

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC

Thèse de doctorat

présentée

à

l'Institut national de la recherche scientifique

INRS-Eau

par

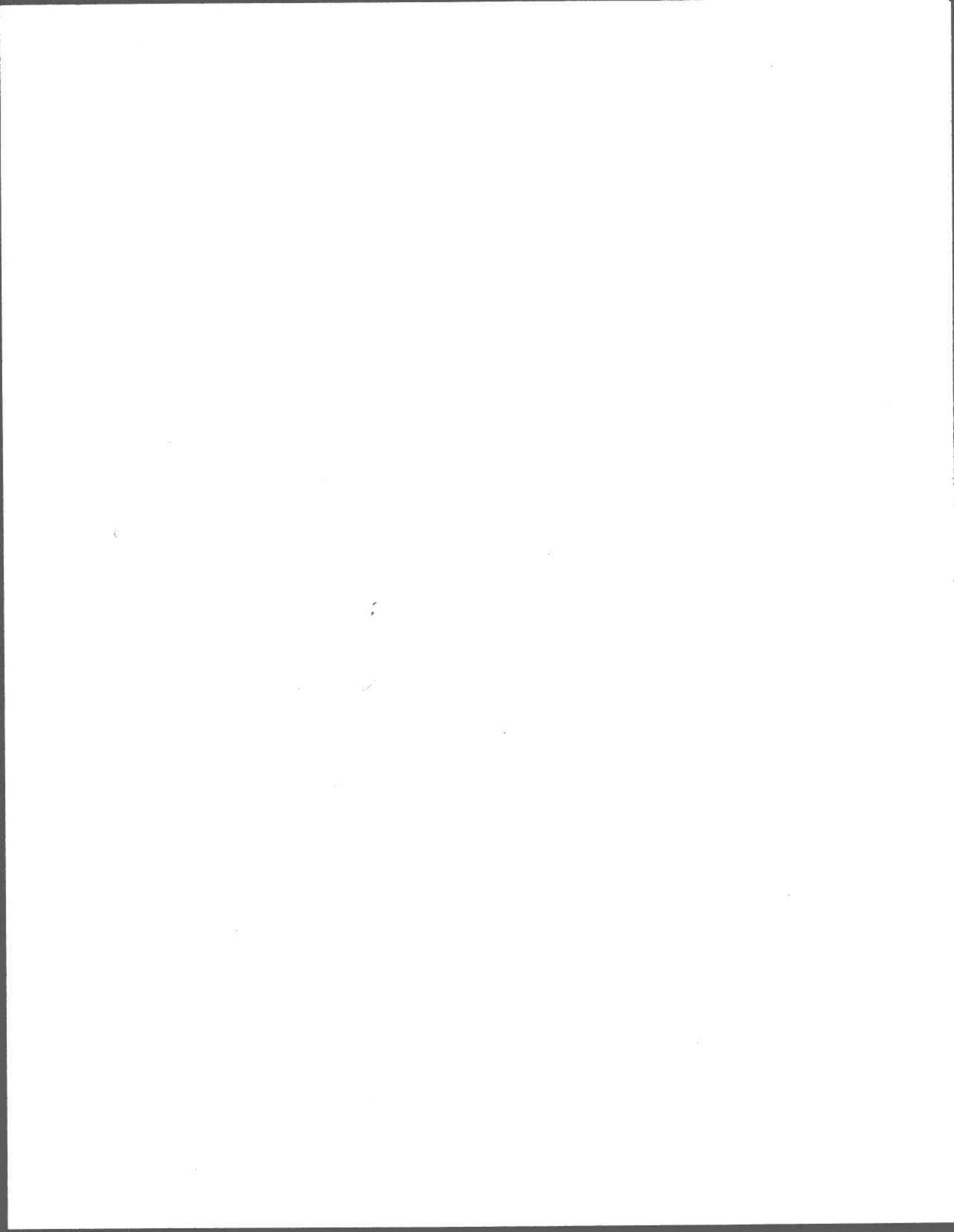
Lise Parent

B. Sc. Biologiques

Maîtrise en Sc. de l'Environnement

