

50376
1980
58

N° d'ordre : 816

50376
1980
58

THÈSE

présentée à

L'UNIVERSITÉ DES SCIENCES ET TECHNIQUES DE LILLE

pour obtenir le titre de

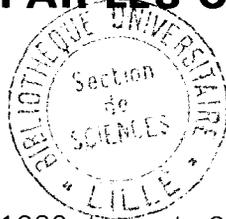
**DOCTEUR DE TROISIEME CYCLE
EN CHIMIE STRUCTURALE**

par

Jean-Pierre LECOCQ

En collaboration avec Pierre Colas

ANALYSE DE METAUX DANS LE MILIEU MARIN
- REMARQUES METHODOLOGIQUES
- CORRELATIONS ENTRE LES PARAMETRES
PHYSICO-CHIMIQUES DES SEDIMENTS
- ACCUMULATION PAR LES ORGANISMES VIVANTS



Soutenue le 29 avril 1980 devant la Commission d'Examen

Membres du Jury	MM.	M.	DURCHON	Président
		B.	VANDORPE	Rapporteur
		J.M.	LEROY	Examineur
		A.	RICHARD	Examineur
		J.M.	MARTIN	Examineur

Ce travail a été réalisé sous la direction de Monsieur le Professeur VANDORPE qui nous a accueillis au Laboratoire de Chimie Minérale et Méthodologie Analytique. Nous lui exprimons notre reconnaissance et notre gratitude pour le soutien et les conseils qu'il nous a prodigués pendant ces années de recherches.

Nous remercions Monsieur le Professeur DURCHON d'avoir accepté de présider notre jury.

Monsieur le Professeur LEROY ; Monsieur le Professeur RICHARD et Monsieur MARTIN (*), Maître de Recherches C.N.R.S., ont bien voulu examiner notre travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de notre gratitude.

Monsieur PICHOT, Chef de l'Unité de Gestion du Modèle Mathématique Mer (**), et Monsieur ISTAS, Directeur de l'Institut de Recherche Chimique (***) nous ont communiqué les détails analytiques et informations complémentaires relatives aux travaux effectués sur les côtes belges. Nous les en remercions.

Monsieur DAUPHIN nous a initiés au traitement informatique et nous a fait profiter de son expérience pour l'exploitation et l'utilisation des programmes. Qu'il soit assuré de notre reconnaissance.

Nous ne saurions oublier Madame DHELLEMES et Mademoiselle FAIVRE qui ont assuré la dactylographie de ce mémoire.

(*) E.N.S. Paris

(**) Ministère de la Santé Publique et de l'Environnement (BELGIQUE)

(***) Ministère de l'Agriculture (BELGIQUE)

Ce travail est issu d'une collaboration étroite avec Pierre COLAS. Nous avons formé au cours de trois années de recherches une équipe très soudée.

Nous avons effectué ensemble les essais et avons préféré rédiger un seul mémoire pour rendre compte des résultats et conserver au travail son caractère unitaire.

Les mises au point des techniques, les essais préalables et les vérifications nécessaires au contrôle des procédures analytiques retenues, qui sont, à la limite, communes aux travaux relatifs aux sédiments et aux organismes marins, constituent avec l'étude des anomalies pathologiques de la morue un tronc commun.

Une certaine spécificité a marqué l'exploitation des résultats, Pierre COLAS s'intéressant plus aux problèmes liés à l'accumulation métallique par les organismes vivants, tandis que j'orientais mes activités vers ceux relatifs aux sédiments.

Les conditions dans lesquelles ces recherches ont été réalisées et la participation de chacun à l'ensemble de l'étude ne justifient pas la rédaction de deux mémoires distincts, forme de présentation qui ne pouvait qu'être préjudiciable à chacun.

SOMMAIRE

	Page
<u>INTRODUCTION</u>	2

Ière PARTIE

METHODES ANALYTIQUES

I Spectrométrie d'absorption atomique.....	6
II Spectrométrie de Fluorescence X	20
III Microsonde électronique de CASTAING	23

IIème PARTIE

DETERMINATION DES CONCENTRATIONS METALLIQUES

DANS LES SEDIMENTS MARINS

CHAPITRE I : Niveaux métalliques dans un sédiment. Méthodes de mesures

I Description et choix du sédiment	27
1) Description.....	27
2) Choix du sédiment. Critères d'échantillonnage	27
II Echantillonnage. Méthodes d'attaques	29
1) Echantillonnage.....	29
a) Modes de prélèvements	29
b) Echantillonnage dans le prélèvement	30
2) Méthodes d'attaque chimique	31
a) Méthodes d'attaque généralement employées	31
b) Choix des méthodes d'attaque	32
c) Comparaison de l'efficacité des méthodes d'extraction acide	33
d) Description de la méthode d'attaque triacide	38
III Résultats des essais	38
1) Schéma directeur des essais	38
a) Définitions	39
b) Schéma directeur des essais	39
2) Détermination des niveaux par échantillonnage multiple	40
a) Description et résultats des essais	40
b) Discussion	42
3) Dosage des fractions granulométriques	44
a) Séparation des fractions granulométriques	44
b) Dosage des fractions granulométriques	46
c) Détermination des niveaux par échantillonnage synthétique..	47
d) Appréciation des niveaux par recombinaison théorique	47

