

Consignes pour le prélèvement d'échantillons d'eau en vue de mesures hydrologiques

Document de méthode hydrologie. Version 2



Historique des révisions :

Création Version 1 Daniel A., mars 2009. Document de méthode hydrologie. Consignes pour le prélèvement d'échantillons d'eau en vue de mesures hydrologiques

Version 2 de novembre 2016 Cette nouvelle version est basée sur le document d'origine dont certains paragraphes sont repris intégralement. Des précisions ont été apportées au document ainsi qu'un protocole de prélèvement d'échantillons d'eau pour l'analyse des pigments phytoplanctoniques. Le texte en rouge matérialise les ajouts ou modifications par rapport au document d'origine.

Liste de diffusion interne contrôlée

Tous responsables des LERs

Tous responsables ou correspondants Qualité des LERs

Tous correspondants REPHY des LERs

rédigé par : nom : Anne Daniel Luis Lampert fonction : Experts référents hydrologie pigments signature  date : 28/11/16	vérifié par : nom : Nadine Neaud Masson fonction : Assistante coordination REPHY signature  date : 07/12/16	approuvé par : nom : René Robert fonction : Responsable Unité Littoral signature  date : 08/12/16
---	--	---

Date d'application : 16 janvier 2017

SOMMAIRE

1	Objet.....	2
2	Références	2
3	Préparation du matériel de prélèvement	2
3.1	Flaconnage	2
3.2	Enceintes réfrigérées	3
3.3	Bouteilles de prélèvement	3
3.4	Systèmes de pré-filtration	4
3.5	Sondes.....	5
3.6	Feuille de mer	5
4	Réalisation du prélèvement.....	5
4.1	Précautions	5
4.2	Mesures « in situ » à la sonde	5
4.3	Mise à l'eau de la bouteille	6
4.4	Echantillonnage à la bouteille	6
5	Conservation des échantillons entre le prélèvement et le lieu de conservation	7
6	Pré-traitement et conservation des échantillons	7
6.1	Echantillons pour analyse de nitrate-nitrite et de phosphate.....	7
6.2	Echantillons pour analyse d'ammonium	7
6.3	Echantillons pour analyse du silicate.....	7
6.4	Echantillons pour analyse de la chlorophylle-a et des pigments.....	8
6.5	Echantillons pour lecture de flore phytoplanctonique	9
7	Acheminement des échantillons au laboratoire d'analyse	9
	Annexe 1 : Liste de matériel de base.....	10
	Annexe 2 : Exemple de réalisation d'un support pour bouteille Niskin 5 L.....	11
	Annexe 3 : Exemple de feuille de mer.....	12

1 OBJET

Ce document a pour but de décrire le prélèvement d'échantillons d'eau en vue d'une analyse hydrologique. Ce document est destiné à l'ensemble des préleveurs REPHY intervenant notamment dans le cadre des prélèvements DCE.

2 REFERENCES

Ce document de consignes est un résumé du chapitre II (p. 28-37) du manuel : A. Aminot, R. Kérouel (2004). Hydrologie des écosystèmes marins. Paramètres et analyses. Ed Ifremer. 336p.

Ce document de consignes est illustré par un DVD, contenant des séquences filmées, disponible sur internet à l'adresse suivante :

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/index.html>

Des renvois aux pages web de ce DVD sont effectués à chaque début de paragraphe.

Les informations techniques concernant le choix du matériel sont disponibles sur le site intranet « hydrologie » de l'Ifremer : <http://w3z.ifremer.fr/intrahydro/>

3 PREPARATION DU MATERIEL DE PRELEVEMENT

Une liste non exhaustive de matériel de base est présentée en Annexe 1.

3.1 FLACONNAGE

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre36.html>

Le Tableau 1 regroupe les types de flacons recommandés pour les mesures de chlorophylle-a, de pigments, de phytoplancton et de nutriments. Les analyses de $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ et de PO_4^{3-} peuvent être effectuées à partir du même flacon. Il faut, par contre, un flacon spécialement dédié à l'analyse du silicate et un autre flacon pour l'ammonium.

Il est nécessaire de numéroter les flacons à la suite de leur lavage de façon à avoir une traçabilité complète et faciliter l'enregistrement.

