

Université de Montréal

Évaluation des rejets de phosphore dans l'eau douce  
d'aquaculture en utilisant la technique des gradients diffusifs  
en couches minces (DGT)

par

Catherine Pichette

Département de Chimie

Faculté des Arts et Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des Études Supérieures  
en vue de l'obtention du grade de Maîtrise en Chimie

décembre, 2006

©Catherine Pichette, 2006



dD  
3  
U54  
2007  
V-013

## AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

## NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal

Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé :

Évaluation des rejets de phosphore dans l'eau douce  
d'aquaculture en utilisant la technique des gradients diffusifs  
en couches minces (DGT)

présenté par :

Catherine Pichette

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Marius D'Amboise

Président-rapporteur

Sébastien Sauvé

Directeur de recherche

Kevin James Wilkinson

Membre du jury

**Mots clés**

Phosphore; Phosphate; DGT; eau d'aquaculture; mesure «in situ».

## Résumé du mémoire

Dans la province de Québec, un nouveau programme volontaire pour la prévention des rejets excessifs de phosphore dans l'environnement est présentement en cours d'instauration. Les piscicultures doivent réduire leurs rejets annuels de phosphore estimés de 7.2 kg P / tonne de poissons produits à 4.2 kg P / tonne de poissons produits.

Les concentrations en phosphore attendues aux effluents de piscicultures varient de 30 à 200  $\mu\text{g P/L}$  selon le volume d'exploitation de la pisciculture, la gestion et les caractéristiques de l'emplacement. Le phosphore se retrouve sous plusieurs formes dans les effluents de pisciculture soit les orthophosphates, le phosphate inorganique et le phosphore organique. Étant donné que les concentrations de P à un même emplacement varient aussi selon le temps et sont enclines aux variations journalières et nocturnes, le prélèvement par DGT présente un outil intéressant pour permettre un contrôle de la qualité de l'environnement qui intégrerait des variations horaires ou quotidiennes. Une des difficultés de cette approche est que le DGT absorbera le phosphore réactif tandis que les règlements sont basés sur les émissions totales.

Plusieurs déploiements de 1 à 21 jours ont été faits dans des piscicultures du Québec et de l'Angleterre. Lors des déploiements, il y a eu formation de biofilms à la surface des filtres des unités de DGT pour des déploiements dépassant 4 jours dû à la teneur élevée en matière en suspension dans l'eau de pisciculture. En saison estivale, ce problème est amplifié dû à la température élevée de l'eau puisqu'il y a croissance d'algues à la surface du filtre. Pour contrer ce problème, des métaux toxiques, cuivre et argent, ainsi que deux antibiotiques, le glutaraldéhyde et le chloramphénicol, ont été intégrés aux filtres pour agir comme agents antibiofilms. Leur efficacité a ensuite été testée au laboratoire et en pisciculture. Selon les résultats obtenus, le DGT s'avère être une bonne technique pour mesurer «in situ» le phosphore réactif. Afin de comparer et vérifier les résultats obtenus avec la méthode «in situ», une méthode d'analyse standard par fractionnement a été utilisée.

## Summary of the master's thesis

In the province of Quebec, a new voluntary program for the prevention of excessive releases of phosphorus into the environment is being put into place. That new program is based on an original environmental efficiency basis, whereas the fish farms have to reduce their annual P releases estimated at 7.2 kg P/ton down to 4.2 kg of P/ton of fish produced.

Phosphorus concentrations in fish farm effluents are expected to vary from 30 to 200  $\mu\text{g P/L}$  depending on fish farm volume, management and site characteristics. The phosphorus has several forms in the aquaculture water as orthophosphate, inorganic phosphate and organic phosphorus. Given that P concentrations at the same site also vary over time and are prone to diurnal and nocturnal variations, DGT sampling presents an interesting tool to allow an environmental monitoring that would integrate hourly or daily variations.

Several deployments from 1 to 21 days were made in fish farms of Quebec and the United Kingdom. At the time of the deployments, there was growth of biofilms on the surface of the filters of the DGT devices for a small deployment period due to the high concentrations of suspended matter and nutrients in the freshwater aquaculture farms visited. To counter this problem, two toxic metals, copper and silver, and two antibiotics, glutaraldehyde and chloramphenicol, were integrated into the filters to act as anti-biofilms agents. Their efficiency was then tested both in the laboratory and in situ in fish farms.

### Key words

Phosphorus; Phosphate; DGT; aquaculture freshwater; in situ measurement;

## Table des matières

<i>Page de titre</i> .....	<i>i</i>
<i>Identification du jury</i> .....	<i>ii</i>
<i>Résumé du mémoire</i> .....	<i>iii</i>
<i>Summary of the master's thesis</i> .....	<i>v</i>
<i>Table des matières</i> .....	<i>vi</i>
<i>Liste des tableaux</i> .....	<i>viii</i>
<b>1 Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>1.1 Théorie</b> .....	<b>2</b>
1.1.1 Spéciation du phosphore .....	2
1.1.2 Méthodes d'analyses de formes chimiques du phosphore dans l'eau .....	8
1.1.3 Biofilm et agents anti-biofilm .....	17
1.1.4 Piscicultures étudiées .....	18
<b>2 Article 1</b> .....	<b>20</b>
<b>2.1 Notes sur l'article rédigé</b> .....	<b>20</b>
<b>2.2 Preventing biofilm development on DGT devices using metals and antibiotics</b> .....	<b>21</b>
2.2.1 Abstract .....	21
2.2.2 Introduction .....	23
2.2.3 Experimental .....	26
2.2.4 Results and discussion .....	29
2.2.5 Conclusion .....	38
2.2.6 References .....	40
<b>3 Article 2</b> .....	<b>42</b>
<b>3.1 Notes sur l'article rédigé</b> .....	<b>42</b>
<b>3.2 Using Diffusive Gradients in Thin-Films for in situ monitoring of phosphorus emissions from freshwater aquaculture</b> .....	<b>43</b>
3.2.1 Abstract .....	43
3.2.2 Introduction .....	44
3.2.3 Methods .....	46
3.2.4 Results and discussion .....	49
3.2.5 Conclusion .....	57
3.2.6 References .....	59
<b>4 Conclusion générale du mémoire</b> .....	<b>60</b>



5	<i>Références</i> .....	62
6	<i>Annexe</i> .....	66

## Liste des tableaux

TABLE 1 PARAMETERS FOR THE EQUATIONS OF THE DGT TECHNIQUES .....	25
TABLE 2 MASS (MG) OF ALGAE ACCUMULATED ON THE FILTER MEMBRANES AFTER DEPLOYMENT IN THE TWO FISH FARMS TESTED .....	34
TABLE 3 CONCENTRATION OF REACTIVE PHOSPHORUS ( $\mu\text{G P / L}$ ) MEASURED WITH 3 DIFFERENT TYPES OF DGT DEVICES IN TWO FISHERIES AT QUÉBEC, CANADA. MEANS OF 3 REPLICATES ARE SHOWN WITH STANDARD DEVIATION.....	38

## Liste des figures

FIGURE 1 - COURBE DE DISTRIBUTION DES ESPÈCES DE L'ACIDE PHOSPHORIQUE EN FONCTION DU PH.....	4
FIGURE 2 - CYCLE DU PHOSPHORE.....	5
FIGURE 3- SÉPARATION DES FORMES DE PHOSPHORE PRÉSENTES DANS L'ENVIRONNEMENT.....	7
FIGURE 4 – SCHÉMA DU FRACTIONNEMENT DU PHOSPHORE.....	11
FIGURE 5 – REPRÉSENTATION DE L'UNITÉ DE DGT.....	12
FIGURE 6 – SCHÉMA DU PRINCIPE DU DGT.....	14
FIGURE 7 – REPRÉSENTATION SCHÉMATIQUE DES PROFILS DE CONCENTRATION À LA SURFACE DE LA RÉSINE POUR CAPTER LE $\text{PO}_4^{3-}$ EN PRÉSENCE DE $\text{PO}_4^{3-}$ -CP (A) LABILE, (B) TOTALEMENT INERTE, ET (C) PARTIELLEMENT LABILE.....	15
FIGURE 8 - DGT STATION SET-UP.....	29
FIGURE 9 - THE MASS OF P ACCUMULATED BY THE DGT DEVICES WHEN EXPOSED TO PHOSPHATE SOLUTIONS CONTAINING DIFFERENT CONCENTRATIONS OF $\text{NaNO}_3$ (A) AND $\text{NaCl}$ (B) AND SOLUTIONS AT DIFFERENT PH (C). BARS REPRESENT THE MEAN AND STANDARD DEVIATION OF 3 REPLICATES; MEANS FOLLOWED BY THE SAME LETTER ARE NOT STATISTICALLY DIFFERENT (TUKEY'S B POST HOC TEST $P > 0.05$ ). .....	32
FIGURE 10 - DGT DEVICES DEPLOYED FOR 20 D IN THE AQUARIUM WITH $100 \mu\text{g P L}^{-1}$ . DGT DEVICES WITH A) NORMAL CELLULOSE NITRATE MEMBRANES, B) NUCLEOPORE MEMBRANES, C) CELLULOSE NITRATE MEMBRANES CONTAINING SILVER IODIDE, D) CELLULOSE NITRATE MEMBRANES CONTAINING COPPER IODIDE.....	33
FIGURE 11 - GROWTH OF ALGAE ON FILTER MEMBRANE AFTER DEPLOYMENT IN FISH FARMS. A) DEPLOYMENT IN BENTHAM TROUT FARM B) DEPLOYMENT IN BANK HOUSE. ....	35
FIGURE 12 – ADHESION OF SUSPENDED MATERIALS ON DGT DEVICES AFTER DEPLOYMENT IN FISH FARMS. DEPLOYMENTS WERE: A) 14 DAYS IN BENTHAM TROUT FARM, B) 21 DAYS IN BENTHAM TROUT FARM, C) 14 DAYS IN BANK HOUSE, D) 21 DAYS IN BANK HOUSE. FOR ALL PICTURES, THE TOP LEFT DEVICE OF THE PICTURE IS THE DGT CONTROL, THE RIGHT TOP DEVICE IS THE DGT WITH COPPER IODIDE, THE BOTTOM LEFT DEVICE IS THE DGT WITH SILVER IODIDE AND THE BOTTOM RIGHT DEVICE IS THE DGT WITH CHLORAMPHENICOL. ....	36
FIGURE 13 CONCENTRATION OF PHOSPHORUS MEASURED BY DGT DEVICES, $C_{\text{DGT}}$ , FOR EACH DEPLOYMENT A) BENTHAM TROUT FARM, B) BANK HOUSE FARM. BARS REPRESENT THE MEAN RESPONSE OF 3 REPLICATES; MEANS FOLLOWED BY THE SAME LETTER ARE NOT STATISTICALLY DIFFERENT (TUKEY'S B POST HOC TEST $P > 0.05$ ).....	37

FIGURE 14 SCHEMATIC REPRESENTATION OF CONCENTRATION GRADIENTS INDUCED BY DGT IN THE WATER SOLUTION.....	48
FIGURE 15 DETERMINATION OF THE DBL FOR THE DEPLOYMENT IN AQUACULTURE FRESHWATER. ....	50
FIGURE 16 24-H DEPLOYMENT IN FRESHWATER OF CHARTIERVILLE FISH FARM AT QUEBEC, CANADA. ....	51
FIGURE 17 48-H DEPLOYMENTS IN AQUACULTURE FRESHWATER AT QUÉBEC, CANADA A) CHARTIERVILLE, T ~ 18°C AND B) ARTABASKA, T ~ 22°C. ....	53
FIGURE 18 SAMPLING OF WATER AT EVERY HOURS DURING 24 HOURS IN CHARTIERVILLE FISHFARM (QUEBEC, CANADA —JULY 18 <sup>TH</sup> -19 <sup>TH</sup> 2006). REPRESENT THE REACTIVE PHOSPHORUS.....	54
FIGURE 19 14-D DEPLOYMENT IN AQUACULTURE FRESHWATER AT QUEBEC, CANADA A) CHARTIERVILLE, T ~ 8°C AND B) ARTABASKA, T ~ 13°C. ....	56
FIGURE 20 21-D DEPLOYMENT IN AQUACULTURE FRESHWATER AT LANCASHIRE, UK A) BENTHAM TROUT FARM, T ~ 3°C B) BANK HOUSE, T~ 5°C .....	57

## Liste des sigles

### Sigles en français

ICP-AES : Spectrométrie d'émission atomique à plasma induit

DGT : Gradients diffusifs en couches minces

### Sigles en anglais

ICP-AES: Induced coupled plasma – atomic emission spectroscopy.

DGT : Diffusive Gradients in Thin-Films

FI : Flow injection technique

## Remerciements

Je voudrais remercier tout le groupe de recherche de chimie environnementale de l'Université de Montréal et surtout monsieur Sébastien Sauvé, mon directeur de recherche, pour l'aide, les conseils et les bonnes idées fournies. J'aimerais également le remercier grandement pour m'avoir donné l'opportunité de faire un stage à l'Université de Lancaster en Angleterre. Un grand merci au groupe de recherche du département de l'environnement de l'Université de Lancaster et surtout Hao Zhang et Bill Davison, pour leur soutien et leur accueil chaleureux pendant mon stage en Angleterre. Et finalement, j'aimerais remercier ma famille pour ses encouragements et son soutien moral tout au long de ma maîtrise.

## 1 Introduction

Au Québec, on estime que les rejets de phosphore provenant d'une pisciculture se situent présentement autour de 7,2 kg de P par tonne de poisson produit<sup>1</sup>. Afin d'accroître les rendements de production de poissons, les pisciculteurs ont recours à de la moulée contenant le phosphore nécessaire à la croissance des poissons. Cette source majeure de phosphore est un facteur important dans l'augmentation de la concentration en phosphore dans les eaux d'aquaculture et dans les effluents des piscicultures. En effet, les affluents externes entrant de la pisciculture alimentent les bassins pour ensuite être rejetés dans l'effluent sortant de la pisciculture. Par conséquent, une fraction du phosphore contenu dans les eaux de bassins est transportée à l'effluent.

Puisque le phosphore est un nutriment essentiel à la croissance des algues, il est important que celui-ci soit en équilibre avec le milieu. En effet, une teneur élevée en phosphore favorise la prolifération des algues pour ainsi augmenter la biomasse du milieu et donc favoriser l'eutrophisation de celui-ci. Un contrôle du phosphore est donc requis pour éviter cette eutrophisation.

Afin de connaître la concentration de phosphore dans les affluents les effluents ainsi que dans les eaux de bassins de la pisciculture, il est nécessaire de tenir compte des variations journalières et nocturnes, de la température de l'eau, du volume d'exploitation de la pisciculture ainsi que de sa gestion. Il est également important de tenir compte de ses caractéristiques d'emplacement pour ainsi obtenir la meilleure évaluation. Ainsi, l'objectif principal de cette étude est de mesurer «in situ» la concentration du phosphore réactif (phosphate) dans l'eau d'aquaculture à l'aide de la méthode des gradients diffusifs en couches minces (DGT). Tout au long de l'étude, cette technique est développée et comparée avec la méthode standard par fractionnement. D'autre part, cette étude permet également d'optimiser le temps maximal pour la mesure «in situ» du phosphore avant le recouvrement de biofilms à la surface du DGT. Cette étude permettra donc de connaître plus facilement et directement la concentration de phosphore réactif dans les effluents sortants des piscicultures qui intégrera à la fois les variations journalières et nocturnes. Par ailleurs, en plus d'avoir une intégration dans le temps, cette technique permettra d'avoir une sélectivité puisque l'on obtient la concentration du phosphore réactif (phosphate). Cette méthode utilise également la notion de

diffusion, puisque le phosphate passe à travers les différentes couches du dispositif DGT par diffusion moléculaire et par le fait même les autres molécules présentes dans le même milieu ayant une masse et un volume plus élevé ne pourront traverser toutes les couches présentes dans le dispositif DGT. De plus, cette méthode est facile d'utilisation et beaucoup moins coûteuse pour les pisciculteurs puisqu'ils pourraient faire eux même le déploiement du DGT et l'envoyer par la suite à un laboratoire pour analyse.

## ***1.1 Théorie***

### **1.1.1 Spéciation du phosphore**

#### **1.1.1.1 Sources de phosphore et principaux usages de cet élément**

Onzième des éléments dans l'ordre de leur abondance dans la croûte terrestre, le phosphore (P) est présent partout mais à faible concentration dans beaucoup de roches. La masse totale de P dans la planète est estimée à  $10^{19}$  tonnes dont  $10^{15}$  tonnes dans l'écorce terrestre,  $10^{11}$  tonnes dans les mers et océans et  $10^{10}$  tonnes dans les sols dont les teneurs varient de 0,01 % pour les plus dépourvus à 0,3 % pour les plus fortement enrichis. Toutefois, les gisements suffisamment riches pour justifier leur exploitation sont présents sur tous les continents. D'origine sédimentaire pour plus de 90 % de la ressource et métamorphique pour le reste, ces gisements sont constitués de minerais, de nature apatitique pour l'essentiel, dont les teneurs en P varient de 10 à 17 %<sup>2</sup>.

Le rejet de P dans le milieu aquatique provient de plusieurs sources naturelles et anthropiques. En effet, de façon naturelle le phosphore est apporté dans le réseau hydrographique par désagrégation des roches et par lixiviation des sols. Également, le phosphore complexé aux particules de sol peut être libéré lors des feux de forêt. Cependant, l'apport le plus important de rejet du phosphore provient des sources anthropiques qui sont nombreuses et diversifiées. Le phosphore est présent dans les déchets d'animaux provenant, entre autres, des fermes d'élevage de bétail, des fermes de porc et des fermes laitières. De plus, une autre source importante de phosphore dans le milieu aquatique provient des procédés de traitement



des eaux où les polyphosphates sont utilisés dans le traitement et convertis lors du procédé en orthophosphates<sup>3</sup>.

D'autre part, une des sources majeures en phosphore qui est rejeté dans le milieu aquatique provient des eaux d'égouts qui contiennent une teneur élevée en phosphates. En effet, dans les cours d'eau se trouvant aux alentours des villes, une grande partie du phosphore rejeté dans l'eau provient des détergents, eaux d'égouts domestiques et des effluents industriels. L'autre portion provient des engrais phosphatés appliqués sur les terres agricoles où le phosphate s'écoule dans les cours d'eau par lixiviation des sols. Par conséquent, pour les sols fortement enrichis en phosphore, en raison par exemple d'apports fréquents et abondants de fumiers ou de lisiers, et à l'occasion d'épisodes pluvieux particuliers, les pertes sont parfois importantes et peuvent atteindre 1 kg de P par ha<sup>4,5,6</sup>. Elles peuvent ainsi, avec les autres sources de P, contribuer à l'eutrophisation des milieux dans lesquels l'eau stagne ou circule lentement. Le phosphore est souvent l'élément qui contribue grandement à l'eutrophisation du milieu et qui en quelque sorte contrôle le degré d'eutrophisation du milieu<sup>3</sup>.

#### 1.1.1.2 Spéciation du phosphore dans l'environnement

Le phosphore terrestre est composé d'un nombre de minéraux spécifiques incluant apatite,  $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{F}, \text{Cl}, \text{OH})$  et vivianite,  $\text{Fe}(\text{PO}_4) \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ . Il est donc présent dans tous les sols où les plantes poussent et meurent. Par conséquent, il est trouvé dans l'atmosphère seulement associé à des particules de poussières puisque celui-ci n'a pas de formes gazeuses communes<sup>2,7</sup>. D'autre part, le phosphore existe sous plusieurs formes dans l'eau. En effet, le phosphore est dérivé à partir d'une variété de sources inorganiques et organiques qui peuvent être hydrolysées et transformées en orthophosphates et ce selon le pH aqueux. Dans l'eau, la solubilité du phosphore est contrôlée par la disponibilité du fer et de l'aluminium sous conditions acides et du calcium sous conditions alcalines. En plus de la distribution des espèces de P, on voit que chacun de ses métaux forme des phosphates insolubles (Figure 1)<sup>2</sup>. De plus, quand le pH est légèrement acide, la solubilité du phosphore est au maximum et l'espèce prédominante est  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ . Par conséquent, dans ces conditions, les polyphosphates sont rapidement hydrolysés dans les solutions aqueuses pour libérer les espèces orthophosphates.

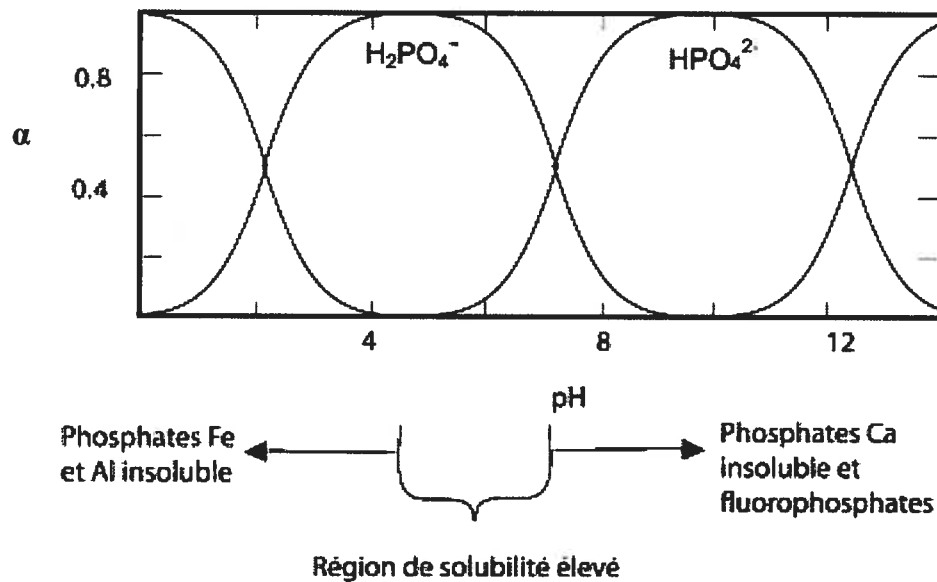


Figure 1 - Courbe de distribution des espèces de l'acide phosphorique en fonction du  $\text{pH}^2$ .

Comme dans le cas de l'azote, le phosphore est important pour la vie puisqu'il est essentiel à la fabrication des acides nucléiques ARN et ADN. On le retrouve aussi dans le squelette des organismes sous forme de  $\text{PO}_4^{3-}$ . À l'origine, tout le phosphore se trouvait dans les roches ignées. C'est par l'altération superficielle de ces dernières sur les continents que le phosphore a été progressivement transféré vers les océans. Le cycle du phosphore est unique parmi les cycles biogéochimiques majeurs: il ne possède pas de composante gazeuse, du moins en quantité significative, et par conséquent n'affecte pratiquement pas l'atmosphère<sup>7</sup>. Il se distingue aussi des autres cycles par le fait que le transfert de phosphore d'un réservoir à un autre n'est pas contrôlé par des réactions microbiennes, comme c'est le cas par exemple pour l'azote.