voir (

voir →

e) Exploitation des résultats - Discussion	51
IV Conclusions	55
 <u>CHAPITRE II : Relations entre les paramètres physico-chimiques des sédiments par traitement informatique d'un fichier de données.</u>	
Introduction	57
I Orientation des essais	58
1) Choix des paramètres	58
2) Conditions de l'exploitation	59
3) Recherches des corrélations entre les paramètres	59
II Echantillonnage et méthodes d'analyses	59
1) Prélèvements de la zone étudiée	59
a) Echantillonnage	59
b) Analyses physiques	60
c) Analyses chimiques	60
2) Données du Programme National Belge	61
III Méthodes d'exploitation des données	62
IV Résultats	64
1) Approximation des teneurs en SiO_2 et en matières organiques..	64
a) Teneurs en SiO_2	64
b) Teneurs en matières organiques	65
2) Relations pertes au feu - éléments constitutifs	66
a) Relations pertes au feu - (Al_2O_3)	67
b) Relations pertes au feu - (CaO)	67
c) Relations pertes au feu - somme $\{(\text{Al}_2\text{O}_3) + (\text{CaO})\}$	68
d) Conclusion	69
3) Relation Σ Majeurs - Pertes au feu	69
a) $\Sigma \text{MAJ} = f(\text{PF } 550)$	69
b) $(\text{Fe}_2\text{O}_3) = f(\text{PF } 550)$; $(\text{TiO}_2) = f(\text{PF } 550)$	70
c) Conclusion	70
4) Relations Σ MINEURS - Pertes au feu	71
5) Relations Σ MAJEURS - Eléments constitutifs	72
a) $\Sigma \text{MAJ} = f\{(\text{Al}_2\text{O}_3)\}$	72
b) $(\text{Fe}_2\text{O}_3) = f\{(\text{Al}_2\text{O}_3)\}$	73
c) $(\text{TiO}_2) = f\{(\text{Al}_2\text{O}_3)\}$	74
d) Conclusion	75

b) Définition de l'état humide standard	97
c) Séchage des échantillons	97
d) Définition de l'état standard sec	98
4) Minéralisations par voie sèche	98
a) Calcination simple et reprise chlorhydrique	98
b) Calcination avec aides de minéralisation suivie de reprise chlorhydrique	101
5) Minéralisations par voie humide	101
a) La méthode de DENIGES	101
b) La méthode TRIACIDE	104
6) Cas particulier des micro-échantillons (nodules)	104
IV Validité des méthodes	
A) Etudes effectuées à partir de filets de morue	105
1) Voie humide	105
a) Dispersion des résultats	105
b) Comparaison des méthodes	106
c) Conclusions	109
2) Voie sèche	110
a) Influence des différents paramètres	110
b) Conclusions	113
3) Comparaison voie humide - voie sèche	113
4) Conclusion	114
B) Influence de la nature de l'échantillon sur la méthode retenue	115
1) Echantillons mous	115
2) Echantillons durs	115
3) Echantillons riches en graisse	115
4) Echantillons pauvres en graisse	116
5) Echantillons volumineux	116
6) Echantillons peu volumineux	116
Conclusion : exemples de choix de méthodes dans différents cas ..	116
<u>CHAPITRE II</u> : Etude de la morue et de sa chaîne alimentaire	
Introduction	117
<u>Niveaux métalliques</u>	
I Echantillonnage - homogénéité des échantillons	121
A) Echantillonnage	
1) Echantillons composés d'animaux de petite taille	121

6) Relations Σ MINEURS - Eléments constitutifs.....	76
a) (Zn) = f (Al ₂ O ₃) 	77
b) (Cu) = f (Al ₂ O ₃) 	78
c) (Pb) = f (Al ₂ O ₃) 	79
d) (Mn) = f (Al ₂ O ₃) 	79
e) Conclusion	80
7) Relations granulométrie - pertes au feu - éléments constitutifs.....	81
a) Relations pertes au feu - granulométrie	81
b) Relations granulométrie - éléments constitutifs	81
V Interprétations des résultats et discussion	82
1) Etude comparative des 2 séries d'échantillons	83
a) Comparaison des niveaux métalliques	83
b) Comparaison des types de corrélations	84
2) Signification et validité de l'approche du modèle par régression linéaire	86
Conclusion	87

IIIème PARTIE

DETERMINATION DES CONCENTRATIONS METALLIQUES

DANS LES ORGANISMES MARINS VIVANTS

CHAPITRE I : Méthodes de minéralisation

I Introduction	89
II Aperçu bibliographique	90
1) Les méthodes par voie sèche	90
a) Principe et description	90
b) Appréciations des méthodes et vérifications proposées ...	93
2) Les méthodes par voie humide	93
a) Principe et description	93
b) Appréciations des méthodes et vérifications proposées ...	95
III Procédures retenues	96
1) Matériel	96
2) Réactifs	96
3) Préparation des échantillons	96
a) Broyage	96

