue unicellulaire (*Scenedesmus obliquus*). Pour le Pt, la valeur certifiée par l'IAEA est de $0,074 \pm 0,004$ mg kg⁻¹. Comme le résultat est présenté en mg kg⁻¹ de poids sec, le matériel de référence certifié était placé, avant la digestion, à l'étuve à 70 °C durant 4 h. Ensuite, 0,2 g étaient pesés et digérés à froid durant 48 h dans 2,5 mL d'HCl concentré. Les contrôles de digestion ont été réalisés en triplicata. Les concentrations de platine mesurées lors des contrôles de digestion sont présentés à l'annexe II.

2.7 Analyses des éléments du groupe platine

2.7.1 ICP-MS

La spectrométrie de masse à couplage inductif (ICP-MS) est souvent utilisée pour l'analyse des éléments du groupe platine, car il s'agit d'une technique multiélémentaire ayant une limite de détection très faible et qui possède une large gamme linéaire (Dubiella-Jackowska *et al.*, 2007).

L'appareil qui a été utilisé dans ce projet est un ICP-MS XSeries 2 de la compagnie Thermo Scientific. L'ICP-MS est divisé en deux parties principales, soit la torche à plasma et le spectromètre de masse, voir Figure 2.1. Tout d'abord, l'échantillon est nébulisé avant d'être introduit dans l'appareil. Le nébuliseur permet de transformer les échantillons liquides en petites gouttelettes. Celles-ci sont ensuite introduites dans la torche à plasma où elles sont désolvatées puis ionisées. Il s'agit d'une torche contenant un gaz inerte, l'argon, à très haute température (> 6 000 K). Les ions passent ensuite à travers deux cônes en nickel et une série de lentilles les dirigent vers le quadropôle, un filtre de masse dont la polarité s'inverse. Celui-ci permet de séparer les ions selon leur masse et leur charge (rapport m/z) afin qu'ils atteignent le détecteur séquentiellement. Le détecteur est de type multiplicateur d'électrons. Le spectromètre de masse permet d'obtenir des spectres simplifiés et une limite de détection plus basse comparativement à des spectromètres d'émission ou d'absorption atomique (Skoog *et al.*, 2007).

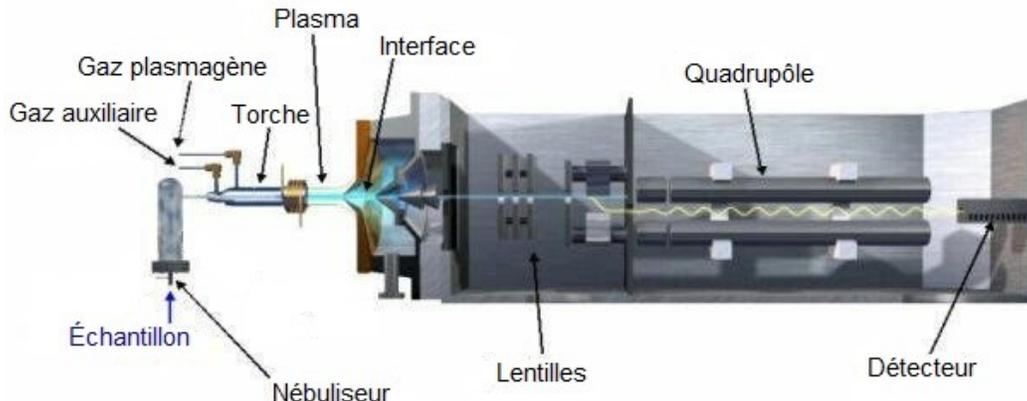


Figure 2.1 : Schéma d'un ICP-MS. Adapté de Jens Molecular and Nanoscale Analysis Laboratory, Université Washington à St-Louis.

2.7.2 Paramètres de l'ICP-MS

L'ICP-MS était calibré avant chaque analyse à l'aide d'une solution multiélémentaire de référence contenant 1 µg/L de Li, Be, Co, In, Ba, Ce et U. L'uranium et l'indium étaient utilisés afin de vérifier la stabilité et la sensibilité du signal. Leur coefficient de variation devait être inférieur à 1,5 % pour quatre lectures et le signal de l'uranium devait être supérieur à 80 000 coups par sec. Le ratio CeO/Ce devait être sous 0,02 afin de limiter la formation d'oxydes et le ratio Ba²⁺/Ba devait être sous 0,05 afin de limiter la formation d'espèces doublement ionisées. Ces paramètres pouvaient être modifiés en ajustant certaines pièces de l'appareil, soit la position de la torche face aux cônes, la pression dans le nébuliseur ainsi que la position des lentilles.

La courbe d'étalonnage était composée de Pt et de Pd, sa gamme de concentrations se situait entre 0,25 et 50 µg/L. Les métaux provenaient d'étalons certifiés PlasmaCal 1 000 µg/L dans HCl 10 % de la compagnie SPC science. Lors de chaque analyse, deux contrôles réalisés à partir de l'étalon multi-éléments certifiés plasmaCal C00 – 061 – 409 de SCP science étaient analysés afin de vérifier la courbe, cet étalon multi-éléments contenait 10 µg/L de Pt et de Pd dans 5,0 % HCl. Les contrôles avaient des concentrations respectives de 0,75 et 25 µg/L de Pt et Pd. Ils étaient également analysés tous les 12 échantillons afin de vérifier la déviation de l'appareil durant l'analyse. La limite de détection de la méthode (LDM) a été calculée en multipliant par trois l'écart-type de dix mesures de la solution étalon ayant la plus faible concentration, soit 0,25 µg/L. Lors des analyses, la LDM variait entre 0,005 et 0,009 µg/L pour le Pt et entre 0,007 et 0,01 µg/L pour le Pd. Pour l'acidification, c'est l'acide chlorhydrique qui a été choisi afin de diminuer l'adsorption du Pt et du Pd sur les parois des tubes en polypropylène. Les étalons étaient acidifiés à 5 % et la courbe d'étalonnage était conservée durant un mois. Après ce temps, une nouvelle courbe devait être utilisée, car l'adsorption devenait trop importante pour le palladium. Tous les contrôles et les échantillons analysés étaient également dans une matrice HCl 5 %. Trois isotopes ont été mesurés par l'appareil pour le platine, soit ¹⁹⁴Pt, ¹⁹⁵Pt et ¹⁹⁶Pt. Trois isotopes sont également mesurés pour le palladium, soit ¹⁰⁵Pd, ¹⁰⁶Pd et ¹⁰⁸Pd. Le ¹⁹⁵Pt et le ¹⁰⁶Pd ont été sélectionnés pour l'analyse des résultats, car ils ont une abondance naturelle élevée et sont sujets à peu d'interférences. Pour le ¹⁹⁵Pt, l'interférence principale est avec l'oxyde d'hafnium (¹⁷⁹Hf¹⁶O⁺). Les interférences avec l'oxyde d'hafnium ne posaient pas de problèmes lors des analyses à l'ICP-MS, car les échantillons analysés étaient synthétiques (aucun échantillon naturel n'a été analysé dans ce projet) et une attention particulière a été portée lors de leur préparation afin d'éviter toute contamination métallique.

Pour chaque échantillon, quatre lectures étaient effectuées. Entre les échantillons, l'appareil était rincé durant 30 sec avec de l'eau régale 5 %. Pour vérifier le signal, des étalons internes étaient introduits en même temps que les échantillons. Pour le platine, l'étalon interne utilisé était le ^{185}Re tandis que pour le palladium le ^{103}Rh était plutôt utilisé.

2.8 Analyse de la matière organique naturelle

2.8.1 Fluorescence

La fluorescence est l'émission de lumière par une substance lorsque celle-ci retourne à l'état fondamental depuis un état électronique excité. En général, ce sont les transitions d'électrons dans les orbitaux π qui donnent lieu à la fluorescence, donc les liaisons double ou triple. Il s'agit d'une technique non destructive (Skoog *et al.*, 2007). Dans ce projet, la fluorescence a été utilisée pour mesurer les concentrations de SRHA dans les échantillons suite aux expériences d'ultrafiltration, car même après le conditionnement des membranes d'ultrafiltration, des concentrations de glycérine (environ 1 à 2 mg C/L) ont été retrouvées dans les filtrats. Pour cette raison, il était impossible de mesurer la concentration de SRHA dans les filtrats par sa concentration en carbone organique dissous à l'aide du Shimadzu VCPH. La fluorescence a donc été utilisée afin de distinguer les atomes de carbone provenant de l'acide humique du fleuve Suwannee de ceux provenant de la glycérine ou du tampon MES présent dans le milieu d'exposition MHSM-1. En effet, la glycérine et le tampon MES n'émettent pas de fluorescence détectable aux longueurs d'onde d'émission et d'excitation sélectionnées afin de détecter les concentrations d'acide humique. L'acide humique, quant à lui, est composé de plusieurs cycles aromatiques et possède plusieurs liaisons insaturées qui induisent la délocalisation d'électrons responsable de la fluorescence.

Le spectrofluorimètre qui a été utilisé est le Cary Eclipse de la compagnie Varian; un schéma de son fonctionnement est présenté à la Figure 2.2 ci-dessous. Tout d'abord, l'échantillon est excité par des photons provenant d'une lampe au xénon. Le faisceau émis par la source passe à travers un monochromateur à réseau qui sélectionne la longueur d'onde d'excitation désirée et atteint ensuite l'échantillon. La cellule contenant l'échantillon est en quartz et comporte quatre faces. L'échantillon est alors excité à une longueur d'onde précise, puis le faisceau passe à travers un deuxième monochromateur à réseau qui est situé à 90° du premier. Celui-ci permet de séparer

le signal de fluorescence émis par l'échantillon en sélectionnant la longueur d'onde d'émission désirée. Il est placé à 90° afin d'éviter les interférences provenant de la source, soit le signal provenant de longueurs d'onde d'excitation non désirées qui auraient pu traverser le premier monochromateur. De cette façon, seule la lumière émise par l'échantillon atteint le deuxième monochromateur. Ensuite, le signal de fluorescence à une longueur d'onde sélectionnée atteint le détecteur, soit un tube photomultiplicateur. En parallèle, le signal de la source est mesuré et directement déduit du signal de l'échantillon afin de corriger les fluctuations de la source et ainsi réduire le bruit de fond.

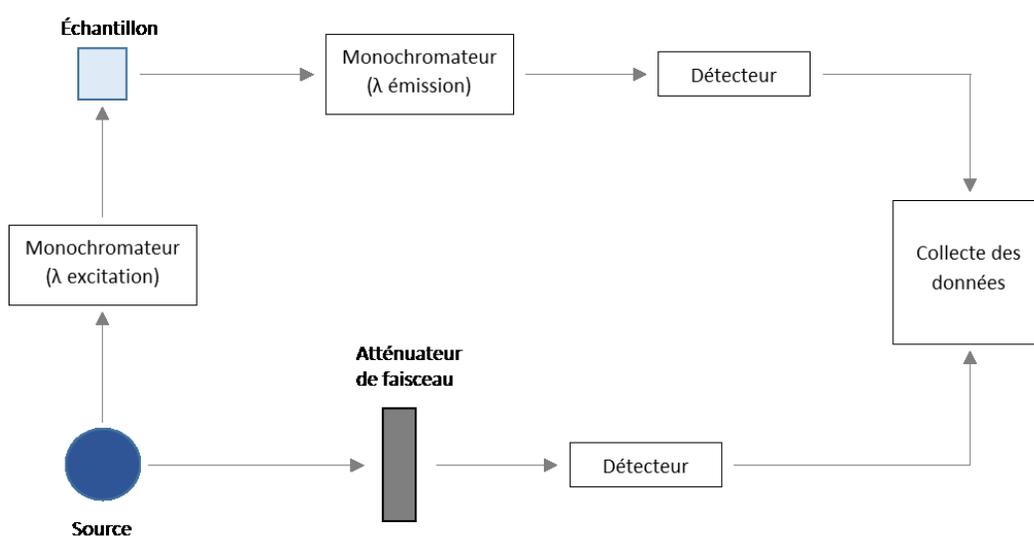


Figure 2.2 : Schéma du fonctionnement d'un spectrofluorimètre.

2.8.2 Paramètres du spectrofluorimètre

Les substances humiques sont reconnues pour leurs propriétés optiques (Baker, 2005; Boyle *et al.*, 2009; Mostofa *et al.*, 2013). Mostofa *et al.* présentent les longueurs d'onde maximales d'excitation et d'émission pour l'acide humique de la rivière Suwannee. Pour le pic de la région C, ces valeurs sont de 350 nm pour l'excitation et d'environ 461 nm pour l'émission (Mostofa *et al.*, 2013). Nous avons donc réalisé un balayage des longueurs d'onde d'émission entre 400 et 600 nm pour une excitation à 350 nm. Le spectre de fluorescence est présenté à la Figure 2.3 ci-dessous. La longueur d'onde d'émission maximale déterminée est de 463 nm. Celle-ci a été utilisée pour les mesures subséquentes de fluorescence.

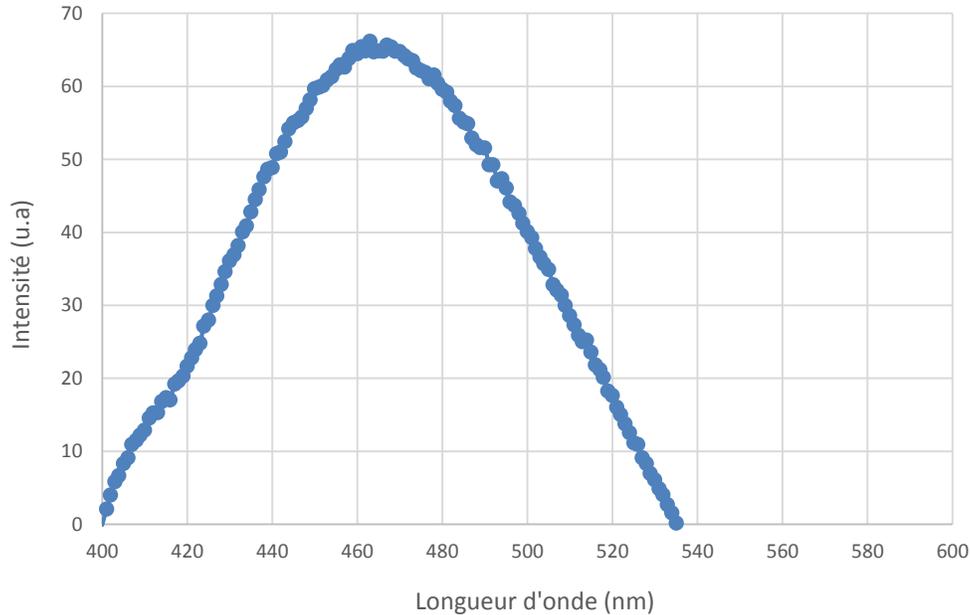


Figure 2.3 : Spectre de fluorescence de l'acide humique du fleuve Suwannee, [SRHA] = 3 mg C/L, I = 20 mÉq/L, pH = 6,0, λ_{ex} = 350 nm et $\lambda_{em\ max}$ = 463 nm.

Une courbe d'étalonnage permettait de calibrer l'appareil avant chaque analyse. Celle-ci était composée de huit étalons ayant des concentrations de SRHA entre 0,25 et 10 mg C/L, qui était conservée à l'abri de la lumière. Le pH des solutions étalons était ajusté à 6,0 et le milieu était tamponné à l'aide d'acide 2-(4-morpholinyl)éthanesulfonique (MES) 10 mM afin d'éviter les variations de pH qui pourraient modifier l'intensité de fluorescence de l'acide humique (Baker *et al.*, 2007). La concentration en carbone organique dissous des étalons a été mesurée à l'aide de l'appareil Shimadzu VCPH afin de valider les concentrations de SRHA (mg C/L) de la courbe d'étalonnage. La fluorescence d'un témoin contenant le milieu électrolytique était également mesurée au départ et à la fin chaque analyse. Comme l'intensité du signal du milieu électrolytique était très faible (< 1 unités d'absorbance, u.a.), il n'a pas été déduit du signal des étalons et des échantillons.

Afin de mesurer la fluorescence de l'acide humique à de faibles concentrations, la valeur de la fente d'excitation de l'appareil doit être ajustée à 20 μ m et le voltage du détecteur à moyen.

2.9 Traitement des données

2.9.1 Détermination des CE₅₀

Le logiciel SigmaPlot 14 de Systat software a été utilisé pour déterminer les concentrations efficaces médianes (CE₅₀). Ces valeurs ont été déterminées pour différentes conditions d'exposition à partir des courbes dose-réponse de celles-ci. C'est la fonction intégrée de régression non linéaire définie selon l'équation 2.9 qui a été utilisée :

$$(2.9) \quad y = \min + \frac{(\max - \min)}{1 + (X/CE_{50})^{-HS}}$$

où min et max sont respectivement les valeurs au bas et au haut de la courbe dose-réponse et HS est la pente au point médian. L'incertitude obtenue sur la valeur de CE₅₀ correspond à l'erreur type obtenue sur la courbe dose-réponse.

2.9.2 Analyses statistiques

Les logiciels Microsoft Excel et SigmaPlot ont été utilisés pour les analyses statistiques. Le test de Student a été utilisé afin de déterminer s'il y avait une différence significative entre les moyennes obtenues dans différentes conditions lors des simulations WHAM, des expériences de dialyse et des expériences d'ultrafiltration. Le niveau de signification qui a été utilisé pour ce test est de 5 % ($\alpha = 0,05$). Pour les expériences de toxicité, des analyses de variance à deux voies (ANOVA) avec mesures répétées ont été réalisées afin de comparer les différents traitements. Le test de Tukey a ensuite permis de déterminer quels traitements étaient significativement différents.

CHAPITRE 3 : SPÉCIATION DU PLATINE ET DU PALLADIUM

3.1 Spéciation chimique à l'aide du logiciel thermodynamique WHAM

3.1.1 Le cas du platine

Le logiciel WHAM a permis de prédire la spéciation du platine en présence de matière organique naturelle. Par la suite, ces résultats ont été comparés à ceux obtenus expérimentalement par ultrafiltration partielle. Des simulations ont été réalisées à pH 5 et 6 dans le milieu électrolytique simplifié utilisé pour les expériences de dialyse et d'ultrafiltration partielle. La composition de ce milieu est présentée au Tableau 2.3. Des simulations ont également été réalisées à pH 6 dans le milieu MHSM-1 qui a été utilisé pour les expériences de toxicité avec *Chlamydomonas reinhardtii*. La composition de ce milieu est présentée au Tableau 2.5. Peu importe le milieu, la spéciation a été calculée à l'aide de WHAM pour différentes concentrations de platine (10, 20, 39 et 59 µg/L soit 50, 100, 200 et 300 nM) et d'acide humique (1, 5 et 10 mg C/L) afin d'avoir une estimation du comportement du platine dans ces différents milieux et ainsi pouvoir choisir la gamme de concentrations désirée pour les expériences en laboratoire. Les constantes thermodynamiques utilisées pour les simulations avec le platine sont présentées au Tableau 2.2, la constante de formation utilisée pour le complexe acide humique – platine est celle présente dans le logiciel WHAM pour le palladium.

3.1.1.1 Constante de formation du complexe Pt(OH)⁺

Au fil des années, des constantes de formation d'hydroxo-complexes avec le platine ont été déterminées par différents groupes de recherche, mais un écart important peut être observé entre ces constantes. C'est particulièrement le cas pour la constante de formation du complexe Pt(OH)⁺.

Wood et Mountain (1989) ont estimé les constantes de formation d'hydroxo-complexes de platine à partir de relations linéaires d'énergie libre. Ils ont obtenu les valeurs suivantes; $\log \beta_1 = 14,2$, $\log \beta_2 = 28,3$, $\log \beta_3 = 30,8$, $\log \beta_4 = 32,0$. Ces valeurs sont similaires à celles qui ont été obtenues par ce même auteur quelques années plus tard lors d'expériences de solubilité (Wood, 1991).

Azaroual *et al.* (2001) ont dérivé la constante de formation de $\text{Pt}(\text{OH})^+$ à partir d'expériences de solubilité à faible force ionique. Ils ont déterminé une valeur de $\log \beta_1 = 24,91$. Byrne s'est intéressé à ce résultat et a conclu que la valeur estimée par Azaroual *et al.* est en erreur et que celle déterminée par Wood et Mountain (1989) doit plutôt être utilisée (Byrne, 2003). Azaroual *et al.* (2003) ont répliqué à ce commentaire en présentant une revue des valeurs de $\log_{\text{OH}}\beta_1$ publiées dans la littérature scientifique; Sassani *et al.* avait déterminé un $\log \beta_1 = 16,45$ (Sassani & Shock, 1998) tandis que Goldberg *et al.* avait déterminé un $\log \beta_1 = 23,89$ (Goldberg & Hepler, 1968). Devant cette situation, ils ont conclu qu'il serait nécessaire de réexaminer toutes les données publiées pour les hydroxo-complexes avec le platine, car la majorité des données sont contradictoires (Azaroual *et al.*, 2003). Ainsi, ces résultats démontrent bien qu'encore aujourd'hui il y a un manque de données thermodynamiques fiables pour le platine dans la littérature scientifique.

Dans ce projet, les simulations réalisées à l'aide du logiciel thermodynamique WHAM7 ont été effectuées en utilisant deux constantes de formation du complexe $\text{Pt}(\text{OH})^+$ différentes, soit $\log \beta_1 = 14,2$ (Wood & Mountain, 1989) et $\log \beta_1 = 24,91$ (Azaroual *et al.*, 2001), afin de vérifier l'influence de cette valeur sur les résultats de spéciation en présence d'acide humique. Les résultats de spéciation obtenus par WHAM ont été comparés à ceux obtenus par ultrafiltration partielle en présence d'acide humique, et c'est la constante déterminée par Azaroual *et al.* ($\log \beta_1 = 24,91$) qui permettait une meilleure approximation des résultats d'ultrafiltration partielle. C'est donc cette constante qui a été utilisée lors des simulations WHAM avec le platine présentées aux sections suivantes. Les calculs de spéciation obtenus à l'aide de l'autre constante thermodynamique, soit celle déterminée par Wood et Mountain (1989) ($\log \beta_1 = 14,2$), sont présentés à l'annexe III.

3.1.1.2 Simulations WHAM dans le milieu électrolytique simplifié à pH 5 et pH 6

Des simulations ont d'abord été réalisées dans le milieu électrolytique simplifié pour différents pH, soit 5 et 6. Ces résultats sont présentés aux Figure 3.1 et Figure 3.2. Deux tendances générales sont observées sur ces figures. Tout d'abord, pour une concentration de platine constante, la fraction de platine liée à l'acide humique augmente lorsqu'on augmente la concentration d'acide humique. Cette tendance est observée, peu importe la concentration totale de platine dans le milieu, mais elle est accentuée à de faibles concentrations. Cette tendance s'explique par le fait que lorsqu'on augmente la concentration d'acide humique présente dans le milieu, on augmente le nombre de sites de complexation disponible sur celle-ci. S'il y a plus de

sites de complexation, il peut y avoir plus de platine lié à l'acide humique avant d'atteindre la saturation des sites de complexation.

Deuxièmement, lorsqu'on augmente la concentration totale de platine dans le milieu tout en gardant la concentration d'acide humique constante, on observe sur les Figure 3.1 et Figure 3.2 que la fraction de platine liée à l'acide humique diminue. Deux effets peuvent expliquer cette observation; plusieurs groupements fonctionnels différents sont disponibles sur l'acide humique et pour une concentration d'acide humique constante, il y a un nombre fixe de sites de complexation disponibles sur celle-ci. Ainsi, le platine va d'abord se lier aux sites avec lesquels il a le plus d'affinité (constantes de formation élevées) et plus la concentration de platine dans le milieu va augmenter, plus le métal va devoir se lier aux sites de complexation pour lesquels il a une plus faible affinité. La complexation globale va donc varier selon l'affinité du platine pour les sites de complexation disponibles. De plus, lorsqu'on augmente la concentration de platine dans le milieu, le nombre de sites de complexation reste le même et on observe donc une saturation progressive de ces sites de complexation.

On observe, sur les Figure 3.1 et Figure 3.2, que les fractions de platine liées à l'acide humique sont inférieures à 4, 22 et 43 % pour des concentrations d'acide humique respectives de 1, 5 et 10 mg C/L, et ce peu importe la concentration totale de platine dans le milieu électrolytique simplifié.

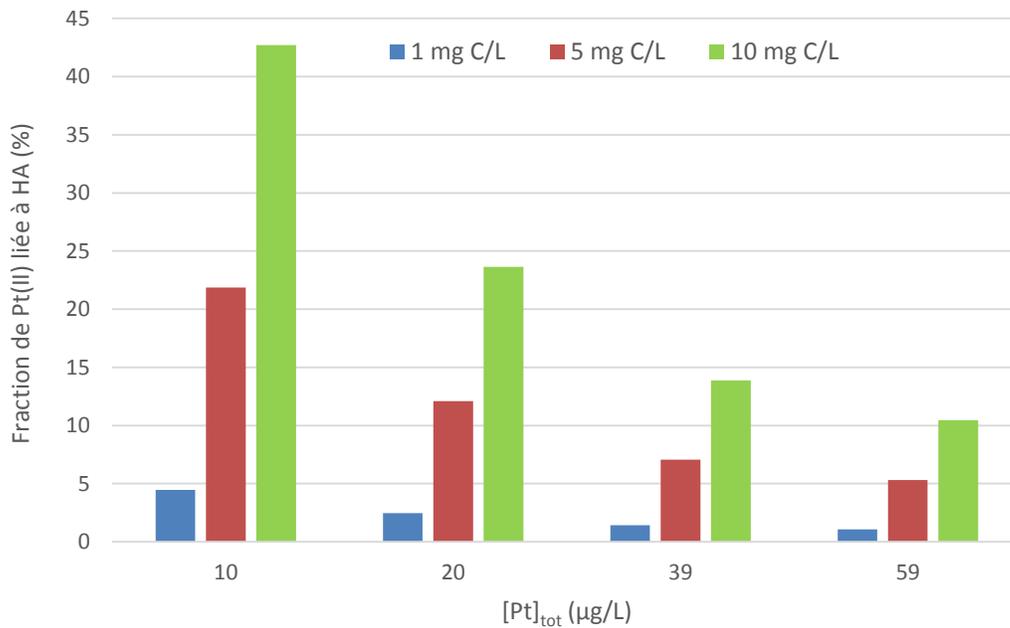


Figure 3.1 : Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu électrolytique simplifié, [Pt]_{tot} = 10 – 59 µg/L, [HA]_{tot} = 1 – 10 mg C/L, pH = 5.

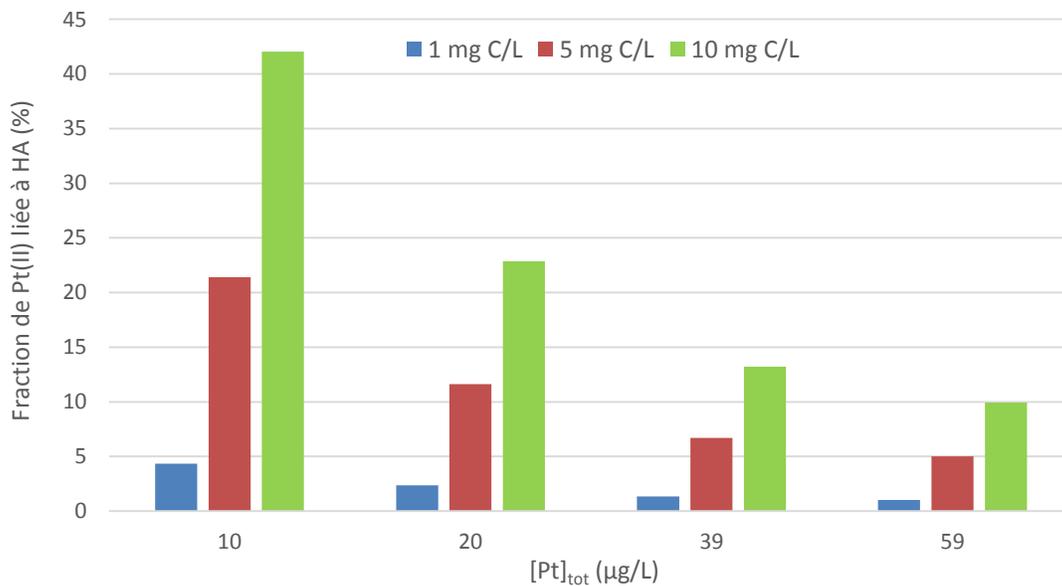


Figure 3.2 : Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu électrolytique simplifié, [Pt]_{tot} = 10 – 59 µg/L, [HA]_{tot} = 1 – 10 mg C/L, pH = 6.

3.1.1.3 Effet du pH sur la spéciation du platine

Pour les simulations réalisées dans le milieu électrolytique simplifié (Figure 3.1 et Figure 3.2), la variation de pH d'une unité, soit de 5 à 6, influence très peu la fraction de platine liée à l'acide humique. La variation de la fraction complexée entre ces deux simulations est toujours inférieure à 1 %. Un tableau présentant les valeurs obtenues lors des simulations est présenté à l'annexe IV. Lors des deux simulations, les principales espèces prédites par WHAM sont les hydroxydes de platine, soit $\text{Pt}(\text{OH})^+$ et $\text{Pt}(\text{OH})_2$. Même si la variation entre les fractions liées obtenues lors des deux simulations est petite, on observe que la fraction de platine liée à l'acide humique diminue légèrement lorsqu'on augmente le pH d'une unité. Ceci est causé par l'augmentation du nombre de ligands hydroxydes à pH plus élevé. En effet, les complexes avec les hydroxydes sont les espèces dominantes dans ce milieu selon WHAM, et leur formation est favorisée à pH plus élevé. Il y aura donc moins de platine disponible pour se lier à l'acide humique à pH 6 comparativement à pH 5, car il y aura plus de complexes avec les ligands hydroxydes. C'est ce qui explique la légère diminution de la fraction de platine complexée à pH 6.

Cependant, dans la littérature, il est mentionné que le Pt a une très grande affinité pour les atomes donneurs mous, tels que l'azote et le soufre (Li & Byrne, 1990; Mountain & Wood, 1988). Ainsi, une augmentation du pH favorisera la complexation du platine par l'acide humique. En effet, une augmentation du pH permet de déprotonner les amines primaires et secondaires présentes sur la matière organique lorsque $\text{pH} < \text{pK}_a$, ce qui augmente le nombre de sites de complexation disponible pour le platine. Cependant, la matière organique naturelle est composée d'environ 1 à 2 % de soufre, 2 à 4 % d'azote, et 30 à 35 % d'oxygène (Sutton *et al.*, 2005). Peu de sites de complexation avec l'azote et le soufre sont disponibles sur la matière organique comparativement aux sites de complexation avec l'oxygène; ces sites seraient donc rapidement saturés et les simulations suggèrent une telle saturation des sites dans la gamme de concentrations en platine que nous avons choisie. Les résultats obtenus par ultrafiltration partielle (section 3.3) nous permettront de vérifier ce point en plus de valider les résultats obtenus lors des simulations réalisées à l'aide du logiciel WHAM.

3.1.1.4 Simulations WHAM dans le milieu MHSM-1 à pH 6

Des simulations WHAM dans le milieu MHSM-1 ont été réalisées seulement à pH 6, car c'est ce pH qui a été choisi pour les expositions avec les algues. Les résultats sont présentés à la Figure 3.3. Pour cette simulation, les deux espèces dominantes sont toujours les hydroxydes de platine, soit $\text{Pt}(\text{OH})^+$ et $\text{Pt}(\text{OH})_2$, mais on retrouve le complexe $\text{Pt}(\text{EDTA})^{-2}$ en troisième place. La fraction

de platine liée à l'acide humique est plus petite que celle observée dans le milieu électrolytique simplifié pour le même pH, dû à la complexation importante du platine par l'EDTA. Un tableau présentant les valeurs obtenues lors des simulations se retrouve à l'annexe IV. Les mêmes tendances sont observées sur la Figure 3.3 que sur les Figure 3.1 et Figure 3.2. Premièrement, pour une concentration de platine constante, on observe que la fraction de platine liée à l'acide humique augmente lorsqu'on augmente la concentration d'acide humique et deuxièmement, lorsqu'on augmente la concentration totale de platine et qu'on garde la concentration d'acide humique constante, on observe que la fraction de platine liée à l'acide humique diminue. Les explications proposées à la section 713.1.1.2 pour ces deux tendances sont également valides dans ce cas-ci.

Pour cette simulation, les fractions de platine liées à l'acide humique sont inférieures à 4, 20 et 41 % pour des concentrations d'acide humique respectives de 1, 5 et 10 mg C/L, et ce peu importe la concentration totale de platine dans le milieu MHSM-1.

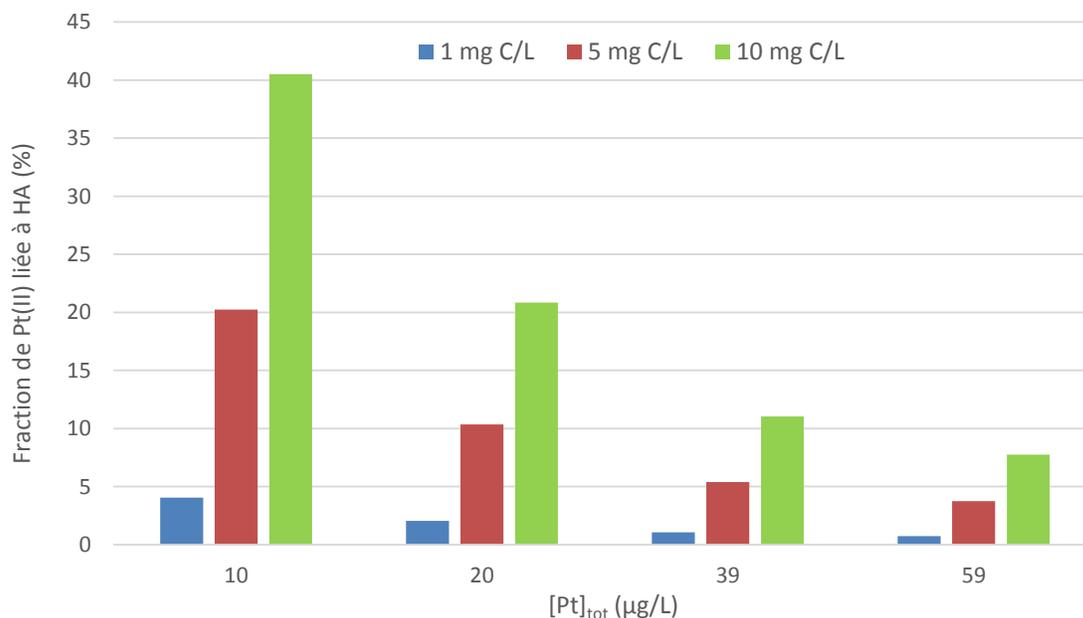


Figure 3.3 : Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu MHSM-1, $[Pt]_{tot} = 10 - 59 \mu\text{g/L}$, $[HA]_{tot} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

3.1.2 Le cas du palladium

Le logiciel WHAM a aussi été utilisé afin de prédire la spéciation du palladium en présence d'acide humique. Les constantes thermodynamiques utilisées pour les simulations avec le palladium sont

présentées au Tableau 2.1. Les résultats de spéciation n'ont pas pu être comparés à ceux obtenus expérimentalement à cause des problèmes d'adsorption pour ce métal, tel qu'expliqué à la section 3.2 ci-dessous. Comme pour le platine, des simulations ont été réalisées à pH 5 et 6 dans le milieu électrolytique simplifié ainsi qu'à pH 6 dans le milieu MHSM-1; les résultats sont présentés à l'annexe IV. Les compositions de ces deux milieux sont présentées aux Tableau 2.3 et Tableau 2.5, respectivement. Les mêmes concentrations ont été utilisées lors des simulations avec le palladium que lors de celles avec le platine, soit des concentrations de métal de 5, 11, 21 et 32 µg/L (50, 100, 200 et 300 nM) et des concentrations d'acide humique de 1, 5 et 10 mg C/L.

3.1.2.1 Simulations WHAM dans le milieu électrolytique simplifié à pH 5 et pH 6

Des simulations ont été réalisées dans le milieu électrolytique simplifié à pH 5 et 6. Comme le pH influence peu la spéciation (variation $\leq 0,001$ %), seuls les résultats obtenus à pH 6 sont présentés à la Figure 3.4 ci-dessous. Le palladium est fortement complexé par l'acide humique dans ces conditions. En effet, dans la majorité des cas, plus de 99,99 % du palladium présent dans le milieu électrolytique simplifié est complexé par l'acide humique. C'est seulement pour une concentration d'acide humique de 1 mg C/L qu'on observe une saturation des sites de complexation aux concentrations de palladium les plus élevées, soit 21 et 32 µg/L. Les fractions liées sont tout de même très élevées pour ces deux concentrations, soit 99,9 et 99,6 %, respectivement.