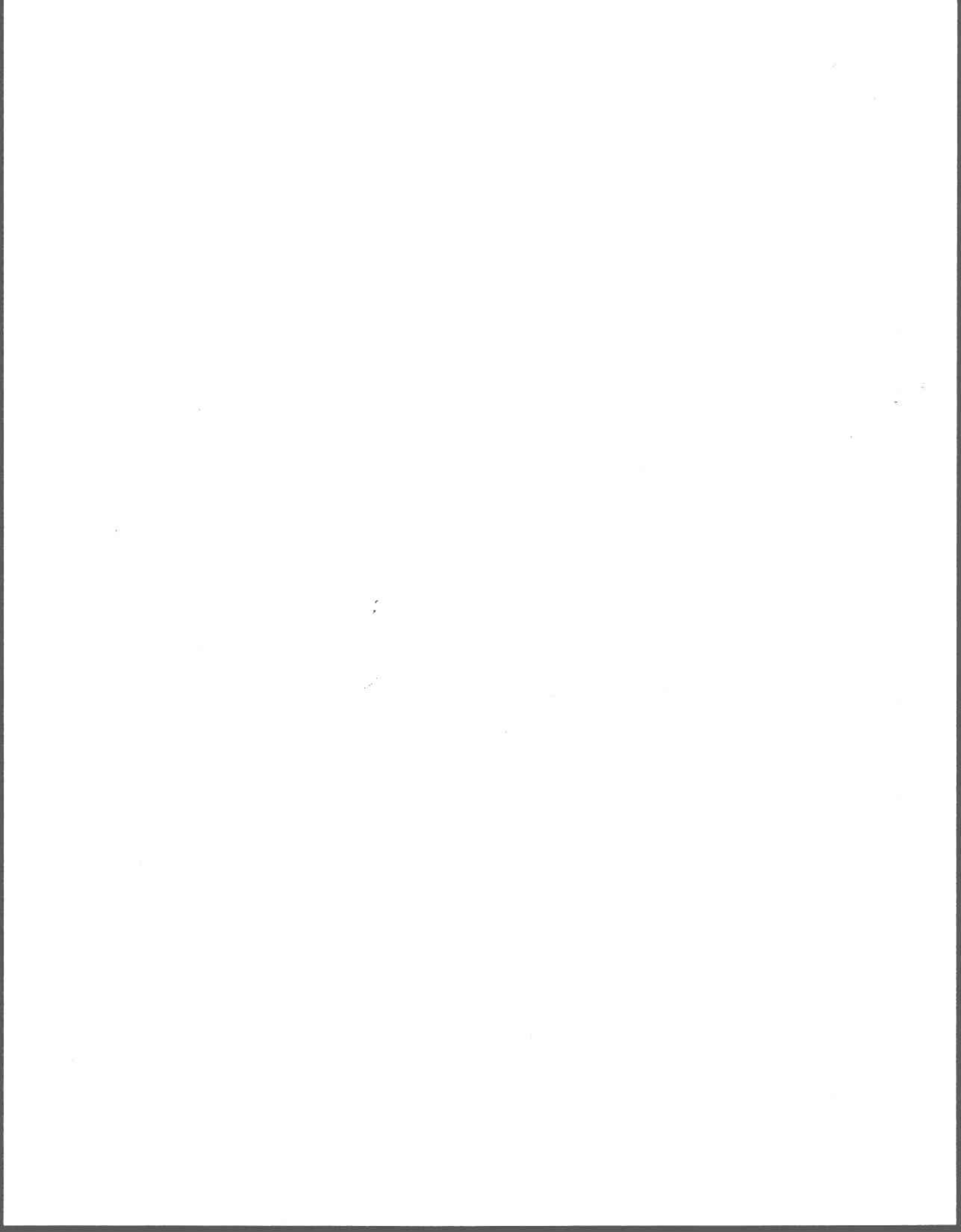
"Biodisponibilité de l'aluminium dans les  
eaux douces en relation avec les pluies acides"

Décembre 1991



Hors l'amour, les jeunes gens  
ne sont que des pantins animés  
par des aspirations dérisoires.  
Hors l'amour, ils mènent une  
vie en trompe l'oeil.