a) Echantillons de faible masse (< 10 g)	121
b) Echantillons volumineux constitués d'un grand nombre d'in- dividus de petite taille	122
2) Echantillons de taille moyenne (environ 400 g)	122
3) Echantillons de grande taille (masse pouvant être nettement supérieure à 1 kg)	122
B) Répartition des métaux le long d'un filet de morue	123
1) Préparation du filet	123
2) Résultats	124
C) Discussion des résultats et conclusions	125
1) Echantillons de grande taille	125
2) Autres échantillons	126
II Dosage d'éléments de la chaîne alimentaire	127
A) Matière en suspension	127
1) Prélèvements	127
2) Analyse des matières en suspension	127
3) Analyse de zooplancton	128
B) Vers marins	129
C) Crevettes	132
1) Animaux décortiqués	132
2) Animaux entiers	134
D) Autres espèces	136
E) Contenus stomacaux de morue	137
F) Filets de morue	138
G) Accumulation métallique dans la chaîne alimentaire	141
H) Conclusions	143
III Analyse des foies et encéphales de morue	144
A) Foies	144
B) Encéphales	146
C) Discussion et conclusions	147
IV Analyse d'échantillons divers	149
<u>Etude des nécroses et des nodules de morue</u> <u>en relation avec leurs teneurs métalliques</u>	
I Introduction	151

Les lésions d'origine connue	151
1) Origine virale	151
2) Origine bactérienne	151
3) Origine fongique	151
4) Origines diverses	152
Les lésions d'origine inconnue	152
II Etude des nécroses cutanées de morues	154
1) Description macroscopique	154
2) Analyse microscopique	154
3) Comparaison des niveaux métalliques entre filets sains et nécrosés	155
4) Conclusion	
III Etude des nodules hépatiques de morue	157
1) Comparaison des niveaux métalliques entre foies sains et foies noduleux	158
2) Analyse microscopique	159
3) Analyse quantitative	160
a) Méthode de minéralisation	160
b) Résultats	161
IV Conclusion	169

INTRODUCTION

L'aménagement du territoire et le développement industriel doivent de plus en plus tenir compte des exigences que requiert une certaine qualité de la vie à laquelle tout un chacun aspire. Les tendances écologistes qui se développent et qui se manifestent en diverses occasions ont soulevé des problèmes nouveaux, qui ne peuvent laisser insensibles les scientifiques. Les biologistes et les naturalistes qui en avaient pris conscience les premiers ont, faisant part de leurs préoccupations, attiré l'attention des chercheurs de toutes disciplines.

L'actualité des questions relatives à l'environnement est indéniable sur le plan local avec le développement des zones portuaires de Calais et Dunkerque, l'implantation de la centrale nucléaire de Gravelines et la croissance des complexes pétrochimique et sidérurgique de Dunkerque, entr'autres. Toutes ces activités impliquent le rejet d'effluents dans le milieu marin notamment, entraînant une évolution voire une dégradation de sa qualité initiale. A ce propos, des cas de nécroses de poissons ont été signalés en relation possible avec la pollution chimique, sans que l'origine de tels troubles ait pu être établie.

Le laboratoire a été associé en partie à ces études et ses activités se sont développées vers l'océanographie chimique.

Pour notre part, c'est sous l'angle de la chimie analytique que nous avons étudié, dans un premier temps, l'aspect méthodologique des travaux relatifs aux sédiments et aux organismes marins. Nous nous sommes limités au cas des teneurs en quelques éléments métalliques et l'exploitation des résultats concerne plus particulièrement le littoral Nord Pas-de-Calais.

Nous précisons ci-dessous le cadre de ce travail et les objectifs que nous nous sommes fixés.

La zone littorale Nord Pas-de-Calais se caractérise globalement par la présence de sédiments sableux à faible pourcentage en fractions fines. Ceci nous prive de la possibilité généralement admise d'apprécier les niveaux métalliques en ne considérant que la seule fraction fine, pour laquelle les phénomènes d'échange et de capture des métaux sont les plus importants. Nous avons donc cherché à développer une méthode plus générale applicable à la totalité du prélèvement.

Les interactions entre la nature des sédiments et leurs teneurs métalliques ont retenu notre attention. Nous avons recherché à corrélérer linéairement l'ensemble de leurs paramètres physico-chimiques

En ce qui concerne les organismes vivants, nous avons tout d'abord examiné de manière critique les questions qui se posent lors de la préparation de l'échantillon, nécessaire à la mise en oeuvre de l'analyse. Cet aspect des choses est généralement passé sous silence et peut avoir une implication sur la signification des résultats.

Par la suite, nous nous sommes intéressés au transfert des éléments métalliques dans la chaîne alimentaire de la morue, telle qu'on peut la reconstituer dans le secteur géographique considéré. Cette partie devait mettre en évidence l'accumulation possible dans les différents échelons et montrer leur rôle éventuel d'indicateurs de pollution métallique.

Une attention particulière a été portée au terme ultime de la chaîne, la morue, et aux anomalies pathologiques que constitue la présence de nodules dans le foie de certains individus porteurs de nécroses cutanées.

Il est évident que nous avons dû, dans ce travail, nous limiter à quelques métaux seulement. Nous avons retenu le calcium comme élément de référence, l'étude portant sur 4 toxiques "courants" : le zinc, le cuivre, le plomb et le cadmium, auxquels s'ajoutent le fer et pour les sédiments le titane, éléments qui font l'objet d'un apport important, localisé dans la zone étudiée.