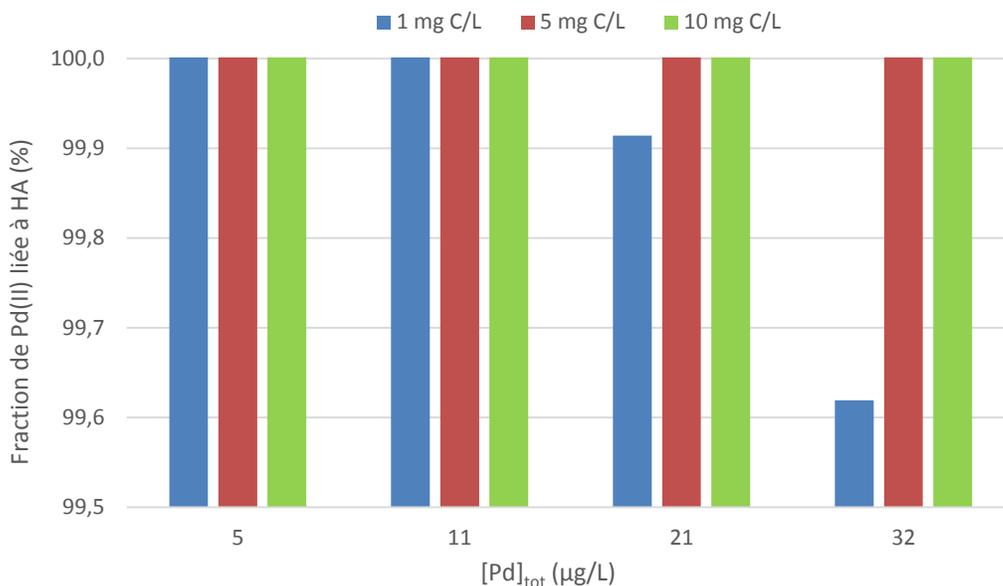


Figure 3.4 : Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu électrolytique simplifié, $[Pd]_{tot} = 5 - 32 \mu\text{g/L}$, $[HA]_{tot} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

3.1.2.2 Simulations WHAM dans le milieu MHSM-1 à pH 6

Sur la Figure 3.5 ci-dessous, on observe que lorsqu'on augmente la concentration totale de palladium, pour une concentration d'acide humique constante (1 mg C/L), que la fraction de palladium liée à l'acide humique diminue. Cette tendance avait également été observée pour le platine. Pour les autres concentrations d'acide humique (5 et 10 mg C/L), les fractions de palladium liées à celle-ci sont supérieures à 99,99 %. Après les complexes avec l'acide humique, ce sont les complexes de palladium avec l'EDTA qui sont majoritairement formés dans le milieu MHSM-1. Ce ligand était absent du milieu électrolytique simplifié et peut expliquer la plus faible complexation du palladium par l'acide humique dans le milieu MHSM-1 pour des concentrations en palladium et en acide humique identiques. En effet, pour des concentrations de 1 mg C/L et 21 µg/L de palladium, la fraction de palladium liée est de 99,9 % dans le milieu électrolytique simplifié et de 96,3 % dans le milieu MHSM-1, tandis que celles-ci sont respectivement de 99,6 et 88,7 % dans ces mêmes milieux pour des concentrations d'acide humique de 1 mg C/L et de 32 µg/L de palladium.

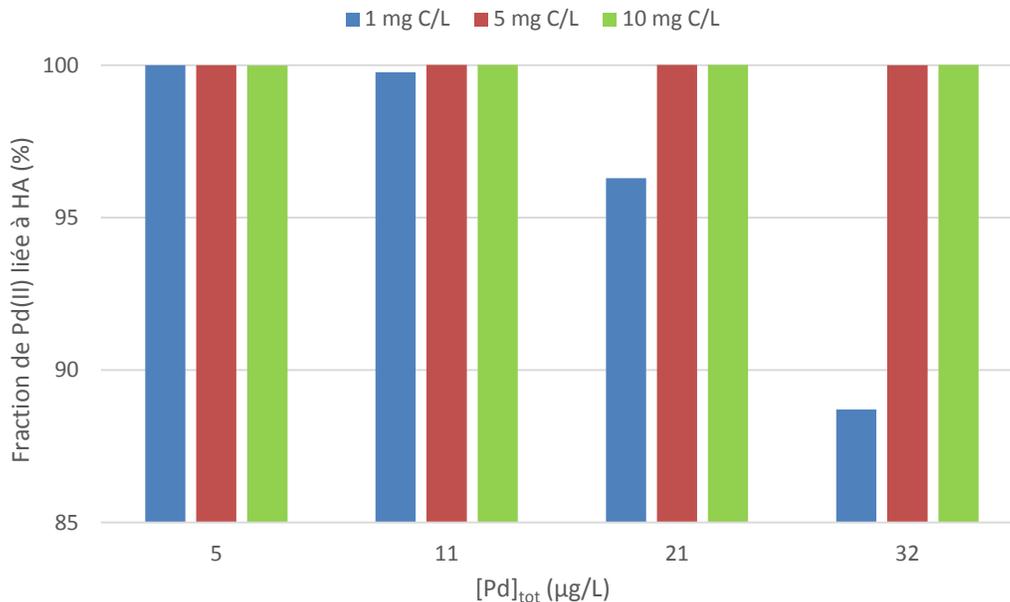


Figure 3.5 : Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, milieu MHSM-1, $[Pd]_{tot} = 5 - 32 \mu\text{g/L}$, $[HA]_{tot} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

3.1.2.3 Comparaison des simulations WHAM pour le platine et le palladium

Pour les complexes avec l'acide humique, la même constante de formation a été utilisée pour le platine et le palladium, tel que mentionné à la section 2.1.1. Cependant, lorsqu'on compare les résultats de spéciation obtenus à l'aide de WHAM pour ces deux éléments, on constate que la fraction de métal liée à l'acide humique est beaucoup plus élevée pour le palladium que pour le platine, et ce autant dans le milieu électrolytique simplifié que dans le milieu MHSM-1. Cet effet est observé lorsqu'on compare la spéciation du platine aux Figure 3.1, Figure 3.2 et Figure 3.3 à celle du palladium aux Figure 3.4 et Figure 3.5. Les constantes thermodynamiques utilisées pour les simulations avec ces deux métaux (Tableau 2.1 et Tableau 2.2) sont toutes du même ordre de grandeur, à l'exception des constantes de formation des hydroxo-complexes. En effet, celles-ci sont de 12,14 et 24,1 ($\log_{OH}\beta_1$ et $\log_{OH}\beta_2$) pour le palladium comparativement à 24,91 et 29,91 ($\log_{OH}\beta_1$ et $\log_{OH}\beta_2$) pour le platine. Selon ces constantes thermodynamiques, les complexes avec les hydroxydes seront beaucoup plus importants pour le platine que pour le palladium et c'est ce qui est observé lors des simulations WHAM; une fraction importante du platine est liée aux hydroxydes, la fraction liée à l'acide humique est donc plus faible pour cet élément.

La fraction de platine liée à l'acide humique est modifiée lorsqu'on utilise la constante de formation du complexe $\text{Pt}(\text{OH})^+$ déterminée par Wood et Mountain (1989) ($\log_{OH}\beta_1 = 14,2$) à la place de

celle déterminée par Azaroual *et al.* (2001) ($\log_{\text{OH}}\beta_1 = 24,91$). Les simulations réalisées avec cette constante thermodynamique pour le milieu électrolytique simplifié et le milieu MHSM-1 sont présentées à l'annexe III. Dans ce cas-ci, les hydroxo-complexes sont moins importants, les fractions de platine liées à l'acide humique sont plus élevées et donc plus près de celles observées pour le palladium. Comme les constantes de formation d'hydroxo-complexes sont tout de même plus élevées pour le platine ($\log_{\text{OH}}\beta_1 = 14,2$ et $\log_{\text{OH}}\beta_2 = 29,91$) que pour le palladium ($\log_{\text{OH}}\beta_1 = 12,14$ et $\log_{\text{OH}}\beta_2 = 24,1$) lorsqu'on utilise la constante déterminée par Wood et Mountain (1989), les fractions de palladium liées à l'acide humique restent plus élevées que celles pour le platine dans les mêmes conditions expérimentales.

En résumé, pour les simulations réalisées avec le logiciel thermodynamique WHAM :

- c'est la constante de formation du complexe $\text{Pt}(\text{OH})^+$ déterminée par Azaroual *et al.* qui a été utilisée lors des simulations WHAM, car celle-ci permettait une meilleure approximation des résultats obtenus par ultrafiltration partielle;
- pour une concentration de platine constante, la fraction de platine liée à l'acide humique augmente lorsqu'on augmente la concentration d'acide humique;
- lorsqu'on augmente la concentration totale de platine dans le milieu tout en gardant la concentration d'acide humique constante, la fraction de platine liée à l'acide humique diminue;
- la variation de pH d'une unité, soit de 5 à 6, influence très peu les fractions de platine et de palladium liées à l'acide humique dans le milieu électrolytique simplifié;
- les fractions de platine et de palladium liées à l'acide humique dans le milieu MHSM-1 sont plus petites que celles calculées pour le milieu électrolytique simplifié pour un même pH, dû à la complexation importante des métaux par l'EDTA présent seulement dans le milieu MHSM-1;
- lorsqu'on compare les simulations pour le platine et le palladium, on observe que la fraction de métal liée à l'acide humique est beaucoup plus élevée pour le palladium que pour le platine, dû à la complexation importante du platine par les hydroxydes.

3.2 Dialyse à l'équilibre

3.2.1 Comportement des ÉGP dans le milieu électrolytique simplifié

Tel qu'énoncé dans la section 2.5.1, le polycarbonate a été privilégié au polypropylène pour les expériences avec les éléments du groupe platine, car ce matériau permet de réduire l'adsorption du palladium. Au départ de ce projet, des expériences ont été réalisées afin de vérifier l'adsorption du platine et du palladium dans le milieu électrolytique simplifié dans ces deux types de contenants en absence et en présence d'acide humique, toujours en absence de membranes à dialyse.

Pour les flacons en polypropylène, l'adsorption a été vérifiée tous les deux jours à partir du troisième jour et ce jusqu'au dix-septième. La concentration nominale de palladium était de 8 µg/L, le pH de 5 et la force ionique de 8,4 mÉq/L. Des pertes entre 67 et 80 % de la concentration de palladium mesurée initialement ont été observées. L'expérience a également été réalisée pour le platine dans les mêmes conditions expérimentales. Cependant, la concentration nominale de Pt était de 39 µg/L. Pour ce métal, les pertes par adsorption sur les parois des flacons en polypropylène étaient toujours inférieures à 3 % de la concentration initiale. Cobelo-Garcia *et al.* (2007) ont également observé des taux de récupération plus faibles pour le palladium que pour le platine dans un milieu d'eau douce synthétique en absence de composés organiques. L'adsorption a été vérifiée sur une période allant jusqu'à 5 jours. En effet, pour une concentration de 10 µg/L de palladium et à pH 5, ils ont mesuré un taux de récupération sous les 20 % pour le polypropylène. Dans les mêmes conditions expérimentales, mais pour 10 µg/L de platine, le taux de récupération était supérieur à 90 %. Cependant, leur source de platine était du Pt(IV), contrairement à nous qui utilisons du Pt(II) comme source de platine.

Pour les expériences d'adsorption réalisées dans des flacons en polycarbonate, les résultats sont présentés aux Tableau 3.1 et Tableau 3.2 ci-dessous. La concentration initiale de palladium a été augmentée à 20 µg/L afin de mesurer des concentrations en solution supérieures à la limite de détection de l'ICP-MS. Pour le palladium, des pertes par adsorption de l'ordre de 50 % ont été mesurées dans les flacons en polycarbonate en absence d'acide humique, c'est donc une réduction importante de l'adsorption considérant qu'on observait des pertes de l'ordre de 75 % dans les flacons en polypropylène. On peut cependant se questionner quant à la validité de cette comparaison, car les concentrations nominales en palladium étaient différentes lors des expériences dans les flacons en polypropylène (8 µg/L) et en polycarbonate (20 µg/L). On pourrait

donc s'attendre à ce que les pertes relatives (en %) par adsorption soient plus importantes à de faibles concentration. L'adsorption du palladium diminue lorsqu'on ajoute de l'acide humique au milieu. En effet, pour une concentration de 1 mg C/L d'acide humique du fleuve Suwannee, les pertes de palladium par adsorption sont entre 16 et 17 % et elles diminuent jusqu'à 13 % pour une concentration de 3 mg C/L. Cet effet avait également été observé par Cobelo-Garcia *et al.* (2007) pour une eau naturelle contenant une concentration de carbone organique dissous de 6,9 mg/L et un pH de 7,37. Ils ont expliqué ces résultats par une interaction entre le palladium et la matière organique, soit la formation de complexes stables et solubles qui permettent de garder le métal en solution. Wood *et al.* (1994) avaient également observé une diminution de l'adsorption du palladium en présence de 150 mg/L d'acide fulvique pour une gamme de pH allant de 2 à 12. Ils avaient proposé les mêmes explications, soit la formation de complexes stables et solubles qui permettent de garder le palladium en solution.

Pour le platine, l'effet inverse a été observé, c'est-à-dire que la perte de platine par adsorption sur les parois des flacons est plus importante en présence d'acide humique. En effet, les pertes par adsorption sont inférieures à 1 % de la concentration initiale de platine dans le milieu électrolytique simplifié en absence de matière organique, mais elles augmentent jusqu'à 5 % en présence de 1 mg C/L et jusqu'à 11 % en présence de 3 mg C/L. Cette tendance avait également été observée par Cobelo-Garcia *et al.* (2007) lors de leur expérience d'adsorption sur différents types de contenant pour une eau naturelle contenant 6,8 mg/L de carbone organique dissous à pH neutre. Dans leur cas, le platine était présent dans le milieu sous la forme de Pt(IV). Ils proposaient comme explication la présence d'interactions hydrophobes entre les parois des contenants en plastique et les complexes matière organique naturelle – Pt(IV), qui diminueraient la concentration de platine en solution. Dans tous les cas, les taux de récupération qu'ils avaient observés étaient tout de même supérieurs à 90 % (Cobelo-Garcia *et al.*, 2007).

Sures et Zimmermann (2007) ont également observé des différences dans les concentrations d'ÉGP mesurées en solution dans des milieux humiques et non humiques. Pour le palladium, les concentrations moyennes dans les milieux étaient environ trois fois plus élevées dans les milieux humiques comparativement aux milieux non humiques. Toutefois, les concentrations mesurées pour le platine étaient plus élevées dans l'eau non humique. Selon eux, cette variation de la solubilité des ÉGP peut être attribuée à des mécanismes de réactions différents avec les substances humiques, causés principalement par des degrés d'oxydation différents (Pd(II) et Pt(IV)) (Sures & Zimmermann, 2007). Les explications proposées ci-dessus par Cobelo-Garcia *et al.* (2007) et Wood *et al.* (1994) sont valides pour le palladium, soit que la présence d'acide

fulvique prévient l'adsorption. Pour le platine, les auteurs supposent qu'il est lié à une fraction insoluble de la matière organique plutôt qu'à la fraction d'acide fulvique soluble (Sures & Zimmermann, 2007). Lustig *et al.* (1998) avaient démontré que la présence d'acide humique causait une plus faible solubilité de ce métal due à la formation de formes Pt – HA insolubles, qui étaient sous la forme de précipités jaune.

Tableau 3.1 : Perte par adsorption du Pd sur les parois des flacons en polycarbonate en présence et en absence de SRHA, [Pd]_{nominale} = 20 µg/L, [SRHA]_{nominales} = 0 – 3 mg C/L, pH = 5.

| Temps d'équilibre (jours) | [Pd] en solution sans SRHA (µg/L) | Perte par adsorption (%) | [Pd] en solution [SRHA] = 1 mg C/L (µg/L) | Perte par adsorption (%) | [Pd] en solution [SRHA] = 3 mg C/L (µg/L) | Perte par adsorption (%) |
|---------------------------|-----------------------------------|--------------------------|---|--------------------------|---|--------------------------|
| Départ | 19 | n.a. ^(a) | 20 | n.a. ^(a) | 19 | n.a. ^(a) |
| 7 | 11 | 44 | 17 | 16 | 17 | 13 |
| 11 | 10 | 50 | 17 | 16 | 16 | 15 |
| 13 | 9 | 51 | 17 | 17 | 16 | 15 |
| 15 | 9 | 53 | 17 | 17 | 16 | 15 |

(a) n.a. = non applicable.

Tableau 3.2 : Perte par adsorption du Pt sur les parois des flacons en polycarbonate en présence et en absence de SRHA, [Pt]_{nominale} = 39 µg/L, [SRHA]_{nominales} = 0 – 3 mg C/L, pH = 5.

| Temps d'équilibre (jours) | [Pt] en solution sans SRHA (µg/L) | Perte par adsorption (%) | [Pt] en solution [SRHA] = 1 mg C/L (µg/L) | Perte par adsorption (%) | [Pt] en solution [SRHA] = 3 mg C/L (µg/L) | Perte par adsorption (%) |
|---------------------------|-----------------------------------|--------------------------|---|--------------------------|---|--------------------------|
| Départ | 40 | n.a. ^(a) | 39 | n.a. ^(a) | 39 | n.a. ^(a) |
| 7 | 40 | < 1 | 38 | 3 | 36 | 7 |
| 11 | 40 | < 1 | 38 | 3 | 35 | 10 |
| 13 | 40 | < 1 | 37 | 5 | 35 | 11 |
| 15 | 40 | < 1 | 38 | 4 | 35 | 11 |

(a) n.a. = non applicable.

3.2.2 Expériences membranes à dialyse de 100 Da

Nous avons d'abord utilisé des membranes à dialyse ayant des pores de 100 Da. Avant de réaliser des expériences de spéciation, il fallait déterminer le temps d'équilibre des métaux à

travers la membrane à dialyse, soit dans le milieu électrolytique simplifié sans acide humique. Pour ce faire, le métal était ajouté seulement à l'extérieur de la membrane à dialyse et celle-ci était remplie de milieu électrolytique. L'équilibre entre les deux milieux était atteint lorsque la concentration de métal était la même dans les milieux interne et externe. Cependant, l'équilibre des métaux à travers la membrane n'a pas été atteint lors de nos expériences. Plusieurs paramètres ont été modifiés afin de tenter d'atteindre l'équilibre entre les milieux interne et externe. Ceux-ci sont présentés ci-dessous :

- Temps d'équilibre : 24 h, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 et 17 jours
- Force ionique : 4,8; 8,4; 20 et 100 mEq/L
- Ajout de métaux (Pt ou Pd) à l'intérieur de la membrane à dialyse au début de l'expérience en plus de ceux se trouvant à l'extérieur de la membrane : 100 nM intérieur / 200 nM extérieur et 200 nM intérieur / 100 nM extérieur
- Ajout d'EDTA en excès (facteur 100) afin de complexer les métaux et ainsi éviter leur adsorption sur les parois des flacons et des membranes à dialyse en plus d'éviter une possible précipitation.

Les résultats obtenus lors des expériences préliminaires sont présentés à l'annexe VI.

3.2.3 Expériences membranes à dialyse de 500 Da

La modification des paramètres présentés en 3.2.2 n'a pas permis d'atteindre l'équilibre des métaux à travers les membranes de 100 Da sur toute la durée des tests effectués. La taille des pores des membranes a donc été augmentée à 500 Da, seuil de rétention des molécules qui est suffisamment petit pour retenir l'acide humique du fleuve Suwannee. L'équilibre a été atteint dans certaines conditions pour le platine, mais les résultats étaient variables. L'équilibre n'a pas été atteint avec le palladium, qui présentait une adsorption importante sur les parois des flacons et des membranes. Dû à l'adsorption importante de ce métal, nous nous sommes concentrés sur le platine et avons mis de côté le palladium pour le reste du projet. Tout d'abord, voici les paramètres qui ont été modifiés afin d'atteindre l'équilibre des métaux à travers les membranes de 500 Da :

- Temps d'équilibre : 3 et 5 jours
- Force ionique : 8,4; 20 et 100 mEq/L
- Ajout d'EDTA en excès (facteur 100) afin de complexer les métaux et ainsi éviter une possible précipitation.

Les résultats obtenus lors des expériences préliminaires sont présentés à l'annexe V.

Comme mentionné ci-dessus, l'équilibre a été atteint pour une concentration nominale de platine de 39 µg/L dans les conditions suivantes; temps d'équilibre de 5 jours, force ionique de 20 mÉq/L et pH de 5. La Figure 3.6 ci-dessous présente le pourcentage de platine équilibré à travers la membrane à dialyse pour différentes répétitions, toujours dans les mêmes conditions expérimentales. Ces résultats ont été obtenus à la suite de plusieurs expériences; les répétitions ayant le même motif ont été réalisées simultanément.

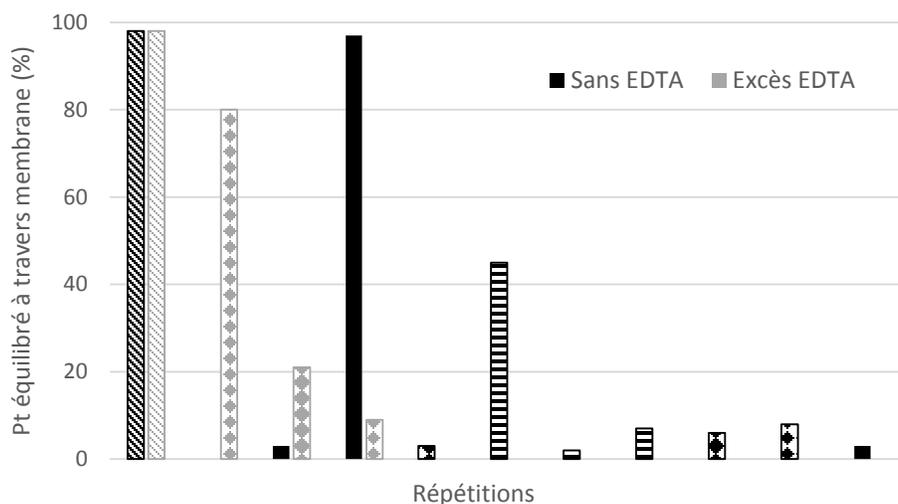


Figure 3.6 : Équilibre du Pt à travers la membrane à dialyse pour 11 répétitions sans ajout d'EDTA et pour 4 répétitions avec un excès d'EDTA (facteur 100), milieu électrolytique simplifié, $I = 20 \text{ mÉq/L}$, $[\text{Pt}]_{\text{nominale}} = 39 \text{ µg/L}$, $[\text{SRHA}] = 0 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 5$, $\text{MWCO} = 500 \text{ Da}$.

On observe à la Figure 3.6 que l'équilibre du platine à travers la membrane à dialyse était atteint seulement deux fois sur onze répétitions de l'expérience dans les mêmes conditions expérimentales. Le pourcentage d'équilibre ayant varié entre 2 et 98 % pour ces répétitions, les résultats obtenus avec cette méthode sont donc non reproductibles.

L'EDTA en excès n'influence pas l'équilibre à travers la membrane. En effet, seulement une répétition sur quatre en présence d'un excès d'EDTA (facteur 100) a permis d'atteindre l'équilibre en 5 jours. Ces résultats éliminent donc la possibilité que la variabilité des résultats soit causée par le fait qu'une partie du platine total en solution soit sous forme de précipité dans le milieu et non sous forme soluble.

L'hypothèse qui pourrait expliquer cette variabilité est une variation dans la composition des membranes elles-mêmes, bien qu'elles soient certifiées par le fournisseur et qu'elles aient déjà été utilisées dans notre laboratoire avec succès pour le cadmium (Boullemant *et al.*, 2007), l'argent (Chen *et al.*, 2012) et les terres rares (Leguay *et al.*, 2016). En effet, comme cette approche avait bien fonctionné dans le passé, la qualité des membranes actuelles est remise en question. Cette hypothèse pourrait éventuellement être vérifiée en utilisant des sacs à dialyse provenant d'un autre fournisseur.

En résumé, pour la dialyse à l'équilibre :

- le polycarbonate a été privilégié au polypropylène pour les expériences avec les éléments du groupe platine, car ce matériau permet de réduire l'adsorption du palladium;
- l'adsorption du palladium diminue en présence d'acide humique, mais l'effet contraire est observé pour le platine;
- le palladium est mis de côté pour le reste du projet, dû à l'adsorption importante de ce métal;
- les résultats obtenus par dialyse à l'équilibre ne sont pas reproductibles, une autre technique analytique a été envisagée pour vérifier expérimentalement la spéciation du platine en présence d'acide humique; il s'agit de l'ultrafiltration partielle, dont les résultats sont présentés dans la section 3.3 ci-dessous.

3.3 Ultrafiltration partielle

L'ultrafiltration partielle a été réalisée dans les trois milieux présentés à la section 3.1.1, soit à pH 5 et 6 dans le milieu électrolytique simplifié ainsi qu'à pH 6 dans le milieu MHSM-1 afin de pouvoir comparer ces résultats avec ceux obtenus lors des simulations WHAM. Des expériences préliminaires ont permis de déterminer le temps d'ultrafiltration et le temps nécessaire avant l'ultrafiltration afin d'atteindre l'équilibre entre le platine et l'acide humique présents dans le milieu, le platine étant reconnu comme un métal ayant une cinétique de réaction lente (Cotton *et al.*, 1999; Wood *et al.*, 1994). Comme mentionné à la 2.3.3, le temps d'ultrafiltration sélectionné est de 8 min. Ce court temps permet de filtrer un petit volume et donc d'éviter de concentrer les échantillons contenant de la matière organique naturelle. Les milieux électrolytiques contenant le platine et l'acide humique étaient tous laissés équilibrer durant 72 h avant le départ des

expériences d'ultrafiltration, ce temps permettait d'atteindre l'équilibre des espèces en solution. Les résultats de ces expériences préliminaires sont présentés à l'annexe VI.

Dans cette section, les expériences ont été réalisées en trois répétitions et des tests de Student ($\alpha = 0,05$) ont été réalisés sur les résultats afin de vérifier si les moyennes ($n = 3$) sont significativement différentes. De plus, la concentration nominale de platine était de 39 $\mu\text{g/L}$ ou 200 nM pour toutes les expériences d'ultrafiltration présentées ci-dessous et trois concentrations nominales d'acide humique du fleuve Suwannee ont été vérifiées lors de chaque expérience, soit 1, 5 et 10 mg C/L.

3.3.1 Spéciation du milieu électrolytique simplifié

La spéciation a d'abord été vérifiée dans le milieu électrolytique simplifié. Des expériences d'ultrafiltration ont été réalisées à pH 5 ainsi qu'à pH 6 dans ce milieu. Les résultats de ces expériences sont présentés à la Figure 3.7.

Tout d'abord, nous allons comparer les fractions de platine liées à l'acide humique pour différentes concentrations d'acide humique, mais pour un même pH. On observe, sur la Figure 3.7, que la fraction de platine liée à l'acide humique augmente lorsqu'on augmente la concentration d'acide humique. Cette tendance est observée à pH 5 et à pH 6, mais elle est plus marquée à pH plus élevé. À pH 5, les fractions de platine liées à l'acide humique sont de 26 ± 1 % pour une concentration d'acide humique de 1 mg C/L, de 31 ± 4 % pour une concentration d'acide humique de 5 mg C/L et finalement de 34 ± 3 % pour une concentration d'acide humique de 10 mg C/L. Ainsi, la complexation du platine par l'acide humique n'est pas significativement différente pour les concentrations d'acide humique de 1 et 5 mg C/L ainsi que 5 et 10 mg C/L. Cependant, la complexation est significativement différente pour les concentrations d'acide humique de 1 et 10 mg C/L. À pH 6, les trois fractions de platine liées à l'acide humique sont significativement différentes, soit pour des concentrations d'acide humique du fleuve Suwannee de 1, 5 et 10 mg C/L. Cette différence entre les résultats à pH 6 est causée par un faible écart-type entre ceux-ci. En effet, les fractions de platine liées à l'acide humique sont de 24 ± 1 %, 29 ± 1 % et 38 ± 1 % pour des concentrations d'acide humique respectives de 1, 5 et 10 mg C/L.

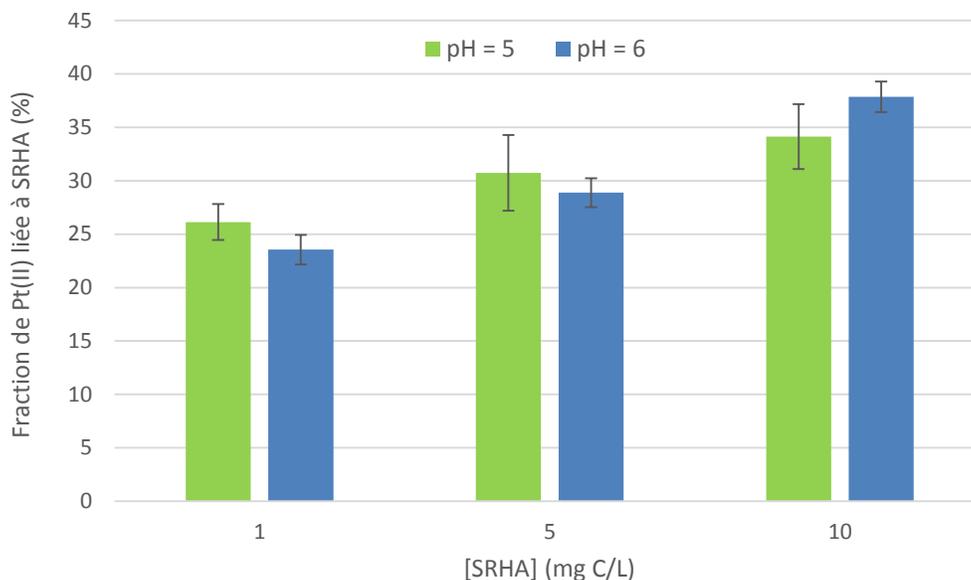


Figure 3.7 : Spéciation obtenue expérimentalement par ultrafiltration partielle, $n = 3$, milieu électrolytique simplifié, $I = 20 \text{ m}\ddot{\text{E}}\text{q/L}$, $[\text{Pt}]_{\text{nominale}} = 39 \text{ }\mu\text{g/L}$, $[\text{SRHA}]_{\text{nominales}} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 5 - 6$.

3.3.2 Effet du pH sur la spéciation du platine

À la Figure 3.7, on observe les résultats de spéciation par ultrafiltration à pH 5 et 6 pour différentes concentrations d'acide humique du fleuve Suwannee. Un test de Student nous a permis de conclure qu'une variation de pH d'une unité n'influence pas significativement la complexation du platine par l'acide humique dans ces conditions expérimentales; $[\text{Pt}]_{\text{nominale}} = 39 \text{ }\mu\text{g/L}$, $I = 20 \text{ m}\ddot{\text{E}}\text{q/L}$ et $[\text{SRHA}]_{\text{nominales}} = 1, 5 \text{ et } 10 \text{ mg C/L}$. En effet, pour les trois concentrations d'acide humique vérifiées, la fraction de platine complexée par celle-ci n'est pas significativement différente à pH 5 et à pH 6. Pour une même concentration d'acide humique, la différence entre les fractions de platine liées à celle-ci à pH 5 et 6 est toujours inférieure à 5 %.

Tel qu'énoncé dans la section 3.1.1.3, le platine préfère se lier à des atomes donneurs mous, tels que l'azote et le soufre (Li & Byrne, 1990; Mountain & Wood, 1988). Ainsi, une augmentation du pH d'une unité augmente le nombre de sites de complexation disponible sur la matière organique naturelle; cette augmentation dépend des valeurs de pK_a des groupements fonctionnels présents dans l'acide humique. Toutefois, l'augmentation du pH d'une unité augmente également la concentration de groupements hydroxydes. Comme les résultats expérimentaux obtenus à pH 5 et 6 ne sont pas significativement différents, il est difficile de déterminer quels complexes de

platine seront priorisés à pH plus élevé, soit les complexes avec les amines et les thiols présents au sein de la matière organique naturelle ou la formation d'hydroxo-complexes.

Cependant, en observant les résultats de la Figure 3.7, on peut voir dans tous les cas que plus de 50 % du platine en solution n'est pas lié à l'acide humique. Deux possibilités peuvent expliquer ces résultats : (i) le platine qui n'est pas lié à l'acide humique est lié à un autre ligand (OH^-) avec lequel la formation du complexe est favorisée par rapport au complexe Pt – HA, ou (ii) les sites de complexation sur l'acide humique (N et S) sont tous saturés, car ils sont peu nombreux.

Sur la Figure 3.7, on observe également que lorsqu'on double la concentration d'acide humique présente dans le milieu (de 5 à 10 mg C/L), la fraction de platine liée augmente peu; $31 \pm 4 \%$ à $34 \pm 3 \%$ à pH 5 et $29 \pm 1 \%$ à $38 \pm 1 \%$ à pH 6. En doublant la concentration de SRHA, on double également la quantité de sites de liaison sur celle-ci. L'augmentation de la fraction liée sera faible si la majorité du platine est complexé par un autre ligand et que cette complexation est favorisée par rapport à celle avec l'acide humique; c'est ce qui nous laisse croire que la spéciation du platine est dominée par les hydroxo-complexes dans nos conditions expérimentales.

3.3.3 Spéciation du milieu MHSM-1

Le milieu MHSM-1 est le milieu qui a été utilisé pour la culture et les expositions des algues vertes. Sa composition détaillée est présentée au Tableau 2.5. Tout comme le milieu électrolytique simplifié, ce milieu contenait des ions majeurs, mais il contenait en plus d'autres éléments nécessaires à la croissance des algues, tels que du phosphore (PO_4^{3-}) et une solution de métaux traces (AAP) contenant de l'EDTA. De plus, un tampon pH (MES) était ajouté à ce milieu. La force ionique était également plus faible dans le milieu MHSM-1, soit 10 mÉq/L comparativement à 20 mÉq/L pour le milieu électrolytique simplifié.

Une tendance peut être observée sur la Figure 3.8; la fraction de platine liée à l'acide humique augmente lorsqu'on augmente la concentration d'acide humique. Pour cette expérience, les concentrations nominales de platine et d'acide humique sont les mêmes que celles sélectionnées pour les expériences d'ultrafiltration précédentes dans le milieu électrolytique simplifié. Le pH est de 6 et la force ionique est de 10 mÉq/L. Les fractions de platine liées à l'acide humique sont de $26 \pm 2 \%$, $29 \pm 3 \%$ et $35 \pm 2 \%$ pour des concentrations d'acide humique du fleuve Suwannee de 1, 5 et 10 mg C/L. Tel qu'illustré à la Figure 3.8 ci-dessous, les fractions de platine liées à l'acide humique ne sont pas significativement différentes pour des concentrations de 1 et 5 mg C/L.

Cependant, celles-ci sont significativement différentes pour des concentrations d'acide humique de 1 et 10 mg C/L ainsi que 5 et 10 mg C/L.

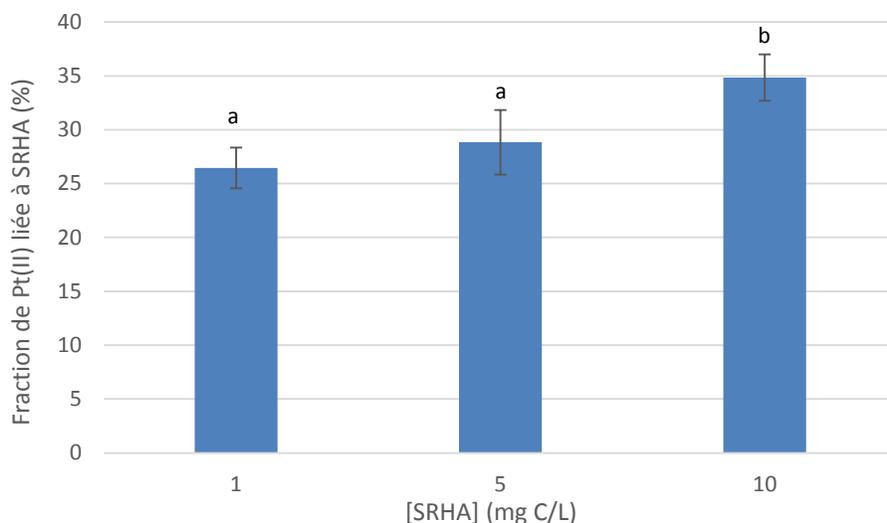


Figure 3.8 : Spéciation obtenue expérimentalement par ultrafiltration partielle, $n = 3$, milieu MHSM-1, $I = 10 \text{ mÉq/L}$, $[\text{Pt}]_{\text{nominale}} = 39 \text{ µg/L}$, $[\text{SRHA}]_{\text{nominales}} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

3.3.4 Comparaison de la spéciation des milieux MHSM-1 et électrolytique simplifié

Comme mentionné à la section 3.3.3, les composantes du milieu MHSM-1 sont différentes de celles du milieu électrolytique simplifié. L'EDTA ou le PO_4^{3-} présents dans ce milieu pourraient modifier la spéciation en complexant le platine. Ainsi, une expérience d'ultrafiltration a été réalisée afin de vérifier si la spéciation est modifiée d'un milieu à l'autre, car des expériences d'ultrafiltration subséquentes seront réalisées dans le milieu MHSM-1 lors des expositions avec *Chlamydomonas reinhardtii*. Ces résultats sont présentés à la Figure 3.9.

Dans les mêmes conditions expérimentales ($\text{pH} = 6$, $[\text{Pt}]_{\text{nominale}} = 39 \text{ µg/L}$ et $[\text{SRHA}]_{\text{nominales}} = 1, 5$ et 10 mg C/L), mais pour des milieux différents (MHSM-1 et milieu électrolytique simplifié) et des forces ioniques différentes (10 et 20 mÉq/L), la complexation du platine par l'acide humique du fleuve Suwannee n'est pas significativement différente d'un milieu à l'autre pour une concentration d'acide humique donnée. De plus, pour une même concentration d'acide humique, la différence entre les fractions de platine liées à l'acide humique dans les deux milieux est toujours inférieure à 3 %.

