

Institut Universitaire de Technologie – Biologie Appliquée  
Option Analyses Biologiques et Biochimiques

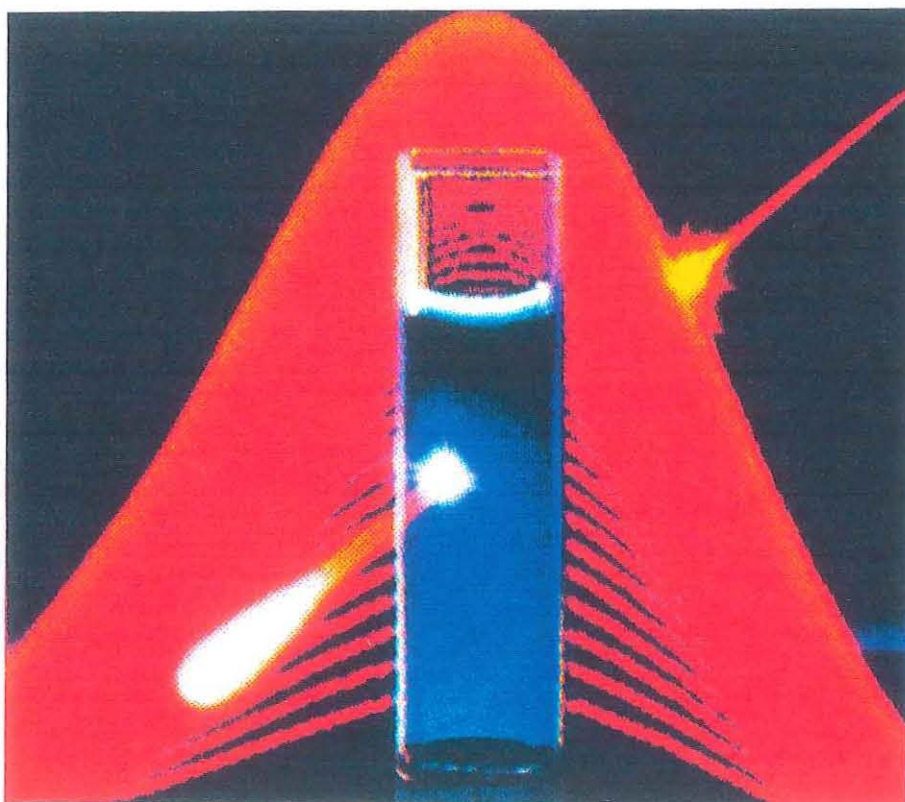
La ROCHELLE

Rapport de Stage

Evaluation et caractérisation de la matière en suspension  
dans la colonne d'eau, après filtration différentielle, au cours  
d'un cycle mortes eaux – vives eaux  
(bassin de Marennes – Oléron : Chapus mai-juin 1993)

par

*Christophe JAMONEAU*



réalisé à: IFREMER (UREA)  
Mus de Loup  
17390 La TREMBLADE

juin 1993

**IFREMER**

# SOMMAIRE

Pages

REMERCIEMENTS

INTRODUCTION

**I. L'INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE POUR  
L'EXPLOITATION DE LA MER**

1. Présentation générale

2. Historique

**II. STATION DE LA TREMBLADE**

1. Présentation

**III. L'UREA ET LE PROGRAMME CHARENTE -  
MARENNES-OLERON**

1. Présentation du programme Charente - Marennes-Oléron

2. Le bassin de Marennes-Oléron

2.1. Situation géographique et climatologique

2.2. Type d'élevage et production

3. L'huître

4. Le plancton

**A. MATERIELS ET METHODES**

**I. PROTOCOLE**

1. L'expérience

2. Paramètres étudiés et mesures effectuées

IFREMER  
BIBLIOTHEQUE  
LA TREMBLADE

1

2

2

2

2

2

3

3

4

4

4

6

9

10

10

10

10

2.1. Paramètres étudiés	10
2.2. Mesures effectuées	10
<b>II. LES SESTONS</b>	11
<b>III. LA CHLOROPHYLLE ET LES PHEOPIGMENTS</b>	13
<b>IV. LA TAILLE DES PARTICULES</b>	15
<b>V. CYTOFLUORIMETRIE EN FLUX</b>	15
<b>VI. LES CHN (Carbone, Hydrogène, Azote)</b>	17
1. Le principe	19
1.1. Combustion, formation des gaz et purification	19
1.2. Réduction	19
1.3. Séparation des gaz	20
1.4. Mesures et calculs	20
2. Protocole	20
<b>VII. TRAITEMENT INFORMATIQUE</b>	21
<b>B. RESULTATS</b>	22
1. Les sestons	22
2. La chlorophylle a et les phéopigments	22
3. Le multisizer	27
4. Le cytofluorimètre en flux	27
5. Les C.H.N.	32
<b>C. DISCUSSION</b>	38
<b>BIBLIOGRAPHIE</b>	
<b>ANNEXES</b>	

## INTRODUCTION

Mon stage s'est déroulé du 19 avril 1993 au 25 juin 1993 au sein de l'Unité de Recherche des Ecosystèmes Aquacoles (laboratoire U.R.E.A.) de la station IFREMER basée à La Tremblade.

Premier bassin ostréicole français, Marennes-Oléron est un écosystème complexe dont la compréhension nécessite la mise en place d'études multidisciplinaires intégrées.

Ainsi, au cours de ces 10 semaines de stage, j'ai étudié la colonne d'eau (évaluation et caractérisation de la matière en suspension) sur le site du Chapus.

Etant arrivé une semaine avant le début de la manipulation, j'ai eu l'opportunité de participer à la totalité de l'expérience ainsi qu'à l'interprétation d'une partie des résultats.

La première semaine fut consacrée à la mise en place du protocole et à la préparation du matériel (bidons, rampes de filtrations, filtres...).

Les trois semaines suivantes furent consacrées aux prélèvements sur le site du Chapus (de mortes eaux à mortes eaux en passant par les vives eaux), à la filtration différentielle sur 200, 53, 10 et 5  $\mu\text{m}$  et à la récupération de la matière en suspension sur filtres GF/C ou GF/F.

Les cinquièmes, sixièmes et septièmes semaines permirent l'analyse des prélèvements (sestons, chlorophylles, Multisizer cytofluorimétrie et dosage du CHN) et le traitement informatique de celles-ci.

## **I. L'INSTITUT FRANCAIS DE RECHERCHE POUR L'EXPLOITATION DE LA MER**

### **1. Présentation générale**

L'IFREMER est un établissement public à caractère industriel et commercial placé sous la triple tutelle du Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche, du Ministère de l'Agriculture et des Pêches et du Ministère des transports.

L'IFREMER a pour mission de conduire et de promouvoir des recherches fondamentales et appliquées et des actions de développement technologique et industriel destinées à connaître, évaluer et mettre en valeur les ressources des océans et à rationaliser leur exploitation, à améliorer la connaissance et les méthodes de protection et de mise en valeur de l'environnement marin et à favoriser le développement socio-économique du monde maritime.

Pour se faire, l'IFREMER dispose d'une organisation générale décentralisée avec 6 centres dont le siège social, 5 délégations outre-mer, 15 stations et plusieurs points isolés répartis le long du littoral français (annexe 1).

### **2. Historique**

Depuis 1913, date de la création de l'Association d'Encouragement des Industries Ostréicoles (A.E.I.O.), il existe à La Tremblade un laboratoire de recherche.

En 1918, se crée l'Office Scientifique et Technique des Pêches Maritimes (O.S.T.P.M.) qui supprime l'A.E.I.O. en 1928 pour le contrôle sanitaire des coquillages cultivés en France et se charge de tous les travaux de recherches liés aux ressources vivantes exploitées.

En 1953, l'O.S.T.P.M. devient l'Institut Français de Recherche pour l'Exploitation de la Mer (IFREMER) après fusion de l'I.S.T.P.M. et du Centre National pour l'Exploitation des Océans (C.N.E.X.O.).

## **II. STATION DE LA TREMBLADE**

### **1. Présentation**

Située au coeur du bassin de Marennes-Oléron en Charente-Maritime, la station est divisée en 2 départements :

- le Département Environnement Littoral (DEL),
- le Département Ressources Aquacoles (DRA) lui-même divisé en 4 unités de recherche regroupées dans le LABEIM :

- \* Unité de Recherche en Pathologie et Immunologie Générale (URPIG),
- \* Unité de Recherche en Génétique et Ecloserie (URGE),
- \* Unité de Recherche des Ressources Aquacoles (URRA),
- \* Unité de Recherche des Ecosystèmes Aquacoles (UREA).

### **III. L'UREA ET LE PROGRAMME CHARENTE - MARENNES-OLÉRON**

#### **1. Présentation du programme Charente - Marennes-Oléron**

L'Unité de Recherche des Ecosystèmes Conchylicoles basée à La Tremblade est un laboratoire national.

Ses programmes s'appuient sur le site-atelier de Marennes-Oléron.

L'objectif de gestion des écosystèmes conchylicoles nécessite des moyens de modélisation des processus de fonctionnement des écosystèmes étudiés.

La courantologie permet d'expliquer par sa modélisation le transport horizontal des éléments nutritifs à l'intérieur du bassin.

Le transport vertical (érosion, sédimentation) nous amène à appréhender les lois régissant la remise en suspension des sédiments meubles et leur répartition spatio-temporelle.

La production primaire est étudiée dans le nord du bassin, lieu de rencontre des eaux océaniques (pertuis d'Antioche) et des eaux terrigènes (estuaire de la Charente) riches en éléments nutritifs.

Une fois la capacité trophique de l'écosystème ainsi définie, les relations entre le milieu et l'animal sont étudiées en terme de physiologie et d'écophysiologie.

Les paramètres de respiration, d'excrétion et d'assimilation de l'animal sont modélisés en fonction de la température, la salinité, la turbidité et de la qualité des espèces phytoplanctoniques présentes.

A cette fin, des expériences in vitro de physiologie sont développées. Les lois sont corroborées par des expériences d'écophysiologie menées sur un nombre d'huîtres conséquent, soumises aux variations du milieu naturel.

## **2. Le bassin de Marennes-Oléron (figure 1)**

### ***2.1. Situation géographique et climatologique***

Le bassin de Marennes-Oléron est limité au nord par l'estuaire de la Charente et le pertuis d'Antioche ; au sud par le pertuis de Maumusson ; à l'est par le continent et à l'ouest par l'île d'Oléron.

Le climat régional est un climat côtier doux et humide de type eury méditerranéen. Le bassin lui-même étant protégé des vents du large et de la houle océanique par l'île d'Oléron.

Le bassin reçoit des eaux d'origine océanique par le pertuis d'Antioche et le pertuis de Maumusson. Ces eaux étant adoucies par les apports fluviaux riches en nutriments de la Charente, de la Sèvre et de la Gironde.

Ce bassin de Marennes-Oléron est le plus vaste secteur ostréicole français avec près de 15 000 hectares, permettant une culture conchylicole importante.

### ***2.2. Type d'élevage et production***

L'huître japonaise (*Crassostrea gigas*) est élevée dans le bassin de Marennes-Oléron depuis 1967. Cette espèce ayant remplacé *Crassostrea angulata* ou huître portugaise insufflant ainsi un élan nouveau à l'économie régionale.

Sur les 15 000 hectares du bassin, 3 200 hectares d'estrans sablo-vaseux sont concédés sur le Domaine Public Maritime pour la conchyliculture.

Il existe deux types de cultures d'huîtres :

- la culture à plat consistant à épandre les huîtres directement sur le sol à raison de 300 à 400 kg à l'are,
- la culture "en surélevé" permettant de cultiver les huîtres dans des poches à une hauteur de 50 cm, à raison de 9 à 11 kg par poche.

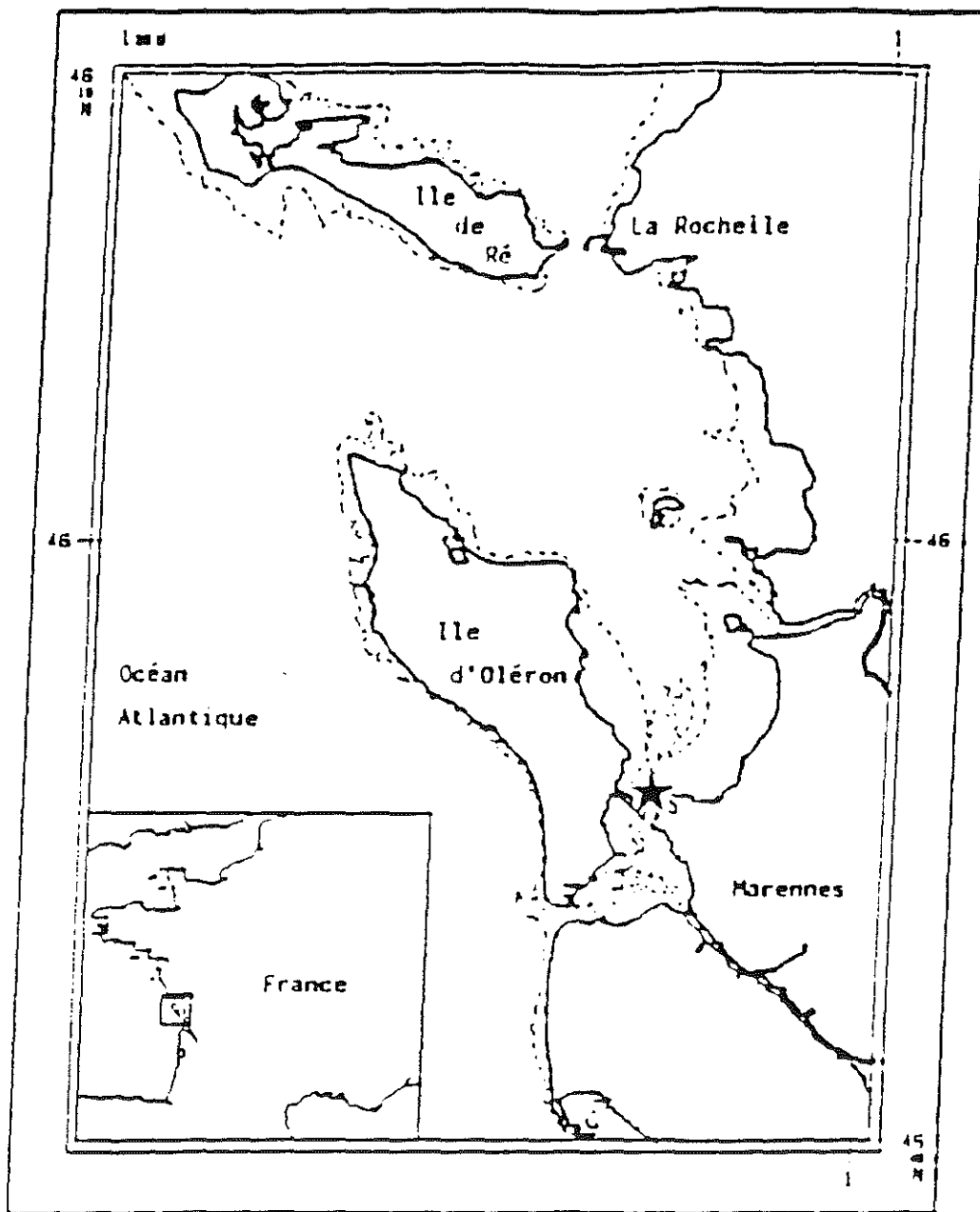


figure 1 : Le bassin de Marennes-Oléron.

★ Localisation de la station de prélèvement.



Le temps d'élevage des huîtres dans le bassin varie de deux ans à quatre ans. Une activité d'affinage s'effectuant ensuite au niveau des claires ostréicoles. Dans ces claires se développe une algue microscopique (*Haslea ostrearia*) porteuse d'un pigment bleu-verdâtre : la marennine. A la mort de l'algue, la marennine diffuse dans le milieu et est absorbée par l'huître au niveau des branchies, lui donnant ainsi une coloration verte très appréciée par les consommateurs.

Le stock d'huîtres estimé pour le bassin conchylicole de Marennes-Oléron était en 1987 de 94 000 tonnes (Bodoy, 1988), en 1990 il était de 110 000 tonnes (Bodoy, com. pers.). Chaque année ce sont près de 50 000 tonnes d'huîtres issues du bassin qui sont commercialisées en France soit 50 % de la consommation nationale.

Outre ces cultures d'huîtres, on retrouve dans le bassin des cultures de moules (*Mytilus edulis*) et de palourde japonaise (*Ruditapes philippinarum*).

### 3. L'huître

L'huître (figure 2) est un mollusque bivalve, lamellibranche appartenant à l'ordre des Filibranchia, au sous ordre des Aniscomyria et à la famille des Ostreidae. Le genre *Crassostrea* est ovipare., son habitat peut être marin ou localisé dans les estuaires. L'huître est sédentaire, elle vit fixée sur son support ; n'ayant aucun moyen de déplacement dans le milieu pour aller capturer ses aliments. Son alimentation se composant principalement de plancton. Cependant une absorption branchiale de matière organique dissoute (M.O.D.) n'est pas à exclure.

Le corps de l'huître est protégé par une coquille bivalve. Les dimensions des coquilles varient avec les espèces et leur habitat, pour *Crassostrea*, la plus grande dimension est perpendiculaire à la charnière. La coloration externe des valves varie avec le substrat ou l'environnement. Un ligament élastique, corné réunit les deux valves et joue un rôle de charnière. L'élasticité du ligament tend à éloigner la valve plate de la valve creuse tandis que le muscle adducteur tend à les rapprocher. La coquille est constituée de trois couches superposées :

- le périostracum, qui est la couche la plus externe, cette couche disparaît rapidement, usée, chez l'huître adulte,
- la couche prismatique faite de prismes constitués de cristaux de calcite enrobés dans une matrice de conchyoline,
- la couche lamelleuse subnacrée ou calcite-ostracum, elle est formée de feuillets de lamelles de calcite entre de minces membranes de conchyoline. La partie où s'attache

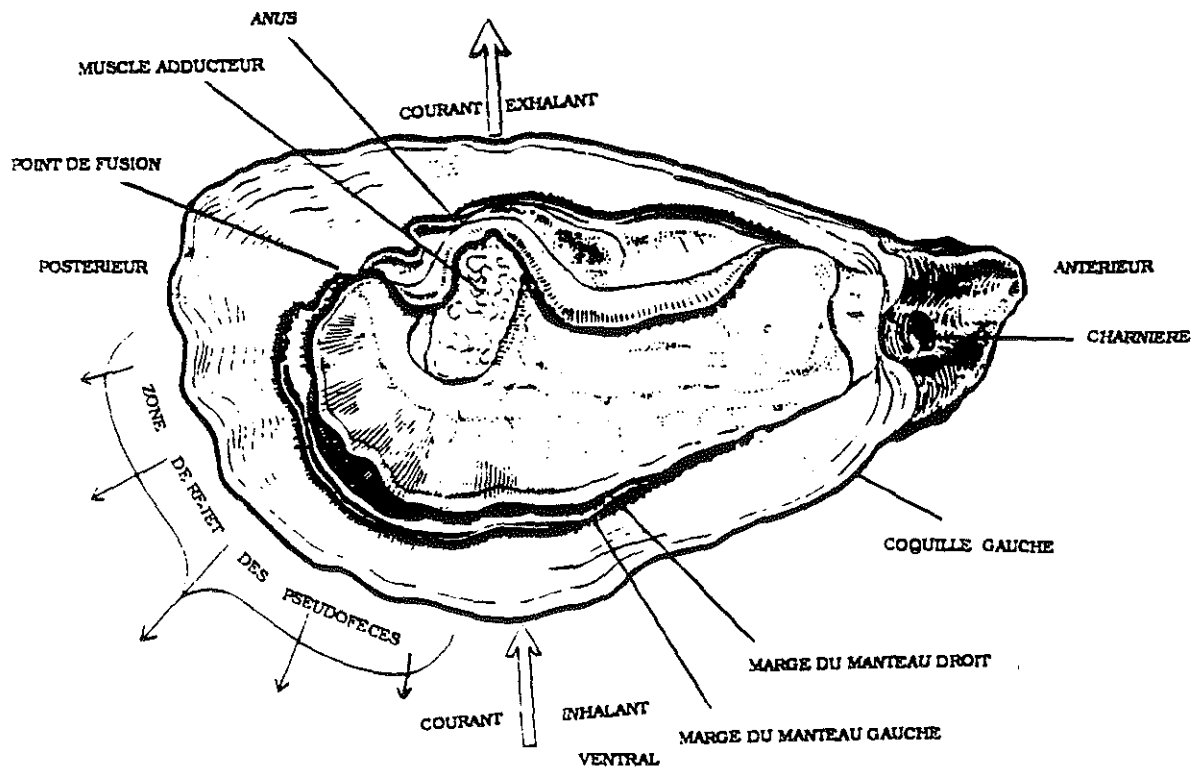
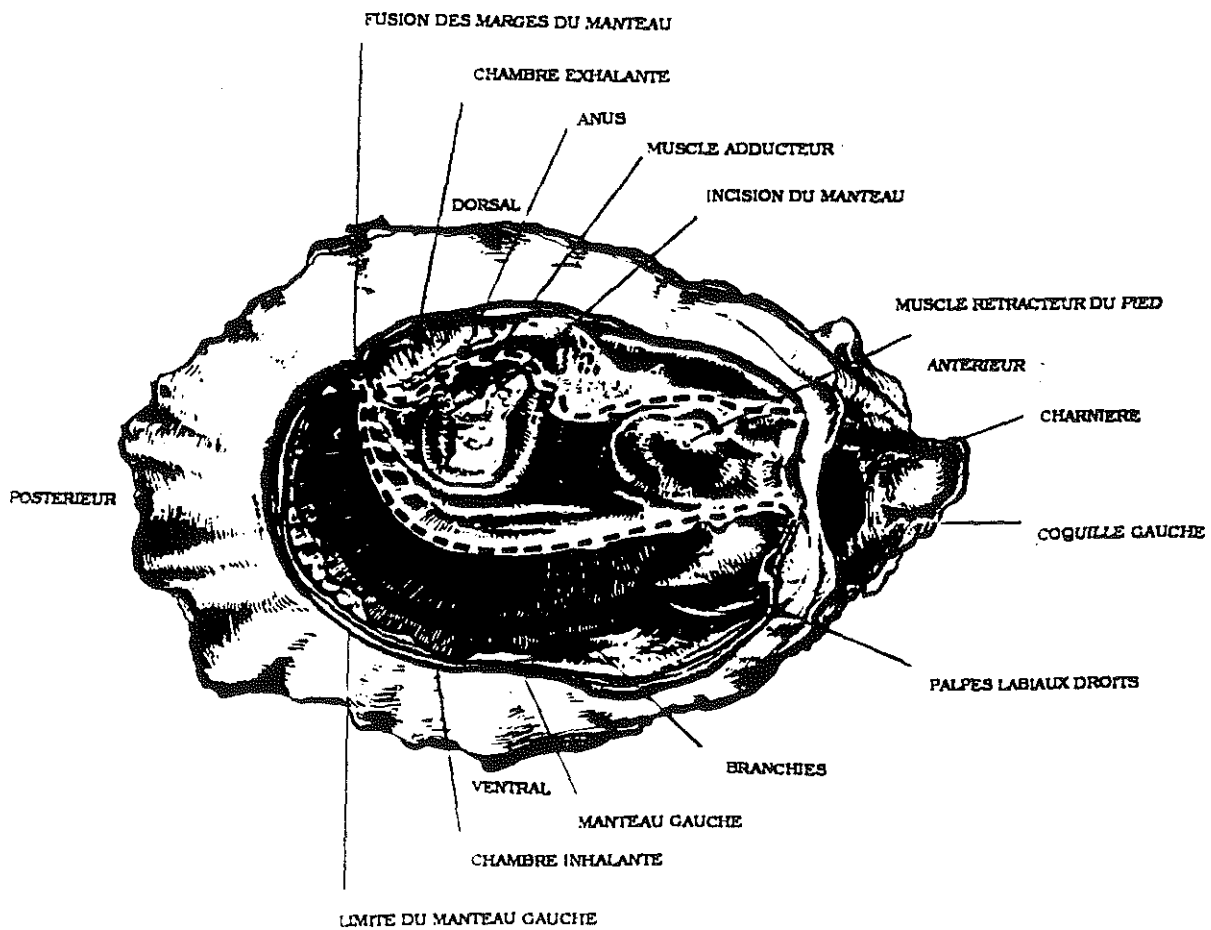


figure 2 : Planches anatomiques de *Crassostrea gigas*.



le muscle adducteur est appelée *hysostracum* ; c'est une couche plus dure, parfois pigmentée dans les espèces du genre *Crassostrea*.

