

Hydroxylamine dans les eaux lacustres¹⁾ —Variation saisonnière et importance biogéochimique—

Par Motoharu TANAKA

(Reçu le 23 Décembre 1953)

Les recherches nombreuses²⁾ sur les azotes combinés dans l'hydrosphère ne datent pas d'aujourd'hui. D'un autre côté, les biochimistes et les bactériologues étudient sans cesse les mutuelles transformations bactériologiques des azotes combinés.

Récemment, les biochimistes ont démontré la production intermédiaire d'hydroxylamine dans le cas de transformation $\text{NO}_2 \rightleftharpoons \text{NH}_3$. Ainsi Novak et Wilson³⁾ ont constaté la formation d'hydroxylamine au cours de la fixation d'azote, et Taniguchi et d'autres⁴⁾ l'ont vérifiée dans la réduction successive de l'azote nitrique. Procédant par méthode indirecte, Lees⁵⁾ a conclu la possibilité d'une formation intermédiaire d'hydroxylamine dans la nitrification bactériologique.

Nous avons déjà présenté une étude⁶⁾ sur l'existence d'hydroxylamine dans les eaux lacustres. Dans le présent exposé nous allons compléter les résultats d'observation durant une année entière. L'argumentation en sera faite dans le détail.

Lac étudié Pour cette recherche nous avons choisi le lac Kizaki. La stratification très prononcée des azotes combinés y est observée dans la période de stagnation estivale⁷⁾.

Le lac Kizaki se trouve dans la Préfecture de Nagano, le long de la vallée, au pied Est des Alpes Japonaises Nord. Par une rivière il se trouve mis en communication avec le lac Nakatsuna. Sa transparence de quelques

mètres nous montre sa nature mésotrophique.

Méthode d'analyse Nous avons employé la modification par Endre et Kaufmann^{8), 9)} de la méthode de Blom⁹⁾, dans laquelle l'hydroxylamine est oxydée en nitrite avec une solution d'iode; avec l'acide sulfanilique le nitrite forme un composé diazoïque qui est subséquemment couplé avec l' α -naphtylamine en produisant une coloration rose. On compare cette coloration et en déduit la teneur en hydroxylamine.

Les réactifs nécessaires sont :

Acide sulfanilique Mélanger 10.5 g. d'acide sulfanilique, 6.8g. d'acétate de sodium, 300cc. d'acide acétique cristallisante et 600 cc. d'eau distillée. Faire bouillir la solution et diluer à 1 litre.

α -Naphtylamine A un litre d'eau distillée, bouillante, ajouter 5.0 g. d' α -naphtylamine et continuer l'ébullition pendant 5 minutes. Filtrer immédiatement et introduire l'acide chlorhydrique suffisant pour clarifier la solution.

Iode 1.3 g. d'iode est dissous dans 100 cc. d'acide acétique cristallisante.

Hyposulfite 2.5 g. d'hyposulfite de sodium sont dissous dans 100 cc. d'eau distillée. Conserver en glacière. Tous les réactifs doivent être contenus dans des bouteilles brunes.

Mode opératoire de l'analyse A 5 cc. d'échantillon d'eau, ajouter 1 cc. d'acide sulfanilique et 0.5 cc. d'iode: maintenir la température de la solution à 30–40°C pendant 15 minutes; décolorer ensuite l'excès d'iode avec l'hyposulfite. Y introduire 1 cc. d' α -naphtylamine et comparer la coloration avec celle qu'on obtient par le nitrite de sodium, parce que l'oxydation de l'hydroxylamine en nitrite est vraiment quantitative.

S'il existe du nitrite dans l'échantillon, soustraire son équivalence de la teneur obtenue en hydroxylamine.

Résultats d'observations Nos observations ont débuté au mois de juin 1952 et ont été poursuivies jusqu'en mars 1953 par intervalle-

1) Cet exposé a été déjà présenté à l'assemblée annuelle de la société chimique de Japon qui s'est tenue à Kyoto au mois d'avril 1953.