Pratiquement tout le phosphore en milieu terrestre est dérivé de l'altération des phosphates de calcium des roches de surface, principalement de l'apatite. Bien que les sols contiennent une grande masse de phosphore, une petite partie seulement est accessible aux organismes vivants. Ce phosphore est absorbé par les plantes et transféré aux animaux par leur alimentation. Une partie est retournée aux sols à partir des excréments des animaux et de la

matière organique morte. Une autre partie est transportée vers les océans où une fraction est utilisée par les organismes benthiques et ceux du plancton pour réduire leur squelette; l'autre fraction se dépose au fond de l'océan sous forme d'organismes morts ou de particules et est intégrée aux sédiments. Ces derniers sont transformés progressivement en roches sédimentaires par l'enfouissement; beaucoup plus tard, les roches sont ramenées à la surface par les mouvements tectoniques et le cycle recommence (Figure 2).

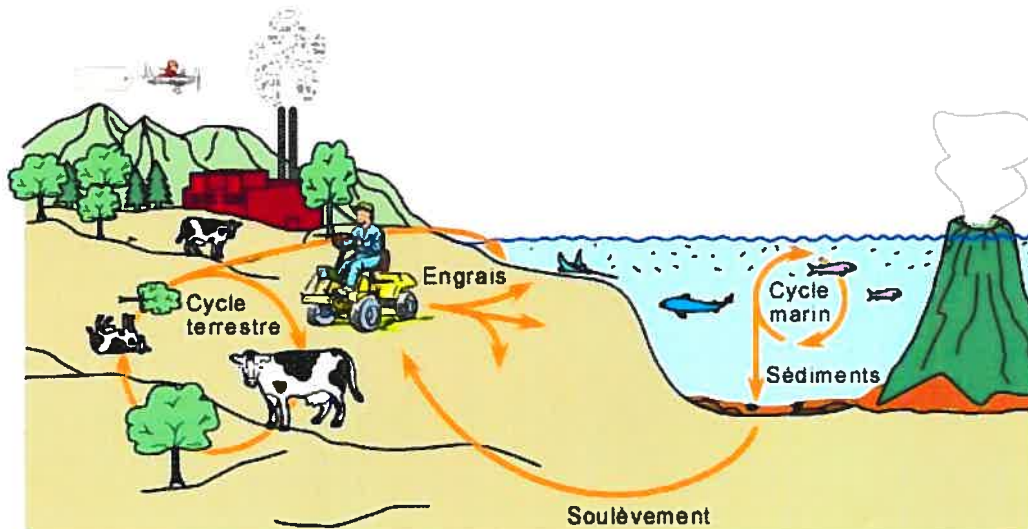


Figure 2 - Cycle du phosphore

Le phosphore est un élément limitant dans plusieurs écosystèmes terrestres, du fait qu'il n'y a pas de grand réservoir atmosphérique de phosphore comme c'est le cas pour le carbone, l'oxygène et l'azote, et que sa disponibilité est directement liée à l'altération superficielle des roches. L'activité humaine intervient dans le cycle du phosphore en exploitant des mines de phosphate, en grande partie pour la fabrication des fertilisants. Ajoutés aux sols en excès, les phosphates sont drainés vers les systèmes aquatiques. Puisque le phosphore est souvent un nutriment limitatif dans les rivières, les lacs et les eaux marines côtières, une addition de phosphore dans ces systèmes peut agir comme fertilisant et générer des problèmes d'eutrophisation<sup>7</sup>.

### 1.1.1.3 Le phosphore dans les eaux naturelles

Le phosphore se retrouve sous plusieurs formes dans les eaux naturelles soit sous forme dissoute ou particulaire. Les orthophosphates regroupent les différentes espèces de phosphore

( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) et leur répartition dépend du pH du milieu. Les orthophosphates représentent aussi la forme du phosphore la plus disponible pour une utilisation par les organismes vivants dont les plantes et algues et la forme la plus réactive chimiquement. Cette forme est également recyclée par la flore aquatique par adsorption, phosphorylation, croissance et décomposition. Par ailleurs, les orthophosphates ne représentent généralement qu'une petite fraction du phosphore total en solution et lors de l'application d'engrais phosphatés par exemple, le phosphore est principalement transporté vers les eaux de surfaces adsorbé sur les particules entraînées par le ruissellement et ce sous formes inorganiques des orthophosphates. Les formes inorganiques se définie comme étant l'orthophosphate qui se lie avec des cations, les principaux étant le fer, l'aluminium et le calcium afin de donner une phase solide qui peut être un minéral phosphaté, un oxyde de fer ou d'aluminium, la calcite et les argiles. De plus, certains phosphates inorganiques condensés sont très lentement dégradés en orthophosphates dans les eaux naturelles<sup>12</sup>.

D'autre part, le phosphore organique est une autre forme de P qui est associée à la matière organique qui est disponible dans l'hydrosphère par l'érosion. Ces composés peuvent contenir des groupements fonctionnels  $\text{PO}_4^{3-}$ , P-O-P et C-P. De plus, cette forme est décomposée par les bactéries dans le fond de lacs eutrophes et convertie à une forme inorganique<sup>7</sup>.

Finalement, le phosphore total représente la somme de toutes ces formes dans un échantillon d'eau non filtrée. Les formes du phosphore les plus susceptibles d'être détectées dans l'environnement sont présentées à la Figure 3<sup>1</sup>. Ces diverses formes de phosphore peuvent donc être mesurées dans les eaux naturelles par diverses méthodes d'analyses.

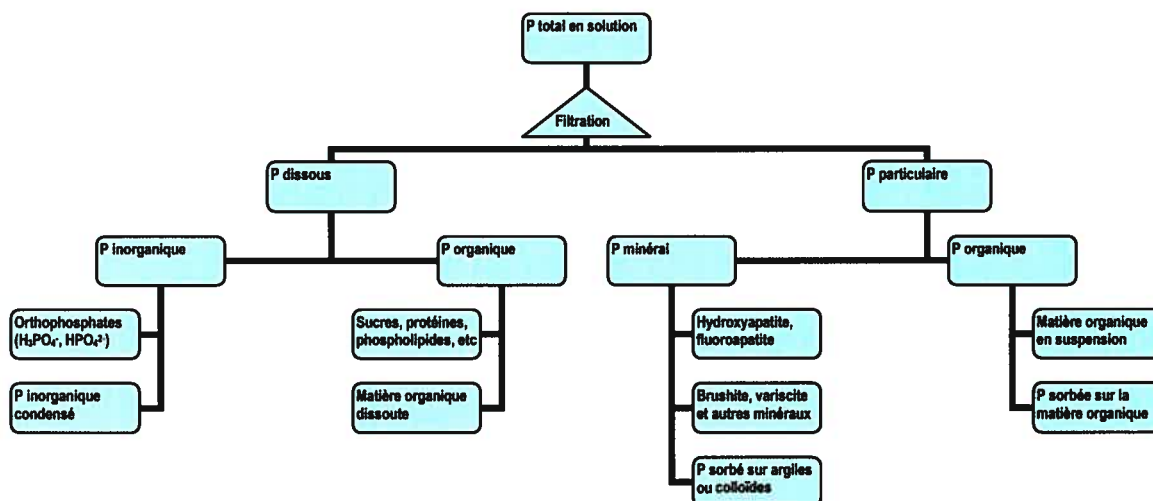
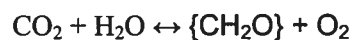


Figure 3- Séparation des formes de phosphore présentes dans l'environnement<sup>1</sup>.

#### 1.1.1.4 Eutrophisation

Le phosphore est un nutriment majeur pour les plantes et les microorganismes. Lorsque la concentration de phosphore dans l'eau est faible, la production d'algues est peu abondante et le milieu demeure oligotrophe. Lorsque la concentration de P dans l'eau augmente excessivement, la production végétale s'accroît fortement, avec pour conséquence une réduction de l'éclairement en profondeur, une diminution de la concentration d'azote nitrique et des épisodes d'anoxie nocturne auxquelles peuvent s'ajouter de fortes augmentations diurnes du pH susceptibles d'engendrer des concentrations d'ammoniaque toxiques pour le règne animal. C'est-à-dire, pendant que les algues croissent, la photosynthèse se produit et augmente donc la génération d'oxygène<sup>7</sup>.



Cependant, lorsque les organismes meurent, leur décomposition mène à la consommation de l'oxygène et libère le dioxyde de carbone, créant un environnement anoxique et modérément acide. Lorsque ces conditions riches en nutriments mènent à une production biologique excessive, le cours d'eau devient eutrophique. La mortalité des poissons et les blooms

d'algues toxiques sont les manifestations les plus claires des conséquences de l'eutrophisation. L'évolution extrême du processus d'eutrophisation mène donc à la disparition du zooplancton et du poisson et au remplacement des algues vertes par des cyanobactéries, fixatrices de  $N_2$  et très peu consommées par le zooplancton. D'un processus de consommation caractéristique d'un milieu oligotrophe, qui contient moins que 5-10  $\mu\text{g/L}$  de P, propre aux multiples usages de l'eau, l'eutrophisation moyenne ayant une teneur de 10-30  $\mu\text{g/L}$  de P conduit à un processus de décomposition d'une abondante biomasse par des bactéries<sup>7</sup>. Cela est caractéristique d'un milieu dont les usages sont très limités et dont la régénération implique obligatoirement le retour à une faible concentration de phosphore dans l'eau<sup>6</sup>.

Un des nombreux exemples de lacs en processus d'eutrophisation est le lac Saint-Pierre situé entre Sorel et Trois-Rivières (Québec, Canada). En effet, le lac Saint-Pierre a un problème important de dépôt de sédiments riches en nutriments dont les plantes aquatiques raffolent considérablement. Ces sédiments sont constitués de fines particules de boue, hautes en concentration de phosphore, d'azote et de composés organiques dissous (COD) qui se déposent en grande partie au fond du lac. Selon Vis et al. (2003)<sup>8</sup>, près de 1 500  $\text{m}^3/\text{s}$  de sédiments se déposent annuellement dans le lac Saint-Pierre. De plus, les études réalisées par le Service hydrographique canadien en 1990 et par les chercheurs de l'Université de Montréal en 2003, montrent qu'il y a une accumulation de 1 à 7 cm par année de sédiment dans le fond du lac<sup>8</sup>. D'autre part, selon Carignan et al (2000)<sup>9</sup>, la fraction de la charge annuelle en particules retenues par le lac Saint-Pierre est de 1,5%. Selon le ministère de l'Environnement du Québec, plus de 15 000 tonnes d'azote et 1 000 tonnes de phosphore provenant des rivières avoisinantes se déversent dans le lac Saint-Pierre annuellement<sup>8</sup>. La population croissante de plantes et d'algues aquatiques contribuent à l'envasement puisqu'elles agissent comme piège à sédiment et donc retiennent la matière en suspension. De plus, la grande population d'algues freine également les courants de fond, ce qui a pour effet l'aggravation de l'envasement du lac<sup>10,11</sup>.

### **1.1.2 Méthodes d'analyses de formes chimiques du phosphore dans l'eau**

Il existe plusieurs méthodes d'analyses du phosphore dans l'eau qui permettent d'obtenir la teneur de diverses formes de phosphore. Tout d'abord, plusieurs études ont déterminé la

teneur en phosphore dans un échantillon à l'aide de la technique de spectrométrie d'émission atomique utilisant une source à plasma d'argon généré par couplage inductif (ICP-AES). Cette technique permet de mesurer le phosphore total dissous d'un échantillon ayant subi divers traitements postérieurement. Une des méthodes mise en œuvre est de procéder à une digestion à l'acide sur un échantillon d'eau préalablement filtré (0,45 $\mu$ m) et ensuite cet échantillon est introduit au système de l'ICP-AES<sup>13,14,15</sup>. Ces études ont permis d'obtenir une limite de détection de 2-100  $\mu$ g/L de P. D'autre part, des études se sont penchées sur une transformation possible du phosphore en composé volatil, phosphane, par ajout de borohydrure de sodium dans un échantillon contenant des phosphates<sup>16,17</sup>. Ce composé volatil est ensuite introduit dans le système de l'ICP-AES. Les études ont révélé que cette méthode permet d'utiliser un petit volume d'échantillon (< 5  $\mu$ L) et que lors de l'analyse à l'ICP-AES, il n'y a aucune interférence avec le Cu à des concentrations élevées de P. Cependant, l'efficacité de réduction du phosphate en phosphane n'est que de 45%. La limite de détection obtenue est de 5  $\mu$ g/L de P. Par ailleurs, le phosphore contenu dans un échantillon de fertilisant peut être converti en pentoxide de phosphore (P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>) à l'aide d'une digestion à l'acide perchlorique 4% pour être ensuite analysé à l'ICP-AES<sup>18</sup>. Cette méthode permet d'obtenir une limite de détection de 40  $\mu$ g/L. Cependant avec toutes les méthodes mentionnées, à l'exception de la conversion de phosphate en phosphine, il y a interférence avec plusieurs éléments (Cu, Cr, Fe, V, Ti et Al) selon la ligne analytique choisie<sup>19</sup>.

«Flow injection (FIA) technique» est une méthode de transformation de l'échantillon d'eau pour ensuite obtenir la teneur en phosphore contenu dans l'échantillon à l'aide d'un détecteur UV. Un volume d'échantillon liquide (typiquement 10-200 $\mu$ L) est injecté dans une valve d'injection en ligne où un jet de liquide vecteur transporte l'échantillon au détecteur pour être ensuite détecté et ainsi obtenir la concentration du produit voulu<sup>20</sup>. Plusieurs études utilisent comme liquide vecteur une solution de molybdate d'ammonium. Le molybdate, qui est un réactif ionique, réagit avec le phosphate pour former le complexe phosphomolybdène qui sera transporté jusqu'au spectrophotomètre. Cette méthode se nomme également colorimétrie automatisée et elle permet d'obtenir une limite de détection de 2  $\mu$ g / L de P<sup>21,22,23</sup>. D'autres études utilisent un détecteur spectrofluorimétrique qui permet de déterminer le phosphore organique et inorganique dans l'eau naturelle<sup>24</sup>. Ce système inclut un photoréacteur ultra-violet simple pour la photodégradation en ligne des organophosphorés en présence du peroxydisulphate et par la suite d'une hydrolyse des phosphates condensés avec de l'acide chlorhydrique. Le produit fluorimétriquement voulu est un thiochrome, qui est constitué par

l'oxydation de la thiamine par l'acide phosphomolybdique. La configuration de ce système de FI permet à deux injections d'être effectuées pour chaque échantillon : le premier, sans irradiation, correspond au phosphore inorganique et en second lieu, suite à l'irradiation, qui correspond au phosphore total. Cette méthode permet d'obtenir une limite de détection de près de 0,3 µg/L de P.

Par ailleurs, pour toutes les techniques mentionnées ci-dessus, il est nécessaire de prendre des échantillons d'eau dans le milieu à l'étude. Plusieurs mesures importantes doivent être entreprises lors de la prise d'échantillon d'eau. En effet, l'endroit de la prise d'échantillon, la température de conservation des échantillons, le temps maximal de conservation des échantillons ainsi que le type de bouteilles utilisées pour la prise d'échantillons sont des facteurs limitants pour une mesure représentative du milieu à l'étude. Une technique «in situ» de la mesure du phosphore dans l'eau permet d'éviter cette prise d'échantillon d'eau pour ainsi avoir une mesure la plus proche possible de la réalité du milieu. Dans le cadre de cette étude, la technique de DGT, une méthode «in situ» qui permet la mesure de métaux dans les sols, l'eau et les sédiments, fut examinée et la méthode standard par fractionnement a été réalisée afin de valider et comparer les mesures obtenues à l'aide des unités de DGT.

### 1.1.2.1 Méthode standard par fractionnement

La méthode standard par fractionnement a été développée par Clesceri et al. (1998)<sup>25</sup> et celle-ci, présentée à la Figure 4, est basée sur le fractionnement de plusieurs formes de P. Toutes ces formes peuvent être déterminées soit dans la fraction non filtrée ou la fraction filtrée de l'échantillon d'eau. Quelque soit la forme de phosphore à l'étude, il est nécessaire de la transformer en phosphate pour être ensuite analysée par colorimétrie suivant la méthode de Murphy and Riley (1962)<sup>26</sup>. En effet, les ions phosphates présents dans l'échantillon réagissent avec le molybdate d'ammonium en solution acide pour former de l'acide phosphomolybdique lequel sera réduit en bleu de phosphomolybdène en présence d'acide ascorbique. Le complexe bleuté obtenu est stable pour une longue durée. L'échantillon est ensuite analysé par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 882 nm.



Dans le cadre du projet, la détermination du phosphore réactif dissous (orthophosphate) dans un échantillon d'eau a été comparée avec les valeurs obtenues avec la technique de DGT. L'échantillon d'eau est alors filtré et les réactifs sont directement ajoutés dans l'échantillon. Cette mesure doit être faite le plus rapidement possible après la prise de l'échantillon dans le milieu étudié puisque le phosphate se complexera avec les particules en suspension se trouvant dans l'échantillon. Cette forme représente donc la proportion de phosphore qui est mesurée par le DGT.

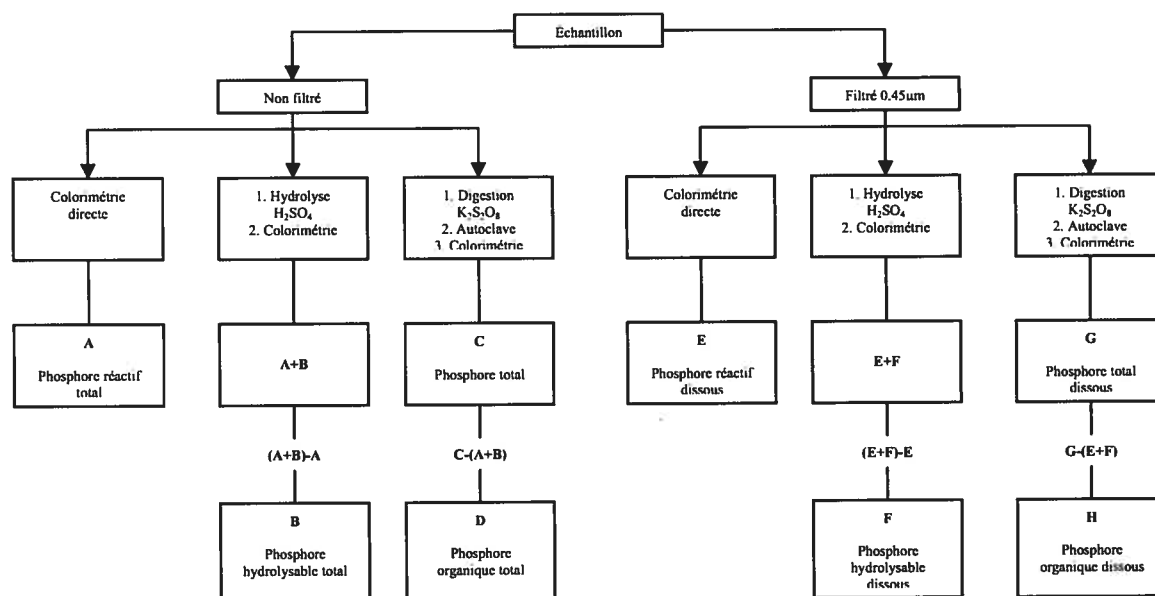


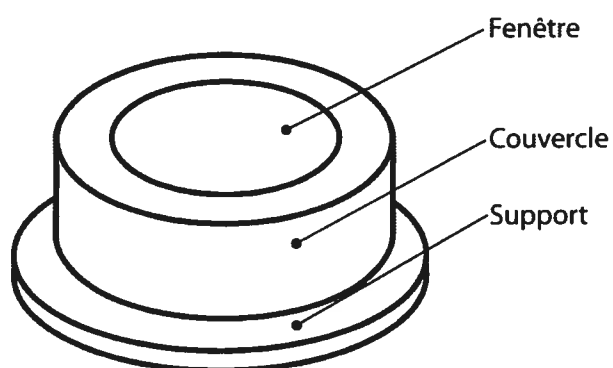
Figure 4 – Schéma du fractionnement du phosphore

### 1.1.2.2 Technique du DGT

La technique de DGT a été récemment développée et cette méthode est utilisée pour mesurer «in situ» les espèces labiles dans les eaux naturelles, les sols et les sédiments<sup>27,28,29</sup>. Durant le déploiement, les ions métalliques sont accumulés continuellement sur la résine proportionnellement à leur concentration dans le milieu où l'unité de DGT est déployée. Après un temps donné, les unités de DGT sont retirées du milieu et la concentration totale des ions métalliques qui se sont accumulés sur la résine est alors mesurée. Il est possible de

mesurer les métaux labiles, le phosphate réactif ainsi que les sulfures avec ce dispositif selon la nature de la résine<sup>30</sup>.

Tout d'abord, l'unité de DGT représentée à la Figure 5, est composée d'une base qui sert de support où l'on met une résine dont la composition dépend de la nature de l'espèce labile à l'étude, dans le cas de la présente étude la 'résine' est constituée d'un oxyde de fer, le ferrihydrite ( $\text{Fe}_5\text{O}_3(\text{OH})_9$ ). Cette résine a pour fonction de capter le phosphate pour ainsi accumuler cette espèce labile à la surface de celle-ci. Par la suite, on retrouve un gel diffusif (polyacrylamide) fait d'une membrane perméable ionique qui permet la diffusion des particules voulue jusqu'à la résine. Ensuite, un filtre de membrane polysulfone de  $0,45\mu\text{m}$  de grandeur de pore est appliqué et le tout est fixé solidement par un couvercle où une fenêtre permet le passage des espèces labiles<sup>27</sup>.



**Figure 5– Représentation de l'unité de DGT**

D'autre part, la technique de DGT est basée sur la première loi de diffusion de Fick. Tout d'abord, la diffusion correspond à une succession de déplacements élémentaires d'atomes dans la structure. Elle s'apparente au mouvement brownien qui permet les échanges de chaleur entre molécules ou différents phénomènes osmotiques en biologie. Si les concentrations sont inhomogènes dans le milieu, on est hors équilibre thermodynamique et il existe alors un gradient de concentration qui entraîne un flux de matière. Ceci correspond au cas d'une diffusion directive, décrite par la loi de Fick. La première loi de Fick s'apparente aux célèbres lois de Fourier<sup>32,33</sup>. En effet après de nombreuses expériences, Fick a remarqué que le flux de matière est proportionnel au gradient de la concentration illustrée par l'Eq. 1.

$$J = -D \cdot \text{grad } C \quad (1)$$

Où  $C$  est la concentration de l'espèce diffusante,  $D$  est le coefficient de diffusion en  $\text{m}^2/\text{s}$  et dépend fortement de la température. En effet  $D = D_0 \cdot \exp(-E_a/kT)$  où  $D_0$  est une constante,  $k$  la constante des gaz parfaits,  $T$  la température en K et  $E_a$  une énergie d'activation. Puisque dans ce cas-ci,  $E_a$  est l'énergie nécessaire pour que l'atome ait une énergie suffisante pour changer de site par diffusion dans le milieu, alors  $E_a = G_m + G_f$  où  $G_m$  est la barrière d'énergie et cette valeur représente donc l'enthalpie libre de migration d'un atome ou d'une lacune et  $G_f$  est l'enthalpie libre de formation d'une lacune. Par ailleurs,  $\text{grad } C$  est le gradient de la concentration et le signe (-) indique que, physiquement, le flux de diffusion se fait toujours dans le sens contraire du gradient, donc de la zone la plus concentrée en soluté vers celle la moins concentrée en soluté.