La première partie du mémoire est consacrée à la description des méthodes retenues : la spectrométrie de fluorescence X, la spectrométrie d'absorption atomique et l'analyse en microsonde de CASTAING. L'absorption atomique ayant été la principale technique analytique utilisée, nous évoquons plus particulièrement les difficultés rencontrées lors des dosages et les solutions qui y ont été apportées.

La seconde partie a trait à l'étude des sédiments.

Les essais menés sur un sédiment de type sableux représentatif du littoral Nord Pas-de-Calais sont rassemblés dans un premier chapitre. Différentes méthodes d'attaque chimique ont été testées et plusieurs procédures d'échantillonnage ont été comparées de façon à dégager une méthode générale d'appréciation des niveaux métalliques tenant compte de l'ensemble du prélèvement.

Si la granulométrie s'avère en relation avec les teneurs métalliques des sédiments, nous avons cherché à mettre en évidence des corrélations linéaires avec les autres paramètres physico-chimiques que sont les pertes au feu et les teneurs en éléments constitutifs. La recherche des corrélations, objet du second chapitre, a été menée sur 2 séries d'échantillons provenant, l'une d'une zone portuaire du littoral, l'autre de l'ensemble des côtes belges. La comparaison des résultats obtenus pour chaque série a pour but de juger de leurs niveaux respectifs, mais également, de préjuger de leur évolution possible en relation avec l'environnement, par l'établissement d'un modèle mathématique capable de décrire théoriquement et de prévoir les phénomènes observés.

La dernière partie est consacrée aux organismes vivants.

La mise au point des différentes méthodes de préparation et de minéralisation d'échantillons de filets de morues est présentée au premier chapitre. La comparaison des procédures par voie humide et par voie sèche a été effectuée et nous donnons, sur la base des résultats obtenus, une classification des modes de minéralisation en fonction du type d'échantillons à analyser.

Le second chapitre traite de l'accumulation métallique et des niveaux dans les différents maillons de la chaîne alimentaire de la morue dans le secteur de référence. Nous examinons également le cas de la morue et des nodules hépatiques.

Nous avons traité des problèmes d'échantillonnage rencontrés pour les animaux de grande taille et discuté des techniques envisageables pour effectuer un prélèvement dont l'analyse est représentative de l'ensemble de l'échantillon. Les filets de morues nécrosées ont constitué un matériau privilégié pour juger du type de la distribution métallique.

La comparaison des concentrations présentes dans différents organes de morues a été effectuée.

Les teneurs globales des filets de morues saines ont été comparées à celles des filets de morues nécrosées, de même que pour les foies sains et noduleux, dans le but de mettre en évidence une accumulation métallique éventuelle au sein des tissus malades. L'analyse quantitative des nodules hépatiques, complétée par des observations réalisées en microsonde a été entreprise afin de situer leurs niveaux par rapport à ceux des foies noduleux entiers. Nous avons étudié les variations des concentrations métalliques dans les nodules en fonction de leur taille et de leur poids, en vue d'obtenir des informations concernant leur mode de croissance.

Enfin les niveaux métalliques des différents maillons de la chaîne alimentaire de la morue ont été déterminés et comparés entr'eux et aux données de la bibliographie.

Le calcul des facteurs de transfert relativement à l'eau de mer nous a permis d'apprécier l'accumulation métallique le long de la chaîne et de mettre en évidence le rôle éventuel d'indicateurs de pollution de certaines espèces. En ce qui concerne celles consommées par l'homme, nous avons situé leurs niveaux vis-à-vis des normes établies par les tables alimentaires.

I ÈRE PARTIE
METHODES ANALYTIQUES

METHODES ANALYTIQUES

Plusieurs méthodes d'analyse apparaissaient, à priori, utilisables pour le dosage de l'ensemble des échantillons biologiques et minéralogiques. On peut citer : la spectrométrie d'absorption atomique et la polarographie impulsionnelle avec redissolution anodique pour l'analyse des traces métalliques et des éléments mineurs, la spectrométrie de fluorescence X pour la détermination des éléments majeurs.

Compte tenu du nombre important d'analyses à mettre en oeuvre, ce sont essentiellement les critères de rapidité et de sécurité des dosages (reproductibilité, précision...) qui ont guidé notre choix. C'est ainsi que, les premiers essais effectués en polarographie avec redissolution anodique n'ayant pas donné des résultats exploitables dans l'immédiat, nous avons abandonné cette technique analytique dont l'application à nos échantillons et la mise au point n'entraient pas dans l'objectif de ce travail. De ce fait, c'est l'absorption atomique qui a été retenue pour le dosage des éléments métalliques dans les matériaux biologiques (Ca, Fe, Zn, Cu, Mn, Pb, Cd) et celui des éléments mineurs dans les sédiments (Zn, Cu, Pb, Cd, parfois Ti, Mn, Cr, V).