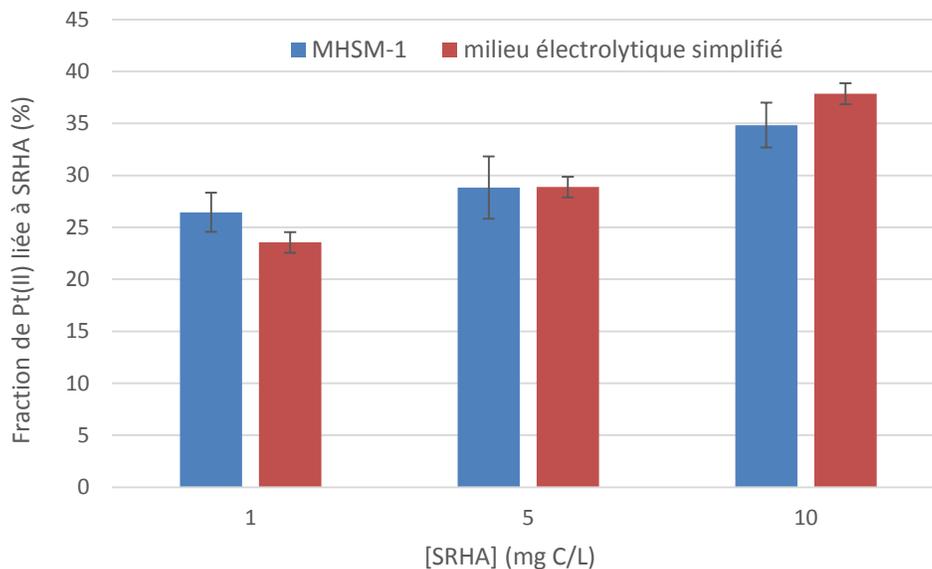


Figure 3.9 : Spéciation obtenue expérimentalement par ultrafiltration partielle, $n = 3$, milieu MHSM-1 ($I = 10 \text{ mÉq/L}$) et milieu électrolytique simplifié ($I = 20 \text{ mÉq/L}$), $[\text{Pt}]_{\text{nominale}} = 39 \text{ µg/L}$, $[\text{SRHA}]_{\text{nominales}} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

En résumé, pour l'ultrafiltration partielle :

- pour une concentration de platine constante, la fraction de platine liée à l'acide humique augmente lorsqu'on augmente la concentration d'acide humique;
- la complexation du platine par l'acide humique dans le milieu électrolytique simplifié ne varie pas significativement lorsqu'on augmente le pH d'une unité, soit de 5 à 6;
- pour une concentration d'acide humique donnée, la complexation du platine par l'acide humique n'est pas significativement différente dans les deux milieux étudiés (milieu électrolytique simplifié et MHSM-1).

3.4 Comparaison des résultats obtenus par WHAM et par ultrafiltration

3.4.1 Comparaison du milieu électrolytique simplifié à pH = 6

À la Figure 3.10 ci-dessous, les résultats de spéciation obtenus à l'aide du logiciel WHAM ont été comparés à ceux obtenus par ultrafiltration. Les mêmes conditions ont été utilisées pour les simulations et la méthode expérimentale, soit le milieu électrolytique simplifié ayant une force ionique de 20 mEq/L, un pH de 6, une concentration de platine nominale de 39 µg/L et trois concentrations nominales d'acide humique ont été vérifiées, soit 1, 5 et 10 mg C/L. À la Figure 3.10, on observe la même tendance pour les résultats obtenus à l'aide de WHAM et par ultrafiltration; pour une concentration constante de platine, soit 39 µg/L, la fraction de ce métal liée à l'acide humique augmente lorsque la concentration d'acide humique augmente. Ainsi, l'augmentation de la fraction complexée par l'acide humique est bien modélisée par WHAM. Cependant, les résultats de complexation du platine par l'acide humique obtenus à l'aide du logiciel thermodynamique WHAM sont plus faibles que ceux obtenus par ultrafiltration partielle, l'écart entre les résultats obtenus par ces deux méthodes étant assez important. En effet, pour une concentration d'acide humique de 1 mg C/L, la fraction de platine complexée par l'acide humique calculée par WHAM est de 1,3 % et celle mesurée par ultrafiltration est de 24 ± 1 %, pour une concentration d'acide humique de 5 mg C/L, la fraction complexée calculée par WHAM est de 6,7 % et celle mesurée par ultrafiltration est de 29 ± 1 % et finalement pour une concentration d'acide humique de 10 mg C/L, la fraction complexée calculée par WHAM est de 13,2 % et celle mesurée par ultrafiltration est de 38 ± 1 %. Cette importante différence est très probablement liée à un manque de données thermodynamiques pour le platine dans le logiciel WHAM. En effet, l'utilisation de constantes de formation erronées ou simplement l'absence de constantes de formation pour certains complexes peut entraîner un biais dans les résultats de spéciation. Comme indiqué à la section 2.1.1, peu de constantes thermodynamiques sont disponibles pour les éléments du groupe platine, et ce particulièrement pour le platine (Fortin *et al.*, 2011). La constante de formation utilisée lors des simulations pour le complexe acide humique – platine est celle présente de base dans le logiciel WHAM pour le palladium. Toutefois, celle-ci semble tenir compte du fait que le palladium préfère se lier à l'azote et au soufre plutôt qu'à l'oxygène. En effet, la constante d'affinité du Pd(II) pour les groupes carboxyliques (K_{MA}) est de 3,77 (log K_{MA}) tandis que la valeur pour la présence de sites de grande affinité (ΔLK_2) est de 5,57

(Tipping, 1998). Plusieurs autres constantes de formation déterminées pour le palladium ont également été utilisées lors des calculs d'équilibre chimique avec le platine, soit pour la formation de complexes avec les carbonates, l'ammoniac et l'EDTA. De plus, les constantes thermodynamiques utilisées pour la formation de chloro-complexes et de complexes avec l'ammoniac ont été déterminées à une force ionique élevée et n'ont pu être corrigées à l'aide de l'équation de Davies. Toutes ces constantes thermodynamiques sont présentées au Tableau 2.2.

L'utilisation de constantes thermodynamiques erronées dans le logiciel WHAM fait en sorte que celui-ci sous-estime la complexation du Pt(II) par l'acide humique dans nos conditions expérimentales. WHAM prédit que plus de 99,9 % du platine ajouté dans le milieu sera sous la forme $\text{Pt}(\text{OH})^+$; cet hydroxyde est l'espèce majoritaire dans le milieu car nous avons utilisé la constante de formation $\log \beta_1 = 24,91$ pour la formation du complexe $\text{Pt}(\text{OH})^+$, constante qui permettait une meilleure approximation des résultats d'ultrafiltration partielle. L'écart important entre la constante déterminée par Azaroual *et al.* (2001) ($\log \beta_1 = 24,91$) et celle déterminée par Wood et Mountain (1989) ($\log \beta_1 = 14,2$) peut expliquer la différence observée entre les résultats obtenus ici à l'aide de WHAM et ceux présentés dans le diagramme de Pourbaix à la Figure 1.3. En effet, le diagramme de Pourbaix indique que $\text{Pt}(\text{OH})_2$ serait l'espèce dominante à pH 5 dans les eaux naturelles; les auteurs avaient utilisé la constante de formation du complexe $\text{Pt}(\text{OH})^+$ déterminée par Wood et Mountain (1989) ($\log \beta_1 = 14,2$) pour construire ce diagramme.

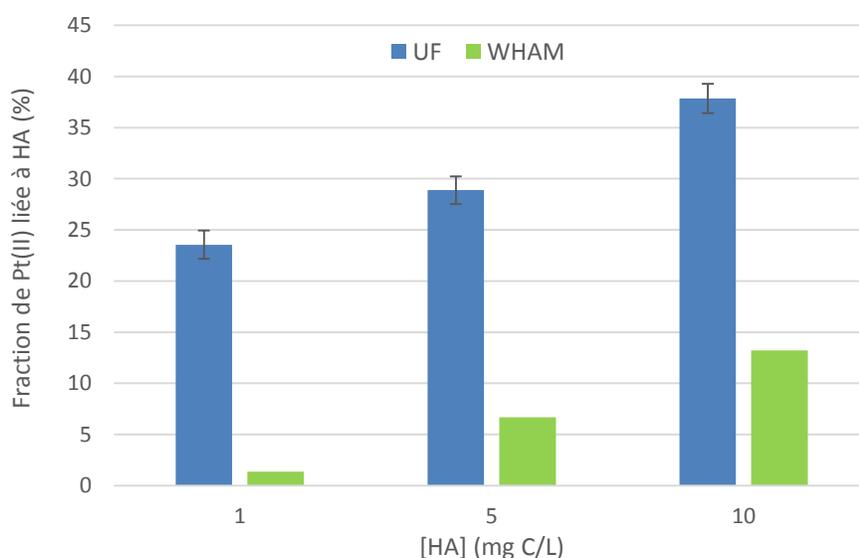


Figure 3.10 : Spéciation obtenue par ultrafiltration partielle ($n = 3$) et par simulation WHAM, milieu électrolytique simplifié, $I = 20 \text{ mÉq/L}$, $[\text{Pt}]_{\text{nominale}} = 39 \text{ µg/L}$, $[\text{HA}]_{\text{nominales}} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

3.4.2 Comparaison du milieu MHSM-1 à pH = 6

Les résultats obtenus à l'aide du logiciel WHAM et par ultrafiltration partielle pour le milieu MHSM-1 à pH 6 sont très similaires à ceux obtenus pour le milieu électrolytique simplifié au même pH. Dans ces conditions (milieu MHSM-1, $I = 10 \text{ mÉq/L}$, $\text{pH} = 6$, $[\text{Pt}]_{\text{nominale}} = 39 \text{ µg/L}$, $[\text{SRHA}]_{\text{nominales}} = 1, 5 \text{ et } 10 \text{ mg C/L}$), la fraction complexée par l'acide humique calculée par WHAM est de 1,1 % et celle mesurée par ultrafiltration est de $26 \pm 2 \%$ pour une concentration d'acide humique de 1 mg C/L, ces mêmes fractions sont de 5,4 % et de $29 \pm 3 \%$ pour une concentration d'acide humique de 5 mg C/L et finalement elles sont de 11,0 % et $35 \pm 2 \%$ pour une concentration d'acide humique de 10 mg C/L. Ces résultats sont présentés à la Figure 3.11 ci-dessous. Encore une fois, les résultats de complexation du platine par l'acide humique obtenus à l'aide du logiciel thermodynamique WHAM sont plus faibles que ceux obtenus par ultrafiltration, WHAM prédit que plus de 99,9 % du platine ajouté dans le milieu sera sous la forme $\text{Pt}(\text{OH})^+$. Comme mentionné à la section 3.4.1, cet écart important serait lié à l'utilisation de données thermodynamiques erronées pour le platine dans le logiciel WHAM.

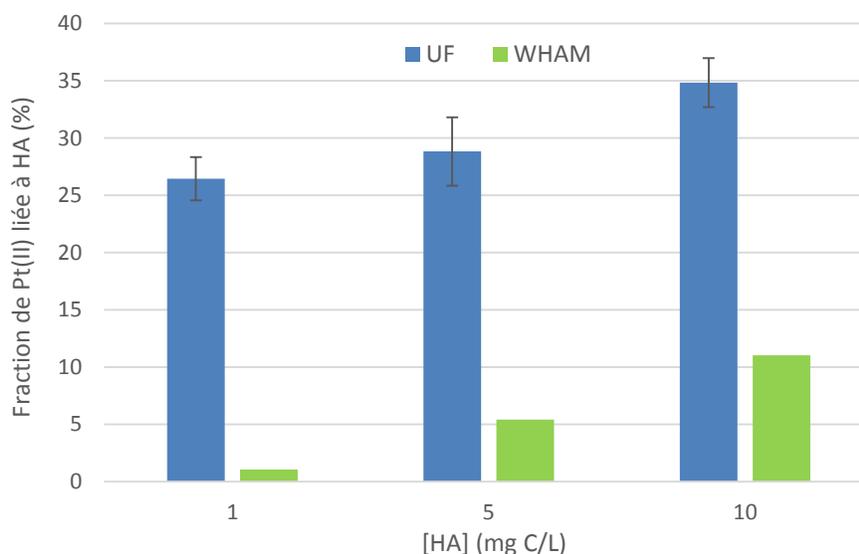


Figure 3.11 : Spéciation obtenue par ultrafiltration partielle ($n = 3$) et par simulation WHAM, milieu MHSM-1, $I = 10 \text{ mÉq/L}$, $[\text{Pt}]_{\text{nominale}} = 39 \text{ µg/L}$, $[\text{HA}]_{\text{nominales}} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

3.4.3 Ajustement de la constante de formation du complexe Pt – HA

Dans le logiciel WHAM7, il est possible de modifier les valeurs de $\log K_{MA}$ et ΔLK_2 pour l'acide humique. Le $\log K_{MA}$ est la constante d'affinité d'un métal pour les groupes carboxyliques. C'est cette valeur qui est utilisée comme constante de formation des complexes M – HA dans WHAM, tandis que le ΔLK_2 représente la présence de sites de grande affinité pour un métal, tels que d'autres groupements fonctionnels présents sur l'acide humique ou des sites de liaisons bicoordinants et tricoordinants. Ainsi, nous avons fait varier ces constantes afin d'obtenir la meilleure corrélation possible entre les résultats des simulations et ceux obtenus par ultrafiltration partielle. Les valeurs présentes initialement dans WHAM pour $\log K_{MA}$ et ΔLK_2 sont respectivement 3,77 et 5,57. Nous avons augmenté la complexation du platine par l'acide humique en variant le $\log K_{MA}$ (3,77 – 4,77) ou le ΔLK_2 (4,90 – 7,00), mais le ratio entre les fractions complexées à 1, 5 et 10 mg C/L restait toujours le même. On obtient sensiblement les mêmes résultats lorsqu'on fait varier les deux paramètres en même temps ($\log K_{MA} = 3,00$ et $\Delta LK_2 = 8,00$). Les simulations ont été réalisées avec $\log_{OH}\beta_1 = 24,91$ et $\log_{OH}\beta_1 = 14,2$. Les résultats sont présentés à l'annexe VII. Comme ceux-ci n'étaient pas très concluants, la deuxième option consistait à modifier le nombre de sites de liaison présent sur l'acide humique afin de faire varier la fraction de platine complexée. Cependant, pour ce ligand, il n'est pas possible de modifier l'abondance relative de chaque type de site dans le logiciel WHAM. Nous n'avons donc pas pu ajuster les constantes de formation du complexe Pt – HA afin d'obtenir des fractions de platine complexées similaires à celles obtenues par ultrafiltration.

Lors des simulations WHAM, l'utilisation de la constante de formation du complexe Pd – HA pour le complexe Pt – HA mène à une sous-estimation de la complexation du platine par l'acide humique. Selon ces résultats, on ne peut pas se fier aux simulations réalisées à l'aide du modèle thermodynamique WHAM afin d'estimer la spéciation du platine en présence de matière organique naturelle. Une base de données thermodynamiques plus complète serait nécessaire afin de pouvoir utiliser un modèle d'équilibres chimiques pour évaluer la spéciation du platine en présence de matière organique naturelle dans un milieu donné. Pour le moment, l'utilisation d'une méthode expérimentale est essentielle afin de valider la spéciation du platine dans un milieu contenant de l'acide humique.

D'autres modèles (Humic Ion-Binding Model VI, NICA-Donnan Model) peuvent prédire la complexation des métaux par la matière organique naturelle (Merdy *et al.*, 2006). Cependant, comme peu de données thermodynamiques sont disponibles pour le platine, la même problématique s'applique ici : les autres modèles ne prédiraient pas forcément une complexation

similaire aux résultats obtenus expérimentalement. De plus, comme ce sont les résultats obtenus expérimentalement (ultrafiltration partielle) qui seront utilisés afin de vérifier la spéciation du platine en présence de matière organique naturelle dans les milieux d'exposition, les autres modèles n'ont pas été utilisés dans le cadre de ce projet.

En résumé, lorsqu'on compare les résultats de spéciation estimés par WHAM à ceux obtenus par ultrafiltration partielle :

- la même tendance est observée pour les deux méthodes; pour une concentration constante de platine, la fraction de ce métal liée à l'acide humique augmente lorsque la concentration d'acide humique augmente;
- les fractions de platine complexées par l'acide humique obtenues à l'aide du logiciel thermodynamique WHAM sont plus faibles que celles obtenues par ultrafiltration partielle, tant dans le milieu électrolytique simplifié que dans le milieu MHSM-1. Cette différence est probablement liée à l'utilisation de données thermodynamiques erronées pour le platine lors des simulations dans WHAM;
- il n'était pas possible d'ajuster les constantes de formation du complexe Pt – HA dans WHAM afin d'obtenir des fractions de platine complexées similaires à celles obtenues par ultrafiltration;
- pour les raisons mentionnées précédemment, nous avons donc utilisé l'ultrafiltration partielle plutôt que WHAM afin de vérifier la spéciation du platine en présence d'acide humique.

CHAPITRE 4 : EXPOSITION DE CHLAMYDOMONAS REINHARDTII AU PLATINE

4.1 Toxicité du platine en absence d'acide humique

4.1.1 Spéciation du Pt dans le milieu d'exposition

Pour cette exposition, le platine est ajouté au milieu de culture MHSM-1 sans acide humique. Les complexes observés sont donc tous avec de petits ligands inorganiques ou avec l'EDTA. Comme tous ces complexes ont une masse moléculaire inférieure à 3 kDa, le platine lié à ces différents ligands est considéré comme ultrafiltrable dans le cadre de ce projet. Il n'était donc pas nécessaire de vérifier la spéciation par ultrafiltration.

4.1.2 Comportement du platine dans le milieu de culture

Les milieux étaient préparés 72 h avant le début des expositions afin de permettre l'atteinte de l'équilibre des espèces en solution. La Figure 4.1 présente la concentration totale de platine mesurée en solution en fonction du temps; ces milieux ne contenaient pas d'acide humique. La concentration totale de platine exclue la quantité de métal internalisée par les algues (1 mL prélevé, centrifugé, surnageant prélevé et analysé), c'est donc normal qu'il y ait une faible diminution de la concentration mesurée au fil du temps. Les concentrations de platine nominales sont utilisées pour présenter les différentes conditions d'exposition (légende) à la Figure 4.1. Selon cette figure, la concentration totale de platine mesurée en solution variant peu durant 96 h, il y a donc peu de perte par adsorption sur les parois des erlenmeyers en polycarbonate ou à la surface des algues dans le milieu MHSM-1. D'ailleurs, les échantillons témoins sans algues (témoin 20 µg/L) montrent qu'il y avait peu d'adsorption sur les parois des erlenmeyers, car la concentration de platine mesurée en solution a variée de seulement 0,3 µg/L durant la durée totale de l'exposition, passant de 18,7 µg/L à t = 0 h à 18,4 µg/L à t = 96 h. La concentration de ce témoin a été sélectionnée, car elle est dans le bas de la gamme d'exposition (5 – 100 µg/L). Finalement, les solutions témoins dans lesquelles aucun platine n'a été ajouté (témoin algues) indiquent qu'il n'y avait aucune contamination des milieux d'exposition au platine, car les

concentrations mesurées dans les solutions témoins étaient sous la limite de détection de l'ICP-MS.

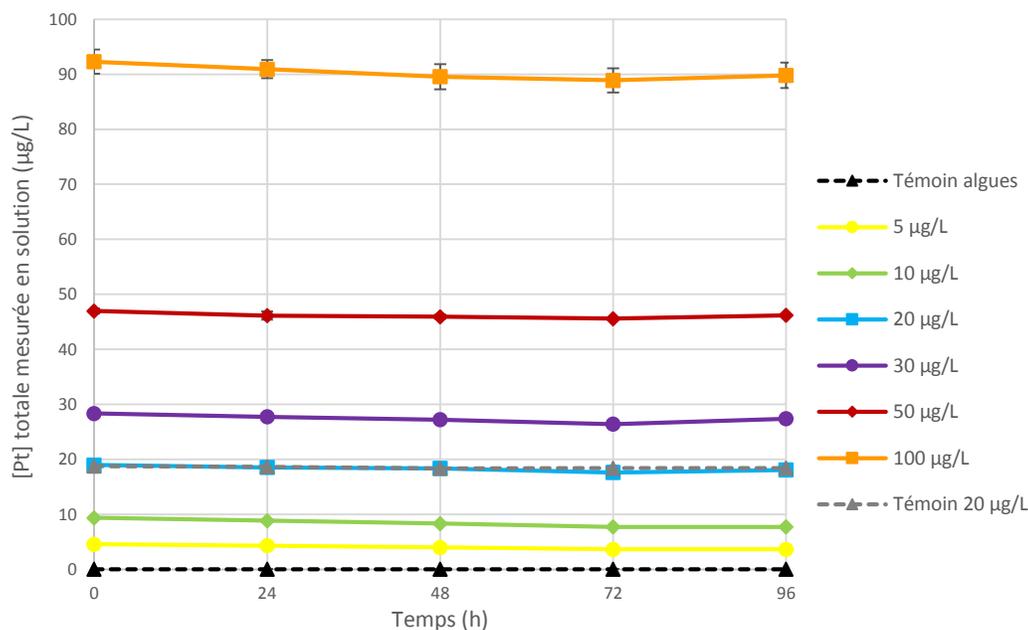


Figure 4.1 : Concentrations totales de Pt mesurées en solution durant l'exposition en absence de SRHA, $n = 3$, $[Pt]_{\text{nominales}} = 0 - 100 \mu\text{g/L}$, $[SRHA] = 0 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$. Le témoin algues contenait seulement des algues dans le milieu d'exposition; aucun Pt n'a été ajouté. Le témoin 20 $\mu\text{g/L}$ contenait seulement 20 $\mu\text{g/L}$ de Pt dans le milieu d'exposition; aucune algue n'a été ajoutée.

4.1.3 Toxicité de Pt chez *Chlamydomonas reinhardtii*

La première exposition a été réalisée en présence de platine, mais en absence d'acide humique. Cette exposition avait comme but de valider les résultats obtenus par Guillaume Tétrault lors de ses travaux de maîtrise (Tétrault, 2014) et ainsi vérifier le comportement des algues en présence de platine. Les concentrations de platine nominales dans les milieux d'exposition étaient donc les mêmes que celles qui avaient été sélectionnées par Guillaume Tétrault lors de ses expositions, soit 5, 10, 20, 30, 50 et 100 $\mu\text{g/L}$ en plus d'un témoin de croissance algale (0 $\mu\text{g/L}$) et d'un témoin de la concentration de platine dans le milieu en absence d'algues (20 $\mu\text{g/L}$) (Tétrault, 2014). Toutes les expositions ont été réalisées en trois répétitions; le pH était de 6 et la densité cellulaire initiale visée était de 12 000 cellules/mL de milieu de culture. Des résultats obtenus dans les mêmes conditions expérimentales, soit en absence d'acide humique, mais lors d'une deuxième exposition, sont également présentés ici. Lors de cette deuxième exposition, des concentrations de platine nominales de 100 et 150 $\mu\text{g/L}$ ont également été vérifiées. Les concentrations

nominales seront utilisées pour faciliter la présentation des différentes conditions d'exposition dans cette section.

4.1.3.1 Effet sur la croissance

Les courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* en présence de platine et en absence d'acide humique sont présentées à la Figure 4.2. Pour la gamme de concentrations sélectionnée, la présence de platine avait un effet peu marqué sur la croissance de l'algue verte.

On observe une faible variation dans les densités cellulaires initiales mesurées. Celle-ci peut être causée par le fait qu'on est près de la limite de détection du compteur de particules (10 000 cellules/mL) à $t = 0$ h, car le même volume d'algues a été ajouté dans tous les erlenmeyers au départ.

Une ANOVA à deux voies avec mesures répétées a permis de comparer les courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii*. Les résultats sont présentés à l'annexe VIII. Les conditions ayant des valeurs de densité cellulaire statistiquement différentes, à un temps donné, sont annotées sur la Figure 4.2 ci-dessous. Seule la concentration de 10 $\mu\text{g/L}$ est significativement différente des autres conditions d'expositions. En effet, les valeurs de densité cellulaire pour les concentrations de 10 et 100 $\mu\text{g/L}$ sont significativement différentes à 48 et 72 h tandis que ce sont les valeurs de densité cellulaire pour les concentrations de 10 et 50 $\mu\text{g/L}$ qui sont significativement différentes à 96 h. Pour toutes les autres concentrations d'exposition et à un temps donné, les valeurs de densité cellulaire sont statistiquement similaires.

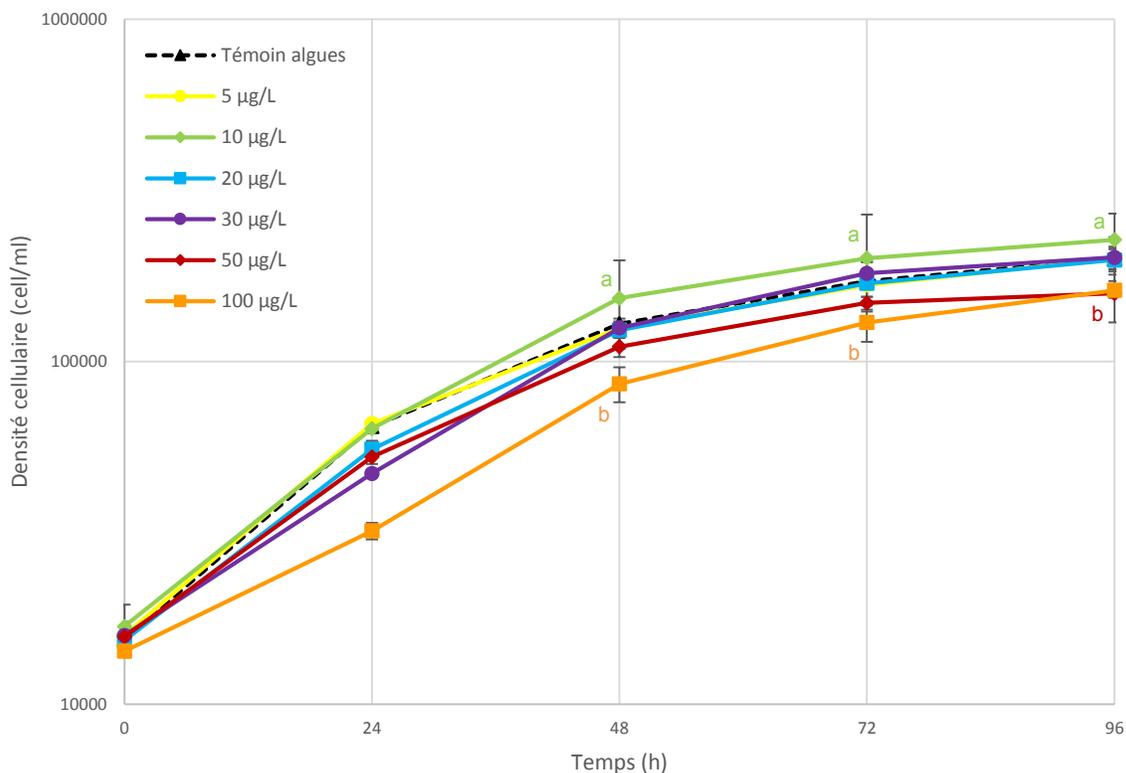


Figure 4.2 : Courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* pour l'exposition au Pt en absence de SRHA, $n = 3$, $[Pt]_{\text{nominale}} = 0 - 100 \mu\text{g/L}$, $[SRHA] = 0 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$. ^{a,b} Concentrations de Pt ayant des valeurs de densité cellulaire statistiquement différentes, à un temps donné. Les couleurs des ^{a,b} sont associées aux couleurs de la légende.

Lors de la deuxième exposition, nous avons vérifié la toxicité de deux concentrations supplémentaires de platine, et ce toujours en absence de matière organique. Comme peu d'effets avaient été observés lors de la première exposition, nous avons augmenté la concentration de platine jusqu'à $150 \mu\text{g/L}$. Nous avons également sélectionné une concentration de la première exposition, soit $100 \mu\text{g/L}$, afin de vérifier si le comportement des algues dans le milieu était similaire à celui observé lors de la première exposition. Ces deux concentrations ont été ajoutées aux courbes présentées à la Figure 4.2, et les nouvelles courbes de croissance sont présentées à la Figure 4.3. Comme il s'agit de deux expositions différentes, les résultats ne sont pas comparés statistiquement comme nous l'avons fait pour la première exposition, mais ils seront comparés graphiquement. On observe sur la Figure 4.3 que l'écart entre les densités cellulaires des deux témoins est faible. Néanmoins, à 24 h, le témoin de la deuxième exposition a une

densité cellulaire plus faible que celle de la première exposition, mais l'effet inverse est observé à 48, 72 et 96 h.

Pour la concentration de 100 µg/L, une légère variation de la densité cellulaire est observée lors des deux expositions. La densité cellulaire de la deuxième exposition est légèrement plus faible à 24 h comparativement à la densité cellulaire de la première exposition, mais l'effet inverse est observé à 48, 72 et 96 h; pour ces durées, la densité cellulaire de la deuxième exposition est légèrement supérieure à celle mesurée lors de la première exposition. Ces résultats nous permettent de conclure que le comportement des algues varie peu d'une exposition à l'autre, ce qui nous permet de comparer la toxicité du platine pour ces deux expositions.

La toxicité est plus marquée pour la concentration de 150 µg/L de platine. En effet, une diminution de la densité cellulaire est observée tout au long de l'exposition. Un retard dans la croissance est également observé. La phase exponentielle semble débiter à 48 h, mais celle-ci n'est pas très prononcée; on observe une croissance quasi linéaire de 48 à 96 h. Le rendement final est inférieur au témoin, et également inférieur à ceux mesurés pour la concentration de 100 µg/L.

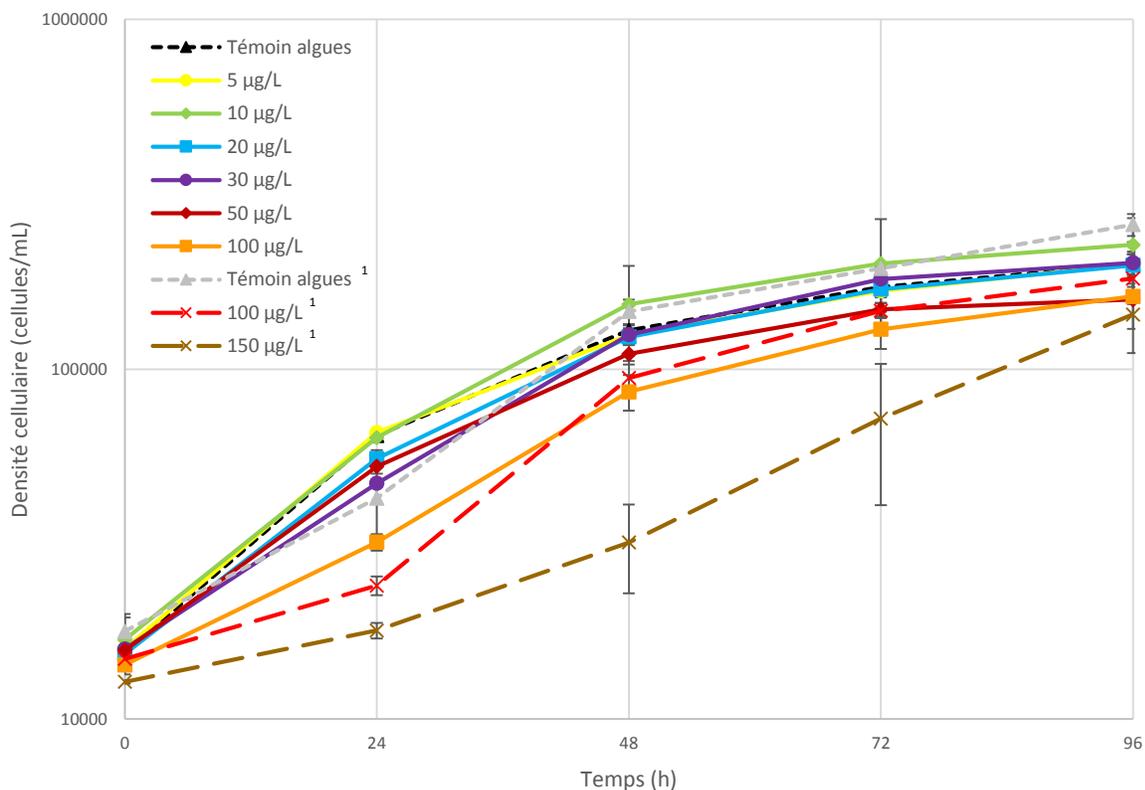


Figure 4.3 : Courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* pour les deux expositions au Pt en absence de SRHA, $n = 3$, $[Pt]_{\text{nominales}} = 0 - 150 \mu\text{g/L}$, $[SRHA] = 0 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.
¹ résultats obtenus lors de la deuxième exposition.

4.1.3.2 Internalisation du platine

Afin de mesurer l'internalisation du platine par *Chlamydomonas reinhardtii*, les cellules algales ont été digérées dans l'acide chlorhydrique à la fin de l'exposition. Les valeurs présentées à la Figure 4.4 représentent donc le platine pris en charge par *Chlamydomonas reinhardtii* après une exposition de 96 h. L'internalisation est présentée en fonction de la concentration de platine totale mesurée en solution lors de l'inoculation des algues ($t = 0 \text{ h}$). L'internalisation a été normalisée par le nombre de cellules algales (cellule) en (a) et le volume cellulaire moyen (μm^3) en (b).

Sur la Figure 4.4, on observe que la prise en charge augmente lorsque la concentration de platine dans le milieu d'exposition est plus élevée. La quantité de platine internalisée par *Chlamydomonas reinhardtii* était comprise entre $1,73 \times 10^{-18}$ et $2,18 \times 10^{-17}$ moles de platine par cellule et la concentration totale mesurée à $t = 0 \text{ h}$ dans le milieu d'exposition variait entre 4,53 et 94,4 $\mu\text{g/L}$ (Figure 4.4 (a)). Une régression linéaire entre ces deux variables donne un coefficient de détermination de 0,75. Pour la même gamme de concentrations de platine dans le milieu

d'exposition, la quantité internalisée était comprise entre $3,80 \times 10^{-13}$ et $2,04 \times 10^{-12}$ moles de platine par μm^3 de cellule algale. Le coefficient de détermination de la régression linéaire est de 0,79 (Figure 4.4 (b)). Pour chaque concentration, les trois répétitions sont présentées sur la Figure 4.4. On observe une variation lors des répétitions qui reflète le fait que les algues sont des organismes vivants et qu'elles peuvent réagir de façons différentes même si elles sont exposées aux mêmes conditions. Cette variation est également observée dans les résultats de Guillaume Tétrault (Tétrault, 2014).

L'accumulation normalisée par le volume cellulaire moyen ($\text{mol}/\mu\text{m}^3$) peut permettre de remettre en perspective la toxicité apparente d'un métal. En effet, Lavoie *et al.* (2012) ont observé une croissance (augmentation de la grosseur des cellules) de *Chlamydomonas reinhardtii* en présence de cadmium lorsque la division cellulaire était inhibée. Il y avait ainsi peu de cellules algales dans le milieu, mais celles-ci avaient une taille élevée. À la Figure 4.4, l'accumulation normalisée par le volume cellulaire moyen ($\text{mol}/\mu\text{m}^3$) permet de diminuer l'écart entre les répétitions et d'obtenir une relation plus linéaire entre internalisation et la concentration de platine. En effet, deux pentes sont observées sur la Figure 4.4 (a); la première pour les plus faibles concentrations d'exposition et la deuxième pour les concentrations les plus élevées, soit 50 et 100 $\mu\text{g}/\text{L}$. Cette différence dans l'internalisation ($\text{mol Pt}/\text{cellule}$) est causée par une variation du diamètre moyen des cellules algales à des concentrations de platine élevées. Tel que mentionné ci-dessus, *Chlamydomonas reinhardtii* peut continuer de croître en taille même si la division cellulaire est affectée. Ainsi, à des concentrations de platine élevées, l'internalisation par cellule semble plus importante, mais c'est plutôt de grosses cellules mères non divisées qui internalisent plus de platine. L'effet du platine sur la taille des cellules algales est détaillé à la section 4.2.4.2 ci-dessous. Lorsqu'on normalise par le volume moyen des cellules (Figure 4.4 (b)), on observe que l'internalisation est plus linéaire pour la gamme de concentrations d'exposition.

