

MCours.com

CHAPITRE II
MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 Choix des sites :

Une entente de confidentialité entre Agrinova et l'Usine Alma ne permet pas de divulguer l'emplacement exact des sites ni les résultats obtenus. Le protocole expérimental initial a été élaboré par Agrinova (AGRINOVA 2006) et il est résumé ci-dessous.

Le protocole expérimental comporte trois sites. Un site témoin en serre est utilisé afin de déterminer la différence d'accumulation des fluorures dans les plantes avec celle des sites situés dans l'environnement de l'aluminerie. Deux autres sites sont implantés sur des terres cultivées. L'un des deux sites est implanté à l'intérieur de la courbe de concentration 0,40 µg de HF par m³ d'air ambiant. Ce qui correspond à un site plus à risque d'accumulation de fluorures. L'autre site est situé à l'extérieur de cette courbe et représente un risque moins élevé en fonction de la distance qui le sépare de l'aluminerie et de la direction des vents dominants. De plus, afin de réduire les variations entre les deux sites de cultures, ils ont été sélectionnés en fonction de leurs caractéristiques pédologiques et de leurs antécédents cultureux semblables. De même, ils sont représentatifs de la zone d'étude.

2.2. Choix des céréales et des plantes fourragères

Le choix des espèces végétales a été fait en fonction des recommandations de semences de Nutrinor qui tient compte des réalités locales, c'est-à-dire le climat et l'utilisation envisagée des espèces. Les espèces sélectionnées sont énumérées dans le tableau 8.

Tableau 8. Choix des cultures céréalières et fourragères.

Céréales	Plantes fourragères
- Avoine <i>Triple Crown</i> , (<i>Avena Sativa</i>)	- Luzerne <i>Gibraltar</i> (<i>Medicago sativa</i>),
- Orge à six rangs <i>Chapais</i> . (<i>Hordeum vulgare</i>)	- Trèfle rouge <i>Kvarta</i> (<i>Trifolium pratense</i>),
	- Fléoles des prés <i>AC Alliance</i> (<i>Phleum pratense</i>),
	- Raygrass <i>Ajax</i> (<i>Lolium spp.</i>).

2.3 Dispositifs expérimentaux et paramètres analytiques

Les dispositifs expérimentaux et les paramètres analysés élaborés initialement par AGRINOVA (2006) sont résumés au tableau 9.

Tableau 9. Résumé des dispositifs expérimentaux et des paramètres analytiques.

Paramètre	Céréales	Plantes fourragères
Préparation du sol	Homogénéisation	Homogénéisation
Semis	Manuel avec homogénéisation	Manuel avec homogénéisation
Nombre de répétition	4	4
Dispositifs expérimentaux	Parcelle de 1,5 m x 3 m distancée de 1m	Parcelle de 1,5 m x 3 m distancée de 1m
Distribution des parcelles	Aléatoire	Aléatoire
Orientation des parcelles	Nord – Sud	Nord - Sud
Variables analysées	Fluorures totaux grains et tige	Fluorures totaux parties aériennes
Échantillonnage des parcelles	Échantillon composite de 10 plants lorsque les grains sont à maturation	Échantillon composite de 10 plants prélevé à l'été de la seconde saison.

2.3.1. Analyses laboratoire

La méthode d'analyse sélectionnée comme méthode parallèle est celle du CEAEQ qui s'intitule : *Détermination des fluorures : méthode colorimétrique après distillation* (QUÉBEC 2004). Cette méthode a été sélectionnée car elle représente une alternative comparable en termes de précision et de domaine d'application à la méthode employée en premier lieu pour l'analyse des concentrations de fluorures dans la végétation. La méthode initiale, dite par fusion, est une méthode élaborée par le Centre de Recherche et Développement de Rio Tinto Alcan. Il est impossible de divulguer les spécifications

techniques de cette méthode car elle appartient à Rio Tinto Alcan. Par ailleurs la méthode employée pour cette étude, dite méthode par combustion, est la méthode de référence du CEAEQ. D'abord, l'échantillon est séché, puis moulu pour passer au travers d'un tamis de 150 μm . ensuite l'échantillon est oxydé par combustion dans une bombe calorimétrique contenant de l'oxygène sous pression. Les fluorures libérés par la combustion sont absorbés dans une solution d'acide sulfurique. Un schéma de la bombe à combustion est disponible à l'annexe V. Par la suite, les fluorures de l'échantillon sont séparés des autres constituants par distillation en milieu acide. Le distillat est mélangé avec une solution d'alizarin et de lanthane pour former un complexe bleu dont l'absorbance à 620 nm est proportionnelle à la concentration des fluorures. Un schéma du principe de fonctionnement d'un analyseur de fluorures est disponible à l'annexe VI. Les principales caractéristiques de la méthode sont énumérées ci-dessous (CEAEQ 2006) :

- Le domaine d'application se situe entre 2,0 et 80 mg/kg F pour les tissus végétaux.
- La distillation des échantillons lors du dosage élimine la plupart des interférences présentes.
- La limite de détection pour les fluorures totaux est de 2,0 mg/kg F dans les échantillons végétaux
- La limite de quantification est de 6,9 mg/kg F dans les échantillons végétaux.
- La pente obtenue lors du dosage est d'environ 180 unités.
- La réplicabilité d'une série de mesure pour les fluorures totaux dans les échantillons de végétation est de $\pm 0,7$ mg/kg F à une concentration de 8,5 mg/kg.
- La répétabilité d'une série de mesures pour les fluorures totaux est de ± 2 mg/kg F à une concentration de 43 mg/kg F.
- Lors d'essais ($n=10$) à une concentration de 45 mg/kg F pour les échantillons végétaux, l'erreur relative a été de 3,6 % (justesse de 96,4 %) pour les fluorures totaux.
- Lors d'essais, le taux de récupération des fluorures totaux dans les tissus végétaux par cette procédure a été de 101 %.