Alexandre Jardin

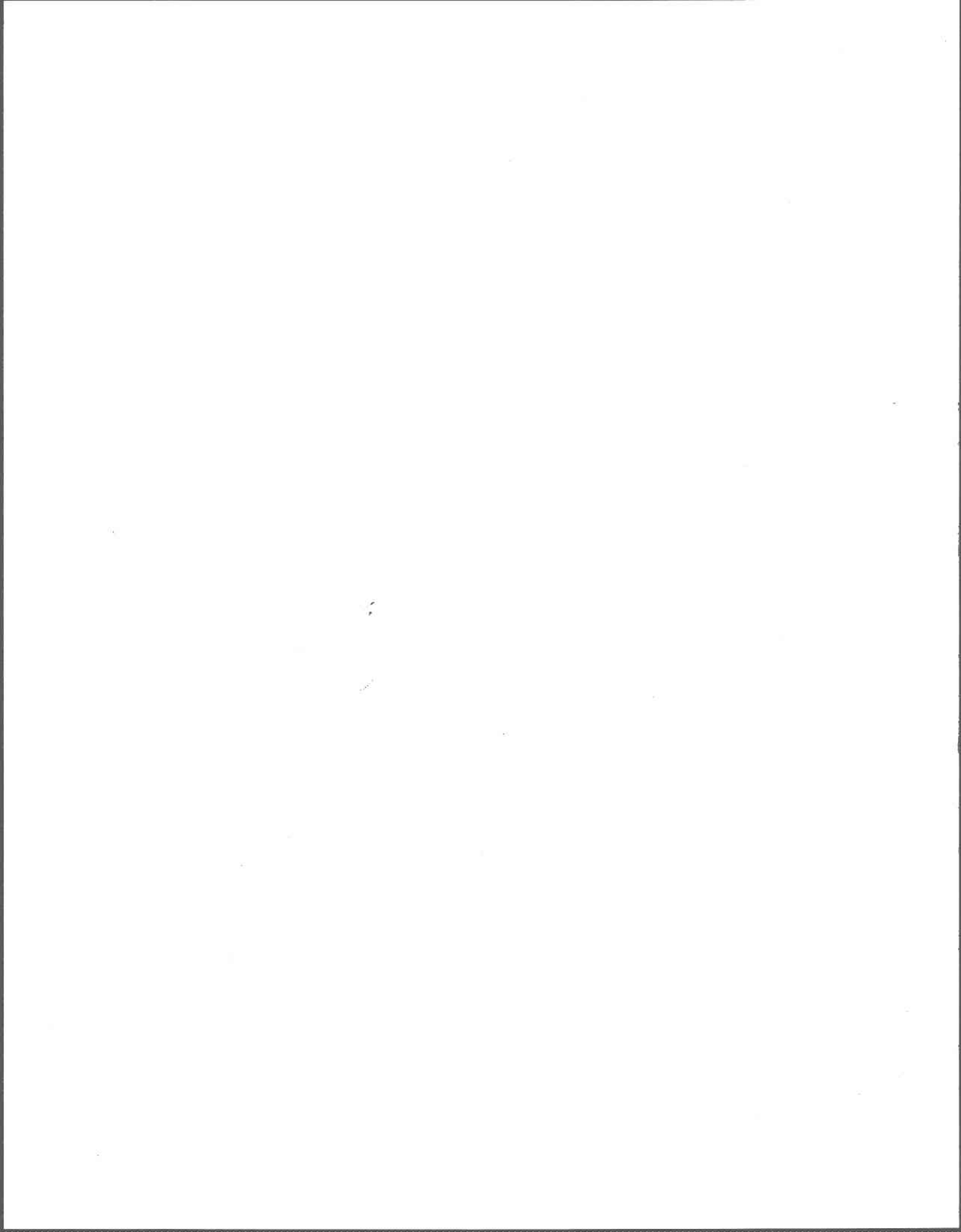


## REMERCIEMENTS

Tout d'abord je tiens à remercier les membres du jury qui ont bien voulu apporter leurs critiques tout autant constructives les unes que les autres. Je veux aussi exprimer toute ma gratitude à mon directeur de thèse, le docteur Peter G. C. Campbell, pour sa patience et sa facilité de conciliation avec mes points de vue qui plus souvent qu'autrement divergeaient à prime abord avec les siens.