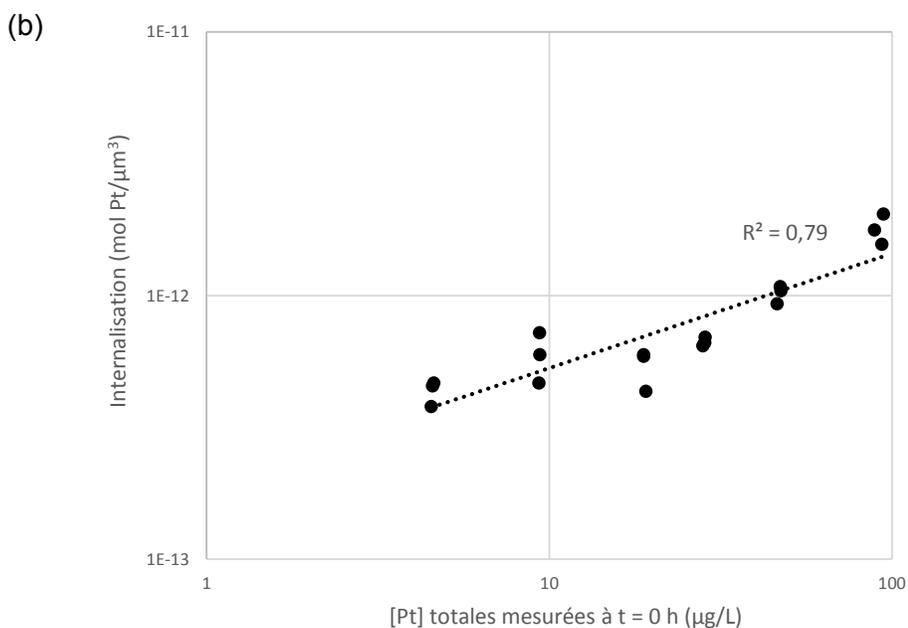
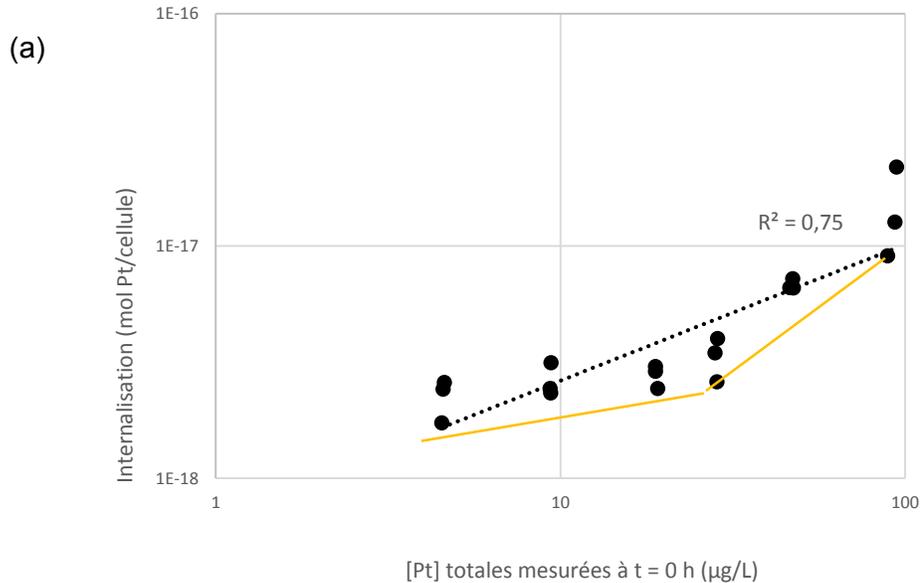


Figure 4.4 : Internalisation du Pt par *Chlamydomonas reinhardtii* pour l'exposition en absence de SRHA, exprimée en fonction de la concentration de Pt mesurée dans le milieu d'exposition ($n = 3$, $[\text{Pt}]_{\text{nominales}} = 0 - 100 \mu\text{g/L}$, $[\text{SRHA}] = 0 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$), (a) internalisation normalisée en moles de platine par cellule et (b) internalisation normalisée en moles de platine par μm^3 . Les lignes jaunes sur la figure (a) ne sont pas des régressions linéaires, elles ont simplement été ajoutées afin de montrer visuellement le bris de pente observé entre les concentrations plus faibles et plus élevées.

La Figure 4.5 ci-dessous démontre que lorsqu'on ajoute les valeurs d'internalisation mesurées lors de la deuxième exposition (100 et 150 $\mu\text{g/L}$) en absence d'acide humique, on observe une meilleure corrélation. En effet, pour l'internalisation normalisée par le nombre de cellules, le coefficient de détermination augmente de 0,75 à 0,80. La pente de la droite varie également, celle-ci étant plus élevée avec l'ajout du point à 150 $\mu\text{g/L}$ (Figure 4.5 (a)). Pour l'internalisation normalisée par le volume cellulaire moyen, le coefficient de détermination passe de 0,79 à 0,84 (Figure 4.5 (b)). La variabilité entre les répétitions semble plus élevée à des concentrations de platine plus élevées (100 et 150 $\mu\text{g/L}$) lorsque l'internalisation est normalisée par le nombre de cellules algales. La même tendance est observée pour la concentration de 150 $\mu\text{g/L}$ lorsqu'on regarde les barres d'erreurs des valeurs de densité cellulaire pour cette concentration à la figure 4.3. Cette plus grande variabilité entre répétitions, observée pour l'internalisation et la densité cellulaire aux concentrations de platine plus élevées, peut être causée par une toxicité plus importante à ces concentrations. Pour une même concentration de platine totale, soit 100 $\mu\text{g/L}$, des tests de Student ($\alpha = 0,05$) ont été réalisés sur les moyennes des trois répétitions. La prise en charge du platine est statistiquement similaire lorsqu'on compare les résultats des deux expositions normalisés par le nombre de cellules. Cependant, la prise en charge est statistiquement différente lorsque l'internalisation est normalisée par le volume cellulaire moyen. Dans les deux cas, la moyenne des trois répétitions de platine internalisé est un peu plus élevée pour la deuxième exposition, mais la variabilité entre les répétitions est plus faible; c'est ce qu'on observe sur les Figure 4.5 (a) et Figure 4.5 (b). Encore une fois, la normalisation par le volume cellulaire moyen (Figure 4.5 (b)) permet d'obtenir une internalisation plus linéaire pour la gamme de concentrations d'exposition. La différence dans l'internalisation (mol Pt/cellule) est causée par un diamètre moyen des cellules algales plus élevé à des concentrations de platine de 50, 100 et 150 $\mu\text{g/L}$.

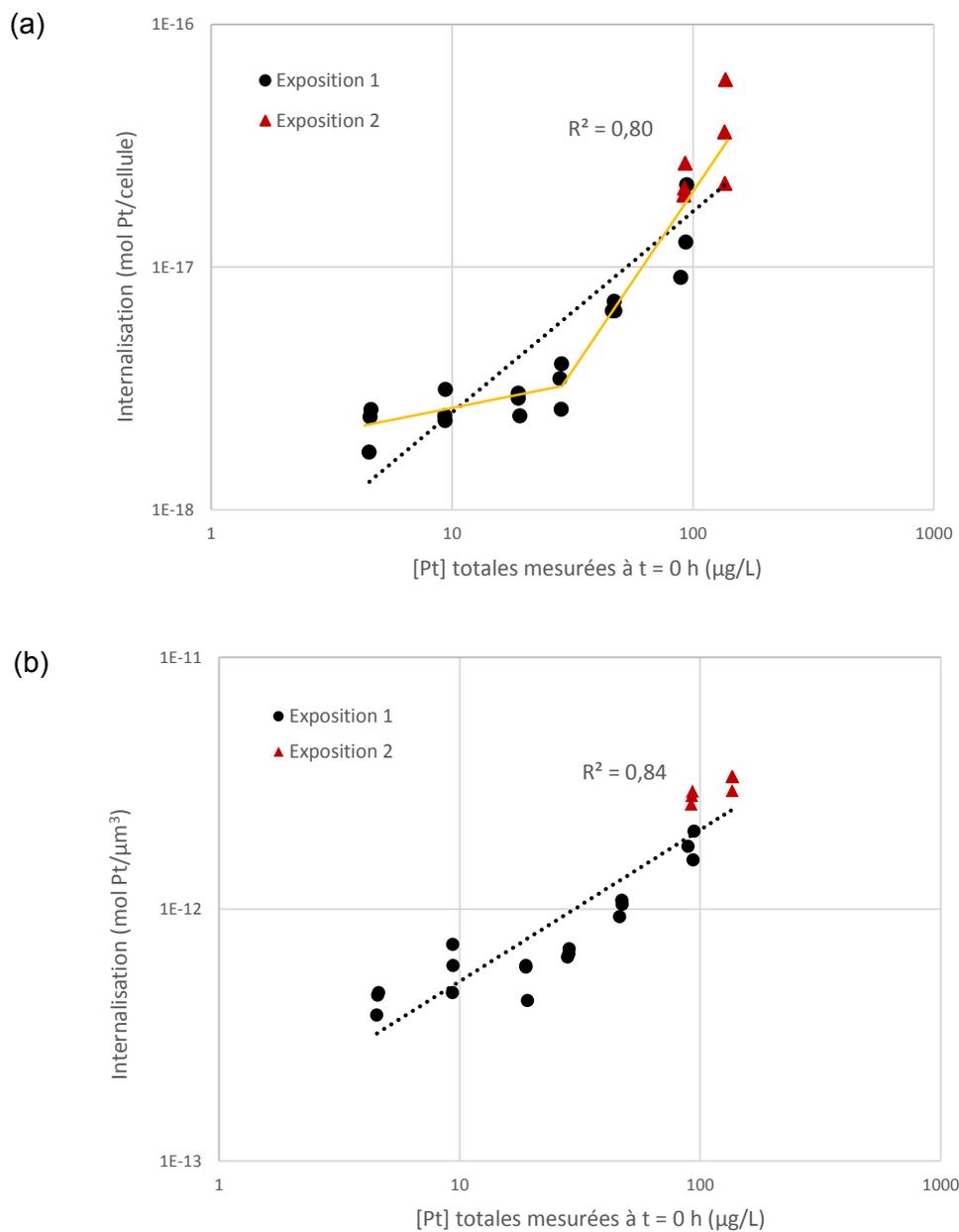


Figure 4.5 : Internalisation du Pt par *Chlamydomonas reinhardtii* pour les deux expositions en absence de SRHA, exprimée en fonction de la concentration de Pt mesurée dans le milieu d'exposition ($n = 3$, $[Pt]_{\text{nominales}} = 0 - 150 \mu\text{g/L}$, $[SRHA] = 0 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$), (a) internalisation normalisée en moles de platine par cellule et (b) internalisation normalisée en moles de platine par μm^3 . Les lignes jaunes sur la figure (a) ne sont pas des régressions linéaires, elles ont simplement été ajoutées afin de montrer visuellement le bris de pente observé entre les concentrations plus faibles et plus élevées.

4.1.3.3 Concentration efficace moyenne

Pour les calculs de CE_{50} , les densités cellulaires des deux expositions en absence d'acide humique (0 – 100 et 100 – 150 $\mu\text{g/L}$) ont été utilisées. Les concentrations efficaces moyennes ont été calculées à partir des courbes dose-réponse, c'est-à-dire les courbes de densités cellulaires relatives en fonction des concentrations totales de platine mesurées dans le milieu d'exposition. Pour obtenir les densités cellulaires relatives, il faut diviser les densités cellulaires mesurées à chaque concentration de platine par la densité cellulaire moyenne du témoin.

Pour l'exposition en absence d'acide humique, la CE_{50} n'a pu être calculée qu'à 48 h, temps où la toxicité est la plus élevée. La toxicité n'est pas assez marquée aux autres temps, la courbe de régression non linéaire à quatre paramètres utilisée ne converge pas. La courbe dose-réponse à 48 h est tracée à la Figure 4.6, la concentration efficace moyenne est de $102 \pm 58 \mu\text{g/L}$. Cette concentration est relativement élevée pour notre gamme de concentrations d'exposition (5 à 150 $\mu\text{g/L}$). En effet, Gabrielle Roy avait déterminé une CE_{50} de $4,5 \pm 0,4 \mu\text{g/L}$ à 48 h également, dans un milieu d'exposition identique au nôtre, mais à pH 7 (Roy, 2009). Cette valeur est nettement plus faible que celle que l'on a obtenue ici, toutefois Guillaume Tétrault a démontré que la toxicité du platine chez *Chlamydomonas reinhardtii* est plus importante à pH 7 qu'à pH 6. En effet, il avait calculé des CE_{50} après 24 h d'exposition de $5 \pm 7 \mu\text{g/L}$ à pH 7 comparativement à $24 \pm 12 \mu\text{g/L}$ à pH 6 (Tétrault, 2014). Une nouvelle analyse de ces données à 48 h indique des CE_{50} plus proches de celles obtenues ici, soit $29 \pm 3 \mu\text{g/L}$ à pH 7 et une valeur approximative de $65 \mu\text{g/L}$ à pH 6 toutefois il n'y avait pas suffisamment d'inhibition de croissance dans la gamme testée pour obtenir une convergence du modèle de régression non-linéaire. Il demeure que les résultats sont cohérents et que la présence de platine induit une toxicité chez l'algue verte *Chlamydomonas reinhardtii* dans nos conditions d'exposition. En absence d'acide humique, cette toxicité est plus marquée à 48 h d'exposition qu'à tout autre temps d'exposition.

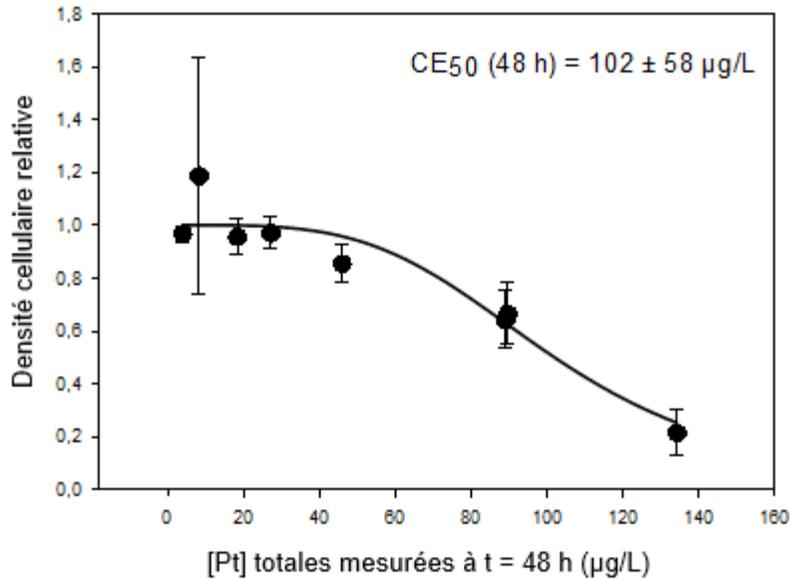


Figure 4.6 : Densité cellulaire relative à t = 48 h pour l'exposition en absence de SRHA en fonction de la concentration en Pt totale mesurée en solution à t = 48 h, n = 3, [Pt]_{nominales} = 0 – 150 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L, pH = 6. La courbe noire est la fonction intégrée de régression non linéaire (équation 2.9) utilisée pour déterminer la concentration efficace moyenne.

En résumé, pour l'exposition de *Chlamydomonas reinhardtii* au platine en absence de matière organique naturelle :

- la concentration totale de platine mesurée en solution varie peu durant les 96 h d'exposition;
- pour la croissance de l'algue verte, peu d'effets ont été observés en présence de platine pour la gamme de concentrations sélectionnée. La condition de 100 µg/L nous permet de conclure que le comportement des algues varie peu d'une exposition à l'autre. La toxicité est plus marquée pour la concentration de 150 µg/L; un retard dans la croissance et une diminution de la densité cellulaire sont observés;
- l'internalisation de platine par *Chlamydomonas reinhardtii* augmente lorsque la concentration de platine dans le milieu d'exposition est plus élevée;
- la concentration efficace moyenne calculée à 48 h est de 102 ± 58 µg/L.

4.2 Toxicité du platine en présence d'acide humique

4.2.1 Spéciation du milieu

Pour cette exposition, la spéciation du platine dans le milieu d'exposition a été estimée à l'aide d'un modèle d'équilibres chimiques et déterminée grâce à une méthode expérimentale. Les résultats obtenus à l'aide du logiciel thermodynamique WHAM seront comparés à ceux obtenus par ultrafiltration partielle (UF) selon leurs fractions de Pt(II) liées à l'acide humique. Dans ce projet, on considère que les complexes HA – Pt ne peuvent franchir la membrane d'ultrafiltration tandis que tous les autres complexes (avec des ligands inorganiques ou avec EDTA) sont considérés comme ultrafiltrables, car ils peuvent passer à travers les pores des membranes à ultrafiltration (3 kDa).

4.2.1.1 Simulation WHAM

Les simulations WHAM ont été réalisées à partir des conditions expérimentales, les concentrations d'acide humique et de platine entrées dans le logiciel étant les concentrations totales mesurées en solution à $t = 0$ h. Les concentrations d'acide humique mesurées varient entre 8,8 et 8,9 mg C/L et les concentrations totales de platine mesurées sont de 14,6, 40,9, 66,8, 126 et 180 $\mu\text{g/L}$. Selon les résultats des simulations réalisées avec le logiciel WHAM, les fractions de platine liées à l'acide humique sont respectivement de 25, 10, 6, 4 et 3 %, pour chacune de ces concentrations de platine. Ces résultats sont présentés à la Figure 4.7. Les concentrations de platine mesurées après ultrafiltration (platine non lié à la matière organique) dans les milieux sont donc de 11,0, 37,0, 62,7, 121 et 175 $\mu\text{g/L}$.

On observe à la Figure 4.7 que pour une même concentration en acide humique, la fraction de platine liée diminue lorsque la concentration de platine augmente. La même tendance était observée dans les résultats présentés au chapitre 3. Le logiciel WHAM indique que la majorité du platine dans le milieu d'exposition se retrouve sous forme d'hydroxo complexes, PtOH^+ et $\text{Pt}(\text{OH})_2$.

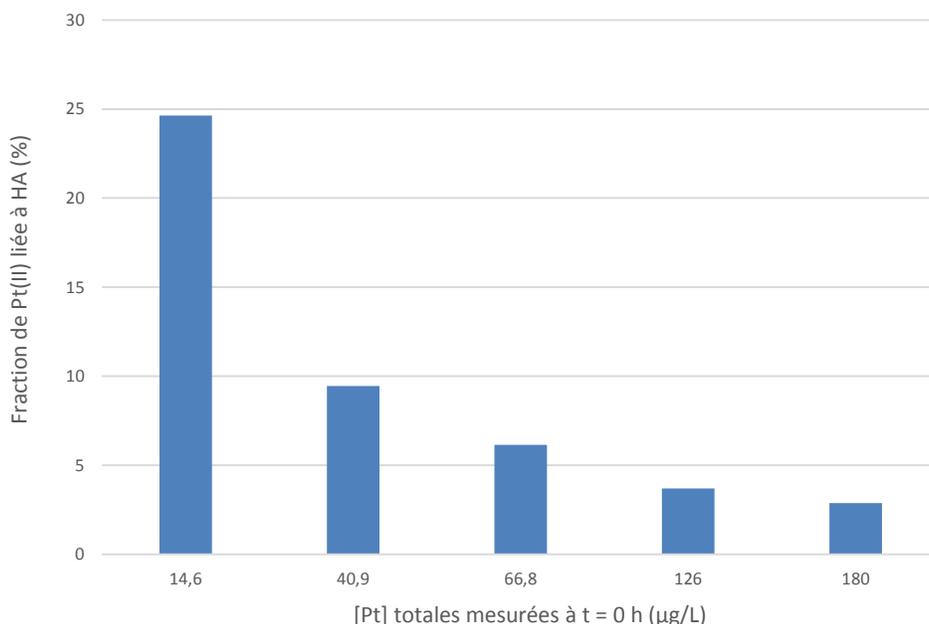


Figure 4.7 : Spéciation prédite selon le logiciel WHAM7 pour le milieu d'exposition en présence de SRHA, $[Pt]_{\text{totales mesurées}} = 14,6 - 180 \mu\text{g/L}$, $[SRHA]_{\text{mesurées}} = 8,8 - 8,9 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

4.2.1.2 Ultrafiltration partielle

L'ultrafiltration partielle des milieux d'exposition a été réalisée au départ ($t = 0 \text{ h}$) et à la fin ($t = 96 \text{ h}$) des expositions afin de vérifier s'il y avait une variation de la spéciation durant l'exposition. Lors des ultrafiltrations, 20 mL de chaque milieu d'exposition contenant du platine et de l'acide humique ont été ultrafiltrés à 5000 tr/min durant 8 min (4 193 g). Les concentrations de platine déterminées par ultrafiltration, soit les concentrations de platine ultrafiltrées (platine non lié à la matière organique) qu'on s'attendait à mesurer en solution (10, 30, 50, 100 et 150 $\mu\text{g/L}$) sont utilisées pour présenter les différentes conditions d'exposition (légendes) dans cette section afin de simplifier les résultats.

Les concentrations de platine mesurées lors des expériences d'ultrafiltration partielle sont présentées au Tableau 4.1 ci-dessous. La colonne « [Pt] départ UF » représente la concentration de platine totale mesurée dans le milieu au moment de l'ultrafiltration, soit à 0 ou 96 h. On observe une différence entre les fractions de platine complexées au départ et à la fin des expositions, mais cet écart est toujours inférieur à 10 %. Une variation de la concentration totale de platine mesurée en solution à ces deux temps est également observée, cette variation étant toujours entre 5 et 10 %. Les concentrations de platine sont plus faibles à 96 h qu'au début de l'expérience.

Cette faible diminution de platine dans le milieu peut être causée par des pertes par adsorption sur les parois des flacons et par l'internalisation du métal par les algues tout au long de l'exposition.

La concentration d'acide humique a également été mesurée en solution au moment de l'ultrafiltration, soit à 0 ou 96 h. La quantité d'acide humique ayant traversé la membrane durant la centrifugation était toujours inférieure à 9 % de la quantité mesurée au départ. L'acide humique du fleuve Suwannee est donc bien retenu par les membranes à ultrafiltration ayant un seuil de rétention de 3 kDa. Les concentrations d'acide humique mesurées en solution étaient plus élevées à la fin de l'exposition qu'au départ. Cette variation était similaire pour tous les échantillons, soit d'environ 1 mg C/L. Cette variation, très reproductible d'un échantillon à l'autre, peut être expliquée par une déviation du spectrofluorimètre entre les utilisations ou par une altération de la structure de l'acide humique dans le temps. En effet, pour une même courbe d'étalonnage, l'intensité de la fluorescence (u.a.) mesurée par le spectrofluorimètre variait entre chaque utilisation. La solution servant à la détermination de la courbe d'étalonnage était conservée dans le noir afin d'éviter la photolyse de l'acide humique et elle contenait un tampon pH afin d'éviter la protonation/déprotonation de l'acide humique dans le temps, ce qui aurait pu modifier sa fluorescence. Malgré ces précautions, une faible variation temporelle de l'intensité de la fluorescence des étalons et des échantillons a été observée. Cependant, les concentrations mesurées à un temps donné pour différents traitements (échantillons) étaient similaires. Les concentrations d'acide humique mesurées dans les différentes fractions ne sont cependant pas utilisées dans les calculs de spéciation.

Le bilan de masse a été calculé à partir des quantités de platine mesurées dans le rétentat et le filtrat par rapport à la quantité mesurée au départ. Celui-ci était compris entre 94 et 99% dans toutes les conditions d'expositions.

Tableau 4.1 : Résultats obtenus expérimentalement par ultrafiltration partielle au départ et à la fin de l'exposition en présence de SRHA, n = 3, [Pt]_{déterminées par UF} = 10 – 150 µg/L, [SRHA]_{nominale} = 10 mg C/L, pH = 6.

| Milieu | [Pt] départ UF (µg/L) | [Pt] rétentat (µg/L) | [Pt] filtrat (µg/L) | $\frac{[Pt]_{filtrat}}{[Pt]_{rétentat}} = Pt_{ultrafiltré}$ (%) | [Pt] ultrafiltré (µg/L) | Pt lié à SRHA (%) | [SRHA] départ (mg C/L) | Bilan de masse (%) |
|----------------------|-----------------------|----------------------|---------------------|---|-------------------------|-------------------|------------------------|--------------------|
| 10 µg/L t = 0 h | 14,577 ± 0,006 | 15,03 ± 0,02 | 8,5 ± 0,2 | 57 ± 1 | 8,2 ± 0,2 | 43 ± 1 | 8,95 ± 0,03 | 96 ± 2 |
| 10 µg/L t = 96 h | 13,1 ± 0,2 | 14,3 ± 0,2 | 7,6 ± 0,2 | 54 ± 2 | 7,0 ± 0,3 | 46 ± 2 | 10,4 ± 0,1 | 99 ± 4 |
| 30 µg/L t = 0 h | 40,9 ± 0,1 | 41,76 ± 0,03 | 28,8 ± 0,3 | 68,9 ± 0,9 | 28,2 ± 0,4 | 31,1 ± 0,9 | 8,97 ± 0,02 | 97 ± 4 |
| 30 µg/L t = 96 h | 38,1 ± 0,2 | 40,3 ± 0,3 | 23,7 ± 0,2 | 59 ± 1 | 22,4 ± 0,4 | 41 ± 1 | 10,5 ± 0,1 | 97 ± 2 |
| 50 µg/L t = 0 h | 66,8 ± 0,3 | 68,1 ± 0,4 | 48,4 ± 0,7 | 71 ± 1 | 48 ± 1 | 29 ± 1 | 8,914 ± 0,003 | 96 ± 2 |
| 50 µg/L t = 96 h | 63 ± 1 | 65 ± 1 | 41,2 ± 0,8 | 63 ± 2 | 39 ± 1 | 37 ± 2 | 10,40 ± 0,07 | 97 ± 4 |
| 100 µg/L t = 0 h | 126,13 ± 0,02 | 126,1 ± 0,2 | 94 ± 1 | 75 ± 1 | 94 ± 2 | 25 ± 1 | 8,85 ± 0,06 | 95 ± 3 |
| 100 µg/L t = 96 h | 117,8 ± 0,8 | 123,0 ± 0,6 | 90,3 ± 0,5 | 73,4 ± 0,7 | 86,5 ± 0,8 | 26,6 ± 0,7 | 10,2 ± 0,1 | 98 ± 1 |
| 150 µg/L t = 0 h | 179,8 ± 0,8 | 178,1 ± 0,5 | 144 ± 3 | 81 ± 2 | 145 ± 4 | 19 ± 2 | 8,85 ± 0,06 | 94 ± 2 |
| 150 µg/L t = 96 h | 170,7 ± 0,5 | 177 ± 1 | 137 ± 3 | 77 ± 2 | 132 ± 4 | 23 ± 2 | 10,21 ± 0,05 | 99 ± 2 |

En plus d'être présentées au Tableau 4.1, les fractions de platine complexées par l'acide humique au départ et à la fin des expositions sont présentées à la Figure 4.8 ci-dessous. On observe la même tendance qu'à la Figure 4.7; pour une même concentration en acide humique, la fraction de platine liée diminue lorsque la concentration de platine augmente.

Pour une concentration de platine donnée, les fractions liées à l'acide humique mesurées à t = 0 h et t = 96 h sont statistiquement similaires (test de Student, $\alpha = 0,05$) pour des concentrations déterminées par ultrafiltration de 10, 100 et 150 µg/L. Cependant, les fractions liées sont significativement différentes pour les concentrations de 30 et 50 µg/L. Cette différence est causée par une fraction de platine liée à l'acide humique plus importante à t = 96 h qu'à t = 0 h; moins de platine a été mesuré dans l'ultrafiltrat à 96 h pour ces deux concentrations. Nous n'avons pas d'explications à proposer pour ces différences observées. Néanmoins, on peut constater que la tendance de complexation est la même au début et à la fin de l'exposition.

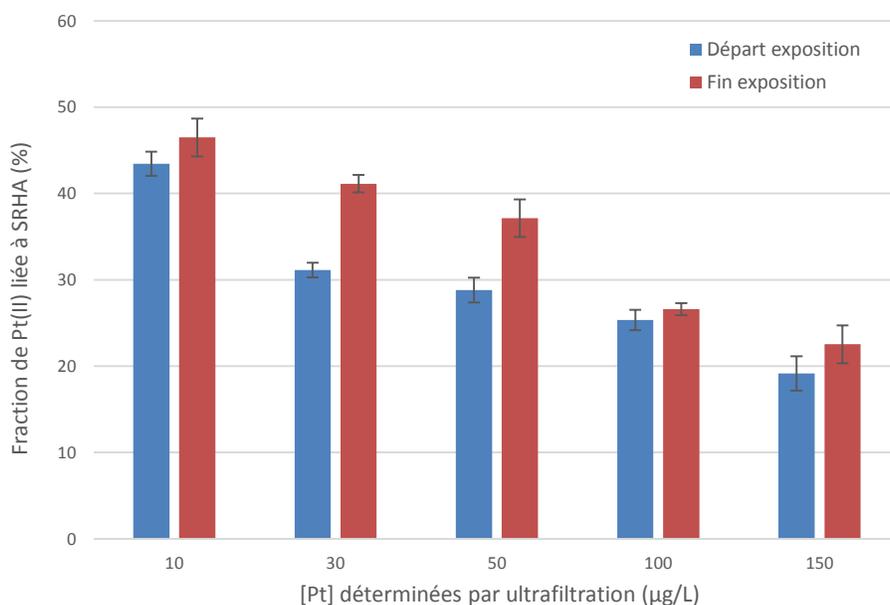


Figure 4.8 : Spéciation obtenue expérimentalement par ultrafiltration partielle au départ et à la fin de l'exposition des algues en présence de SRHA, $n = 3$, $[Pt]_{\text{déterminées par UF}} = 10 - 150 \mu\text{g/L}$, $[SRHA]_{\text{nominale}} = 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

4.2.1.3 Comparaison WHAM et ultrafiltration partielle

Les résultats des Figure 4.7 et Figure 4.8 ont été mis ensemble afin d'être comparés. La Figure 4.9 montre ces résultats, qui sont présentés en fonction de la concentration totale de platine mesurée en solution. Les simulations WHAM ont été réalisées à partir des conditions expérimentales à $t = 0 \text{ h}$, ces résultats sont donc comparés avec les résultats d'ultrafiltration obtenus également à $t = 0 \text{ h}$.

On observe sur la Figure 4.9 que les fractions liées calculées à l'aide de WHAM sont plus faibles que celles obtenues par ultrafiltration partielle. L'écart entre les fractions liées obtenues au départ de l'exposition par ces deux méthodes varie entre 16 et 23 %. Comme expliqué dans la section 3.4, cet écart peut être causé par l'utilisation de données thermodynamique erronées pour le platine dans le logiciel WHAM. Ces résultats sont en accord avec les résultats obtenus lors des expériences de spéciation au chapitre 3; le manque de données thermodynamiques fiables dans WHAM amène le logiciel à sous-estimer la fraction de platine complexée par l'acide humique.

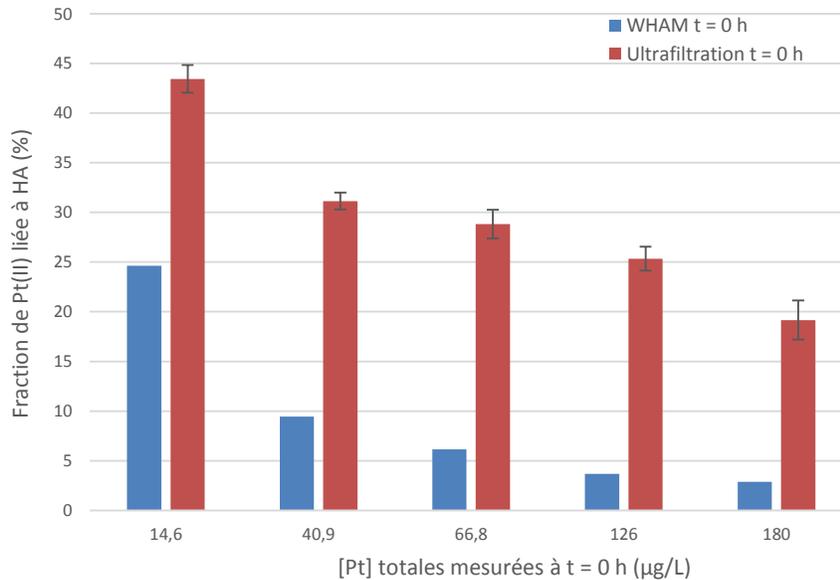


Figure 4.9 : Comparaison des fractions complexées obtenues à l'aide du logiciel WHAM et par ultrafiltration partielle (n = 3) au départ de l'exposition en présence de SRHA, $[Pt]_{\text{totales mesurées}} = 14,6 - 180 \mu\text{g/L}$, $[SRHA]_{\text{mesurées}} = 8,8 - 8,9 \text{ mg C/L}$, pH = 6.

4.2.2 Comportement du platine dans le milieu de culture MHSM-1 en présence d'acide humique

Tout comme pour l'exposition en absence d'acide humique, les milieux ont été préparés 72 h avant le début des expositions afin de permettre l'atteinte de l'équilibre des espèces en solution; les concentrations de platine totales n'incluent pas la quantité de métal internalisée par les algues (1 mL prélevé, centrifugé, surnageant prélevé et analysé). Les concentrations de platine ultrafiltrées attendues (platine non lié à la matière organique) sont utilisées pour présenter les différentes conditions d'exposition (légende) à la Figure 4.10. Cette figure montre la concentration totale de platine mesurée dans les milieux d'exposition en fonction du temps. Les concentrations totales de platine mesurées en solution variaient peu durant 96 h, montrant qu'il y avait peu de pertes par adsorption sur les parois des erlenmeyers ou à la surface des algues pour le platine dans le milieu MHSM-1 en présence d'acide humique. Ces résultats sont similaires à ceux observés lors de la première exposition en absence d'acide humique (Figure 4.1).

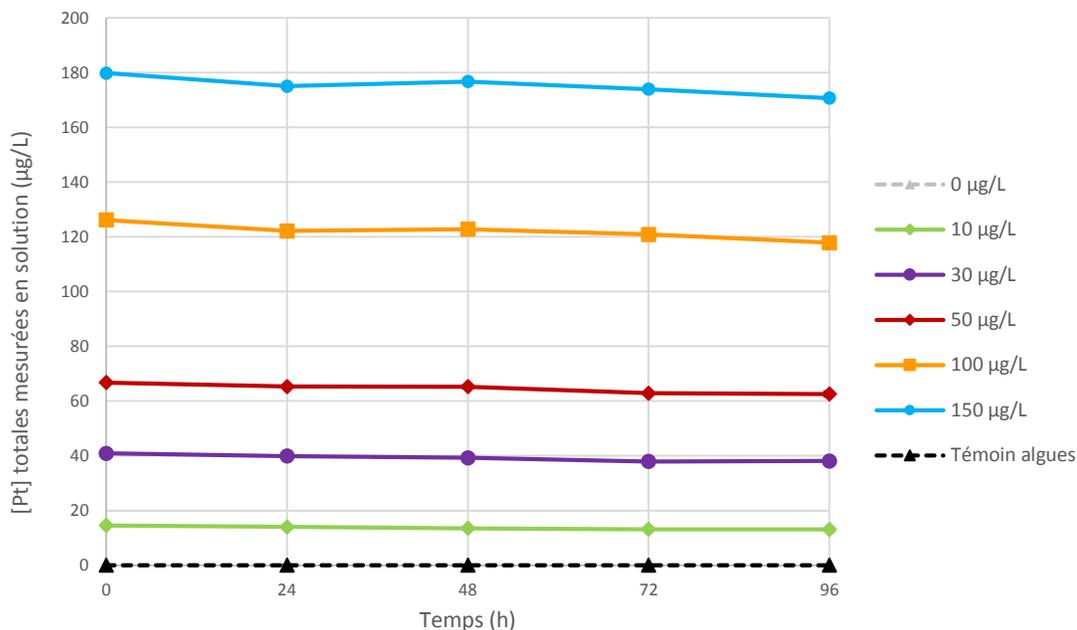


Figure 4.10 : Concentrations totales de Pt mesurées en solution durant l'exposition en présence de SRHA, $n = 3$, $[Pt]_{\text{déterminées par UF}} = 0 - 150 \mu\text{g/L}$, $[SRHA]_{\text{nominales}} = 0 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

4.2.3 Effet de l'acide humique sur la croissance de *Chlamydomonas reinhardtii*

Avant d'exposer *Chlamydomonas reinhardtii* au platine en présence d'acide humique, une exposition préliminaire en absence de platine a été réalisée afin de vérifier l'impact de l'acide humique sur la croissance des algues. La durée de cette exposition était de 125 h. Cette expérience préliminaire a été réalisée car une concentration d'acide humique de 10 mg C/L colore le milieu de culture, ce qui pourrait affecter la luminosité perçue par les algues et possiblement nuire à leur croissance. Cependant, les résultats démontrent que c'est l'effet contraire qui est observé; en présence d'acide humique, le rendement de la culture d'algues a augmenté légèrement. Les courbes de croissance dans le milieu MHSM-1 avec et sans acide humique, mais en absence de platine, sont présentées à la Figure 4.11. On y observe des croissances maximales identiques, mais des rendements finaux différents. Les résultats ont été comparés à l'aide d'une ANOVA à deux voies. Les densités cellulaires sont statistiquement similaires à 24, 48 et 72 h, mais une densité cellulaire significativement plus élevée était observée à 96 et 125 h en présence d'acide humique. Parent *et al.* (1996) avaient également observé cet effet lors de leurs expériences; la densité cellulaire de l'algue verte *Chlorella pyrenoidosa* était plus élevée en présence de 11 mg/L d'acide fulvique d'origine terrestre, comparativement au contrôle en

absence d'acide fulvique. Les auteurs ont conclu que cette croissance était causée par le phosphate biodisponible amenée dans le milieu par l'acide fulvique, le phosphate était le nutriment limitant la croissance des algues dans leur milieu de culture.