Ces flacons doivent être stockés dans un endroit propre à l'abri de la poussière et des vapeurs et éloigné de tout produit chimique.

	Chlorophylle-a, pigments, phytoplancton	Nutriments
Type de flacon	Flacon plastique étanche, éventuellement opaque, de volume variable suivant la zone étudiée et la saison (de 100 à 2000 ml)	HDPE à col étroit de 60 ou 125 ml avec capuchon fileté en polypropylène
Traitement entre 2 utilisations	Rinçage eau douce puis à l'eau déminéralisée (ou au lave-vaisselle ménager)	Lavage manuel avec HCl 1N puis 3 rinçages avec eau déminéralisée ou lavage au lave-vaisselle avec acide dilué et détergent <u>sans phosphate</u>

Tableau 1 : Caractéristiques des flacons utilisés pour les échantillonnages de chlorophylle-a, de pigments, de phytoplancton et des nutriments

3.2 ENCEINTES REFRIGEREES

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre310.html>

Ces prélèvements d'eau de mer doivent être conservés dans une enceinte réfrigérée qui ne doit pas être utilisée pour d'autres usages (matière vivante, réactifs,...). L'utilisation d'une glacière rigide pouvant être branchée sur allume-cigare est conseillée. Si ce type de glacière n'est pas disponible, il faut conserver les échantillons dans une glacière comportant un maximum de pains de glace.

Lorsque l'équipement de l'embarcation le permet, l'idéal est d'y avoir un réfrigérateur à poste fixe.

3.3 BOUTEILLES DE PRELEVEMENT

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre32.html>

Il est recommandé d'utiliser une bouteille de prélèvement de type Niskin qui est la référence internationale pour le prélèvement d'eau en milieu marin. Un volume de 5 L est nécessaire pour permettre l'échantillonnage du phytoplancton, de la chlorophylle-a, des pigments et des nutriments. Cette bouteille de prélèvement est fermée à l'aide d'un messenger.

Pour effectuer la mise en flacons dans de bonnes conditions, il est utile de prévoir un porte bouteille sur l'embarcation. Deux exemples de porte-bouteille à fixer et transportable sont représentés sur la Figure 1. [Un plan de réalisation de ce support est inséré en Annexe 2.](#)

Les bouteilles Niskin doivent être maintenues en position fermée lorsqu'elles ne sont pas utilisées. Elles doivent être rincées dans la colonne d'eau avant tout prélèvement.



Figure 1 : Exemples de support de bouteille Niskin

3.4 SYSTEMES DE PRE-FILTRATION

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre38.html>

La pré-filtration est destinée à éliminer une partie aussi importante que possible du matériel particulaire pour diminuer les risques d'altération des concentrations en nutriments. Les systèmes de pré-filtration (Figure 2 et p. 154 du manuel Aminot et Kérouel 2004) sont constitués d'un support type Swinnex de diamètre 47 mm et d'une membrane en Nylon. S'il est recommandé d'utiliser une membrane de porosité de 10 μm dans les eaux côtières, la taille des pores de la membrane peut être adaptée à la zone d'étude dans une fourchette comprise entre 10 et 200 μm (plus l'eau est chargée en particules, plus la taille des pores peut être grande). Il peut être nécessaire de prévoir plusieurs pré-filtres munis de tailles de membranes différentes au sein d'une même tournée. Pour éviter toute pollution, ces pré-filtres doivent être stockés dans des sachets plastiques à zip lors des tournées de prélèvement. De plus, il faut éviter que l'embout de sortie d'eau du système de pré-filtration ne touche les parois intérieures du flacon.

Les membranes et les supports doivent être rincés à l'eau déminéralisée entre deux prélèvements.