Je ne peux non plus passer sous silence, la contribution inestimable des techniciens dont Michèle Bordeleau et Bernard Veilleux sous la supervision de Sylvie Desjardins, qui dans un sprint final m'ont aidée à conclure cette thèse par des expériences complémentaires qui n'étaient pas faciles à réaliser. Mes étudiants d'été, Kevin Wilkinson, Michel Desjardins et Albert Craig, dont deux ont opté pour le programme de doctorat à l'INRS-eau, m'ont aussi aidée à persévérer dans l'élaboration de la méthodologie.

Je dois de plus remercier mes collègues qui depuis le début ont partagé avec moi ce que j'ai nommé les fameuses angoisses doctorales. Un gros merci à Daniel Houle pour m'avoir servi de contact permanent à l'INRS-eau ainsi que de m'avoir fourni le gîte lors de la phase terminale du doctorat. Je ne peux non plus déposer cette thèse sans remercier du fond du coeur ma famille, et plus particulièrement ma lectrice: ma mère Denise, pour leurs encouragements et leurs soutiens constants.



## RÉSUMÉ

Le sujet de la thèse porte sur la biodisponibilité de l'aluminium dans les eaux douces en relation avec les pluies acides. Il s'insère dans la problématique de la mobilisation géochimique de certains métaux qui se produit en même temps que l'acidification des eaux de surface. Le but général de ce programme de recherche est de relier la spéciation de l'aluminium à sa biodisponibilité en utilisant une algue unicellulaire (Chlorella pyrenoidosa) en milieu de culture défini.

Les objectifs plus spécifiques sont:

- 1 - de vérifier la capacité du "modèle d'ion libre", où la réponse biologique à un métal (M) est fonction de la concentration de l'ion libre  $[M^{2+}]$ , pour expliquer la bioaccumulation et la toxicité de l'aluminium;
- 2 - de tester l'amélioration possible du modèle, en évaluant la part des formes d'aluminium monomère inorganique, polymère et organique à l'origine de la toxicité, et en ajoutant le concept de compétition  $H^+/Al^{3+}$  au niveau de la membrane;
- 3 - d'évaluer la capacité du modèle révisé à prédire la biodisponibilité de l'aluminium dans les eaux naturelles, notamment en présence de matière organique dissoute d'origine naturelle.

Etant donné qu'en milieu acide, l'influence du pH se joue sur deux niveaux, soit la spéciation du métal en solution et la sensibilité biologique au niveau de la surface cellulaire, et que ces deux réponses à l'acidification sont antagonistes et ont le potentiel de s'annuler l'une l'autre, on a évalué les effets du pH sur les interactions métaux-surface algale selon trois approches:

- 1- Par titrage des algues, afin de quantifier les ligands (L) disponibles à la surface cellulaire à différents pH et ainsi mesurer l'importance des interactions entre les ions  $H^+$  et la surface cellulaire.
- 2- Par incubation des algues à des pH variant de 7 à 5, en présence d'un métal (Mn) dont la spéciation ne change pas en fonction du pH, ce qui a permis de vérifier que les ions  $H^+$  diminuaient la prise en charge d'un métal.
- 3- Par des mesures de perméabilité membranaire, à des pH variant de 7 à 5, et en présence/absence de l'Al, qui ont mis en évidence la sensibilité de la barrière membranaire à l'acidification.

