

## PROTOCOLES D'EXTRACTION CHIMIQUE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE PARTICULAIRE: APPLICATION AU DOMAINE ESTUARIEN

H. Etcheber<sup>1</sup>, M. Héral<sup>2</sup> & J.C. Relexans<sup>3</sup>

<sup>1</sup> I.G.B.A., Université de Bordeaux I, 33405 Talence

<sup>2</sup> I.S.T.P.M., Laboratoire "cultures marines", 17390 La Tremblade

<sup>3</sup> Laboratoire de Biologie marine, Université de Bordeaux I, 33405 Talence

---

**Mots-clés :** matière organique particulaire, méthode d'extraction chimique,  
matière organique labile, estuaires

**Key words :** particulate organic matter, chemical extractive methods, labile  
organic matter, estuaries

---

### Résumé

En milieu estuarien, la matière organique particulaire (assimilée à celle comprise entre 300 et 0,45  $\mu\text{m}$ ) fait l'objet de nombreuses approches biogéochimiques. Parmi les principales techniques utilisées, brièvement présentées ici, les processus extractifs (attaque chimique de l'échantillon et étude du matériel extrait) y occupent une place importante.

Le plus souvent rapides et faciles à mettre en oeuvre, ils présentent pourtant plusieurs inconvénients : la multiplicité des protocoles utilisés rend délicate toute comparaison des résultats enregistrés d'un auteur à un autre ; de plus, la signification environnementale des fractions extraites est loin d'être toujours claire.

Ces méthodes qui font, pour la plupart, appel à des extractants forts, ne permettent pas une bonne estimation de la fraction labile de la M.O. Une réflexion sur ce problème conduit à la proposition de protocoles d'extractions contrôlées (attaques chimiques successives de force croissante), qui pourraient donner de meilleurs résultats. Ces derniers seraient à corrélérer avec ceux obtenus par des mesures de biodégradabilité (approche microbiologique) des échantillons étudiés.

**Summary**      **Protocols for chemical extractions of particulate organic matter:  
Application to the estuarine field**

There are several biogeochemical methods of studying particulate organic matter (0,45-300  $\mu\text{m}$ ). The main techniques employed are described ; special attention has been paid to extractive processes (chemical attack of samples and study of extracted fraction).

Although these techniques are simple, various difficulties can arise : results obtained by various authors cannot be compared when techniques used differ. Furthermore the environmental interpretation of extracted functions is not always very clear.

Extractive methods, which most often use harsh chemical extractants, do not provide accurate measurements of the importance of labile organic fraction. We propose therefore a series of chemical attacks of increasing strength and a correlation of results with those obtained by measurements of the organic matter degradability in samples (e.g. bacterial heterotrophic activities or incubation).

---

(FONTUGNE, 1983 ; SACKETT, 1964), mesure que l'on peut coupler, dans le même but, avec celles du  $\delta^{15}\text{N}$  (MARIOTTI et al., 1983). Moins précis sont les résultats obtenus par les rapports C/N de la M.O. totale : si ce rapport est connu pour refléter l'origine de la M.O., il traduit également l'état d'avancement de la dégradation de la M.O. (BONNEAU, SOUCHIER, 1979 ; CARRUESCO, 1977 ; MULLER, 1977) ; les deux interprétations sont difficiles à départager.

L'utilisation récente des techniques de pyrolyse au milieu estuarien et marin (SALIOT et al., 1984) est riche de promesses et aidera à mieux cerner la nature chimique de la fraction organique des M.E.S. dans les milieux aqueux.

## 2) Techniques extractives

Nous abordons ici des méthodes qui vont permettre d'isoler une fraction organique de suspensions ou sédiments à la suite d'une attaque chimique définie par un protocole précis. Sur la fraction extraite, toutes sortes d'analyses chimiques, faisant appel à des techniques très sophistiquées, pourront être utilisées (chromatographie en phase gazeuse, chromatographie en couche mince, spectrométrie de masse, électrophorèse, études des compositions isotopiques, dosages chimiques de groupements fonctionnels, étude des propriétés optiques, etc...). Pour simplifier, les processus extractifs ont été classés en deux groupes :

- ceux qui isolent la fraction organique dite "identifiable ou analysable" (ANDRIE, 1982 ; JULLIEN, 1982) ;
- ceux qui extraient la M.O. dite "complexe ou non caractérisée" (FEVRIER, 1981).

### a) Analyse de la M.O. identifiable

Ce sont des techniques d'extraction qui permettent de séparer les composants majeurs de la M.O., tels que protéines (P), glucides (G), lipides (L), pigments (chlorophylle active, phéopigments, etc...) et des composants végétaux importants tels que la lignine.

Ces méthodes sont très variées, et il serait fastidieux de s'étendre sur tous les protocoles utilisés, dont MOAL et al. (dans ce fascicule) donnent des exemples.

L'utilisation en est faite au moins pour les objectifs suivants :

- quantification de familles biochimiques connues (P, G, L, etc...);
- estimation de biomasses par la somme (P+G+L) ou par la conversion des teneurs en chl. act. en quantités de carbone (DESSERY et al., 1984 ; MINAS, 1976 ; RELEXANS, ETCHEBER, 1982 ; RIAUX, 1977) ;
- mesures de capacités nutritives de la M.O.P. par la somme (P+G+L) (HERAL et al., 1983 ; LAANE, 1982);
- indication de l'état physiologique des populations et évaluation de l'importance de matériel détritique par l'étude des rapports P/G, P/chl.act., G/chl.act., etc... (MARTIN et al., 1977 ; NIVAL et al., 1973 ; RELEXANS, ETCHEBER, 1982);
- identification d'origines de la M.O. au moyen de traceurs lipidiques (SALIOT, 1981) ou de produits de décomposition de la lignine (POCKLINGTON, MAC GREGOR, 1973);
- témoignage de présences microbiologiques (SALIOT et al., 1984).