L'ensemble du corps mou de l'huître est revêtu d'un tégument appelé manteau. C'est une feuille de tissus conjonctif englobant des muscles, des vaisseaux sanguins, des nerfs et recouverte d'un épithélium unicellulaire. On distingue deux lobes qui soudés l'un à l'autre sur le bord antérodorsal, forment le capuchon céphalique recouvrant la bouche et les palpes labiaux. L'espace compris entre les lobes du manteau est appelé cavité palléale. Les branchies divisent en deux cette cavité, une partie ventrale ou chambre inhalante, une partie dorsale ou chambre exhalante. Le manteau joue un rôle capital dans la formation de la coquille et la sécrétion du ligament, il contribue à abriter les oeufs rejetés et les larves en cours d'incubation chez l'huître plate. Il stocke enfin les matériaux de réserve (glycogène essentiellement).

La respiration des huîtres est assurée au niveau des branchies. Il y en a deux, chacune d'entre elles étant composée de deux lames ou lamelles formées elles-mêmes de deux feuilletts et constitués de filaments. Chaque filament apparait comme un tube d'épithélium cilié. Les cils, très nombreux, se divisent entre cils latéraux implantés sur les faces antérieures et postérieures des filaments et qui créent le courant inhalant. On relève encore la présence de cellules à mucus qui rejettent leur contenu à la surface des branchies. Le rôle des branchies ne se limite pas à la satisfaction des besoins respiratoires, mais s'étend au domaine de la nutrition ; les particules en suspension, appelées seston (ce seston étant constitué de deux fractions ; l'une minérale : sable, argile, etc... l'autre organique : phytoplancton, cellules mortes, débris végétaux et animaux) dans l'eau filtrée sont retenues à la surface des branchies, enrobées de mucus et conduites par les battements des nombreux groupes de cils frontaux et latéraux frontaux vers la bouche. D'autres, les plus lourdes, tombent sur le manteau et sont rejetées sous forme de pseudofécès, de même que les particules trop grosses ou inintéressantes, à partir de la chambre inhalante. Les fécès véritables ou déchets issus de la digestion sont expulsées à partir de la chambre exhalante.

L'appareil digestif de l'huître comprend une bouche s'ouvrant entre deux paires de palpes labiaux, un court oesophage conduisant les aliments jusqu'à l'estomac entouré d'une masse tissulaire : la masse digestive appelée aussi diverticules digestifs ou foie. Ces diverticules sont composés de nombreux tubules qui s'unissent pour communiquer par une série de conduits avec la cavité stomacale. L'intestin forme des boucles autour de l'estomac et se termine par un anus débouchant juste au-dessus du muscle adducteur, dans la chambre exhalante.

#### 4. Le plancton

Le plancton se définit comme l'ensemble des organismes pélagiques susceptibles d'être entraînés par les déplacements des eaux. Il se différencie du necton qui se déplace de manière autonome par rapport au milieu et du benthos qui peuple le fond ou sa proximité immédiate. Mais, cette classification est grossière car dans le milieu les classes ne sont pas aussi nettes ; en effet certains organismes ont une vie diurne benthique et une vie nocturne pélagique. Ainsi, Dussart (1965, 1966) a défini une classification par taille :

- ultramicroplancton :  $< 2 \mu$
- nanoplancton :  $2 - 20 \mu$
- microplancton :  $20 - 200 \mu$
- macropplancton :  $200 - 2\,000 \mu$
- mégaplancton :  $> 2\,000 \mu$

Néanmoins, cette classification reste imprécise car, par exemple il existe des organismes fins mais longs.

Dans le plancton, on peut distinguer le phytoplancton et le zooplancton.

Le phytoplancton se définit comme le plancton de nature végétale, c'est-à-dire le plancton capable de synthétiser sa propre substance par photosynthèse à partir de l'eau, du gaz carbonique et de l'énergie lumineuse. Le phytoplancton est constitué principalement par des algues microscopiques unicellulaires. Parmi celles-ci, il faut citer en première place les Diatomées, aux espèces nombreuses et souvent très abondantes, elles jouent un rôle de premier plan dans l'économie des mers car elles sont une source énorme de matière organique. Ensuite, il y a les algues porteuses de flagelles du groupe des Péridiniens dont le rôle est également important. Un certain nombre d'autres groupes d'algues flagellées (Coccolithophorides, Silicoflagellées, Chlorophycées) sont présents dans les populations phytoplanctoniques. En eau tropicale, ce sont surtout les Cyanophycées qui dominent.

Le zooplancton se définit comme le plancton animal, c'est-à-dire le plancton qui utilise la production primaire pour s'alimenter. La diversité du zooplancton est très grande. Les groupes les plus importants sont les protozoaires, les crustacés représentant 85 % de la masse zooplanctonique (Copépodes, Cladocères, Euphosiacées ou Krill), les vers et les mollusques.

## **A. MATERIELS ET METHODES**

### **I. PROTOCOLE**

L'expérience menée au cours de ce stage vise à étudier la colonne d'eau du site du Chapus. Ce site a été choisi comme lieu de prélèvement car il est représentatif des eaux de mélange qui traversent le bassin.

La durée de l'expérience (du 27 avril 1993 au 10 mai 1993) doit permettre d'appréhender les effets simultanés d'un cycle de vives eaux, mortes eaux et celui de haute mer et basse mer.

Cette expérience nous conduit aussi à quantifier et caractériser la matière en suspension au niveau du point de prélèvement.

#### **1. L'expérience**

Les prélèvements ont été effectués les 27, 29 avril et les 3, 5, 7 et 10 mai 1993 à raison de 5 prélèvements par jour toutes les deux heures (soit 9 h, 11 h, 13 h, 15 h et 17 h).

Un prélèvement de fond et de surface est effectué à chaque fois.

Chaque prélèvement est ensuite traité par filtration différentielle puis récupéré sur des filtres ou dans des pilluliers en vue d'une utilisation ultérieure.

#### **2. Paramètres étudiés et mesures effectuées**

##### ***2.1. Paramètres étudiés***

- la hauteur d'eau est lue sur un marégraphe situé à proximité du lieu de prélèvement, elle est exprimée en mètre,
- la température est mesurée sur place avec un thermomètre électronique au 1/10ème de degré, elle est exprimée en degré celsius,
- le coefficient de marée.

##### ***2.2. Mesures effectuées***

- le seston total, organique et minéral est déterminé par pesée,
- la chlorophylle a et les phéopigments sont déterminés par fluorimétrie,

- la taille et le nombre des particules avec le compteur de particules Coulter Counter Multisizer 256 canaux,
- cytofluorimétrie avec l'Epics Profil II (Coulter),
- le dosage du carbone, hydrogène et azote organique avec le CHNS/O série 2400 (Perkin Elmer).

Les prélèvements sont effectués à l'aide d'une bouteille à prélèvement de fond (elle sert aussi aux prélèvements de surface) de type Hydrobios dont la fermeture est commandée par un messenger.

Les filtrations différentielles sont réalisées sur des filtres nylon de 200  $\mu\text{m}$ , 53  $\mu\text{m}$ , 10  $\mu\text{m}$  et 5  $\mu\text{m}$  de porosité (figure 3). Il est nécessaire de bien rincer les filtres entre chaque prélèvement, surtout pour les faibles porosités, afin d'éviter le colmatage.

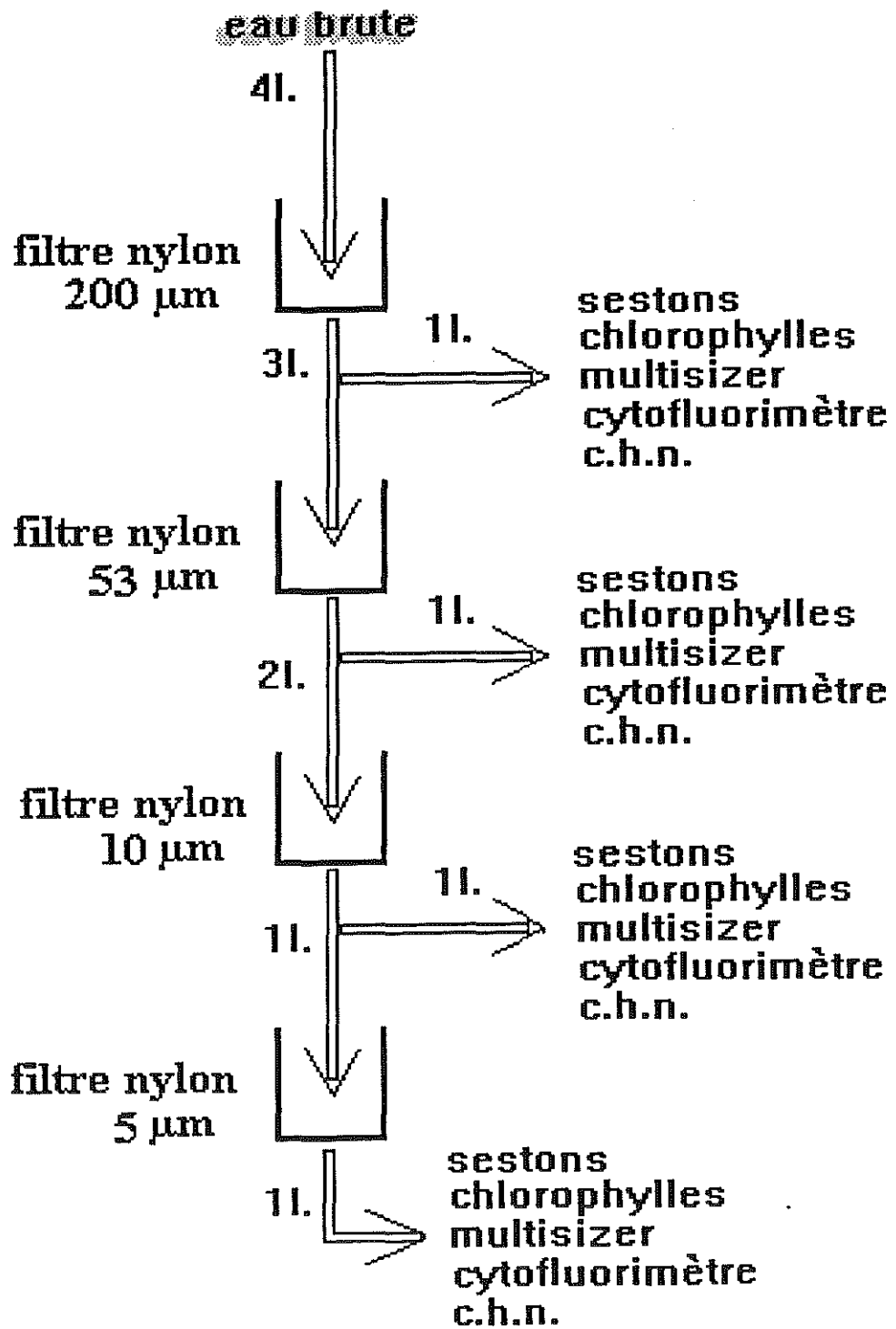
Que ce soit pour les filtrations différentielles ou les mesures qui vont suivre, il est impératif de toujours très bien homogénéiser les prélèvements.

## II. LES SESTONS

Les sestons, c'est-à-dire la quantité de matière en suspension dans l'eau, sont déterminés par pesées. On distingue le seston total, organique et minéral :

- filtration de 100 ml à 500 ml d'eau de mer selon la charge sestonique sur filtre Whatman GF/C et GF/F diamètre 47 mm préalablement taré (soit P1 sa masse) après 24 heures de dessiccateur,
- placer les filtres dans l'étuve à 60°C au moins 24 heures, puis au dessiccateur pendant 24 heures,
- peser les filtres (soit P2 la masse trouvée),
- placer les filtres dans un four à moufle à 450°C pendant 1 heure afin d'éliminer la matière organique puis à nouveau au dessiccateur pendant 24 heures,
- peser les filtres (soit P3 la masse trouvée).

Le rinçage des filtres à l'eau distillée après la filtration et leur passage au dessiccateur sont importants, le premier permet d'éliminer le sel et le second permet la mesure des filtres à un degré d'hygrométrie constant.



-figure 3-

**Calcul :**

P1 : masse du filtre seul,

P2 : masse du filtre + seston total

P3 : masse du filtre + seston minéral

d'où

seston total =  $P2 - P1$

seston minéral =  $P3 - P1$

seston organique =  $P2 - P3$

Les résultats doivent être ramenés en mg de sestons par litre d'eau de mer.

### **III. LA CHLOROPHYLLE ET LES PHEOPIGMENTS**

La mesure de la chlorophylle a et des phéopigments permet une évaluation de la biomasse phytoplanctonique contenue dans l'eau.

La méthode repose sur la mesure de la fluorescence avant et après acidification d'une solution acétonique de chlorophylle a et de phéopigments.

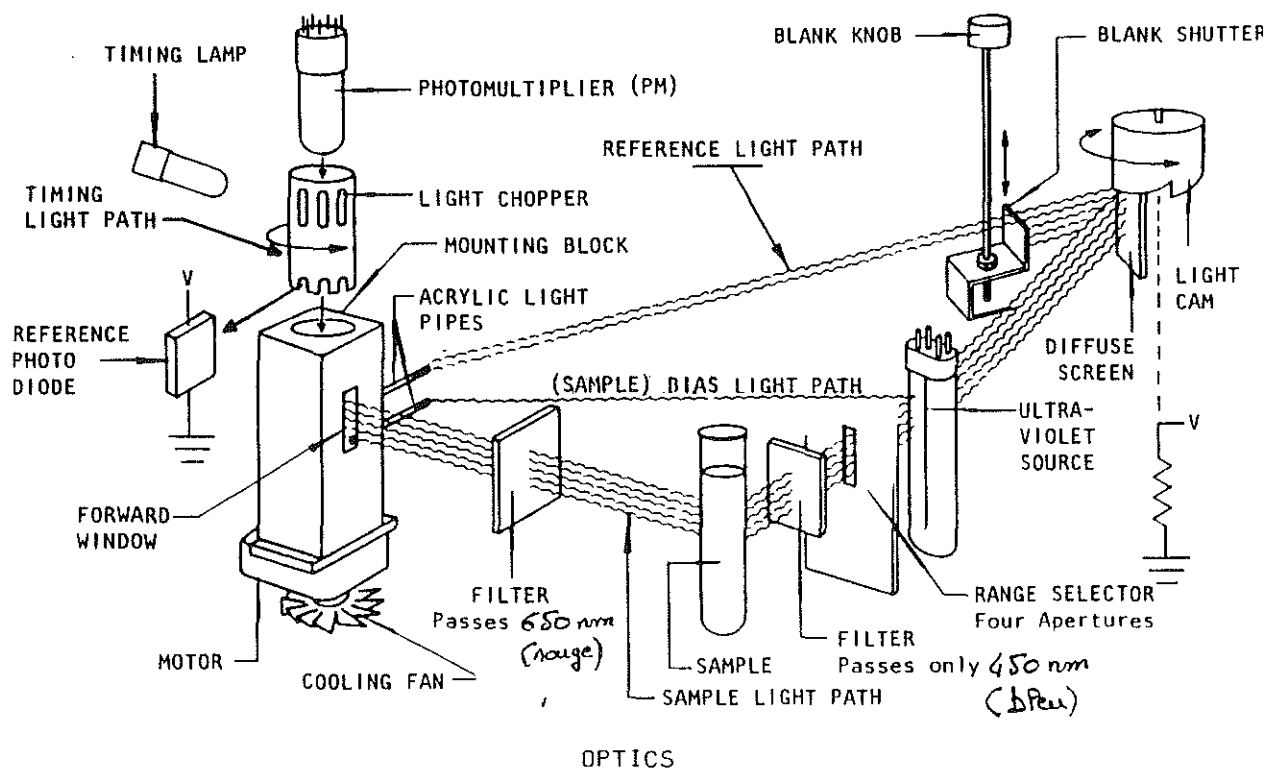
- filtration de 50 ml à 100 ml d'eau de mer dans lesquels on ajoute environ 1 cc de carbonate de magnésium ( $MgCO_3$ ) à 10 % (permet de mieux retenir les particules et d'atténuer la dégradation des chloroplastes sur le filtre) sur filtre Whatman GF/C diamètre 25 mm.
- les filtres sont stockés dans des tubes à vis et placés au congélateur ( $- 20^{\circ}C$ ) en attendant d'effectuer la mesure,
- broyage des filtres dans les tubes à vis après ajout de 5 cc d'acétone à 90 %,
- laisser extraire 4 heures au réfrigérateur,
- centrifuger pendant 15 mn à 3 000 tours/mn,
- lire la fluorescence ( $F_a$ ),
- acidifier avec  $50 \mu l$  d'HCl à 1N,
- lire la fluorescence ( $F_b$ ).

Ici, le dosage de la chlorophylle a et des phéopigments est effectué par fluorimétrie. On utilise le fluorimètre Turner modèle 112 (figure 4).

La chlorophylle a et les phéopigments sont évalués à partir de la chute de fluorescence (Annexe II).



### SCHEMA DE PRINCIPE DU FLUORIMETRE TURNER MODEL 112



-figure 4-

Le principe général du fluorimètre Turner model 112 repose sur l'**excitation** d'une substance fluorescente par une source lumineuse et la mesure de son **émission**. Ici, une solution acétonique de chlorophylle, dont la longueur d'onde d'excitation se situe dans le **bleu**. La source lumineuse excitant dans l'ultra violet (>250nm), on intercale un filtre d'arrêt afin d'obtenir un faisceau monochromatique de 450 nm. La chlorophylle excitée émet dans le **rouge**; un filtre d'arrêt à 650 nm est placé dans le faisceau afin de mesurer précisément l'émission.

#### IV. LA TAILLE DES PARTICULES

Le Multisizer (Coulter) 256 canaux (annexe III) permet la détermination par classes de taille, des particules en suspension dans l'eau comprises entre 0,4  $\mu\text{m}$  et 1 200  $\mu\text{m}$  selon la sonde utilisée. Ici, nous utilisons une sonde de 100  $\mu\text{m}$  qui permet la détermination de particules comprises entre 2  $\mu\text{m}$  et 64  $\mu\text{m}$ .

##### Principe de la mesure :

Le principe repose sur la variabilité de la résistivité entre 2 électrodes de platine. Quand il n'y a aucune particule qui passe ; la restivité est constante. Quand il y a passage d'une particule entre les électrodes, la résistivité augmente proportionnellement au volume de la particule.

L'appareil intègre la variation de résistivité et la traduit en volume qui est ensuite présenté en équivalent diamètre sphère.

Puis, les particules sont triées par classes de tailles ; il y a 256 classes de tailles entre 2 et 64  $\mu\text{m}$  définies selon une échelle logarythmique. La distribution ainsi obtenue est ensuite enregistrée sur un micro-ordinateur portable puis transférée sur un ordinateur plus puissant pour être travaillée.

#### V. CYTOFLUORIMETRIE EN FLUX

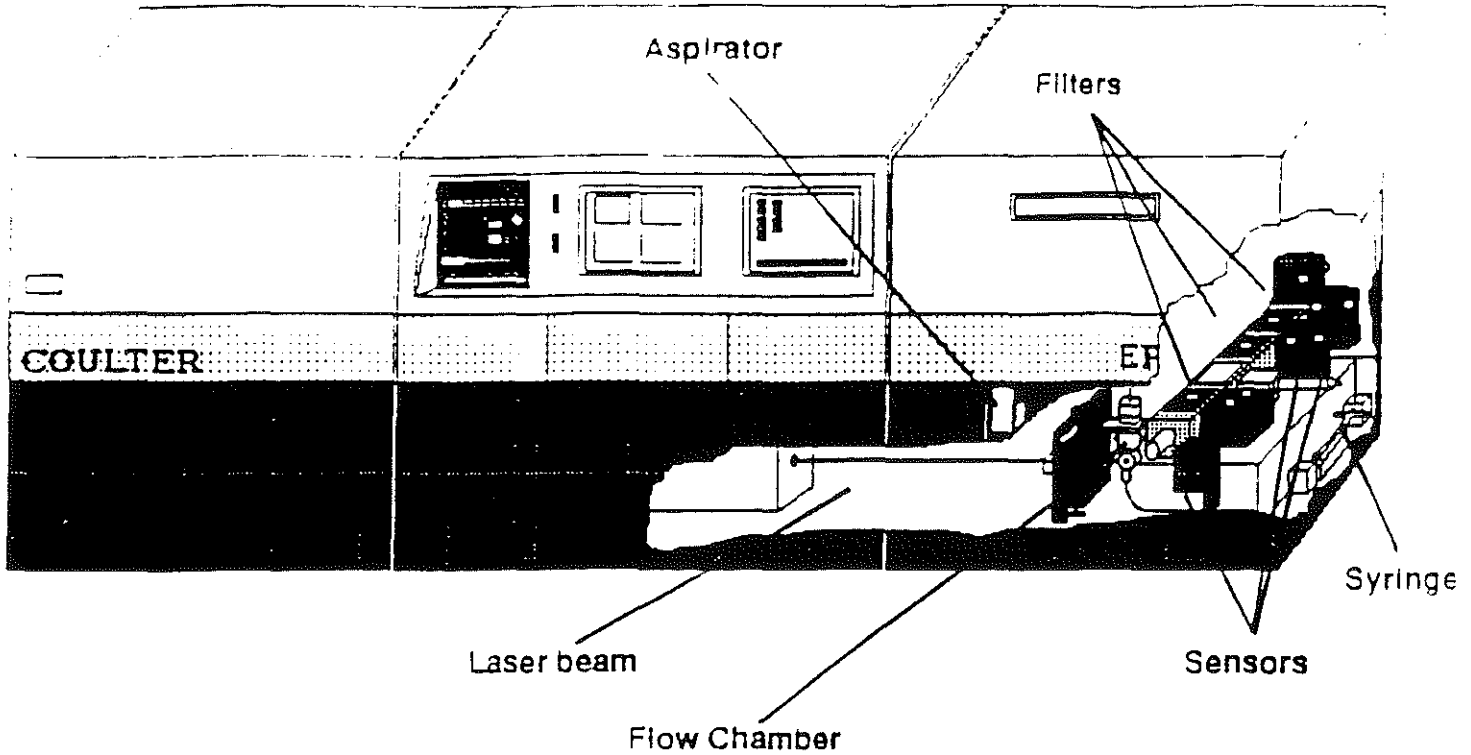
Les mesures sont effectuées avec l'Epics Profile II (Coulter) (fig. 5).