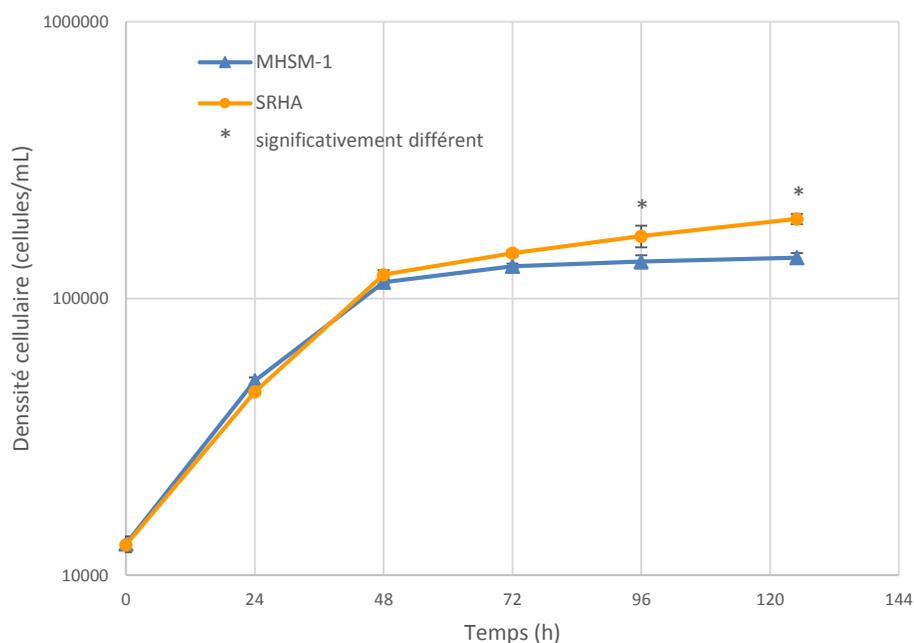


Figure 4.11 : Courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* avec et sans SRHA, n = 3, [Pt] = 0 µg/L, [SRHA]_{nominales} = 0 – 10 mg C/L, pH = 6.

4.2.4 Influence de l'acide humique sur la toxicité de Pt chez *Chlamydomonas reinhardtii*

Cette expérience a été réalisée en présence de platine et d'acide humique afin de vérifier l'influence de la matière organique sur la toxicité du platine envers les algues. La concentration nominale d'acide humique était constante lors de cette exposition, soit 10 mg C/L et les concentrations de platine nominales dans les milieux étaient de 16, 45, 74, 139 et 200 µg/L en plus d'un témoin de croissance algale (0 µg/L de Pt et 0 mg C/L) et d'un témoin de croissance algale en présence d'acide humique (0 µg/L de Pt et 10 mg C/L). Ces concentrations ont été sélectionnées, car elles permettaient d'obtenir des concentrations de platine non lié à la matière organique similaires à celles mesurées lors des expositions en absence d'acide humique, soit 10, 30, 50, 100, et 150 µg/L. Toutes les expositions ont été réalisées en trois répétitions, le pH était de 6 et la densité cellulaire initiale visée était de 12 000 cellules/mL de milieu. Les concentrations

de platine déterminées par ultrafiltration, soit les concentrations de platine ultrafiltrées (platine non lié à la matière organique) qu'on s'attendait à mesurer en solution (10, 30, 50, 100 et 150 µg/L) sont utilisées pour présenter les différentes conditions d'exposition dans cette section afin de simplifier les résultats.

4.2.4.1 Effet sur la croissance

Les courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* en présence de platine et d'acide humique sont présentées à la Figure 4.12. On observe que la présence combinée de platine et d'acide humique a un effet important sur la croissance de cette algue verte. Comme lors de l'exposition en absence d'acide humique, on observe une certaine variation de la densité cellulaire initiale (à $t = 0$ h) entre les différentes conditions d'exposition. Les mêmes explications sont proposées ici; le volume d'algues ajouté initialement dans chaque erlenmeyer étant constant, cette variabilité peut donc être liée au fait qu'on est près de la limite de détection du compteur de particules (10 000 cellules/mL).

Une ANOVA à deux voies avec mesures répétées a été réalisée sur les courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* en présence d'acide humique et les résultats sont présentés à l'annexe IX. Les conditions ayant des valeurs de densité cellulaire statistiquement différentes, à un temps donné, sont annotées sur la Figure 4.12 ci-dessous. Toutes les valeurs de densité cellulaire sont statistiquement similaires au départ de l'exposition ainsi qu'après 24 h. Cependant, on observe à la Figure 4.12 à 24 h que tous les erlenmeyers contenant du platine avaient une densité cellulaire plus faible que le témoin. Ces différences ne sont cependant pas significativement différentes. La densité cellulaire de l'échantillon ayant une concentration de platine de 10 µg/L a légèrement augmenté comparativement à $t = 0$ h, tandis qu'il y avait une inhibition complète de la croissance pour les concentrations de 30 à 150 µg/L. Le témoin de croissance en présence de SRHA (0 µg/L) avait la même densité cellulaire que le témoin sans acide humique et sans platine (témoin algues).

À 48 h, la densité cellulaire du témoin de croissance en présence de SRHA (0 µg/L) était similaire à celle du témoin ne contenant pas d'acide humique, mais elle était statistiquement différente de toutes les autres conditions d'exposition. La densité cellulaire de la culture à 10 µg/L était légèrement inférieure au témoin de croissance algale, la différence était non significative entre ces deux conditions. La phase de croissance exponentielle a été observée entre 24 et 48 h pour l'exposition à 10 µg/L; celle-ci était retardée de 24 h par rapport au témoin. De plus, cette condition a atteint entre la période de 24 à 48 h environ la même densité cellulaire que celle du témoin en

48 h. La croissance de la culture à 30 µg/L était aussi exponentielle de 24 à 48 h, mais la densité cellulaire était plus faible que celle du témoin. Pour la concentration de 50 µg/L, une faible augmentation de la densité cellulaire était observée à 48 h par rapport à 24 h. En revanche, pour les concentrations de 100 et 150 µg/L de platine, on observe toujours une inhibition de la croissance. La densité cellulaire des concentrations de 30, 50, 100 et 150 µg/L sont toutes similaires à 48 h, mais celles-ci sont toutefois différentes des autres conditions d'expositions (0 et 10 µg/L et témoin algues).

Après 72 h d'exposition, la densité cellulaire du témoin de croissance avec SRHA (0 µg/L) était plus élevée que celle du témoin algues; la différence entre les deux témoins était significative. La concentration de 10 µg/L avait une densité cellulaire entre celle du témoin de croissance et celle du témoin de croissance avec SRHA et avait une densité cellulaire statistiquement similaire aux deux témoins. La densité cellulaire de 30 µg/L était similaire à celle du témoin algues, mais différentes de toutes les autres conditions. À cette concentration, la phase exponentielle de la culture était observée entre 24 et 72 h. La phase exponentielle était donc de la même durée que celle du témoin, mais elle est cependant retardée de 24 h et avait un taux de croissance légèrement supérieure comparativement à ce qui était observé pour le témoin. En effet, le taux de croissance du témoin était de 0,044 division/h lors de sa phase exponentielle allant de 0 à 48 h tandis que le taux de croissance de l'échantillon ayant une concentration de platine de 30 µg/L était de 0,051 division/h entre 24 et 72 h. Une légère diminution de la densité cellulaire était observée pour la concentration de platine de 50 µg/L par rapport à la densité cellulaire mesurée à 48 h; une faible croissance avait pourtant été observée entre 24 et 48 h. On observe toujours une inhibition de la croissance pour les concentrations de 100 et 150 µg/L de platine. Les valeurs de densité cellulaire des concentrations de 50, 100 et 150 µg/L sont toujours statistiquement similaires entre elles et statistiquement différentes des autres conditions.

Le rendement final était significativement plus élevé pour le témoin de croissance avec SRHA que celui sans SRHA. La densité cellulaire de la concentration de 10 µg/L était seulement statistiquement similaire aux deux témoins et toujours entre ceux-ci. Le rendement final de la concentration de 30 µg/L était légèrement inférieur à celui des témoins et de la concentration de 10 µg/L, mais cette différence était significative. Une croissance exponentielle était observée entre 72 et 96 h pour la concentration de 50 µg/L et la densité cellulaire à 96 h était plus faible que celle du témoin. Le taux de croissance était légèrement supérieur à celui observé lors de la phase de croissance exponentielle du témoin durant cette période. En effet, le taux de croissance entre 72 et 96 h pour la concentration de platine de 50 µg/L était de 0,068 division/h tandis que

celui du témoin de croissance algale était de 0,044 division/h lors de sa phase exponentielle. La phase de croissance exponentielle était donc retardée de 72 h pour cette condition expérimentale et le rendement final était significativement différent de toutes les autres conditions d'exposition. Pour les concentrations de 100 et 150 µg/L, une inhibition de la croissance était toujours observée après 96 h d'exposition. La densité cellulaire des deux concentrations les plus élevées était statistiquement similaire, mais ces concentrations étaient toujours différentes des autres conditions d'exposition.

La croissance des algues était statistiquement plus élevée à partir de 72 h pour le témoin en présence d'acide humique que pour le témoin en absence d'acide humique. La matière organique naturelle a un effet positif sur la croissance en absence de platine, effet qui pourrait être expliqué par l'ajout de phosphate biodisponible avec l'acide humique, tel que mentionné à la section 4.2.3. Cependant, en présence de platine et d'acide humique, une diminution importante de la croissance était observée, particulièrement à des concentrations de platine élevées. Ces résultats contredisent notre hypothèse de départ, soit que la complexation du platine par l'acide humique va diminuer la toxicité de ce métal.

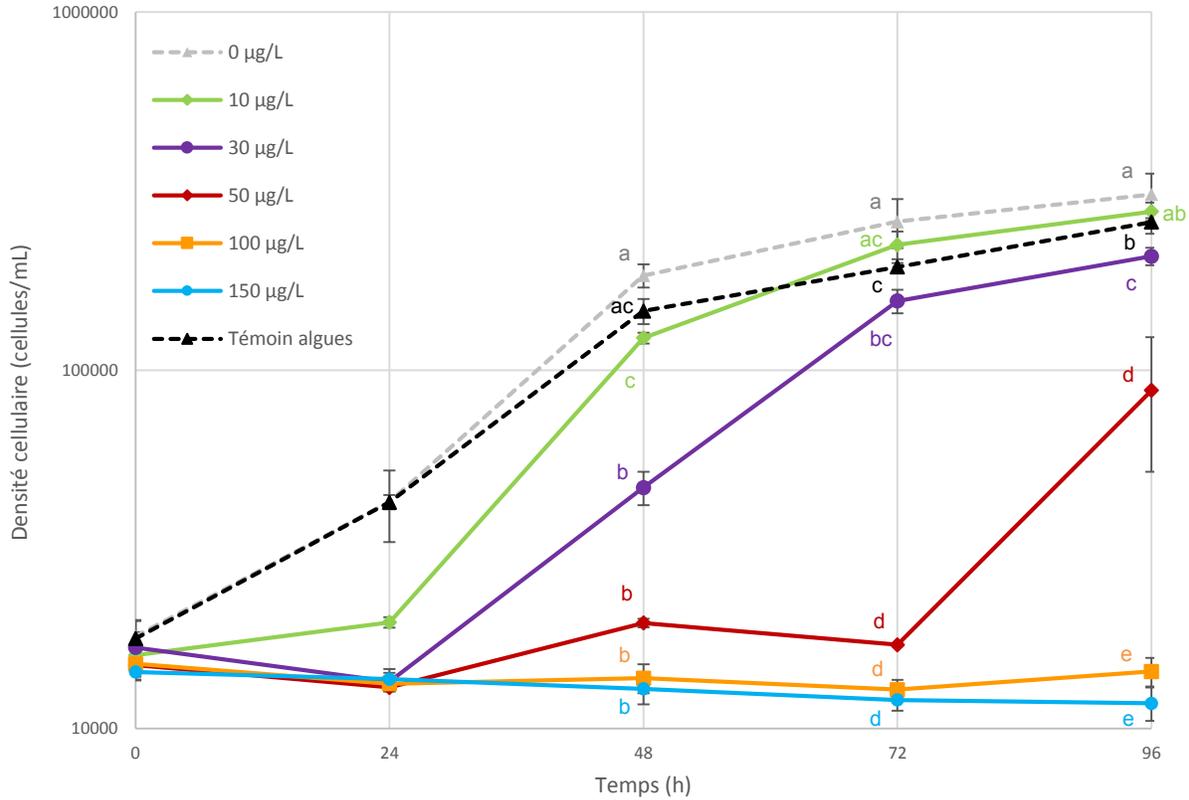


Figure 4.12 : Courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* pour l'exposition en présence de SRHA, $n = 3$, $[Pt]_{\text{déterminées par UF}} = 0 - 150 \mu\text{g/L}$, $[SRHA]_{\text{nominale}} = 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$. ^{a,b,c,d,e} Concentrations de Pt ayant des valeurs de densité cellulaire statistiquement différentes, à un temps donné. Les couleurs des ^{a,b,c,d,e} sont associées aux couleurs de la légende.

Un retard dans l'atteinte de la phase de croissance exponentielle signifie que l'algue verte n'arrive pas à se diviser, qu'elle doit s'acclimater à son milieu ou modifier celui-ci afin de permettre la division cellulaire. Ainsi, un processus de détoxification est fort probablement en cours lorsque la croissance de l'algue est inhibée. Sur la Figure 4.12, on observe que le retard dans l'atteinte de la phase exponentielle était plus important plus la concentration de platine était élevée. En effet, la croissance exponentielle était retardée de 72 h pour une concentration de 50 µg/L tandis qu'elle était retardée de seulement 24 h pour des concentrations de 10 et 30 µg/L. On pourrait penser que le processus de détoxification des cellules requiert plus de temps et plus d'énergie à des concentrations de platine plus élevées. Gabrielle Roy et Guillaume Tétrault avaient également observé un retard dans la phase de croissance exponentielle lors de leurs expositions de *Chlamydomonas reinhardtii* aux éléments du groupe platine en absence de matière organique

naturelle, mais ces retards étaient beaucoup moins importants que ceux observés ici (Roy, 2009; Tétrault, 2014).

Plusieurs processus de détoxification ont été observés chez les algues; les métaux potentiellement toxiques peuvent être exclus de la cellule ou détoxifiés à l'intérieur de celle-ci. Lorsqu'ils sont exclus de la cellule algale, les métaux peuvent se lier à des ligands organiques ou à la paroi cellulaire, rendant ainsi les métaux indisponibles pour l'internalisation (Twiss *et al.*, 1993). Certaines espèces d'algues, dont *Scenedesmus actutiformis* et *Chlorella fusca*, peuvent produire des substances organiques qui réduisent la biodisponibilité des métaux si elles sont relarguées à l'extérieur de la cellule en quantité suffisante. Cet effet a été observé pour le cuivre et le cadmium (Robinson, 1989). La détoxification interne consiste à lier les métaux potentiellement toxiques afin de les rendre indisponibles. Des molécules telles que les phytochélatines et les phytophosphates peuvent jouer le rôle de ligands à l'intérieur des cellules (Knauer *et al.*, 1997). Kim Racine a étudié la distribution subcellulaire du platine et du palladium chez *Chlamydomonas reinhardtii*. Cinq fractions subcellulaires ont été étudiées; les organites, les granules, les débris, les protéines thermorésistantes et les protéines thermosensibles. La majorité du platine et du palladium se retrouvait dans la fraction organites, qui est une fraction sensible et non détoxiquée. En effet, la fraction organites contient principalement les mitochondries, le chloroplaste, le noyau et les microsomes. Afin d'éviter de se retrouver dans les parties plus sensibles des cellules, les métaux peuvent être accumulés dans les granules ou peuvent se lier aux protéines thermorésistantes telles que les phytochélatines. Cependant, une faible quantité d'ÉGP a été mesurée dans les fractions considérées comme détoxiquées (Racine, 2016). Guillaume Tétrault a mentionné dans son mémoire que la réduction de la prise en charge d'ions en solution pourrait permettre de limiter la quantité d'ÉGP à l'intérieur des cellules et qu'il est également possible que les algues relarguent des exsudats dans le milieu de culture afin de complexer les ions métalliques et ainsi modifier leur biodisponibilité (Tétrault, 2014).

4.2.4.2 Effet sur le diamètre des cellules algales

Une importante variation du diamètre moyen des cellules algales mesurée au compteur de particules a été observée lors de cette exposition. Pour les courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii*, la fenêtre de lecture sélectionnée dans le compteur de particules se situe entre 3 et 8 μm . Lors de la première exposition au platine et du test de croissance en présence d'acide humique, le diamètre des cellules algales se situait toujours dans cette gamme.

Cependant, le diamètre de certaines cellules algales dépassait 8 μm pour l'exposition au platine en présence d'acide humique.

Toutes les conditions vérifiées lors de l'exposition en présence d'acide humique sont présentées à la Figure 4.13 ci-dessous. Afin de bien montrer l'effet de l'acide humique sur le diamètre des particules algales, on y retrouve les deux conditions sans acide humique, soit 100 et 150 $\mu\text{g/L}$ en plus des témoins de croissance algale avec et sans acide humique. Lors de l'inoculation, le diamètre moyen des cellules était le même pour toutes les concentrations de platine ainsi que pour les témoins. Après 24 h de croissance, toutes les conditions avaient un diamètre moyen supérieur à celui des témoins, même les deux conditions en absence d'acide humique. Les diamètres des cellules étaient toujours dans la gamme observée habituellement, soit entre 3 et 8 μm . À 48 et 72 h, seules les concentrations d'exposition les plus élevées avaient un diamètre moyen supérieur à 8 μm , soit 50, 100 et 150 $\mu\text{g/L}$. Le diamètre moyen des autres conditions avait diminué et se rapprochait progressivement de celui des témoins. Finalement à 96 h, les concentrations de 100 et 150 $\mu\text{g/L}$ étaient les seules à avoir un diamètre moyen supérieur à 5 μm , celui-ci était d'environ 12 μm , soit le diamètre moyen le plus élevé mesuré lors de l'exposition. L'augmentation du diamètre des cellules peut être causée par une inhibition de la division cellulaire, un effet de la toxicité du platine. En effet, lors de la division cellulaire, les cellules mères se divisent en deux cellules filles, mais s'il n'y a pas de division, la taille des cellules sera plus élevée. Sur la Figure 4.13, on observe également que le diamètre moyen des témoins de croissance algale en présence d'acide humique (0 $\mu\text{g/L}$) était similaire à celui des témoins de croissance algale en absence d'acide humique (Témoin algues) et ce, tout au long des 96 h d'exposition. L'ajout d'acide humique au milieu (en absence de platine) n'a donc pas d'effet sur la taille des cellules algales.

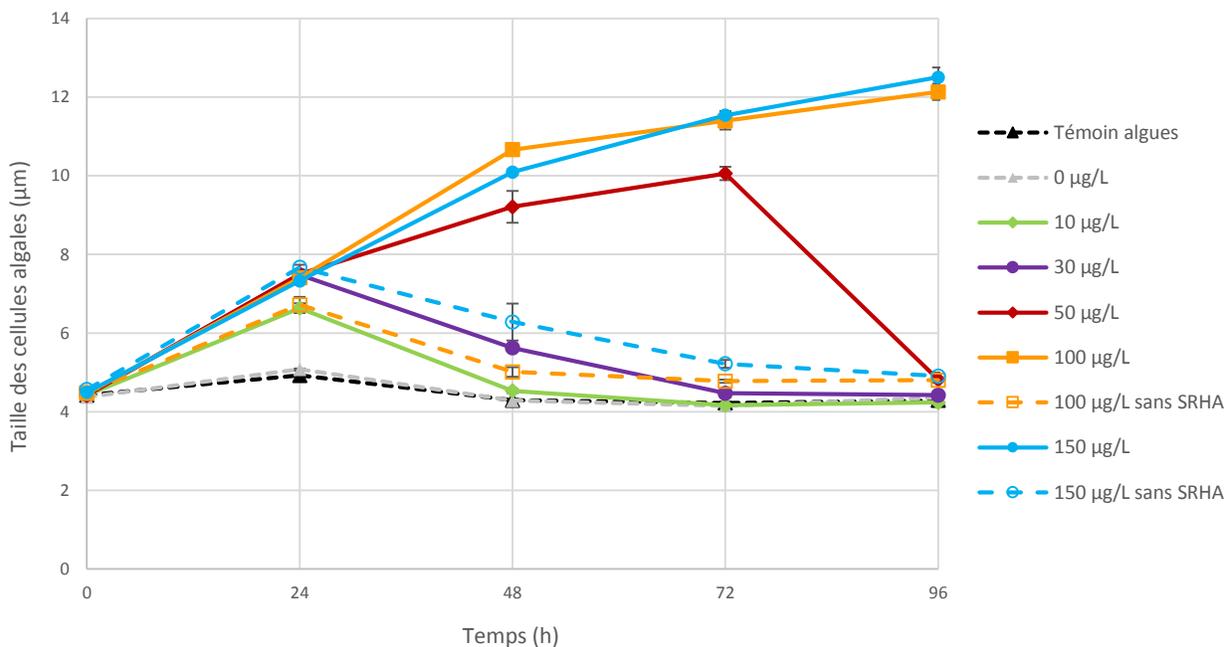


Figure 4.13 : Diamètre moyen des cellules algales mesuré durant l'exposition en présence de SRHA, $n = 3$, $[Pt]_{d\u00e9termin\u00e9es\ par\ UF} = 0 - 150\ \mu\text{g/L}$, $[SRHA]_{nominales} = 0 - 10\ \text{mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

4.2.4.3 Relation entre le diamètre moyen et la croissance des cellules algales

Le diamètre moyen des cellules (Figure 4.13) semble lié à la croissance des cellules algales (Figure 4.12). Les courbes de croissances des témoins ainsi que leurs diamètres seront nos références. Le diamètre des cellules algales des témoins varie peu durant 96 h, étant toujours entre 4 et 5 μm .

Le diamètre des cellules est le même pour toutes les conditions au départ des expositions, et les densités cellulaires sont également similaires. Pour les concentrations de 10 et de 30 $\mu\text{g/L}$, on peut voir que le diamètre des cellules est plus élevé que celui des témoins à 24 h et qu'il devient similaire à celui des témoins par la suite. Les tailles plus élevées correspondent aux moments où la phase de croissance exponentielle des algues est retardée et celles-ci diminuent lorsque la phase de croissance exponentielle débute. Pour le reste de l'exposition, la densité cellulaire de ces deux conditions est près de celle des témoins. Le lien entre le diamètre moyen et la croissance est facilement observable pour la concentration de 50 $\mu\text{g/L}$. À 24, 48 et 72 h, la croissance des cellules algales est très faible. Le diamètre moyen des cellules augmente jusqu'à 10 μm durant cette période. La phase de croissance exponentielle est observée de 72 à 96 h et le diamètre moyen des cellules diminue durant ce temps pour atteindre le même diamètre que

les témoins à 96 h. Pour les concentrations de 100 et 150 $\mu\text{g/L}$, une inhibition complète de la croissance est observée tout au long de l'exposition. Le diamètre des particules augmente quasi linéairement avec le temps pour ces deux concentrations. Le diamètre moyen maximal est observé pour ces concentrations, soit 12,5 μm .

Le diamètre des cellules pour les expositions au platine en absence d'acide humique (100 et 150 $\mu\text{g/L}$) peut être comparé à la densité cellulaire de la Figure 4.3. La phase exponentielle est retardée de 24 h et 48 h pour ces deux conditions, le diamètre moyen des cellules est plus élevé que celui des témoins à ces moments. L'allure générale de la courbe du diamètre moyen en fonction du temps suit la même tendance que celle des témoins, mais à des diamètres légèrement plus élevés. Le diamètre moyen des cellules est plus élevé pour la concentration de 150 $\mu\text{g/L}$ par rapport à celle de 100 $\mu\text{g/L}$ et la toxicité est plus importante à cette concentration.

À partir de ces résultats, on peut affirmer que le diamètre des cellules algales est lié à la croissance de celles-ci pour ces expositions et qu'une augmentation du diamètre est observée lorsque la densité cellulaire est plus faible que celle des témoins. Une toxicité élevée nuit à la division cellulaire, ce qui entraînerait une augmentation de la taille des cellules algales. La croissance des algues (cellules/mL) est nécessairement plus faible si les cellules mères ne se divisent pas. Ainsi, ces résultats suggèrent qu'en présence de platine, un processus de détoxification est déclenché afin de permettre aux cellules de se diviser adéquatement. Ce processus nécessite plus de temps lorsque les concentrations en Pt sont élevées. Lavoie *et al.* ont observé le même effet chez *Chlamydomonas reinhardtii* en présence de concentrations élevées de cadmium. Ils ont observé une augmentation du volume cellulaire moyen des algues ainsi qu'une diminution du rendement cellulaire. Les cellules réussissaient à croître, malgré une inhibition de la division cellulaire, ce qui signifie que le métabolisme des algues restait donc partiellement fonctionnel malgré la toxicité (Lavoie *et al.*, 2012).

4.2.4.4 Internalisation

Comme pour la première exposition, les cellules algales ont été digérées à la fin de l'exposition. Les valeurs présentées à la Figure 4.14 représentent donc le platine pris en charge par *Chlamydomonas reinhardtii* pendant l'exposition de 96 h. L'internalisation en moles de platine par cellule algale (Figure 4.14 (a)) et en moles de platine par volume moyen (Figure 4.14 (b)) est présentée en fonction de la concentration de platine mesurée en solution après ultrafiltration lors de l'inoculation des algues. Pour chaque concentration, les trois répétitions sont présentées sur

la Figure 4.14. On observe qu'il y a peu de variation entre les répétitions, excepté pour la concentration de platine de $47 \pm 1 \mu\text{g/L}$.

Pour l'internalisation normalisée par le nombre de cellules algales, la prise en charge augmentait avec la concentration de platine mesurée après ultrafiltration dans le milieu d'exposition. La quantité de platine internalisée par *Chlamydomonas reinhardtii* était comprise entre $3,24 \times 10^{-18}$ et $1,15 \times 10^{-15}$ moles de platine par cellule et la concentration de platine mesurée après ultrafiltration à $t = 0$ h variait entre 8,04 et 151 $\mu\text{g/L}$ (Figure 4.14 (a)). Une relation linéaire était observée entre ces deux variables, le coefficient de détermination était de 0,92. Pour l'internalisation normalisée en fonction du volume cellulaire moyen (μm^3), une relation linéaire entre ces deux mêmes variables était observée seulement aux faibles concentrations de platine, soit 10, 30 et 50 $\mu\text{g/L}$. Pour les concentrations plus élevées, soit 100 et 150 $\mu\text{g/L}$, l'internalisation était beaucoup moins importante. La toxicité était élevée à ces concentrations et aucune croissance n'a été observée, tel que montré à la Figure 4.12. Cependant, le diamètre des cellules était élevé à 96 h pour ces concentrations, tel que montré à la Figure 4.13. Ainsi, lorsqu'on normalise par le volume moyen des cellules algales, l'internalisation diminue de manière importante car le volume moyen des cellules est environ deux fois plus élevé que celui des autres concentrations.

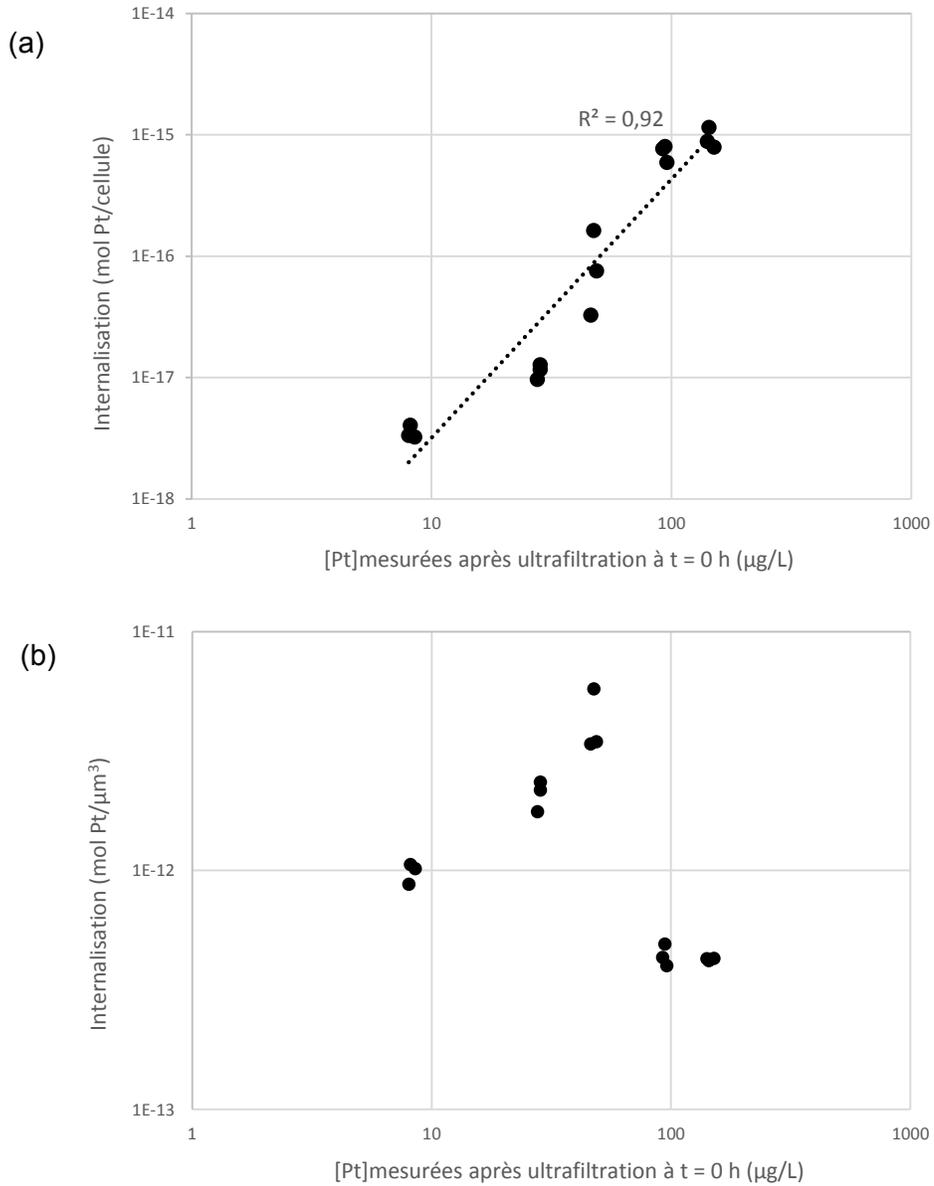


Figure 4.14 : Internalisation du Pt par *Chlamydomonas reinhardtii* pour l'exposition en présence de SRHA, $n = 3$, $[Pt]_{\text{mesurées après ultrafiltration à } t = 0 \text{ h}} = 8,0 - 151 \text{ } \mu\text{g/L}$, $[SRHA]_{\text{nominale}} = 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$, (a) internalisation normalisée en moles de platine par cellule et (b) internalisation normalisée en moles de platine par μm^3 .

4.2.4.5 Concentration efficace moyenne

La même méthode a été utilisée pour calculer les concentrations efficaces moyennes en présence d'acide humique que dans la section 4.1.3.3. Les CE_{50} ont été calculées à partir des concentrations de platine mesurées après ultrafiltration afin de pouvoir comparer ces résultats avec ceux obtenus lors de l'exposition en absence d'acide humique. Les CE_{50} calculées pour 48, 72 et 96 h sont présentées au Tableau 4.2 ci-dessous. Celle calculée à 48 h est présentée à la Figure 4.15. Les valeurs de CE_{50} déterminées étaient similaires, et ce peu importe le temps d'exposition. En effet, elles variaient entre 22 et 30 $\mu\text{g/L}$, avec une légère tendance à la hausse. Les concentrations efficaces moyennes calculées sont au début de la gamme de concentrations étudiée (10 à 150 $\mu\text{g/L}$). La CE_{50} n'a pas pu être calculée à 24 h à partir de la densité cellulaire relative, car celle-ci était déjà sous 0,5 pour la plus faible concentration d'exposition, soit 10 $\mu\text{g/L}$. C'est-à-dire que la plus faible concentration avait déjà un effet sur plus de 50 % de la population.

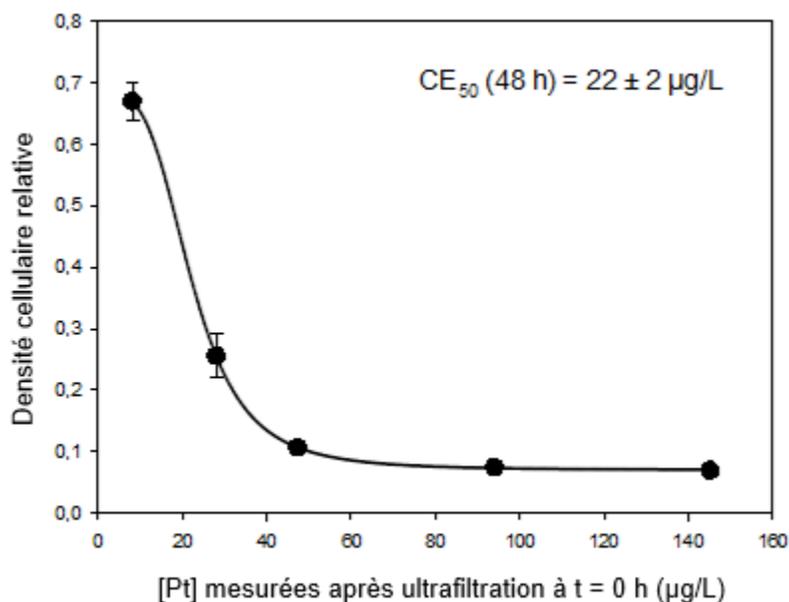


Figure 4.15 : Densité cellulaire relative à t = 48 h pour l'exposition en présence de SRHA en fonction de la concentration en Pt mesurée après ultrafiltration à t = 0 h, n = 3, $[Pt]_{\text{mesurées après UF à t = 0 h}} = 8,0 - 151 \mu\text{g/L}$, $[SRHA]_{\text{nominale}} = 10 \text{ mg C/L}$, pH = 6. La courbe noire est la fonction intégrée de régression non linéaire (équation 2.9) utilisée pour déterminer la concentration efficace moyenne.

Tableau 4.2 : Concentrations efficaces moyennes calculées pour l'exposition en présence de SRHA, n = 3, [Pt]_{déterminées par UF} = 0 – 150 µg/L, [SRHA]_{nominale} = 10 mg C/L, pH = 6.

| | t = 48 h | t = 72 h | t = 96 h |
|-------------------------|----------|----------|----------|
| CE ₅₀ (µg/L) | 22 ± 2 | 25 ± 1 | 30 ± 2 |

En résumé, pour l'exposition de *Chlamydomonas reinhardtii* au platine en présence de SRHA :

- des simulations WHAM ont été réalisées à partir des conditions expérimentales à t = 0 h; les fractions de platine liées à l'acide humique calculées à l'aide de WHAM sont plus faibles que celles obtenues par ultrafiltration partielle dans les mêmes conditions à t = 0 h. L'écart entre les fractions liées obtenues par ces deux méthodes varie entre 16 et 23 %;
- les fractions de platine liées à l'acide humique mesurées par ultrafiltration dans les milieux d'exposition sont présentées au Tableau 4.1;
- en présence de SRHA, la concentration totale de platine mesurée en solution variait peu durant les 96 h d'exposition;
- pour les témoins de croissance algale (sans platine), la densité cellulaire était significativement plus élevée à 96 et 125 h en présence d'acide humique;
- la présence combinée de platine et d'acide humique a un effet important sur la croissance de *Chlamydomonas reinhardtii*; un retard de la croissance est observé pour toutes les concentrations d'exposition et une inhibition complète de la croissance est observée aux concentrations les plus élevées (100 et 150 µg/L);
- une importante variation du diamètre moyen des cellules algales a été observée. Cette augmentation du diamètre moyen peut être causée par une inhibition de la division cellulaire;
- l'internalisation de platine par *Chlamydomonas reinhardtii* augmente lorsque la concentration de platine dans le milieu d'exposition est plus élevée;
- la concentration efficace moyenne calculée à 48 h est de 22 ± 2 µg/L.

4.2.5 Influence de l'acide humique sur la croissance

Afin de vérifier l'effet de l'acide humique sur la croissance de *Chlamydomonas reinhardtii*, des ANOVA à deux voies ont été réalisées afin de comparer les résultats avec et sans acide humique. Même s'il s'agit de deux expositions différentes, nous les avons comparés statistiquement, car

nous considérons que le comportement des algues est similaire lors des deux expositions. En effet, les courbes de croissance pour une concentration de 100 µg/L de platine sont très similaires lors des expositions. Des ANOVA ont été réalisées pour chaque temps, soit à 0, 24, 48, 72 et 96 h. Les valeurs de densité cellulaires en présence et en absence d'acide humique pour une gamme de concentration en platine non lié à la matière organique similaire sont donc comparées pour chaque temps. L'effet sur la croissance était beaucoup plus marqué en présence d'acide humique, comme on peut le voir sur la Figure 4.16. Pour chaque temps, les conditions ayant des valeurs de densité cellulaire statistiquement différentes sont annotées sur la figure ci-dessous.