Par conséquent, le comportement des espèces labiles passant à travers les différentes couches de l'unité de DGT s'explique par la première loi de Fick. En effet, la couche de résine d'épaisseur  $\Delta r$  (cm), suivi du gel diffusif d'épaisseur  $\Delta g$  (cm), qui sépare la résine de la solution, représente le chemin que doit prendre l'espèce labile dans le dispositif (Figure 6). L'espèce labile est donc une molécule réactive qui à une masse moléculaire moindre que l'espèce labile complexé. L'espèce labile, ici le phosphate ( $\text{PO}_4^{3-}$ ), va donc être transportée par diffusion beaucoup plus rapidement à travers le gel diffusif pour être ensuite captée par la résine et y être accumulée. Afin de comprendre la diffusion moléculaire présente dans le dispositif DGT et le mécanisme de captage de la résine lors du déploiement dans le milieu, trois cas particuliers sont illustrés à la Figure 7. Il est important de comprendre que le complexe,  $\text{Cp}$ , peut être de nature organique ou inorganique. La spéciation en solution peut être représentée par un équilibre simple (Eq. 2) entre le phosphate,  $\text{PO}_4^{3-}$ , et le complexe,  $\text{Cp}$ .



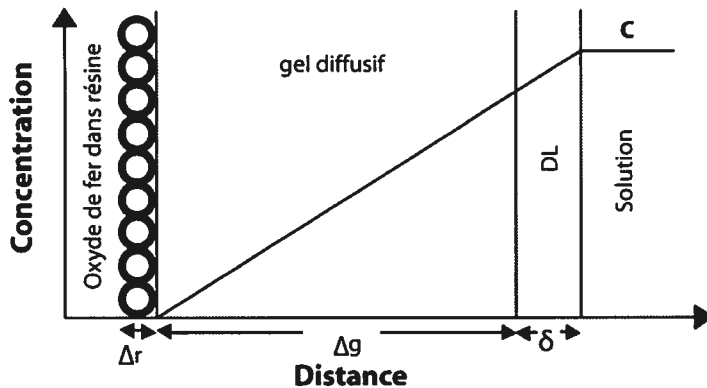


Figure 6 – Schéma du principe du DGT<sup>33</sup>

Dans le cas (a) de la figure 7, l'échange avec le complexe est très rapide donc les deux termes  $\text{PO}_4^{3-}$  et  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  réagissent rapidement avec la résine (Rés) (éqs 3 et 4), pour ainsi réduire leur concentration à l'interface de la résine à zéro et générer un gradient de diffusion linéaire stable.



Si le complexe est en excès, sa concentration additionnelle à proximité de la résine n'affectera pas le transport de  $\text{PO}_4^{3-}$  et de Cp et le dispositif DGT va mesurer efficacement la concentration de  $\text{PO}_4^{3-}$  et de  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$ . Dans le cas (b) de la figure 7, seulement le  $\text{PO}_4^{3-}$  réagit avec la résine et il n'y a aucun transfert entre  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$ . Par conséquent, seulement la réaction directe de  $\text{PO}_4^{3-}$  est alors mesurée. Finalement dans le cas (c) de la figure 7,  $\text{PO}_4^{3-}$  réagit rapidement avec la résine mais l'échange entre  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  et  $\text{PO}_4^{3-}$  (eq. 2) est lent. Si  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  ne réagit pas directement avec la résine, la cinétique d'échange du complexe détermine si le  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  sera mesuré. Lorsque la dissociation de  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  a lieu, la concentration de  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  est diminuée à la surface de la résine et la diffusion de  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  à travers le gel diffusif se produira. L'ampleur de la dissociation et par conséquent la concentration de  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  mesurée dépendra du temps que prendra la diffusion à travers la couche de gel diffusif. Le temps de réaction de la résine avec le phosphate est déterminé par transport de masse. C'est-à-dire le temps que prendra la molécule pour traverser la couche de gel diffusif selon la masse et le volume de la molécule. Donc la mesure de l'espèce labile

dépend de l'épaisseur de la couche de gel diffusif et de la vitesse de diffusion moléculaire à travers ce gel. Lorsqu'un agent de liaison fort comme la ferrihydrite est utilisée comme résine, il peut induire le phosphate complexé comme phosphate parce que les groupes fonctionnels présent compétitionnent efficacement avec les complexes (Cp). La résine se comporte donc comme une résine échangeuse d'ion<sup>33</sup>.

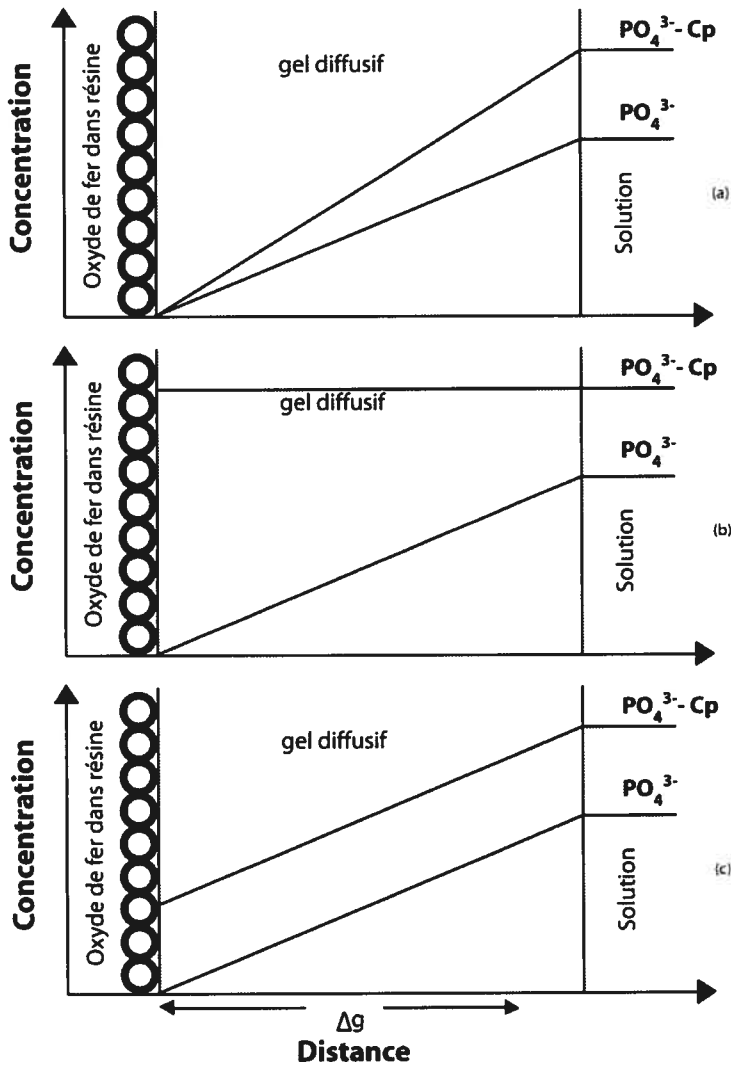


Figure 7 – Représentation schématique des profils de concentration à la surface de la résine pour capter le  $\text{PO}_4^{3-}$  en présence de  $\text{PO}_4^{3-}\text{-Cp}$  (a) labile, (b) totalement inerte, et (c) partiellement labile

Par ailleurs, entre la couche de gel diffusif et la solution on y retrouve une couche de frontière diffusive (DL), d'épaisseur  $\delta$ , qui est l'endroit où le transport des ions est seulement par diffusion moléculaire. Cette couche représente les molécules qui s'accumulent à la surface du DGT et qui forment une couche. La vitesse de diffusion moléculaire à travers cette couche est la même que celle dans le gel diffusif<sup>33</sup>. Si  $\delta$  (cm) est très petit comparé au  $\Delta g$ , la valeur de  $\delta$  est zéro et le flux ( $F$ ) (mol/cm<sup>2</sup>sec) des espèces labiles diffuse à travers la couche de gel jusqu'à la résine. Ce flux peut être exprimé par l'Eq. 5<sup>33</sup>.

$$F = \frac{D(C - C')}{\Delta g} \quad (5)$$

Où  $D$  est le coefficient de diffusion du phosphate dans la couche diffusive (cm<sup>2</sup>/sec) et les valeurs de  $D$  utilisées dans la présente étude ont été pris dans l'étude faite par Zhang et al. 1998<sup>27</sup>,  $C$  la concentration du phosphate dans la solution (mol/cm<sup>3</sup>), le  $C'$  la concentration à l'interface entre le gel diffusif et la couche de résine (mol/cm<sup>3</sup>). Si le phosphate est rapidement en équilibre avec la résine, avec une grande constante de liaison, « $C'$ » sera égale à zéro seulement si la résine est non saturée. Si la résine est saturée, « $C'$ » ne sera pas égal à zéro et il ne sera pas possible de mesurer la concentration de phosphate réel dans la solution puisque le temps de déploiement ( $t$ ) est directement lié à la masse de phosphate dans le milieu. Il est donc important de ne pas dépasser la capacité maximale de la résine à capter le phosphate lors d'un déploiement dans la solution.

Le phosphore réactif est donc accumulé par la résine de manière quantitative selon la diffusion des particules à travers le gel diffusif. La masse du phosphore réactif rassemblée par la résine/oxyde peut être liée à la concentration en solution des espèces réactives du phosphore selon l'Eq. (6)

$$C = \frac{m(\Delta g + \delta)}{DtA} \quad (6)$$

Où  $m$  est la masse du phosphore réactif fixé par la résine d'oxyde de fer,  $t$  le temps de déploiement et  $A$  est la surface exposée du dispositif. Lorsque la DL en solution n'est pas négligeable par rapport à l'épaisseur du gel diffusif, il est nécessaire d'obtenir la valeur de  $\delta$ . Pour obtenir cette valeur en solution, nous rapportons la masse du phosphore réactif

accumulée par la résine en fonction du  $\Delta g$  dans un graphique. La relation de la courbe illustrée à l'Eq. (7) permet donc d'obtenir cette valeur<sup>33</sup>.

$$\frac{1}{m} = \frac{\Delta g}{DCA t} + \frac{\delta}{DCA t} \quad (7)$$

La masse de phosphore réactif accumulée par la résine d'oxyde de fer est ensuite calculée après une extraction de la résine dans une solution de  $H_2SO_4$  0,25M selon l'Eq. (8).

$$m = \frac{C_e (V_g + V_{acide})}{f_e} \quad (8)$$

Où  $C_e$  est la concentration de phosphore dans l'acide,  $V_g$  et  $V_{acide}$  sont les volumes de la résine et de l'acide  $H_2SO_4$  0,25M respectivement, et  $f_e$  est le facteur d'efficacité d'extraction. Le facteur d'efficacité d'extraction est la proportion du phosphate qui a été extrait par l'acide sulfurique. La concentration du phosphore dans l'acide est mesurée par spectrophotométrie en utilisant la méthode de bleu de phosphomolybdène.

Un phénomène naturel se produit lorsque les unités de DGT sont déployées dans un milieu où les conditions favorisent la croissance d'algues. Des biofilms se développent à la surface du dispositif ce qui modifie les conditions de diffusion et entraîne des difficultés dans la mesure du phosphore réactif dissous.

### 1.1.3 Biofilm et agents anti-biofilm

Lorsque le milieu aquatique contient une forte teneur en nutriments, il y a croissance de bactéries et d'algues. Dans l'eau d'aquaculture on retrouve une grande concentration de phosphore en plus d'une teneur importante de particules en suspension de natures diverses. De plus, lors de période estivale, la température de l'eau est élevée c'est-à-dire près de 20°C. Ces conditions favorisent donc la croissance de bactéries et d'algues dans le milieu et par le fait même, favorisent la croissance de biofilms à la surface des unités de DGT lors des déploiements. Ces biofilms sont en fait un développement de micro-organismes de divers types qui peuvent être une nuisance pour plusieurs applications. La formation de ces biofilms

varie selon la surface de colonisation, la profondeur de l'eau (la lumière favorise grandement la croissance des micro-organismes) et selon la nature de l'eau<sup>34,35</sup>. Dans la présente étude, ces biofilms sont constitués par la croissance d'algues ou l'accumulation de matière en suspension à la surface de l'unité de DGT, qui diminuent le passage du phosphate à travers le filtre et le gel diffusif.

Par ailleurs, plusieurs approches peuvent être entreprises afin d'empêcher la croissance de ces biofilms. Entre autres, l'utilisation d'agents anti-biofilm qui par leur toxicité préviendront la croissance des micro-organismes à la surface d'un objet. L'efficacité d'un agent anti-biofilm s'illustre par le temps maximal pendant lequel celui-ci empêchera la croissance des micro-organismes<sup>35,36</sup>. Par ce fait même, pour utiliser un agent anti-biofilm avec les unités de DGT, il doit rencontrer des conditions pour ne pas fausser la mesure du phosphore. En effet, il ne doit pas changer les propriétés physiques et chimiques du gel diffusif et de la résine et il ne doit pas altérer le passage du phosphate à travers les différentes couches du dispositif. La nature des agents anti-biofilm peut être de plusieurs formes. Il est possible d'imbiber le filtre de polysulfone avec diverses métaux traces ou avec des antibiotiques<sup>36</sup>. Les métaux traces ont des degrés de toxicité variables et en leur présence, certains types de micro-organismes ne peuvent pas se développer. Il en est de même avec les antibiotiques. Un autre type d'agent anti-biofilm est d'introduire un filtre ayant des propriétés physiques et chimiques différentes au filtre de polysulfone. Dans le cadre de cette étude, des filtres de pore nucléaire ainsi que des filtres d'argent ont été utilisés.

#### **1.1.4 Piscicultures étudiées**

Au total, quatre piscicultures ont été mises à l'étude dont deux piscicultures de Lancashire, UK et deux au Québec, Canada. Tout d'abord, les deux piscicultures provenant du Lancashire se nomment Bantham Trout Farm et Bank House. Ces piscicultures produisent annuellement environ 15 tonnes d'ombles de fontaine et de truites arc-en-ciel et comptent un total de 7 bassins distincts. Pour ce qui est des piscicultures du Québec utilisées, la pisciculture de Chartierville en Estrie produit annuellement près de 30 tonnes d'ombles de fontaine et compte un total de 13 bassins. Pour sa part, la pisciculture d'Arthabaska du Centre du Québec produit annuellement environ 3 tonnes de poissons dont des ombles de fontaine (*Salvelinus*



*fontinalis*), des truites arc-en-ciel (*Oncorhynchus mykiss*), des truites brunes (*Salmo trutta*) et des dorés jaunes (*Stizostedion vitreum*). Elle compte un total de 5 bassins.

Durant les périodes d'études, les opérations des piscicultures se sont poursuivies normalement. L'ensemble des piscicultures utilisées pour l'étude procède de la même manière au niveau du fonctionnement des bassins. En effet, elles utilisent les sources environnantes d'eau pour alimenter continuellement les bassins et après un certain temps de résidence, qui dépend du débit de l'eau de la pisciculture, l'eau est ensuite rejetée à un bassin de sédimentation. Le bassin de sédimentation permet aux particules se trouvant en suspension dans l'eau de sédimenter au fond du bassin et ainsi diminuer la teneur en matière en suspension de l'eau. Ainsi, une proportion du phosphore réactif se complexe à la matière en suspension et sédimente également au fond du bassin. Après une certaine période, qui dépend de la taille et de l'efficacité du bassin de sédimentation, cette eau est rejetée dans les effluents de la pisciculture. Ce procédé assure une alimentation constante et un nettoyage naturel des bassins.

Par ailleurs, les pisciculteurs nourrissent les poissons d'une moulée contenant le phosphore nécessaire pour une croissance optimale. Les particules de moulées ainsi que les excréments de poissons contiennent du phosphore qui se retrouve donc soit dans les sédiments du bassin ou en suspension dans l'eau. Une certaine proportion du phosphore se trouvant dans l'eau du bassin est rejetée dans les effluents suivant le débit de l'eau de la pisciculture. D'autre part, le phosphore se trouvant dans l'eau des bassins est présent sous plusieurs formes et chacune des formes a un rôle important et des propriétés différentes dans l'eau.

## 2 Article 1

Mon travail pour cet article, ainsi que pour l'article présenté au chapitre 3, a été de concevoir le design expérimental, de réaliser dans un premier temps le travail en laboratoire et sur le terrain, de compiler et de traiter les résultats obtenus et finalement d'effectuer la rédaction de l'article. Toute cette réalisation a demandé de ma part une interprétation des résultats ainsi qu'une recherche approfondie des études effectuées dans mon domaine d'étude. La contribution de Hao Zhang et de William Davison a été de me donner les ressources et le matériel nécessaire à la réalisation de ma maîtrise lors de mon stage en Angleterre et d'effectuer certaines corrections supplémentaires sur mon article. Enfin, la contribution de mon directeur de recherche a été de me fournir les ressources ainsi que le matériel nécessaires, en plus de me conseiller et d'effectuer les corrections sur mon article.

### *2.1 Notes sur l'article rédigé*

Le premier article, intitulé " Preventing biofilm development on DGT devices using metals and antibiotics " a été soumis à la revue *Talanta* le 18 septembre 2006, a été acceptée le 1 décembre 2006 et publié en ligne le 10 janvier 2007. L'**introduction** de l'article reprend quelques éléments discutés dans la section théorique de ce mémoire, mais va plus en détails dans les effets des agents anti-biofilm sur la prévention de la croissance d'algues. La **partie expérimentale** décrit en détails le travail de laboratoire effectué. On y trouve les descriptions physiques et chimiques des agents anti-biofilm utilisés. La section **résultats et discussion** donne et explique les résultats obtenus pour les tests effectués au laboratoire ainsi que sur le terrain. On y discute de la différence d'efficacité entre chaque agent anti-biofilm lors de ces tests. En effet, les agents anti-biofilm utilisés sont le cuivre et l'argent complexés avec de l'iode à l'intérieur du filtre de polysulfone ainsi que deux antibiotiques, le chloramphénicol et le glutaraldéhyde. La **conclusion** de l'article illustre que selon les résultats obtenus, l'argent, bien qu'efficace pour prévenir la croissance d'algues, empêche le phosphore réactif de passer à travers le filtre en absence d'ions nitrate en solution. D'autre part, le cuivre n'interfère pas dans la mesure du phosphore et il prévient suffisamment longtemps la croissance d'algues contrairement aux antibiotiques. Il est donc possible d'utiliser

éventuellement des agents anti-biofilm pour prévenir la croissance d'algues sur les unités de DGT.

## ***2.2 Preventing biofilm development on DGT devices using metals and antibiotics***

Catherine Pichette

*Environmental Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, Université de Montréal, PO 6128 Centre-ville, Montreal, QC, Canada, H3C 3J7. Tel: 1 514 343-6111 #3971, Fax: 1 514 343-7596, e-mail: [REDACTED]*

Hao Zhang

*Environmental Science, IENS, Lancaster University, Lancaster, UK, LA1 4YQ, Tel : 44(0)15245-93899, e-mail : [REDACTED]*

William Davison

*Environmental Science, IENS, Lancaster University, Lancaster, UK, LA1 4YQ, Tel : 44(0)15245-93935, e-mail : [REDACTED]*

Sébastien Sauvé

*Environmental Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, Université de Montréal, PO 6128 Centre-ville, Montreal, QC, Canada, H3C 3J7. Tel: 1 514 343-6749, Fax: 1 514 343-7596, e-mail: [REDACTED]*

### **2.2.1 Abstract**

The DGT technique has potential as a tool for monitoring reactive phosphorus in freshwater aquaculture effluents. Because those waters have high concentrations of suspended matter and nutrients, biofilms may form on the surface of the DGT devices. Those biofilms may hinder the movement of reactive phosphorus and hence interfere with the DGT

measurements. We tested two antibiotics, glutaraldehyde and chloramphenicol, two metal-iodides, copper and silver and also two alternative filter types, Nucleopore membrane and silver-based filters, to evaluate their respective potential to prevent the formation of algae. The treatment with silver iodide seems to affect the properties of the diffusive gel and changes the flux measurements of the DGT device. The DGT response observed using the copper iodide and chloramphenicol treatments was not significantly different from the control. Glutaraldehyde changed the macroproperties of the diffusive gel and interfered with the phosphorus detection using spectrophotometric determinations. The effect of the anti-biofilm treatments on the DGT measurements was independent of pH and ionic strength of the water. For the field deployment in fish farms, copper and silver were the best anti-biofilm agents. Copper prevented algal colonisation for 14-d post-deployment and the response was unaffected by the anti-biofilm agent throughout this period. Silver was even better and prevented biofilm formation up to a 21-d post-deployment. Conversely, chloramphenicol did not prevent algal colonisation for the 14- and 21-d deployments. However, for deployments longer than 14 days, it was difficult to obtain consistently good results for all of anti-biofilm agents tested, due to the high concentration of suspended matter in the freshwater effluents of the fish farms tested. This approach suggests a metal pre-treatment of the membrane filters is useful to prevent biofilm formation for DGT deployments aimed at P measurements. DGT deployments for metal measurements would likely require a different approach.

**List of Keywords: Phosphorus, phosphate, Aquaculture, DGT, in situ measurement, biofilm, anti-biofilm agent, filters**

### 2.2.2 Introduction

The DGT technique is an *in situ* method for measuring labile species in water, soils and sediments [1-5]. It directly integrates actual concentrations in the field, and with built-in preconcentration there is a reduced risk of contaminating the samples before their analysis in the laboratory. The DGT device consists of two gel layers, the diffusive polyacrylamide gel and the binding layer, which is made using a gel impregnated with Chelex for metals or with Fe-oxide ( $\text{Fe}_5\text{O}_3(\text{OH})_9$ ) for phosphorus [5]. On the top of those two gel layers, there is a polysulfone membrane to minimize particles sticking to the surface. The labile species, reactive phosphate ( $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ ,  $\text{HPO}_4^{2-}$ ,  $\text{PO}_4^{3-}$ ) in this case, passes through the filter and the diffusive gel and is then bound by the binding layer (Fe-oxide). The mass of the phosphorus collected by the Fe-oxide gel can be related to the solution concentration of phosphorus according to Eq. (1).

$$C = \frac{m\Delta g}{DtA} \quad (1)$$

All symbols are described in Table 1. The mass of phosphorus is calculated after elution of the Fe-oxide gel according to Eq. (2).

$$m = \frac{C_e (V_g + V_{acid})}{f_e} \quad (2)$$

It is important that the diffusion of reactive phosphorus is not impeded by fouling films. For long deployment periods in waters containing high concentrations of phosphorus and suspended matter, a surface film is likely to appear on the DGT filter and potentially affect the diffusion pathway. This surface film can be formed by algae growing on the filter, thus generating a biofilm, or it can result from the adhesion of suspended sediment particles onto the filter. As the sediment particles contain microorganisms, they can encourage the growth of

algae on the surface of the filter. The aim of this study was to reduce the growth of algae to enable deployment of DGT devices for longer periods.