### b) Analyse de la M.O. complexe

Le matériel organique extrait par des méthodes qui utilisent toutes des extractants très forts (NaOH, HCl, HF, etc...) ne correspond plus à des entités chimiques connues, mais à des fractions organiques qui répondent à des critères de solubilité dans tel ou tel solvant. C'est ainsi que sont différenciés : le matériel humique (soluble en milieu sodique), l'humine (phase résiduelle après attaque sodique), et le résidu organique stable (extrait de l'humine après attaque à l'acide fort). Cette séquence et la nomenclature associée sont les plus couramment utilisées (DEBYSER, GADEL, 1978 ; GADEL et al., 1983), bien que quelques confusions existent parfois dans les choix de certains termes entre les auteurs (DURAND, NICAISE, 1980 ; JONATHAN et al., 1976 ; MONEGIER du SORBIER, 1983), comme le montre la figure 1.

Le principal objectif de ces études est de donner une évaluation du degré de maturation des M.O. étudiées, si l'on admet que, de la matière fraîche à la matière humique et à l'humine, les fractions organiques extraites sont de plus en plus réfractaires à toute dégradation et donc de moins en moins accessibles à la biota.

Des approches récentes consistent à introduire des composés organiques marqués au  $^{14}\text{C}$  dans du matériel particulaire et à regarder le gradient de distribution du  $^{14}\text{C}$  dans les fractions extraites. De telles études ont pour but de mieux cerner les phénomènes métaboliques, mais aussi les mécanismes de transformation de la M.O. en composés humiques et de son incorporation dans l'humine (GADEL et al., 1981 et 1983).

### 3) Mesures de la biodégradabilité de la M.O.

Ces techniques cherchent, dans leur ensemble, à rendre compte de l'activité organotrophe des micro-organismes en milieu aqueux. Diverses méthodes sont alors utilisées :

- mesure de l'utilisation des substrats directs (petites molécules organiques susceptibles de pénétrer dans les cellules des organismes, comme acides aminés, acides organiques, mono- et oligosaccharides, etc...) par introduction de molécules marquées (BILLEN et al., 1980)
- mesure des activités exoenzymatiques par introduction et évaluation de l'utilisation des substrats artificiels (SOMVILLE, BILLEN, 1983)
- mesure de production bactérienne par analyse de l'incorporation de thymidine tritiée dans l'ADN bactérien (FUHRMAN, AZAM, 1982).

Ceci a conduit l'équipe BILLEN (publications en cours) à proposer un modèle, dit modèle HBS, qui étudie l'équation d'évolution des biopolymères (H) en milieux aquatiques : ces molécules sont hydrolysées par les exoenzymes bactériens (E) et les substrats directs formés (S) sont prélevés par les bactéries pour former des cellules nouvelles (B) ou être oxydés aux dépens d'oxydants extérieurs (dégagement de  $\text{CO}_2$ ).

Ces mesures donnent des résultats incontestablement supérieurs à ceux obtenus par des mesures de demande biologique en oxygène ou de demande chimique en oxygène (DBO, DCO) : ces deux approches conduisent à l'évaluation globale des matières oxydables. Mais la DCO est difficilement applicable aux milieux estuariens en raison de l'interférence des chlorures (MARTIN et al., 1976). La DBO présente aussi un défaut d'application, car elle est variable avec la température et la salinité ; de plus, limitée à quelques jours (habituellement 5 jours), elle ne rend pas bien compte de l'échelle de temps supérieure de la dégradation dans les milieux naturels où les temps de résidence des eaux peuvent durer plusieurs semaines. Aussi, les

|    | DURAND (1980)                               |                       | DEBYSER et<br>GADEL (197C)            | JONATHAN<br>et al.(1978)      |
|----|---|-----------------------|---------------------------------------|-------------------------------|
| M. | M. O.<br>organo -<br>soluble<br>( lipides ) |                       | Solvant<br>organique<br>(chloroforme) | Idem                          |
| O. | M. O.<br>acido-<br>soluble                  |                       | Hydrolyse<br>HCl<br>faible            | Idem                          |
| T  |   | K<br>E<br>R           |                                       |                               |
| O  | Mat.<br>humique                             | O<br>G<br>E<br>N<br>E | Solution<br>basique<br>aqueuse        | Kérogène                      |
| T  |   |                       |                                       | =                             |
| A  |   |                       | Carbone<br>hydrolysable               | Résidu<br>organique<br>stable |
| L  | Humine                                      |                       |                                       |                               |
| E  | Résidu<br>organique<br>stable               |                       | Hydrolyse<br>acide fort<br>(HF + HCl) |                               |

Fig. 1 - Protocoles analytiques d'extraction de M.O. de sédiments.  
- *Extraction procedures of humic matter from sediments.*

protocoles d'incubation sur 30 jours au plus, proposés par LAANE (1982) , SKOPINTSEV, (1981) et VAN ES & LAANE (1982), semblent-ils plus appropriés. Certains proposent l'adjonction d'inhibiteurs bactériens spécifiques de la nitrification par exemple (équipe ROMANA, en cours de publication).