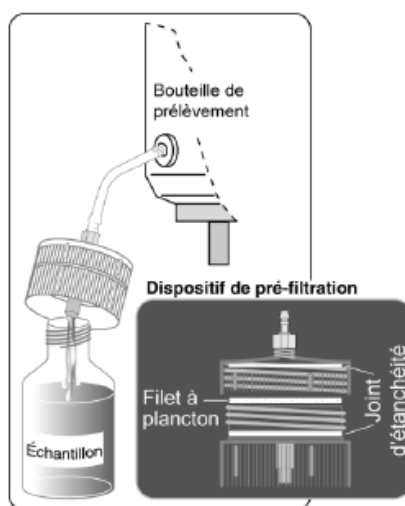


Figure 2 : Dispositif de pré-filtration adaptable directement à la sortie de la bouteille de prélèvement.

3.5 SONDES

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre35.html>

Chaque préleveur doit s'assurer avant le départ que le suivi métrologique a bien été effectué sur la sonde.

3.6 FEUILLE DE MER

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre39.html>

Un exemple type de feuille de mer est joint en Annexe 3. Il est conseillé d'imprimer les feuilles de mer sur du papier photo ou papier imprimable étanche.

4 REALISATION DU PRELEVEMENT

4.1 PRECAUTIONS

ATTENTION : le bateau est la première source de contamination. Couper le moteur (sauf évidemment si la sécurité n'est pas garantie) et faire les prélèvements de surface à l'avant du bateau. Eviter de dériver dans la traînée du moteur. Il est interdit de fumer lors du prélèvement. Effectuer le prélèvement avec des mains propres (pas de graisse, essence,...).

4.2 MESURES « IN SITU » A LA SONDE

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre44.html>

Les mesures physiques sont effectuées à la sonde lorsque le moteur du bateau est arrêté. Plonger la sonde à environ 50 cm de profondeur et faire la mesure de sub-surface après stabilisation de la lecture. La mesure d'oxygène dissous doit être également effectuée au fond de la colonne d'eau. Exceptionnellement, lors d'utilisation d'oxymètres dont la longueur de câble ne peut permettre une mesure à plus de 4 m de fond, la mesure d'oxygène dissous du fond peut se faire à l'aide d'une bouteille Niskin qui a été refermée au fond de la colonne d'eau (**environ 1 m au-dessus du sédiment**) puis remontée à la surface et placée sur un porte bouteille avec le minimum d'agitation.

Pour les laboratoires possédant des sondes multiparamètres, il est souhaitable d'enregistrer les paramètres température, salinité, turbidité, oxygène dissous sur l'ensemble de la colonne d'eau. **La vitesse de la sonde dans la colonne d'eau doit être adaptée à la fréquence d'acquisition des différents capteurs. Les données à retenir pour le profil sont celles mesurées lors de la remontée.**

L'unité à utiliser pour la mesure d'oxygène dissous est le mg/L. Attention : certains types d'oxymètres nécessitent la saisie dans leur logiciel de la valeur de la salinité mesurée parallèlement par un conductimètre.

4.3 MISE A L'EAU DE LA BOUTEILLE

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre47.html>

La bouteille de prélèvement doit être maintenue en position fermée lorsqu'elle n'est pas utilisée. **Suivant la zone, il est préférable de fixer au câble un lest adapté à la courantologie du lieu.** Armer la bouteille puis la plonger à la profondeur souhaitée. Laisser la bouteille se rincer quelques instants puis la refermer à l'aide du messenger. Remonter la bouteille à la surface et la placer sur un porte bouteille.