Most exposed surfaces in natural water are colonized by micro-organisms in biofilms, including DGT device surfaces. The characteristics of biofilms vary widely and depend on their environment. Several studies have shown that biofilm growth does not afford any additional bacterial resistance against metal toxicity [6-8]. Biofilm formation can be a nuisance in many diverse applications and several approaches have been investigated to eliminate them. Trace metals have also been shown to be useful as antimicrobials and disinfectants in recent medical and industrial anti-biofilm applications [8]. Harrison et al. [6] compared the effects of pharmaceutical antibiotics and various metals on biofilm formation. According to these studies, the trace metals most effective at preventing biofilm formation are silver, mercury and copper. The effectiveness of the metal depends on the tolerance of the bacterial community in the biofilm. Biofilm bacteria have also been shown to have a 10- to 100-fold increased tolerance to antibiotics relative to their tolerance to trace metals [7,9]. Several antibiotics have been tried for various types of microbial communities that form biofilms; their effectiveness varies according to the tolerance of the biofilm to the antibiotic. Microbial populations in drinking water are commonly controlled by chlorination, using free chlorine or monochloramines [10,11]. Alternatively, bismuth thiols have been suggested for the elimination of biofilms in drinking water [12,13]. Similar to copper and silver ions, the bismuth thiols show more persistent residual effects on biofilm control than chlorine and hyper heating. Many of those approaches introduce compounds into the water that would potentially be toxic and difficult to apply within the context of freshwater aquaculture.

In this work, concerned with the prevention of algal growth on DGT devices, the algacide potential of silver and copper and two antibiotics, chloramphenicol and glutaraldehyde was

investigated. Two alternative types of filter, a Nucleopore membrane and a silver membrane (SKC, Eighty Four, PA, USA), were also tested for their potential to prevent the formation of biofilms. The potential interference of these reagents on the phosphorus determinations was investigated, and DGT performance was tested in natural water, i.e., directly in fish farm ponds. The addition of high concentrations of metals on the filter surfaces has a significant potential to interact with P, which could lead to sorption or precipitation of metal-phosphate mineral phases. Our objectives are to evaluate the efficiency of the various agents tested to prevent biofilm development and to determine whether the anti-biofilm agents interfere with the diffusion properties of the gels.

**Table 1 Parameters for the equations of the DGT techniques<sup>[3]</sup>**

Parameters	Units	Description
C	$\mu\text{g P L}^{-1}$	concentration of the reactive phosphorus species ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) in the bulk solution
M	ng	Mass of P in the resin
$\Delta g$	cm	Diffusion layer thickness
D	$\text{cm}^2\text{s}^{-1}$	Diffusion coefficient in diffusion gel
T	sec	Deployment time
A	$\text{cm}^2$	Surface area of binding layer
$C_c$	$\mu\text{g P L}^{-1}$	Concentration of P in the elution solution
$V_g$	ml	Volume of the binding gel
$V_c$	ml	Volume of $\text{H}_2\text{SO}_4$ added to the binding gel for the extraction
$f_c$	Dimensionless	Extraction factor

## **2.2.3 Experimental**

### **2.2.3.1 Antibiotic solutions**

Chloramphenicol (Sigma) solutions were prepared in double-distilled water at concentrations of 10 mM, 5 mM, 2 mM and 0.5 mM and glutaraldehyde (Sigma) solutions were prepared at concentrations of 5 M, 3 M, 1 M and 0.5M. They were stored in Polyethylene (PE) bottles at 4°C. The filters and diffusive gel discs were soaked in the solutions for a minimum of 24 hours.

### **2.2.3.2 Metal solutions**

Silver nitrate ( $\text{AgNO}_3$ ), copper nitrate ( $\text{CuNO}_3$ ) and potassium iodide (KI) were obtained from Fisher Scientific (UK and Canada). All metal solutions were made up in double-distilled water and stored in PE bottles at 20°C. Filters were immersed in 0.01 M solutions of silver nitrate and copper nitrate for a minimum of 24 hours, with shaking throughout this period. Filters were then transferred into a 0.1 M potassium iodide solution and shaken for a minimum of 24 hours.  $\text{Cu}^{2+}$  and  $\text{Ag}^+$  ions react with iodide to form solid phase  $\text{AgI}$  and  $\text{CuI}_2$  in the filter.

### **2.2.3.3 Preparation of DGT devices**

The diffusive gel and oxide-gel were made identically to the DGT Research Ltd method (Zhang et al. 1998). Briefly, the diffusive gel was made with a polyacrylamide gel solution comprising 15% V/V acrylamide and 0.3% V/V cross-linker. To initiate polymerisation, 10% (W/V) ammonium persulfate (70  $\mu\text{l}$ ) and 20  $\mu\text{l}$  of TEMED catalyst were added to 10 ml of the polyacrylamide gel solution. The solution was immediately pipetted between two glass plates



separated by plastic spacers and then incubated at  $42\pm 2^\circ\text{C}$  for 45 min. After hydration and copious washing, the thickness of the diffusive gel discs was 0.80 mm.

The oxide-gel is a binding layer of gel impregnated with iron hydroxide. It was formed with 3 g of ferrihydrite slurried into 10 ml of gel solution. Then the same casting procedure as for the diffusive gel was used. The thickness of the hydrated oxide-gel was 0.60 mm.

The standard piston-type DGT devices were used. The flat face of the piston receives in sequence, a disc of oxide-gel, a disc of diffusive gel and a polysulfone filter membrane (0.45 $\mu\text{m}$  pore size). The tightly fitting plastic cap had an exposure window of 3.14  $\text{cm}^2$  that allowed contact of the membrane with the solution. The filter membranes, treated with the various anti-biofilm agents, and the antibiotics in the diffusive gel, were tested alongside normal filters (controls with no agent).

#### **2.2.3.4 Tests on the DGT response**

DGT measurements in the laboratory were made in well-stirred  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (200  $\mu\text{g P / L}$ ) solutions (2 L) at constant temperature ( $20 \pm 1^\circ\text{C}$ ). For all tests, each type of DGT device was deployed in triplicate and a minimum of two DGT control devices without any anti-biofilm agent were deployed in the same solution as the other DGT devices.

The reactive phosphorus collected by the oxide gel resin was extract with 0.25 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  acid and measured spectrophotometrically (Cecil CE 1011) using the phosphomolybdenum blue method. The detection limit is around 0.03  $\text{mg P / L}$  and we measured a 100% elution efficiency [1].

In the initial tests, the DGT devices were deployed for 4 hours in  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  solution ( $200 \mu\text{g P / L}$ ) at pH 6. To study the effect of pH variations, the immersion solution was adjusted with dilute ( $\sim 0.1 \text{ M}$ ) NaOH or HCl in the pH range 3 to 7.5. The effect of ionic strength was investigated by adjusting the  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $200 \mu\text{g P / L}$ ) solutions with either  $\text{NaNO}_3$  or  $\text{NaCl}$ , with final Na concentrations ranging from  $1 \times 10^{-4} \text{ M}$  to  $0.5 \text{ M}$ . All deployments for a given solution were analysed within a single batch.

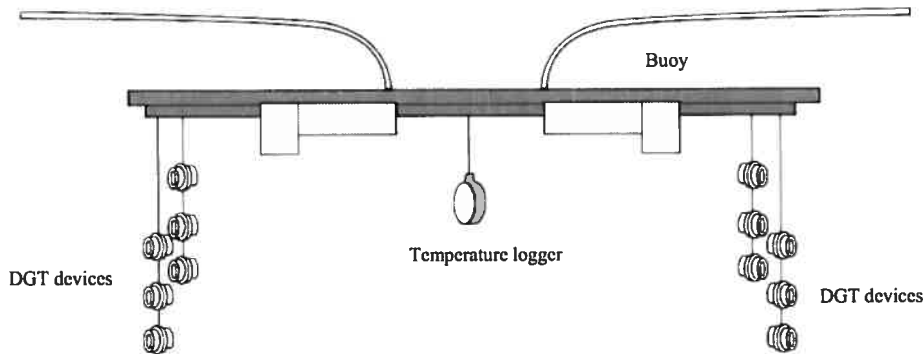
#### **2.2.3.5 Deployment in spiked water.**

We obtained a nutrient-rich water by increasing P to about  $100 \mu\text{g / L}$  in an aquarium by adding  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  to 10 L of natural water collected from Lake Carter (Lancaster University, Lancaster, UK). Triplicate DGT devices with different types of anti-biofilm agents were deployed in the aquarium for 20 days; 1)  $\text{CuI}_2$ , 2)  $\text{AgI}$ , 3) Nucleopore membranes and 4) controls with normal polysulfone filter membranes.

#### **2.2.3.6 Deployment in fish farm waters**

Deployments lasting up to 21 days were made in ponds operated as freshwater fish farms in Lancashire, UK. Triplicate DGT devices, comprising controls and devices treated with silver, copper and chloramphenicol were used. The DGT station set-up is illustrated in Fig. 8. DGT devices were attached with a fishing line to a buoy that maintained them all at a depth of 0.1-0.2m. To record the temperature, a data logger (StowAway Tidbit) was attached to the buoy for the duration of the deployment. During the 21-d assay, the 4 types of DGT devices were also deployed in triplicate for 4, 7 and 14 days. At each deployment and retrieval of the DGT devices, water samples were collected into 100-ml PE bottles and the temperature was

recorded. The mass of biofilm material that collected on the membranes was estimated by weighing unused membranes and those from the deployments (all dried at 85°C).



**Figure 8 - DGT station set-up**

## **2.2.4 Results and discussion**

### **2.2.4.1 Test in synthetic solutions**

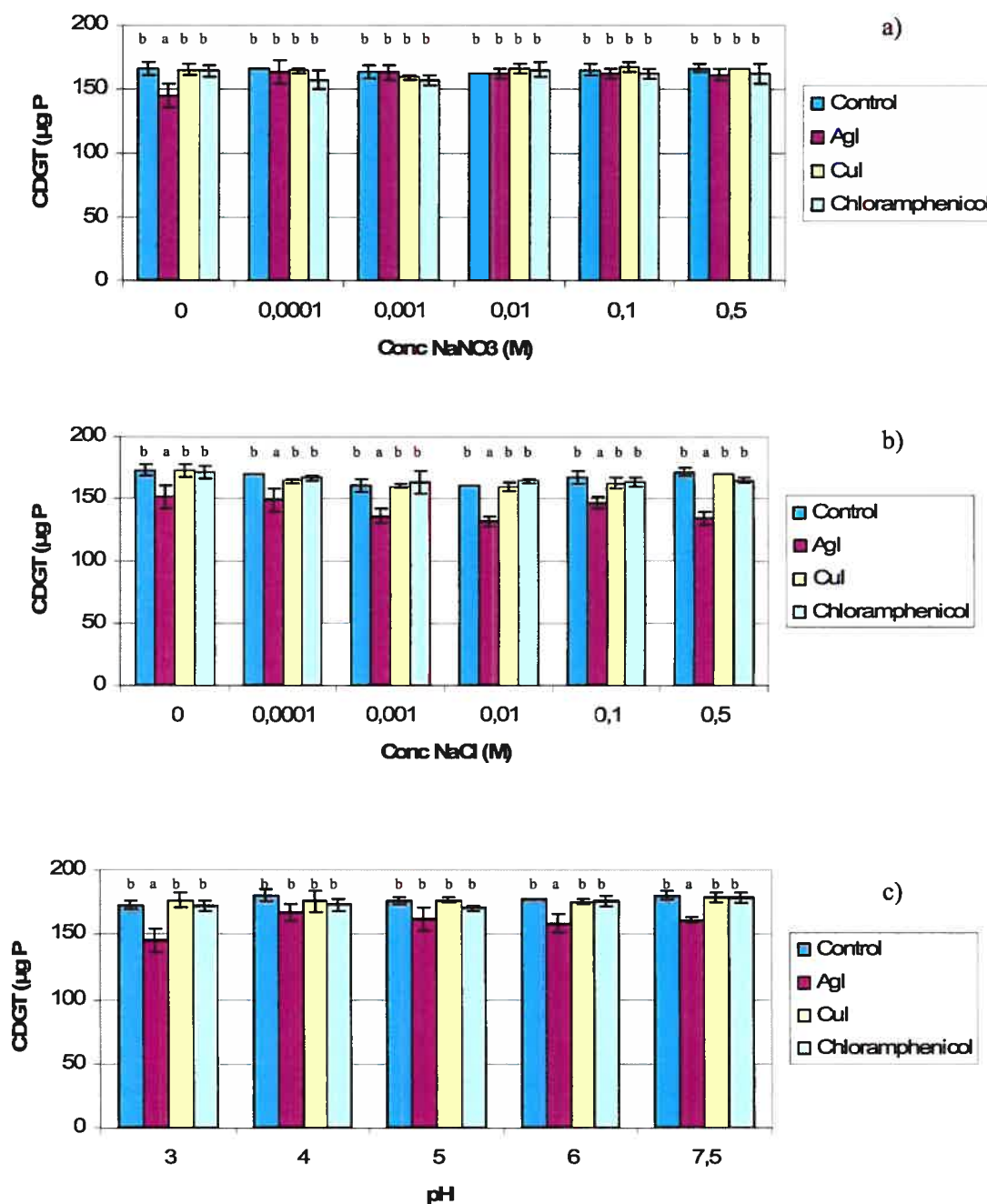
To maintain the measurement capabilities of DGT, the anti-biofilm agent must not modify the properties of the binding gel or affect the transport of phosphate across the cellulose nitrate membrane and the diffusive gel. DGT measurements in a solution of  $200 \mu\text{g P L}^{-1}$  showed that one of the two antibiotics, glutaraldehyde, changed the properties of the diffusive gel by reducing its thickness by  $14 \pm 2\%$ . Furthermore, glutaraldehyde interferes with the colorimetric determination of phosphorus by introducing an absorbance at a wavelength of 882 nm, preventing us from quantifying the response. As it was not possible to measure phosphorus correctly with the phosphomolybdene blue method in the presence of this antibiotic, it was not used in further trials.

The response of DGT devices impregnated with the anti-biofilm agents were tested for a range of pH and ionic strengths (Figure 9). Statistical treatment of the results was undertaken using the software SPSS 11.5. for Windows. The variance analysis used the Hukey post-hoc test. Only devices containing the silver salt showed any effects associated with the concentration of ions in solution. All other measurements were unaffected by pH and ionic strength. For the control devices this agrees with the previous findings of Zhang et al. [1]. For devices with the silver treatment, we measured a smaller concentration than in the control DGT device at pH 3, 6 and 7.5 and for all the solutions where NaCl was added. In all these solutions, the DGT measurement was suppressed to a similar extent ( $14\pm 3\%$ ). For the pH 4 and 5 solutions, the measurements were not significantly different from the response of the control DGT devices. Moreover, when  $\text{NaNO}_3$  was added, there was no apparent effect attributable to the presence of the silver salt. These results suggest that the interaction of Ag and chloride ions may affect the DGT response. We could speculate that a mineral form or ternary precipitate combines Ag, Cl and P thus retaining P and hindering its diffusion but, there is no mechanistic evidence for this. As the introduction of copper and chloramphenicol did not adversely affect the DGT performance, it is reasonable to deploy DGT devices with these anti-biofilm agents in both acid and circumneutral natural waters. Moreover, even the devices containing silver would not be expected to have large errors.

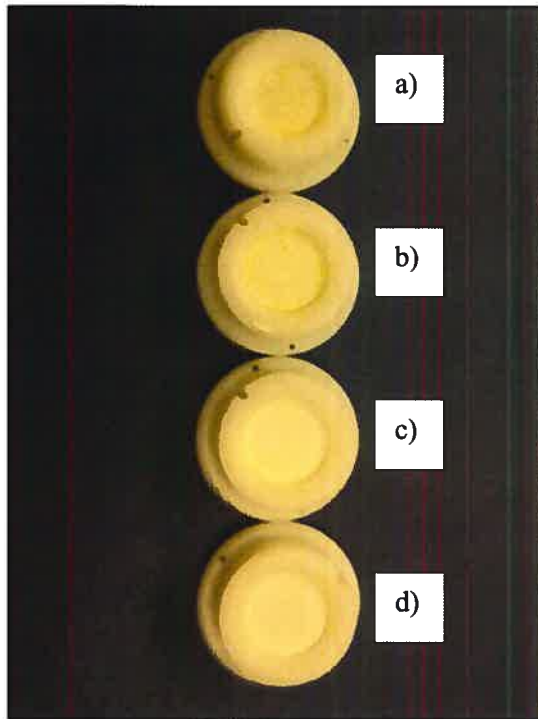
#### **2.2.4.2 Tests in natural water spiked with phosphate**

An algal layer developed on the control polysulfone membranes as well as on the nucleopore membranes of the DGT devices deployed in the aquarium for 20 days (Figure 10 - DGT devices deployed for 20 d in the aquarium with  $100 \mu\text{g P L}^{-1}$ . DGT devices with a) normal

cellulose nitrate membranes, b) Nucleopore membranes, c) cellulose nitrate membranes containing silver iodide, d) cellulose nitrate membranes containing copper iodide.). The Nucleopore membrane is a smooth sheet of polycarbonate with regular holes while the polysulfone membrane consists of a mat of fibres. This textural difference between the membranes does not prevent the formation of algae on their surfaces. No algal growth was observed on the polysulfone membranes containing copper or silver iodide. The toxicity of these two metals seems to prevent the growth of the algae on the surface of the filters.



**Figure 9 - The mass of P accumulated by the DGT devices when exposed to phosphate solutions containing different concentrations of  $\text{NaNO}_3$  (a) and  $\text{NaCl}$  (b) and solutions at different pH (c). Bars represent the mean and standard deviation of 3 replicates; means followed by the same letter are not statistically different (Tukey's B post hoc test  $p > 0.05$ ).**



**Figure 10 - DGT devices deployed for 20 d in the aquarium with  $100 \mu\text{g P L}^{-1}$ . DGT devices with a) normal cellulose nitrate membranes, b) Nucleopore membranes, c) cellulose nitrate membranes containing silver iodide, d) cellulose nitrate membranes containing copper iodide.**

#### **2.2.4.3 In situ DGT measurements in fish farms**

To evaluate the performance of the anti-biofilm agents in the field, DGT devices were deployed *in situ* in the ponds of two fish farms in Lancashire (UK): Bentham Trout Farm and Bank House. They contained high concentrations of suspended matter and between 10 to 40  $\mu\text{g P L}^{-1}$  of reactive phosphorus. The suspended matter, which was higher in Bentham Trout Farm, was composed of excess fish food, feces and other particles coming from resuspended sediments.

**Table 2 Mass (mg) of algae accumulated on the filter membranes after deployment in the two fish farms tested.**

**Bentham Trout Farm**

Deployment time	DGT control	DGT AgI	DGT CuI <sub>2</sub>	DGT Chloramphenicol
4 days	0,0	0,6	0,3	1,2
7 days	0,9	0,1	1,4	0,0
14 days	28,8	1,1	8,8	15,8
21 days	39,1	8,2	29,6	30,4

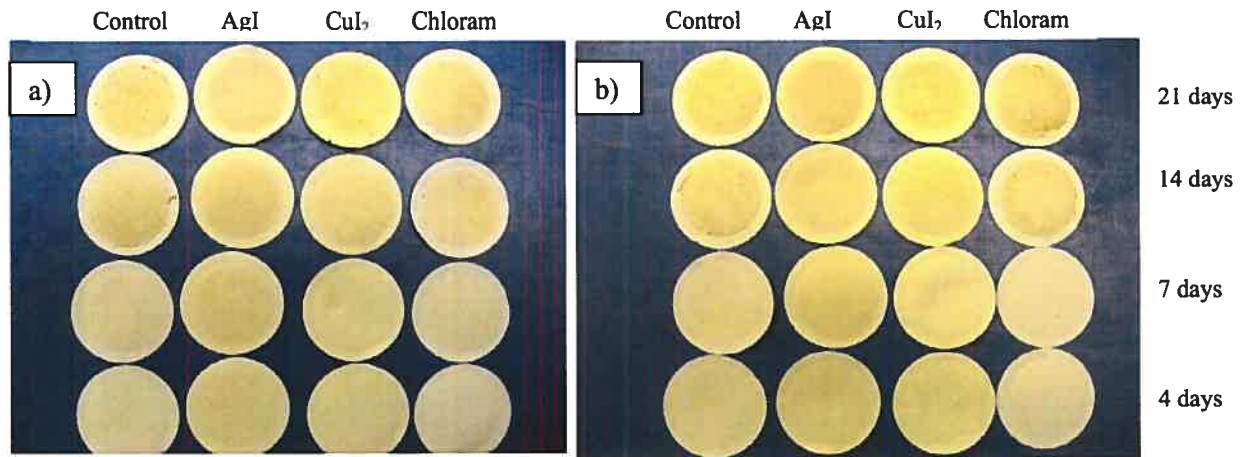
**Bank House**

Deployment time	DGT control	DGT AgI	DGT CuI <sub>2</sub>	DGT Chloramphenicol
4 days	1,6	1,8	0,6	1,4
7 days	1,8	1,6	0,3	1,5
14 days	24,5	1,4	15,9	8,6
21 days	28,3	8,5	27,9	26,5

Two distinct types of deposits developed, representing algal growth and adhesion of suspended material. The algal biofilms were visible on devices deployed for 14 and 21 days and were more pronounced on the DGT devices deployed in the Bentham Trout farm (Figure 11 - Growth of algae on filter membrane after deployment in fish farms. a) Deployment in Bentham Trout Farm b) Deployment in Bank House.). Table 2 shows the mass of algal growth on the surface of cellulose nitrate membranes illustrated in Figure 11. Silver iodide appeared to be most effective at preventing biofilm formation, as the mass that accumulated is least in this case. It clearly suppressed the growth of algae for up to 21 days. While there was some evidence that both copper iodide and chloramphenicol limited the growth of algae on the surface of filters up to 14 days, there were minimal effects after 21 days. For deployment



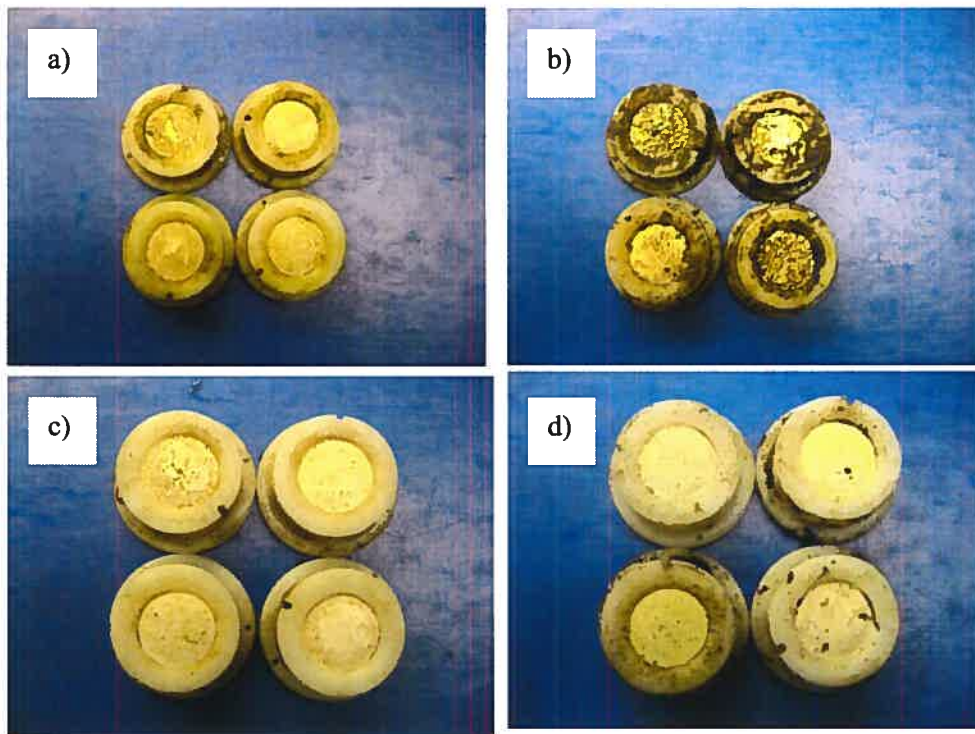
times less than 7 days in these fish farm waters there appears to be no problem due to algal growth, even for DGT devices without biocides. The deposits on the filter membranes due to the adhesion of suspended material are illustrated in Figure 12 for devices retrieved after 14 and 21 d, particularly for the Bentham Trout Farm where these deposits were much more pronounced after 21 days of deployment.