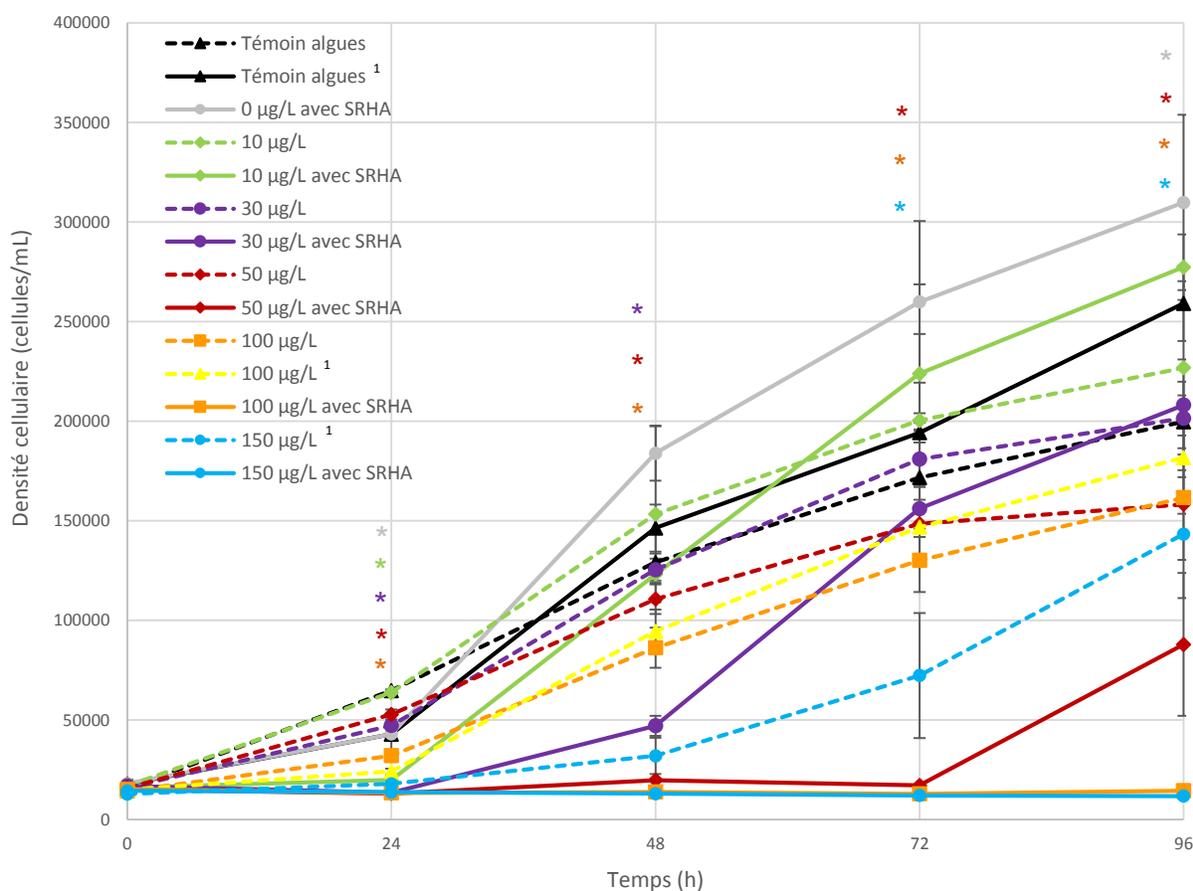


Figure 4.16 : Comparaison des courbes de croissance de *Chlamydomonas reinhardtii* pour toutes les expositions au Pt, en absence et en présence de SRHA, n = 3, [Pt]_{non liées à SRHA} = 0 – 150 µg/L, [SRHA]_{nominales} = 0 – 10 mg C/L, pH = 6. ¹ résultats obtenus en absence de SRHA lors de la deuxième exposition. * Concentrations de Pt ayant des valeurs de densité cellulaire statisiquement différentes en présence et en absence d'acide humique, à un temps donné. Les couleurs des * sont associées aux couleurs de la légende.

Au départ des expositions, les densités cellulaires étaient toutes statistiquement similaires.

Après 24 h, les densités cellulaires mesurées en présence et en absence d'acide humique étaient significativement différentes pour toutes les concentrations de platine, sauf pour la concentration de 150 µg/L. Aucune croissance n'a été observée pour les conditions en présence d'acide humique après 24 h, peu importe la concentration de platine. À l'inverse, une croissance était observée en absence d'acide humique. Celle-ci était plus importante pour la plus faible concentration d'exposition, soit 10 µg/L, et diminuait avec l'augmentation de la concentration en platine pour atteindre une inhibition quasi-complète de la croissance à une concentration de 150 µg/L. Pour les témoins, une croissance était observée lors des deux expositions, la densité cellulaire était cependant statistiquement plus élevée pour l'exposition réalisée en absence d'acide humique.

À 48 h, seules les concentrations de 30, 50 et 100 µg/L avaient des densités cellulaires significativement différentes en présence et en absence d'acide humique. Pour la concentration de 10 µg/L, la phase exponentielle a été retardée de 24 h en présence d'acide humique, mais celle-ci a été plus importante entre 24 et 48 h et a rattrapé le retard observé. La différence était donc non significative à 48 h. Pour la concentration de 30 µg/L, une faible croissance était observée en présence d'acide humique, tandis que la densité cellulaire était statistiquement similaire à celle du témoin en absence d'acide humique. Pour les concentrations plus élevées en platine, soit 50, 100 et 150 µg/L, aucune croissance n'a été observée en présence d'acide humique. Cependant, en absence d'acide humique, les densités cellulaires n'étaient pas statistiquement différentes de celle du témoin pour les concentrations de 50 et 100 µg/L. Pour la concentration de 150 µg/L, une légère croissance a été observée en absence d'acide humique à 48 h, mais celle-ci n'était pas assez importante pour que les densités cellulaires en présence et en absence d'acide humique soient significativement différentes. La densité cellulaire des témoins était statistiquement similaire à 48 h.

Après 72 h d'exposition, les densités cellulaires des témoins et de la concentration de 10 µg/L étaient toujours similaires, selon les résultats de l'ANOVA à deux voies présentés à l'annexe X. De plus, les densités cellulaires mesurées en présence et en absence d'acide humique pour une concentration de platine de 30 µg/L n'étaient pas significativement différentes. La phase de croissance exponentielle a été retardée de 48 h en présence d'acide humique à cette concentration, mais celle-ci a été très importante entre 48 et 72 h, de sorte que le retard dans la croissance n'était plus significatif après 72 h. Une inhibition de la croissance était toujours observée pour les concentrations de 50, 100 et 150 µg/L en présence d'acide humique. Les

densités cellulaires en présence et en absence d'acide humique étaient significativement différentes pour ces trois concentrations. En effet, en absence d'acide humique, la croissance était statistiquement similaire à celle du témoin pour les concentrations de 50 et 100 µg/L et une croissance plus faible était observée pour la concentration de 150 µg/L.

À la fin de l'exposition, les plus faibles concentrations de platine, soit 10 et 30 µg/L avaient un rendement final similaire en présence ainsi qu'en absence d'acide humique. Toutes les autres concentrations avaient des densités cellulaires significativement différentes. En effet, en absence d'acide humique, les rendements finaux des concentrations de 50, 100 et 150 µg/L étaient similaires au témoin de croissance algale tandis qu'une inhibition de la croissance était toujours observée pour les concentrations de 100 et 150 µg/L en présence d'acide humique. Une croissance exponentielle était observée pour la concentration de 50 µg/L entre 72 et 96 h, mais le rendement final était quand même significativement différent de celui mesuré en absence d'acide humique. Le témoin de croissance algale avait un rendement final plus élevé lors de l'exposition en présence d'acide humique.

Une différence importante a été observée dans l'effet de Pt sur les algues en présence et en absence d'acide humique. La présence d'acide humique accentue la toxicité du platine à des concentrations supérieures à 30 µg/L. Elle diminue la densité cellulaire des algues et a donc un effet important sur la division cellulaire. Contrairement à ce que nous avons anticipé, l'ajout d'acide humique n'a pas diminué la toxicité de Pt. Au contraire, le platine semble plus toxique en présence d'acide humique pour une concentration de platine non lié à la matière organique donnée.

4.2.6 Influence de l'acide humique sur l'internalisation

Sur la Figure 4.17, on observe que la pente de la relation linéaire (Pt internalisé selon [Pt] mesurée) était plus élevée en présence d'acide humique. Pour des mêmes concentrations de platine non lié à la matière organique, l'internalisation était plus élevée en présence d'acide humique à partir de 30 µg/L. Plus l'effet physiologique sur les algues est marqué, plus la prise en charge est importante. Une internalisation plus élevée peut expliquer la toxicité plus importante en présence d'acide humique. En effet, la présence de platine à l'intérieur des cellules algales peut influencer la division cellulaire (courbes de croissance) et la taille des particules. Cependant, d'autres travaux seront nécessaires afin de déterminer le mécanisme d'action qui engendre une

leur biodisponibilité. Afin d'expliquer les résultats obtenus, les auteurs concluent que les substances humiques peuvent augmenter la solubilité des ÉGP et ainsi augmenter leur biodisponibilité en milieu aquatique. Ils précisent aussi que la dureté de l'eau était très différente pour les deux milieux d'exposition, celle-ci était de 100 et 15 mg/L de calcium pour les milieux contenant respectivement 2 et 26 mg/L de COD, et que la concentration de calcium dans le milieu peut être un facteur décisif dans l'internalisation de métal par *Dreissena polymorpha*. Dans la littérature scientifique, il est bien connu que le calcium peut contribuer à diminuer l'internalisation de certains métaux cationiques. Ce facteur a d'ailleurs été pris en compte lors de l'élaboration du modèle du ligand biotique, détaillé à la section 1.3.

Diehl et Gagnon (2007) ont vérifié l'absorption du Pt(IV) chez une plante aquatique submergée (*Elodea canadensis*) et une plante terrestre (*Peltandra virginica*). Leurs expositions étaient d'une durée de deux semaines. La plante aquatique a été exposée à 0,1, 1 et 5 ppm de platine à pH 6,6 ainsi qu'à 0,1 ppm de platine en présence de 5 ppm d'acide humique (Sigma Aldrich-Fluka Chemie GmbH) à pH 5, 6, 7 et 8 tandis que la plante terrestre a seulement été exposée à 0,1 ppm de platine en présence et en absence de 5 ppm d'acide humique (Sigma Aldrich-Fluka Chemie GmbH) à pH 5,7. En absence d'acide humique, l'accumulation ($\mu\text{g/g}$ de poids sec) de platine dans les tissus de *Elodea canadensis* augmentait linéairement avec la concentration de platine dans la solution où elle était cultivée. Pour cette même plante, l'accumulation en présence d'acide humique, peu importe le pH d'exposition, était significativement plus élevée comparativement à l'accumulation des plantes cultivées avec la même concentration de platine, mais en absence d'acide humique; à pH 8, l'accumulation de platine dans les tissus, en présence de l'acide humique, était plus du double de celle en son absence. Ils ont également observé une augmentation de la concentration de calcium internalisée par cette plante lorsque la quantité de platine internalisée était plus élevée que celle pour le traitement de 0,1 ppm en absence d'acide humique. Cependant, pour *Peltandra virginica*, l'absorption de platine en présence d'acide humique était inférieure à celle observée pour la même concentration de platine, mais en absence d'acide humique. Les auteurs mentionnent ne pas avoir identifié le mécanisme responsable d'une absorption plus efficace du calcium en présence de faibles concentrations de platine et d'acide humique chez la plante aquatique submergée *Elodea canadensis*, mais ils spéculent que ce phénomène peut être causé par un épuisement plus rapide des nutriments essentiels dans le substrat (Diehl & Gagnon, 2007).

Durant sa maîtrise, Guillaume Tétrault a varié la concentration de calcium présente dans le milieu MHSM-1 en présence de palladium et a vérifié l'effet sur la toxicité de *Chlamydomonas reinhardtii*.

Les expositions étaient réalisées à pH = 7 et à une concentration constante de palladium, soit 20 µg/L. Les concentrations de calcium qui ont été vérifiées sont 0,068, 0,5, 1,0 et 2,0 mM; la plus faible concentration correspond à celle du milieu de culture MHSM-1. La grande variabilité des résultats a nui à leur analyse, mais l'effet du calcium sur la toxicité du palladium était non significatif. Cependant, il est commun de voir dans la littérature scientifique un effet protecteur du calcium chez les algues vertes unicellulaires. La compétition pour les sites membranaires est souvent la raison avancée afin d'expliquer la diminution de la toxicité de métaux durs en présence de concentrations élevées de calcium (Tétrault, 2014). L'effet protecteur peut également s'étendre aux cations mous. Dans ce cas-ci, la diminution de la toxicité est plutôt attribuable à une autre propriété du calcium, soit d'influer sur la perméabilité des membranes biologiques.

4.2.7 Influence de l'acide humique sur les valeurs de concentrations efficaces moyennes

Les CE50 calculées à 48 h avec (Figure 4.15) et sans acide humique (Figure 4.6) sont présentées à la Figure 4.18 ci-dessous. Après 48 h d'exposition et pour une gamme similaire de platine non lié à la matière organique, la concentration qui inhibe la croissance de la population de 50 % était plus basse en présence d'acide humique. En effet, cette concentration était de 102 ± 58 µg/L en absence d'acide humique (Figure 4.18 (a)) comparativement à 22 ± 2 µg/L en présence d'acide humique (Figure 4.18 (b)). Il s'agit d'une concentration environ 5 fois moins élevée. Ces résultats démontrent bien la toxicité plus élevée du platine en présence d'acide humique.

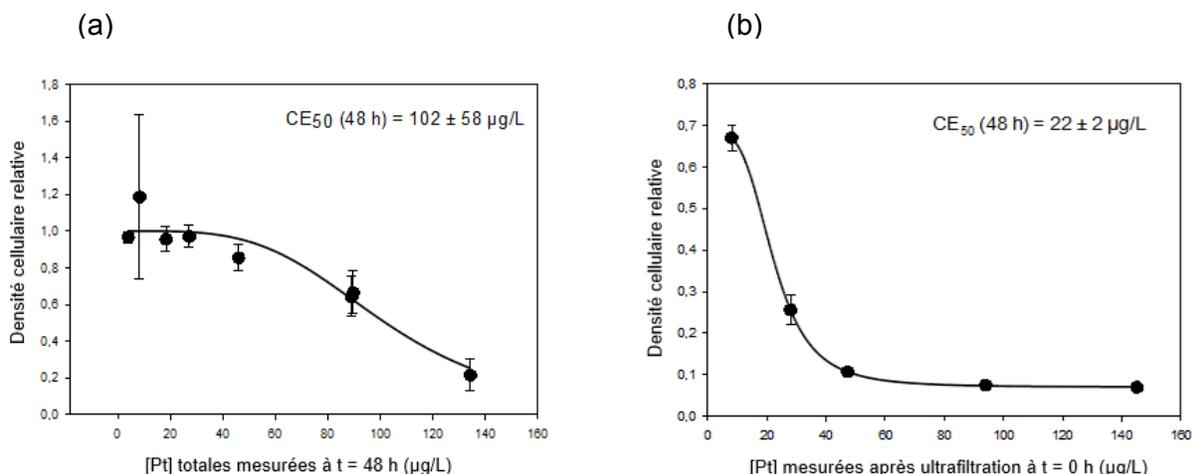


Figure 4.18 : Densité cellulaire relative à t = 48 h en fonction de la concentration en Pt, n = 3, pH = 6 (a) pour l'exposition en absence de SRHA : [Pt]_{totales mesurées} = 4,0 – 134 µg/L, [SRHA] = 0 mg C/L et (b) pour l'exposition en présence de SRHA : [Pt]_{mesurées après UF à t = 0 h} = 8,2 – 145 µg/L, [SRHA] = 10 mg C/L. Les courbes noires représentent la fonction intégrée de régression non linéaire (équation 2.9) utilisée pour déterminer la concentration efficace moyenne.

En résumé, les expériences de toxicité réalisées dans ce projet démontrent que le platine est plus toxique en présence d'acide humique chez *Chlamydomonas reinhardtii* :

- le retard dans la croissance est plus important et le rendement final est plus faible en présence d'acide humique;
- l'internalisation du platine par *Chlamydomonas reinhardtii* est plus importante en présence d'acide humique et la concentration efficace moyenne calculée à 48 h est environ 5 fois plus faible;
- ces résultats sont contraires à notre hypothèse de départ; la complexation du platine par la matière organique naturelle (Suwannee River humic acid) devait entraîner une diminution de la biodisponibilité de cet élément, car la concentration en ion métallique libre devait être plus faible dans le milieu d'exposition. Nous avons plutôt anticipé une diminution de l'absorption et de la toxicité de platine chez *Chlamydomonas reinhardtii* en présence de matière organique naturelle. Tel que mentionné précédemment, nous ne pouvons toutefois pas encore expliquer ce résultat étonnant.

CHAPITRE 5 : CONCLUSION

Dans ce projet, le premier objectif consistait à étudier la spéciation du platine et du palladium en présence de matière organique naturelle. Les résultats de spéciation obtenus à l'aide de simulations thermodynamiques ont été comparés aux résultats obtenus par ultrafiltration partielle, une méthode expérimentale. Seul le platine a été étudié expérimentalement, le palladium a été mis de côté dû à son adsorption importante sur les parois des contenants. La spéciation a été étudiée dans deux milieux, soit un milieu électrolytique simplifié ainsi qu'un milieu de culture plus complexe (MHSM-1). Deux pH ont été comparés dans le milieu électrolytique simplifié, soit 5 et 6, tandis que la spéciation a seulement été vérifiée à pH 6 dans le milieu MHSM-1. La variation de pH d'une unité ainsi que le type de milieu n'avaient pas d'influence significative sur la spéciation obtenue à l'aide de WHAM pour le platine et le palladium. Ces deux paramètres n'avaient pas non plus d'influence significative sur les résultats obtenus par ultrafiltration partielle pour le platine. Dans tous les cas, la fraction de platine liée à l'acide humique était plus faible lors des simulations réalisées avec le logiciel thermodynamique WHAM. Par exemple, pour le milieu utilisé lors des expositions avec *Chlamydomonas reinhardtii*, les fractions de platine complexées calculées étaient de 25, 10, 6, 4 et 3 % comparativement à des fractions obtenues par ultrafiltration de 43, 31, 29, 25 et 19 %. Les concentrations de platine déterminées après ultrafiltration (c'est-à-dire les concentrations de platine ultrafiltrées attendues) étaient de 10, 30, 50, 100 et 150 µg/L pour cette exposition. Cette différence peut être expliquée par l'utilisation de données thermodynamiques erronées pour le platine. Afin d'utiliser des simulations thermodynamiques pour déterminer la spéciation des ÉGP en présence d'acide humique, les constantes de formation pour le platine devraient être validées. L'utilisation de constantes de formation rigoureuses permettrait une estimation plus juste de la spéciation des ÉGP dans ce compartiment environnemental.

Le deuxième objectif consistait à déterminer l'impact de la matière organique naturelle sur l'internalisation et la toxicité des ÉGP chez l'algue verte unicellulaire *Chlamydomonas reinhardtii*. Les algues ont été exposées au platine en absence et en présence d'acide humique, les milieux contenant de l'acide humique ont été caractérisés par ultrafiltration partielle. Pour une gamme de concentrations de platine non lié à la matière organique similaire, le retard dans la croissance des algues était plus important en présence d'acide humique. Une inhibition complète de la croissance a même été observée aux concentrations les plus élevées (100 et 150 µg/L). À la fin

de l'exposition, seules les plus faibles concentrations (10 et 30 µg/L) avaient des rendements finaux statistiquement similaires en présence et en absence d'acide humique. Les expositions étaient d'une durée de 96 h, et il n'est donc pas possible d'extrapoler les effets au-delà de ce temps d'exposition, même si des retards dans la croissance ont été observés. L'internalisation était également plus importante en présence d'acide humique, la quantité de platine internalisée augmentait linéairement avec la concentration de platine dans le milieu d'exposition. Plus la prise en charge est importante et plus l'effet physiologique sur les algues est marqué. Les concentrations efficaces moyennes calculées à 48 h ont été comparées, la CE₅₀ en absence d'acide humique est de 102 ± 58 µg/L tandis qu'elle est de 22 ± 2 µg/L en présence d'acide humique. Pour l'exposition en absence d'acide humique, la CE₅₀ a seulement pu être calculée à 48 h, car la toxicité n'était pas assez marquée aux autres temps d'exposition. Au contraire, pour l'exposition en présence d'acide humique, la CE₅₀ à 24 h n'a pas pu être calculée, car la croissance de la population était inhibée à plus de 50 %. Les concentrations efficaces moyennes ont été calculées aux autres temps d'expositions, elles sont de 25 ± 1 µg/L à 72 h et de 30 ± 2 µg/L après 96 h. De plus, le diamètre des cellules algales était plus élevé durant l'exposition en présence d'acide humique, ce paramètre peut être comparé à la densité cellulaire; un diamètre des cellules plus élevé a été observé aux concentrations d'exposition les plus élevées, cette augmentation est causée par une inhibition de la division cellulaire liée à la toxicité du platine. En présence d'acide humique, le platine empêche les cellules mères de se diviser, la taille des cellules est donc plus élevée et la densité cellulaire plus faible. Ces résultats sont contraires à notre hypothèse de départ qui stipulait que la complexation du platine par l'acide humique allait diminuer l'absorption et la toxicité de cet élément.

Les résultats de ce projet sont uniques et démontrent que la présence d'acide humique augmente l'internalisation et la toxicité du platine chez *Chlamydomonas reinhardtii*. Le mécanisme d'action n'a cependant pas été défini. Ces résultats vont à l'encontre des modèles de toxicité habituels, et ils ouvrent donc la voie à de nouveaux projets de recherche. Dans ce projet, la toxicité a été observée dans des conditions contrôlées au laboratoire (pH, ligands, concentrations), il serait intéressant de vérifier si la même tendance est observée à différents pH, à différentes concentrations de platine et d'acide humique et pour différentes sources de matière organique naturelle. Il serait également intéressant de vérifier si les résultats sont reproductibles chez d'autres espèces d'algues, voir même chez d'autres organismes. Dans la littérature scientifique, les résultats de toxicité du palladium en présence de matière organique naturelle sont contradictoires. Réaliser la même étude, mais en présence de palladium, permettrait d'en apprendre davantage sur le comportement de ce métal en présence d'acide humique et

permettrait également de comparer les résultats d'internalisation et de toxicité chez *Chlamydomonas reinhardtii* avec ceux obtenus pour le platine.

CHAPITRE 6 : RÉFÉRENCES

- Aharchaou I, Rosabal M, Liu F, Battaglia E, Vignati DA & Fortin C (2017) Bioaccumulation and subcellular partitioning of Cr(III) and Cr(VI) in the freshwater green alga *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquat. Toxicol.* 182:49-57.
- Aoustin E, Schäfer AI, Fane AG & Waite TD (2001) Ultrafiltration of natural organic matter. *Sep. Purif. Technol.* 22-23:63-78.
- Azaroual M, Romand B, Freyssinet P & Disnar J-R (2001) Solubility of platinum in aqueous solutions at 25°C and pHs 4 to 10 under oxidizing conditions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65(24):4453-4466.
- Azaroual M, Romand B, Freyssinet P & Disnar J-R (2003) Response to the comment by R. H. Byrne on "Solubility of platinum in aqueous solutions at 25°C and pHs 4 to 10 under oxidizing conditions" (2001) *Geochim. Cosmochim. Acta* 65, 4453–4466. *Geochim. Cosmochim. Acta* 67(13):2511-2513.
- Baker A (2005) Thermal fluorescence quenching properties of dissolved organic matter. *Water Res.* 39(18):4405-4412.
- Baker A, Elliott S & Lead JR (2007) Effects of filtration and pH perturbation on freshwater organic matter fluorescence. *Chemosphere* 67(10):2035-2043.
- Balcerzak M (2011) Methods for the Determination of Platinum Group Elements in Environmental and Biological Materials: A Review. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 41(3):214-235.
- Barbante C, Veysseyre A, Ferrari C, van de Velde K, Morel C, Capodaglio G, Cescon P, Scarponi G & Boutron C (2001) Greenland snow evidence of large scale atmospheric contamination for platinum, palladium, and rhodium. *Environ. Sci. Technol.* 35:835-839.
- Beaubien C (2015) *Toxicité de deux lanthanides (La, Ce) sur l'algue verte Chlorella fusca*. Maîtrise (Institut national de la recherche scientifique, Québec). 128 p
- Beckman C (2014) *The Coulter Principle*. <http://ca.beckman.com/particle/instruments/cell-sizing-and-processing/multisizer-3?geolocation=ca> (Consulté le 21 juillet 2017)
- Bérubé L (2005) *Mobilité et géochronologie du Pt et du Pd dans les sédiments de deux lacs du Québec*. Maîtrise (Institut national de la recherche scientifique, Québec). 116 p
- Boullemant A, Gagné JP, Fortin C & Campbell PGC (2007) Interactions of hydrophobic metal complexes and their constituents with aquatic humic substances. *Environ. Chem.* 4:323-333.
- Boullemant A, Lavoie M, Fortin C & Campbell PG (2009) Uptake of hydrophobic metal complexes by three freshwater algae : Unexpected influence of pH. *Environ. Sci. Technol.* 43:3308–3314.
- Boyle ES, Guerriero N, Thiallet A, Del Vecchio R & Blough NV (2009) Optical Properties of Humic substances and CDOM: Relation to Structure. *Environ. Sci. Technol.* 43:2262–2268.

- Brenan JM (2008) The Platinum-Group Elements: "Admirably Adapted" for Science and Industry. *Elements* 4(4):227-232.
- Byrne RH (2003) Comment on "Solubility of platinum in aqueous solutions at 25°C and pHs 4 to 10 under oxidizing conditions" by Mohamed Azaroual, Bruno Romand, Philippe Freyssinet, and Jean-Robert Disnar. *Geochim. Cosmochim. Acta* 67(13):2509.
- Campbell PGC & Fortin C (2013) Biotic Ligand Model. *Encyclopedia of Aquatic Ecotoxicology*, Féraud J-F & Blaise C (Édit.) Springer, Dordrecht. p 237-245.
- Chen Z, Campbell PG & Fortin C (2012) Silver binding by humic acid as determined by equilibrium ion-exchange and dialysis. *J. Phys. Chem. A* 116(25):6532-6539.
- Cobelo-García A, López-Sánchez DE, Almécija C & Santos-Echeandía J (2013) Behavior of platinum during estuarine mixing (Pontevedra Ria, NW Iberian Peninsula). *Mar. Chem.* 150:11-18.
- Cobelo-Garcia A, Turner A, Millward GE & Couceiro F (2007) Behaviour of palladium(II), platinum(IV), and rhodium(III) in artificial and natural waters: influence of reactor surface and geochemistry on metal recovery. *Anal. Chim. Acta* 585(2):202-210.
- Colombo C, Oates CJ, Monhemius AJ & Plant JA (2008) Complexation of platinum, palladium and rhodium with inorganic ligands in the environment. *Geochem.: Explor. Environ., Anal.* 8.
- Cotton FA, Wilkinson G, Murillo CA & Bochmann M (1999) *Advanced Inorganic Chemistry*. John Wiley & Sons, New York, 6th ed. 1376 p
- Dahlheimer SR, Neal CR & Fein JB (2007) Potential Mobilization of Platinum-Group Elements by Siderophores in Surface Environments. *Environ. Sci. Technol.* 41(3):870-875.
- de Vos E, Edwards SJ, McDonald I, Wray DS & Carey PJ (2002) A baseline survey of the distribution and origin of platinum group elements in contemporary fluvial sediments of the Kentish Stour, England. *Appl. Geochem.* 17:1115-1121.
- Diehl DB & Gagnon ZE (2007) Interactions between Essential Nutrients with Platinum Group Metals in Submerged Aquatic and Emergent Plants. *Water Air Soil Pollut.* 184(1-4):255-267.
- Dubiella-Jackowska A, Kudłak B, Polkowska Ż & Namieśnik J (2009) Environmental Fate of Traffic-Derived Platinum Group Metals. *Crit. Rev. Anal. Chem.* 39(4):251-271.
- Dubiella-Jackowska A, Polkowska Ż & Namieśnik J (2007) Platinum Group Elements: A Challenge for Environmental Analytics. *Polish J. of Environ. Stud.* 16(3):329-345.
- Duro L, Grive M, Cera E, Domenech C & Bruno J (2006) Update of a Thermodynamic Database for radionuclides to Assist Solubility Limits Calculations for Performance Assessments, SKB-TR-06-17. p 120.
- Eller R, Alt F, Tölg G & Tobschall HJ (1989) An efficient combined procedure for the extreme trace analysis of gold, platinum, palladium and rhodium with the aid of graphite furnace

- atomic absorption spectrometry and total-reflection X-ray fluorescence analysis. *Fresenius J. Anal. Chem.* 334:723-739.
- Ely JC, Neal CR, Kulpa CF, Schneegurt MA, Seidler JA & Jain JC (2001) Implications of platinum-group element accumulation along U.S. roads from catalytic-converter attrition. *Environ. Sci. Technol.* 35:3816-3822.
- Fortin C, Dutel L & Garnier-Laplace J (2004) Uranium complexation and uptake by a green alga in relation to chemical speciation : The importance of the free uranyl ion. *Environ. Toxicol. Chem.* 23(4):974–981.
- Fortin C, Wang F & Pitre D (2011) Critical Review of Platinum Group Elements (Pd, Pt, Rh) in Aquatic Ecosystems, Research Report No R-1269. p 47.
- Franklin NM, Stauber JL, Apte SC & Lim RP (2002) Effect of initial cell density on the bioavailability and toxicity of copper in microalgal bioassays. *Environ. Toxicol. Chem.* 21(4):742-751.
- Fujiwara K, Matsumoto Y, Kawakami H, Aoki M & Tuzuki M (2008) Evaluation of Metal Toxicity in *Chlorella kessleri* from the Perspective of the Periodic Table. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* 81(4):478-488.
- Gammons CH (1996) Experimental investigations of the hydrothermal geochemistry of platinum and palladium: V. Equilibria between platinum metal, Pt(II), and Pt(IV) chloride complexes at 25 to 300 °C. *Geochim. Cosmochim. Acta* 60:1683-1694.
- Godlewska-Zytkiewicz B (2004) Preconcentration and Separation Procedures for the Spectrochemical Determination of Platinum and Palladium. *Microchim. Acta.* 147(4):189-210.
- Goldberg RN & Hepler LG (1968) Thermochemistry and oxidation potentials of the platinum group metals and their compounds. *Chem. Rev.* 68:229-257.
- Guo L, Santschi PH & Warnken KW (2000) Trace metal composition of colloidal organic material in marine environments. *Mar. Chem.* 70:257–275.
- Hancock RD, Finkelstein NP & Evers A (1977) A linear free-energy relation involving the formation constants of Palladium(II) and Platinum(II). *J. Inorg. Nucl. Chem.* 39:1031-1034.
- Harris EH, Stern DB & Witman G (2009) *The Chlamydomonas Sourcebook*. Academic Press, Burlington, 2e 2032 p
- Hassan NM, Murimboh JD, Sekaly AL, Mandal R, Chakrabarti CL & Gregoire DC (2006) Cascade ultrafiltration and competing ligand exchange for kinetic speciation of aluminium, iron, and nickel in fresh water. *Anal. Bioanal. Chem.* 384(7-8):1558-1566.
- Haus N, Zimmermann S, Wiegand J & Sures B (2007) Occurrence of platinum and additional traffic related heavy metals in sediments and biota. *Chemosphere* 66(4):619-629.
- Helmers E & Kümmerer K (1999) Anthropogenic platinum fluxes: Quantification of sources and sinks, and outlook. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 6(1):29-36.

- Hummel W, Berner U, Curti E, Pearson FJ & Thoenen T (2002) Nagra/PSI Chemical Thermodynamic Data Base 01/01, Technical report 02-16. p 589.
- Jackson MT, Sampson J & Prichard HM (2007) Platinum and palladium variations through the urban environment: evidence from 11 sample types from Sheffield, UK. *Sci. Total Environ.* 385(1-3):117-131.
- Kielhorn J, Melber C, Keller D & Mangelsdorf I (2002) Palladium - A review of exposure and effects to human health. *Int. J. Hyg. Environ. Health* 205(6):417-432.
- Kim KJ, Fane AG, Fell CJD & Joy DC (1992) Fouling mechanisms of membranes during protein ultrafiltration. *J. Membr. Sci.* 68:79-91.
- Knauer K, Behra R & Sigg L (1997) Effects of free Cu²⁺ and Zn²⁺ ions on growth and metal accumulation in freshwater algae. *Environ. Toxicol. Chem.* 16:220–229.
- Koek M, Kreuzer OP, Maier WD, Porwal AK, Thompson M & Guj P (2010) A review of the PGM industry, deposit models and exploration practices: Implications for Australia's PGM potential. *Resources Policy* 35(1):20-35.
- Küchler IL & Miekeley N (1994) Ultrafiltration of humic compounds through low molecular mass cut-off level membranes. *Sci. Total Environ.* 154:23-28.
- Kümmerer K & Helmers E (1997) Hospital effluents as a source for platinum in the environment. *Sci. Total Environ.* 193:179-184.
- Laschka D, Striebel T, Daub J & Nachtwey M (1996) Platinum in rainwater discharges from roads. *Umweltwiss. Schadstoff-Forsch.* 8(3):124-129.
- Lavoie M, Fortin C & Campbell PG (2012) Influence of essential elements on cadmium uptake and toxicity in a unicellular green alga: the protective effect of trace zinc and cobalt concentrations. *Environ. Toxicol. Chem.* 31(7):1445-1452.
- Lee DY, Fortin C & Campbell PG (2005) Contrasting effects of chloride on the toxicity of silver to two green algae, *Pseudokirchneriella subcapitata* and *Chlamydomonas reinhardtii*. *Aquat. Toxicol.* 75(2):127-135.
- Lee EK, Chen V & Fane AG (2008) Natural organic matter (NOM) fouling in low pressure membrane filtration - effect of membranes and operation modes. *Desalination* 218(1-3):257-270.
- Leguay S, Campbell PG & Fortin C (2016) Determination of the free-ion concentration of rare earth elements by an ion-exchange technique: implementation, evaluation and limits. *Environ. Chem.* 13:478-488.
- Li J-H & Byrne RH (1990) Amino acid complexation of palladium in seawater. *Environ. Sci. Technol.* 24(7):1038-1041.
- Lofts S (2012) *User's Guide to WHAM7*. Natural Environment Research Council, Centre for Ecology and Hydrology.

- Lustig S, Zang S, Beck W & Schramel P (1998) Dissolution of metallic platinum as water soluble species by naturally occurring complexing agents. *Mikrochim. Acta* 129:189-194.
- Macdonald JA (1987) Ore Deposit Models #12. The Platinum Group Element Deposits: Classification and Genesis. *Geosci. Can.* 14(3):155-166.
- Martell AE, Smith RM & Motekaitis RJ (2004) NIST Critical Stability Constants of Metal Complexes Database (Version 8.0). (U.S. Department of Commerce, Gaithersburg, MD, USA).
- Matthey J (2010) Platinum 2010.
- Matthey J (2013) Platinum 2013.
- Mays JW (2009) *Bioaccumulation of platinum group metals in the freshwater mussel *Elliptio complanata**. (North Carolina State University). 106 p
- Merdy P, Huclier S & Koopal LK (2006) Modeling metal-particle interactions with an emphasis on natural organic matter. *Environ. Sci. Technol.* 40(24):7459-7466.
- Moldovan M, Gómez MM & Palacios MA (2003) On-line preconcentration of palladium on alumina microcolumns and determination in urban waters by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Anal. Chim. Acta* 478(2):209-217.
- Moldovan M, Palacios MA, Gomez MM, Morrison G, Rauch S, McLeod C, Ma R, Caroli S, Petrucci F, Bocca B, Schramel P, Zischka M, Pettersson C, Wass U, Luna M, Saenz JC & J. S (2002) Environmental risk of particulate and soluble platinum group elements released from gasoline and diesel engine catalytic converters. *Sci. Total Environ.* 296:199-208.
- Moldovan M, Rauch S, Gomez M, Palacios MA & Morrison GM (2001) Bioaccumulation of palladium, platinum and rhodium from urban particulates and sediments by the freshwater isopod *Asellus aquaticus*. *Wat. Res.* 35(17):4175-4183.
- Mostofa KMG, Liu C-q, Yoshioka T, Vione D, Zhang Y & Sakugawa H (2013) Fluorescent Dissolved Organic Matter in Natural Waters. *Environmental Science and Engineering* :429-559.
- Mountain BW & Wood SA (1988) Chemical Controls on the Solubility, Transport, and Deposition of Platinum and Palladium in Hydrothermal Solutions : A Thermodynamic Approach. *Econ. Geol.* 83:492-510.
- Mulholland R & Turner A (2011) Accumulation of platinum group elements by the marine gastropod *Littorina littorea*. *Environ. Pollut.* 159(4):977-982.
- Neira P, Cobelo-Garcia A, Besada V, Santos-Echeandia J & Bellas J (2015) Evidence of increased anthropogenic emissions of platinum: time-series analysis of mussels (1991-2011) of an urban beach. *Sci. Total Environ.* 514:366-370.
- Niskavaara H, Kontas E & Reimann C (2004) Regional distribution and sources of Au, Pd and Pt in moss and O-, B- and C-horizon podzol samples in the European Arctic. *Geochem.: Explor. Environ., Anal.* 4:143-159.