4.4 ECHANTILLONNAGE A LA BOUTEILLE

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre48.html>

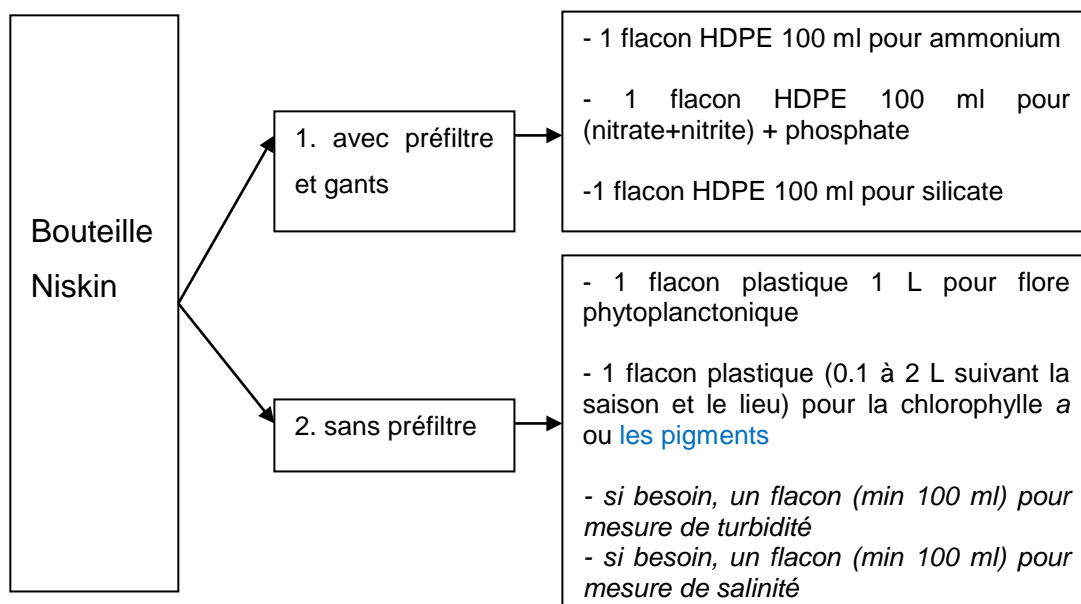


Figure 3 : *Ordre de remplissage du flaconnage*

Lorsque le milieu est fortement chargé en matières en suspension, le préfiltre peut se colmater. Il est alors préférable de prévoir plusieurs préfiltres de façon à utiliser un préfiltre « propre » pour le point de prélèvement suivant (les pré-filtres sont conservés dans des sachets plastiques lors du transport).

Après avoir mis des gants à usage unique **non poudrés**, remplir les flacons dans l'ordre suivant (Figure 3) :

- avec le pré-filtre : le flacon NH_4^+ , le flacon $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-) + \text{PO}_4^{3-}$, le flacon $\text{Si}(\text{OH})_4$

- sans le préfiltre : la chlorophylle-a, les pigments, le phytoplancton et, si l'analyse n'est pas effectuée sur site, la salinité et la turbidité.

Tous les flacons sont rincés (bouchés) 3 fois avec l'échantillon d'eau. Les flacons de nutriments sont remplis seulement au ¾ et fermement bouchés. Dès qu'ils sont remplis, les flacons sont immédiatement placés debout à l'obscurité et au frais dans la glacière (ou réfrigérateur).

5 CONSERVATION DES ECHANTILLONS ENTRE LE PRELEVEMENT ET LE LIEU DE CONSERVATION

Les échantillons doivent être livrés au laboratoire **le plus rapidement possible** après leur prélèvement dans une enceinte réfrigérée. Toute exposition de cette enceinte au soleil doit être évitée.

Les échantillons de nutriments et de chlorophylle *a* doivent être traités et stockés **le plus rapidement possible** dans un délai maximal de 10 heures après leur prélèvement.

6 PRE-TRAITEMENT ET CONSERVATION DES ECHANTILLONS

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre55.html>

6.1 ECHANTILLONS POUR ANALYSE DE NITRATE-NITRITE ET DE PHOSPHATE

Dès l'arrivée au laboratoire, le flacon de $(\text{NO}_3^- + \text{NO}_2^-)$ et de PO_4^{3-} est placé debout au congélateur (température max. - 23°C, optimale - 25°C, cf. p. 233-235 du manuel). Ces échantillons peuvent se conserver quelques mois au congélateur.

6.2 ECHANTILLONS POUR ANALYSE D'AMMONIUM

Dès l'arrivée au laboratoire, le flacon de NH_4^+ est placé debout au congélateur (température max. - 23°C, optimale - 25°C, cf. p. 233-235 du manuel). Ces échantillons peuvent se conserver quelques mois au congélateur.