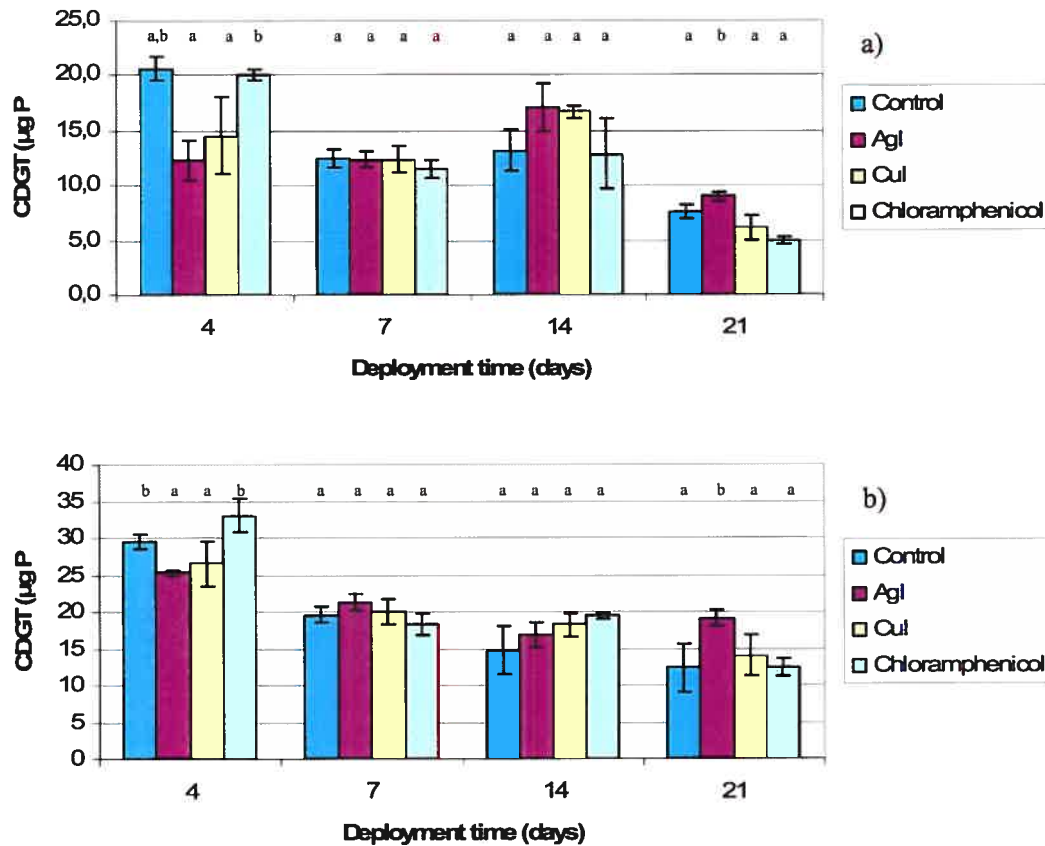
**Figure 11 - Growth of algae on filter membrane after deployment in fish farms. a) Deployment in Bentham Trout Farm b) Deployment in Bank House.**

The concentrations of phosphorus measured by the four different types of DGT devices,  $C_{DGT}$ , were compared for each fish farm and are shown in Figure 13. For the two fisheries, we obtain generally higher concentration measured by DGT for the first 4 days, because we directly measured concentrations in water change with the time. Indeed, the concentrations of phosphorus in water were higher at the beginning of the deployment and they decreased after 4 days of deployment. Deployments of 7 and 14 days in both fish farms showed similar  $C_{DGT}$  for all the DGT devices. After 21 days  $C_{DGT}$  was higher for devices treated with AgI than the other devices. Thus the incorporation of a biocide does not appear to have affected the results until 14 days, but for 21 days the silver iodide biocide increased the response. It appears that

the biofilm that grows on the surface of the filter membrane in both fish farms prevents the reactive phosphorus from passing through the filter at 21 days.



**Figure 12 – Adhesion of suspended materials on DGT devices after deployment in fish farms. Deployments were: a) 14 days in Bentham Trout Farm, b) 21 days in Bentham Trout Farm, c) 14 days in Bank House, d) 21 days in Bank House. For all pictures, the top left device of the picture is the DGT control, the right top device is the DGT with copper iodide, the bottom left device is the DGT with silver iodide and the bottom right device is the DGT with chloramphenicol.**



**Figure 13** Concentration of phosphorus measured by DGT devices,  $C_{DGT}$ , for each deployment a) Bentham Trout farm, b) Bank House farm. Bars represent the mean response of 3 replicates; means followed by the same letter are not statistically different (Tukey's B post hoc test  $p > 0.05$ )

A silver membrane filter was investigated to prevent biofilm formation. This filter is made of pure metallic silver (99.97%) with 0.45- $\mu\text{m}$  pore size and used to replace the usual membrane filter of the DGT device. Three DGT devices with the silver membrane were deployed in Chartierville and Artabaska fishfarms (Québec, Canada) along with three DGT devices containing a control treatment (standard DGT) and a  $\text{CuI}_2$ -treated polysulfone membrane. Table 3 shows the result obtained during a 48-hours deployment in the two fisheries. We observed that the responses of the devices treated with  $\text{CuI}_2$  were close to the control devices. However, the responses obtained by the DGT with the silver membrane were variable.

Indeed, it seems that there is a phosphorus contamination originating from the silver membrane filter and for short deployment times (less than 24 hours), the values were higher than the control. This problem does not appear for 48 hours deployments, but this is probably due to a coneracting artefact reducing diffusion across the gel, i.e., following the deployment of the DGT devices, the silver membrane filter tarnished and the diffusive and binding gels became red and more elastic. Given those difficulties, no further tests were made using the silver membrane filters.

**Table 3 Concentration of reactive phosphorus ( $\mu\text{g P / L}$ ) measured with 3 different types of DGT devices in two fisheries at Québec, Canada. Means of 3 replicates are shown with standard deviation.**

#### Chartierville

Deployment time	$C_{\text{DGT control}}$	$C_{\text{DGT Ag}}$	$C_{\text{DGT CuI}_2}$
12 hours	40±3	88±1	41±1
24 hours	38±3	58±10	36±2
48 hours	38±1	36±4	42±8

#### Artabaska

Deployment time	$C_{\text{DGT control}}$	$C_{\text{DGT Ag}}$	$C_{\text{DGT CuI}_2}$
12 hours	116±2	175±74	115±1
24 hours	108±1	98±8	102±9
48 hours	94±2	79±8	91±1

### 2.2.5 Conclusion

This study has demonstrated that it is possible to prevent algal biofilm formation on the surfaces of DGT devices using different anti-biofilm agents. Laboratory tests on solutions spanning a range of pH and ionic strengths showed that the mass of P accumulated by DGT

devices containing copper iodide and chloramphenicol was similar to that accumulated by control DGT devices in all solutions. It might still be pertinent to test for pH effects for applications in alkaline waters above pH 7.5. The presence of silver iodide in the diffusive gel and filter membrane reduced the amount of phosphorus accumulated by up to 14% in some solutions, particularly those containing chloride ions. Variations in pH (3-7.5) and ionic strength did not affect the response of the DGT devices with the different anti-biofilm agents.

Deployments in the laboratory in a natural water spiked with phosphate and *in situ* in fish farms showed that silver iodide was most effective at preventing algal growth. Both copper iodide and chloramphenicol were partially effective in preventing the formation of algae. For deployments longer than 14 days in the fish farm waters, the major problem was the adherence of suspended material to the membrane surface.

For the long deployment periods of DGT devices in freshwater containing a high concentration of nutrients that promote algal growth, the addition of copper or silver iodide to the membrane filters will help to prevent the formation of algae on the surface of polysulfone membrane. These two metals appear to be more effective than antibiotics in limiting algal growth in this environment. While silver iodide seems to be more effective than copper iodide, there is some evidence that it may affect the DGT measurement, whereas copper iodide does not appear to interfere with the DGT measurements. Unfortunately, a copper treatment is very likely to interfere with metal measurements and deployments of DGT units for metal measurements would require a different approach.

### Acknowledgements

We are grateful for the help of Debbie Hurst in the field work and for the financial support from the program 'Action concertée pour le soutien stratégique à la promotion et à la consolidation de la recherche sur l'environnement rural' of the 'Fonds de recherche sur la nature et les technologies du Québec'.

### 2.2.6 References

- [1] H. Zhang, W. Davison, R. Gadi and T. Kobayashi, *Anal. Chim. Acta*, 370 (1998) 29-38
- [2] N. Odzak, D. Kistler, H. Xue and L. Sigg, *Aquat. Sci.*, 64 (2002) 292-299
- [3] S. Alcock, D. Barcelo and P.-D. Hansen, *Biosensors and Bioelectronics*, 00 (2002) 1-7
- [4] J. Rachou, W. Hendershot and S. Sauvé, *Comm. Soil Sci. Plant Anal.*, 35 (2004) 2655-2673
- [5] H. Zhang and W. Davison, *Anal. Chem.*, 67 (1995) 3391-3400
- [6] J.J. Harrison, J.T. Raymond and C. Howard, *BMC Microbiology*, 5 (2005) 53
- [7] J.J. Harrison, C. Howard, C.A. Stremick and R. Turner, *J Environ. Microbiology*, 6 (2004) 1220-1227
- [8] C. Geslin, J. Llanos, D. Prieur and C. Jeanthon, *Res. Microbiology*, 152 (2001) 901-905
- [9] M.E. Olson, C. Howard, D.W. Morck, A.G. Buret and R.R. Read, *The Canadian Journal of Veterinary Research*, 66 (2002) 86-92
- [10] P.S. Stewart, J. Rayner, F. Roe and W.M. Rees, *Journal of Applied Microbiology*, 91 (2001) 525-532
- [11] A.K. Camper, *International Journal of Food Microbiology*, 92 (2004), 355-364

[12] F. Codony, J. Morato, F. Ribas and J. Mas, *Journal Basic Microbiology*, 42 (2002)  
311-319

[13] F. Codony, P. Domenico and J. Mas, *Journal of Applied Microbiology*, 95 (2003)  
288-293

### 3 Article 2

#### 3.1 *Notes sur l'article rédigé*

Le deuxième article, intitulé “ Using Diffusive Gradients in Thin-Films for in situ monitoring of phosphorus emissions from freshwater aquaculture” a été soumis à la revue Journal of Environmental Monitoring le 7 décembre 2006. L'**introduction** de l'article reprend quelques éléments discutés dans la section théorique de ce mémoire, mais va plus en détails sur l'application du DGT dans les eaux douces d'aquaculture. La **partie expérimentale** décrit en détails le travail de terrain effectué. La section **résultats et discussion** donne et explique les résultats obtenus lors des déploiements effectués sur le terrain. On y discute de l'efficacité et la reproductibilité des unités de DGT en comparaison avec la méthode standard par fractionnement. Dans cette section, on compare également les différentes piscicultures étudiées soit au Québec et en Angleterre. La **conclusion** de l'article résume les résultats obtenus ainsi qu'une interprétation possible de ces résultats dans une optique d'utilisation éventuelle de la technique du DGT pour une mesure «in situ» du phosphore réactif dans plusieurs domaines où il y a utilisation de l'eau naturelle.



### ***3.2 Using Diffusive Gradients in Thin-Films for in situ monitoring of phosphorus emissions from freshwater aquaculture***

Catherine Pichette

*Environmental Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, Université de Montréal, PO 6128 Centre-ville, Montreal, QC, Canada, H3C 3J7. Tel: 1 514 343-6111 #3971, Fax: 1 514 343-7596, e-mail: [REDACTED]*

Hao Zhang

*Environmental Science, IENS, Lancaster University, Lancaster, UK, LA1 4YQ, Tel : 44(0)15245-93899, e-mail [REDACTED]*

William Davison

*Environmental Science, IENS, Lancaster University, Lancaster, UK, LA1 4YQ, Tel : 44(0)15245-93935, e-mail : [REDACTED]*

Sébastien Sauvé

*Environmental Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, Université de Montréal, PO 6128 Centre-ville, Montreal, QC, Canada, H3C 3J7. Tel: 1 514 343-6749, Fax: 1 514 343-7596, e-mail: [REDACTED]*

#### **3.2.1 Abstract**

The high concentrations of phosphorus and suspended matter in freshwater aquaculture are often an environmental concern and given the difficulties for sample preservation, an «in situ» monitoring tool would be most useful. The diffusive gradients in thin-films (DGT) technique can be used for on site monitoring and also has the advantage to integrate measurements over time and thus partly record ephemeral concentrations peaks. In this study, several DGT deployments were done in fisheries in Québec, Canada and Lancashire, UK. The results

obtained using the DGT technique were compared with standard measurements. The deployment periods varied from 24 h to 21 d. The results show that the DGT technique can be used to measure reactive phosphorus in freshwater aquaculture up to 4-d deployment periods before biofilm buildup on the DGT device begins to interfere with diffusion and measurements. We obtained a great reproducibility in the measure of phosphorus and moreover, this technique integrates daily and hourly variations of phosphorus and the DGT sampler is easy to use and deploy.

### 3.2.2 Introduction

Phosphorus plays a key role in the eutrophication of surface waters. The main impact of elevated phosphorus concentrations in rivers or lakes is to promote plant growth which then causes detrimental effects on ecosystem quality and functioning<sup>1,2,3</sup>. Phosphorus occurs in natural waters almost solely as phosphates. These are classified as orthophosphates, condensed phosphates and organically-bound phosphate. Phosphorus occurs in solution, dissolved, within particles or detritus, or in the bodies of aquatic organisms. These different forms of phosphate arise from a variety of anthropogenic and natural sources. It can come from fertilizers and other agricultural amendments, wastewaters, farm wastes and products and the degradation of organic matter<sup>3,4</sup>.

Several methods can be used to quantify phosphorus in natural waters<sup>5,6,7,8,9</sup>. The conventional method to measure phosphorus in water is based on a standardized fractionation scheme<sup>4</sup>. This method measures reactive phosphorus directly by colorimetry, inorganic phosphorus by acid hydrolysis and total phosphorus by persulfate digestion. The phosphorus is usually quantified by a spectrophotometric determination using the phosphomolybdenum blue

method. A new approach to quantify phosphorus in the environment is the diffusive gradient in thin-films (DGT) technique. This technique has been applied to the *in situ* measurements of the dissolved phosphorus in natural waters<sup>10,11</sup>. Due to the dynamic interactions of phosphorus species in natural water, the concentration of individual species may change when samples are stored. Thus this technique allows an *in situ* measurement of reactive phosphorus. In this study, our objective is to use the DGT technique developed by Zhang et al. (1998)<sup>10</sup> in aquaculture freshwaters where there is a high content of suspended matter and phosphorus which could possibly hinder the measurements of reactive phosphorus. Indeed, the high concentrations of phosphorus in freshwater have been shown to promote biofilm buildup on DGT devices<sup>10,11</sup>.

The aim of this study is to measure «in situ», the concentration of phosphorus in real water in fish farm effluents using the DGT method. Phosphorus concentrations in fish farm effluents are expected to vary from 30 to 300 µg P/L depending on fish farm volume, management, water quality and site characteristics. Given that P concentrations at the same site also vary over time and are prone to diurnal and nocturnal variations, DGT sampling presents an interesting tool that allows an environmental monitoring integrating hourly or daily variations. One of the difficulties that this approach presents is that the DGT will absorb reactive phosphorus species whereas environment regulations are usually based on total emissions into the environment.

Within the framework of this study, the objectives are to compare the DGT measurements of phosphorus in aquaculture effluents *in situ* with what is determined using a standardized fractionation scheme<sup>4</sup> and to evaluate maximum practical time for *in situ* exposure of the DGT samplers before biofilm buildup.

### 3.2.3 Methods

#### 3.2.3.1 DGT technique

The DGT technique has been described in details previously<sup>10,11,12</sup>. Briefly, the DGT technique is based on Fick's first law of diffusion. A binding gel layer of thickness  $\Delta r$  is impregnated with ferrihydrite (oxide-gel) to act as a binding agent for P. This gel is separated from the solution by an ion-permeable gel membrane of thickness  $\Delta g$  (Figure 14). Between the gel layer and the bulk solution there is a diffusive boundary layer (DL) of thickness  $\delta$ , where transport of ions is solely by molecular diffusion. If  $\delta$  is negligibly small compared to  $\Delta g$ , the flux (F) of reactive phosphorus species diffused through the gel layer to the oxide-gel can be expressed by Eq. 1

$$F = \frac{D(C - C')}{\Delta g} \quad (1)$$

where D is the diffusion coefficient of the reactive phosphorus species in the diffusive layer and the values used in this present study was taken by the study of Zhang et al. 1998, C is the concentration of the reactive phosphorus species in the bulk solution, C' is the concentration at the interface between the diffusive gel and oxide-gel layer. C' is effectively zero when the diffused phosphorus species are rapidly bound by ferrihydrite. In this present work, the  $\delta$  is not negligible compared to  $\Delta g$  because the DGT devices were deployed in water with a high concentration of suspended matter. Then, the  $\delta$  needs to be added to  $\Delta g$  in the flux equation.

Reactive phosphorus species are collected by the resin in a quantitative manner, according to the diffusion of the species through the diffusive gel. The mass of reactive phosphorus collected by the resin can be related to the solution concentration of the reactive phosphorus species according to Eq. (2)

$$C = \frac{m(\Delta g + \delta)}{DtA} \quad (2)$$

where  $m$  is the mass of the dissolved phosphorus fixed by the resin oxide-gel,  $t$  the deployment time and  $A$  is the exposed area of the device. To obtain the value of DBL in solution, we report the mass of reactive phosphorus collected by the resin as a function of  $\Delta g$ . The relation of the linear curve ( $1/m$  vs  $\Delta g$ ) illustrates Eq. (3) and allows us to obtain the value of the  $\delta$ .

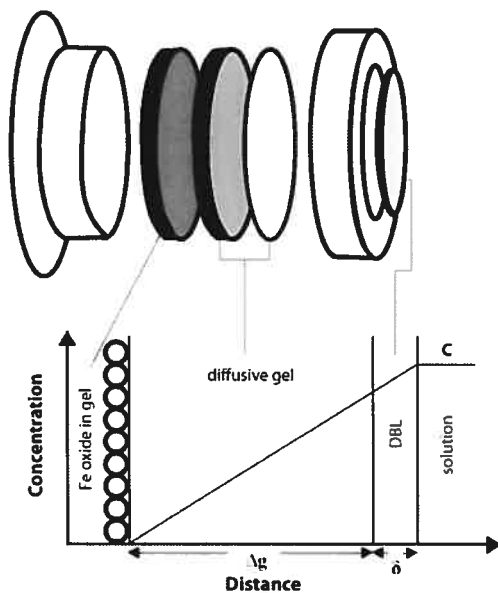
$$\frac{1}{m} = \frac{\Delta g}{DCA t} + \frac{\delta}{DCA t} \quad (3)$$

The mass of phosphorus collected by the resin oxide-gel is calculated after extraction of the resin in 0.25 M  $H_2SO_4$  according to Eq. (4).

$$m = \frac{C_e (V_g + V_{acid})}{f_e} \quad (4)$$

Where  $C_e$  is the phosphorus concentration in the acid extraction,  $V_g$  and  $V_{acid}$  the volumes of the resin gel and the acid of 0.25M  $H_2SO_4$ , and  $f_e$  is the extraction factor (the ratio of the extracted to bound reactive phosphorus species,  $f_e = 1.0$ ). The concentration of phosphorus in

the acid was measured by spectrophotometric determinations using the phosphomolybdenum blue method.



**Figure 14** Schematic representation of concentration gradients induced by DGT in the water solution

### 3.2.3.2 Preparation of oxide-gel resin, diffusive gel and DGT devices

The diffusive gel and oxide-gel were made identically to the DGT Research Ltd method<sup>11</sup>. Briefly, the diffusive gel was made with a polyacrylamide gel solution comprising 15% by volume acrylamide and 0.3% (V/V) cross-linker to initiate polymerisation, 10% (W/V) ammonium persulfate (70  $\mu$ l) and 20  $\mu$ l of TEMED catalyst were added to 10 ml of the polyacrylamide gel solution. The solution was immediately pipetted between two glass plates separated by plastic spacers and then incubated at  $42 \pm 2^\circ\text{C}$  for 45 min after hydration and copious washing, the thickness of the diffusive gel discs was 0.80 mm.

The oxide-gel is a binding layer of gel impregnated with iron oxide. It was formed with 3 g of ferrihydrite slurried into 10 ml of gel solution. Then the same casting procedure as for diffusive gel was used. The thickness of the hydrated oxide-gel was 0.60 mm.

The standard piston-type DGT devices were used. On the flat face of the piston we placed, in sequence, a disc of oxide-gel, a disc of diffusive gel, a polysulfone filter membrane (0.45- $\mu\text{m}$  pore size) and covered them with a plastic cap. The tightly fitting plastic cap had an exposure window of 3.14 cm<sup>2</sup> that allowed contact of the membrane with the solution.

### **3.2.3.3 Deployment in the fish farms.**

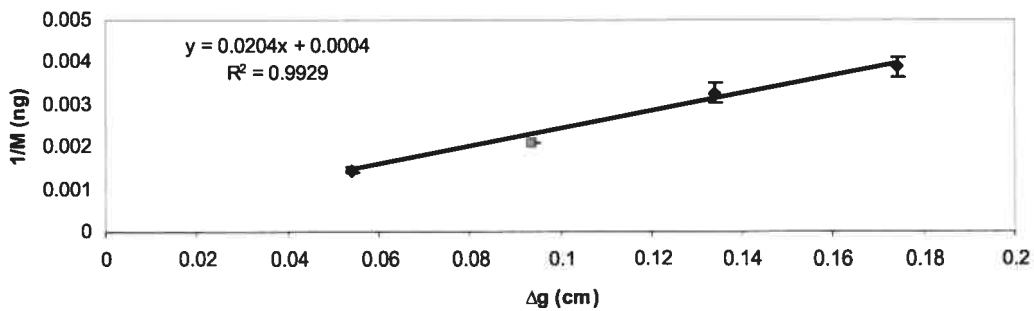
Deployments lasting up to 21 days were made in ponds operated as freshwater fish farms in Lancashire, UK and in Quebec, Canada. The DGT station set-up is illustrated in Figure 8. The DGT units were attached with a fishing line to a buoy that maintained them at a depth of 0.1-0.2 m. To record the temperature, a data logger (StowAway Tidbit) was similarly attached to the buoy for the duration of the deployments. During the 21-d deployment, the DGT devices were also deployed in triplicate for 4, 7 and 14 days. At each deployment and retrieval of the DGT devices, grab samples of the pond water were collected into 100-ml PE bottles and the temperature was recorded.