2.3.1.1. Appareillage

- Étuve à une température de $105\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$
- Moulin de marque Wiley muni d'un tamis de $420\ \mu\text{m}$
- Étuve à une température de $60\text{ °C} \pm 2\text{ °C}$
- Balance analytique dont la sensibilité est de $0,1\ \text{mg}$
- Bombe calorimétrique à oxygène de $300\ \text{ml}$ de marque Parr avec support pour la bombe, boîte de mise à feu et bain d'eau pour refroidir et bonbonne d'oxygène.
- Agitateur mécanique
- Agitateur à vortex
- Système automatisé pour le dosage des fluorures, incluant :
 - échantillonneur;
 - pompe péristaltique;
 - bain chauffant pour la distillation;
 - système pour la réaction;
 - colorimètre muni de filtres de longueur d'onde de $620\ \text{nm}$ et d'une cellule de 50mm ;
 - enregistreur.

2.3.1.2. Réactifs et étalons

Tous les réactifs commerciaux utilisés sont exempts de fluorures. L'eau utilisée pour la préparation des réactifs et des étalons est de l'eau distillée..

- Acide chlorhydrique, HCl (CAS n° 7647-01-0)
- Acide sulfurique, H₂SO₄ (CAS n° 7664-93-9)
- Hydroxyde de sodium, NaOH (CAS n° 1310-73-2)
- Huile minérale pour le bain de distillation (CAS n° 8042-47-5)
- Fluorure de sodium, NaF (CAS n° 7681-49-4)
- Acide acétique, CH₃COOH (CAS n° 64-19-7)

- Hydroxyde d'ammonium, NH_4OH (CAS n° 1336-21-6)
- Acétate de sodium, $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 6131-90-4)
- Nitrate de lanthane, $\text{La}(\text{NO}_3) \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 10277-43-7)
- Acétone, $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ (CAS n° 67-64-1)
- Butanol tertiaire (CAS n° 75-65-0)
- Alizarin complexone (CAS n° 3952-78-1)
- Éthylène diamine tétracétate de sodium, $\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{Na}_2\text{O}_8 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 10378-23-1)
- Brij-35® (marque déposée par Atlas Chemical Industries, Inc.)

2.3.1.3. Protocole d'analyse

Pour toute série d'échantillons, les recommandations des « Lignes directrices concernant l'application des contrôles de la qualité en chimie », (CEAEQ, 2007), sont suivies afin de s'assurer d'une fréquence d'insertion adéquate en ce qui concerne les éléments de contrôle et d'assurance de la qualité (blanc, matériaux de référence, duplicata, etc.) Tous ces éléments d'assurance et de contrôle de la qualité suivent les mêmes étapes du protocole analytique que les échantillons.

2.3.1.4. Calcul et expressions des résultats

La courbe est linéaire pour des concentrations entre 0,01 et 1,00 mg/l F. Pour la lecture des résultats, une courbe est tracée en mesurant la hauteur des pics obtenus. Les résultats de l'échantillon sont calculés à partir de l'équation suivante :

$$C = \frac{(A - D) \times V \times F}{B}$$

C : concentration des fluorures dans l'échantillon (mg/kg)

A : concentration des fluorures dans la solution dosée (mg/l)

D : concentration des fluorures dans la solution témoin (mg/l)

B : poids d'échantillon utilisé (g)

V : volume final de l'échantillon (ml)

F : facteur de dilution

2.3.2. Analyses statistiques

L'analyse graphique des distributions est effectuée à partir des graphiques en boîte de Tuckey. Ce type d'analyse permet de reconnaître visuellement les différences significatives entre les distributions des concentrations de fluorures entre deux méthodes d'analyses de laboratoire différentes.

De plus, l'analyse de variance à deux facteurs avec répétition d'expérience est employée afin d'identifier les effets statistiques entre les cultures en fonction des années et du site de cultures. De même elle permet de déceler les différences entre la méthode par fusion, initialement employée lors de l'étude de départ, et la méthode par combustion sélectionnée pour cette étude. Ce type d'analyse statistique compare les variances entre les échantillons pour un coefficient de sécurité α ($\alpha=0,05$). On vérifie que le $F_{\text{expérimental}}$ est plus grand que le $F_{\text{théorique}}$ selon des tables statistiques établies en fonction des degrés de liberté. Ces analyses sont effectuées de manière informatique par le logiciel mathématique ExcelTM.