Ces trois approches nous ont permis de conclure que la disponibilité des sites cellulaires ayant le potentiel de lier l'Al diminuait à bas pH, même si le pH à lui seul (pH 7.0-->4.3)

n'affectait pas significativement la croissance de Chlorella pyrenoidosa.

Trois formes d'aluminium ont été testées pour connaître leur potentiel de toxicité.

1-) L'aluminium monomère inorganique, pour vérifier si le modèle d'ion libre ( $M^{2+}$ ) pouvait expliquer les résultats obtenus dans un système simple (exempt de ligands organiques ou de formes polynucléaires).

2-) L'aluminium polymère,  $Al_{13}O_4(OH)_{24}^{7+}$ , puisque dans la littérature on peut trouver des indications tout à fait contradictoires concernant la toxicité de cette forme métastable vis-à-vis des producteurs primaires. De plus, considérant la possibilité de sa présence dans des milieux en récupération (augmentation du pH après acidification naturelle ou artificielle), il nous semblait important de connaître le potentiel toxique de cette forme.

3-) L'aluminium organique, Al-acide fulvique, puisque même si les effets qualitatifs de la matière organique sur la toxicité des métaux sont assez bien connus, rares sont les expériences où on a vérifié quantitativement si le modèle de l'ion libre s'appliquait en présence de la matière organique naturelle.

Pour mesurer la sévérité de la réponse résultant de l'exposition à l'Al, on a produit des graphiques mettant en relation la concentration de l'Al et la réponse observée, soit le % de croissance par rapport au témoin. De cette façon, on a pu observer un effet de gamme important, mais qui variait aussi avec le pH.

Ainsi, on a pu démontrer une toxicité significative, surtout à la concentration en aluminium monomère inorganique maximale, pour chacun des pH testés. De plus, pour une concentration donnée de l'ion libre,  $Al^{3+}$ , cette toxicité augmentait avec le pH. La droite résultante de la régression linéaire du pourcentage d'inhibition de croissance en fonction de la concentration en Al monomère inorganique devenait de plus en plus plane à faible pH, ce qui nous suggère qu'il y avait compétition ionique entre les cations Al et  $H^+$ . La même relation a été observée pour les tests avec l'aluminium polymère, alors que cette dernière forme a toujours été considérée, jusqu'à tout récemment (1990), comme étant non toxique. Plus surprenant encore furent les résultats des effets de l'aluminium organique sur la croissance de Chlorella pyrenoidosa en présence d'aluminium monomère inorganique. En effet les différentes expériences portant sur l'effet de l'Al organique (en présence d'une concentration constante d'Al inorganique) sur la