- Okorie IA, Enwistle J & Dean JR (2015) Platinum group elements in urban road dust. *Curr. Sci.* 109(5):938.
- Osterauer R, Haus N, Sures B & Kohler HR (2009) Uptake of platinum by zebrafish (*Danio rerio*) and ramshorn snail (*Marisa cornuarietis*) and resulting effects on early embryogenesis. *Chemosphere* 77(7):975-982.
- Parent L, Twiss MR & Campbell PGC (1996) Influences of natural dissolved organic matter on the interaction of aluminum with the microalga *Chlorella*: a test of the free-ion model of trace metal toxicity. *Environ. Sci. Technol.* 30:1713-1720.
- Park J-W, Hu Z, Gao S, Campbell IH & Gong H (2012) Platinum group element abundances in the upper continental crust revisited – New constraints from analyses of Chinese loess. *Geochim. Cosmochim. Acta* 93:63-76.
- Pawlak J, Lodyga-Chruscinska E & Chrustowicz J (2014) Fate of platinum metals in the environment. *J. Trace Elem. Med Biol.* 28(3):247-254.
- Pyrzńska K (2000) Monitoring of platinum in the environment. *J. Environ. Monit.* 2:99N-103N.
- Racine K (2016) *Étude de la répartition subcellulaire des éléments du groupe platine et des terres rares chez l'algue verte Chlamydomonas reinhardtii*. Maîtrise (Institut national de la recherche scientifique, Québec). 91 p
- Rauch S & Fatoki OS (2013) Anthropogenic platinum enrichment in the vicinity of mines in the Bushveld Igneous Complex, South Africa. *Water Air Soil Pollut.* 224:1395-1406.
- Rauch S, Hemond HF, Barbante C, Owari M, Morrison GM, B. P-E & Wass U (2005) Importance of automobile exhaust catalyst emissions for the deposition of Platinum, Palladium, and Rhodium in the northern hemisphere. *Environ. Sci. Technol.* 39:8156-8162.
- Rauch S & Morrison GM (1999) Platinum uptake by the freshwater isopod *Asellus Aquaticus* in urban rivers. *Sci. Total Environ.* 235:261-268.
- Rauch S & Morrison GM (2008) Environmental Relevance of the Platinum-Group Elements. *Elements* 4(4):259-263.
- Rauch S, Motelica-Heino M, Morrison GM & Donard OFX (2000) Critical assessment of platinum group element determination in road and urban river sediments using ultrasonic nebulisation and high resolution ICP-MS. *J. Anal. At. Spectrom.* 329-334(14).
- Rauch S, Paulsson M, Wilewska M, Blanck H & Morrison GM (2004) Short-term toxicity and binding of platinum to freshwater periphyton communities. *Arch. Environ. Contam. Toxicol.* 47(3):290-296.
- Ravindra K, Bencs L & Van Grieken R (2004) Platinum group elements in the environment and their health risk. *Sci. Total Environ.* 318(1-3):1-43.
- Reith F, Campbell SG, Ball AS, Pring A & Southam G (2014) Platinum in Earth surface environments. *Earth-Sci. Rev.* 131:1-21.

- Revchuk AD & Suffet IH (2009) Ultrafiltration separation of aquatic natural organic matter: chemical probes for quality assurance. *Water Res.* 43(15):3685-3692.
- Robinson NJ (1989) Algal metallothioneins: secondary metabolites and proteins. *J. Appl. Phycol.* 1:5-18.
- Roy G (2009) *Les éléments du groupe platine (Pd, Pt et Rh) dans les eaux de surface et leur toxicité chez l'algue verte Chlamydomonas reinhardtii*. Maîtrise (Institut national de la recherche scientifique, Québec). 162 p
- Rustad LE, Kahl JS, Norton SA & Fernandez IJ (1994) Underestimation of dry deposition by throughfall in mixed northern hardwood forests. *J. Hydrol.* 162:319-336.
- Sassani DC & Shock EL (1998) Solubility and transport of platinum-group elements in supercritical fluids: Summary and estimates of thermodynamic properties for ruthenium, rhodium, palladium, and platinum solids, aqueous ions, and complexes to 1000°C and 5 kbar. *Geochim. Cosmochim. Acta* 62(15):2643-2671.
- Singer C, Zimmermann S & Sures B (2005) Induction of heat shock proteins (hsp70) in the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) following exposure to platinum group metals (platinum, palladium and rhodium): comparison with lead and cadmium exposures. *Aquat. Toxicol.* 75(1):65-75.
- Skoog DA, Holler FJ & Crouch SR (2007) *Principles of Instrumental Analysis*. David Harris, Belmont, USA, 6th Edition. 1039 p
- Soyol-Erdene TO, Huh Y, Hong S & Hur SD (2011) A 50-year record of platinum, iridium, and rhodium in Antarctic snow: volcanic and anthropogenic sources. *Environ. Sci. Technol.* 45(14):5929-5935.
- Staub C, Buffle J & Haerdi W (1984) Measurement of Complexation Properties of Metal Ions in Natural Conditions by Ultrafiltration: Influence of Various Factors on the Retention of Metals and Ligands by Neutral and Negatively Charged Membranes. *Anal. Chem.* 56:2843-2849.
- Sures B, Thielen F, Baska F, Messerschmidt J & von Bohlen A (2005) The intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* as a sensitive accumulation indicator for the platinum group metals Pt, Pd, and Rh. *Environ. Res.* 98(1):83-88.
- Sures B & Zimmermann S (2007) Impact of humic substances on the aqueous solubility, uptake and bioaccumulation of platinum, palladium and rhodium in exposure studies with *Dreissena polymorpha*. *Environ. Pollut.* 146(2):444-451.
- Sures B, Zimmermann S, Messerschmidt J & von Bohlen A (2002) Relevance and Analysis of Traffic Related Platinum Group Metals (Pt, Pd, Rh) in the Aquatic Biosphere, with Emphasis on Palladium. *Ecotoxicology* 11:385-392.
- Sures B, Zimmermann S, Messerschmidt J, von Bohlen A & Alt F (2001) First report on the uptake of automobile catalyst emitted palladium by European eels (*Anguilla anguilla*) following experimental exposure to road dust. *Environ. Pollut.* 113:341-345.
- Survey USG (2016) Platinum-group metals in Mineral commodity summaries 2016, p 202.

- Sutton R, Sposito G, Diallo MS & Schulten H-R (2005) Molecular simulation of a model of dissolved organic matter. *Environ. Toxicol. Chem.* 24(8):1902-1911.
- Tanizaki Y, Yamazaki M & Nagatsuka S (1985) Physicochemical Speciation of Trace Elements in River Water by Means of Ultrafiltration. *Bull. Chem. Soc. Jpn* 58:2995-3002.
- Tétrault G (2014) *Influence de la physico-chimie du milieu (pH, NH₄, Ca²⁺) sur l'internalisation et la toxicité du platine et du palladium chez l'algue verte Chlamydomonas reinhardtii*. Maîtrise (Institut national de la recherche scientifique, Québec). 110 p
- Thurman EM (1985) *Organic Geochemistry of Natural Waters*. Martinus Nijhoff/Dr W. Junk Publishers (Kluwer Academic Publishers Group), Dordrecht. 501 p
- Tipping E (1998) Humic ion-binding Model VI: An improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances. *Aquat. Geochem.* 4:3-48.
- Turner A (2007) Particle–water interactions of platinum group elements under estuarine conditions. *Mar. Chem.* 103(1-2):103-111.
- Turner A & Wu KT (2007) Removal of platinum group elements in an estuarine turbidity maximum. *Mar. Chem.* 107(3):295-307.
- Twiss MR, Welbourn PM & Schwätzel E (1993) Laboratory selection for copper tolerance in *Scenedesmus acutus* (Chlorophyceae). *Can. J. Bot.* 71:333–338.
- van der Horst C, Silwana B, Iwuoha E & Somerset V (2012) Stripping voltammetric determination of palladium, platinum and rhodium in freshwater and sediment samples from South African water resources. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* 47(13):2084-2093.
- Vannini C, Domingo G, Marsoni M, Fumagalli A, Terzaghi R, Labra M, De Mattia F, Onelli E & Bracale M (2011) Physiological and molecular effects associated with palladium treatment in *Pseudokirchneriella subcapitata*. *Aquat. Toxicol.* 102(1-2):104-113.
- Veltz I, Arsac F, Biagianti-Risbourg S, Habets F, Lechenault H & Vernet G (1996) Effects of platinum (Pt⁴⁺) on *Lumbriculus variegatus* müller (annelida, oligochaetae): Acute toxicity and bioaccumulation. *Arch. Environ. Contain. Toxicol.* 31:63-67.
- Wedepohl KH (1995) The composition of the continental crust. *Geochim. Cosmochim. Acta* 59(7):1217-1232.
- Wiseman CL, Hassan Pour Z & Zereini F (2016) Platinum group element and cerium concentrations in roadside environments in Toronto, Canada. *Chemosphere* 145:61-67.
- Wood SA (1991) Experimental determination of the hydrolysis constants of Pt²⁺ and Pd²⁺ at 25°C from the solubility of Pt and Pd in aqueous hydroxide solutions. *Geochim. Cosmochim. Acta* 55:1759-1767.
- Wood SA & Mountain BW (1989) Thermodynamic constraints on the solubility of platinum and palladium in hydrothermal solutions: reassessment of hydroxide, bisulfide, and ammonia complexes. *Econ. Geol.*

- Wood SA, Tait CD, Vlassopoulos D & Janecky DR (1994) Solubility and spectroscopic studies of the interaction of palladium with simple carboxylic acids and fulvic acid at low temperature. *Geochim. Cosmochim. Acta* 58(2):625-637.
- Wren M & Gagnon ZE (2014) A histopathological study of Hudson River crayfish, *Orconectes virilis*, exposed to platinum group metals. *J Environ Sci Health A Tox Hazard Subst Environ Eng* 49(2):135-145.
- Yuantao N & Zhengfen Y (1999) Platinum loss from alloy catalyst gauzes in nitric acid plants. *Platin. Met. Rev.* 43(2):62-69.
- Zereini F, Alsenz H, Wiseman CL, Puttmann W, Reimer E, Schleyer R, Bieber E & Wallasch M (2012) Platinum group elements (Pt, Pd, Rh) in airborne particulate matter in rural vs. urban areas of Germany: concentrations and spatial patterns of distribution. *Sci. Total Environ.* 416:261-268.
- Zereini F, Skerstupp B, Alt F, Helmers E & Urban H (1997) Geochemical behaviour of platinum-group elements (PGE) in particulate emissions by automobile exhaust catalysts: experimental results and environmental investigations. *Sci. Total Environ.* 206:137-146.
- Zereini F, Wiseman CL, Vang M, Albers P, Schneider W, Schindl R & Leopold K (2015) The influence of ethylenediamine tetra acetic acid (EDTA) on the transformation and solubility of metallic palladium and palladium(II) oxide in the environment. *Environ. Sci. Process. Impact* 17(5):915-921.
- Zimmermann S, Alt F, Messerschmidt J, von Bohlen A, Taraschewski H & Sures B (2002) Biological availability of traffic-related platinum-group elements (palladium, platinum, and rhodium) and other metals to the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*) in water containing road dust. *Environ. Toxicol. Chem.* 21(12):2713-2718.
- Zimmermann S, Baumann U, Taraschewski H & Sures B (2004) Accumulation and distribution of platinum and rhodium in the European eel *Anguilla anguilla* following aqueous exposure to metal salts. *Environ. Pollut.* 127(2):195-202.
- Zimmermann S, Menzel CM, Stüben D, Taraschewski H & Sures B (2003) Lipid solubility of the platinum group metals Pt, Pd and Rh in dependence on the presence of complexing agents. *Environ. Pollut.* 124(1):1-5.
- Zimmermann S, Messerschmidt J, von Bohlen A & Sures B (2005a) Uptake and bioaccumulation of platinum group metals (Pd, Pt, Rh) from automobile catalytic converter materials by the zebra mussel (*Dreissena polymorpha*). *Environ. Res.* 98(2):203-209.
- Zimmermann S, von Bohlen A, Messerschmidt J & Sures B (2005b) Accumulation of the precious metals platinum, palladium and rhodium from automobile catalytic converters in *Paratenuisentis ambiguus* as compared with its fish host, *Anguilla anguilla*. *J. Helminthol.* 79(1):85-89.
- Zimmermann S, Wolff C & Sures B (2017) Toxicity of platinum, palladium and rhodium to *Daphnia magna* in single and binary metal exposure experiments. *Environ. Pollut.* 224:368-376.

ANNEXE I

Tableau I.1 : Conditionnement des dispositifs d'ultrafiltration sur 4 jours afin d'enlever la glycérine, n=2. Concentrations de carbone organique dissous mesurées à l'aide de l'appareil Shimadzu VCPH.

| Échantillons | [COD] n=1 (mg C/L) | [COD] n=2 (mg C/L) |
|---|-----------------------|-----------------------|
| Rétentat 20 h | 799 | 888 |
| Filtrat 1 ^{ère} centrifugation | 229 | 188 |
| Filtrat 2 ^e centrifugation | 8,8 | 11,3 |
| Filtrat 3 ^e centrifugation | 4,1 | 3,2 |
| Filtrat 4 ^e centrifugation | 2,7 | 2,6 |
| Rétentat 5 ^e centrifugation | 0,51 | 0,5 |
| Filtrat 5 ^e centrifugation | 2,8 | 2,6 |
| Filtrat 6 ^e centrifugation | 1,63 | 1,73 |
| Filtrat 7 ^e centrifugation | 1,57 | 1,81 |
| Rétentat 48 h | 5,68 | 4,2 |
| Rétentat 8 ^e centrifugation | 0,33 | 0,28 |
| Filtrat 8 ^e centrifugation | 3,9 | 2,1 |
| Filtrat 9 ^e centrifugation | 1,22 | 1,28 |
| Rétentat 10 ^e centrifugation | 0,29 | 0,23 |
| Filtrat 10 ^e centrifugation | 1,13 | 1,21 |

Tableau I.2 : Conditionnement des dispositifs d'ultrafiltration sur 7 jours afin d'enlever la glycérine, n=2. Concentrations de carbone organique dissous mesurées à l'aide de l'appareil Shimadzu VCPH.

| Échantillons | [COD] n=1 (mg C/L) | [COD] n=2 (mg C/L) |
|---|-----------------------|-----------------------|
| Rétentat 96 h | 492 | 375 |
| Filtrat 96 h | 3870 | 4840 |
| Filtrat 1 ^{ère} centrifugation | 65 | 23 |
| Filtrat 2 ^e centrifugation | 5 | 3,9 |
| Rétentat 3 ^e centrifugation | 0,4 | 0,3 |
| Filtrat 3 ^e centrifugation | 2,9 | 2,5 |
| Rétentat 48 h | 3,1 | 3,4 |
| Filtrat 4 ^e centrifugation | 2,4 | 2,3 |
| Filtrat 5 ^e centrifugation | 1,26 | 1,37 |
| Filtrat 6 ^e centrifugation | 1,11 | 1,05 |
| Rétentat 7 ^e centrifugation | 0,21 | 0,23 |
| Filtrat 7 ^e centrifugation | 0,96 | 1 |
| Rétentat 2 ^e 48 h | 2,2 | 1,94 |
| Filtrat 8 ^e centrifugation | 1,26 | 1,25 |
| Filtrat 9 ^e centrifugation | 0,83 | 0,87 |
| Rétentat 10 ^e centrifugation | 0,3 | 0,3 |
| Filtrat 10 ^e centrifugation | 0,99 | 0,93 |

ANNEXE II

Tableau II.1 : Concentrations de platine mesurées dans les contrôles de digestion (n = 3) du matériel de référence IAEA-450 pour les expositions en absence et en présence d'acide humique.

| | Valeur certifiée IAEA-450 | Exposition sans SRHA | Exposition avec SRHA |
|--------------|---------------------------|----------------------|----------------------|
| [Pt] (mg/kg) | 0,074 ± 0,004 | 0,054 ± 0,001 | 0,056 ± 0,002 |

ANNEXE III

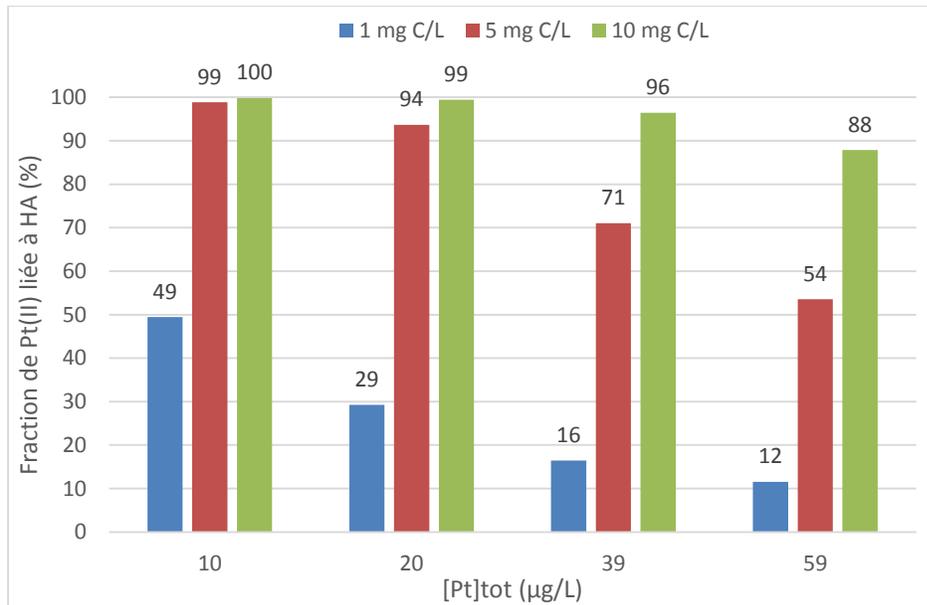


Figure III.1 : Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, $\text{OH}\beta_1 = 14,2$, milieu électrolytique simplifié, $[\text{Pt}]_{\text{tot}} = 10 - 59 \mu\text{g/L}$, $[\text{HA}]_{\text{tot}} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 5$.

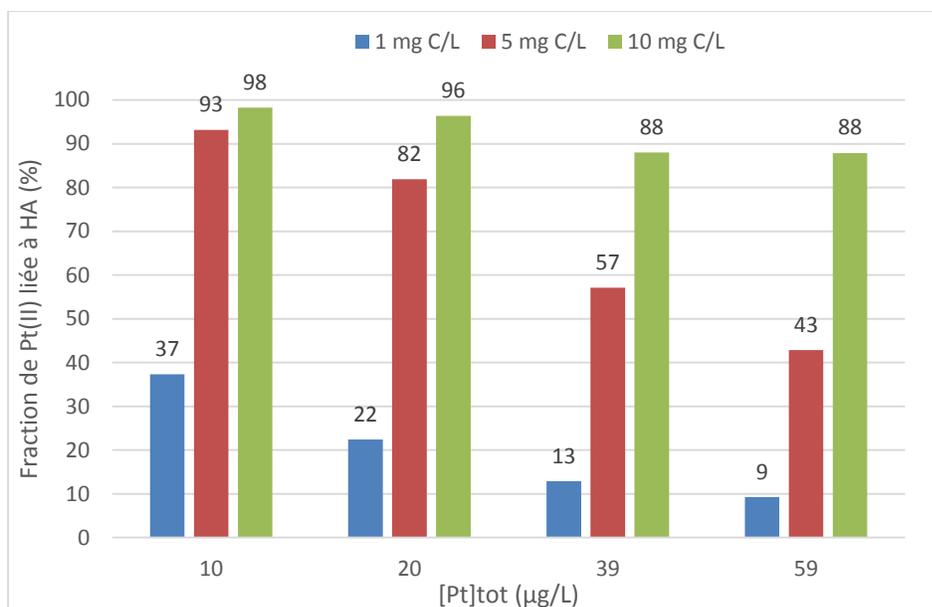


Figure III.2 : Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, $\alpha_{\text{OH}\beta_1} = 14,2$, milieu électrolytique simplifié, $[\text{Pt}]_{\text{tot}} = 10 - 59 \mu\text{g/L}$, $[\text{HA}]_{\text{tot}} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

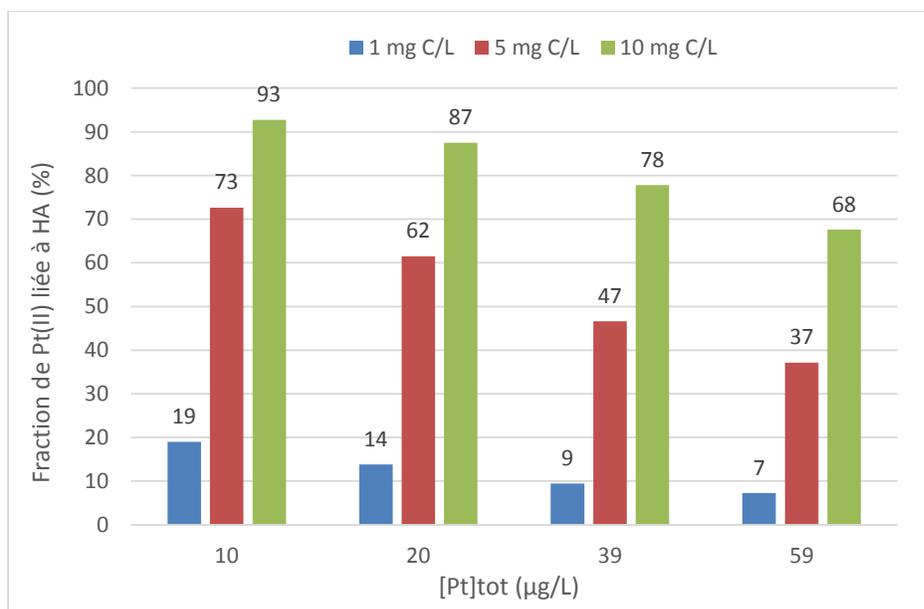


Figure III.3 : Spéciation prédite selon le logiciel WHAM, $\alpha_{\text{OH}\beta_1} = 14,2$, milieu MHSM-1, $[\text{Pt}]_{\text{tot}} = 10 - 59 \mu\text{g/L}$, $[\text{HA}]_{\text{tot}} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$.

ANNEXE IV

Tableau IV.1 : Comparaison des résultats obtenus par simulations WHAM pour le platine.

| | | Fraction de Pt(II) liée à HA | | |
|------------------|----------------|--|--|--------------------------|
| [HA] (mg C/L) | [Pt] (µg/L) | Milieu électrolytique simplifié, pH = 5 | Milieu électrolytique simplifié, pH = 6 | Milieu MHSM-1, pH = 6 |
| 1 | 10 | 0,045 | 0,043 | 0,040 |
| | 20 | 0,025 | 0,024 | 0,021 |
| | 39 | 0,014 | 0,014 | 0,011 |
| | 59 | 0,011 | 0,010 | 0,007 |
| 5 | 10 | 0,219 | 0,214 | 0,203 |
| | 20 | 0,121 | 0,116 | 0,104 |
| | 39 | 0,071 | 0,067 | 0,054 |
| | 59 | 0,053 | 0,050 | 0,038 |
| 10 | 10 | 0,427 | 0,420 | 0,405 |
| | 20 | 0,237 | 0,229 | 0,209 |
| | 39 | 0,139 | 0,132 | 0,110 |
| | 59 | 0,105 | 0,099 | 0,078 |

Tableau IV.2 : Comparaison des résultats obtenus par simulations WHAM pour le palladium.

| | | Fraction de Pd(II) liée à HA | | |
|------------------|----------------|--|--|--------------------------|
| [HA] (mg C/L) | [Pd] (µg/L) | Milieu électrolytique simplifié, pH = 5 | Milieu électrolytique simplifié, pH = 6 | Milieu MHSM-1, pH = 6 |
| 1 | 5 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| | 11 | 1,000 | 1,000 | 0,998 |
| | 21 | 0,999 | 0,999 | 0,963 |
| | 32 | 0,994 | 0,996 | 0,887 |
| 5 | 5 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| | 11 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| | 21 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| | 32 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| 10 | 5 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| | 11 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| | 21 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |
| | 32 | 1,000 | 1,000 | 1,000 |

ANNEXE V

Résultats expériences dialyse à l'équilibre

Tableau V.1 : Vérifier adsorption sur les parois des flacons en polypropylène, n = 3, temps = 24 h, I = 8,4 mEq/L, MWCO = 100 Da.

Bilan de masse palladium

| Pd nominal (µg) | Pd mesuré en solution après 24 h (µg) | Pd adsorbé flacon (µg) | Pd total* (µg) | Pd _{total} /Pd _{nom} (%) |
|-----------------|---------------------------------------|------------------------|----------------|--|
| 1,6 | 0,4 ± 0,1 | 0,28 ± 0,05 | 0,7 ± 0,2 | 44 ± 10 |

Bilan de masse platine

| Pt nominal (µg) | Pt mesuré en solution après 24 h (µg) | Pt adsorbé flacon (µg) | Pt total* (µg) | Pt _{total} /Pt _{nom} (%) |
|-----------------|---------------------------------------|------------------------|----------------|--|
| 7,8 | 6,93 ± 0,04 | 0,016 ± 0,005 | 6,94 ± 0,05 | 89,0 ± 0,6 |

Les quantités adsorbées ont été mesurées en rinçant 2 fois les flacons avec 1 mL d'acide chlorhydrique concentré à la fin des expériences.

* Pd ou Pt total = mesuré en solution après 24 h + adsorbé

Tableau V.2 : Vérifier temps d'équilibre à travers la membrane, n = 3, temps = 24 h, I = 8,4 mEq/L, MWCO = 100 Da.

Palladium

| [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) |
|----------------------|--|--|----------------------------------|
| 7,98 | 2,7 ± 0,7 | 0,10 ± 0,03 | 4 ± 2 |

Bilan de masse palladium

| Pd nominal (µg) | Pd mesuré après 24 h extérieur (µg) | Pd mesuré après 24 h intérieur (µg) | Pd adsorbé flacon (µg) | Pd adsorbé membrane (µg) | Pd total* (µg) | Pd _{total} /Pd _{nom} (%) |
|-----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|--------------------------|----------------|--|
| 1,6 | 0,5 ± 0,1 | 0,0005 ± 0,0001 | 0,20 ± 0,03 | 0,3 ± 0,1 | 0,8 ± 0,2 | 48 ± 11 |

Platine

| [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) |
|----------------------|--|--|----------------------------------|
| 39,02 | 34,01 ± 0,3 | 1,0 ± 0,1 | 2,9 ± 0,4 |

Bilan de masse platine

| Pt nominal (µg) | Pt mesuré après 24 h extérieur (µg) | Pt mesuré après 24 h intérieur (µg) | Pt adsorbé flacon (µg) | Pt adsorbé membrane (µg) | Pt total* (µg) | Pt _{total} /Pt _{nom} (%) |
|-----------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------|--------------------------|----------------|--|
| 7,8 | 6,80 ± 0,07 | 0,0050 ± 0,0006 | 0,0091 ± 0,0009 | 0,20 ± 0,07 | 6,84 ± 0,07 | 87,6 ± 0,9 |

Les quantités adsorbées (flacon) ont été mesurées en rinçant 2 fois les flacons avec 1 mL d'acide chlorhydrique concentré à la fin des expériences.

Les quantités adsorbées (membrane) ont été mesurées en rinçant 2 fois les membranes avec 1 mL d'acide chlorhydrique 10 % à la fin des expériences.

* Pd ou Pt total = mesuré après 24 h extérieur + mesuré après 24 h intérieur + adsorbé flacon + adsorbé membrane

Tableau V.3 : Vérifier temps d'équilibre à travers la membrane et adsorption, n = 1, temps = 3 – 17 jours, I = 8,4 mEq/L, MWCO = 100 Da.

Équilibre palladium

| Temps d'équilibre (jours) | [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|---------------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 3 | 7,98 | 0,97 | 0,82 | 0,08 | 10 | 15 |
| 5 | 7,98 | 1,05 | 1,49 | 0,09 | 6 | < 1 |
| 7 | 7,98 | 5,26 | 1,05 | 0,12 | 11 | 80 |
| 9 | 7,98 | 5,26 | 0,97 | 0,16 | 17 | 82 |
| 11 | 7,98 | 4,93 | 0,51 | 0,28 | 55 | 90 |
| 13 | 7,98 | 4,30 | 0,39 | 0,08 | 19 | 91 |
| 17 | 7,98 | 4,07 | 0,84 | 0,27 | 32 | 79 |

Bilan de masse palladium

| Temps d'équilibre (jours) | Pd mesuré départ (µg) | Pd mesuré fin extérieur (µg) | Pd mesuré fin intérieur (µg) | Pd adsorbé flacon (µg) | Pd adsorbé membrane (µg) | Pd total (µg) | Pd _{total} /Pd _{départ} (%) |
|---------------------------|-----------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------|--------------------------|---------------|---|
| 11 | 0,99 | 0,10 | 0,00 | 0,23 | 0,00 | 0,34 | 34 |
| 17 | 0,81 | 0,17 | 0,00 | 0,11 | 0,00 | 0,28 | 34 |

Équilibre platine

| Temps d'équilibre (jours) | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|---------------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 3 | 39,02 | 27,98 | 25,09 | 16,12 | 64 | 9 |
| 5 | 39,02 | 29,02 | 24,70 | 19,39 | 79 | 13 |
| 7 | 39,02 | 36,38 | 29,02 | 20,03 | 69 | 19 |
| 9 | 39,02 | 36,45 | 27,98 | 23,25 | 83 | 22 |
| 11 | 39,02 | 36,55 | 30,62 | 5,89 | 19 | 16 |
| 13 | 39,02 | 37,12 | 25,88 | 5,69 | 22 | 30 |
| 17 | 39,02 | 37,08 | 24,31 | 9,40 | 39 | 34 |

Bilan de masse platine

| Temps d'équilibre (jours) | Pt mesuré départ (µg) | Pt mesuré fin extérieur (µg) | Pt mesuré fin intérieur (µg) | Pt adsorbé flacon (µg) | Pt adsorbé membrane (µg) | Pt total (µg) | Pt _{total} /Pt _{départ} (%) |
|---------------------------|-----------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------|--------------------------|---------------|---|
| 5 | 5,80 | 4,94 | 0,097 | 0,040 | 0,006 | 5,08 | 88 |
| 11 | 7,31 | 6,12 | 0,029 | 0,057 | 0,006 | 6,22 | 85 |
| 17 | 7,42 | 4,86 | 0,047 | 0,079 | 0,007 | 5,00 | 67 |

Les pertes par adsorption sont calculées à partir des concentrations en métaux mesurées en solution au départ et à la fin de l'expérience, les pertes à l'intérieur de la membrane sont prises en compte.

Les quantités adsorbées (flacon) ont été mesurées en rinçant 2 fois les flacons avec 1 mL d'acide chlorhydrique concentré à la fin des expériences.

Les quantités adsorbées (membrane) ont été mesurées en rinçant 2 fois les membranes avec 1 mL d'acide chlorhydrique 10 % à la fin des expériences.

Adsorption palladium

| Temps (jours) | [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin (µg/L) | Perte adsorption (%) |
|---------------|----------------------|---------------------------------------|------------------------------------|----------------------|
| 3 | 7,98 | 6,35 | 1,53 | 76 |
| 5 | 7,98 | 5,12 | 1,31 | 74 |
| 7 | 7,98 | 5,48 | 1,79 | 67 |
| 9 | 7,98 | 6,35 | 1,46 | 77 |
| 11 | 7,98 | 5,39 | 1,42 | 74 |
| 13 | 7,98 | 5,12 | 1,01 | 80 |
| 17 | 7,98 | 5,39 | 1,29 | 76 |

Adsorption platine

| Temps (jours) | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin (µg/L) | Perte adsorption (%) |
|---------------|----------------------|---------------------------------------|------------------------------------|----------------------|
| 3 | 39,02 | 36,69 | 36,73 | < 1 |
| 5 | 39,02 | 37,27 | 37,02 | 1 |
| 7 | 39,02 | 37,15 | 36,91 | 1 |
| 9 | 39,02 | 36,87 | 37,03 | < 1 |
| 11 | 39,02 | 36,36 | 35,61 | 2 |
| 13 | 39,02 | 37,27 | 36,34 | 2 |
| 17 | 39,02 | 36,36 | 35,11 | 3 |

Les pertes par adsorption sont calculées à partir des concentrations en métaux mesurées en solution au départ et à la fin de l'expérience.

Tableau V.4 : Vérifier temps d'équilibre à travers la membrane, n = 1, temps = 11 – 15 jours, I = 8,4 mÉq/L, MWCO = 100 Da.

| Temps d'équilibre (jours) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|---------------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 11 | 39,9 | 31,4 | 10,8 | 34 | 21 |
| 13 | 39,1 | 34,4 | 9,58 | 28 | 11 |
| 15 | 40,1 | 38,1 | 5,64 | 15 | 5 |

Les pertes par adsorption sont calculées à partir des concentrations en métaux mesurées en solution au départ et à la fin de l'expérience, les pertes à l'intérieur de la membrane sont prises en compte.

Tableau V.5 : Vérifier adsorption métaux sur flacons en polycarbonate avec et sans SRHA, n = 1, temps = 7 – 15 jours, I = 8,4 mÉq/L, MWCO = 100 Da.

Adsorption palladium

| Temps d'équilibre (jours) | [Pd] en solution (µg/L) Sans SRHA | Perte adsorption (%) | [Pd] en solution (µg/L) [SRHA] = 1 mg C/L | Perte adsorption (%) | [Pd] en solution (µg/L) [SRHA] = 3 mg C/L | Perte adsorption (%) |
|---------------------------|-----------------------------------|----------------------|---|----------------------|---|----------------------|
| Départ | 19,47 | n.a | 20,08 | n.a | 19,32 | n.a |
| 7 | 10,96 | 44 | 16,83 | 16 | 16,77 | 13 |
| 11 | 9,82 | 50 | 16,80 | 16 | 16,37 | 15 |
| 13 | 9,49 | 51 | 16,72 | 17 | 16,34 | 15 |
| 15 | 9,15 | 53 | 16,65 | 17 | 16,42 | 15 |

Adsorption platine

| Temps d'équilibre (jours) | [Pt] en solution (µg/L) Sans SRHA | Perte adsorption (%) | [Pt] en solution (µg/L) [SRHA] = 1 mg C/L | Perte adsorption (%) | [Pt] en solution (µg/L) [SRHA] = 3 mg C/L | Perte adsorption (%) |
|---------------------------|-----------------------------------|----------------------|---|----------------------|---|----------------------|
| Départ | 39,59 | n.a | 39,40 | n.a | 39,12 | n.a |
| 7 | 40,04 | < 1 | 38,37 | 3 | 36,39 | 7 |
| 11 | 40,11 | < 1 | 38,06 | 3 | 35,31 | 10 |
| 13 | 39,69 | < 1 | 37,32 | 5 | 34,80 | 11 |
| 15 | 39,83 | < 1 | 37,67 | 4 | 34,68 | 11 |

n.a = non applicable

Tableau V.6 : Vérifier adsorption métaux sur membrane à dialyse, n = 1, temps = 5 jours, l = 8,4 mEq/L, MWCO = 100 Da.

Équilibre palladium

| [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 21,28 | 19,257 | 9,09 | 1,76 | 19 | 53 |

Adsorption membrane palladium

| [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] adsorbé extérieur membrane dialyse (µg/L) | [Pd] _{départ} adsorbé extérieur membrane (%) | [Pd] adsorbé intérieur membrane dialyse (µg/L) | [Pd] _{départ} adsorbé intérieur membrane (%) | Pd dans membrane digérée (µg de Pd par g de membrane) |
|---------------------------------------|--|---|--|---|---|
| 18,34 | 1,18 | 6 | 2,62 | 14 | 1,018 |

Équilibre platine

| [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 39,02 | 39,26 | 39,43 | 3,91 | 10 | < 1 |

Adsorption membrane platine

| [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] adsorbé extérieur membrane dialyse (µg/L) | [Pt] _{départ} adsorbé extérieur membrane (%) | [Pt] adsorbé intérieur membrane dialyse (µg/L) | [Pt] _{départ} adsorbé intérieur membrane (%) | Pt dans membrane digérée (µg de Pt par g de membrane) |
|---------------------------------------|--|---|--|---|---|
| 37,39 | 0,172 | < 1 | 0,366 | 1 | 0,093 |

Concentrations de métaux adsorbées à l'intérieur de la membrane mesurées en rinçant intérieur membrane avec 5 mL HCl 5% durant 1 h.

Concentrations de métaux adsorbées à l'extérieur de la membrane mesurées en rinçant extérieur membrane dans 40 mL HCl 5% durant 1 h.

Membrane digérée à froid dans 2,5 mL d'acide chlorhydrique concentré durant 1 h.

Tableau V.7 : Vérifier adsorption métaux sur membrane à dialyse, 250 mL milieu électrolytique, n = 1, temps = 5 jours, I = 8,4 mÉq/L, MWCO = 100 Da.