Conçu dans un but médical pour identifier les types cellulaires sanguins (lymphocytes, blastes, plaquettes) en utilisant des anticorps monoclonaux conjugués à des fluorochromes (permet le suivi T4-T8 chez les sujets HIV $\oplus$ , bilan imunitaire, typage des leucémies...), Le Profile II a été utilisé pour l'étude des algues et plus généralement de la matière vivante en suspension durant cette expérience.

La cytofluorimétrie en flux est l'étude de l'interaction de cellules (cyto) avec un faisceau laser (fluorimétrie). Les cellules sont "gainées" par un liquide d'entraînement qui les contraint à se présenter une à une devant le faisceau (flux).

Les informations issues de cette interaction sont recueillies à travers des filtres, sur des photomultiplicateurs (PMT) qui les amplifient.

The components shown below will be part of the following discussion



**EPICS<sup>(1)</sup> Profile Analyzer**  
**COULTER CYTOMETRY TEST RESULTS**

-figure 5-

Le cytofluorimètre Profile II permet de recueillir les paramètres suivants sous forme d'histogrammes monoparamétriques ou biparamétriques.

- Forward Scatter (FS) : informations recueillies dans l'axe du faisceau laser, en corrélation avec la taille des particules.
- Side Scatter (SS) : informations recueillies de la diffusion à 90 degrés du faisceau laser, en corrélation avec la granulosité interne des particules.
- Fluorescences (FL1, FL2, FL3) : informations corrélées avec la présence de chlorophylles, phéopigments ou autres substances fluorescentes (fluorochromes par exemple).

Le principe de l'Epics Profile II est assez complexe (annexe IV).

Sur les histogrammes mono ou biparamétriques, on peut sélectionner une sous-population grâce à des fenêtres statistiques (annexe V) qui permettent la construction d'autres histogrammes ne tenant compte que des particules sélectionnées.

L'interprétation des données fournies est très complexe et encore en cours d'élaboration.

## VI. LES CHN (Carbone, Hydrogène, Azote)

La détermination des CHN organiques est effectuée par le PE 2400 Série II CHNSO Analyser de Perkin Elmer (figure 6).

Conçu au départ pour vérifier la qualité des aciers, les analyseurs CHN ont maintenant de nombreux domaines d'application.

Le PE 2400 Série II CHNS/O permet la détermination des éléments organiques suivants :

- carbone, hydrogène et azote (CHN),
- carbone, hydrogène, azote et soufre (CNHS),
- oxygène (O).

Ici, seule la fonction CHN nous intéresse.

# RKIN ELMER

Series II  
CHNS/O  
Analyzer

## 2400

### Multiple Analysis Modes and Fast Analysis Times

Modes	Time (Minutes)
CHN	6
CHNS	8
Oxygen	4

### Integral 60-Position Autosampler

### Column Switching Accessory

### Industry-Standard RS-232 Ports

### Economy Features

- Wake-up
- Shutdown
- Gas Saver
- Copper Reagent Reduction

Hand-Copy Printer

Bright Two-Line Display

Integral Color-Coded Keyboard

Zero-Maintenance

2400

### Advanced Calculations

- Fillets
- Polymers
- Element Ratios
- Mixtures
- Simplest Empirical Formula
- Heating Value
- Solvent or Crystallization
- Dry Moisture Basis

### Microprocessor Controlled

### Data Storage and Results Recalculation

### Built-in Diagnostics

### Flexible Calibration Procedures

- Single Standard
- Linear Regression

-figure 6-

## 1. Principe

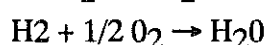
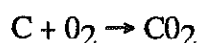
Le principe repose sur une succession de méthodes regroupées au sein d'un même appareil, on distingue 4 grandes étapes dans l'analyse :

- la combustion, formation des gaz et purification,
- la réduction,
- la séparation des gaz,
- les mesures et les calculs.

### *1.1. Combustion, formation des gaz et purification :*

Emballé dans une petite feuille en étain, l'échantillon est introduit dans les godets de la couronne d'échantillonnage puis par un injecteur, il est propulsé dans le tube à combustion (annexe VI) au niveau d'une nacelle dont la température avoisine les 1 000°C. De l'oxygène est introduit et c'est dans cet environnement que se produit une combustion flash (la température est alors de l'ordre de 1 500°C).

L'oxygène restant permet la formation des gaz simples selon les réactions suivantes :



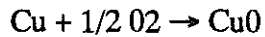
Le NO<sub>2</sub> étant corosif, il est réduit en N<sub>2</sub> composé stable et non corosif.

Le mélange des gaz formés est poussé à travers la colonne de combustion par un gaz vecteur neutre : l'hélium.

Il se dégage des halogènes et des sulfures qui sont captés par l'E.A. (oxyde de Nickel/chrome) et le tungstate d'argent mélangé à de l'oxyde de magnésium.

### *1.2. Réduction*

Dans les réactions précédentes, l'O<sub>2</sub> est en excès afin que ce ne soit pas un facteur limitant. L'excès d'oxygène est donc réduit au niveau de la colonne de réduction (annexe VII) par du cuivre en oxyde de cuivre (noir) selon la réaction suivante :



### **1.3. Séparation des gaz :**

Maintenant, il ne reste plus que des gaz ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{O}$  et  $\text{N}_2$ ) sous forme stable. Ces gaz sont propulsés dans une colonne de chromatographie en phase gazeuse (c.p.g.) par le gaz vecteur : l'hélium. Les gaz sont séparés en fonction de leur densité et sortent de la colonne de chromatographie par ordre décroissant de densité ( $\text{N}_2$  puis  $\text{CO}_2$  puis  $\text{H}_2\text{O}$ ).

### **1.4. Mesures et calculs :**

A la sortie de la colonne de chromatographie, les gaz sont détectés au niveau d'un catharomètre, en fonction de leur conductivité thermique entre 2 électrodes. Le catharomètre peut être assimilé à un pont de Kelvin qui permet de déterminer la résistivité de chacun des gaz dont dépend la "quantité" : la quantité de gaz est inversement proportionnelle à la résistivité.

Séparés par une chromatographie frontale, les gaz sortent par palliers. Par différence, on peut déterminer la quantité de carbone, hydrogène et azote présente dans l'échantillon (annexe VIII). Les résultats sont imprimés et enregistrés sur ordinateur (annexe IX) avant d'être traités sous Lotus 1.2.3.

## **2. Protocole**

Les échantillons peuvent être sous différentes formes. Ici, ce sont des particules récupérées sur un filtre.

- filtrer de 25 ml à 100 ml d'eau de mer sur filtre Whatman GF/C diamètre 25 mm préalablement calciné au four à moufle à  $450^\circ\text{C}$  pendant 20 mn afin d'éliminer l'organique présent.
- passer le filtre dans les vapeurs d' $\text{HCl}$  pur pendant 20 secondes afin d'éliminer les carbonates présents.
- conserver les filtres à l'étuve à  $60^\circ\text{C}$ .
- emballer le filtre dans une feuille d'étain afin d'obtenir l'échantillon le plus compact possible.
- introduire le prélèvement dans la couronne.

## VII. TRAITEMENT INFORMATIQUE

Les mesures obtenues sont saisies soit directement dans des fichiers sous Lotus 1.2.3., soit elles sont transférées des fichiers bruts vers des fichiers exploitables sous Lotus 1.2.3.

Sous Lotus, le calcul effectué consiste au calcul de l'ensemble des mesures en tenant compte :

- des dilutions effectuées,
- des filtres utilisés (fluorimétrie),
- des unités d'expression des résultats.

Ces manipulations sont effectuées à l'aide de formules et de macros.

Ensuite, une étude statistique des résultats est effectuée afin d'éliminer les valeurs aberrantes.

Une fois ce travail de nettoyage effectué, on réalise une étude graphique toujours sous Lotus 1.2.3.. Cette étude aboutit à l'interprétation des résultats.



## B. RESULTATS

Le nombre d'analyses à effectuer et à analyser étant trop important pour la durée de ce stage, seule la fraction d'eau filtrée à 200  $\mu\text{m}$  a été étudiée.

### 1. Les sestons

Les résultats obtenus sur l'ensemble de l'expérience (figures 7 et 8) mettent en évidence une charge sestonique relativement forte variant de 15 mg/l à 300 mg/l (moyenne 69 mg/l) pour le fond et 18 mg/l à 310 mg/l pour la surface (moyenne 73 mg/l).

De plus, la charge sestonique augmente avec les coefficients de marée. Elle évolue de 15 mg/l à 70 mg/l pour les mortes-eaux et de 150 mg/l à 300 mg/l pour les vives-eaux.

A partir de l'évolution journalière (figures 9 et 10), la charge sestonique est dépendante de la hauteur d'eau. A marée basse elle augmente et à marée haute elle diminue. D'après les histogrammes (figures 11 et 12), plus la masse de seston total est importante et plus la proportion de seston minéral est importante ; elle tend vers 90 % du seston total. Quant à la proportion d'organique, elle décroît jusqu'à 10 % du seston total.

Parallèlement, plus la masse de seston total est faible plus la proportion de minéral diminue et plus celle d'organique augmente.

D'autre part, l'étude de la fraction organique du seston par rapport au seston total a permis d'obtenir dans les conditions de ces prélèvements une régression linéaire (figures 13 et 14). Les droites obtenues ont pour équations :

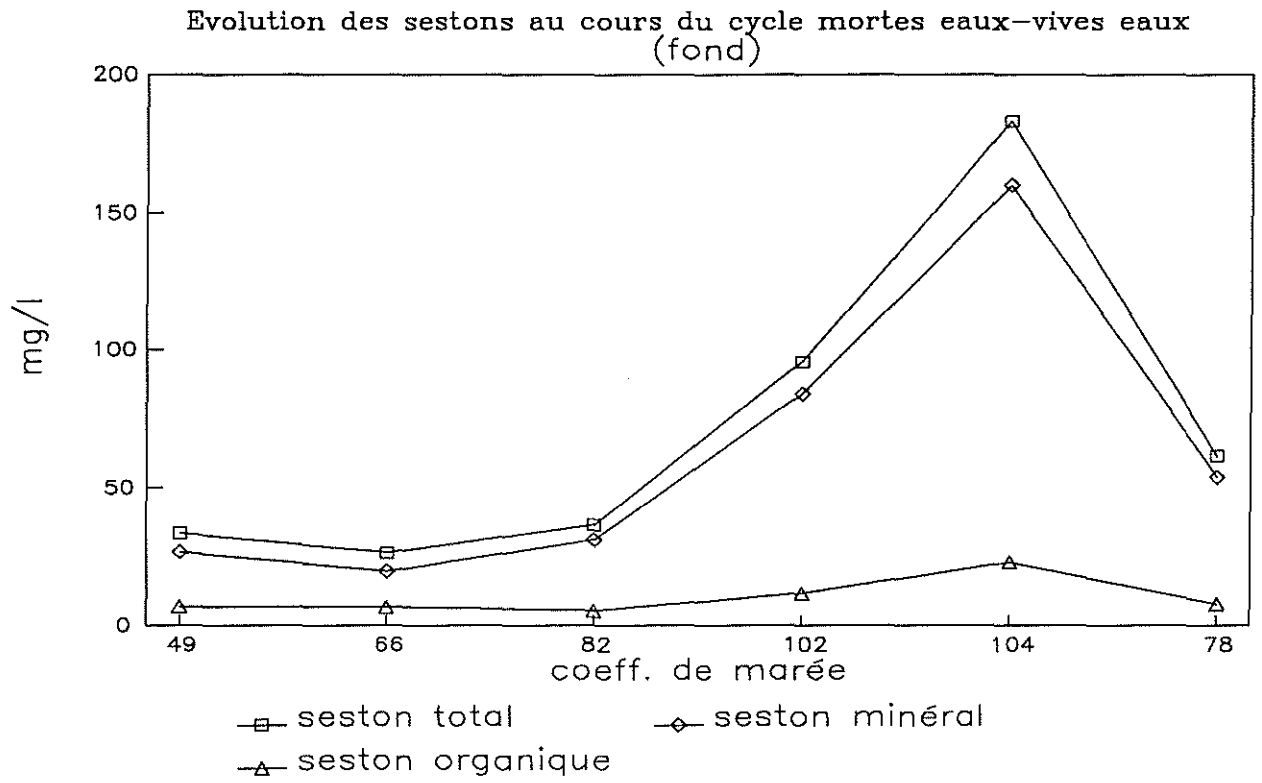
$$* 0,098175 \times \text{ST} + 3,037825 \text{ (fond)} \quad R^2 = 0,93$$

$$* 0,101872 \times \text{ST} + 3,121014 \text{ (surface)} \quad R^2 = 0,94$$

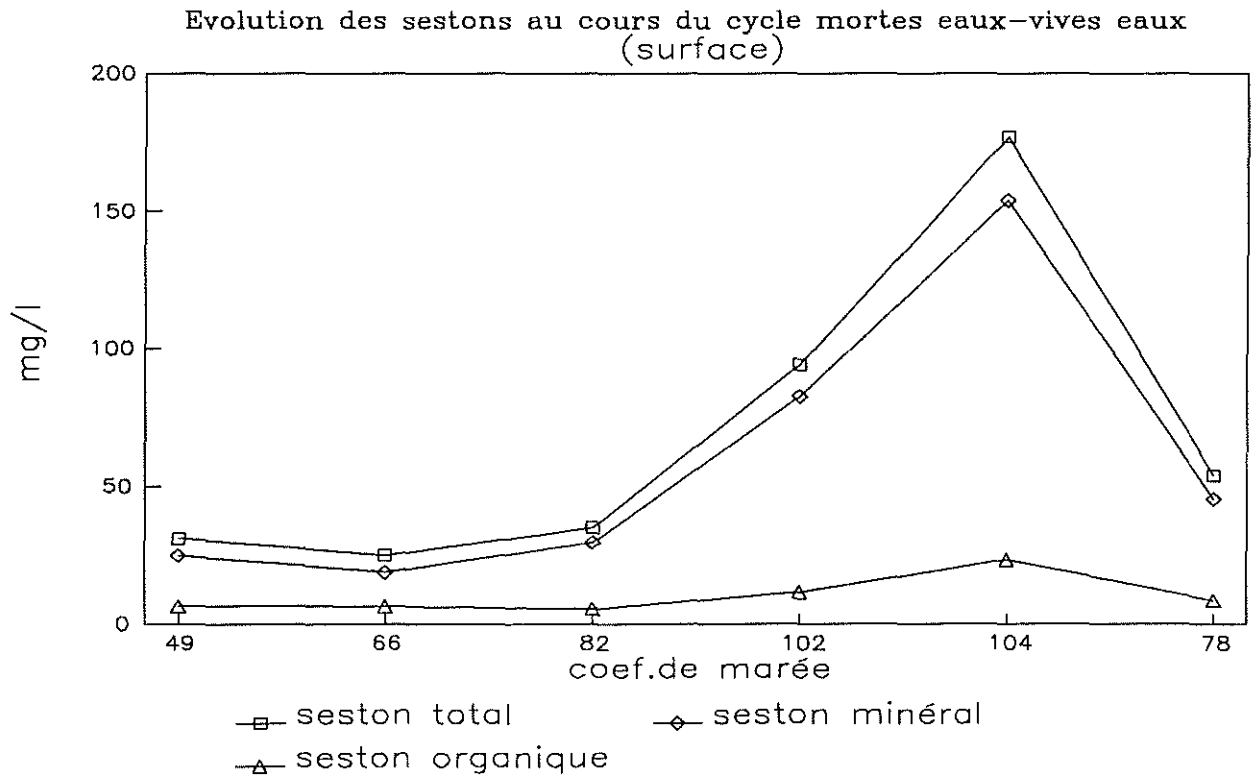
ST = seston total en mg/l

### 2. La chlorophylle a et les phéopigments

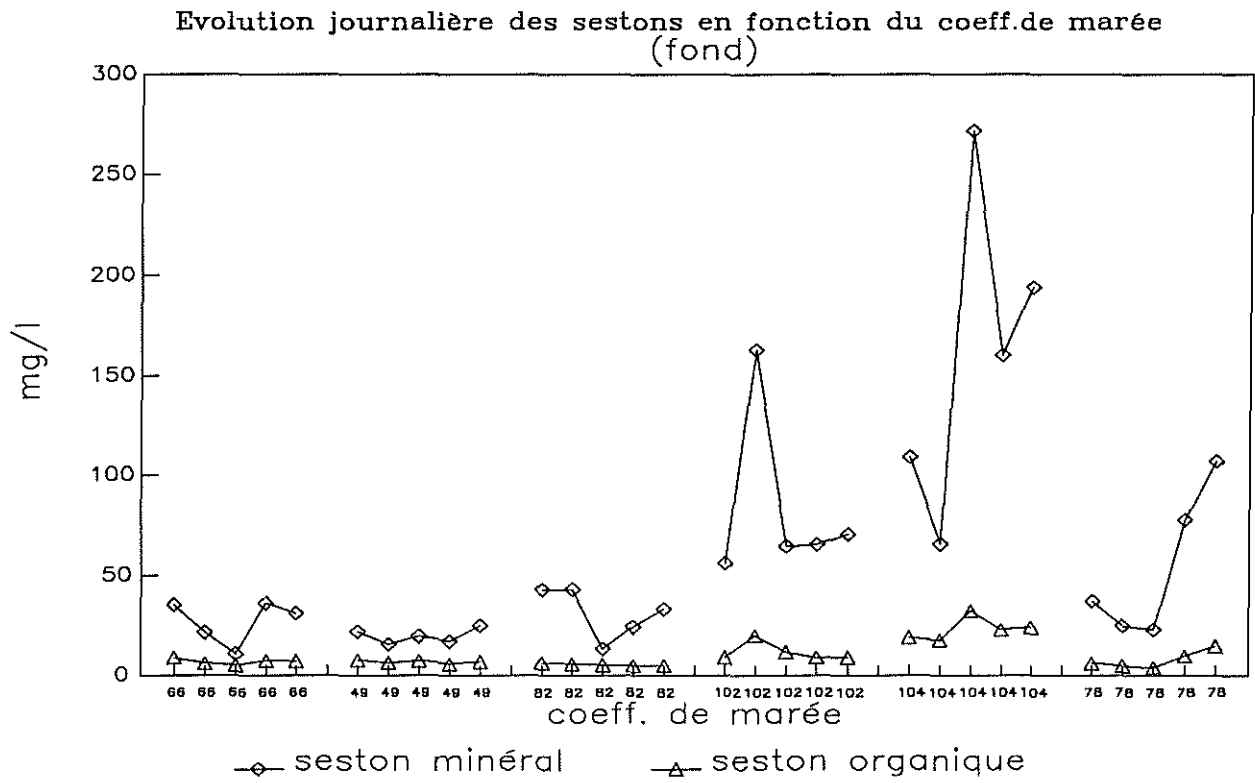
Pour les prélèvements de fond, la concentration en chlorophylle a évolue de 0,6  $\mu\text{g/l}$  à 6,0  $\mu\text{g/l}$  avec une moyenne de 2,83  $\mu\text{g/l}$ . En surface elle varie de 0,6  $\mu\text{g/l}$  à 7,4  $\mu\text{g/l}$  avec une moyenne de 2,62  $\mu\text{g/l}$ . L'évolution de cette concentration en chlorophylle au cours du cycle