Compte tenu des gammes de concentrations très variables rencontrées dans nos échantillons, nous avons été amenés à utiliser 2 sources d'atomisation : la flamme et le four graphite. L'analyse en flamme étant à l'heure actuelle "classique" et posant moins de problèmes, nous insisterons plus particulièrement sur l'utilisation du four et nous évoquerons d'une façon générale les problèmes analytiques auxquels nous avons été confrontés.

La détermination des éléments majeurs présents dans les sédiments (Si, Al, Ca, Fe, Ti) a été conduite par spectrométrie de fluorescence X. Nous rappellerons brièvement le principe général de cette méthode et nous donnerons les conditions opératoires ainsi que les précautions prises au cours de l'analyse pour affranchir les mesures de toute interférence.

Enfin et dans le cadre de l'étude des microéchantillons biologiques (nodules et nécroses), l'analyse quantitative effectuée en absorption atomique a été complétée par des observations réalisées à la microsonde électronique de Castaing. Nous ne détaillerons pas ici l'aspect théorique de cette méthode, mais nous nous bornerons à évoquer les problèmes rencontrés au cours de la préparation des échantillons, problèmes ayant une incidence sur la validité de l'analyse elle-même.

I) SPECTROMETRIE D'ABSORPTION ATOMIQUE

Nous ne reviendrons pas ici sur la théorie de la spectrométrie d'absorption atomique qui fait l'objet d'une nombreuse bibliographie (18, 31).

Nous donnerons des informations générales concernant l'appareillage utilisé et tout particulièrement le four graphite. Nous évoquerons ensuite, d'une manière globale les problèmes analytiques rencontrés et les solutions que nous avons utilisées pour y remédier.

A) DESCRIPTION DE L'APPAREILLAGE

Nous avons utilisé ou eu recours à 3 types d'appareils :

- Perkin Elmer 303
- Perkin Elmer 360 avec four HGA 70 modifié
- Perkin Elmer 372 avec four HGA 76 B

Quel que soit le type de spectromètre, on y retrouve toujours le même schéma de principe (Fig n°1).

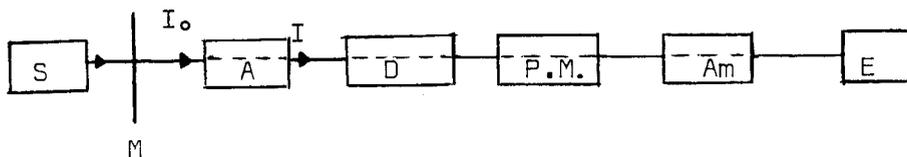


Fig n° 1

- S : Source lumineuse
- M : Modulateur
- A : Système d'atomisation : Four, Flamme ou plasma
- D : Système dispersif

P.M. : Photo-multiplificateur
Am : Amplificateur
E : Enregistrement

1) Source lumineuse

C'est la lampe à cathode creuse qui est la source la plus communément employée. Elle émet un rayonnement polychromatique constitué par le spectre d'émission de l'élément à doser.

2) Système optique

Le schéma simplifié du système optique du P.E. 372 est présenté à la figure n°2 :

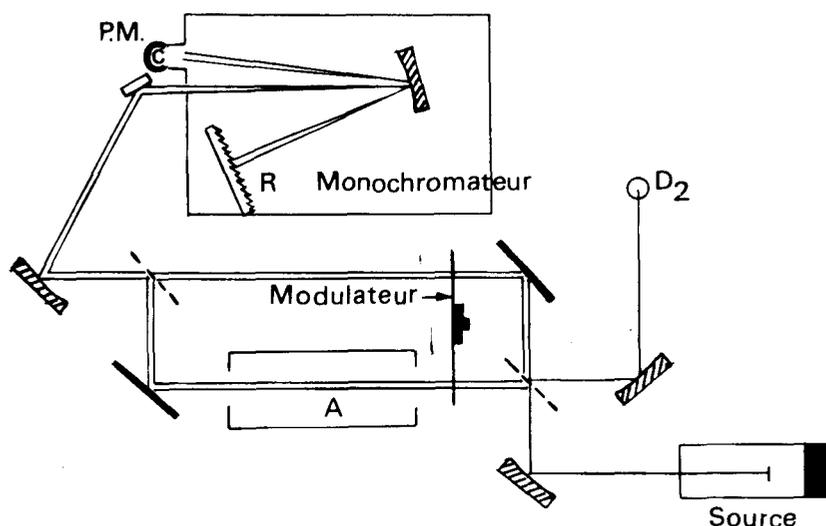


FIG 2

Il s'agit d'un système à double faisceau qui présente l'avantage de compenser automatiquement les fluctuations d'intensité de la lampe et améliorer ainsi la stabilité des signaux. Le rayonnement émis par la lampe est décomposé en 2 faisceaux parallèles au moyen d'un miroir semi-transparent créant un "faisceau échantillon" et un "faisceau référence", qui sont modulés en opposition de phase par le modulateur. Après la traversée de la flamme ou du four, le "faisceau échantillon" se superpose au "faisceau référence" et parcourt le même trajet optique. Le rayonnement est décomposé

au niveau du réseau R, du monochromateur. Son orientation est commandée mécaniquement et détermine la longueur d'onde envoyée sur la fente de sortie du monochromateur puis vers la face sensible du P.M.