## **3.2.4 Results and discussion**

### **3.2.4.1 Determination of the DL**

When the DGT devices are deployed in aquaculture freshwaters containing high concentrations of suspended matter, a layer is formed around the surface of the filter. Between the diffusive gel and the bulk solution there is a diffusive boundary layer (DL), of thickness  $\delta$

where transport of ions is solely by molecular diffusion. The thickness of the DL in solution depends on the rate of water movement. To determine the thickness of the DL in fish farm freshwaters, a deployment of three replicates DGT devices of 4 different nominal thicknesses of diffusive gels (0.40, 0.80, 1.20 and 1.60 mm) was made (DGT research)<sup>10,11</sup> were the exact thickness were measured using microscope. The responses of these DGT devices are illustrated in Figure 15. We obtained a linear relationship ( $y = mx + b$ ) and the DL is calculated by using Eq. (3). So we devised the value of  $b$  by the value of  $m$  to obtained the value of de DL ( $\delta$ ). We met a problem with DGT devices made with 0.80 mm thickness of diffusive gels. Indeed, two of the three caps used for these DGT devices broke during the deployment and caused a leakage of phosphorus. The responses of these DGT devices could therefore not be used to calculate the DL. The resulting value of DL for the deployment in freshwater of fish farm is 0.2 mm.



**Figure 15 Determination of the DBL for the deployment in aquaculture freshwater.**



### 3.2.4.2 The measurement of phosphorus in aquaculture freshwaters.

#### 3.2.4.2.1 Comparison of DGT «in situ» measurements to the standard fractionation scheme

The DGT was deployed in aquaculture freshwaters to measure the concentration of reactive phosphorus *in situ*. Figure 16 shows that the values obtained with the DGT devices are reproducible and compare well with the standardized fractionation scheme technique, *i.e.* the difference between the two values is less than 10%. This deployment was made in a fishery in Chartierville (Quebec, Canada) for a maximum duration of 24-h. A grab sample of water was taken before and after each deployment and these samples were then treated with the standard fractionation scheme method. For each deployment period, the water concentrations values are close (less than 10%) to the values obtained with the DGT devices. Moreover, the reproducibility of the DGT response was great because the standard deviation was less than 10%. For this fish farm having approximately 50  $\mu\text{g P / L}$  of dissolved phosphorus in freshwater, we obtained a good measure of dissolved phosphorus for deployment periods ranging from 6 to 24 h.

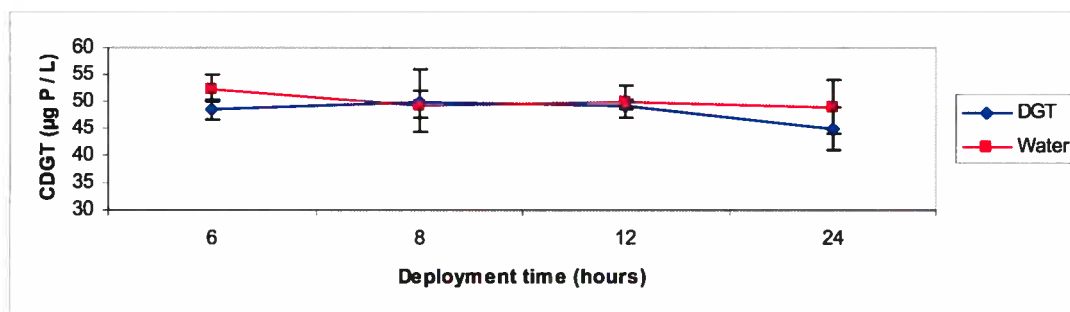
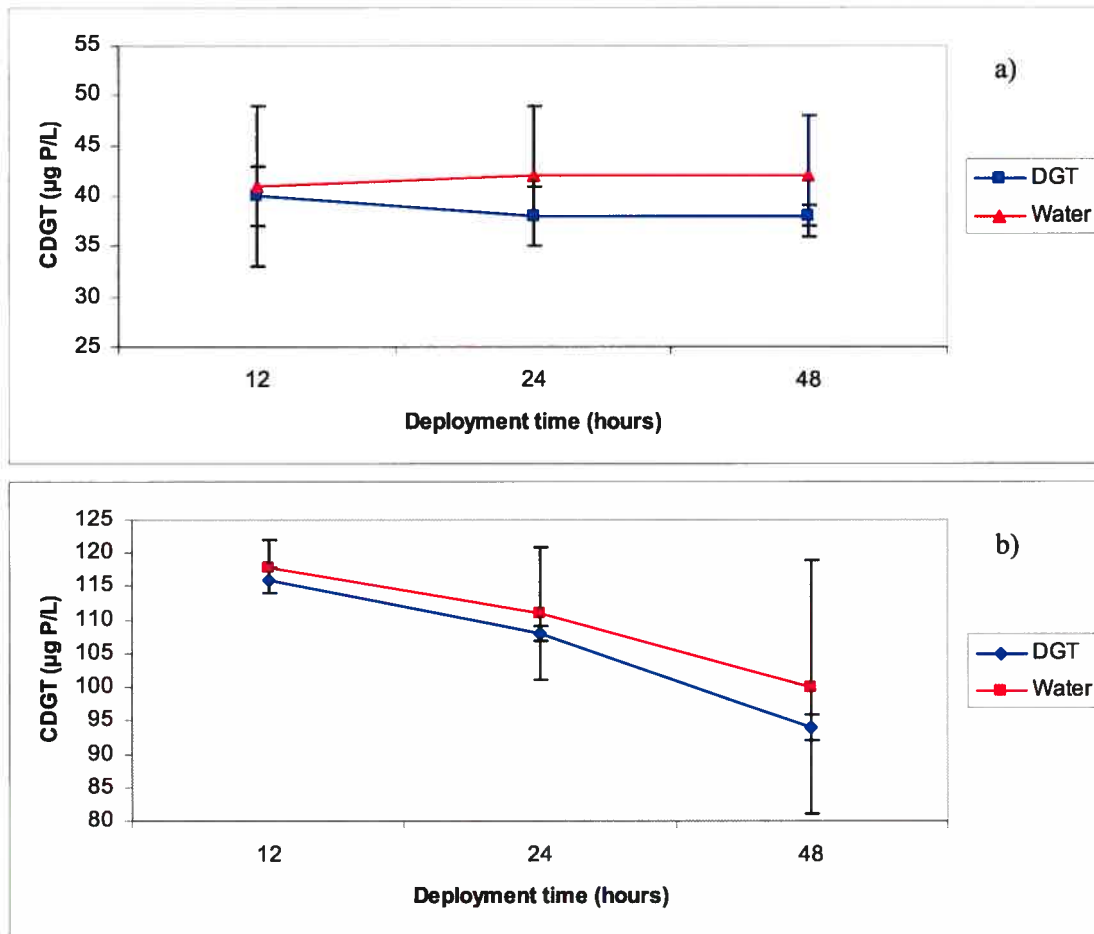


Figure 16 24-h deployment in freshwater of Chartierville fish farm at Quebec, Canada.

The second deployment was made in two fisheries in Chartierville and Arthabaska (Québec, Canada) for 48-h deployment periods. The results of these deployments are shown in Figure 17. The concentration of dissolved phosphorus in the freshwater was different in the two fish farms, i.e. the Chartierville fishery had a lower concentration of dissolved phosphorus than the Artabaska fishery. Three deployment periods were investigated to estimate the maximum deployment time before the biofilm buildup on the surface of DGT device due to the high concentration of phosphorus and the higher temperature in the aquaculture water during the summer time. In the two fish farms, the reproducibility of the DGT responses was within 10% for the various measurements replicates.

To obtain the value of the water at different deployment times with the standardized fractionation scheme method, we averaged the value obtained before and after the deployment of the DGT devices. To evaluate if this method is representative of the hourly variations in P concentrations during the exposure period, we also sampled the water every hour during 24 h within the same deployment period as the DGT units (Figure 17). We obtained the variation of the concentration of dissolved phosphorus shown in Figure 18. We calculated the average of the values of the concentration of phosphorus for 12 and 24-h and we obtained  $43 \pm 7 \mu\text{g P} / \text{L}$  for 12 h and  $40 \pm 6 \mu\text{g P} / \text{L}$  for 24 h. The values obtained with the average of the measurements before and after DGT devices deployment was  $41 \pm 8 \mu\text{g P} / \text{L}$  for 12 h and  $42 \pm 8 \mu\text{g P} / \text{L}$  for 24 h. In this case, the two methods can be used to yield a reasonable average of the concentration of dissolved phosphorus during the 24-h deployment periods because the results are quite close. In this present work, the averages of the values obtained before and after DGT devices deployment were investigated.



**Figure 17** 48-h deployments in aquaculture freshwater at Québec, Canada a) Chartierville, T ~ 18°C and b) Artabaska, T ~ 22°C.

The results obtained in Figures 16 and 17 show that the DGT technique can be used to measure the reactive phosphorus in aquaculture freshwater for up to 48-h deployment periods without biofilm buildup on the DGT devices appearing and interfering with P diffusion. Moreover, the DGT technique seems to be a better method to measure reactive phosphorus in freshwater because we observed that the DGT technique integrates hourly and daily variations contrary to specific measurements made before and after DGT deployment. This is especially interesting for aquaculture monitoring given that some processes (*e.g.* algal respiration, fish feeding, solar radiation) are specific to the daytime or night time period. Also, the use of the

DGT technique is easier than the standard fractionation scheme method because we need fewer steps to obtain the concentration of dissolved phosphorus and it is more robust for sample preservation and transport from the field to the laboratory (P adsorbed on the Fe-oxide gel is quite stable).

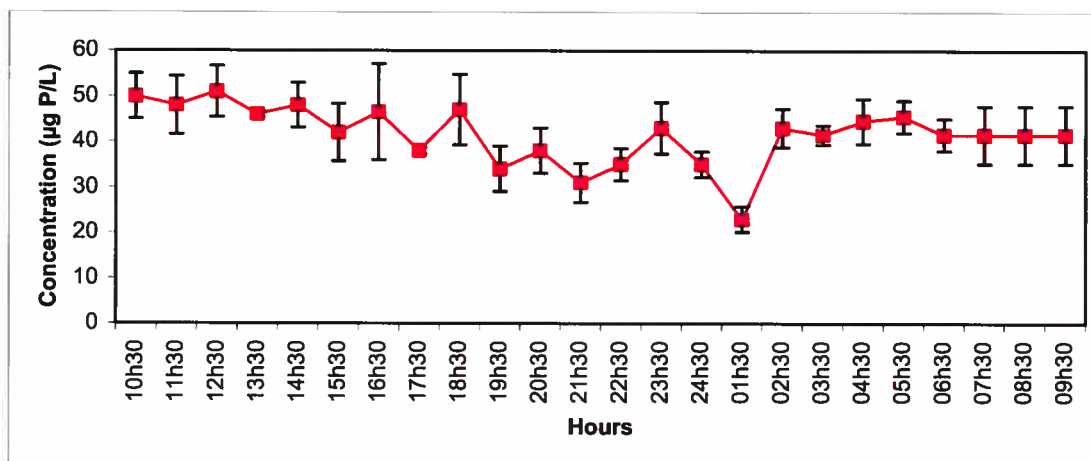


Figure 18 Sampling of water at every hours during 24 hours in Chartierville fishfarm (Quebec, Canada —July 18<sup>th</sup>-19<sup>th</sup> 2006). Represent the reactive phosphorus.

#### 3.2.4.2.2 Evaluation of the maximum practical time for in situ exposure of the DGT samplers before biofilm buildup.

At the deployment times longer than 48 h, we had some difficulties with the biofilm. Indeed, the aquaculture freshwaters we tested contain a high concentration of dissolved phosphorus that may promote a significant important growth of algae and this is especially favoured during the summer period when the water temperatures are relatively high. Moreover, due to the excrements and the excess fish food, the water contains important concentrations of suspended matter and nutrients that encourage the formation of algae. Therefore, when the DGT samplers are deployed for long periods, algae will appear on the surface of the filters

and this hinders the passage of dissolved phosphorus across the diffusive gel. Figures 19 and 20 show this problem. Figure 19 shows the results obtained in two fisheries of Québec, Canada. The maximum deployment time in the Chartierville fishfarm freshwater was 7-d at the temperature of 8°C. For the Artabaska fishfarm water, the maximum deployment period was 4-d at the temperature of 13°C. The results show that the temperature seems to significantly influence the growth of algae on the surface of the DGT devices. But having only two sites and temperature conditions, this would need to be confirmed with more data.

The other deployment was made in Lancashire, UK in two fishfarms (Figure 20). This deployment was made in February and the temperature of the freshwater was around 5°C. In this case, the major factor promoting the growth of algae was the high levels of suspended matter. Indeed, the two UK fisheries freshwaters contained a higher concentration of suspended matter than the water from the two fishfarms in Quebec. Thus, we obtained a maximum of 4-d deployment time in Bentham Trout Farm and a 7-d maximum deployment time in the Bank House fishfarm.

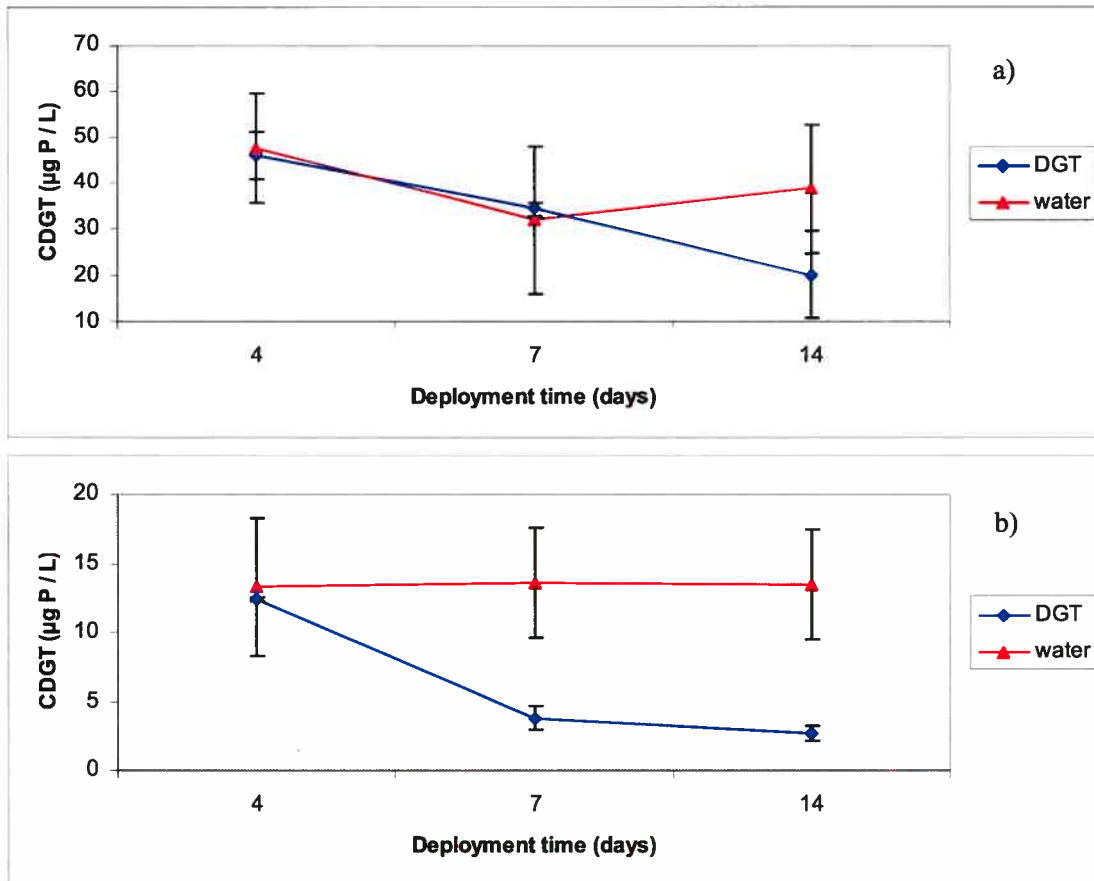
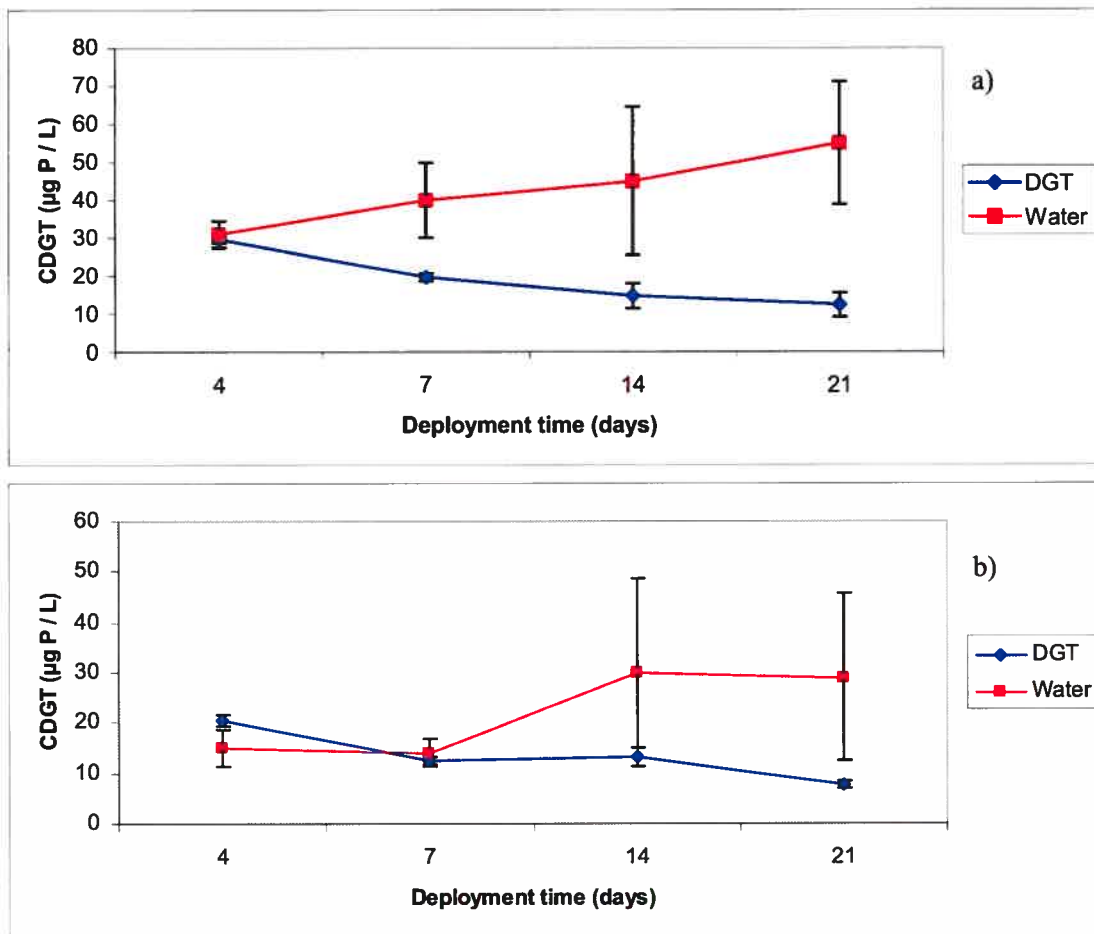


Figure 19 14-d deployment in aquaculture freshwater at Quebec, Canada a) Chartierville, T ~ 8°C and b) Artabaska, T ~ 13°C.



**Figure 20** 21-d deployment in aquaculture freshwater at Lancashire, UK a) Bentham Trout Farm, T ~ 3°C b) Bank House, T ~ 5°C

### 3.2.5 Conclusion

This study demonstrated that the DGT technique can be used to measure dissolved phosphorus in freshwater. The thickness of the DBL that forms on the surface of the DGT units in a freshwater aquaculture environment was measured using the deployment of DGT devices with diffusive gels of different thickness. Those results can then be used to calculate the response of the DGT sampler for all deployments in fisheries.

Several deployments in fish farms at Québec, Canada and Lancashire, UK were done to evaluate the reproducibility and the effectiveness of the DGT samplers to measure the reactive phosphorus in aquaculture freshwaters. The response using the DGT samplers was compared with the measurements of water samples taken before and after DGT deployment analysed using a standard fractionation scheme. The response of the DGT samplers was quite close to the values obtained with the standard fractionation scheme.

Aquaculture freshwaters contain high concentrations of phosphorus and suspended matter. This can lead to biofilm buildup on the surface of the filter membrane of DGT samplers for long deployment periods. To evaluate the maximum period of deployment, we deployed the DGT for a maximum time of 21-d. We generally observed that a 4-d deployment seems to be the maximum time we can use while maintaining a good response of the DGT samplers.

The DGT technique seems to be an excellent method to measure «in situ» the reactive phosphorus in freshwater aquaculture. Indeed, this technique integrates the daily and hourly variations of phosphorus and the DGT sampler is easy to use and to deploy and less prone to the sample transformations and preparation challenges usually encountered for trace measurements of phosphorus.

### **Acknowledgement**

We are grateful for the help of Debbie Hurst in the field work and for the financial support from the program 'Action concertée pour le soutien stratégique à la promotion et à la consolidation de la recherche sur l'environnement rural' of the 'Fonds de recherche sur la nature et les technologies du Québec'



### 3.2.6 References

- 1 L.E. de-Bashan and Y.Bashan, *Water Res.*, 2004, **38**, 4222–4246
- 2 C.R. Nijboer and P.F.M. Verdonshot, *Ecological Modelling*, 2004, **177**, 17–39
- 3 F.A. Khan and A.A. Ansari, *Botanical Review*, 2005, **71**, 449–482
- 4 APHA (American Public Health Association), AWWA (American Water Works Association) and WEF (Water Environment Association), in *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, ed. L. S. Clesceri, A. E. Greenberg and A. D. Eaton, American Public Health Association, Washington, DC, 20th edn, 1998, ch. 4, pp. 139–152.
- 5 J.M. Estela and V. Cerdà, *Talanta*, 2005, **66**, 307-331
- 6 R.L. Benson, I.D. McKelvie, B.T. Hart, Y.B. Truonga and I.C. Hamilton, *Anal. Chim. Acta* 1996, **326**, 29-39
- 7 J.L.M. de Boer, U. Kohlmeyer, P.M. Breugem and T. van der Velde-Koerts, *J. Anal. Chem.*, 1998, **360**, 132-136
- 8 R. Wennrich, A. Mroczek, K. Dittrich and G. Werner, *J. Anal. Chem.*, 1995, **352**, 461-469
- 9 W.M. Yang, R.L. Boles and T.P. Mawhinney, *J. AOAC Int.*, 2002, **85**, 1241-1246
- 10 H. Zhang, W. Davison, R. Gadi and T. Kobayashi, *Anal. Chim. Acta* 1998, **370**, 29-38
- 11 C. Pichette, H. Zhang, W. Davison and S. Sauvé, *Talanta*, 2007, *in press*
- 12 H. Zhang and W. Davison, *Anal. Chem.*, 1995, **67**, 3391-3400

## 4 Conclusion générale du mémoire

Dans le cadre de cette étude, une technique «in situ» a été utilisée pour mesurer la concentration de phosphore réactif dissous dans l'eau d'aquaculture. Cette technique se nomme gradients diffusifs en couches minces (DGT). Ce sont de petits dispositifs qui permettent, lors des déploiements, d'accumuler continuellement les ions phosphates proportionnellement à leur concentration dans le milieu où l'unité de DGT est déployée. Après un temps donné, les unités de DGT sont retirées du milieu et la concentration totale des ions phosphates qui se sont accumulés sur la résine est alors mesurée. Puisque l'eau d'aquaculture contient de fortes teneurs en matière en suspension et en phosphore et qu'il y a des variations journalières et nocturnes, l'utilisation de cette technique s'est avérée fort intéressante pour plusieurs raisons.