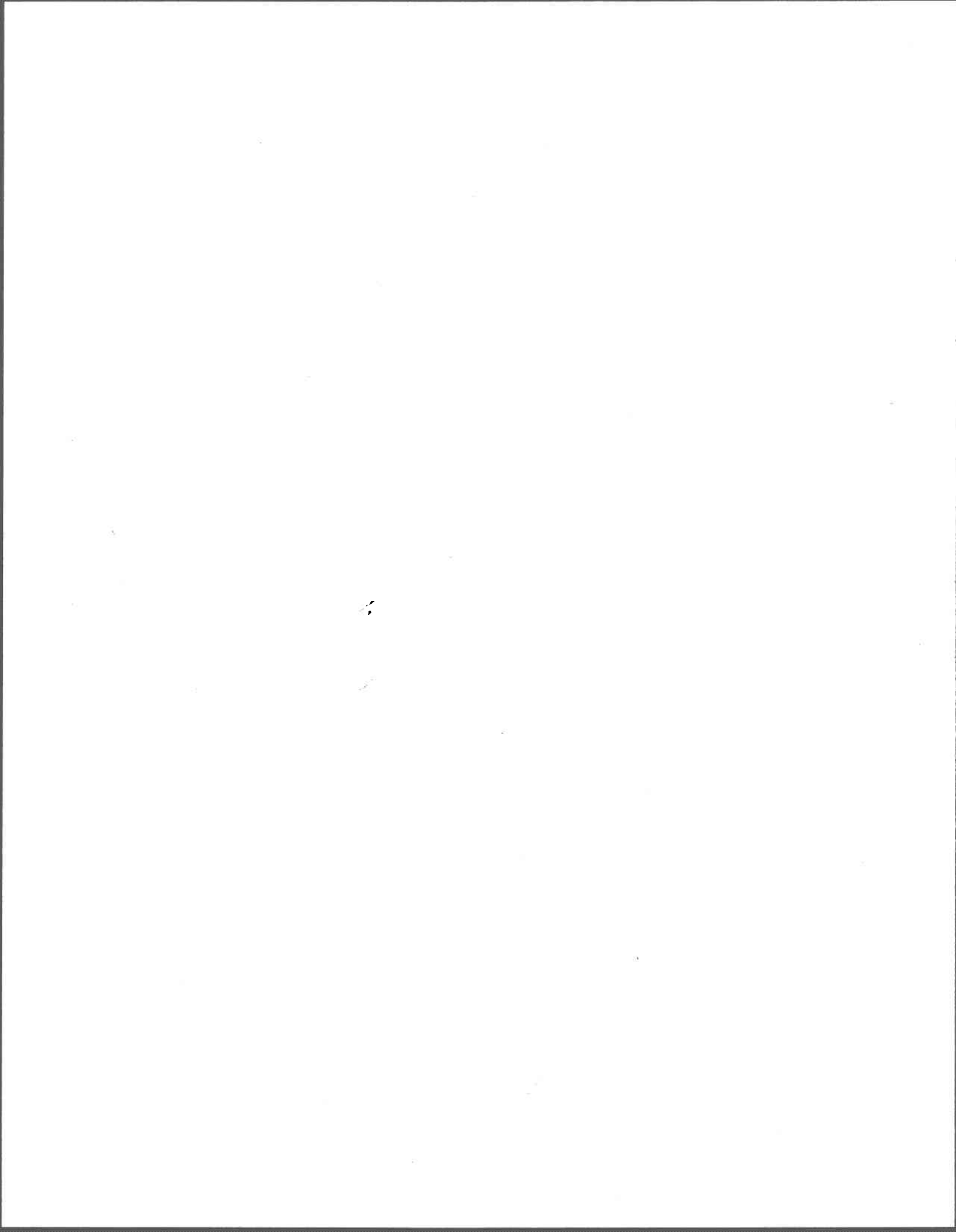
croissance de Chlorella pyrenoidosa ont montré un effet inhibiteur des effets dus à  $\text{Al}_{\text{inorganique}}$  menant à une amélioration de la croissance qui ne pouvait être expliquée en termes conventionnels (complexation de l'Al en solution et baisse de la  $[\text{Al}^{3+}]$ ).

Nous avons observé que la toxicité de l'aluminium due aux formes monomères et polymères était supérieure aux pH plus élevés. Nous avons associé cette toxicité accrue à une augmentation de la perméabilité membranaire à pH plus élevé et à une compétition moins intense entre les cations  $\text{H}^+$  et  $\text{l'Al(OH)}_{\text{n}}^{(3-\text{n})+}$  pour les sites accepteurs présents à la surface cellulaire. Nous avons évalué si la toxicité de l'aluminium pouvait être expliquée en partie ou en totalité par sa prise en charge, par son flux cellulaire, par son effet sur la perméabilité membranaire, par ses interactions possibles avec les réserves en phosphore intracellulaire et par ses effets indirects sur la division cellulaire (surface et volume cellulaire).

L'influence des ions hydrogène se faisait sentir à tous les niveaux étudiés. Cependant, après avoir tenu compte de l'effet du pH sur la concentration en  $[\text{Al}^{3+}]$  disponible et sur les ligands cellulaires  $[\text{L}^-]$  libres, on observe toujours un effet résiduel du pH, de quoi soupçonner la sous-évaluation des effets du pH sur l'intégrité et le métabolisme membranaire. De fait, contrairement à ce que laisserait supposer le modèle d'ion libre, l'évaluation seule de  $[\text{Al}^{3+}]$  et de  $[\text{L}^-]_{\text{libre}}$  ne suffit pas à expliquer la tendance observée. Des mécanismes de toxicité différents sont suggérés pour les trois formes d'aluminium testées.