Équilibre palladium

| [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 21,28 | 21,03 | 8,83 | 0,50 | 6 | 58 |

Adsorption membrane palladium

| [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] adsorbé extérieur membrane dialyse (µg/L) | [Pd] _{départ} adsorbé extérieur membrane (%) | [Pd] adsorbé intérieur membrane dialyse (µg/L) | [Pd] _{départ} adsorbé intérieur membrane (%) | Pd dans membrane digérée (µg de Pd par g de membrane) |
|---------------------------------------|--|---|--|---|---|
| 20,03 | 1,72 | 9 | 4,06 | 20 | 0,998 |

Équilibre platine

| [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 39,02 | 39,69 | 38,87 | 8,00 | 21 | 2 |

Adsorption membrane platine

| [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] adsorbé extérieur membrane dialyse (µg/L) | [Pt] _{départ} adsorbé extérieur membrane (%) | [Pt] adsorbé intérieur membrane dialyse (µg/L) | [Pt] _{départ} adsorbé intérieur membrane (%) | Pt dans membrane digérée (µg de Pt par g de membrane) |
|---------------------------------------|--|---|--|---|---|
| 37,8 | 0,261 | < 1 | 0,725 | 2 | 0,135 |

Concentrations de métaux adsorbées à l'intérieur de la membrane mesurées en rinçant intérieur membrane avec 5 mL HCl 5% durant 1 h.

Concentrations de métaux adsorbées à l'extérieur de la membrane mesurées en rinçant extérieur membrane dans 40 mL HCl 5% durant 1 h.

Membrane digérée à froid dans 2,5 mL d'acide chlorhydrique concentré durant 1 h.

Tableau V.8 : Vérifier influence de la force ionique sur temps d'équilibre à travers membrane, n = 1, temps = 5 jours, I = 8,4 – 20 mÉq/L, MWCO = 100 Da.

Équilibre palladium

| Force ionique (mÉq/L) | [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 8,4 | 212,8 | 221,24 | 30,25 | 41,76 | 138 | 86 |
| 20 | 212,8 | 219,66 | 36,61 | 38,97 | 106 | 83 |

Équilibre platine

| Force ionique (mÉq/L) | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 8,4 | 390,2 | 373,49 | 378,42 | 12,88 | 3 | < 1 |
| 20 | 390,2 | 373,49 | 367,61 | 26,22 | 7 | 1 |

Les pertes par adsorption sont calculées à partir des concentrations en métaux mesurées en solution au départ et à la fin de l'expérience, les pertes à l'intérieur de la membrane sont prises en compte.

Tableau V.9 : Vérifier influence de la force ionique sur temps d'équilibre à travers membrane, n = 1, temps = 5 jours, I = 8,4 – 20 mÉq/L, MWCO = 100 Da.

Équilibre palladium

| Force ionique (mÉq/L) | [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 8,4 | 21,28 | 14,27 | 7,34 | 0,74 | 10 | 48 |
| 20 | 21,28 | 19,50 | 8,24 | 0,84 | 10 | 58 |

Équilibre platine

| Force ionique (mÉq/L) | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 8,4 | 39,02 | 39,40 | 37,98 | 0,91 | 2 | 4 |
| 20 | 39,02 | 38,72 | 37,49 | 1,51 | 4 | 3 |

Les pertes par adsorption sont calculées à partir des concentrations en métaux mesurées en solution au départ et à la fin de l'expérience, les pertes à l'intérieur de la membrane sont prises en compte.

Tableau V.10 : Vérifier influence de la force ionique sur temps d'équilibre à travers membrane, n = 1, temps = 5 jours, I = 20 – 100 mÉq/L, MWCO = 100 Da.

Équilibre palladium

| Force ionique (mÉq/L) | [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 20 | 21,28 | 38,38 | 15,90 | 1,15 | 7 | 59 |
| 100 | 21,28 | 40,14 | 22,79 | 1,33 | 6 | 43 |

Équilibre platine

| Force ionique (mÉq/L) | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 20 | 39,02 | 38,73 | 38,22 | 1,39 | 4 | 1 |
| 100 | 39,02 | 37,18 | 36,09 | 5,79 | 16 | 3 |

Les pertes par adsorption sont calculées à partir des concentrations en métaux mesurées en solution au départ et à la fin de l'expérience, les pertes à l'intérieur de la membrane sont prises en compte.

Tableau V.11 : Vérifier temps d'équilibre lorsque métaux sont présents à l'intérieur et à l'extérieur de la membrane au départ, n = 1, temps = 9 jours, I = 20 mÉq/L, MWCO = 100 Da.

Équilibre palladium

| [Pd] nominale extérieur (µg/L) | [Pd] nominale intérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane départ (%) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane fin (%) | Perte adsorption (%) |
|--------------------------------|--------------------------------|---|---|---|--|--|--------------------------------------|----------------------|
| 15,96 | 21,28 | 8,23 | 2,53 | 31 | 7,16 | 1,16 | 16 | 13 |
| 21,28 | 15,96 | 4,30 | 3,97 | 92 | 3,83 | 1,08 | 28 | 12 |

Équilibre platine

| [Pt] nominale extérieur (µg/L) | [Pt] nominale intérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane départ (%) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane fin (%) | Perte adsorption (%) |
|--------------------------------|--------------------------------|---|---|---|--|--|--------------------------------------|----------------------|
| 29,26 | 39,02 | 28,12 | 28,44 | 101 | 27,84 | 10,37 | 37 | 3 |
| 39,02 | 29,26 | 38,75 | 20,24 | 52 | 38,42 | 9,11 | 24 | 2 |

Les pertes par adsorption sont calculées à partir du bilan de masse.

Tableau V.12 : Vérifier temps d'équilibre à différentes forces ioniques en présence d'EDTA en excès (facteur 200), n = 1, temps = 9 jours, I = 20 – 100 mÉq/L, MWCO = 100 Da.

Équilibre palladium

| Force ionique (mÉq/L) | [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 20 | 21,28 | 19,74 | 19,19 | 0,45 | 2 | 3 |
| 100 | 21,28 | 19,23 | 18,54 | 1,12 | 6 | 3 |
| 20 | 42,57 | 39,84 | 39,85 | 0,23 | 1 | < 1 |

Équilibre platine

| Force ionique (mÉq/L) | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 20 | 39,02 | 33,73 | 33,55 | 1,68 | 5 | < 1 |
| 100 | 39,02 | 32,05 | 32,26 | 9,05 | 28 | < 1 |

Tableau V.13 : Vérifier temps d'équilibre à différentes forces ioniques, n = 1, temps = 5 jours, I = 8,4 – 100 mÉq/L, MWCO = 500 Da.

Équilibre palladium

| Force ionique (mÉq/L) | [Pd] nominale (µg/L) | [Pd] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pd] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 8,4 | 21,28 | 5,07 | 4,04 | 0,15 | 4 | 20 |
| 20 | 21,28 | 3,37 | 4,93 | 1,77 | 36 | < 1 |
| 100 | 21,28 | 9,14 | 7,75 | 3,65 | 47 | 14 |
| 20* | 21,28 | 19,68 | 19,48 | 0,74 | 4 | < 1 |

Équilibre platine

| Force ionique (mÉq/L) | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Perte adsorption (%) |
|-----------------------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|----------------------|
| 8,4 | 39,02 | 36,03 | 33,02 | 31,35 | 95 | 6 |
| 20 | 39,02 | 34,62 | 32,88 | 32,33 | 98 | 3 |
| 100 | 39,02 | 33,43 | 33,02 | 2,14 | 6 | 1 |
| 20* | 39,02 | 34,34 | 33,67 | 33,12 | 98 | < 1 |

* En présence d'un excès d'EDTA (facteur 100)

Tableau V.14 : Vérifier temps d'équilibre, n = 2, temps = 3 jours, I = 20 mÉq/L, MWCO = 500 Da.

Équilibre platine

| [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Bilan de masse (%) |
|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|--------------------|
| 39,02 | 35,72 ± 0,07 | 35,5945 ± 0,0005 | 1,4 ± 0,3 | 3,9 ± 0,7 | 99,8 ± 0,2 |

Tableau V.15 : Vérifier temps d'équilibre, n = 2, temps = 5 jours, I = 20 mÉq/L, MWCO = 500 Da.

Équilibre platine

| [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Bilan de masse (%) |
|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|--------------------|
| 39,02 | 34,6 ± 0,2 | 34,01 ± 0,2 | 1,46 ± 0,02 | 4,3 ± 0,1 | 98 ± 1 |

Tableau V.16 : Vérifier temps d'équilibre, n = 3, temps = 5 jours, I = 20 mÉq/L, MWCO = 500 Da.

Équilibre platine

| | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Bilan de masse (%) |
|-----|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|--------------------|
| n=1 | 39,02 | 36,488 | 36,120 | 1,145 | 3 | 99 |
| n=2 | 39,02 | 36,299 | 33,831 | 32,939 | 97 | 95 |
| n=3 | 39,02 | 36,708 | 35,658 | 1,234 | 3 | 97 |

Tableau V.17 : Vérifier temps d'équilibre, n = 3, temps = 5 jours, I = 20 mÉq/L, MWCO = 500 Da.

Équilibre platine

| | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Bilan de masse (%) |
|-----|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|--------------------|
| n=1 | 39,02 | 36,929 | 32,939 | 14,931 | 45 | 90 |
| n=2 | 39,02 | 36,456 | 33,726 | 0,730 | 2 | 93 |
| n=3 | 39,02 | 36,708 | 35,784 | 2,474 | 7 | 98 |

Tableau V.18 : Vérifier si Pt précipite dans milieu électrolytique, n = 3, temps = 5 jours, I = 20 mÉq/L, MWCO = 500 Da.

Équilibre Platine

| | [Pt] nominale (µg/L) | [Pt] _{mesurée} départ (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin extérieur (µg/L) | [Pt] _{mesurée} fin intérieur (µg/L) | Équilibre à travers membrane (%) | Bilan de masse (%) |
|-----------|----------------------|---------------------------------------|--|--|----------------------------------|--------------------|
| n=1 | 39,02 | 36,204 | 34,629 | 2,101 | 6 | 96 |
| n=2 | 39,02 | 36,110 | 35,648 | 2,984 | 8 | 99 |
| n=3 | 39,02 | 36,456 | 35,574 | 1,226 | 3 | 98 |
| EDTA* n=1 | 39,02 | 36,089 | 35,690 | 28,571 | 80 | 101 |
| EDTA* n=2 | 39,02 | 36,204 | 35,795 | 7,682 | 21 | 99 |
| EDTA* n=3 | 39,02 | 36,488 | 35,784 | 3,219 | 9 | 98 |

* En présence d'un excès d'EDTA (facteur 100)

Tableau V.19 : Vérifier relargage carbone organique dissous par membranes à dialyse, n = 3, temps = 5 jours, I = 20 mÉq/L, MWCO = 500 Da.

Première expérience

| | [COD] départ (mg C/L) | [COD] fin (mg C/L) |
|-----|-----------------------|--------------------|
| n=1 | 0,30 | 2,3 |
| n=2 | 0,28 | 6,1 |
| n=3 | 0,23 | 1,49 |

Deuxième expérience

| | [COD] départ (mg C/L) | [COD] fin (mg C/L) |
|-----|-----------------------|--------------------|
| n=1 | 0,29 | 3,1 |
| n=2 | 0,20 | 2,1 |
| n=3 | 0,25 | 1,87 |

ANNEXE VI

Tableau VI.1 : Vérifier si temps d'ultrafiltration partielle modifie spéciation.

| Temps filtration (min) | [SRHA] départ (mg C/L) | [Pt] départ (µg/L) | Volume filtrat (mL) | Pt lié à SRHA (%) |
|------------------------|------------------------|--------------------|---------------------|-------------------|
| 6 | 2,1 | 35,0 | 5,8 | 25,2 |
| 8 | 2,1 | 34,3 | 6,5 | 30,5 |
| 10 | 2,1 | 34,3 | 8,6 | 26,4 |

Tableau VI.2 : Détermination du temps d'équilibre nécessaire entre le platine et l'acide humique avant les expériences d'ultrafiltration partielle, n = 3

| Temps (h) | [Pt] départ (µg/L) | [Pt] rétentat (µg/L) | [Pt] filtrat (µg/L) | [Pt] inorganique (%) | Pt lié à SRHA (%) | Bilan de masse (%) |
|-----------|--------------------|----------------------|---------------------|----------------------|-------------------|--------------------|
| 24 | 33,7 ± 0,2 | 34,8 ± 0,3 | 24,5 ± 0,6 * | 70 ± 2 * | 30 ± 2 * | 98 ± 1 |
| 48 | 33,7 ± 0,2 | 34,7 ± 0,4 | 24,3 ± 0,4 * | 70 ± 2 * | 30 ± 2 * | 98 ± 2 |
| 72 | 33,7 ± 0,2 | 35,3 ± 0,3 | 23,2 ± 0,7 | 66 ± 2 | 34 ± 2 | 99 ± 3 |
| 96 | 33,7 ± 0,2 | 35,0 ± 0,3 | 22 ± 1 | 63 ± 4 | 37 ± 4 | 99 ± 3 |

* Valeurs significativement différentes de celles obtenues à t = 96 h selon des tests de Student ($\alpha = 5\%$)

ANNEXE VII

Tableau VII.1 : Complexation du Pt(II) par l'acide humique pour différentes valeurs de $\Delta LK2$ et $\log K_{MA}$, $[Pt]_{tot} = 39 \mu\text{g/L}$, $[HA]_{tot} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$, $\log_{OH\beta_1} = 24,91$.

| [HA] (mg C/L) | $\Delta LK2$ | $\log K_{MA}$ | Fraction de Pt(II) lié |
|------------------|--------------|---------------|------------------------|
| 1 | 5,57 (a) | 3,77 (b) | 0,01 |
| 5 | 5,57 (a) | 3,77 (b) | 0,05 |
| 10 | 5,57 (a) | 3,77 (b) | 0,11 |
| 1 | 6,57 | 3,77 (b) | 0,03 |
| 5 | 6,57 | 3,77 (b) | 0,15 |
| 10 | 6,57 | 3,77 (b) | 0,33 |
| 1 | 7,00 | 3,77 (b) | 0,06 |
| 5 | 7,00 | 3,77 (b) | 0,30 |
| 10 | 7,00 | 3,77 (b) | 0,57 |
| 1 | 5,57 (a) | 4,77 | 0,13 |
| 5 | 5,57 (a) | 4,77 | 0,61 |
| 10 | 5,57 (a) | 4,77 | 0,91 |
| 1 | 8,00 | 3,00 | 0,04 |
| 5 | 8,00 | 3,00 | 0,21 |
| 10 | 8,00 | 3,00 | 0,42 |

(a) Valeur initiale de $\Delta LK2$ dans la base de données WHAM

(b) Valeur initiale de $\log K_{MA}$ dans la base de données WHAM

Tableau VII.2 : Complexation du Pt(II) par l'acide humique pour différentes valeurs de $\Delta LK2$ et $\log K_{MA}$, $[Pt]_{tot} = 39 \mu\text{g/L}$, $[HA]_{tot} = 1 - 10 \text{ mg C/L}$, $\text{pH} = 6$, $\log_{OH\beta_1} = 14,2$.

| [HA] (mg C/L) | $\Delta LK2$ | $\log K_{MA}$ | Fraction de Pt(II) lié |
|------------------|--------------|---------------|------------------------|
| 1 | 5,57 (a) | 3,77 (b) | 0,09 |
| 5 | 5,57 (a) | 3,77 (b) | 0,47 |
| 10 | 5,57 (a) | 3,77 (b) | 0,78 |
| 1 | 4,9 | 3,77 (b) | 0,03 |
| 5 | 4,9 | 3,77 (b) | 0,17 |
| 10 | 4,9 | 3,77 (b) | 0,37 |

(a) Valeur initiale de $\Delta LK2$ dans la base de données WHAM

(b) Valeur initiale de $\log K_{MA}$ dans la base de données WHAM

ANNEXE VIII

Two Way Repeated Measures Analysis of Variance

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0,050)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0,600)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|------------------------|----|------------------|-----------------|---------|--------|
| Temps | 4 | 327873071605,333 | 81968267901,333 | 100,121 | <0,001 |
| Concentrations | 4 | 20109038752,000 | 5027259688,000 | 6,141 | <0,001 |
| Temps x Concentrations | 16 | 8690023861,333 | 543126491,333 | 0,663 | 0,815 |
| Residual | 50 | 40934660800,000 | 818693216,000 | | |
| Total | 74 | 397606795018,667 | 5373064797,550 | | |

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Concentrations within 0 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|----------------------------|---------------|---|---------|-------|-------------|
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 2573,333 | 5 | 0,156 | 1,000 | No |
| 10 µg/L vs. Témoin Algues | 1373,333 | 5 | 0,0831 | 1,000 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 1140,000 | 5 | 0,0690 | 1,000 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 30 µg/L | 993,333 | 5 | 0,0601 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 1580,000 | 5 | 0,0956 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. Témoin Algues | 380,000 | 5 | 0,0230 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 50 µg/L | 146,667 | 5 | 0,00888 | 1,000 | Do Not Test |
| 50 µg/L vs. 100 µg/L | 1433,333 | 5 | 0,0868 | 1,000 | Do Not Test |
| 50 µg/L vs. Témoin Algues | 233,333 | 5 | 0,0141 | 1,000 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 1200,000 | 5 | 0,0726 | 1,000 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Concentrations within 24 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|----------------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 32640,000 | 5 | 1,976 | 0,632 | No |

| | | | | | |
|---------------------------|-----------|---|--------|-------|-------------|
| Témoin Algues vs. 30 µg/L | 17506,667 | 5 | 1,060 | 0,944 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 50 µg/L | 11953,333 | 5 | 0,724 | 0,986 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 10 µg/L | 913,333 | 5 | 0,0553 | 1,000 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 31726,667 | 5 | 1,921 | 0,657 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 30 µg/L | 16593,333 | 5 | 1,004 | 0,953 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 11040,000 | 5 | 0,668 | 0,990 | Do Not Test |
| 50 µg/L vs. 100 µg/L | 20686,667 | 5 | 1,252 | 0,901 | Do Not Test |
| 50 µg/L vs. 30 µg/L | 5553,333 | 5 | 0,336 | 0,999 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 15133,333 | 5 | 0,916 | 0,966 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Concentrations within 48 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|----------------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 67106,667 | 5 | 4,062 | 0,045 | Yes |
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 42666,667 | 5 | 2,583 | 0,370 | No |
| 10 µg/L vs. 30 µg/L | 27813,333 | 5 | 1,684 | 0,757 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. Témoin Algues | 24200,000 | 5 | 1,465 | 0,838 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 42906,667 | 5 | 2,597 | 0,365 | No |
| Témoin Algues vs. 50 µg/L | 18466,667 | 5 | 1,118 | 0,932 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 30 µg/L | 3613,333 | 5 | 0,219 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 39293,333 | 5 | 2,379 | 0,454 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 50 µg/L | 14853,333 | 5 | 0,899 | 0,969 | Do Not Test |
| 50 µg/L vs. 100 µg/L | 24440,000 | 5 | 1,479 | 0,833 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Concentrations within 72 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|----------------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 70266,667 | 5 | 4,254 | 0,032 | Yes |
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 51933,333 | 5 | 3,144 | 0,188 | No |
| 10 µg/L vs. Témoin Algues | 28733,333 | 5 | 1,739 | 0,734 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 30 µg/L | 19400,000 | 5 | 1,174 | 0,920 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 50866,667 | 5 | 3,079 | 0,205 | No |
| 30 µg/L vs. 50 µg/L | 32533,333 | 5 | 1,969 | 0,635 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. Témoin Algues | 9333,333 | 5 | 0,565 | 0,995 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 41533,333 | 5 | 2,514 | 0,398 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 50 µg/L | 23200,000 | 5 | 1,404 | 0,857 | Do Not Test |
| 50 µg/L vs. 100 µg/L | 18333,333 | 5 | 1,110 | 0,934 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Concentrations within 96 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|----------------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 68533,333 | 5 | 4,149 | 0,039 | Yes |
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 65200,000 | 5 | 3,947 | 0,055 | No |
| 10 µg/L vs. Témoin Algues | 27066,667 | 5 | 1,638 | 0,775 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 30 µg/L | 25333,333 | 5 | 1,534 | 0,814 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 50 µg/L | 43200,000 | 5 | 2,615 | 0,358 | No |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 39866,667 | 5 | 2,413 | 0,439 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. Témoin Algues | 1733,333 | 5 | 0,105 | 1,000 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 50 µg/L | 41466,667 | 5 | 2,510 | 0,399 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 38133,333 | 5 | 2,308 | 0,485 | Do Not Test |
| 100 µg/L vs. 50 µg/L | 3333,333 | 5 | 0,202 | 1,000 | Do Not Test |

ANNEXE IX

Two Way Repeated Measures Analysis of Variance

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0,050)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0,124)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|------------------------|-----|------------------|-----------------|---------|--------|
| Temps | 4 | 355402734537,143 | 88850683634,286 | 263,033 | <0,001 |
| Concentrations | 6 | 354490388739,048 | 59081731456,508 | 174,905 | <0,001 |
| Temps x Concentrations | 24 | 241886350422,857 | 10078597934,286 | 29,837 | <0,001 |
| Residual | 70 | 23645532266,667 | 337793318,095 | | |
| Total | 104 | 975425005965,714 | 9379086595,824 | | |

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Concentrations within 0 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|----------------------------|---------------|---|--------|-------|-------------|
| 0 µg/L vs. 150 µg/L | 3693,333 | 7 | 0,348 | 1,000 | No |
| 0 µg/L vs. 50 µg/L | 3053,333 | 7 | 0,288 | 1,000 | Do Not Test |
| 0 µg/L vs. 100 µg/L | 2933,333 | 7 | 0,276 | 1,000 | Do Not Test |
| 0 µg/L vs. 10 µg/L | 2046,667 | 7 | 0,193 | 1,000 | Do Not Test |
| 0 µg/L vs. 30 µg/L | 1240,000 | 7 | 0,117 | 1,000 | Do Not Test |
| 0 µg/L vs. Témoin Algues | 260,000 | 7 | 0,0245 | 1,000 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 150 µg/L | 3433,333 | 7 | 0,324 | 1,000 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 50 µg/L | 2793,333 | 7 | 0,263 | 1,000 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 2673,333 | 7 | 0,252 | 1,000 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 10 µg/L | 1786,667 | 7 | 0,168 | 1,000 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 30 µg/L | 980,000 | 7 | 0,0924 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 150 µg/L | 2453,333 | 7 | 0,231 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 50 µg/L | 1813,333 | 7 | 0,171 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 1693,333 | 7 | 0,160 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 10 µg/L | 806,667 | 7 | 0,0760 | 1,000 | Do Not Test |

| | | | | | |
|-----------------------|----------|---|--------|-------|-------------|
| 10 µg/L vs. 150 µg/L | 1646,667 | 7 | 0,155 | 1,000 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 1006,667 | 7 | 0,0949 | 1,000 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 886,667 | 7 | 0,0836 | 1,000 | Do Not Test |
| 100 µg/L vs. 150 µg/L | 760,000 | 7 | 0,0716 | 1,000 | Do Not Test |
| 100 µg/L vs. 50 µg/L | 120,000 | 7 | 0,0113 | 1,000 | Do Not Test |
| 50 µg/L vs. 150 µg/L | 640,000 | 7 | 0,0603 | 1,000 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Concentrations within 24 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|----------------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| 0 µg/L vs. 50 µg/L | 29893,333 | 7 | 2,817 | 0,429 | No |
| 0 µg/L vs. 100 µg/L | 29580,000 | 7 | 2,788 | 0,442 | Do Not Test |
| 0 µg/L vs. 30 µg/L | 29400,000 | 7 | 2,771 | 0,450 | Do Not Test |
| 0 µg/L vs. 150 µg/L | 29180,000 | 7 | 2,750 | 0,459 | Do Not Test |
| 0 µg/L vs. 10 µg/L | 23126,667 | 7 | 2,179 | 0,719 | Do Not Test |
| 0 µg/L vs. Témoin Algues | 100,000 | 7 | 0,00942 | 1,000 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 50 µg/L | 29793,333 | 7 | 2,808 | 0,433 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 29480,000 | 7 | 2,778 | 0,446 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 30 µg/L | 29300,000 | 7 | 2,761 | 0,454 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 150 µg/L | 29080,000 | 7 | 2,740 | 0,463 | Do Not Test |
| Témoin Algues vs. 10 µg/L | 23026,667 | 7 | 2,170 | 0,723 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 6766,667 | 7 | 0,638 | 0,999 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 6453,333 | 7 | 0,608 | 1,000 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 30 µg/L | 6273,333 | 7 | 0,591 | 1,000 | Do Not Test |
| 10 µg/L vs. 150 µg/L | 6053,333 | 7 | 0,570 | 1,000 | Do Not Test |
| 150 µg/L vs. 50 µg/L | 713,333 | 7 | 0,0672 | 1,000 | Do Not Test |
| 150 µg/L vs. 100 µg/L | 400,000 | 7 | 0,0377 | 1,000 | Do Not Test |
| 150 µg/L vs. 30 µg/L | 220,000 | 7 | 0,0207 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 50 µg/L | 493,333 | 7 | 0,0465 | 1,000 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 180,000 | 7 | 0,0170 | 1,000 | Do Not Test |
| 100 µg/L vs. 50 µg/L | 313,333 | 7 | 0,0295 | 1,000 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Concentrations within 48 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|---------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| 0 µg/L vs. 150 µg/L | 170946,667 | 7 | 16,110 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 100 µg/L | 170033,333 | 7 | 16,024 | <0,001 | Yes |

| | | | | | |
|----------------------------|------------|---|--------|--------|-------------|
| 0 µg/L vs. 50 µg/L | 164153,333 | 7 | 15,470 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 30 µg/L | 136800,000 | 7 | 12,892 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 10 µg/L | 60793,333 | 7 | 5,729 | 0,002 | Yes |
| 0 µg/L vs. Témoin Algues | 37580,000 | 7 | 3,542 | 0,174 | No |
| Témoin Algues vs. 150 µg/L | 133366,667 | 7 | 12,568 | <0,001 | Yes |
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 132453,333 | 7 | 12,482 | <0,001 | Yes |
| Témoin Algues vs. 50 µg/L | 126573,333 | 7 | 11,928 | <0,001 | Yes |
| Témoin Algues vs. 30 µg/L | 99220,000 | 7 | 9,350 | <0,001 | Yes |
| Témoin Algues vs. 10 µg/L | 23213,333 | 7 | 2,188 | 0,716 | No |
| 10 µg/L vs. 150 µg/L | 110153,333 | 7 | 10,381 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 109240,000 | 7 | 10,295 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 103360,000 | 7 | 9,741 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. 30 µg/L | 76006,667 | 7 | 7,163 | <0,001 | Yes |
| 30 µg/L vs. 150 µg/L | 34146,667 | 7 | 3,218 | 0,271 | No |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 33233,333 | 7 | 3,132 | 0,301 | Do Not Test |
| 30 µg/L vs. 50 µg/L | 27353,333 | 7 | 2,578 | 0,538 | Do Not Test |
| 50 µg/L vs. 150 µg/L | 6793,333 | 7 | 0,640 | 0,999 | Do Not Test |
| 50 µg/L vs. 100 µg/L | 5880,000 | 7 | 0,554 | 1,000 | Do Not Test |
| 100 µg/L vs. 150 µg/L | 913,333 | 7 | 0,0861 | 1,000 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Concentrations within 72 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|----------------------------|---------------|---|--------|--------|---------|
| 0 µg/L vs. 150 µg/L | 247813,333 | 7 | 23,354 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 100 µg/L | 246986,667 | 7 | 23,276 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 50 µg/L | 242706,667 | 7 | 22,873 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 30 µg/L | 103800,000 | 7 | 9,782 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. Témoin Algues | 65666,667 | 7 | 6,188 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 10 µg/L | 36013,333 | 7 | 3,394 | 0,214 | No |
| 10 µg/L vs. 150 µg/L | 211800,000 | 7 | 19,960 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 210973,333 | 7 | 19,882 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 206693,333 | 7 | 19,479 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. 30 µg/L | 67786,667 | 7 | 6,388 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. Témoin Algues | 29653,333 | 7 | 2,795 | 0,439 | No |
| Témoin Algues vs. 150 µg/L | 182146,667 | 7 | 17,165 | <0,001 | Yes |
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 181320,000 | 7 | 17,088 | <0,001 | Yes |
| Témoin Algues vs. 50 µg/L | 177040,000 | 7 | 16,684 | <0,001 | Yes |

| | | | | | |
|---------------------------|------------|---|--------|--------|-------------|
| Témoin Algues vs. 30 µg/L | 38133,333 | 7 | 3,594 | 0,161 | No |
| 30 µg/L vs. 150 µg/L | 144013,333 | 7 | 13,572 | <0,001 | Yes |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 143186,667 | 7 | 13,494 | <0,001 | Yes |
| 30 µg/L vs. 50 µg/L | 138906,667 | 7 | 13,091 | <0,001 | Yes |
| 50 µg/L vs. 150 µg/L | 5106,667 | 7 | 0,481 | 1,000 | No |
| 50 µg/L vs. 100 µg/L | 4280,000 | 7 | 0,403 | 1,000 | Do Not Test |
| 100 µg/L vs. 150 µg/L | 826,667 | 7 | 0,0779 | 1,000 | Do Not Test |

Comparisons for factor: **Concentrations within 96 h**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|----------------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| 0 µg/L vs. 150 µg/L | 297973,333 | 7 | 28,081 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 100 µg/L | 295306,667 | 7 | 27,830 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 50 µg/L | 221853,333 | 7 | 20,907 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. 30 µg/L | 101720,000 | 7 | 9,586 | <0,001 | Yes |
| 0 µg/L vs. Témoin Algues | 50666,667 | 7 | 4,775 | 0,020 | Yes |
| 0 µg/L vs. 10 µg/L | 32453,333 | 7 | 3,058 | 0,329 | No |
| 10 µg/L vs. 150 µg/L | 265520,000 | 7 | 25,023 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. 100 µg/L | 262853,333 | 7 | 24,771 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. 50 µg/L | 189400,000 | 7 | 17,849 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. 30 µg/L | 69266,667 | 7 | 6,528 | <0,001 | Yes |
| 10 µg/L vs. Témoin Algues | 18213,333 | 7 | 1,716 | 0,887 | No |
| Témoin Algues vs. 150 µg/L | 247306,667 | 7 | 23,306 | <0,001 | Yes |
| Témoin Algues vs. 100 µg/L | 244640,000 | 7 | 23,055 | <0,001 | Yes |
| Témoin Algues vs. 50 µg/L | 171186,667 | 7 | 16,133 | <0,001 | Yes |
| Témoin Algues vs. 30 µg/L | 51053,333 | 7 | 4,811 | 0,018 | Yes |
| 30 µg/L vs. 150 µg/L | 196253,333 | 7 | 18,495 | <0,001 | Yes |
| 30 µg/L vs. 100 µg/L | 193586,667 | 7 | 18,244 | <0,001 | Yes |
| 30 µg/L vs. 50 µg/L | 120133,333 | 7 | 11,321 | <0,001 | Yes |
| 50 µg/L vs. 150 µg/L | 76120,000 | 7 | 7,174 | <0,001 | Yes |
| 50 µg/L vs. 100 µg/L | 73453,333 | 7 | 6,922 | <0,001 | Yes |
| 100 µg/L vs. 150 µg/L | 2666,667 | 7 | 0,251 | 1,000 | No |

ANNEXE X

Two Way Analysis of Variance

Dependent Variable: Densité cellulaire à t = 0 h

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0,543)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0,432)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|----------------------------|----|---------------|-------------|-------|-------|
| Concentrations | 5 | 43530755,556 | 8706151,111 | 1,559 | 0,210 |
| Condition | 1 | 4438044,444 | 4438044,444 | 0,795 | 0,382 |
| Concentrations x Condition | 5 | 11792622,222 | 2358524,444 | 0,422 | 0,829 |
| Residual | 24 | 134048800,000 | 5585366,667 | | |
| Total | 35 | 193810222,222 | 5537434,921 | | |

Dependent Variable: Densité cellulaire à t = 24 h

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0,050)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0,491)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|----------------------------|----|-----------------|----------------|---------|--------|
| Concentrations | 5 | 5494339688,889 | 1098867937,778 | 69,988 | <0,001 |
| Condition | 1 | 6569642844,444 | 6569642844,444 | 418,425 | <0,001 |
| Concentrations x Condition | 5 | 1664568222,222 | 332913644,444 | 21,204 | <0,001 |
| Residual | 24 | 376820800,000 | 15700866,667 | | |
| Total | 35 | 14105371555,556 | 403010615,873 | | |

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Condition**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|--------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 27017,778 | 2 | 28,928 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within Témoin Algues**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 21866,667 | 2 | 9,558 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 10 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|--------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 43980,000 | 2 | 19,224 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 30 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|--------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 33660,000 | 2 | 14,713 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 50 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|--------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 39706,667 | 2 | 17,357 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 100 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 18706,667 | 2 | 8,177 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 150 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 4186,667 | 2 | 1,830 | 0,208 | No |

Dependent Variable: Densité cellulaire à t = 48 h

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0,050)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0,625)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|----------------------------|----|------------------|-----------------|--------|--------|
| Concentrations | 5 | 66699017922,222 | 13339803584,444 | 37,878 | <0,001 |
| Condition | 1 | 18709680277,778 | 18709680277,778 | 53,126 | <0,001 |
| Concentrations x Condition | 5 | 13091315788,889 | 2618263157,778 | 7,434 | <0,001 |
| Residual | 24 | 8452273866,667 | 352178077,778 | | |
| Total | 35 | 106952287855,556 | 3055779653,016 | | |

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Condition**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|--------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 45594,444 | 2 | 10,308 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within Témoin Algues**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| SRHA vs. sans SRHA | 17233,333 | 2 | 1,591 | 0,272 | No |

Comparisons for factor: **Condition within 10 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 30180,000 | 2 | 2,785 | 0,061 | No |

Comparisons for factor: **Condition within 30 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 78373,333 | 2 | 7,233 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 50 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 90873,333 | 2 | 8,387 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 100 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 72313,333 | 2 | 6,674 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 150 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 19060,000 | 2 | 1,759 | 0,226 | No |

Dependent Variable: Densité cellulaire à t = 72 h

Normality Test (Shapiro-Wilk): Failed (P < 0,050)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0,529)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|----------------------------|----|------------------|-----------------|--------|--------|
| Concentrations | 5 | 145955417955,556 | 29191083591,111 | 27,677 | <0,001 |
| Condition | 1 | 20678440000,000 | 20678440000,000 | 19,606 | <0,001 |
| Concentrations x Condition | 5 | 33748140800,000 | 6749628160,000 | 6,400 | <0,001 |
| Residual | 24 | 25312726400,000 | 1054696933,333 | | |
| Total | 35 | 225694725155,556 | 6448420718,730 | | |

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Condition**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 47933,333 | 2 | 6,262 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within Témoin Algues**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| SRHA vs. sans SRHA | 22560,000 | 2 | 1,203 | 0,403 | No |

Comparisons for factor: **Condition within 10 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| SRHA vs. sans SRHA | 23480,000 | 2 | 1,252 | 0,385 | No |

Comparisons for factor: **Condition within 30 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| sans SRHA vs. SRHA | 24906,667 | 2 | 1,328 | 0,357 | No |

Comparisons for factor: **Condition within 50 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| sans SRHA vs. SRHA | 131280,000 | 2 | 7,002 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 100 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| sans SRHA vs. SRHA | 117226,667 | 2 | 6,252 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 150 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| sans SRHA vs. SRHA | 60226,667 | 2 | 3,212 | 0,033 | Yes |

Dependent Variable: Densité cellulaire à t = 96 h

Normality Test (Shapiro-Wilk): Passed (P = 0,080)

Equal Variance Test (Brown-Forsythe): Passed (P = 0,584)

| Source of Variation | DF | SS | MS | F | P |
|----------------------------|----|------------------|-----------------|--------|--------|
| Concentrations | 5 | 171568580088,889 | 34313716017,778 | 31,918 | <0,001 |
| Condition | 1 | 13502440000,000 | 13502440000,000 | 12,560 | 0,002 |
| Concentrations x Condition | 5 | 61517589866,667 | 12303517973,333 | 11,445 | <0,001 |
| Residual | 24 | 25801421866,667 | 1075059244,444 | | |
| Total | 35 | 272390031822,222 | 7782572337,778 | | |

All Pairwise Multiple Comparison Procedures (Tukey Test):

Comparisons for factor: **Condition**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 38733,333 | 2 | 5,012 | 0,002 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within Témoin Algues**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| SRHA vs. sans SRHA | 59400,000 | 2 | 3,138 | 0,036 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 10 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| SRHA vs. sans SRHA | 50546,667 | 2 | 2,670 | 0,071 | No |

Comparisons for factor: **Condition within 30 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| SRHA vs. sans SRHA | 6613,333 | 2 | 0,349 | 0,807 | No |

Comparisons for factor: **Condition within 50 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|-------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 70320,000 | 2 | 3,715 | 0,015 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 100 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|---------------|---|-------|--------|---------|
| sans SRHA vs. SRHA | 147106,667 | 2 | 7,771 | <0,001 | Yes |

Comparisons for factor: **Condition within 150 µg/L**

| Comparison | Diff of Means | p | q | P | P<0,050 |
|--------------------|----------------------|----------|----------|----------|-------------------|
| sans SRHA vs. SRHA | 131533,333 | 2 | 6,948 | <0,001 | Yes |