2) Par exemple, B. P. Domogalla, E. B. Fred et W. H. Peterson, *J. Amer. Water Works Assoc.*, **15**, 369 (1929); S. Yoshimura, *Archiv f. Hydrobiol.*, **24**, 155 (1932).

3) R. Novak et P. W. Wilson, *J. Bact.*, **55**, 517 (1948).

4) S. Taniguchi, H. Mitsui, J. Toyoda, T. Yamada et F. Egami, *J. Biochem.*, **40**, 1775 (1953).

5) H. Lees, *Nature*, **169**, 156 (1952).

6) M. Tanaka, *Nature*, **171**, 1160 (1953).

7) M. Tanaka, *J. Earth Sciences, Nagoya University*, **1**, 119 (1953).

8) G. Endres et L. Kaufmann, *Ann. Chem.*, **53**, 184 (1937).

9) J. Blom, *Biochem. Z.*, **194**, 385 (1928).

de trois mois. Les tableaux 1-4 nous montrent les résultats.

En juin, l'eau de lac se stratifie, et on constate vers le fond que l'oxygène tend légèrement à diminuer. Le nitrite et l'hydroxylamine ne sont décelés qu'à la couche de 15 m., c'est-à-dire au-dessous de la "couche du saut". Quant au nitrate, il se trouve dans les couches au-dessous de 17.5 m. et il

augmente avec la profondeur. La teneur en azote ammoniacal oscille entre 0.012 et 0.030 mg. par litre.

Au mois de septembre, la stagnation se complète et les eaux au-dessous de 25 m. contiennent moins d'un cc. d'oxygène par litre d'eau. On décèle du fer ferreux dans la couche tout près du fond. L'azote nitrique augmente jusqu'à la couche de 26 m. et il diminue au

TABLEAU I

DISTRIBUTION VERTICALE DE L'OXYGÈNE ET DES AZOTES COMBINÉS DANS LE LAC KIZAKI (a)

Le 3 juin 1952* Profondeur atteinte: 29 m.

Profondeur m	Température °C	O ₂ cc/l	N-NO ₃ mg/l	N-NO ₂ mg/l	N-NH ₂ OH mg/l	N-NH ₃ mg/l
0	16.25	6.69	<0.02	<0.001	<0.001	0.018
2.5	15.78	7.07	"	"	"	0.012
5	15.68	6.83	"	"	"	0.016
7.5	13.71	6.83	"	"	"	0.030
10	9.93	7.04	"	"	"	0.016
12.5	8.83	6.84	"	"	"	<0.01
15	8.08	6.02	"	0.0075	tr.	"
17.5	7.36	6.02	0.04	<0.001	<0.001	0.012
20	6.81	6.03	0.04	"	"	<0.01
22.5	6.60	5.99	0.06	"	"	0.018
25	6.42	5.88	0.05	"	"	0.018
27.5	6.40	5.22	5.22	"	"	0.018
28.8	—	4.63	0.06	"	"	0.018
28.9	—	4.63	0.06	"	"	0.022
28.95	—	4.79	0.07	"	"	0.030
29.0	—	5.07	0.04	"	"	0.030

Dans toutes les couches d'eau, on ne décèle aucune trace de fer ferreux.

TABLEAU II

DISTRIBUTION VERTICALE DE L'OXYGÈNE ET DES AZOTES COMBINÉS DANS LE LAC KIZAKI (b)

Le 5 sept. 1952 Profondeur atteinte: 28.5 m.