Les conclusions suivantes découlent de cette recherche:

- 1) Le pH est le paramètre primordial à considérer lorsqu'on évalue la toxicité de l'aluminium. Ainsi, plus le pH est élevé (pH 4.0 ---> 6.0) plus l'aluminium est toxique et ce à des concentrations retrouvées en milieu naturel.
- 2) La concentration en  $\text{Al}^{3+}$  nécessaire à inhiber 30% la croissance de Chlorella pyrenoidosa peut s'exprimer de la façon suivante:  
 $-\log [\text{Al}^{3+}] = 1.77 \text{ pH} - 9.09$
- 3) Le quota cellulaire provoquant (ou résultant de) l'inhibition de croissance de 30% est de l'ordre de  $20 \mu\text{mol} \cdot \text{m}^{-2}$  d'Al, exprimé par rapport à la surface algale.
- 4) L'aluminium polymère a une toxicité additive sur l'aluminium monomère inorganique de l'ordre de 50% de celle de l'aluminium monomère.
- 5) En présence d'acide fulvique et pour une même  $[\text{Al}^{3+}]$ , la toxicité est diminuée. Cette observation constitue un échec majeur du modèle de l'ion libre et remet en cause son applicabilité dans le milieu naturel.



## TABLE DES MATIERES

	Page
REMERCIEMENTS	i
RÉSUMÉ	ii
TABLE DES MATIÈRES	v
LISTE DES TABLEAUX	xiv
LISTE DES FIGURES	xviii
CHAPITRE 1: INTRODUCTION	1
CHAPITRE 2: MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE	74
CHAPITRE 3: ETUDE DES EFFETS DU pH SUR LA CROISSANCE DE <u>CHLORELLA PYRENOIDOSA</u>	105
CHAPITRE 4: EFFETS DU pH SUR LES INTERACTIONS MÉTAUX-SURFACE ALGALE	185
CHAPITRE 5: TOXICITÉ DE L'ALUMINIUM EN RELATION AVEC SA SPÉCIATION	249
CHAPITRE 6: BIODISPONIBILITÉ DE L'ALUMINIUM POUR <u>CHLORELLA PYRENOIDOSA</u> EN RELATION AVEC LE pH	323
CHAPITRE 7: SYNTHÈSE ET CONCLUSION	429

CHAPITRE 1: INTRODUCTION ET PROBLÉMATIQUE

	Page
1.1 Introduction générale et objectifs.....	3
1.2 Problématique spécifique.....	6
1.2.1 Interaction $M^{2+}$ /organisme: "modèle d'ion libre"....	6
1.2.2 Interaction $H^+/M^{2+}$ /organisme.....	11
1.2.2.1 Prise en charge des métaux vs pH.....	16
1.2.2.2 Toxicité des métaux vs pH.....	21
1.3 État des connaissances.....	22
1.3.1 Géochimie de l'aluminium.....	23
1.3.2 Toxicité de l'aluminium.....	29
1.3.2.1 Revue des effets toxiques attribués à l'aluminium chez les plantes.....	30
1.3.2.2 Facteurs influençant la toxicité de l'aluminium.....	37
1.4 Concept et démarche expérimentale.....	48
1.4.1 Le modèle d'ion libre et son application au cas de l'aluminium.....	48
1.4.2 Examen détaillé et approfondi des cas d'exception apparents (algues).....	52
1.5 Références.....	61