Dans la figure n° 2, est également représenté le trajet optique du faisceau émis par la lampe au deutérium (D_2), lampe utilisée pour la correction d'absorbance non spécifique. Nous reviendrons sur ce point ultérieurement.

3) Système électronique

Le signal optique de longueur d'onde λ_i du monochromateur est converti en signal électrique par l'intermédiaire du P.M.. Cependant, ce signal représente encore, pour la longueur d'onde λ_i , la somme du rayonnement émis par la lampe à cathode creuse et d'un rayonnement parasite, de même longueur d'onde, dû à des émissions dans le système d'atomisation. Il est indispensable, de ce fait, de séparer les 2 signaux pour évaluer la valeur exacte de l'intensité lumineuse du rayonnement incident qui a été absorbé par l'échantillon. L'élimination du signal parasite est réalisée par le modulateur placé sur le parcours du faisceau de radiations émis par la source ; le signal électrique issu du P.M. est alors introduit dans un circuit électronique permettant de sélectionner le signal accordé en fréquence et en phase avec la modulation du rayonnement de la lampe à cathode creuse. Finalement, après amplification, le signal résultant est converti soit en affichage digital par la méthode d'intégration en hauteur ou en surface des pics, soit en enregistrement graphique pour faciliter l'exploitation des résultats.

4) Système d'atomisation

Nous nous limiterons sur ce sujet à la description du four graphite et de son processus d'utilisation.

Le four HGA 76 B comprend deux unités principales : le four et le programmeur.

. a) Le four graphite :

Il comprend un tube en graphite maintenu entre deux cylindres de

contact en graphite, l'ensemble étant monté sur un châssis orientable et placé dans le compartiment échantillon du spectrophotomètre. Le chauffage du tube se fait par effet Joule. Entre les 2 cylindres de contact on applique un courant d'intensité variable selon la température à atteindre. Une cellule optique constituée d'un photodiode en silicium assure le contrôle de la température qui peut atteindre au maximum 2 800°C pour un tube en graphite simple. Pour éviter la combustion du tube aux hautes températures, l'intérieur et l'extérieur du tube sont balayés par un courant d'argon. Le flux externe est continu pendant la durée totale du programme de chauffe, tandis que le flux interne peut être interrompu à volonté au cours de l'une des phases du programme. Le balayage interne par un gaz inerte permet en outre l'évacuation des fumées et des vapeurs résultant de la décomposition de la matrice et diminue, au cours de l'atomisation, la formation d'oxydes moins volatils.

Enfin, 2 chambres de refroidissement par circulation d'eau sont montées autour des cylindres de contact afin d'assurer une descente rapide en température du four après la phase d'atomisation ou de nettoyage.

Les échantillons liquides sont introduits à l'aide d'une micropipette Eppendorf à embout jetable et se trouvent alors placés sur le trajet optique du faisceau lumineux issu de la lampe.

. b) Programmateur thermoélectrique

Un des principaux avantages que présente l'utilisation d'un four électrique par rapport à celle d'une flamme pour réaliser l'atomisation de l'échantillon est la possibilité de sélectionner et d'imposer un programme de chauffe adapté au type d'échantillon à analyser et à la nature de l'élément à déterminer.

Le programme thermoélectrique se décompose en 3 cycles principaux :

1) Séchage : Sa durée et la température appliquée au tube graphique doivent permettre d'éliminer le solvant. En solution aqueuse cette opération s'effectue vers 100°C.

2) Calcination : La phase de calcination a pour but de décomposer la matrice pour permettre "d'isoler" l'élément à doser et éviter certaines interférences. La température et la durée de chauffage devront être d'autant plus grandes que la matrice sera réfractaire, sans provoquer toutefois la volatilisation de l'élément à doser.

3) Atomisation : A ce stade, et dans le meilleur des cas, il ne subsiste plus, dans la chambre d'atomisation qu'une vapeur d'atomes de l'élément à doser susceptibles d'absorber le rayonnement de la lampe.

Suite à l'ensemble du programme, il est souvent nécessaire, particulièrement pour les échantillons dont la matrice est chargée, de procéder à un nettoyage du four par chauffage à 2 800°C pendant quelques secondes.

5) Système d'enregistrement. Détermination des concentrations

Le signal d'absorption est converti en absorbance par affichage digital et simultanément, par enregistrement graphique, matérialisé sous forme d'un pic de hauteur proportionnelle. Lorsqu'on travaille au four, on utilise uniquement l'enregistrement graphique et l'on trace, pour un élément donné, la courbe d'étalonnage à partir des hauteurs de pics relevées pour les solutions standards.

Il faut noter, à l'inverse de ce qui se passe en flamme, que la courbe d'étalonnage n'est pas linéaire et que, sa courbure très faible pour les absorbances voisines de zéro, s'accroît rapidement. Nous verrons par la suite quelle est l'incidence de ce phénomène sur la méthode de dosage elle-même.

B) MISE EN OEUVRE DES ANALYSES

1) Interférences

Selon leur nature, on distingue différents types d'interférences dont certaines peuvent être supprimées ou du moins atténuées. Nous évoquerons celles susceptibles d'être rencontrées quand on utilise le four graphite.

a) Interférences spectrales

La modulation du rayonnement issu de la source lumineuse permet d'éviter la superposition de la raie d'absorption et de raies d'émission provoquées par d'autres éléments présents dans la chambre d'atomisation ou par elle-même.