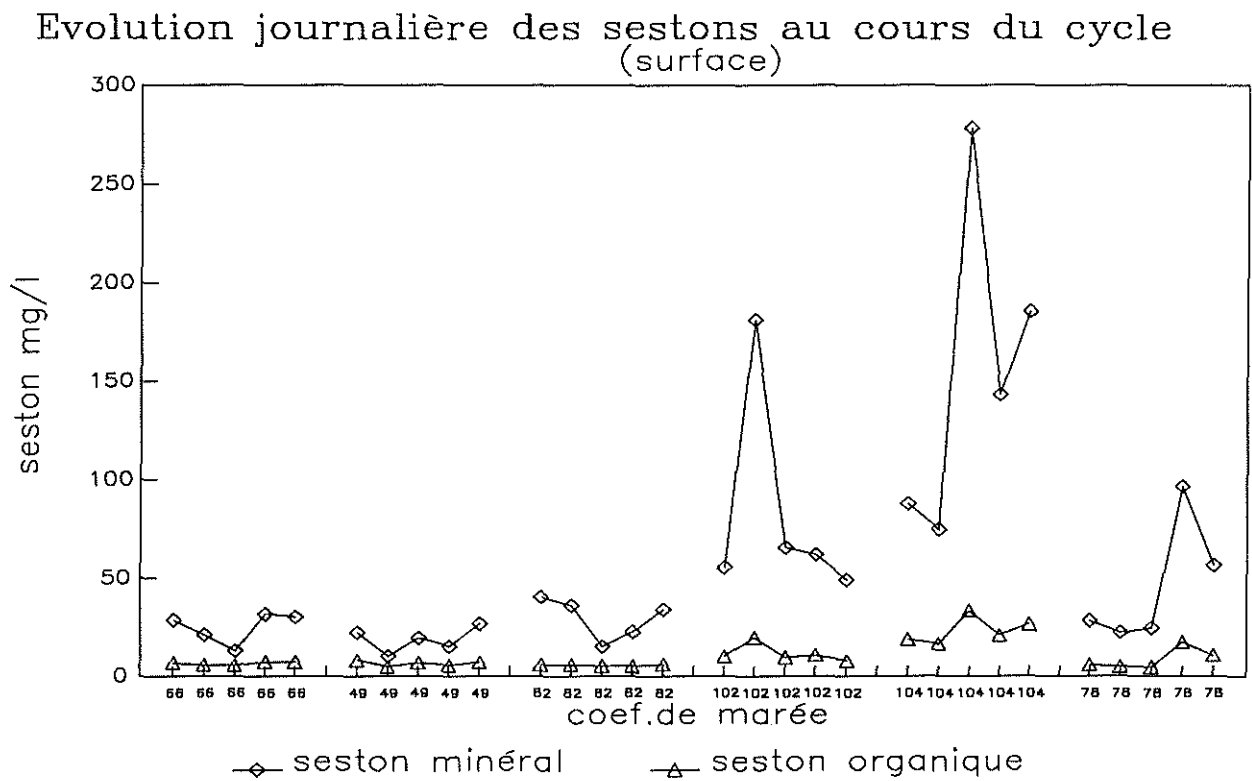
-figure 7-



-figure 8-

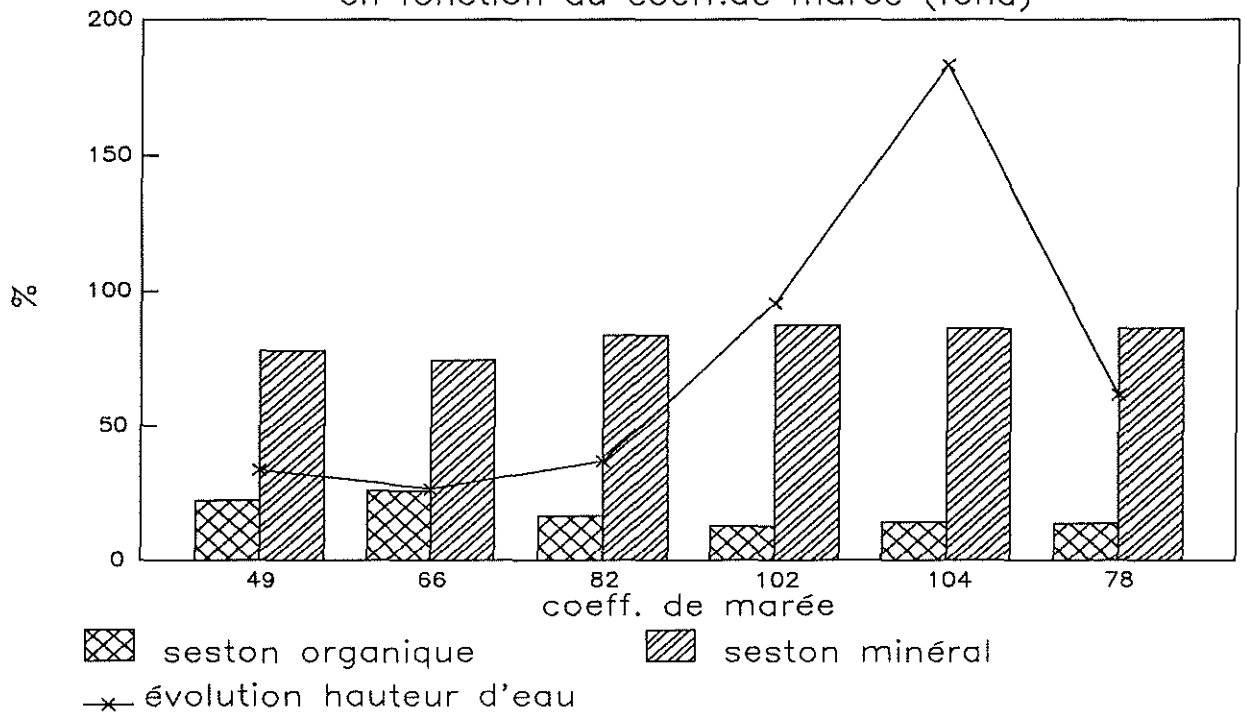


-figure 9-



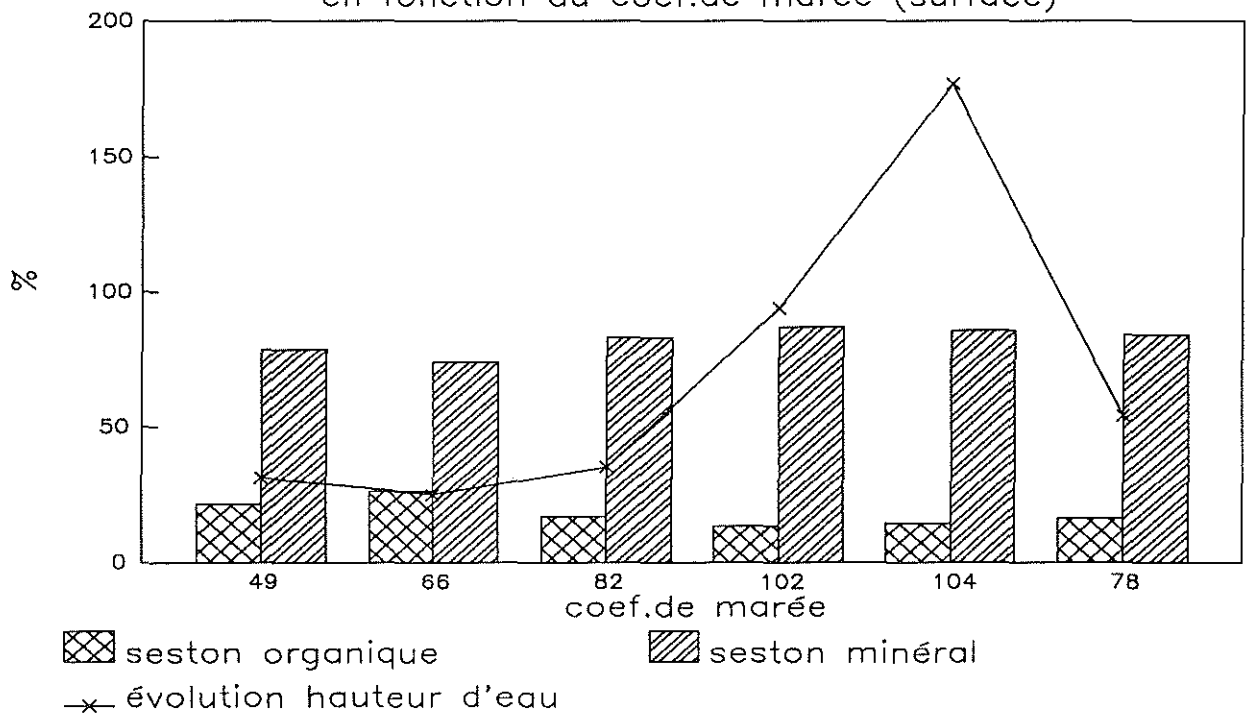
-figure 10-

### Evolution des pourcentages organique et minéral en fonction du coeff.de marée (fond)



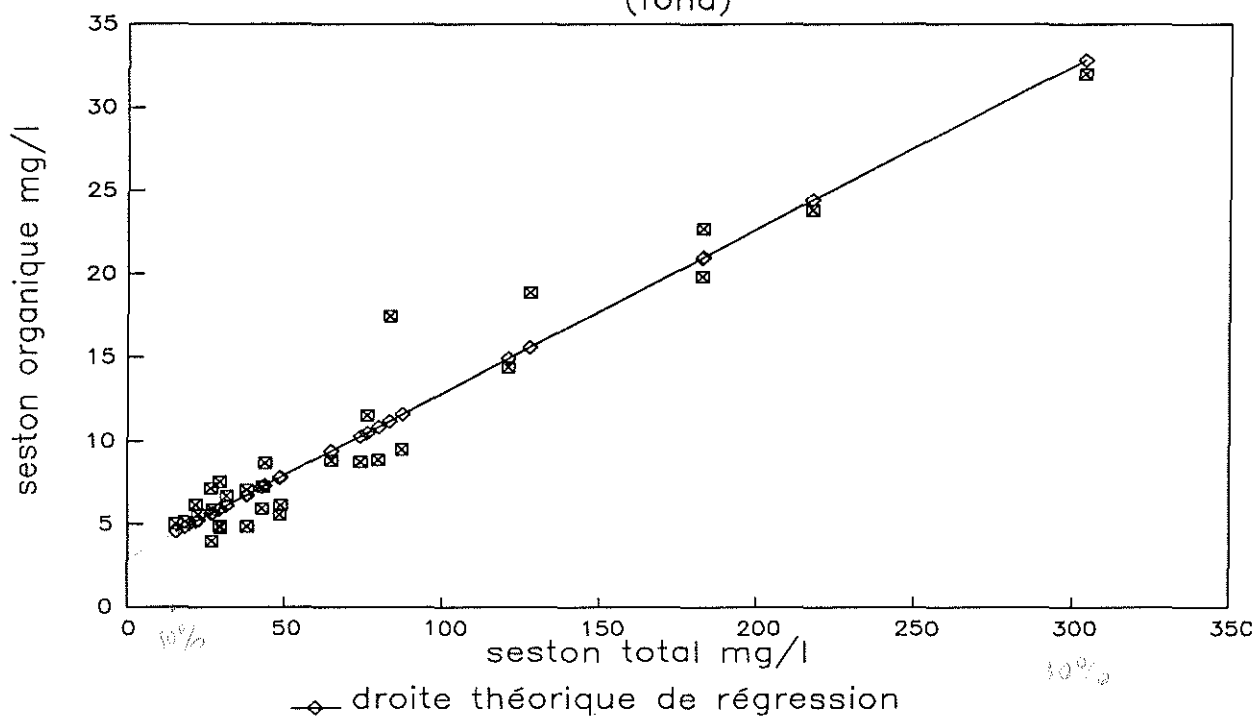
-figure 11-

### Evolution du pourcentage organique et minéral en fonction du coef.de marée (surface)



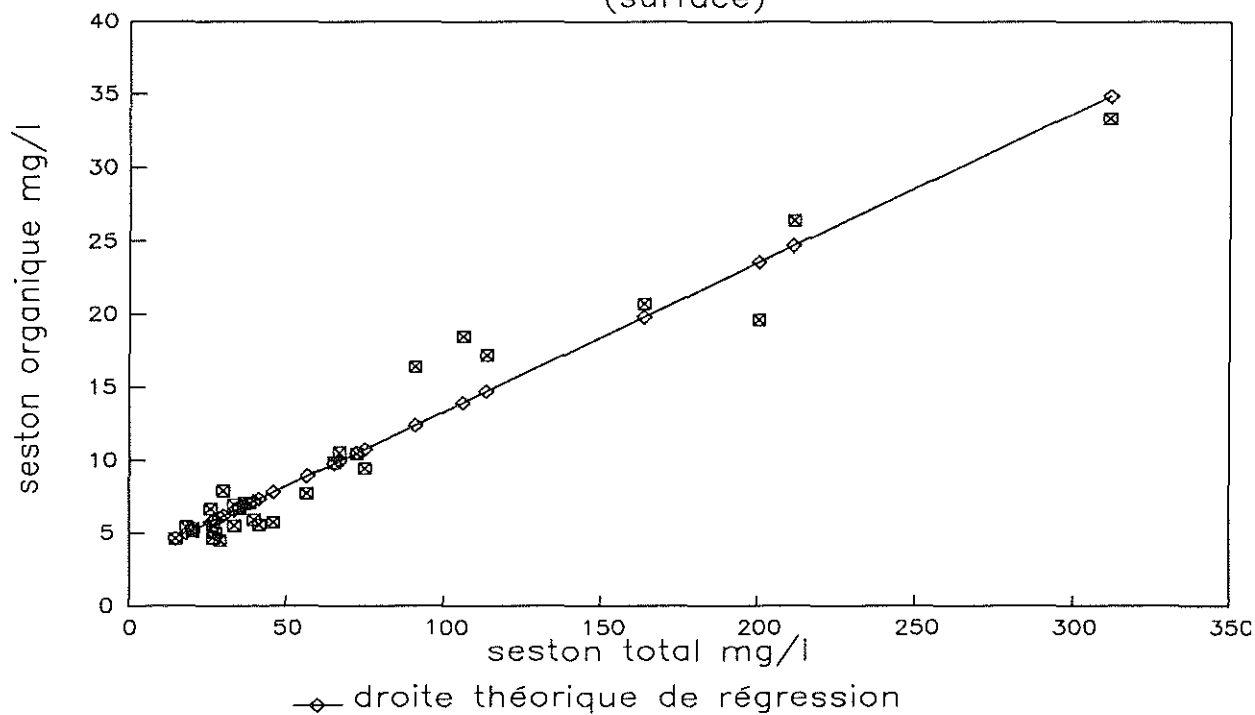
-figure 12-

### Corrélation entre seston organique et seston total (fond)



-figure 13-

### Corrélation entre seston organique et seston total (surface)



-figure 14-

montre d'importantes différences en fonction des coefficients de marée. La concentration augmente en vives-eaux (figures 15 et 16).

La fluctuation journalière de la chlorophylle a semble liée à la hauteur d'eau. Pour une faible hauteur d'eau, la concentration en chlorophylle augmente et inversement, pour une importante hauteur d'eau elle diminue (figures 17 et 18). D'autre part, la quantité de phéopigments est supérieure ou égale à celle des chlorophylles. Au fond, elle évolue de 0,6  $\mu\text{g/l}$  à 12,7  $\mu\text{g/l}$  avec une moyenne de 2,9  $\mu\text{g/l}$  en surface, elle varie de 0,8  $\mu\text{g/l}$  à 12,5  $\mu\text{g/l}$  avec une moyenne de 2,85  $\mu\text{g/l}$ .

### **3. Le multisizer**

Les résultats obtenus avec le multisizer montrent un nombre croissance de particules en suspension au fur et à mesure que la porosité diminue (figures 19 et 20). En effet, on dénombre plus de particules dans la fraction 10  $\mu\text{m}$  par exemple, que dans la fraction 200  $\mu\text{m}$ .

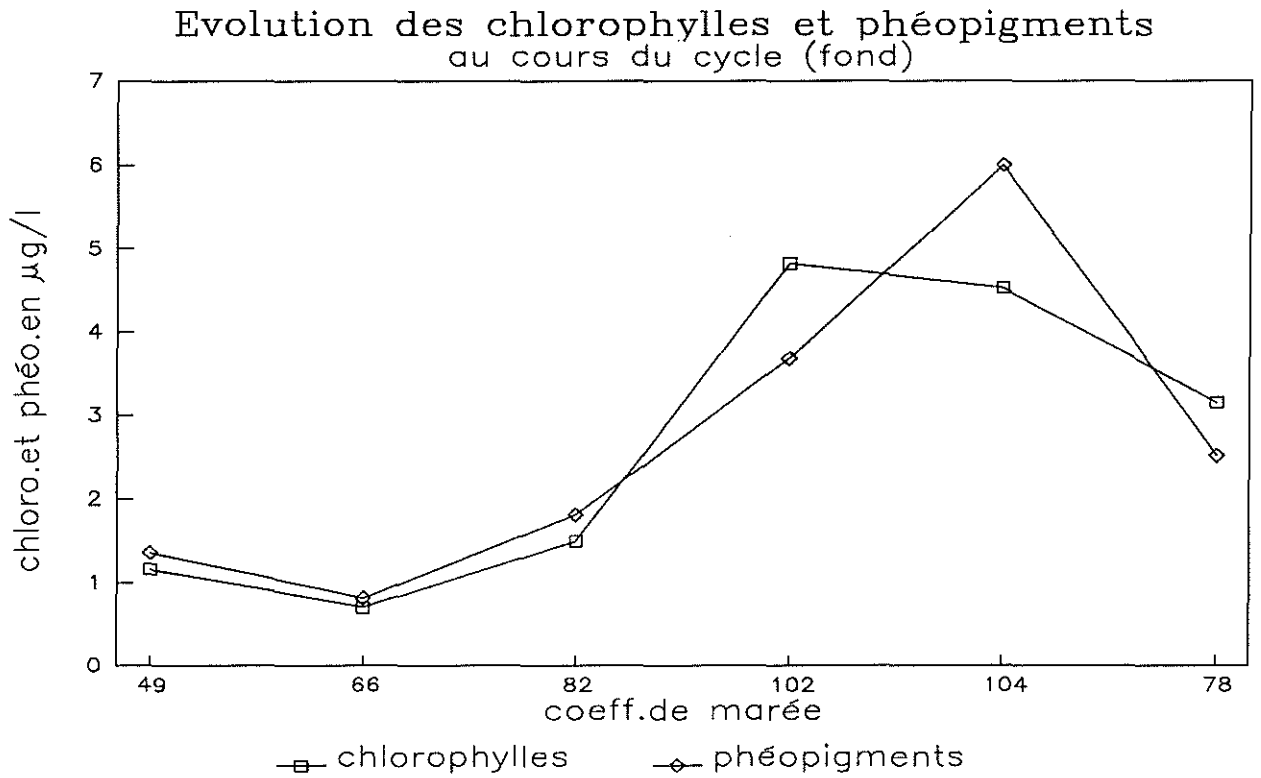
Par contre, en exprimant les résultats en volume occupé par les particules dans 1 litre d'eau (figures 21 et 22), celui-ci augmente au fur et à mesure que la porosité des filtres croît, les particules occupent un plus grand volume dans la fraction 200  $\mu\text{m}$  que dans la fraction 10  $\mu\text{m}$  par exemple.

D'autre part, plus le coefficient de marée est important, plus le nombre et le volume occupé par les particules est important. A coefficients similaires, le volume particulaire est plus fort après les vives-eaux qu'avant celles-ci.

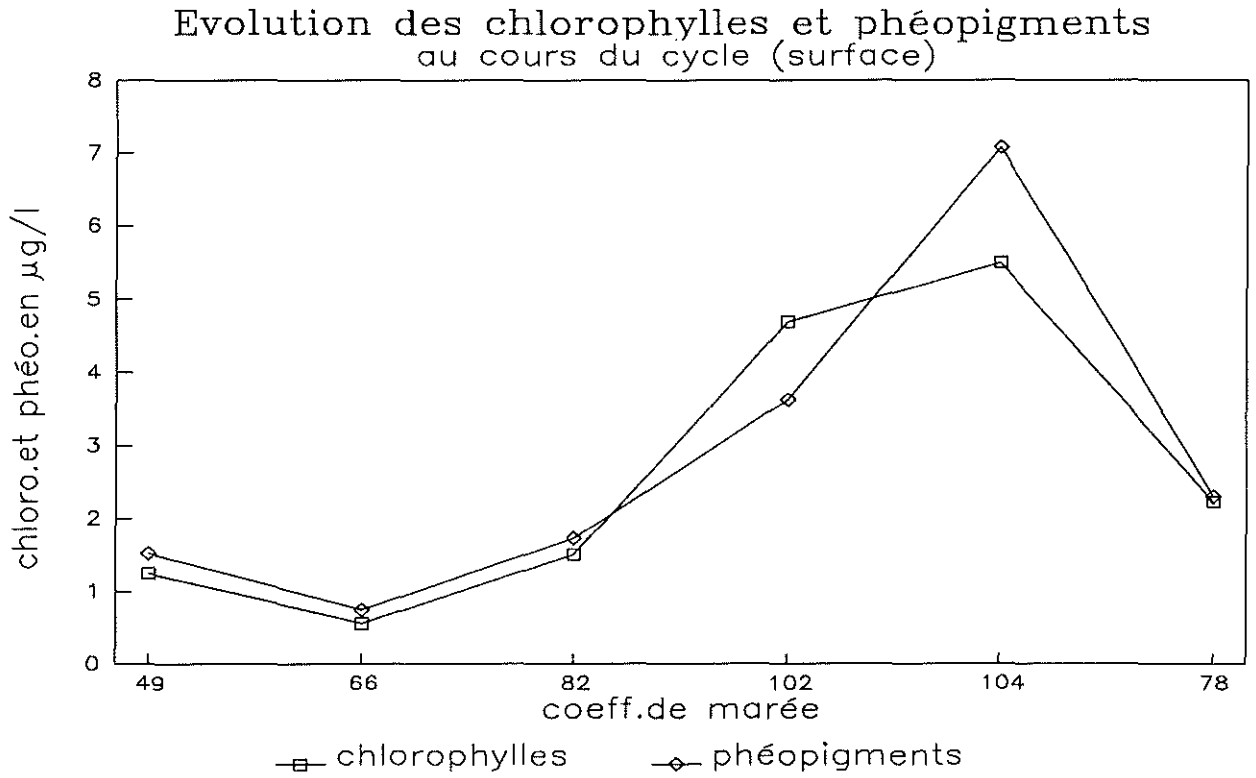
### **4. Le cytofluorimètre en flux**

Récemment mis en oeuvre pour de telles expériences, le cytofluorimètre donne de nombreux résultats mais leur interprétation reste très délicate. Ainsi, seul le rapport du nombre de particules organiques (POM : particular organic matter) sur le nombre total des particules (PIM + POM : particular inorganic matter + particular organic matter) à 525 nm (LFL1) et 610 nm (LFL3) selon une échelle logarithmique est étudié dans ce rapport.