Pour mémoire, nous rappelons que les mesures d'activité biologique ne se limitent pas à l'analyse du pouvoir de dégradation des microorganismes. Dans les milieux estuariens, des mesures de production endogène de M.O. par la production primaire (COLIJN, 1983 ; LANCELOT, 1982) de même que les mesures d'activité des systèmes transporteurs d'électrons (RELEXANS et al., 1984 et ce fascicule) en sont deux exemples.

## II - FIABILITE ET LIMITES DES PROCESSUS EXTRACTIFS

Utilisés pour isoler des fractions organiques répondant à des critères précis de solubilité, les protocoles d'extraction présentent parfois des limites dans les domaines de la fiabilité et de la spécificité.

### 1) Fiabilité des processus

#### a) Rendement d'extraction

Les manières d'extraire des P, G, L ou autres composants organiques de matériel particulaire en milieux aqueux varient beaucoup d'un auteur à un autre (voir dans ce fascicule l'article de MOAL et al.).

La comparaison des résultats obtenus après utilisation de techniques différentes, sur des échantillons identiques, révèle de très importantes fluctuations dans les quantités de matériel extrait. Deux exemples en sont donnés.

- Pour la fraction lipidique, FEVRIER (1981) relève que les choix de l'appareillage (soxhlet classique ou à agitation), du temps d'extraction, de la température, de la nature du solvant (benzène-méthanol 60 : 40 ; chlorure de méthylène - méthanol 80 : 20 ; chloroforme, etc...), du rapport quantité de solvant-échantillon vont influencer sur la qualité et l'efficacité de l'extraction.
- Sur des échantillons de M.E.S. de l'estuaire de la Gironde, DUMON (1972) obtient un taux d'humification de 10 % en moyenne, en utilisant du pyrophosphate de Na (0,1M à pH=10) avec agitation durant 24 h et dans les proportions 10 g de sédiment pour 100 cc de solution extractante. Un taux d'humification de 30 % en moyenne est trouvé par BERGER et al. (1984) sur le même type d'échantillon avec le même extractant, mais avec une agitation plus courte (20') et plus intense et cinq extractions successives (1 g de sédiment avec 50 cc de solution extractante au total).

Il faut donc se livrer à une optimisation des méthodes sur les échantillons à étudier avant de poursuivre toute analyse des fractions isolées.

#### b) Spécificité et efficacité des protocoles

Au-delà des difficultés à obtenir une extraction quasi totale de la fraction recherchée, si l'on veut quantifier en équivalent carbone cette dernière, il faut être certain que d'autres composants ne vont pas être comptabilisés simultanément. Or de fréquentes interférences, illustrées par quelques exemples, se produisent lors de ces manipulations :

- Des M.E.S. de l'estuaire fluviatile de la Gironde montrent, en phase hivernale, un taux d'humification de 32 % pour une population autochtone qui représente moins de 10 % de la M.O. totale ; en été, un autre stock de particules, très riche en plancton vivant actif (90 % de la M.O.), a un taux d'humification de 28 %. Or la contribution des populations planctoniques en pleine croissance à une formation de matière humique *in situ* ne peut être envisagée à cette époque. La seule explication possible reste alors la néoformation artificielle de composés humiques aux dépens de la M.O. fraîche s'oxydant en présence de soude ; ce phénomène a déjà été observé par HUC (1973) et DOMMERGUES, MANGENOT (1970) dans d'autres environnements.
- Les interférences de noyaux phénoliques d'origines diverses dans le dosage de protéines par la méthode de LOWRY de M.E.S. sont évoquées dans ce fascicule, par RELEXANS, ETCHEBER.

## 2) Signification des phases extraites

Selon le type d'échantillon étudié (à fraction organique autochtone ou à M.O. détritique prépondérante) et le choix du protocole utilisé, on ne peut pas donner la même signification à une phase extraite donnée.

#### a) Cas de M.O. "organisée"

Nous entendons par là de la M.O. non dégradée, qu'elle soit synthétisée dans le fleuve ou qu'elle vienne des bassins versants.

Prenons l'exemple des glucides : ce sont d'une part des sucres simples et oligosides solubles, type glucose, fructose, saccharose, etc..., d'autre part, des polysides, les uns substances de réserve (amidon, glycogène), les autres constituants des parois cellulaires (celluloses,

composés pectiques, polyosides neutres groupés sous le nom d'hémicellulose).

L'utilisation de processus extractifs classiques (DUBOIS et al., 1956 ) ne permet vraisemblablement d'isoler que les sucres simples, les oligo-et polysaccharides de même que leurs dérivés (méthyléther inclus).

DOMMERMUES & MANGENOT (1970) proposent une extraction à l'eau ou éthanol 70-80 % pour atteindre les sucres simples et oligosides solubles, alors qu'ils préconisent l'utilisation de solutions alcalines (NaOH : 17,5 %) pour toucher les glucides secondaires (hemicelluloses + composés pectiques).

Ainsi, à un protocole donné correspond l'extraction d'un ensemble de constituants d'une grande classe organique, mais rarement la totalité de cette classe (cas des glucides, mais aussi des protéines).

Pour ce qui concerne les lipides (hydrocarbures, mais aussi glycérides et les substances voisines caractéristiques des tissus de protection des végétaux supérieurs - cires, cutines, subérines), le fait qu'ils soient tous hydrophobes rapproche leur comportement dans les solvants organiques.

b) Cas de M.O. détritique :

Si la M.O. subit une dégradation qui, comme le montre très schématiquement la figure 2, la conduit de l'état de biopolymère à celui de biomonomère, géopolymère et géomonomère, tout ce matériel en voie de transformation se retrouve dans les échantillons étudiés (ce qui est presque toujours le cas) et complique encore le problème.