6.3 ECHANTILLONS POUR ANALYSE DU SILICATE

Le flacon de $\text{Si}(\text{OH})_4$ est conservé debout au réfrigérateur (cf. p. 287-288). Il est préférable de filtrer l'échantillon d'eau sur membrane d'acétate de cellulose à 0.8 µm dès le retour au laboratoire (cf. p. 285-286 du manuel). Cette filtration peut toutefois être reportée à quelques jours. La filtration peut également être effectuée à l'aide d'une seringue jetable munie d'un filtre en acétate de cellulose de type Minisart. Pour les deux types de filtration, attention à la pression exercée sur les cellules : une pression trop forte a pour effet de faire éclater les cellules et donc de surestimer la concentration de

silicate (liquide intra cellulaire). La durée de conservation au réfrigérateur des échantillons de silicate filtrés ne doit pas dépasser deux mois.

6.4 ECHANTILLONS POUR ANALYSE DE LA CHLOROPHYLLE-A ET DES PIGMENTS

<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre52.html>

Les échantillons de chlorophylle-a **et des pigments** sont filtrés dès leur arrivée au laboratoire (Figure 4 et p.174-175 du manuel Aminot et Kérouel 2004) car il ne faut pas que le délai entre le prélèvement et la filtration soit supérieur à 10 heures.

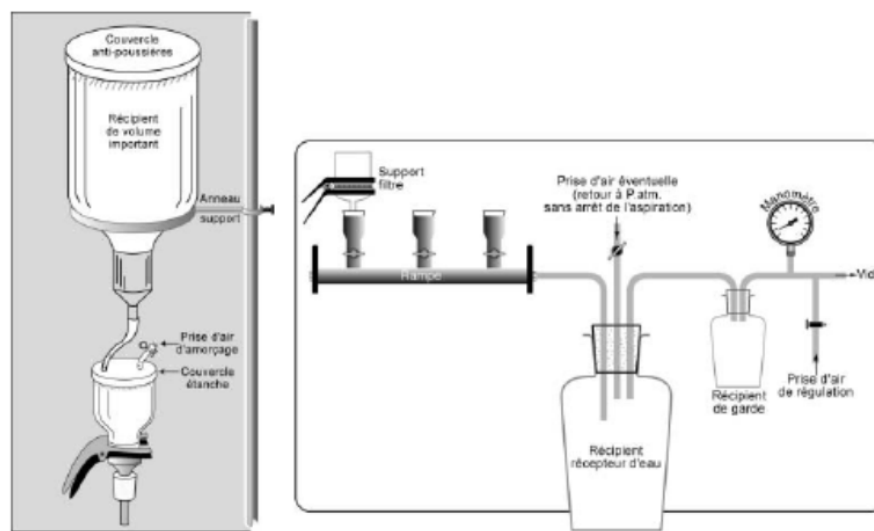


Figure 4 : Assemblage permettant d'effectuer sous vide la filtration de plusieurs échantillons simultanément avec une rampe de filtration

La filtration des échantillons de chlorophylle-a **et des pigments** doit être effectuée dans la pénombre. Le dispositif de filtration est détaillé p.151-154 du manuel. Le vide ne doit pas dépasser 0.2 bar (= 0.2 atm = 20.3 kPa). Rincer le porte filtre et la tulipe à l'eau déminéralisée. Utiliser des filtres Whatman GF/F de 47 mm ou de 25 mm de diamètre (cf. p. 174 du manuel Aminot et Kérouel 2004), **ces derniers étant préférés pour l'analyse des pigments**. Placer l'échantillon d'eau dans une éprouvette préalablement rincée à l'eau déminéralisée. Le volume à filtrer est dépendant : de la zone étudiée, de la saison, de la technique analytique utilisée pour l'analyse de la chlorophylle (spectrophotométrie ou fluorimétrie). Pour que l'extraction soit complète, il est recommandé de déposer moins de 10 µg de chlorophylle-a sur le filtre. **Eviter de laisser le filtre à sec lors de la filtration et de le colmater**. Il est nécessaire de relever le volume exactement filtré pour le calcul ultérieur de la concentration. Avant de retirer le filtre de la tulipe, rincer les parois de préférence avec une eau de mer filtrée de façon à éviter les phénomènes d'osmose. Retirer délicatement le filtre à l'aide de pinces et le plier pour le placer dans un tube à

hémolyse (pour la chlorophylle) ou dans un cryotube de 2 à 5 ml (pour les pigments). Rincer le matériel de filtration à l'eau déminéralisée.