L'excitation se faisant à 480 nm, les émissions à 525 nm (caractérisation des phéopigments) et à 610 nm (caractérisation de la chlorophylle) ont été recueillies. Les histogrammes (256 canaux en échelle logarithmique) ainsi obtenus ont permis de quantifier la matière organique présente dans la colonne d'eau. En effet, l'effectif du canal 1 ne fluorescent pas ou peu, est

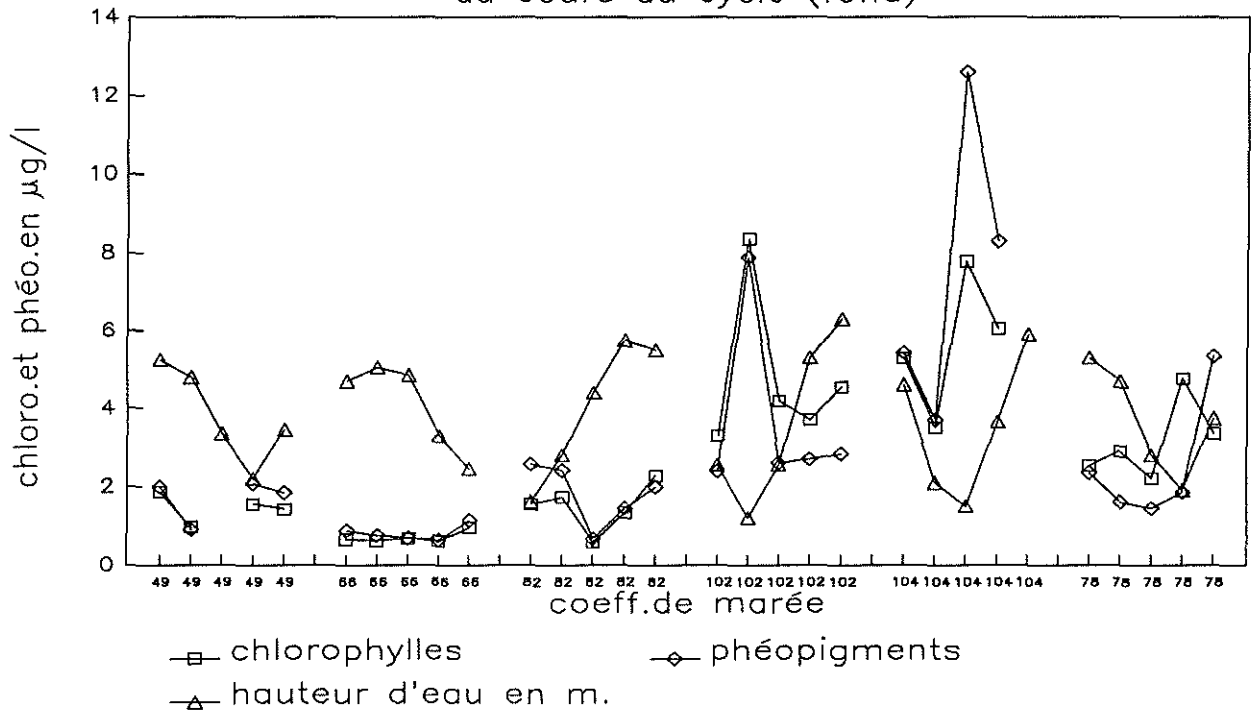


-figure 15-



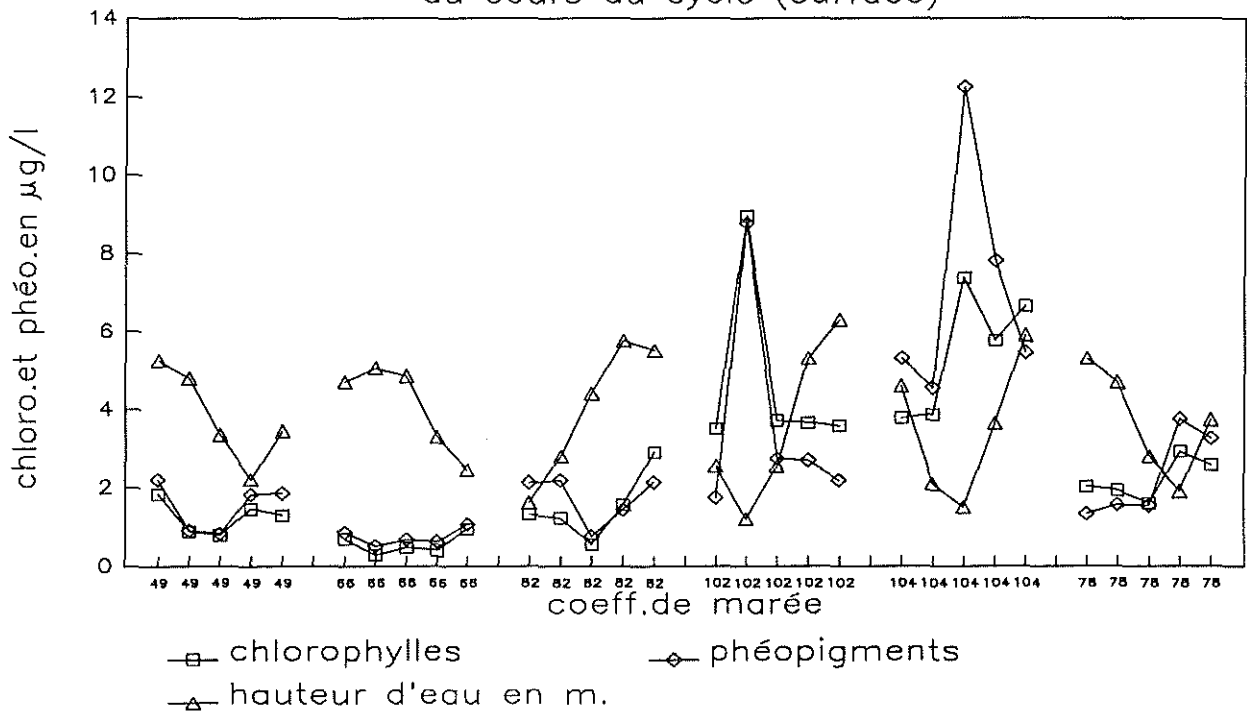
-figure 16-

### Evolution des chlorophylles et phéopigments au cours du cycle (fond)



-figure 17-

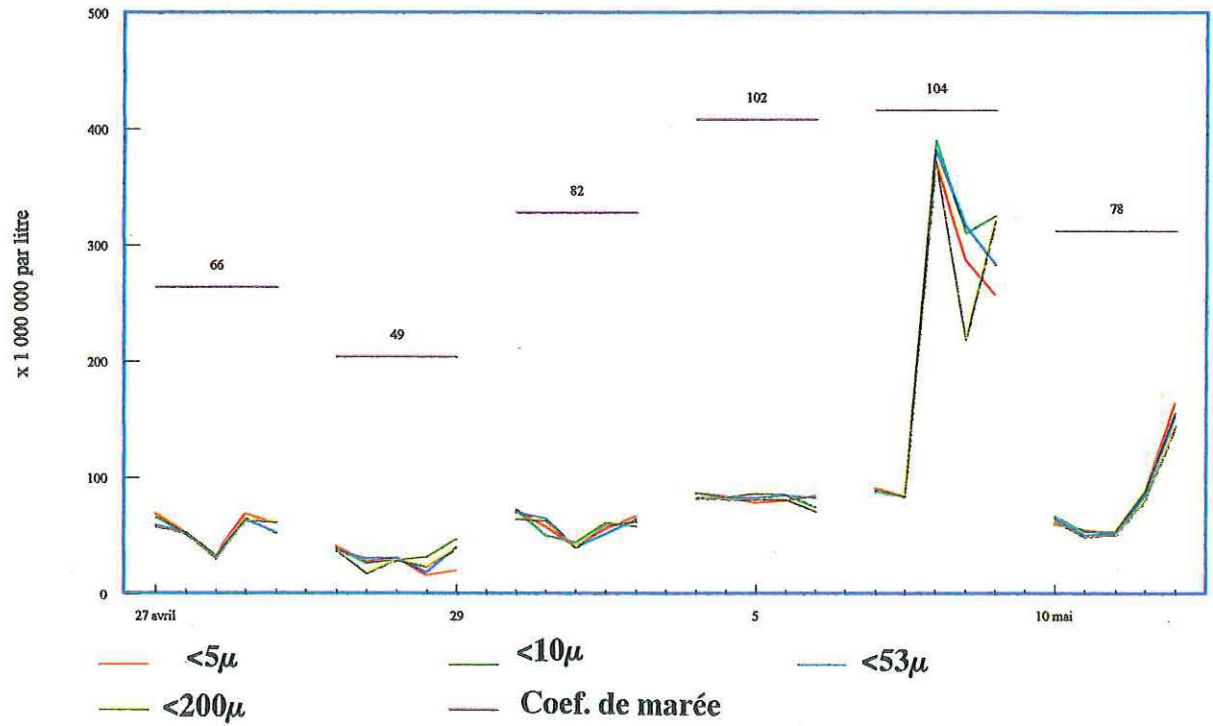
### Evolution des chlorophylles et phéopigments au cours du cycle (surface)



-figure 18-

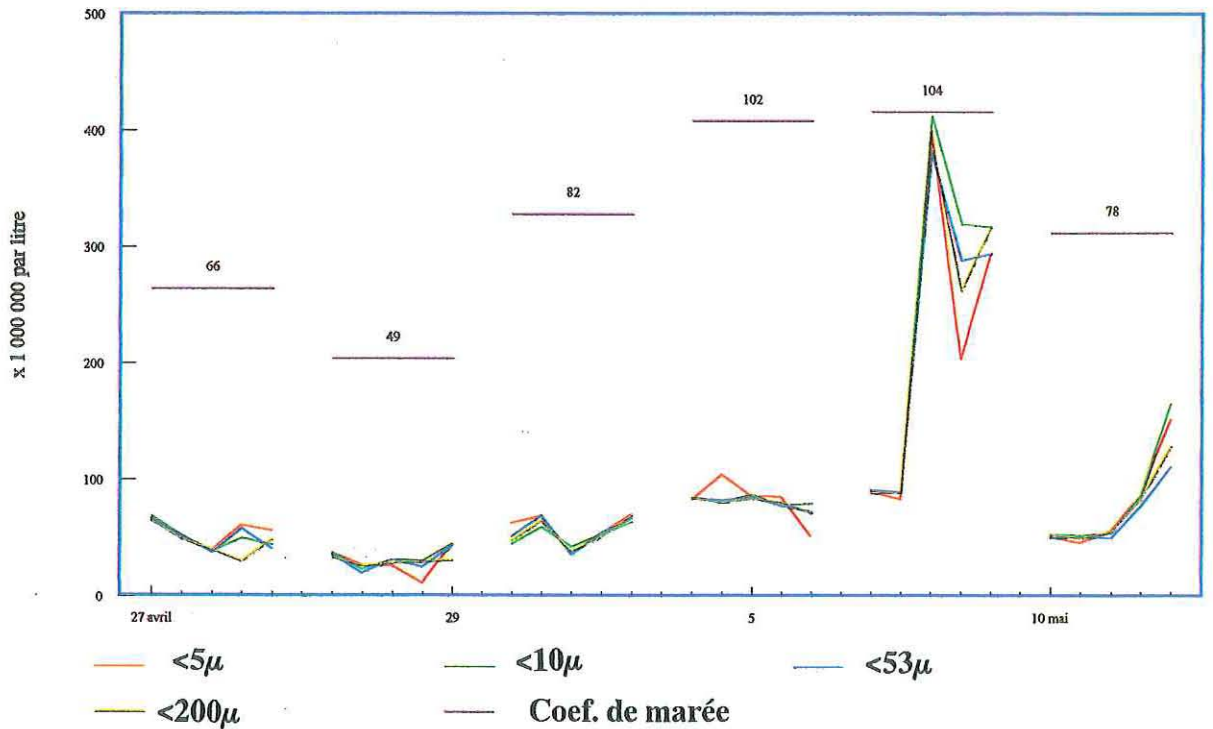


### Nombre de particules dans la colonne d'eau par classe de préfiltration (Fond)



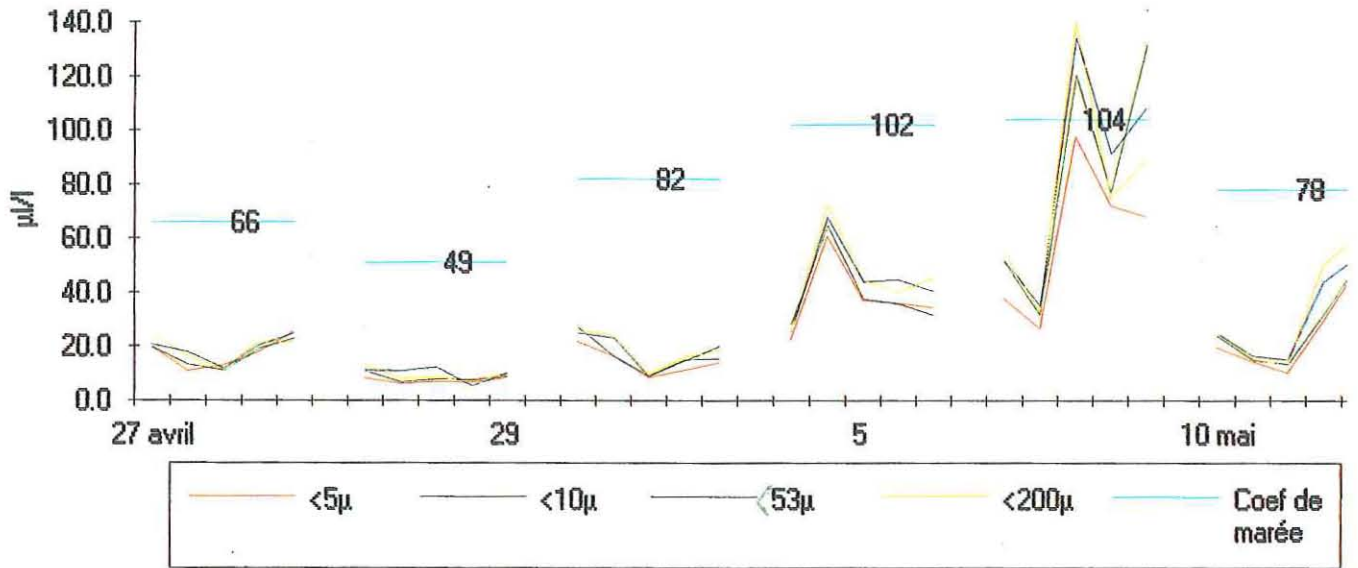
-figure 19-

### Nombre de particules dans la colonne d'eau par classe de préfiltration (Surface)



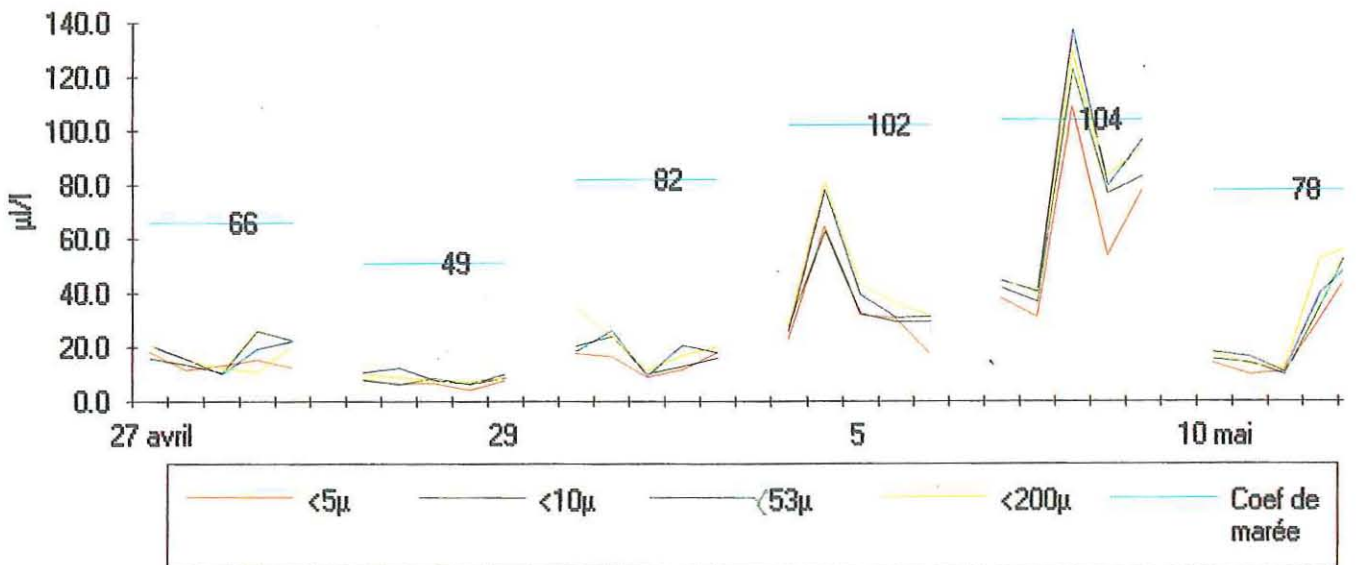
-figure 20-

Volume des particules dans la colonne d'eau  
par classe de préfiltration (fond)



-figure21-

Volume des particules dans la colonne d'eau  
par classe de préfiltration (Surface)



-figure 22-

considéré comme le nombre de particules inorganiques alors que les effectifs des canaux 2 à 256 représentent le nombre de particules organiques.

Les mesures réalisées indiquent un pourcentage de matière organique stable. A 525 nm, il évolue de 87 à 90 % de la matière totale alors qu'à 610 nm, il varie entre 81 et 87 % de la matière totale (figures 23 et 24). Ces résultats semblent contradictoires de ceux obtenus par crémation (sestons).

## 5. Les C.H.N.

Seule l'étude du carbone (C) et de l'azote (N) organique est intéressante.

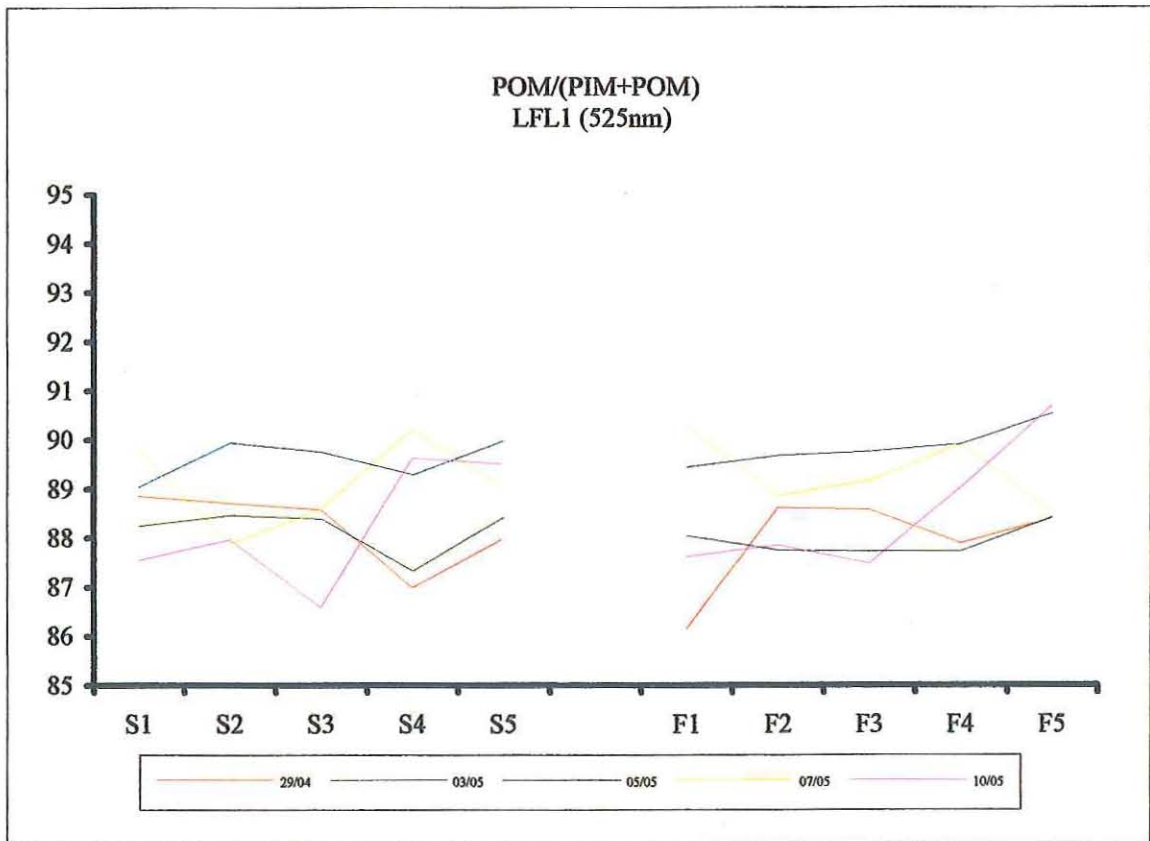
Dans les conditions de cette expérience (mois de mai, site du Chapus...) , le rapport C/N évolue de 5 à 11 (moyenne = 6,86) pour le fond et de 4 à 9,5 (moyenne = 7,35) pour la surface (figures 25 et 26).