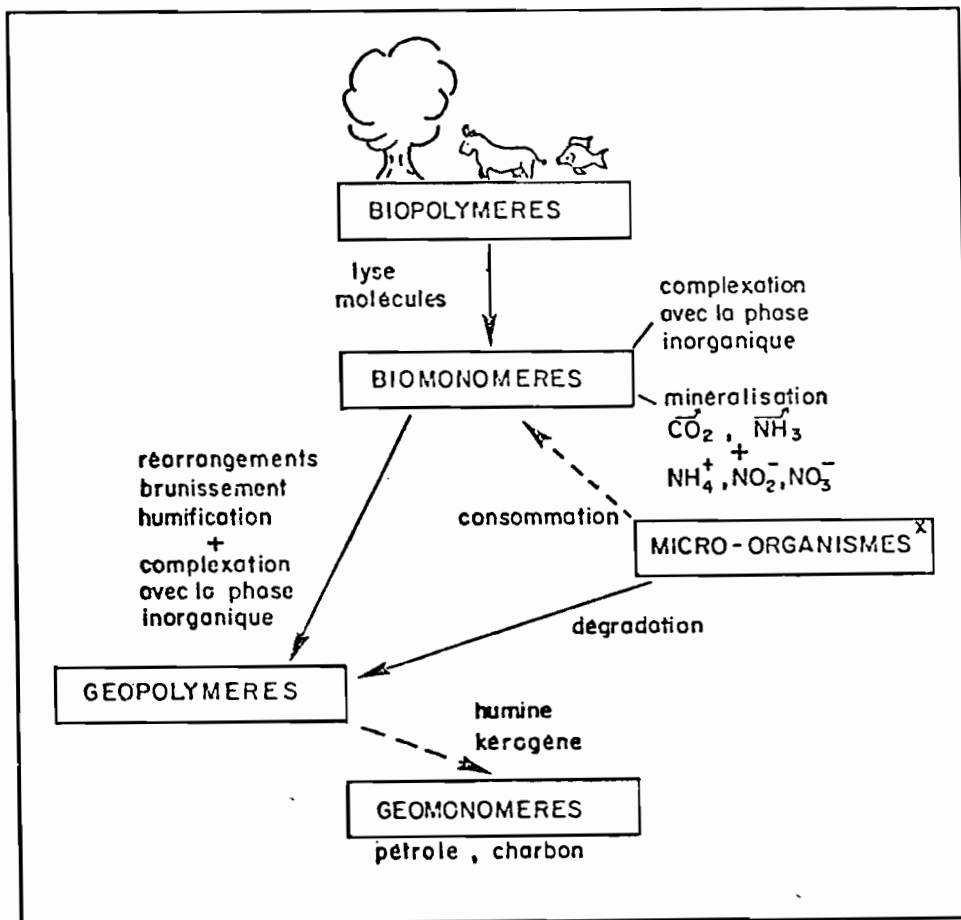


Fig. 2 - Cycle de dégradation de la M.O.  
-Degradation cycle of the O.M.

En effet, les diverses molécules, libérées lors des lyses diverses, notamment exoenzymatiques, pourront avec leur structure de départ :

- se minéraliser ou bien être consommées ;
- se lier avec divers complexants (matrice argileuse, hydroxydes de Fe et Mn, ...)
- former des liaisons simples avec des molécules organiques complexes (type matière humique).

En perdant leur structure de départ, elles pourront aussi s'engager dans des réactions chimiques avec des molécules d'autres "familles" organiques (formation de mélanoides, produits de glucides + amino-acides, par exemple) et donner des macromolécules plus ou moins polycondensées stables de teinte brune. Elles peuvent alors arriver à former la fraction humine, insoluble et très résistante, qui est encore plus condensée que les acides humiques et liée de façon très profonde à la fraction minérale du sol.

L'image qu'il faut garder à l'esprit est que la réactivité d'un constituant organique (un glucide, par exemple) à un protocole d'extraction ne sera pas la même selon qu'il est libre, complexé avec des matrices inorganiques ou organiques complexes.

Dans les milieux estuariens où existent de forts mélanges entre M.O. détritique et organisée, le problème prend une acuité toute particulière.

Pour des suspensions automnales de la Gironde, des taux de fraction humine, définis de la façon suivante :

$$\text{Humine} = \text{M.O. Totale} - (\text{M.O. acido soluble} + \text{M.O. humique})$$

ont été mesurés comme représentant 60-70 % de la M.O. totale, alors que la somme (P+G+L) était évaluée à 60 % (ETCHEBER, 1983). Ceci peut probablement s'expliquer par l'imbrication des P, G et L avec les matrices complexantes, responsables de leur non-réactivité à l'attaque sodique perpétrée lors de l'extraction de la phase humique proprement dite. Ces constituants, bien individualisés, sont alors comptabilisés à tort dans la fraction humine, alors que logiquement ils devraient se trouver dans la fraction acido-soluble, assimilée à une fraction très mobilisable.