Les filtres doivent être congelés immédiatement après la filtration : les filtres pour analyse de la chlorophylle sont placés au congélateur (- 20 °C), les filtres pour analyse des pigments sont figés soit dans l'azote liquide (- 176 °C), soit au surgélateur (- 80 °C). Cette phase est critique et doit être exécutée très rapidement. Les filtres figés dans l'azote liquide peuvent être ensuite conservés au surgélateur.

Il faut noter que plus la température de conservation est froide, plus la durée de conservation des filtres est longue (cf. p. 175 et 185 du manuel Aminot et Kérouel 2004) :

- si le filtre est conservé à -25°C, l'analyse peut être reportée jusqu'à environ 1 mois.
- si le filtre est conservé à - 80°C, l'analyse peut être reportée d'un an.

6.5 ECHANTILLONS POUR LECTURE DE FLORE PHYTOPLANCTONIQUE















<http://envlit.ifremer.fr/var/envlit/storage/documents/dossiers/prelevementhydro/chapitre56.html>

Les échantillons destinés à une lecture de flore phytoplanctonique sont fixés à l'aide d'une solution de lugol : environ 1 ml est ajouté dans 1 litre d'échantillon à l'aide d'une pipette jetable. Les échantillons sont conservés à température ambiante (sans exposition directe au soleil) jusqu'à l'analyse. Pour plus d'informations, se reporter au document de méthode REPHY « Manuel d'observation et de dénombrement du phytoplancton marin ».