D'autre part, l'étude des fractions de carbone et d'azote organiques par rapport au seston organique, a permis d'obtenir des régressions linéaires (figures 27, 28, 29, 30, 31 et 32). Les droites ont pour équation respective :

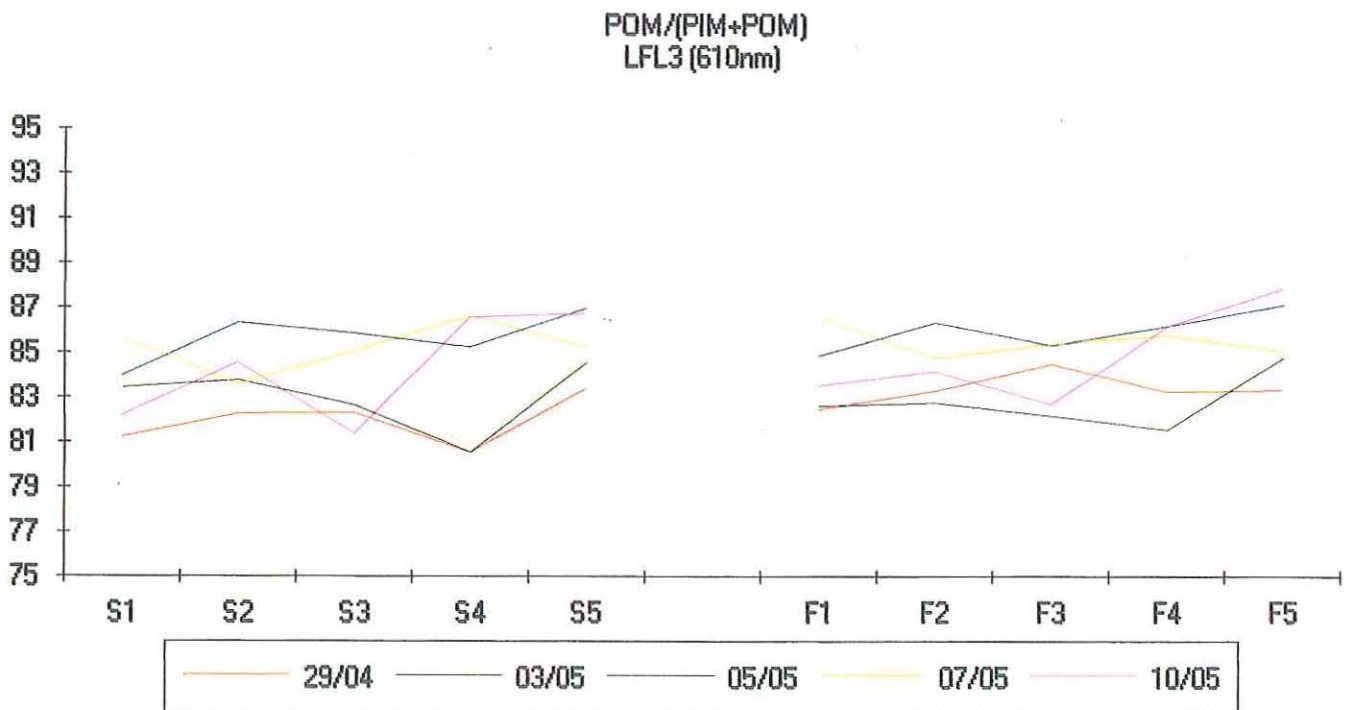
* 0,269996.SO - 0,6538	(fig. 2)	R <sup>2</sup> = 0,85
* 0,264491.SO - 0,5345	(fig. 28)	R <sup>2</sup> = 0,85
* 0,028669.SO - 0,0127	(fig. 29)	R <sup>2</sup> = 0,83
* 0,23692.SO - 0,0543	(fig. 30)	R <sup>2</sup> = 0,65
* 0,300482.SO - 0,6974	(fig. 31)	R <sup>2</sup> = 0,85
* 0,288183.SO - 0,48021	(fig. 32)	R <sup>2</sup> = 0,90

avec :

S.O. = Seston organique en mg/l

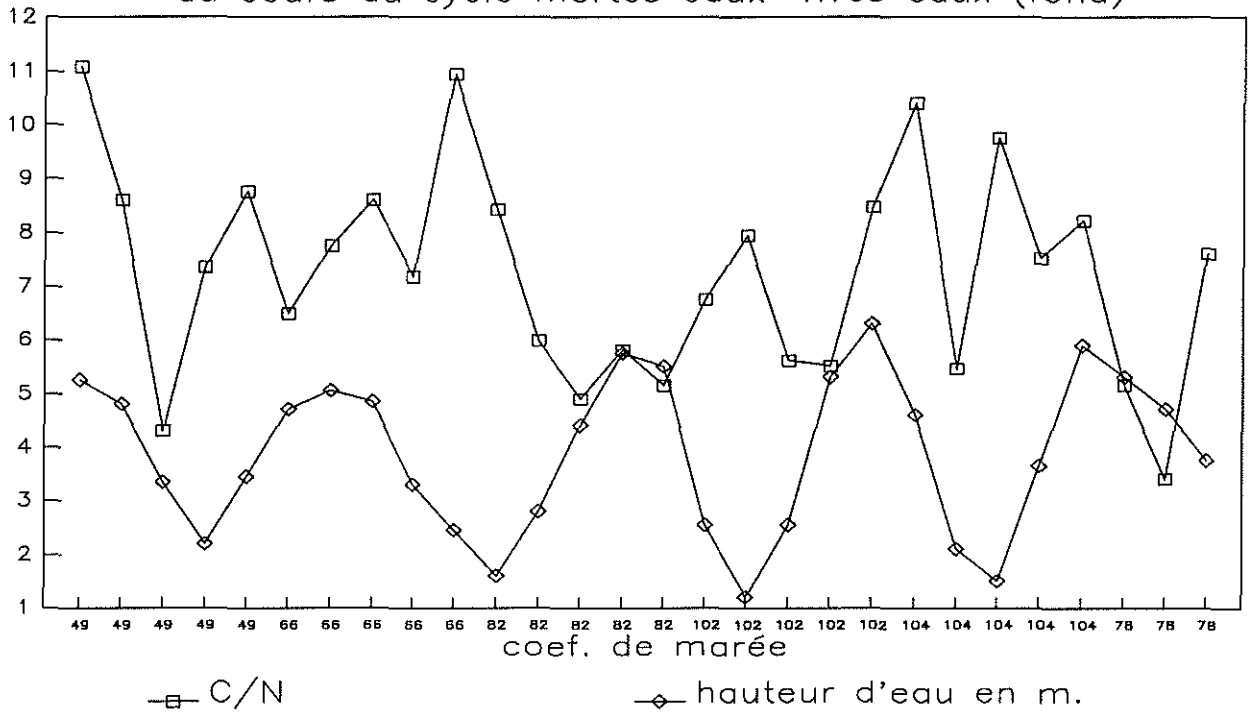


-figure 23-



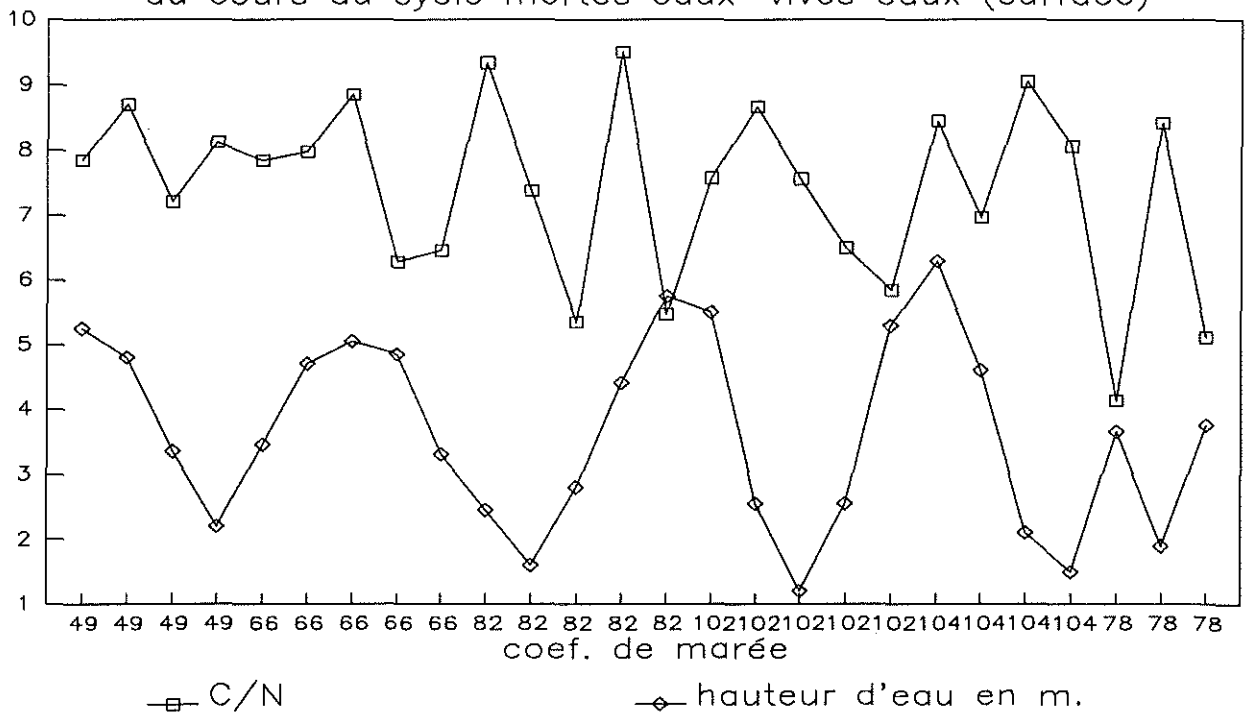
-figure 24-

Evolution du rapport C/N avec la hauteur d'eau au cours du cycle mortes eaux-vives eaux (fond)



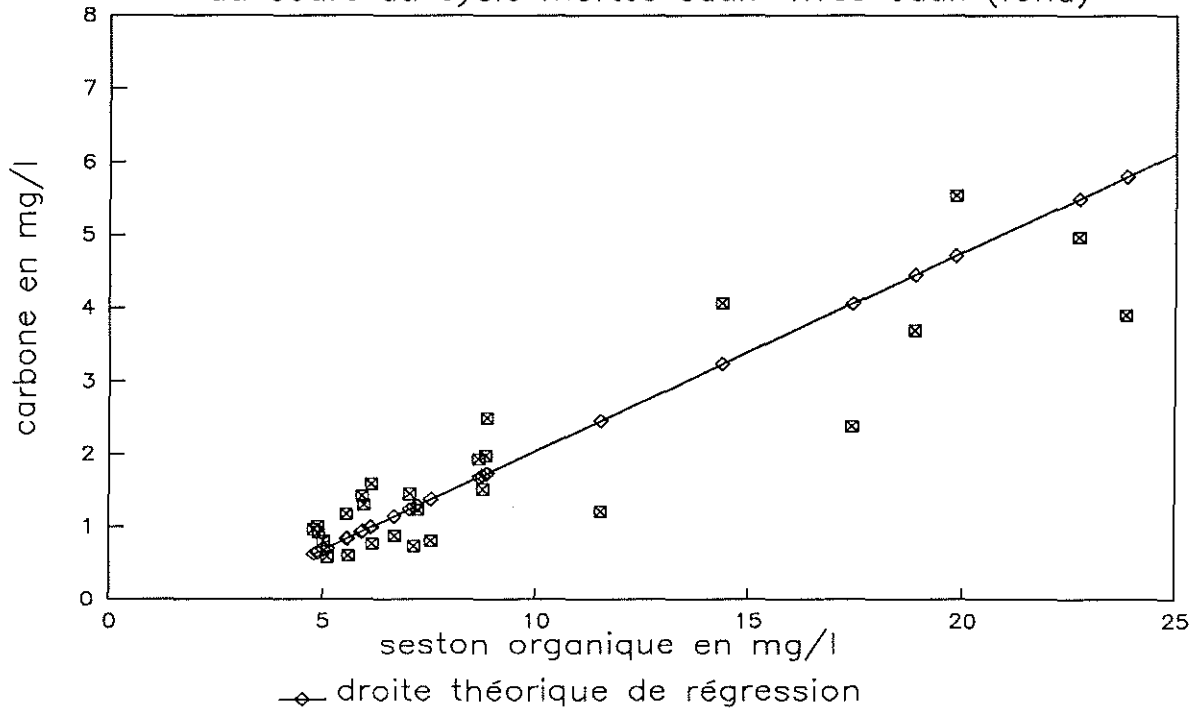
-figure 25-

Evolution du rapport C/N avec la hauteur d'eau au cours du cycle mortes eaux-vives eaux (surface)



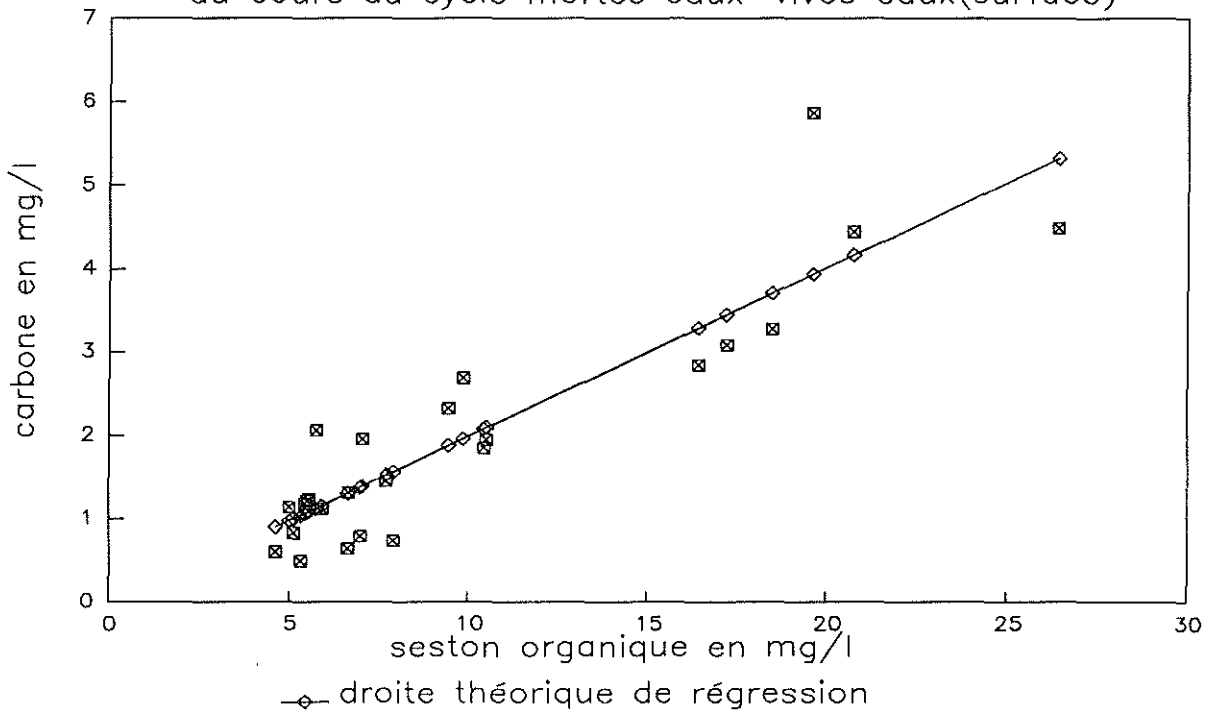
-figure 26-

Corrélation entre carbone et seston organiques  
au cours du cycle mortes eaux-vives eaux (fond)



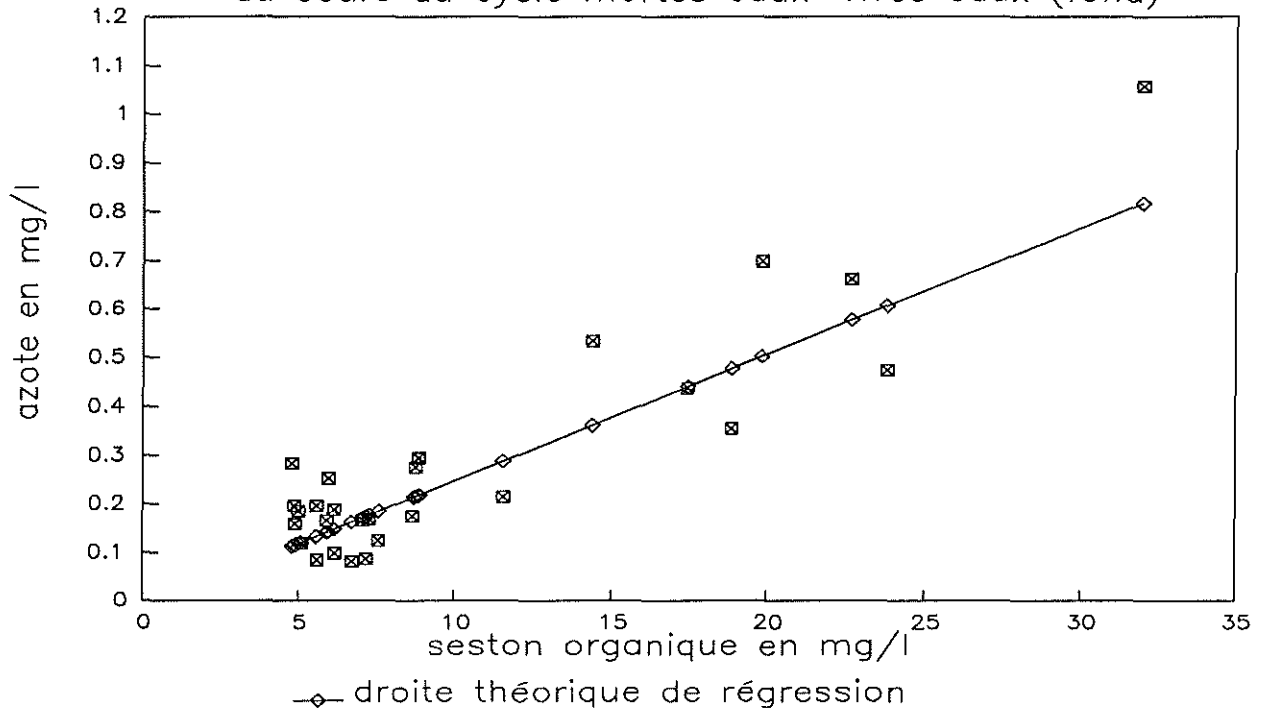
-figure 27-

Corrélation entre carbone et seston organiques  
au cours du cycle mortes eaux-vives eaux (surface)



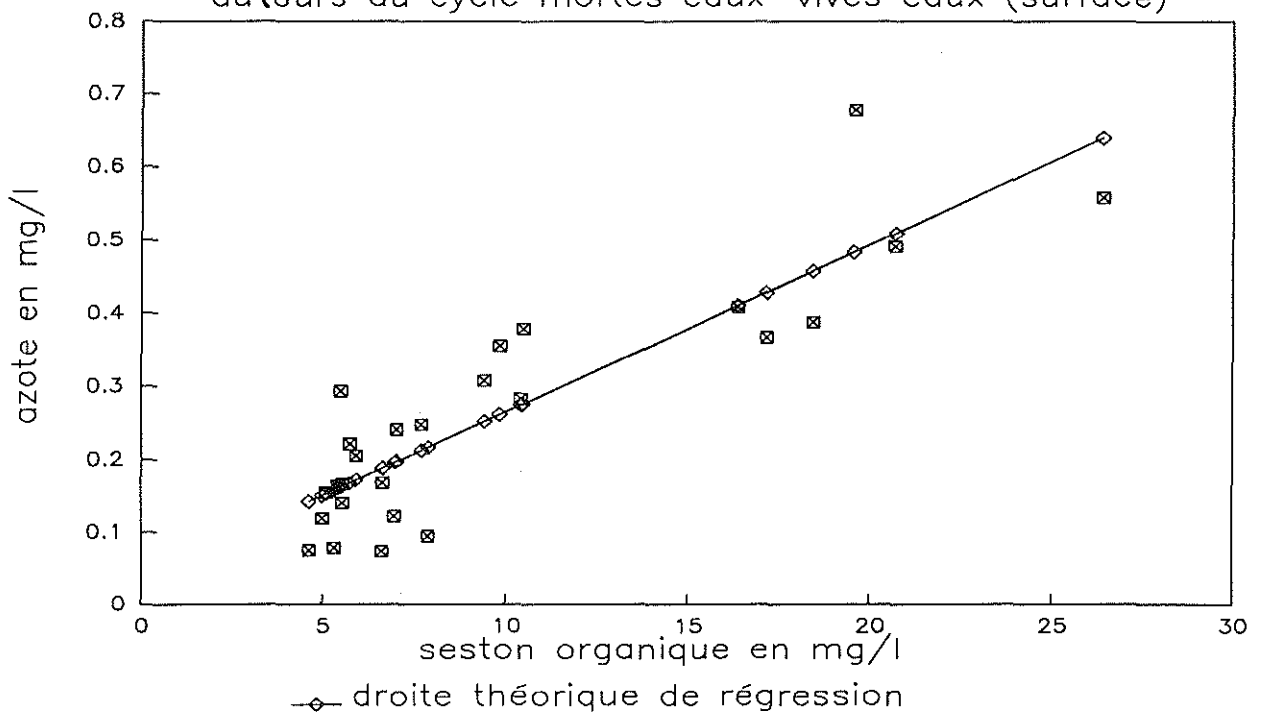
-figure 28-

Corrélation entre azote et seston organiques  
au cours du cycle mortes eaux-vives eaux (fond)

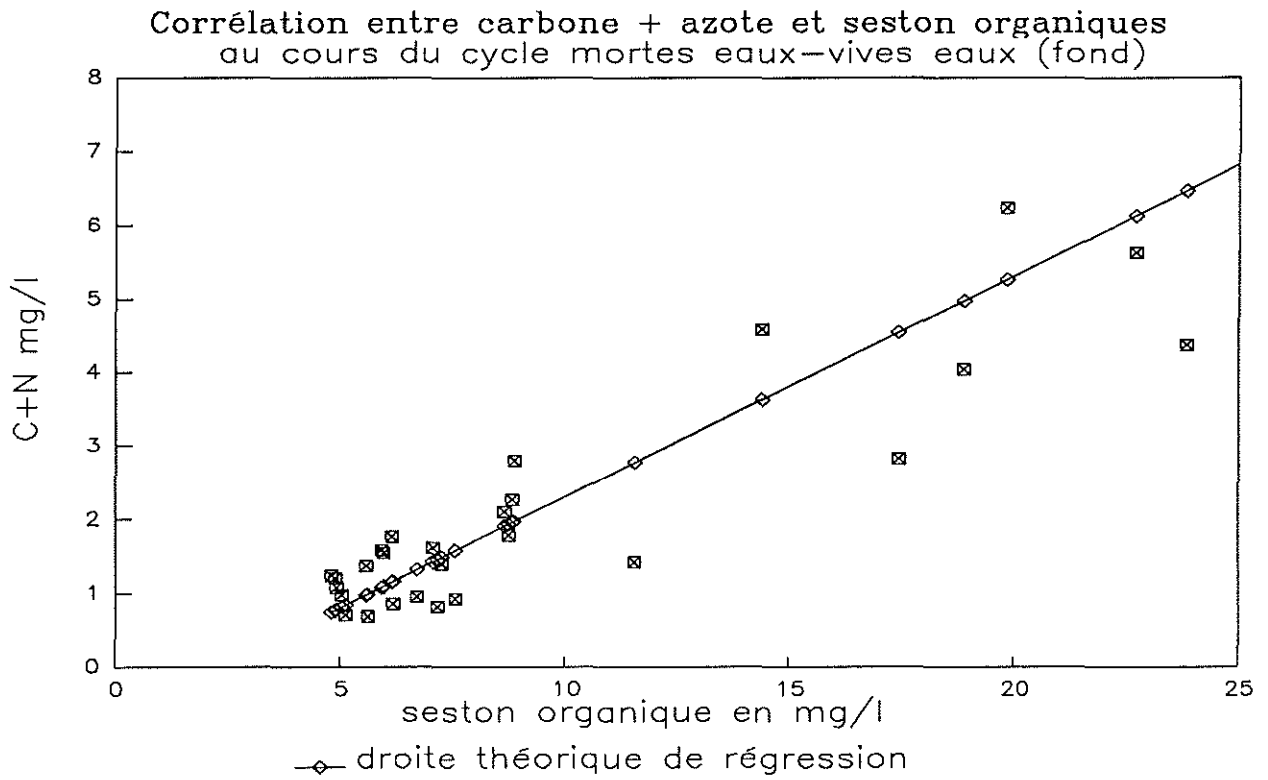


-figure 29-

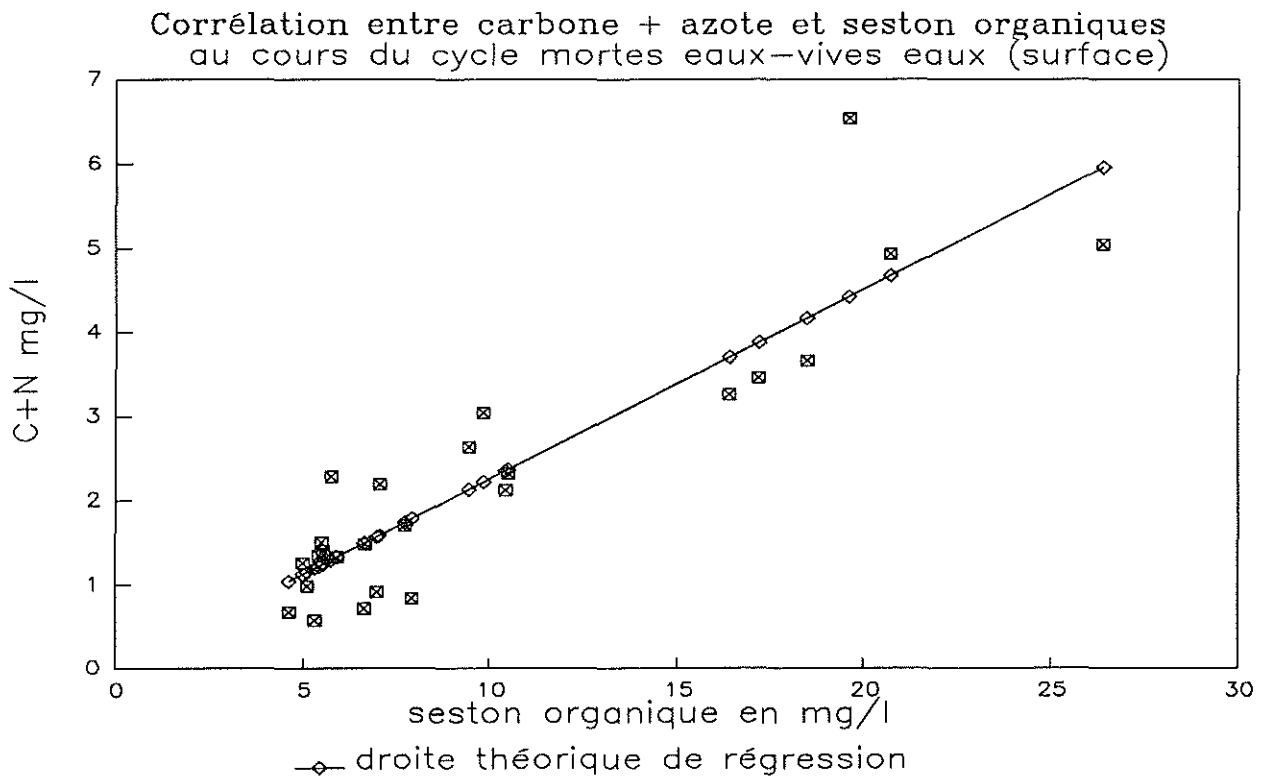
Corrélation entre azote et seston organiques  
au cours du cycle mortes eaux-vives eaux (surface)



-figure 30-



-figure 31-



-figure 32-



## C. DISCUSSION

Le choix de la porosité des filtres à 5  $\mu\text{m}$ , 10  $\mu\text{m}$ , 53  $\mu\text{m}$  et 200  $\mu\text{m}$  s'explique par le tri qu'effectue l'huître pour se nourrir. En effet, la taille des particules est un des facteurs de tri pour l'huître.