Tout d'abord, une première difficulté a été rencontrée lors de déploiements de longue période, pour plus de 3 jours. En effet, une croissance de biofilm est apparue à la surface du dispositif dû à la forte teneur en matière en suspension et en phosphore dans l'eau d'aquaculture. Pour contrer ce problème, des agents anti-biofilm ont été utilisés pour optimiser le temps maximal avant recouvrement de biofilm. Ces agents anti-biofilm ont pour rôle de contrer la croissance d'algues à la surface du filtre de polysulfone sans changer les propriétés du filtre et du gel diffusif. Parmi les agents utilisés, les métaux (Cu et Ag) ont montré un plus grand rendement que les antibiotiques (chloramphénicol et glutaraldéhyde). Les métaux ont été complexés à l'iode dans le filtre de polysulfone et ces filtres ont été intégrés à l'unité de DGT. Il en a été de même pour les antibiotiques où ceux-ci ont été intégrés au filtre en imbibant celui-ci dans une solution d'antibiotique. Le  $\text{CuI}_2$  et le chloramphénicol ont été les agents anti-biofilm qui n'ont pas eu de problème lors des tests au laboratoire (échange d'ions et pH). Pour ce qui est de AgI, l'argent semble complexer avec le phosphate lorsqu'il y a absence d'ions nitrate en solution, ce qui a pour effet de diminuer la concentration de phosphore dans la résine d'oxide de fer. Pour sa part, le glutaraldéhyde produit une interférence importante lors de la mesure du phosphore par colorimétrie. Il nous a donc été impossible d'évaluer son efficacité. D'autre part, lors des déploiements en piscicultures avec les unités de DGT ayant les agents anti-biofilm, l'AgI a été le plus performant suivi du  $\text{CuI}_2$  puisque la croissance d'algues est apparue à plus de 14 jours pour le cuivre et 21 jours pour l'argent. De plus, différents types de filtres ont été essayés dont un filtre à pore nucléaire et un filtre d'argent. Le filtre à pore nucléaire n'a pas été efficace puisqu'il n'a pas contré la croissance d'algues à la surface de

l'unité de DGT tout comme le filtre de polysulfone. Pour ce qui est du filtre d'argent, il s'est avéré très efficace pour contrer la croissance d'algues par contre, selon les résultats obtenus, il semble changer les propriétés du gel diffusif et de la résine d'oxyde de fer.

Une autre difficulté de cette étude a été de comparer la mesure «in situ» des unités de DGT avec la méthode standard par fractionnement où il est nécessaire de prendre un échantillon d'eau et par la suite de prendre les mesures de phosphore par colorimétrie. Lors des déploiements des unités de DGT, une prise d'échantillon d'eau a été faite au début et à la fin de chaque déploiement. Par la suite, la concentration de P obtenue par le DGT, après élution de la résine d'oxyde de fer à l'acide sulfurique 0,25M et analyse par colorimétrie, a été comparée aux valeurs moyennes obtenues des échantillons d'eau pris au début et la fin des déploiements. Les résultats obtenus montrent une grande efficacité et sensibilité des unités de DGT et ce pour tous les déploiements effectués dans les quatre piscicultures étudiées. Il est également possible d'effectuer des déploiements de moins de 6 heures lorsque l'eau contient plus de 50 µg P / L. De plus un déploiement de 24 heures des unités de DGT montre que cette technique intègre les variations journalières et nocturnes. En effet, en parallèle avec ce déploiement, une prise d'échantillon d'eau à toutes les heures pendant 24 heures a été faite. Pour les déploiements de 12 et 24 heures, les résultats obtenus avec les unités de DGT sont très près des valeurs moyennes obtenues pour les échantillons d'eau pris pendant 12 et 24 heures.

Cette étude révèle donc la grande efficacité de la technique de DGT pour la mesure du phosphate dans un milieu riche en phosphore et en matière en suspension et elle semble être une excellente technique pour obtenir la concentration du phosphore réactif dissous. De plus, une mesure «in situ» permet d'avoir une concentration la plus proche possible de la réalité compte tenu de l'absence de la prise d'échantillon et des conditions importantes liées à la prise d'échantillon d'eau. De plus, cette technique demande très peu de manipulation et elle est facile d'utilisation. Le DGT semble être un outil intéressant pour la mesure de phosphore réactif dans plusieurs industries dont les usines de traitement d'eau et les industries de pâtes et papiers puisqu'il y a rejet de phosphates dans l'eau. Finalement, un défi fort intéressant serait d'effectuer des mesures «in situ» à des concentrations traces de phosphore dans l'eau à l'aide de la technique de DGT.

## 5 Références

- <sup>1</sup> Sauvé S., Donisa C., Roy A.G., Courchesne F., Boyer C., Turmel M.-C. et François M. 2006. Caractérisation de la dynamique du phosphore dans une pisciculture de salmonidés en étangs. Rapport préparé pour la Pisciculture Pierre Vézina et la SORDAC. Université de Montréal. Canada, 145 pages.
- <sup>2</sup> Vanloon G.W. et Duffy S.J. 2000. Environmental Chemistry: a global perspective. Oxford University Press Inc. 1 re  d. New York.  U, 532 pages.
- <sup>3</sup> Khan F.A. et Ansari A.A. 2005. Eutrophication : An ecological vision. The Botanical Review. 71(4) 449-482.
- <sup>4</sup> Neal C. et Jarvie H.P. 2005. Agriculture, community, river eutrophication and the water framework directive. Hydrological Processes 19: 1895-1901
- <sup>5</sup> Nijboer R.C. et Verdonschot P.F.M. 2004. Variable selection for modelling effects of eutrophication on stream and river ecosystems. Ecological Modelling 177: 17-39
- <sup>6</sup> de-Bashan L.E. et Bashan Y. 2004. Recent advances in removing phosphorus from wastewater and its future use as fertilizer (1997-2003). Water Research 38: 4222-4246
- <sup>7</sup> Wetzel R.G. 2001. Limnology: lake and river ecosystems. Academic press. 3e  d. Florida.  U, 850 pages
- <sup>8</sup> Carignan R. et Steedman, R. J. 2000. Impacts of major watershed perturbations on aquatic ecosystems. Can. J. Fish. Aquat. Sci. 57(Suppl. 2): 1-4
- <sup>9</sup> Carignan R. et Lorrain S. 2000. Sediment dynamics in the fluvial lakes of the St. Lawrence River: accumulation rates and characterization of the mixed sediment layer Can. J. Fish. Aquat. Sci. 57(Suppl. 1): 63-77

- <sup>10</sup> Vis, C., Carignan R. et Hudon C. 2003. An evaluation of approaches used to determine the distribution and biomass of emergent and submerged aquatic macrophytes over large spatial scales *Aquatic botany* 77: 187-201
- <sup>11</sup> Fortin G.R., St-Cyr L. et LeClerc M. 1993. Distribution of submersed macrophytes by echo-sounder tracings in lake Saint-Pierre, *Québec Journal aquatic plant manage*, 31: 232-240
- <sup>12</sup> Selig U., Hübener T. et Michalik M. 2002. Dissolved and particulate phosphorus forms in a eutrophic shallow lake. *Aquatic Sciences*. 64: 97-105
- <sup>13</sup> de Boer J.L.M., Kohlmeyer U., Breugem P.M. et van der Velde-Koerts T. 1998. Determination of total dissolved phosphorus in water samples by axial inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. 360: 132-136
- <sup>14</sup> Wennrich R., Mroczek A., Dittrich K. et Werner G. 1995 Determination of nonmetals using ICP-AES-techniques. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry*. 352: 461-469
- <sup>15</sup> Wolnik K.A., Fricke F.L., Hahn M.H. et Caruso J.A. 1981. Sample introduction system for simultaneous determination of volatile element hydrides and other elements in food by inductively coupled argon plasma emission spectrometry. *Analytical Chemistry*. 53: 1030-1035
- <sup>16</sup> Fujiwara K., Mignardi M.A., Petrucci G., Smith B.W. et Winefordner J.D. 1989. Determination of phosphorus by ICP-AES using solid-phase hydride generation. *Spectroscopy letters*. 22(9): 1125-1140
- <sup>17</sup> Matthias J. et Ramon M.B. 1992. Sealed inductively coupled plasma-atomic emission spectroscopy II : determination of phosphorus. *Spectrochimica Acta*. 47(7): 923-934
- <sup>18</sup> Yang W.M., Boles R.L. et Mawhinney T.P. 2002. Determination of phosphorus in fertilizers by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry. *Journal of AOAC International*. 85(6): 1241-1246

- <sup>19</sup> Liang Z., Lonardo R.F., Takahashi J. et Michel R.G. 1992. Laser-excited fluorescence spectrometry of phosphorus monoxide and phosphorus in an electrothermal atomizer: Determination of phosphorus in plant and biological reference materials and nickel alloys. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*. 7: 1019-1028
- <sup>20</sup> Andrew K.N., Blundell N.J., Price D. et Worsfold P.J. 1994. On-site automated FI monitors provide near-continuous, reliable, and low-cost data for assessing water quality. *Analytical Chemistry*. 66(18): 917-922
- <sup>21</sup> Johnson K.S. et Petty R.L. 1982. Determination of phosphate in seawater by flow injection analysis with injection reagent. *Analytical Chemistry*. 54: 1185-1187
- <sup>22</sup> Moskvina L.N., Bulatov A.V., Nikolaeva D.N. et Grigor'ev G.L. 2002. Flow-Injection extraction-photometric trace determination of phosphate and silicate ions. *Journal of Analytical Chemistry*. 57(7): 590-594
- <sup>23</sup> Benson R.L., Mckelvie I.D., Hart B.T., Truong Y.B. et Hamilton I.C. 1996. Determination of total phosphorus in waters and wastewaters by on-line UV/thermal induced digestion and flow injection analysis. *Analytical Chimica Acta*. 326: 29-39
- <sup>24</sup> Pérez-Ruiz T., Martínez-Lozano C., Tomás V. et Martín J. 2001. Flow-injection spectrofluorimetric determination of dissolved inorganic and organic phosphorus in waters using on-line photo-oxidation. *Analytical Chimica Acta*. 442: 147-153
- <sup>25</sup> Clesceri L.S., Greenberg A.E. et Eaton A.D. 1998. Standard methods for the examination of water and wastewater. 20e Ed
- <sup>26</sup> Murphy J. et Riley J.P. 1962. A modified single solution method for the determination of phosphate in natural waters. *Analytical Chimica Acta*. 27: 31-36
- <sup>27</sup> Zhang H., Davison W., Gadi R. et Kobayashi T. 1998. In situ measurement of dissolved phosphorus in natural waters using DGT. *Analytical Chimica Acta*. 370: 29-38

- <sup>28</sup> Rachou J., Hendershot W. et Sauvé S. 2004. Effects of pH on fluxes of cadmium in soils measured by using diffusive gradients in thin films. *Communications in soil science and plant analysis*. 35(17): 2655-2673
- <sup>29</sup> Alcock S., Barcelo D. et Hansen P.-D. 2002. Monitoring freshwater sediments. *Biosensors and Bioelectronics* 00: 1-7
- <sup>30</sup> Garmo O.A., Royset O., Steinnes E. et Flaten T.P. 2003. Performance study of diffusive gradients in thin films for 55 elements. *Analytical Chemistry*. 75: 3573-3580
- <sup>31</sup> Lead J.R., Starchev K. et Wilkinson K.J. 2003 Diffusion coefficients of humic substances in agarose gel and in water. *Environmental Sciences and Technology*. 37(3): 482-487
- <sup>32</sup> Li Y.H. et Gregory S. 1974. Diffusion of ions in sea water and in deep-sea sediments. *Geochimica*. 38: 703-714
- <sup>33</sup> Zhang H. et Davison W. 1995. Performance characteristics of diffusion gradients in thin films for the in situ measurement of trace metals in aqueous solution. *Analytical Chemistry*. 67: 3391-3400
- <sup>34</sup> Codony F., Domenico P. et Mas J. 2003. Assessment of bismuth thiols and conventional disinfectants on drinking water biofilms. *Journal of Applied Microbiology*. 95: 288-293
- <sup>35</sup> Harrison J.J., Turner R.J. et Ceri H. 2005. High-throughput metal susceptibility testing of microbial biofilms. *BMC Microbiology*. 5: 53
- <sup>36</sup> Harrison J.J., Ceri H., Stremick C.A. et Turner R.J. 2004. Biofilm susceptibility to metal toxicity. *Environmental Microbiology*. 6(12): 1220-1227

## 6 Annexe

### 1) Déploiement en piscicultures

#### a) Déploiement des unités de DGT dans deux piscicultures de la région du Lancashire, UK (6 au 27 mars 2006)

#### i) Bentham trout farm

Période (jours)	DGT	T (°C)	Ce (ng/ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	$\Delta g + \delta$	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
4	1	3,6 ± 0,7	163,3	842,8	30,5	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	2	3,6 ± 0,7	158,3	817,0	29,5	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	3	3,6 ± 0,7	153,3	791,2	28,6	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	4	3,6 ± 0,7	133,3	688,0	24,9	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	5	3,6 ± 0,7	136,7	705,2	25,5	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	6	3,6 ± 0,7	136,7	705,2	25,5	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	7	3,6 ± 0,7	143,3	739,6	26,7	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	8	3,6 ± 0,7	125,0	645,0	23,3	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	9	3,6 ± 0,7	158,3	817,0	29,5	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	10	3,6 ± 0,7	186,7	963,2	34,8	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	11	3,6 ± 0,7	163,3	842,8	30,5	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
4	12	3,6 ± 0,7	181,7	937,4	33,9	5,16	0,1186	343800	0,00000304	3,14
7	13	3,9 ± 1,4	195,0	1006,2	20,6	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	14	3,9 ± 1,4	186,7	963,2	19,7	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	15	3,9 ± 1,4	176,7	911,6	18,6	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	16	3,9 ± 1,4	205,0	1057,8	21,6	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	17	3,9 ± 1,4	210,0	1083,6	22,2	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	18	3,9 ± 1,4	191,7	989,0	20,2	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	19	3,9 ± 1,4	173,3	894,4	18,3	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	20	3,9 ± 1,4	188,3	971,8	19,9	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	21	3,9 ± 1,4	205,0	1057,8	21,6	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14



7	22	3,9 ± 1,4	180,0	928,8	19,0	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	23	3,9 ± 1,4	156,7	808,4	16,5	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
7	24	3,9 ± 1,4	181,7	937,4	19,2	5,16	0,1186	607800	0,00000304	3,14
14	25	4,6 ± 1,7	358,3	1849,0	18,4	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	26	4,6 ± 1,7	265,0	1367,4	13,6	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	27	4,6 ± 1,7	236,7	1221,2	12,1	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	28	4,6 ± 1,7	291,7	1505,0	14,9	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	29	4,6 ± 1,7	341,7	1763,0	17,5	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	30	4,6 ± 1,7	351,7	1814,6	18,0	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	31	4,6 ± 1,7	326,7	1685,6	16,7	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	32	4,6 ± 1,7	351,7	1814,6	18,0	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	33	4,6 ± 1,7	390,0	2012,4	20,0	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	34	4,6 ± 1,7	370,0	1909,2	19,0	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	35	4,6 ± 1,7	385,0	1986,6	19,7	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
14	36	4,6 ± 1,7	385,0	1986,6	19,7	5,16	0,1186	1207800	0,00000315	3,14
21	37	4,4 ± 1,6	295,0	1522,2	10,0	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	38	4,4 ± 1,6	468,3	2416,6	15,9	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	39	4,4 ± 1,6	323,3	1668,4	11,0	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	40	4,4 ± 1,6	553,3	2855,2	18,8	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	41	4,4 ± 1,6	538,3	2777,8	18,3	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	42	4,4 ± 1,6	595,0	3070,2	20,2	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	43	4,4 ± 1,6	321,7	1659,8	10,9	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	44	4,4 ± 1,6	458,3	2365,0	15,6	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	45	4,4 ± 1,6	455,0	2347,8	15,5	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	46	4,4 ± 1,6	375,0	1935,0	12,8	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	47	4,4 ± 1,6	325,0	1677,0	11,1	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14
21	48	4,4 ± 1,6	398,3	2055,4	13,6	5,16	0,1186	1818000	0,00000315	3,14

Échantillon d'eau	pH	Conc (ng/ml)	Période (jours)
IM1	8,569	28	4
IM2	8,568	20	7
IM3	8,453	17	14
IM4	7,691	39	21

## ii) Bank House

Période (jours)	DGT	T (°C)	Ce (ng/ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	$\Delta g + \delta$	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
4	49	4,4 ± 0,8	120,0	619,2	21,5	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	50	4,4 ± 0,8	108,3	559,0	19,4	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	51	4,4 ± 0,8	116,7	602,0	20,9	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	52	4,4 ± 0,8	80,0	412,8	14,3	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	53	4,4 ± 0,8	66,7	344,0	12,0	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	54	4,4 ± 0,8	60,0	309,6	10,8	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	55	4,4 ± 0,8	70,0	361,2	12,6	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	56	4,4 ± 0,8	103,3	533,2	18,5	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	57	4,4 ± 0,8	70,0	361,2	12,6	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	58	4,4 ± 0,8	113,3	584,8	20,3	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	59	4,4 ± 0,8	113,3	584,8	20,3	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
4	60	4,4 ± 0,8	108,3	559,0	19,4	5,16	0,1186	345000	0,00000315	3,14
7	61	4,7 ± 1,5	115,0	593,4	11,7	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	62	4,7 ± 1,5	123,3	636,4	12,5	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	63	4,7 ± 1,5	130,0	670,8	13,2	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	64	4,7 ± 1,5	116,7	602,0	11,8	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	65	4,7 ± 1,5	131,7	679,4	13,4	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	66	4,7 ± 1,5	118,3	610,6	12,0	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	67	4,7 ± 1,5	128,3	662,2	13,0	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	68	4,7 ± 1,5	108,3	559,0	11,0	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	69	4,7 ± 1,5	130,0	670,8	13,2	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	70	4,7 ± 1,5	113,3	584,8	11,5	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	71	4,7 ± 1,5	105,0	541,8	10,7	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
7	72	4,7 ± 1,5	121,7	627,8	12,3	5,16	0,1186	609900	0,00000315	3,14
14	73	5,5 ± 1,5	228,3	1178,2	11,3	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	74	5,5 ± 1,5	271,7	1401,8	13,4	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	75	5,5 ± 1,5	303,3	1565,2	15,0	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	76	5,5 ± 1,5	310,0	1599,6	15,3	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	77	5,5 ± 1,5	391,7	2021,0	19,3	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	78	5,5 ± 1,5	336,7	1737,2	16,6	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	79	5,5 ± 1,5	326,7	1685,6	16,1	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14

14	80	5,5 ± 1,5	340,0	1754,4	16,8	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	81	5,5 ± 1,5	350,0	1806,0	17,3	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	82	5,5 ± 1,5	258,3	1333,0	12,7	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	83	5,5 ± 1,5	326,7	1685,6	16,1	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
14	84	5,5 ± 1,5	196,7	1014,8	9,7	5,16	0,1186	1209000	0,00000327	3,14
21	85	5,3 ± 1,5	211,7	1092,2	6,9	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	86	5,3 ± 1,5	251,7	1298,6	8,2	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	87	5,3 ± 1,5	233,3	1204,0	7,6	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	88	5,3 ± 1,5	261,7	1350,2	8,6	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	89	5,3 ± 1,5	281,7	1453,4	9,2	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	90	5,3 ± 1,5	278,3	1436,2	9,1	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	91	5,3 ± 1,5	158,3	817,0	5,2	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	92	5,3 ± 1,5	225,0	1161,0	7,4	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	93	5,3 ± 1,5	176,7	911,6	5,8	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	94	5,3 ± 1,5	156,7	808,4	5,1	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	95	5,3 ± 1,5	143,3	739,6	4,7	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14
21	96	5,3 ± 1,5	276,7	1427,6	9,1	5,16	0,1186	1821000	0,00000327	3,14

Échantillon d'eau	pH	Conc (ng/ml)	Période (jours)
IM5	8,017	7	4
IM6	7,988	10	7
IM7	7,087	8	14
IM8	6,873	28	21

### iii) Mesure de la DBL pisciculture Bank House (18 mars 2006)

Période (jours)	DGT	T (°C)	Ce (ng/ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	Δ g	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
4	97	4,4 ± 0,8	136,7	705,2	13,8	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	98	4,4 ± 0,8	133,3	688,0	13,5	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	99	4,4 ± 0,8	125,0	645,0	12,6	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	100	4,4 ± 0,8	105,0	541,8	19,4	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	101	4,4 ± 0,8	101,7	524,6	18,8	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54

4	102	4,4 ± 0,8	103,3	533,2	19,1	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	103	4,4 ± 0,8	55,0	283,8	13,8	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	104	4,4 ± 0,8	63,3	326,8	15,9	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	105	4,4 ± 0,8	60,0	309,6	15,0	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	106	4,4 ± 0,8	51,7	266,6	16,8	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	107	4,4 ± 0,8	51,7	266,6	16,8	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54
4	108	4,4 ± 0,8	46,7	240,8	15,2	5,16	0,054	345000	0,00000315	2,54

**b) Déploiement des unités de DGT dans deux piscicultures du Québec, Canada (8 au 22 mai 2006)**

**i) Chartierville**

Période (jours)	DGT	T (°C)	Ce (ng /ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	$\Delta g + \delta$	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
4	1	8,2 ± 0,6	356	1837,0	52,2	5,16	0,1186	367200	0,00000362	3,14
4	2	8,2 ± 0,6	294	1517,0	43,1	5,16	0,1186	367200	0,00000362	3,14
4	3	8,2 ± 0,6	294	1517,0	43,1	5,16	0,1186	367200	0,00000362	3,14
4	4	8,2 ± 0,6	296	1527,4	43,4	5,16	0,1186	367200	0,00000362	3,14
4	5	8,2 ± 0,6	260	1341,6	38,1	5,16	0,1186	367200	0,00000362	3,14
4	6	8,2 ± 0,6	304	1568,6	44,6	5,16	0,1186	367200	0,00000362	3,14
7	7	8,1 ± 0,6	422	2177,5	34,9	5,16	0,1186	651000	0,00000362	3,14
7	8	8,1 ± 0,6	392	2022,7	32,4	5,16	0,1186	651000	0,00000362	3,14
7	9	8,1 ± 0,6	426	2198,2	35,2	5,16	0,1186	651000	0,00000362	3,14
7	10	8,1 ± 0,6	440	2270,4	36,4	5,16	0,1186	651000	0,00000362	3,14
7	11	8,1 ± 0,6	406	2095,0	33,6	5,16	0,1186	651000	0,00000362	3,14
7	12	8,1 ± 0,6	398	2053,7	32,9	5,16	0,1186	651000	0,00000362	3,14
14	14	7,8 ± 0,6	296	1527,4	13,5	5,16	0,1186	1216800	0,0000035	3,14
14	15	7,8 ± 0,6	588	3034,1	26,9	5,16	0,1186	1216800	0,0000035	3,14
14	16	7,8 ± 0,6	306	1579,0	14,0	5,16	0,1186	1216800	0,0000035	3,14
14	17	7,8 ± 0,6	260	1341,6	11,9	5,16	0,1186	1216800	0,0000035	3,14
14	18	7,8 ± 0,6	662	3415,9	30,3	5,16	0,1186	1216800	0,0000035	3,14