Aussi, certains auteurs ont-ils proposé des extractions séquentielles, de force croissante, permettant des estimations de la résistance des liaisons chimiques de fractions organiques : les techniques d'extraction successives proposées par KHRIPOUNOFF (1979) en sont un exemple (fig. 3) et forment certainement une base de travail très intéressante qu'il faudrait améliorer, l'auteur (communication orale) précisant qu'il n'avait trouvé aucune référence bibliographique pour justifier les différentes classifications présentées (protéines labiles - réfractaires, etc...). FEVRIER (1981) propose de même un découpage des lipides extraits d'échantillons de sédiments en lipides libres, associés et liés. Sur des échantillons de grands fonds marins, ce même auteur trouve que les protéines labiles représentent 18 à 40 % des protéines totales et les carbohydrates labiles 12 à 16 % des sucres totaux. FEVRIER (1981) propose de même un découpage des lipides extraits d'échantillons de sédiments en lipides libres, associés et liés.

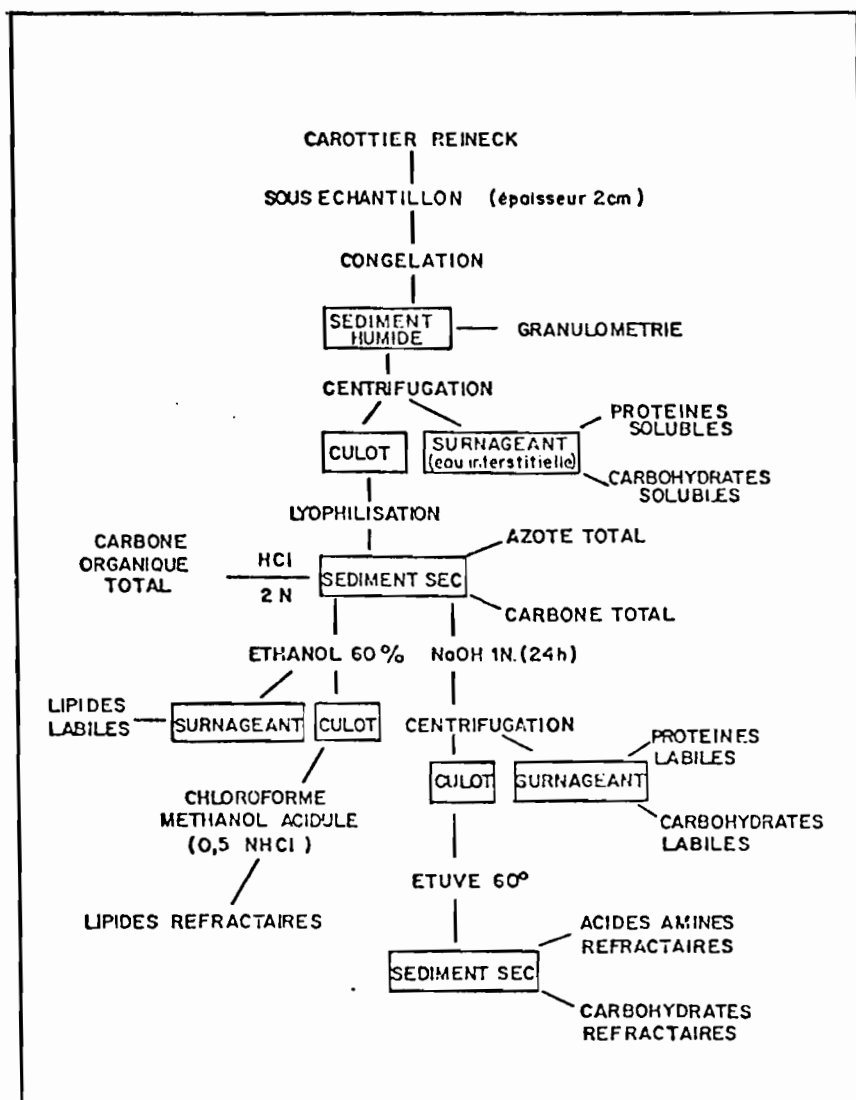


Fig. 3 - Séquences d'extractions et d'analyses de la M.O. des sédiments (d'après Khripounoff, 1979).

- Extraction and analytical procedures of P.O.M. from sediments.

### III - REFLEXIONS SUR LA QUANTIFICATION DE LA M.O.P. LABILE :

Nous identifions à ce terme la fraction organique peu réfractaire aux mécanismes de lyse et facilement assimilable par les organismes.

Considérons que la M.O.P. estuarienne se répartit en M.O. autochtone (synthétisée dans le milieu aqueux) et allochtone (issue des bassins versants).

La M.O. autochtone comprend :

- (1) de la M.O. vivante ou morte, organisée (plancton bactéries),
- (2) du matériel humique "frais", en formation, plus ou moins adsorbé,
- (3) d'autres substances complexes insolubles provenant de la dégradation, de la sécrétion et de l'excrétion du matériel vivant.

La M.O. allochtone peut être composée :