Profondeur m	Température °C	O ₂ cc/l	N-NO ₃ mg/l	N-NO ₂ mg/l	N-NH ₂ OH mg/l	N-NH ₃ mg/l
0	24.8	5.77	<0.02	<0.001	<0.001	<0.01
2.5	24.71	5.67	"	"	"	0.018
5	24.60	5.45	"	"	"	0.018
7.5	18.90	5.71	"	"	"	0.018
10	13.82	4.86	"	"	"	0.016
12.5	10.76	4.33	0.08	"	"	0.016
15	9.74	4.30	0.07	"	"	0.018
17.5	—	4.08	0.15	"	"	0.018
20	—	1.98	0.20	"	"	0.016
22.5	—	1.73	0.16	"	"	0.018
25	—	0.56	0.28	"	"	0.018
26	—	—	0.28	0.004	0.004	0.018
27.5	—	—	0.19	0.012	0.007	0.016
28	—	—	0.11	0.014	0.011	0.016
28.1	—	0.42	0.09	0.016	0.011	0.020
28.3	—	0.31	0.08	0.019	0.011	0.020
28.45	—	0.49	0.06	0.019	0.011	0.020
28.50*	6.60	0.39	0.05	0.015	0.021	0.023

* Apparition de fer ferreux.

TABLEAU III

DISTRIBUTION VERTICALE DE L'OXYGÈNE ET DES AZOTES COMBINÉS DANS LE LAC KIZAKI (c)

Le 8 déc. 1952 Profondeur atteinte: 28.7 m.

Profondeur m	Température °C	O ₂ cc/l	N-NO ₃ mg/l	N-NO ₂ mg/l	N-NH ₂ OH mg/l	N-NH ₃ mg/l
0	8.5	6.52	<0.02	<0.001	<0.001	<0.01
5	8.63	6.47	0.09	"	"	"
10	8.25	6.55	0.03	"	"	"
15	8.65	5.90	0.04	"	"	"
20	8.60	0.71	0.02	"	"	0.016
21.5	—	—	0.025	0.006	0.004	<0.01
22.5*	8.42	0.82	<0.02	0.005	0.005	0.025
24	—	—	"	<0.001	tr.	0.030
25	8.52	0.74	"	"	<0.001	0.032
25.5	—	—	"	"	"	0.032
26.5	—	—	"	"	"	0.035
27.5	8.65	1.51	"	"	"	0.035
28.3	—	—	"	"	"	0.040
28.5	—	0.71	"	"	"	0.040
28.6	—	—	"	"	"	0.040
28.65	—	0.61	"	"	"	0.045
28.7	7.02	0.71	"	"	"	0.045

* Au-dessous de cette couche existence de fer ferreux.

TABLEAU IV

DISTRIBUTION VERTICALE DE L'OXYGÈNE ET DES AZOTES COMBINÉS DANS LE LAC KIZAKI (d)

Le 2 mar. 1953* Profondeur atteinte: 26.5 m.

Profondeur m	Température °C	O ₂ cc/l	N-NO ₃ mg/l	N-NO ₂ mg/l	N-NH ₂ OH mg/l	N-NH ₂ mg/l
0	3.3	8.55	<0.02	<0.001	<0.001	0.014
5	3.04	8.35	0.02	"	"	0.022
10	3.10	8.22	<0.02	"	"	0.022
15	3.10	8.38	"	"	"	0.022
20	3.10	8.99	"	"	"	0.022
25	—	8.52	"	"	"	0.022
26.3	—	8.18	"	"	"	0.025
26.45	—	8.35	"	"	"	0.022
26.5	3.05	7.72	0.06	"	"	0.022

* Aucune trace de fer ferreux dans les couches d'eau.

delà de cette couche.

C'est dans cette couche que l'hydroxylamine et le nitrite apparaissent en proportion du décroissement de l'azote nitrique. Le nitrite atteint son maximum entre 20 et 5 cm. au-dessus de la superficie de la vase. La teneur en hydroxylamine est la plus forte dans la couche la plus basse (la couche tout près du fond). L'ammoniaque varie de 0.016 à 0.023 mg. par litre.