Échantillon d'eau	pH	Conc (ng/ml)	Période (jours)
IM1	6,854	64,5	0
IM2	7,038	47,5	4
IM3	7,087	32,0	7
IM4	6,903	39	14

## ii) Artabaska

Période (jours)	DGT	T (°C)	Ce (ng/ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	$\Delta g + \delta$	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
4	19	12,7 ± 1,4	53	273,5	12,1	5,16	0,1186	206400	0,00000413	3,14
4	20	12,7 ± 1,4	56	289,0	12,8	5,16	0,1186	206400	0,00000413	3,14
4	21	12,7 ± 1,4	54	278,6	12,3	5,16	0,1186	206400	0,00000413	3,14
4	22	12,7 ± 1,4	36	185,8	8,2	5,16	0,1186	206400	0,00000413	3,14
4	23	12,7 ± 1,4	34	175,4	7,8	5,16	0,1186	206400	0,00000413	3,14
4	24	12,7 ± 1,4	41	211,6	9,4	5,16	0,1186	206400	0,00000413	3,14
7	25	12,9 ± 1,3	46	237,4	3,4	5,16	0,1186	633600	0,00000413	3,14
7	26	12,9 ± 1,3	43	221,9	3,2	5,16	0,1186	633600	0,00000413	3,14
7	27	12,9 ± 1,3	66	340,6	4,9	5,16	0,1186	633600	0,00000413	3,14
7	28	12,9 ± 1,3	45	232,2	3,4	5,16	0,1186	633600	0,00000413	3,14
7	29	12,9 ± 1,3	68	350,9	5,1	5,16	0,1186	633600	0,00000413	3,14
7	30	12,9 ± 1,3	40	206,4	3,0	5,16	0,1186	633600	0,00000413	3,14
14	31	12,3 ± 1,5	69	356,0	2,7	5,16	0,1186	1213200	0,00000413	3,14
14	32	12,3 ± 1,5	56	289,0	2,2	5,16	0,1186	1213200	0,00000413	3,14
14	33	12,3 ± 1,5	83	428,3	3,2	5,16	0,1186	1213200	0,00000413	3,14
14	34	12,3 ± 1,5	54	278,6	2,1	5,16	0,1186	1213200	0,00000413	3,14
14	35	12,3 ± 1,5	42	216,7	1,6	5,16	0,1186	1213200	0,00000413	3,14
14	36	12,3 ± 1,5	62	319,9	2,4	5,16	0,1186	1213200	0,00000413	3,14

Échantillon d'eau	pH	Conc (ng/ml)	Période (jours)
IM5	7,545	9,5	0
IM6	7,899	17	4

IM7 7,238 14,4 7  
IM8 8,435 17,5 14

**c) Déploiement des unités de DGT dans la pisciculture de Chartierville, Québec, Canada (10 au 11 mai 2006)**

Période (heures)	DGT	T (°C)	Ce (ng/ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacidi + Vgel (ml)	$\Delta g + \delta$	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
6	40	9,1 ± 0,8	32	165,1	50,7	5,16	0,1186	25200	0,00000387	3,14
6	41	9,1 ± 0,8	30	154,8	47,5	5,16	0,1186	25200	0,00000387	3,14
6	42	9,1 ± 0,8	30	154,8	47,5	5,16	0,1186	25200	0,00000387	3,14
8	43	9,2 ± 0,7	37	190,9	45,6	5,16	0,1186	32400	0,00000375	3,14
8	44	9,2 ± 0,7	46	237,4	56,7	5,16	0,1186	32400	0,00000375	3,14
8	45	9,2 ± 0,7	39	201,2	48,0	5,16	0,1186	32400	0,00000375	3,14
12	46	9,2 ± 0,5	59	304,4	50,3	5,16	0,1186	46800	0,00000375	3,14
12	47	9,2 ± 0,5	58	299,3	49,5	5,16	0,1186	46800	0,00000375	3,14
12	48	9,2 ± 0,5	57	294,1	48,6	5,16	0,1186	46800	0,00000375	3,14
24	49	9,0 ± 0,6	100	516,0	46,2	5,16	0,1186	86400	0,00000375	3,14
24	50	9,0 ± 0,6	105	541,8	48,5	5,16	0,1186	86400	0,00000375	3,14
24	51	9,0 ± 0,6	88	454,1	40,7	5,16	0,1186	86400	0,00000375	3,14

Échantillon d'eau	pH	Conc (ng/ml)	Période (heures)
IM9	6,547	52,5	0
IM11	6,896	49,5	8
IM12	7,087	50	6
IM13	6,903	50	12
IM16	6,873	49	24

**d) Déploiement des unités de DGT dans deux piscicultures du Québec, Canada (18 au 20 juillet 2006)**

i) Chartierville

Période (heures)	DGT	T (°C)	Ce (ng /ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	$\Delta g + \delta$	Temps (s)	D (cm2/s)	A (cm2)
12	1	18,4 ± 0,4	43	221,9	39,0	5,16	0,1186	43200	0,00000497	3,14
12	2	18,4 ± 0,4	48	247,7	43,6	5,16	0,1186	43200	0,00000497	3,14
12	3	18,4 ± 0,4	42	216,7	38,1	5,16	0,1186	43200	0,00000497	3,14
12	4	18,4 ± 0,4	44	227,0	39,9	5,16	0,1186	43200	0,00000497	3,14
12	5	18,4 ± 0,4	47	242,5	42,7	5,16	0,1186	43200	0,00000497	3,14
12	6	18,4 ± 0,4	45	232,2	40,8	5,16	0,1186	43200	0,00000497	3,14
12	7	18,4 ± 0,4	103	531,5	93,5	5,16	0,1186	43200	0,00000497	3,14
12	8	18,4 ± 0,4	93	479,9	84,4	5,16	0,1186	43200	0,00000497	3,14
12	9	18,4 ± 0,4	96	495,4	87,1	5,16	0,1186	43200	0,00000497	3,14
24	10	17,7 ± 0,9	84	433,4	39,3	5,16	0,1186	86400	0,00000482	3,14
24	11	17,7 ± 0,9	75	387,0	35,1	5,16	0,1186	86400	0,00000482	3,14
24	12	17,7 ± 0,9	85	438,6	39,8	5,16	0,1186	86400	0,00000482	3,14
24	13	17,7 ± 0,9	75	387,0	35,1	5,16	0,1186	86400	0,00000482	3,14
24	14	17,7 ± 0,9	82	423,1	38,4	5,16	0,1186	86400	0,00000482	3,14
24	15	17,7 ± 0,9	74	381,8	34,6	5,16	0,1186	86400	0,00000482	3,14
24	16	17,7 ± 0,9	122	629,5	57,1	5,16	0,1186	86400	0,00000482	3,14
24	17	17,7 ± 0,9	146	753,4	68,3	5,16	0,1186	86400	0,00000482	3,14
24	18	17,7 ± 0,9	104	536,6	48,7	5,16	0,1186	86400	0,00000482	3,14
48	19	17,5 ± 0,9	164	846,2	38,4	5,16	0,1186	172800	0,00000482	3,14
48	20	17,5 ± 0,9	154	794,6	36,0	5,16	0,1186	172800	0,00000482	3,14
48	21	17,5 ± 0,9	164	846,2	38,4	5,16	0,1186	172800	0,00000482	3,14
48	22	17,5 ± 0,9	169	872,0	39,5	5,16	0,1186	172800	0,00000482	3,14
48	23	17,5 ± 0,9	161	830,8	37,7	5,16	0,1186	172800	0,00000482	3,14
48	24	17,5 ± 0,9	160	825,6	37,4	5,16	0,1186	172800	0,00000482	3,14
48	25	17,5 ± 0,9	138	712,1	32,3	5,16	0,1186	172800	0,00000482	3,14
48	26	17,5 ± 0,9	173	892,7	40,5	5,16	0,1186	172800	0,00000482	3,14
48	27	17,5 ± 0,9	151	779,2	35,3	5,16	0,1186	172800	0,00000482	3,14

Échantillon d'eau	pH	Conc (ng/ml)	Période (hres)
IM1	7,208	47	0
IM2	7,435	35	12
IM3	7,008	36	24
IM4	7,125	36	48

## ii) Artabaska

Période (heures)	DGT	T (°C)	Ce (ng/ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	$\Delta g + \delta$	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
12	28	23,3 ± 0,7	142	732,7	113,4	5,16	0,1186	42600	0,00000573	3,14
12	29	23,3 ± 0,7	148	763,7	118,2	5,16	0,1186	42600	0,00000573	3,14
12	30	23,3 ± 0,7	144	743,0	115,0	5,16	0,1186	42600	0,00000573	3,14
12	31	23,3 ± 0,7	143	737,9	114,2	5,16	0,1186	42600	0,00000573	3,14
12	32	23,3 ± 0,7	143	737,9	114,2	5,16	0,1186	42600	0,00000573	3,14
12	33	23,3 ± 0,7	145	748,2	115,8	5,16	0,1186	42600	0,00000573	3,14
12	34	23,3 ± 0,7	169	872,0	134,9	5,16	0,1186	42600	0,00000573	3,14
12	35	23,3 ± 0,7	163	841,1	130,1	5,16	0,1186	42600	0,00000573	3,14
12	36	23,3 ± 0,7	327	1687,3	261,1	5,16	0,1186	42600	0,00000557	3,14
24	37	22,2 ± 1,3	264	1362,2	109,2	5,16	0,1186	84600	0,00000557	3,14
24	38	22,2 ± 1,3	263	1357,1	108,8	5,16	0,1186	84600	0,00000557	3,14
24	39	22,2 ± 1,3	258	1331,3	106,7	5,16	0,1186	84600	0,00000557	3,14
24	40	22,2 ± 1,3	266	1372,6	110,0	5,16	0,1186	84600	0,00000557	3,14
24	41	22,2 ± 1,3	254	1310,6	105,1	5,16	0,1186	84600	0,00000557	3,14
24	42	22,2 ± 1,3	223	1150,7	92,2	5,16	0,1186	84600	0,00000557	3,14
24	43	22,2 ± 1,3	250	1290,0	103,4	5,16	0,1186	84600	0,00000557	3,14
24	44	22,2 ± 1,3	222	1145,5	91,8	5,16	0,1186	84600	0,00000557	3,14
48	46	21,8 ± 1,3	424	2187,8	92,7	5,16	0,1186	169200	0,00000527	3,14
48	47	21,8 ± 1,3	437	2254,9	95,5	5,16	0,1186	169200	0,00000527	3,14
48	48	21,8 ± 1,3	424	2187,8	92,7	5,16	0,1186	169200	0,00000527	3,14
48	49	21,8 ± 1,3	415	2141,4	90,7	5,16	0,1186	169200	0,00000527	3,14
48	50	21,8 ± 1,3	410	2115,6	89,6	5,16	0,1186	169200	0,00000527	3,14
48	51	21,8 ± 1,3	423	2182,7	92,5	5,16	0,1186	169200	0,00000527	3,14
48	52	21,8 ± 1,3	318	1640,9	69,5	5,16	0,1186	169200	0,00000527	3,14
48	53	21,8 ± 1,3	376	1940,2	82,2	5,16	0,1186	169200	0,00000527	3,14
48	54	21,8 ± 1,3	385	1986,6	84,2	5,16	0,1186	169200	0,00000527	3,14



Échantillon d'eau	pH	Conc (ng/ml)	Période (hres)
IM5	8,568	121	0
IM6	8,245	115	12
IM7	8,438	101	24
IM8	8,065	79	48

**e) Échantillonnage continu pour une durée de 24 heures à la pisciculture de Chartierville, Québec, Canada(18 au 19 juillet)**

Heure	Conc (ng/ml)
10h30	50
11h30	48
12h30	51
13h30	46
14h30	48
15h30	42
16h30	39
17h30	38
18h30	47
19h30	34
20h30	38
21h30	31
22h30	35
23h30	43
24h30	35
01h30	23
02h30	40
03h30	40
04h30	41
05h30	43
06h30	39
07h30	37
08h30	37
09h30	36

## 2) Déploiement en laboratoire

### a) Solution de phosphate avec NaNO<sub>3</sub> (1er mars 2006)

Type DGT	DGT	T (°C)	Ce (ng/ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	Δ g	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
Control	1	20	73,3	378,4	161,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	2	20	78,3	404,2	172,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	3	20	71,7	369,8	158,1	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	4	20	71,7	369,8	158,1	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	5	20	78,3	404,2	172,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	6	20	71,7	369,8	158,1	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	7	20	75,0	387,0	165,5	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	8	20	76,7	395,6	169,2	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	9	19,5	73,3	378,4	166,7	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	10	19,5	71,7	369,8	162,9	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Agl	11	19,5	76,7	395,6	174,3	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Agl	12	19,5	70,0	361,2	159,1	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Agl	13	19,5	70,0	361,2	159,1	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	14	19,5	75,0	387,0	170,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	15	19,5	68,3	352,6	155,3	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	16	19,5	68,3	352,6	155,3	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	17	19,4	73,3	378,4	166,7	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	18	19,4	78,3	404,2	178,1	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Agl	19	19,4	71,7	369,8	162,9	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Agl	20	19,4	71,7	369,8	162,9	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Agl	21	19,4	68,3	352,6	155,3	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	22	19,4	68,3	352,6	155,3	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	23	19,4	71,7	369,8	162,9	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	24	19,4	71,7	369,8	162,9	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	25	19,7	71,7	369,8	158,1	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	26	19,7	76,7	395,6	169,2	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	27	19,7	65,0	335,4	143,4	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14

Agi	28	19,7	68,3	352,6	150,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agi	29	19,7	68,3	352,6	150,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	30	19,7	65,0	335,4	143,4	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	31	19,7	65,0	335,4	143,4	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	32	19,7	71,7	369,8	158,1	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	33	18	66,7	344,0	156,3	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Control	34	18	68,3	352,6	160,2	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Agi	35	18	61,7	318,2	144,5	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Agi	36	18	58,3	301,0	136,7	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Agi	37	18	63,3	326,8	148,4	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Cul	38	18	58,3	301,0	136,7	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Cul	39	18	63,3	326,8	148,4	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Cul	40	18	60,0	309,6	140,6	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Control	41	20	71,7	369,8	153,6	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	42	20	71,7	369,8	153,6	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	43	20	70,0	361,2	150,1	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	44	20	73,3	378,4	157,2	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	45	20	76,7	395,6	164,4	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	46	19,5	73,3	378,4	161,8	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	47	19,5	78,3	404,2	172,9	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	48	19,5	70,0	361,2	154,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	49	19,5	73,3	378,4	161,8	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	50	19,5	71,7	369,8	158,1	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	51	19,4	73,3	378,4	161,8	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	52	19,4	78,3	404,2	172,9	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	53	19,4	75,0	387,0	165,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	54	19,4	80,0	412,8	176,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	55	19,4	80,0	412,8	176,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	56	19,7	75	387	165,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	57	19,7	76,7	395,6	169,2	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	58	19,7	75	387	165,5	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	59	19,7	75	387	165,5	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	60	19,7	78,3	404,2	172,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	61	18	65	335,4	147,8	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Control	62	18	66,7	344	151,5	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Chloramphénicol	63	18	65	335,4	147,8	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14

Chloramphénicol	64	18	71,7	369,8	162,9	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Chloramphénicol	65	18	70	361,2	159,1	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14

**b) Solution de phosphate avec NaCl (9 mars 2006)**

Type DGT	DGT	T (°C)	Ce (ng/ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	Δ g	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
Control	1	20	78,3	404,2	169,6	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	2	20	78,3	404,2	169,6	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
AgI	3	20	65,0	335,4	140,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
AgI	4	20	73,3	378,4	158,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
AgI	5	20	68,3	352,6	148,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	6	20	76,7	395,6	166,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	7	20	76,7	395,6	166,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	8	20	75,0	387,0	162,4	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	9	19,5	78,3	404,2	169,6	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	10	19,5	75,0	387,0	162,4	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
AgI	11	19,5	61,7	318,2	133,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
AgI	12	19,5	66,7	344,0	144,4	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
AgI	13	19,5	66,7	344,0	144,4	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	14	19,5	76,7	395,6	166,0	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	15	19,5	76,7	395,6	166,0	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	16	19,5	75,0	387,0	162,4	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	17	19,4	73,3	378,4	163,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	18	19,4	73,3	378,4	163,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
AgI	19	19,4	60,0	309,6	133,7	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
AgI	20	19,4	61,7	318,2	137,4	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
AgI	21	19,4	58,3	301,0	130,0	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	22	19,4	75,0	387,0	167,2	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	23	19,4	71,7	369,8	159,7	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Cul	24	19,4	71,7	369,8	159,7	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	25	19,7	75,0	387,0	162,4	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	26	19,7	78,3	404,2	169,6	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
AgI	27	19,7	68,3	352,6	148,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
AgI	28	19,7	65,0	335,4	140,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14

Agl	29	19,7	68,3	352,6	148,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	30	19,7	73,3	378,4	158,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	31	19,7	73,3	378,4	158,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	32	19,7	76,7	395,6	166,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	33	18	76,7	395,6	181,5	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Control	34	18	78,3	404,2	185,5	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Agl	35	18	58,3	301,0	138,1	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Agl	36	18	61,7	318,2	146,0	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Agl	37	18	61,7	318,2	146,0	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Cul	38	18	76,7	395,6	181,5	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Cul	39	18	76,7	395,6	181,5	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Cul	40	18	76,7	395,6	181,5	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Control	41	20	78,3	404,2	169,6	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	42	20	76,7	395,6	166,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	43	20	76,7	395,6	166,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	44	20	75,0	387,0	162,4	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	45	20	76,7	395,6	166,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	46	19,5	73,3	378,4	163,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	47	19,5	78,3	404,2	174,6	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	48	19,5	73,3	378,4	163,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	49	19,5	80,0	412,8	178,3	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	50	19,5	73,3	378,4	163,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	51	19,4	73,3	378,4	163,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	52	19,4	78,3	404,2	174,6	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	53	19,4	75,0	387,0	167,2	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	54	19,4	75,0	387,0	167,2	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	55	19,4	73,3	378,4	163,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	56	19,7	76,7	395,6	166,0	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	57	19,7	78,3	404,2	169,6	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	58	19,7	78,3	404,2	169,6	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	59	19,7	78,3	404,2	169,6	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Chloramphénicol	60	19,7	75,0	387	162,4	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	61	18	75	387	172,2	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Control	62	18	76,7	395,6	176,0	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Chloramphénicol	63	18	75	387	172,2	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14
Chloramphénicol	64	18	76,7	395,6	176,0	5,16	0,099	14400	0,00000582	3,14

Chloramphénicol 65 18 76,7 395,6 176,0 5,16 0,099 14400 0,00000582 3,14

## c) Solution de phosphate avec pH (3, 4, 5, 6, 7, 5) (16 mars 2006)

Type DGT	DGT	T (°C)	Ce (ng/ml)	M (ng)	CDGT (ng/ml)	Vacid + Vgel (ml)	Δ g	Temps (s)	D (cm <sup>2</sup> /s)	A (cm <sup>2</sup> )
Control	1	19,6	80,0	412,8	176,5	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	2	19,6	78,3	404,2	172,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	3	19,6	70,0	361,2	154,5	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	4	19,6	76,7	395,6	169,2	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	5	19,6	66,7	344,0	147,1	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	6	19,6	73,3	378,4	161,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	7	19,6	68,3	352,6	150,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	8	19,6	70,0	361,2	154,5	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	9	19,1	80,0	412,8	176,5	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	10	19,1	83,3	430,0	183,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	11	19,1	75,0	387,0	165,5	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	12	19,1	78,3	404,2	172,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	13	19,1	73,3	378,4	161,8	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	14	19,1	76,7	395,6	169,2	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	15	19,1	78,3	404,2	172,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	16	19,1	83,3	430,0	183,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	17	18,5	83,3	430,0	183,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	18	18,5	81,7	421,4	180,2	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	19	18,5	76,7	395,6	169,2	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	20	18,5	71,7	369,8	158,1	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Agl	21	18,5	80,0	412,8	176,5	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	22	18,5	83,3	430,0	183,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	23	18,5	83,3	430,0	183,9	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Cul	24	18,5	81,7	421,4	180,2	5,16	0,099	14400	0,00000512	3,14
Control	25	19,1	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	26	19,1	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Agl	27	19,1	70,0	361,2	150,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Agl	28	19,1	76,7	395,6	164,4	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14

Agi	29	19,1	71,7	369,8	153,6	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Cul	30	19,1	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Cul	31	19,1	80,0	412,8	171,5	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Cul	32	19,1	80,0	412,8	171,5	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	33	16,2	76,7	395,6	179,7	5,16	0,099	14400	0,00000482	3,14
Control	34	16,2	75,0	387,0	175,8	5,16	0,099	14400	0,00000482	3,14
Agi	35	16,2	66,7	344,0	156,3	5,16	0,099	14400	0,00000482	3,14
Agi	36	16,2	68,3	352,6	160,2	5,16	0,099	14400	0,00000482	3,14
Agi	37	16,2	68,3	352,6	160,2	5,16	0,099	14400	0,00000482	3,14
Cul	38	16,2	75,0	387,0	175,8	5,16	0,099	14400	0,00000482	3,14
Cul	39	16,2	73,3	378,4	171,9	5,16	0,099	14400	0,00000482	3,14
Cul	40	16,2	76,7	395,6	179,7	5,16	0,099	14400	0,00000482	3,14
Control	41	19,6	80,0	412,8	171,5	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	42	19,6	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	43	19,6	78,3	404,2	167,9	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	44	19,6	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	45	19,6	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	46	19,1	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	47	19,1	78,3	404,2	167,9	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	48	19,1	78,3	404,2	167,9	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	49	19,1	78,3	404,2	167,9	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	50	19,1	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	51	18,5	85,0	438,6	182,2	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	52	18,5	86,7	447,2	185,8	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	53	18,5	83,3	430,0	178,6	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	54	18,5	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	55	18,5	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	56	19,1	80,0	412,8	171,5	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	57	19,1	78,3	404,2	167,9	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	58	19,1	81,7	421,4	175,1	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	59	19,1	78,3	404,2	167,9	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Chloramphénicol	60	19,1	78,3	404,2	167,9	5,16	0,099	14400	0,00000527	3,14
Control	61	16,2	78,3	404,2	178,1	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Control	62	16,2	75,0	387	170,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	63	16,2	78,3	404,2	178,1	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14
Chloramphénicol	64	16,2	75,0	387	170,5	5,16	0,099	14400	0,00000497	3,14

Chloramphénicol 65 16,2 75,0 387 170,5 5,16 0,099 14400 0,00000497 3,14