Une autre cause d'interférence peut provenir du recouvrement de plusieurs raies d'absorption. L'importance du phénomène dépend essentiellement de la qualité du monochromateur du spectrophotomètre et de son pouvoir de résolution.

b) Interférences liées à une absorbance non spécifique

Il est des cas, où des particules solides réfractaires non vaporisées sont encore présentes dans le four au moment de l'atomisation. Une fraction des radiations incidentes peut être diffractée par ces particules, provoquant une absorbance apparente se superposant à celle de l'élément à doser.

L'existence dans la phase vapeur de molécules non dissociées et présentant une bande d'absorption voisine de la raie analytique provoque le même phénomène.

Plusieurs méthodes ont été proposées dans la littérature pour s'affranchir de cette absorbance non spécifique (67, 86). L'utilisation d'une lampe à fond continu (lampe au deutérium ou à hydrogène), dont le faisceau parcourt le même trajet optique que celui de la lampe à cathode creuse (Cf. Fig. n°2), permet d'effectuer optiquement et électroniquement la correction d'absorbance non spécifique, comme c'est le cas sur les deux appareils que nous avons utilisés.

c) Interférences chimiques

On appelle ainsi toute réaction des constituants de la matrice amenant une modification de la population d'atomes libres de l'élément à déterminer. Ces interférences de différents types ne seront pas détaillées ici mais on peut dire que ce sont elles qui posent les plus gros problèmes d'élimination ou de correction au cours de l'analyse. Leur incidence sur

la validité des dosages est très variable, de l'ordre de quelques pour cents à plusieurs centaines.

d) Interférences dues à la géométrie et à la nature du four

Dans la technique d'absorption atomique avec flamme, on admet généralement qu'un équilibre thermodynamique est réalisé en tout point de la flamme. Cette approximation n'est plus valable pour le four, vu la montée rapide en température imposée lors de l'atomisation et le signal qui en résulte après une durée d'intégration inférieure au dixième de seconde.

Il faut noter aussi que le mode de chauffage ne permet pas d'avoir un environnement isothermique dans l'ensemble de la chambre d'atomisation pendant la durée du signal. En effet, et en raison de la construction même du four, il existe une différence de température entre le milieu et les extrémités du four, plus froides, ce qui peut provoquer une condensation prématurée de la vapeur métallique aux extrémités avant l'atomisation.

D'autre part, des phénomènes de diffusion du nuage atomique à travers le graphite ou d'occlusion de l'élément dans le carbone avec formation éventuelle de carbures peuvent expliquer une perte de sensibilité et un défaut de reproductibilité des mesures. La plupart des auteurs sont unanimes pour reconnaître que l'état de surface du graphite joue un rôle primordial dans le signal d'absorbance observé et il est remarquable de constater que la sensibilité et la limite de détection atteintes lors du dosage d'un élément ainsi que la reproductibilité de l'analyse décroissent sensiblement avec l'âge et l'usure du tube. Pour notre part, en raison de la charge en acide de nos échantillons, le remplacement du tube a été systématiquement effectué toutes les 50 injections.

2) Procédure générale à suivre pour l'analyse par absorption atomique au four.

Il faut noter tout d'abord que le domaine de concentrations que l'on peut explorer par cette technique se situe selon les éléments de 0,1 µg/ml à 10⁻³ µg/ml et donc que les risques de contamination de l'échantillon soit par la verrerie, soit par les manipulations diverses sont considérables. Dans ces conditions, il est évident que la verrerie et les réactifs doivent être exempts, dans toute la mesure du possible, de traces métalliques, de même

que le nombre de traitements de l'échantillon par dilution doit être limité, pour ne pas accroître encore les possibilités de contamination.

Pour chaque élément à doser et chaque type de matrice, le programme thermoélectrique du four doit être choisi expérimentalement de façon à atteindre une température optimale de calcination donnant la plus grande sensibilité lors de l'atomisation et, d'autre part, la température d'atomisation pour laquelle l'absorbance enregistrée est maximale. Souvent le fait de dépasser ces températures provoque des pertes par volatilisation de composés réfractaires lors de l'atomisation.

En toute rigueur, pour pallier à toutes les interférences décrites précédemment, les solutions étalons devraient présenter les mêmes caractéristiques que la solution à analyser, ce qui suppose la connaissance préalable de sa composition, opération qui apparaît fastidieuse dans de nombreux cas. Il existe toutefois des méthodes de remplacement qui permettent le plus souvent de vérifier si le signal obtenu pour l'échantillon est ou non affecté par des interférences et d'en tenir compte. On peut citer la méthode par simple dilution et la méthode par ajouts dosés.

La première méthode s'applique quelle que soit l'allure de la courbe d'étalonnage, linéaire ou non, et consiste à opérer des dilutions par 2,4 ou plus de la solution à analyser. Les signaux correspondants doivent, s'il n'y a pas d'effet de matrice, être dans le même rapport que les dilutions. Dans le cas contraire on peut, en fonction des concentrations atteintes, poursuivre les dilutions, jusqu'au résultat correct, ou utiliser la méthode d'étalonnage interne par ajouts dosés.