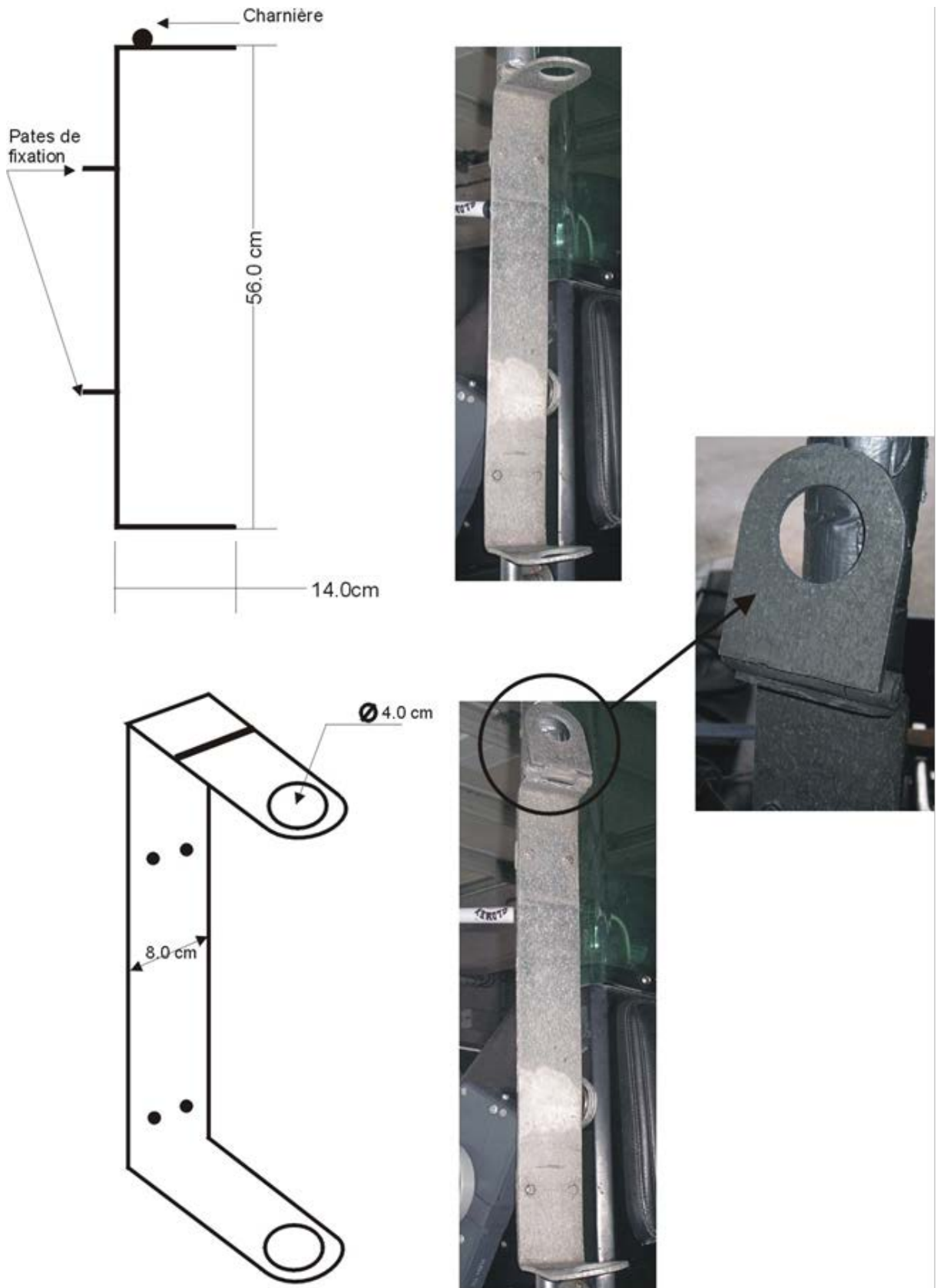
7 ACHEMINEMENT DES ECHANTILLONS AU LABORATOIRE D'ANALYSE

Si les échantillons n'ont pas été conservés immédiatement après le prélèvement dans le laboratoire d'analyse, le transfert des échantillons congelés, réfrigérés ou lugolés doit se faire de préférence par les sous-traitants ou agents Ifremer de façon à limiter la durée du transport. Lorsque cet échange se révèle impossible pendant la durée de conservation de l'échantillon, il est recommandé d'avoir recours à un mode de transport assurant la livraison sous 24h. Si les échantillons lugolés peuvent être conditionnés dans de simples cartons, les échantillons frigorifiés et congelés doivent être placés dans des glacières munies de nombreux blocs de froid.

Annexe 1 - Liste de matériel de base

<p>Matériel de prélèvement</p>  <p>Bouteille Niskin 5</p>  <p>Messenger 900g</p> <p>Lest - cordage</p> <p>Support bouteille</p>  <p>Glacière, réfrigérateur portable Blocs de froid</p>	<p>Filtration et conservation silicate</p>  <p>Pipettes usage unique</p>  <p>Filtres minisart Sartorius</p> <p>Seringue 60 ml avec joint élastomère et connexion</p>  <p>Luer-Lock</p>
<p>Mesures in situ</p>  <p>Sonde t, salinité, O₂, turbidité</p>	<p>Réfrigérateur - congélateur</p> <p>Phytoplancton</p> <p>Solution de Lugol</p>
<p>Pré-filtration et conservation nutriments</p> <p>Flaconnage</p>  <p>Support préfiltre Swinnex</p>  <p>Pré-filtres en nylon (à découper) Gants usage unique non poudré Flaconnage Sachets plastiques à fermeture zip</p>	<p>Filtration pigments phytoplanctoniques (dont chlorophylle)</p> <p>Trompe à eau munie d'un manomètre (<200 mbar)</p>  <p>Fiolle à vide</p>  <p>Entonnoir de filtration</p>  <p>Pince pour filtre</p>  <p>Filtres Whatman GF/F 47 ou 25 mm</p> 

Annexe 2 - Exemple de réalisation d'un support pour bouteille Niskin 5l



Annexe 3 - Exemple de feuille de mer

NOM DU POINT :			DATE :		OPERATEURS :		PLUVIOSITE : nulle – crachin – averse - forte		
			HEURE :		PROFONDEUR :		ETAT MER : belle – peu agitée - agitée		
PROFONDEUR (m)	TEMPERATURE (°C)	SALINITE	O ₂ (mg/L)	N° FLACON NUTRIMENTS			N° FLACON CHLORO	N° FLACON PHYTO	TURBIDITE
				NO ₃ ⁻ et PO ₄ ³⁻	Si(OH) ₄ ⁻	NH ₄ ⁺			
surface									
fond				N° SONDE(S) IN SITU :					
				COMMENTAIRES :					