A la fin de la période de stagnation, en décembre, on décèle du fer ferreux au-dessous de 22.5 m., bien que la stabilité verticale ne soit pas assez grande. On peut doser l'azote nitrique entre les profondeurs 5 et 21.5 m.; sa teneur varie de 0.02 mg. jusqu'à 0.09 mg. par litre. L'hydroxylamine et le

nitrite sont décelables aux couches de 21.5 m. et de 22.5 m. La teneur en hydroxylamine est supérieure dans cette dernière couche où le nitrite est moins abondant. L'ammoniaque apparaît dans les couches au-dessous de 20 m. et ses concentrations y sont de 0.016 à 0.045 mg. par litre.

Après la circulation hivernale, en mars 1953, on ne décèle le nitrate qu'à la profondeur de 5 m. et tout près du fond. On ne constate plus l'existence d'hydroxylamine et de nitrite dans aucune couche d'eau. Les teneurs en azote ammonical oscillent entre 0.014 et 0.026 mg. par litre.

Résumons nos résultats—A mesure que la période de stagnation avance, l'hydroxyl-

amine apparaît dans les couches dont la teneur en oxygène est inférieure à 1 cc par litre d'eau.

Le maximum est atteint à la partie la plus haute des couches où l'on décèle le fer ferreux (niveau d'oxydo-réduction). Au-dessous, l'hydroxylamine diminue et disparaît. A ce dernier point de vue il ressemble au nitrite, mais leurs tenors les plus fortes apparaissent aux couches différentes; vers le fond, dans la période de stagnation, on observe comme suit les maxima des teneurs en azotes combinés: nitrate, nitrite, hydroxylamine et ammoniac.

Après la circulation hivernale, on ne décèle ni nitrite ni hydroxylamine dans aucune couche d'eau.

Argumentation Considérons d'abord comment se forme l'hydroxylamine dans les eaux du lac Kizaki:

Avant l'apparition d'hydroxylamine, le nitrate est le plus abondant parmi les azotes combinés (Tableau I). L'augmentation de l'hydroxylamine et du nitrite correspond à la diminution du nitrate et de l'oxygène (Tableaux II et III).

En nous appuyant sur ces deux faits, nous pouvons conclure que l'hydroxylamine dans ce lac se forme comme produit intermédiaire de la réduction bactériologique du nitrate favorisée par l'environnement pauvre en oxygène.

L'apparition du nitrite (et probablement de l'hydroxylamine) à la profondeur de 15 m. en juin 1952 (Tableau I) est plus difficile à expliquer, car on n'y constate pas la diminution d'oxygène. Cette profondeur correspond à "compensation depth" où l'assimilation et la décomposition des matières organiques sont presque égales. Bien que l'on y puisse supposer un milieu microscopiquement anaérobie

où des bactéries peuvent réduire le nitrate en nitrite, ce phénomène serait plus probablement dû à la réduction du nitrate par les êtres autotrophes, par exemple algues, au fur et à mesure de l'assimilation de l'azote nitrique dans l'épilimion. On sait que l'algue peut réduire le nitrate dans un milieu aérobiose, comme récemment Kessler¹⁰⁾ l'a étudié en détail à l'aide de la méthode biochimique. On peut ainsi expliquer de plus la présence de nitrate au-dessous de 15 m. et son absence au-dessus de cette couche.

Résumé

1° Nous avons étudié la variation saisonnière des composés d'azote, surtout celle de l'hydroxylamine.

2° Dans le lac Kizaki, à la période de stagnation, nous avons trouvé de l'hydroxylamine au niveau d'oxydo-réduction.

3° Nous avons conclu que cet hydroxylamine est un produit intermédiaire de la réduction bactériologique du nitrate.

4° L'apparition de l'azote nitreux (et probablement de l'hydroxylamine) au-dessous de la "couche du saut", au début de la période de stagnation, serait due sans doute à la réduction de l'azote nitrique par les algues.

En terminant ce compte-rendu, nous tenons à mentionner les noms des MM. les Professeurs K. Sugawara et F. Egami à qui va notre gratitude pour l'aide précieuse qu'ils n'ont pas cessé de nous donner.

*Institut de chimie, Faculté des Sciences,
Université de Nagoya*

10) E. Kessler, *Flora*, **140**, 1 (1953).