Le fait d'obtenir d'une part un nombre croissant de particules du filtrat 200  $\mu\text{m}$  au filtrat 5  $\mu\text{m}$  et d'autre part un volume occupé par les particules croissant du filtrat 5  $\mu\text{m}$  au filtrat 200  $\mu\text{m}$  peut s'expliquer par une défloculation des particules due à la pression de l'eau sur le filtre et aux "tapotements" des filtres pour éviter le colmatage. Ici, les filtrations ont été effectuées sur des filtres de 6 cm de diamètre. Il semblerait que plus la surface de filtration est importante, plus la défloculation et surtout le colmatage sont limités.

L'augmentation de la charge sestonique (jusqu'à 300 mg/l) et de la chlorophylle (jusqu'à 7,5  $\mu\text{g/l}$ ) pour les journées du 5 et 7 mai laisse penser à un petit bloom planctonique. En fait, il y a plutôt un important phénomène de remise en suspension du benthos et du phytobenthos dû aux forts coefficients de marée (102 et 104), mais aussi aux conditions atmosphériques à ce moment là.

L'augmentation de la proportion de matière organique (maximum à 25 % de la matière totale) pour de faibles charges sestoniques, donc proche des mortes-eaux, vient probablement du fait que les particules de la fraction organique sont plus légères que celles de la fraction minérale. Ces dernières sédimentent donc plus rapidement.

Les fortes concentrations en phéopigment (supérieures ou égales à celles des chlorophylles) proviennent de la dégradation des pigments chlorophylliens ; celle-ci intervient soit à la mort de la cellule, soit après le passage dans le tube digestif de l'huître où règne un pH acide qui transforme les chlorophylles en phéopigments (Sornin et al., 1983). La supériorité de la quantité de phéopigments par rapport aux chlorophylles en vives-eaux atteste de la remise en suspension des cellules dégénérantes et du sédiment riche en phéopigments.

Le rapport du carbone organique sur l'azote organique (C/N) peut permettre la caractérisation d'un site à un moment donné ; dans le cas du Chapus au mois de mai, le rapport C/N semble évoluer de 5 à 11 (moyenne  $\approx$  7). D'autres dosages réalisés au Chapus à des périodes différentes permettraient d'apprécier l'évolution du rapport C/N en fonction des saisons en un point.

D'autre part, aucune relation ne semble exister entre le rapport C/N et la hauteur d'eau. Par contre, au niveau du pélagique, il semblerait que le rapport C/N soit plus stable (entre 6 et 8) en mortes-eaux qu'en vives-eaux où le rapport évolue entre 5 et 11.

Les corrélations effectuées entre le carbone organique et le seston organique semblent indiquer que le carbone est un marqueur fidèle de la matière organique. Le rapport carbone sur seston organique est stable ; il oscille entre 0,15 et 0,25.

Les corrélations entre carbone + azote et sestons organiques sont bonnes ( $R^2 \geq 0,85$ ) ; la somme carbone + azote paraît être un bon marqueur.

Par contre, les corrélations entre azote et seston organique sont moins bonnes ( $R^2 \leq 0,80$ ).

En fait, il est préférable de travailler avec les rapports carbone sur seston organique et carbone + azote sur seston organique.

En fonction des résultats obtenus au niveau des sestons (environ 10 à 25 % d'organique), les résultats du cytofluorimètre semblent contradictoires (environ 85 % d'organique). En fait, cette différence peut s'expliquer par le fait qu'avec le cytofluorimètre, les résultats sont surestimés car le minéral lié à une particule qui fluoresce est considéré comme organique ; de plus, pour les sestons, les calculs sont effectués par différences de masses alors qu'avec le cytofluorimètre, l'organique et le minéral sont calculés en rapport avec les effectifs en nombre.

Finalement, les résultats des sestons et des chlorophylles confirment les données des années précédentes. Par contre les résultats obtenus, pour les CHN et le cytofluorimètre en flux, demandent à être confirmés ou infirmés ultérieurement.

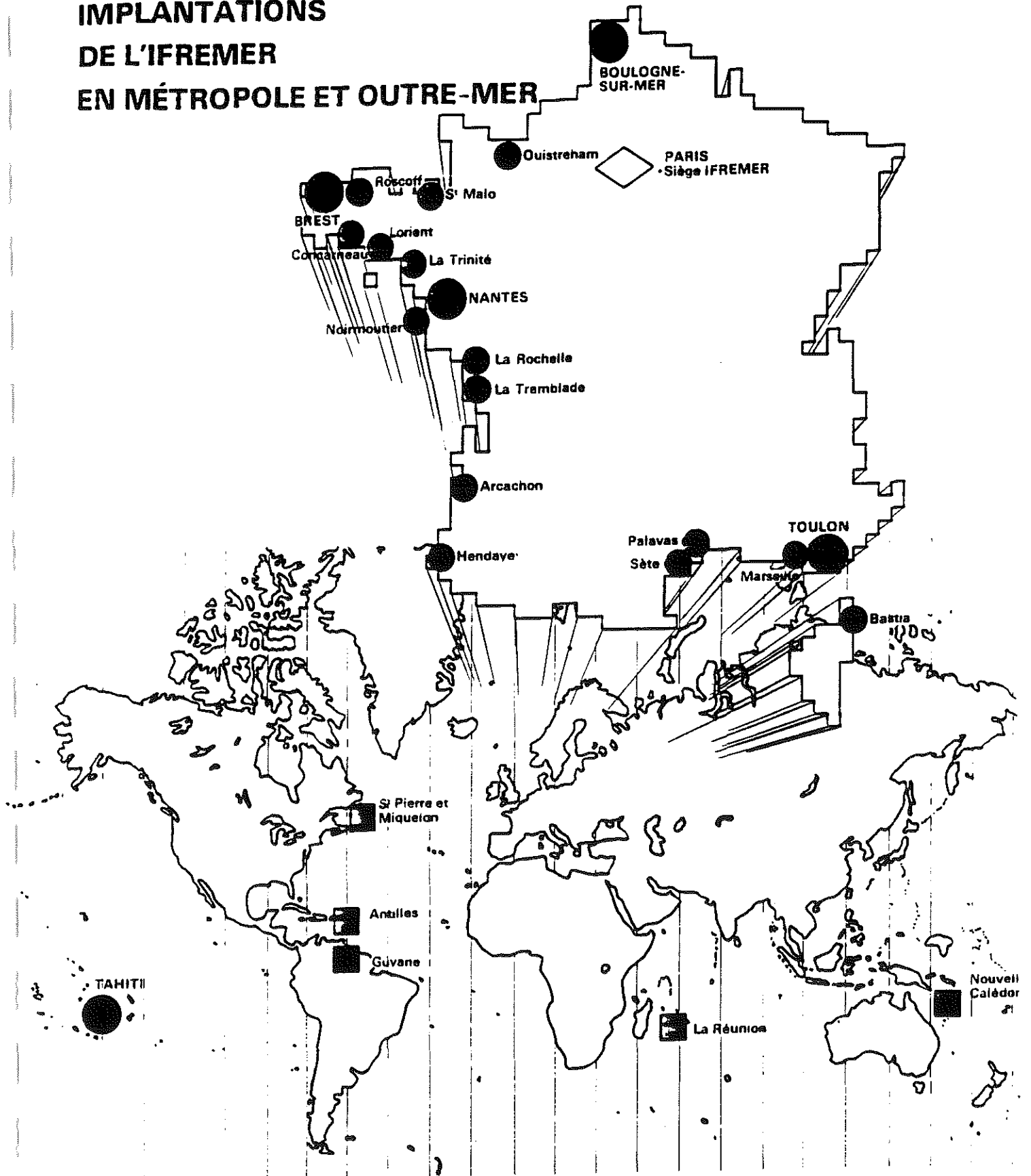
## BIBLIOGRAPHIE





Aminot A., Chaussepied M., 1983. Manuel des analyses chimiques en milieu marin. CNEXO : 153 – 201 p.

Guezennec L., 1991. Ecophysiologie "*in situ*" de l'huître *Crassostrea gigas* dans un milieu estuarien macrotidal (bassin de Marennes–Oléron – Chapus 1991). Rapport DUT Brest : 43 p.

Neveux J., 1973. Recherches sur la chlorophylle a et la phéophytine a. Thèse 3ème cycle, Université de Paris VI.

# IMPLANTATIONS DE L'IFREMER EN MÉTROPOLE ET OUTRE-MER



-  PARIS  
Siège IFREMER
-  centre
-  station rattachée
-  délégation

ANNEXE II  
 Dosage des chlorophylles  
 (d'après Lorenzen et al.)

Etalonnage :

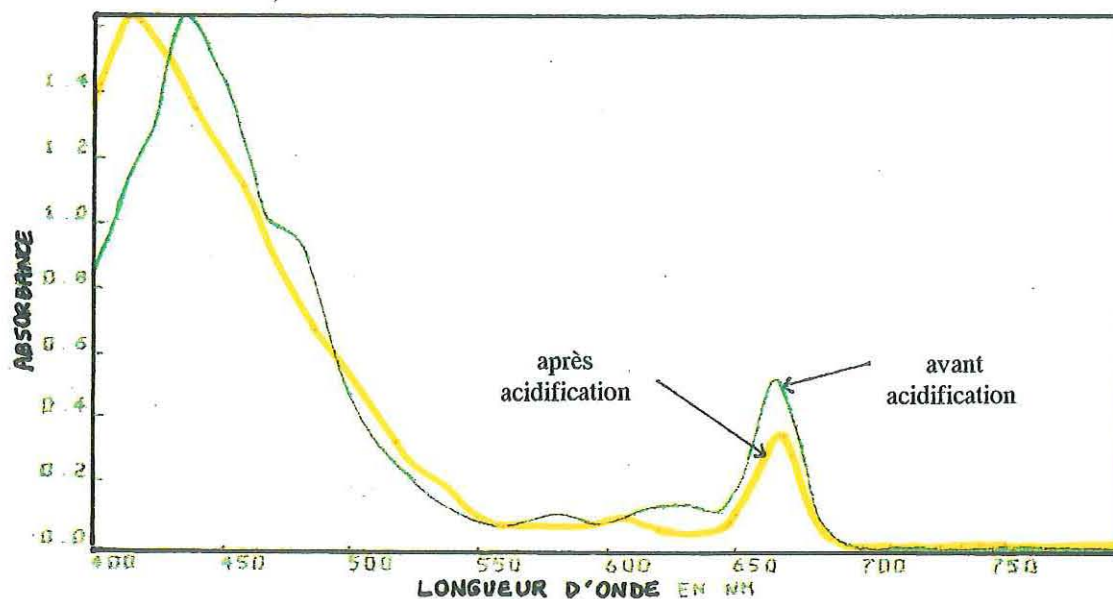
On filtre sur filtre Whatman GF/C (Ø 47 mm) une quantité d'eau de mer préfiltrée à 200 µm afin d'obtenir une D.O. de l'ordre de 0,300 à 0,400 après broyage dans 40 cc d'acétone à 90 %. Par spectrophotométrie d'absorption moléculaire et en appliquant la loi de Lorenzen, on va déterminer la concentration en chlorophylle a et en phéopigment.

$$[\text{Chloa}] = \frac{26,7 (\text{DO665a} - \text{DO750a}) - (\text{DO665b} - \text{DO750b})}{L} \quad (\text{en } \mu\text{g/cc d'acétone})$$

$$[\text{Phéo a}] = \frac{26,7 (1,7 (\text{DO665b} - \text{DO750b})) - (\text{DO665a} - \text{DO750a})}{L} \quad (\text{en } \mu\text{g/cc d'acétone})$$

trajet optique : L = 5 cm

DO665a, DO665b : absorbance à 665 nm avant et après acidification par 100 µl d'HCl à 1 N.  
 DO750a, DO750b : absorbance à 750 nm avant et après acidification.



Spectres d'absorption d'une solution acétonique de chlorophylle a et de phéopigments enregistrés à partir d'un spectrophotomètre Secoman S 1 000 P.C.

La solution acétonique de chlorophylle a obtenue précédemment est aussi mesurée par fluorimétrie après dilution, de telle sorte que l'on obtienne une fluorescence avant acidification de l'ordre de 90.

Ainsi, on a 2 valeurs :

Fa : fluorescence avant acidification

Fb : fluorescence après acidification.

On acidifie avec 50  $\mu$ l d'HCl à 1 N.

On sait que :

$$[(\text{Chloro a})] = \frac{F.r}{r-1} \cdot (F_a - F_b) \cdot \frac{1}{x} \text{ en } \mu\text{g/cc d'acétone}$$

$$[(\text{Phéo a})] = \frac{F.r}{r-1} (r.F_b - F_a) \cdot \frac{1}{x} \text{ en } \mu\text{g/cc d'acétone.}$$

avec F = constante liée au photomultiplicateur.

r = constante du dosage liée à la lampe (r est de l'ordre de Fa/Fb).

x = facteur de dilution.

Détermination de F et r

$$\frac{[\text{Chlo a}]}{[\text{Phéo a}]} = \frac{\frac{[\text{Chlo a}]}{X}}{\frac{[\text{Phéo a}]}{X}} = Q$$

Il faut donc résoudre une équation à 2 inconnues :

$$(F.r/r-1) (F_a - F_b) = Q [(F.r/r-1) (r.F_b - F_a)]$$

$$F_a - F_b = Q (rF_b - F_a)$$

$$Q.r.F_b = Q.F_a + F_a - F_b$$

d'où

$$r = \frac{F_a(Q + 1) - F_b}{Q.F_b} \quad \text{avec } Q = 99,54$$

On remplace r par sa valeur dans l'équation [Chlo a] et on trouve F

$$F = \frac{r - 1}{r(F_a - F_b)} \cdot \frac{[\text{Chlo a}]}{X}$$

Ici, on trouve :

$$r = 1,95$$

$$F = 2,55 \cdot 10^{-4} \text{ ou } 0,000255$$

Détermination de [Chlo a] et [Phéo a] :

$$[\text{Chlo a}] = \frac{F.r}{r-1} \cdot (F_a - F_b) \cdot \frac{V_a}{V_f} \cdot 1000 \text{ en } \mu\text{g/litre d'eau de mer}$$

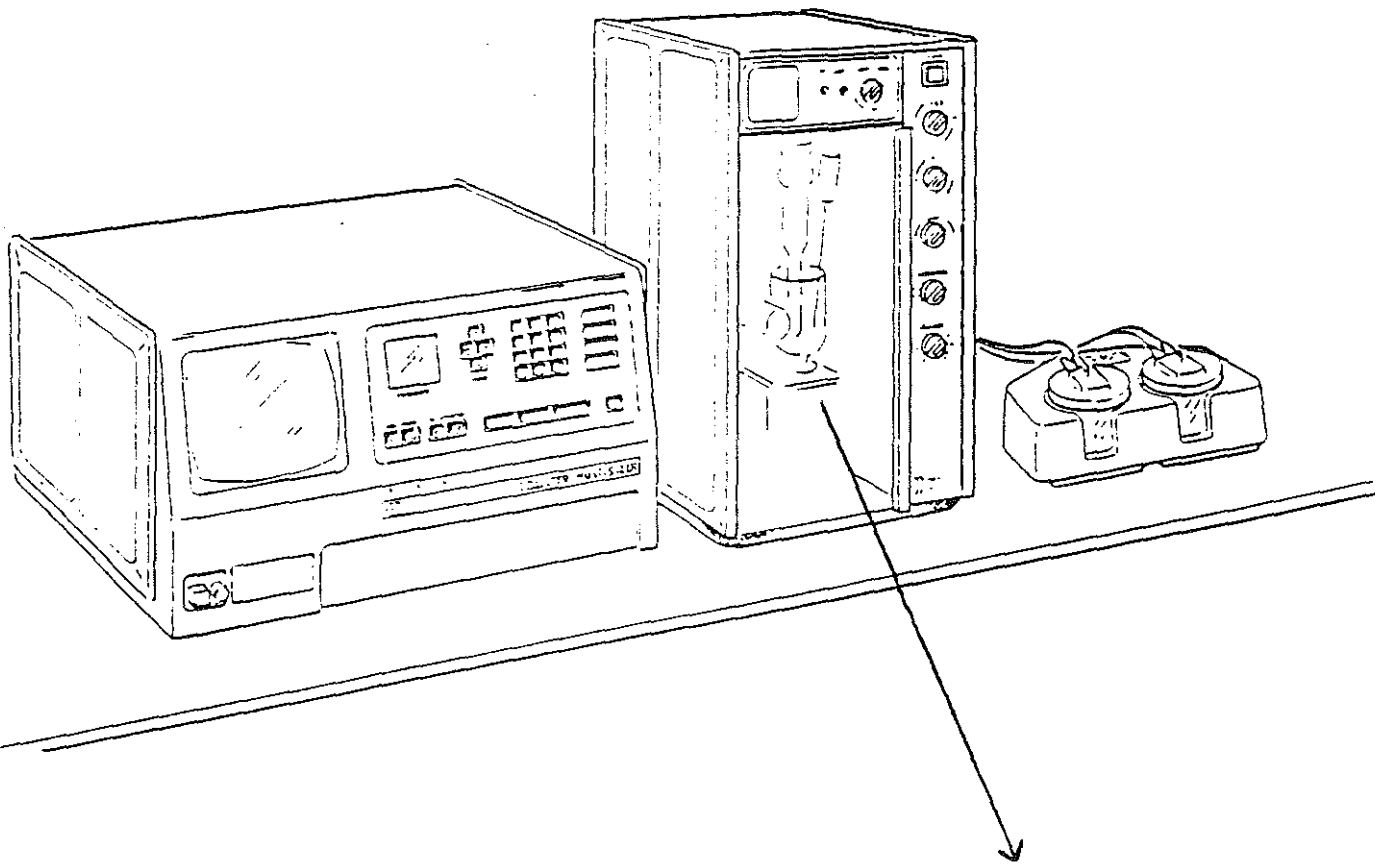
$$[\text{Phéo a}] = \frac{F.r}{r-1} \cdot (r.F_b - F_a) \cdot \frac{V_a}{V_f} \cdot 1000 \text{ en } \mu\text{g/litre d'eau de mer}$$

où  $V_a$  = volume acétone en ml

$V_f$  = volume filtré en ml

## Coulter® Multisizer

(Coulter Electronics Limited)

**FUNCTION**

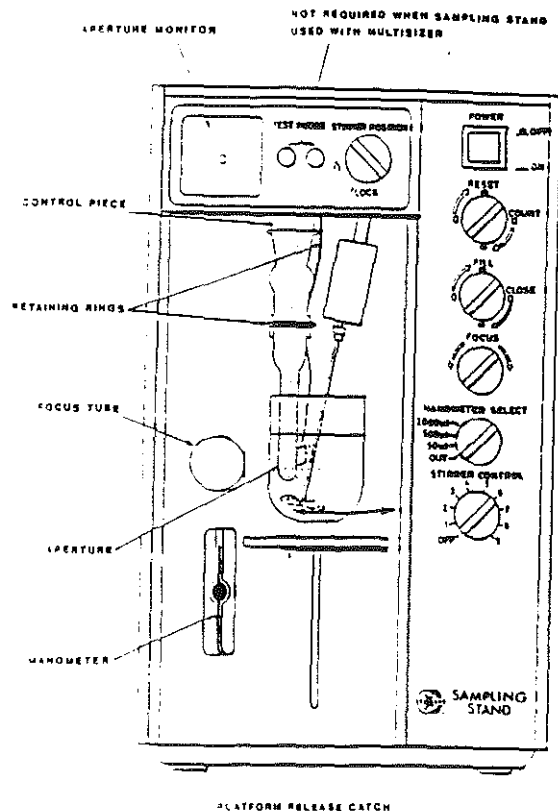
The Coulter® Multisizer is a flexible, multichannel, particle size analyser, which employs the Coulter® electrical impedance method to provide a particle size distribution analysis within the overall 0.4  $\mu\text{m}$  to 1 200  $\mu\text{m}$ .

Each result is displayed graphically as a percentage of channel content, which can be selected to represent either volume (weight), number (population) or surface area, in either differential or cumulative form.

Full range accumulation can be selected to cover either 16, 32, 64, 128 or 256 size channels and additional accumulations can then be performed, using this same range of channels, over two successively smaller size ranges, thus giving very high resolution. Two on-screen cursors, positioned by the operator, set the upper and lower limits for this latter facility called windowing.

Numerical data, which is displayed alongside the graphics displays, includes: total raw count; total coincidence corrected count; total channelized count between the upper and lower cursors; upper and lower channels number, with equivalent size; time taken for accumulation and, whilst the sample is being aspirated, an indicator of the concentration of the sample being analysed.