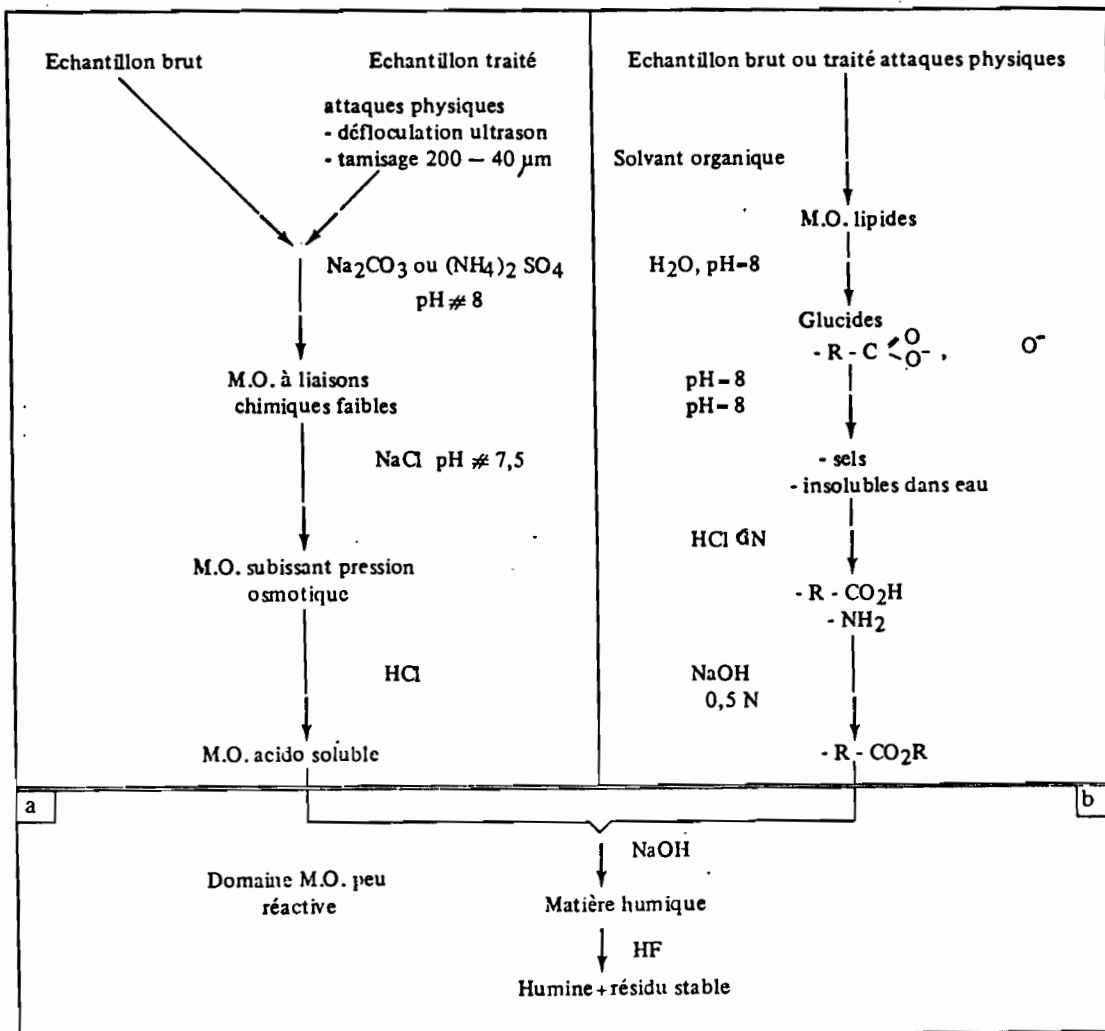


Fig. 5 - Proposition de protocoles d'extractions séquentielles contrôlées de M.O.P.  
 Proposal of sequential extraction schemes of P.O.M.

il est très difficile de trouver une signification biologique à la M.O. extraite après application de protocoles chimiques.

Des études en cours visent à optimiser la séquence d'extractions successives proposées ici (choix des types d'extractants, des rapports quantité de sédiments-extractants, des temps de mise en contact, etc.). Les résultats obtenus par le type d'approche (2) varient si les conditions expérimentales changent : les pourcentages différents de C.O. extraits à HCl de normalités diverses en sont un exemple.

La recherche de corrélations positives entre les expériences (1) et (2) doit aider à parfaire la quantification par approche chimique de la fraction labile de la M.O. estuarienne.

Les propriétés chimiques de chacune des phases extraites pourraient bien sûr être étudiées afin de connaître la qualité de la M.O. labile.

Un autre genre de séquence visant à mieux départager les groupements fonctionnels de la M.O. labile peut aussi être proposé (fig. 5b).

- Castel J., 1981.- Aspects de l'étude écologique du plancton de l'estuaire de la Gironde.- *Océanis*, 6 : 535-577.
- Cauwet G., 1975.- Optimisation d'une technique de dosage du carbone organique des sédiments.- *Chemical Geology*, 16 : 59-63.
- Cauwet G., 1978.- Organic chemistry of sea water particulates concepts and developments.- *Oceanologica Acta*, 1 : 99-105.
- Colijn F., 1983.- Primary production in the Ems-Dollart Estuary.- Thesis, University Groningen, 123 p.
- Dankers N., Laane R., 1983.- A comparison of wet oxidation and loss on ignition of organic material in suspended matter.- *Environmental Technology Letters*, 4 : 283-290.
- Debysier Y., Gadel F., 1978.- Etude des composés humiques des kérogènes et de la fraction hydrolysable dans les sédiments. In : *Géochimie organique des sédiments marins profonds - Orgon II, Atl. N-E, Brésil*, Ed. CNRS : 339-354.
- Dessery S., Dulac C., Laurenceau J.M., Meybeck M., 1984.- Evolution du carbone organique particulaire "algal" et "détritique" dans trois rivières du Bassin Parisien.- *Archives hydrobiologiques*, 2 : 235-260.
- Dommergues Y., Mangenot F., 1970.- *Ecologie microbienne du sol*.- Paris Masson : 796 p.
- Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F., 1956.- Colorimetric method for determination of sugars and related substances.- *Analytical Chemistry*. 28 : 350-356.
- Duce A.A., Duursma E.K., 1977.- Input for organic matter in the ocean.- *Marine Chemistry*, 5 : 319-341.
- Dumon J.C., 1972.- Résultats du fractionnement de la matière organique humifiée extraite des sédiments fluviatiles laguno-marins et marins.- *Bulletin de l'Institut de Géologie du Bassin d'Aquitaine*, 12 : 15-23.
- Durand B., Nicaise G., 1980.- Procedures for kerogen isolation. In : *Kerogen* (G. Durand Ed.).- *Technip.*, Paris, 35-53.
- Eckert J.M., Sholkovitz E.R., 1976.- The flocculation of iron, aluminium and humates from river water by electrolytes.- *Geochimica Cosmochimica Acta*, 40 : 847-848.
- Eisma D., Cadee G., Laane R., 1982 a .- Supply of suspended matter and particulate and dissolved organic carbon from the Rhine to the coastal North Sea. In : *Transport of carbon and minerals in major world rivers* (Ed. Degens).- Hamburg, 475-481.
- Eisma D., Cadee G., Laane R., Kalf J., 1982 b.- Preliminary results of Aurelia and Navicula cruises in the Rhine and Ems Estuaries, January-February, 1982.- In : *Transport of carbon and minerals in major world rivers* (Ed. Degens).- Hamburg, 633-654.