## CHAPITRE 2 : MÉTHODOLOGIE GÉNÉRALE

	Page
2.1 Approche générale.....	76
2.1.1 Spéciation de l'aluminium.....	76
2.1.2 Biodisponibilité de l'aluminium.....	77
2.2 Analyses.....	79
2.2.1 Généralités analytiques.....	79
2.2.2 Spéciation de l'aluminium.....	81
2.2.3 Analyse de l'aluminium et du manganèse.....	84
2.2.4 Digestion des algues.....	90
2.2.5 Analyse du phosphore.....	91
2.2.6 Analyse du carbone organique dissous.....	93
2.3 Organisme et conditions de croissance.....	94
2.4 Milieu d'exposition pour (AAP-P-MT, tampon 0.01 M).....	96
2.5 Protocole expérimental.....	97
2.5.1 Mesure de la croissance.....	97
2.5.2 Mesure de la prise en charge des métaux.....	99
2.6 Références.....	102

CHAPITRE 3:      EFFET DU pH SUR LA CROISSANCE DE CHLORELLA  
PYRENOIDOSA

	Page
3.1 Introduction.....	108
3.2 Matériel et méthodes.....	112
3.2.1 Conditions de croissance.....	112
3.2.2 Conditions expérimentales.....	114
3.2.3 Protocole expérimental.....	116
3.3 Mise au point du milieu d'exposition.....	118
3.3.1 Utilisation de tampons biologiques.....	118
3.3.2 Discussion.....	128
3.4 Sélection du paramètre de croissance.....	130
3.4.1 Biomasse finale (cellules·mL <sup>-1</sup> ).....	134
3.4.2 Taux de croissance moyen ( $\mu$ -moyen).....	138
3.4.3 Taux de croissance maximal ( $\mu$ -max).....	139
3.4.4 Aire sous la courbe de croissance (A).....	141
3.4.5 Superficie (m <sup>2</sup> ) et volume cellulaire (m <sup>3</sup> ).....	143
3.4.6 Conclusion.....	147
3.5 Effet du pH sur la croissance de <u>Chlorella pyrenoidosa</u> ..	148
3.6 Références.....	150

ANNEXE 3.A:Mise au point du milieu expérimental.....	154
A.A Milieu AAP; pH 5 (NaOAc); pH 6 (MES); pH 7 (PIPES) (0.01M);.....	157
A.B Milieu AAP-T-MT; pH 5, 5.5, 6, 7;.....	160
A.C Milieu AAP-P-MT; pH 5 (NaOAc); pH 5.5, 6 (MES); pH 7 (PIPES) (0.001M);.....	163
A.D Milieu AAP-P-MT; pH 5 (NaOAc); pH 5.5, 6 (MES); pH 7 (PIPES) (0.01M);.....	165
A.E Milieu AAP-P-MT; pH 5, 5.5, 6 (MES); pH 7 (PIPES) (0.01M);.....	169
A.F Milieu AAP-P-MT; pH 4, 4.5 (MES, NaOAc); pH 5, 5.5, 6 (MES); pH (PIPES); (0.01 M);.....	171
A.G Milieu AAP-P-MT; pH 5, 5.5, 6 (MES); pH 7 (PIPES; HEPES); (0.01M);.....	174
A.H Milieu AAP-P-MT; pH 4, 4.5 (MES, DMGA); (0.01 M);..	177
A.I Milieu AAP-P-TM; pH 4, 4.5 (DMGA); (0.01 M);.....	180
Références.....	183

CHAPITRE 4: EFFETS DU pH SUR LES INTERACTIONS MÉTAUX/SURFACE ALGALE

	Page
4.1 Introduction.....	187
4.2 Titrage des algues.....	192
4.2.1 Introduction.....	192
4.2.2 Matériel et méthodes.....	196
4.2.3 Résultats.....	199
4.2.4 Discussion.....	211
4.3 Effet du pH sur l'adsorption du Mn.....	219
4.3.1 Introduction.....	219
4.3.2 Matériel et méthodes.....	220
4.3.3 Résultats.....	225
4.3.4 Discussion.....	229
4.4 Effet du pH sur la perméabilité membranaire.....	236
4.4.1 Introduction.....	236
4.4.2 Matériel et méthodes.....	239
4.4.3 Résultats.....	240
4.4.4 Discussion.....	243
4.5 Conclusion.....	244
4.6 Références.....	246