The instrument comprises a Sampling Stand, with its associated Vacuum Control Unit and the main electronics unit, which has provision for connecting an optional X/Y plotter, Data Terminal and Video Printer, thus allowing hard copy to be made of any display.



SAMPLING STAND FRONT VIEW



# ANNEXE IV

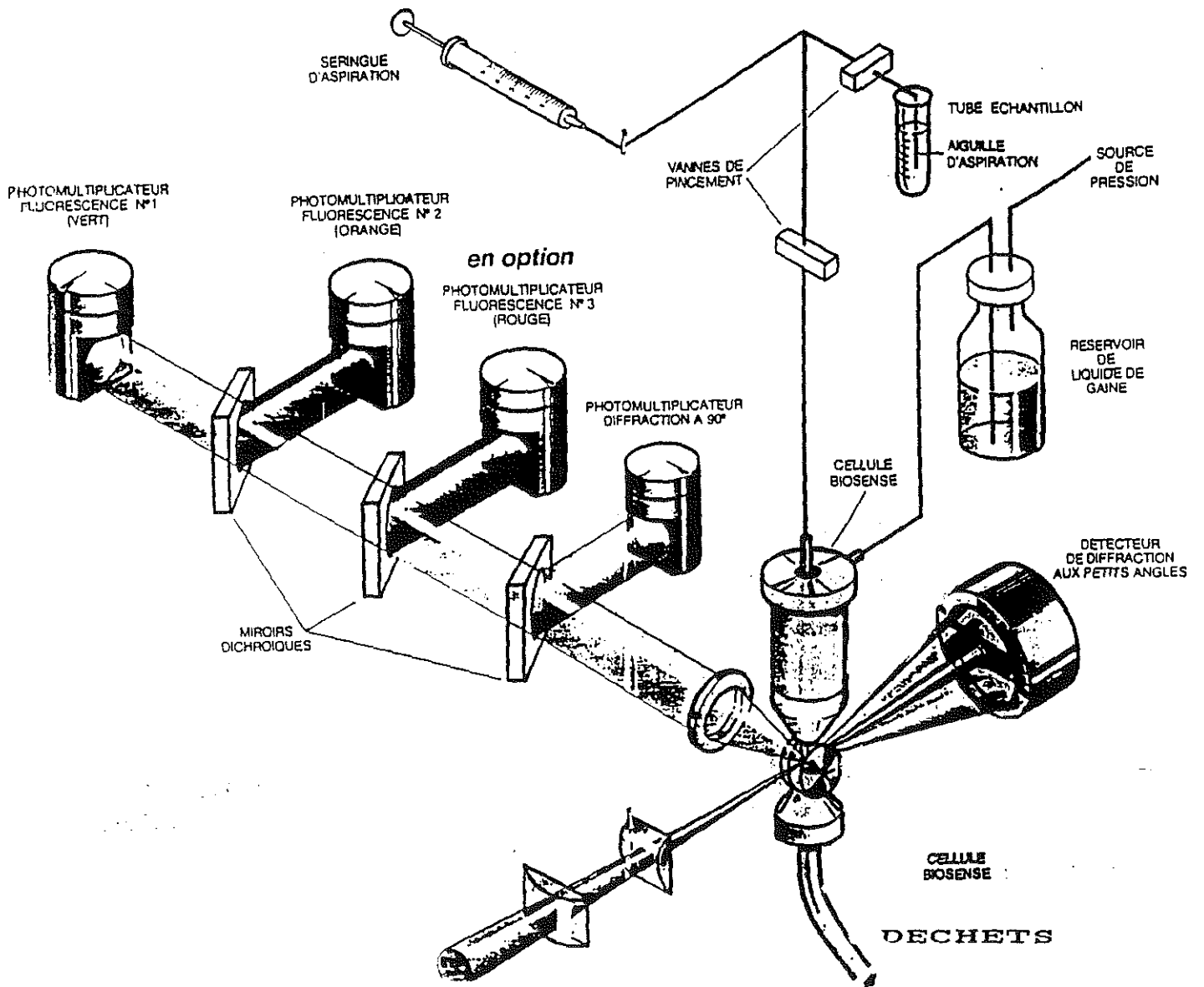
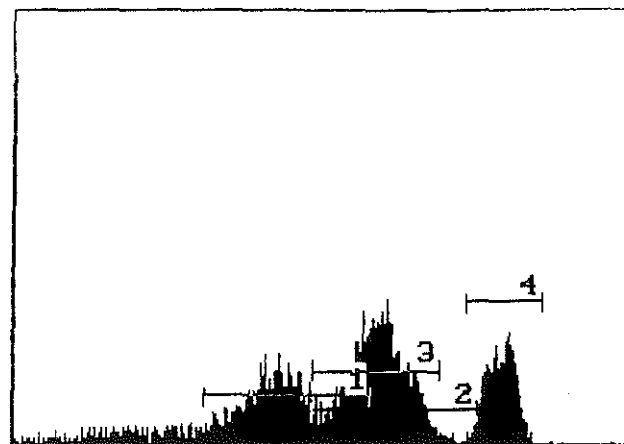
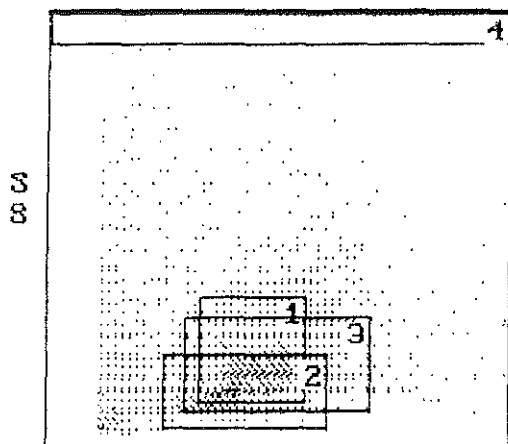


Schéma de principe de  
l'EPICS® PROFILE

# EPICS<sup>®</sup> Profile Analyzer

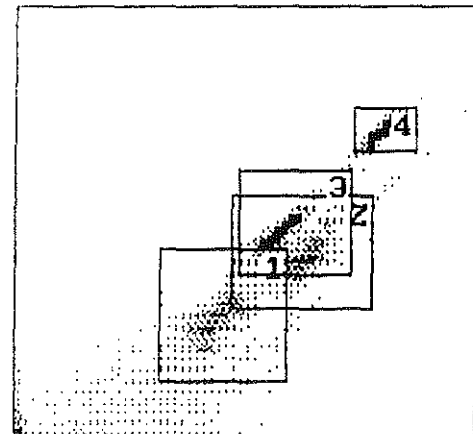
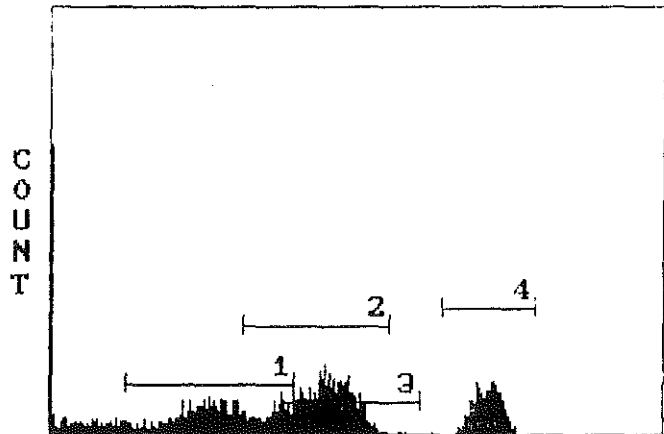
## COULTER CYTOMETRY TEST RESULTS

#2257  
4:16 p.m.  
27-May-93  
CRIS  
3P-1I-1C-16T



		MIN	MAX	COUNT	PERCENT	MEAN	SD	%HPCV
1	X	21	35	1585	42.2	28.2	3.9	22.2
	Y	6	21			11.1	3.8	46.5
2	X	16	38	1442	38.4	26.7	5.0	19.6
	Y	2	12			8.2	2.3	54.9
3	X	19	44	1934	51.5	28.7	5.4	22.5
	Y	5	18			10.4	3.6	53.1
4	X	0	63	764	20.3	49.0	12.1	
	Y	59	63			63.0	0.1	

		MIN	MAX	COUNT	PERCENT	MEAN	SD	%HPCV
1		1.757	22.58	1631	43.4	7.747	5.569	36.7
2		9.192	114.0	1684	44.8	24.95	11.99	30.6
3		3.192	64.09	1634	43.5	23.99	10.28	30.6
4		91.92	301.1	687	18.3	157.5	32.4	24.3



		MIN	MAX	COUNT	PERCENT	MEAN	SD	%HPCV
1		0.312	4.015	1282	34.1	1.333	0.881	62.3
2		1.821	16.93	1656	44.1	5.494	2.718	28.0
3		3.238	27.03	1403	37.3	6.495	2.458	28.0
4		36.07	152.0	680	18.1	71.73	14.70	23.8

		MIN	MAX	COUNT	PERCENT	MEAN	SD	%HPCV
1	X	1.821	24.26	1148	30.6	6.306	3.858	47.7
	Y	0.324	5.753			1.288	0.858	50.2
2	X	7.679	136.4	1665	44.3	22.40	10.69	44.5
	Y	1.577	18.19			5.164	2.640	48.4
3	X	8.867	88.60	1392	37.1	24.47	10.19	50.5
	Y	3.238	32.35			6.149	2.304	48.0
4	X	88.67	323.5	674	17.9	149.4	30.7	25.9
	Y	43.18	118.1			68.03	13.87	25.0

**EPICS<sup>®</sup> Profile Analyzer**  
**COULTER CYTOMETRY TEST DEFINITION**

Test Name	Creation Date	Date Last Modified	Time Last Modified
CRIS	27-May-93	27-May-93	3:30 p.m.

		PMT Voltages	Color Compensation
Sample Volume	= 200 uL	SS = 400v	FL1 - 0% of FL2
Sample Flow Rate	= 10 uL/min	FL1 = 1000v	FL1 - 0% of FL3
Sheath Pressure	= 7.50 psi	FL2 = 1200v	FL2 - 0% of FL1
Laser Power	= 15 mW	FL3 = 1000v	FL2 - 0% of FL3
			FL3 - 0% of FL1
			FL3 - 0% of FL2

Parameters	Window A		Window B		Gains	Discriminator
	Min	Max	Min	Max		
FS	0	1023	0	1023	7.5	100
LFL1	0	1023	0	1023		1023
LFL2	0	1023	0	1023		1023
LFL3	0	1023	0	1023		1023
SS					1.5	

Conditions			Counter Stop
Counter 1	Any Discrim. Satisfied		Disabled
Counter 2	Event Processed		Disabled
Time			300

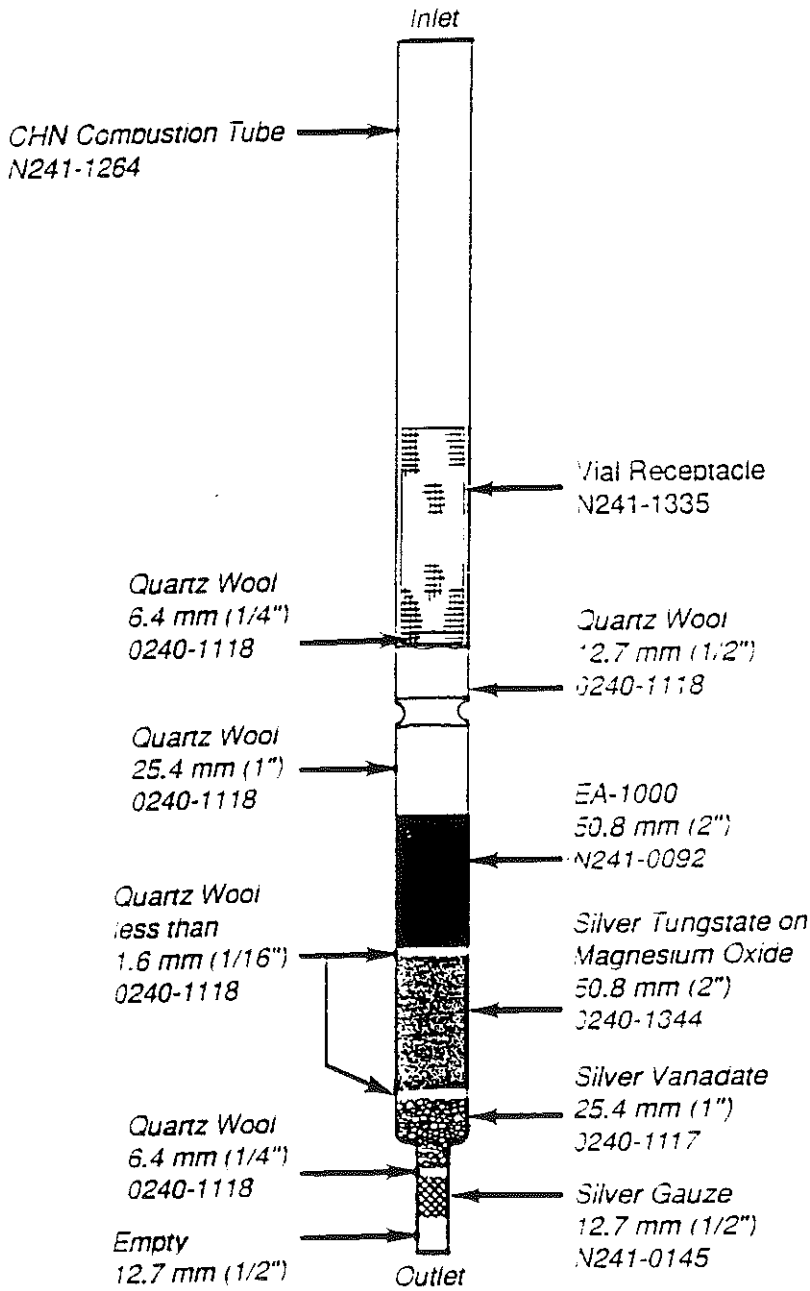
Bitmap	X Parameters	Y Parameters
1	Not Selected	Not Selected
2	Not Selected	Not Selected
3	Not Selected	Not Selected

Histograms	Parameters	Histogram Type	Storage Mode
1	FS,SS	64 x 64	Temporary Save
2	LFL1	256	Temporary Save
3	LFL3	256	Temporary Save
4	LFL1,LFL3	64 x 64	Temporary Save

Histograms	Gating Window A	Gating Window B	Gating Bitmaps	Scaling
1				Auto Scale
2				Auto Scale
3				Auto Scale
4				Auto Scale

Epics is a registered trademark of Coulter Corporation

ANNEXE VI



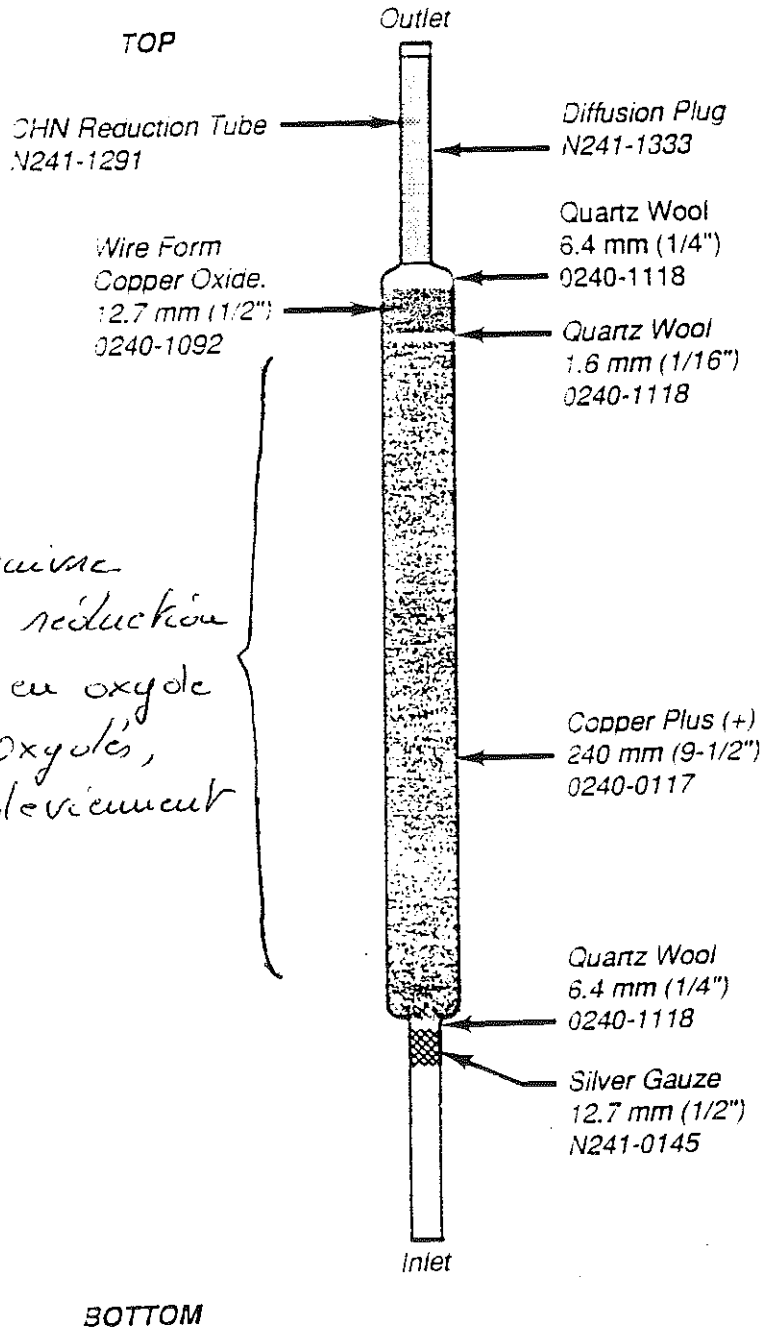
Naçette en nickel où tombe l'échantillon et où se produit la combustion flask.

Réducteurs (ce sont des métaux) qui capturent les halogènes et les sulfures dégagés précipitamment.

BOTTOM

CHN Combustion Tube

ANNEXE VII

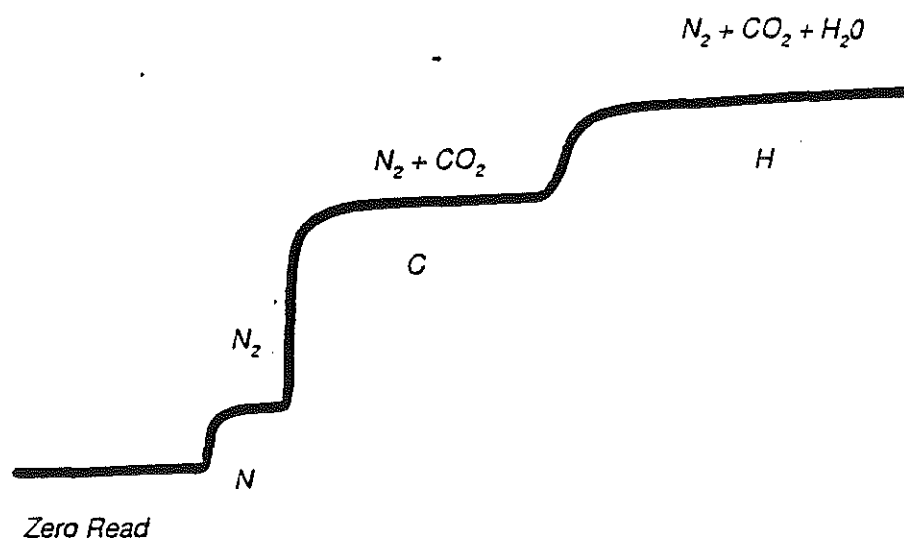


Copaux de cuivre permettant la réduction de l'oxygène en oxyde de cuivre. Oxydés, les copaux deviennent noirs.

CHN Reduction Tube

## ANNEXE VIII

### Séparation des gaz pour leur détermination



Le signal de l'azote est égal à la différence entre l'azote lu et le zero lu; le signal du carbone est égal au carbone lu moins l'azote lu; le signal hydrogène est égal à l'hydrogène lu moins le carbone lu.

## ANNEXE IX

DATE 04 06 93 TIME 10 42 48 OPERATOR ID ZE

RUN 27 ID 07053553

## SIGNALS

CARBON 460.39 ug/m  
HYDROGEN -.23 ug/m  
NITROGEN 50.65 ug/mZR 7785  
NR 8039  
CR 14314  
HR 14303CARBON 4604 PPB  
HYDROGEN -2 PPB  
NITROGEN 507 PPB

FILL TIME 33 SECONDS

DATE 04 06 93 TIME 10 47 28 OPERATOR ID ZE

RUN 28 ID 07053599

## SIGNALS

CARBON 546.17 ug/m  
HYDROGEN -.13 ug/m  
NITROGEN 51.68 ug/mZR 7792  
NR 8051  
CR 15502  
HR 15495CARBON 5462 PPB  
HYDROGEN -1 PPB  
NITROGEN 517 PPB

FILL TIME 33 SECONDS

DATE 04 06 93 TIME 10 52 08 OPERATOR ID ZE

RUN 29 BLANK RUN

## SIGNALS

CARBON -5  
HYDROGEN -1  
NITROGEN 13ZR 7777  
NR 7790  
CR 7785  
HR 7784

## AVERAGE RESULTS

CARBON -21  
HYDROGEN -2  
NITROGEN 11

FILL TIME 33 SECONDS

DATE 04 06 93 TIME 10 56 49 OPERATOR ID ZE

RUN 30 BLANK RUN

## SIGNALS

CARBON -25  
HYDROGEN -6  
NITROGEN 11ZR 7768  
NR 7779  
CR 7754  
HR 7748

## AVERAGE RESULTS

CARBON -25  
HYDROGEN -6  
NITROGEN 11

FILL TIME 33 SECONDS

DATE 04 06 93 TIME 11 01 29 OPERATOR ID ZE

## ANNEXE X

Parallèlement à l'expérimentation, nous avons voulu comparer les différences de performance entre les filtres GF/F et GF/C. Pour cela, le protocole suivi est exactement celui des sestons expliqué en page .

Pour la matière organique, le rapport de l'efficacité des GF/F sur les GF/C est en moyenne de  $1,4 \pm 0,2$ . Pour la matière minérale, le même rapport est en moyenne de  $1,0 \pm 0,16$ .

Ceci permet d'affirmer que les filtres GF/F retiennent mieux la matière organique que les filtres GF/C. Par contre, pour le minéral, les deux filtres sont aussi efficaces l'un que l'autre.

De manière plus précise, les filtres GF/F retiennent en moyenne  $28,2 \% \pm 9,4$  de matière organique de plus que les filtres GF/C.

Ainsi, pour les sestons et surtout pour les dosages de carbone, hydrogène et azote organiques, il serait préférable de travailler avec des filtres GF/F.