- Etcheber H., 1983.- Biogéochimie de la matière organique en milieu estuarien : comportement, bilan propriétés. Cas de la Gironde.- Thèse Doctorat d'Etat, Université de Bordeaux I, 778 : 263 p.
- Etcheber H., Relexans J.C., 1983.- Nature et répartition de la matière organique particulaire sur le plateau continental au large de l'estuaire de la Gironde.- Annales Institut Océanographique, 59 : 5-19.
- Fevrier A., 1981.- Les matières organiques à structure complexe des eaux de mer et des sédiments. Interaction avec les traceurs géochimiques.- Thèse Doctorat d'Etat., Université Paris Sud, 200 p.
- Fontugne M., 1983.- Les isotopes stables du carbone organique dans l'océan. Applications à la paléoclimatologie.- Thèse Doctorat d'Etat, Université Paris Sud, 2799 : 227 p.
- Fuhrman J., Azam F., 1982.- Thymidine incorporation as a measure of heterotrophic bacterioplankton production in marine surface waters : evaluation and field results.- Marine Biology, 66 : 109-120.
- Gadel F., Daumas R., Cahet G., Bianchi A., 1981.- Evolution de composés organiques à l'interface eau-sédiment : étude simulée en milieu lagunaire méditerranéen.- Thalassa Jugoslavica, 27 : 125-129.
- Gadel F., Martin R., Cahet G., 1983.- Réactivité de dépôts marins profonds au contact de composés organiques marqués : processus biogéochimiques.- In : Géochimie organique des sédiments marins. D'Orgon à Misedor.- Ed. CNRS : 73-98.
- Head P.C., 1976.- Organic processes in estuaries. In : Estuarine chemistry.- Ed. Academic Press Inc. : 53-90.
- Hedges J.L., 1977.- The association of organic molecules with clay minerals in aqueous solution.- Geochimica Cosmochimica Acta, 41 : 1119-1123.
- Heral M., Deslous-Paoli J.M., Sornin J.M., 1983.- Transferts énergétiques entre l'huître *Crassostrea gigas* et la nourriture potentielle disponible dans un bassin ostréicole : premières approches.- Oceanis, 9 : 169-194.
- Huc A., 1973.- Contribution à l'étude de l'humus marin et de ses relations avec les kérogènes.- Thèse 3ème Cycle, Université Nancy, I : 50 p.
- Hunter K.A., Liss P.A., 1982.- Organic matter and the surface charge of suspended particles in estuarine waters.- Limnology Oceanography, 27 : 322-335.
- Jocteur Monrozier L., 1980.- Azote organique : Nature et évolution dans les sédiments récents. Relations avec l'origine du matériel organique. In : Biogéochimie de la matière organique à l'interface eau-sédiment marin.-Ed. CNRS : 167-171.
- Jonathan D., Le Tran K., Oudin J.L. et Van Der Weide B., 1976.- Les méthodes d'étude physico-chimiques de la matière organique.- Bulletin Centre Recherches Pau, 10 : 89-108.

- Jullien D., 1982.- L'interface air-mer : composants organiques, budget et processus d'évolution.- Thèse 3ème Cycle, Université Paris VI : 120 p.
- Khripounoff A., 1979.- Relations trophiques dans l'écosystème benthique abyssal atlantique : descriptions et bilan énergétique.- Thèse 3ème Cycle, Université Paris VI : 132 p.
- Laane R., 1982.- Chemical characteristics of the organic matter in the waterphase of the Ems-Dollart Estuary.- Thesis, University Groningen, 134 p.
- Laane R., Kramer C., 1982.- Complexation of  $Cu^{2+}$  with humic substances in relation to different extraction procedures of sandy and silty marine sediments. In : Complexation of trace metals in natural waters.- Kramer; Duinker : 345-348.
- Lancelot V., 1982.- Etude écophysiological du phytoplancton de la zone côtière belge.- Thèse Université Bruxelles : 221 p.
- Lion L., Altman R., Leckie J., 1982.- Trace metal adsorption characteristics of estuarine particulate matter : evaluation of contributions of Fe/Mn and organic surface coatings.- Environmental Science & Technology, 16 : 660-666.
- Mantoura R., Dickson A., Riley J., 1978.- The complexation of metals with humic materials in natural waters.- Estuarine Coastal Marine Science, 6 : 387-408.
- Mariotti A., Lancelot C., Billen G., 1984.- Origin of suspended organic matter in the Scheldt estuary traced by its nitrogen isotopic composition.- Geochimica Cosmochimica Acta, 48 : 549-556.
- Martin A.G., Riaux C., Grall J.R., 1977.- Distribution de la matière organique particulaire dans l'estuaire de la Penzé (Nord-Finistère).- Journal Recherche Océanographique, 2 : 13-19.
- Martin J.M., Meybeck M., Salvadori F., Thomas A., 1976.- Pollution chimique des estuaires. Etat actuel des connaissances.- Rapports Scientifiques et Techniques CNEXO, 22 : 51-120.
- Meybeck M., 1981.- River transport of organic carbon to the ocean. In : Flux of organic carbon to the oceans.-N.R.C. Workshop, Woods Hole, Sept. 1980. Office on Energy Research : 219-269.
- Meybeck M., 1982.- Carbon, nitrogen and phosphorus transport by world rivers.- American Journal of Science, 282 : 401-450.
- Minas M., 1976.- Evolution saisonnière de plusieurs paramètres indicateurs de la biomasse dans les eaux de l'étang de Berre et leurs relations.- Téthys, 7 : 115-130.

- Monegier du Sorbier B., 1983.- Apports des techniques spectroscopiques et de lachromatographie liquide par filtration sur gel à l'étude des acides humiques et fulviques sédimentaires.- Thèse 3ème Cycle, Université Paris VI : 101 p.
- Mulholland P., Kuenzler E., 1979.- Organic carbon export from upland and forested wetland watersheds.- *Limnology Oceanography*, 24 : 960-966.
- Muller P., 1977.- C/N ratios in Pacific deep-sea sediments : Effect of inorganic ammonium and organic nitrogen compounds sorbed by clays.- *Geochimica Cosmochimica Acta*, 41 : 765-776.
- Nival P., Malara G., Charra R., Boucher D., 1973.- La matière organique particulaire en Méditerranée Occidentale en Mars 1970 (chlorophylle, protéines, glucides). Mission "Mediproduct II" du Jean Charcot.- *Annales Institut Océanographique*, 48 : 141-156.
- Paerl H.W., 1974.- Bacterial uptake of dissolved organic matter in relation to detrital aggregation in marine and freshwater systems.- *Limnology Oceanography*, 19 : 966-972.
- Paerl H.W., 1975.- Microbial attachment to particles in marine and freshwater ecosystems.- *Microbial Ecology*, 2 : 73-83.
- Pocklington R., Mac Gregor C., 1973.- The determination of lignin in marine sediments and particulate form in sea water.- *International Journal Environmental Analytical Chemistry*, 3 : 81-93.
- Relexans J.C., Etcheber H., 1982.- Cycles saisonniers de la matière organique particulaire à la limite amont de l'estuaire de la Gironde.- *Comptes Rendus Académie Sciences*, t. 294, série II : 861-864.
- Relexans J.C., Gaucher B., Etcheber H., 1984.- Activité des systèmes transporteurs d'électrons (ETS) et paramètres biochimiques de quelques algues et bactéries planctoniques d'eaux douces cultivées *in vitro*.- *Comptes Rendus Académie Sciences*, t. 299, série II : 943-947.
- Riaux C., 1977.- Facteurs déterminant l'évolution de la biomasse phytoplanctonique et microphytobenthique dans l'estuaire de la Penzé (Nord-Finistère).- *Journal Recherche Océanographique*, II : 23-29.
- Sackett W.M., 1964.- The depositional history and isotopic organic carbon composition of marine sediments.- *Marine Geology*, 2 : 173-185.
- Saliot A., 1981.- Natural hydrocarbon in sea water.- In : *Marine organic chemistry* (Ed. Duursma-Dawson). New York : Elsevier Oceanography Series, 31 : 327-374.

- Saliot A., Andrie C., Jullien D., Lorre A., Marty J.C., Scribe P., 1984.-  
Dégradation bactérienne de la matière organique dans les eaux de  
mer : approche par les marqueurs biogéochimiques.- In :  
Bactériologie marine, Ed. CNRS : 51-56.
- Saliot A., Ulloa-Guevara A., Viets T., De Leeuw J.W., Schenck P., Boon J.,  
1984.- The application of pyrolysis-mass spectrometry and  
pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry to the chemical  
characterization of suspended matter in the ocean.- *Organic  
Geochemistry* 6 : 295-304.
- Sheldom R.W., Parsons T.R., 1967.- Practical manual on the use of the  
Coulter counter in marine research.- (Coulter electronics sales  
corporation Ed.), Canada : 66 p.
- Skopintsev B.A., 1981.- Decomposition of organic matter of plankton,  
humification and hydrolysis. In : *Marine organic chemistry* (Ed.  
Duursma, Dawson ).-New York : Elsevier Oceanography series,  
31 : 125-177.
- Somville M., Billen G., 1983.- A method for determining exoproteolytic  
activity in natural waters.- *Limnology oceanography*, 28 : 190-193.
- Strickland J., Parsons T., 1972.- Determination of particulate carbon. In :  
*A Practical handbook of seawater analysis*.-Fisheries Research Board  
Canada : 207-211.
- Tipping E., Heaton M., 1983.- The adsorption of aquatic humic substances by  
two oxides of manganese.- *Geochimica Cosmochimica Acta*, 47 : 1393-  
1397.
- Van Es F., Laane R., 1982.- The utility of organic matter in the Ems-Dollart  
Estuary.- *Netherlands Journal of Sea Research*, 16 : 300-314.