Dans cette seconde méthode, on utilise la solution d'analyse comme solution d'étalonnage. A quatre aliquots de même volume on ajoute des quantités croissantes et connues $0, q_1, q_2, q_3$, de l'élément à doser et l'on complète au même volume. L'étalonnage est donné par la variation de l'absorbance relative en fonction des ajouts. La concentration inconnue est donnée par extrapolation à l'origine de la droite d'étalonnage ainsi tracée (Cf. Fig. 3).

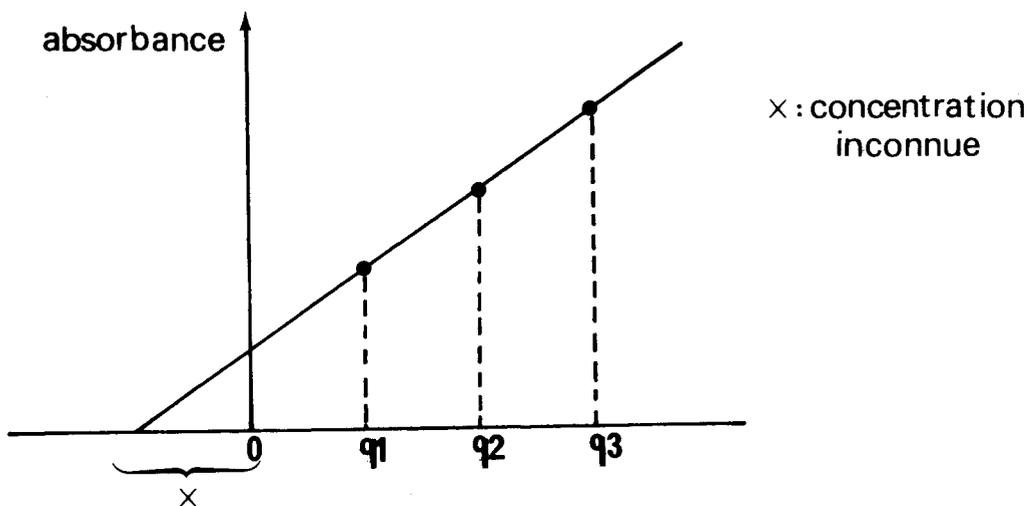


figure n°3

L'application de la méthode des ajouts dosés à l'absorption atomique au four donne, dans certains cas, des résultats erronés et ne peut se faire qu'avec beaucoup de précautions (85). En effet le domaine de linéarité de la courbe absorbance = $f(C)$ étant très court, il devient nécessaire de faire un grand nombre d'injections jusque dans des domaines d'absorbance voisine de zéro, pour s'assurer de la linéarité et pouvoir extrapoler la droite. D'autre part, il faut noter qu'on ne peut définir le même domaine de linéarité pour les solutions simples et pour les matrices plus complexes, l'expérience montrant en général que l'écart à la linéarité (courbure) apparaît à des concentrations plus faibles pour les matrices complexes.

3) Analyse des différents échantillons

a) En flamme

Aucun problème particulier ne se pose pour le dosage des éléments Ca, Fe, Cu, Mn, Zn, dans les échantillons biologiques et Fe, Ti, Zn, Cu, Cr, V dans les sédiments. Dans tous les cas sauf avec le calcium nous avons utilisé la correction automatique d'absorbance non spécifique par lampe au deutérium. La méthode par dilution simple s'est révélée suffisante pour apprécier et corriger les interférences éventuelles dans les solutions biologiques, par contre la méthode par ajouts dosés a été employée pour le dosage des 5 métaux Ti, Zn, Cu, Cr, V, dans les sédiments en raison des inter-

férences dues à NaCl.

Nous donnons dans le tableau n° 1 l'ensemble des conditions opératoires, la sensibilité et la précision des dosages. La sensibilité en absorption atomique de flamme est définie comme étant la concentration de l'élément dosé à laquelle correspond une absorption de 1 %, soit une absorbance relative de 0,0044. La précision est une qualité globale tenant compte de la justesse, de la fidélité et de la sensibilité d'une analyse. Les valeurs que nous donnons exprimées en pourcentage sont des valeurs moyennes qui ne tiennent pas compte des niveaux de concentration des différents types d'échantillons.

Element	λ nm	Fente nm	Flamme	Linéarité *	Méthode **	Sensibilité μ g/ml	Précision %
Cu	422,7	0,7	Air - C ₂ H ₂ OXYDANTE	5 μ g/ml	D.S.	0,08	2
Fe	248,3	0,2	Air - C ₂ H ₂ OXYDANTE	5 μ g/ml	D.S.	0,12	5
Ti	365,3	0,2	N ₂ O - C ₂ H ₂ REDUCTR.	200 μ g/ml	A.D.	2,0	7
Cu	324,8	0,7	Air - C ₂ H ₂ OXYDANTE	5 μ g/ml	D.S. A.D.	0,09	5
Zn	213,9	0,7	Air - C ₂ H ₂ OXYDANTE	1 μ g/ml	D.S. A.D.	0,018	5
Mn	279,5	0,2	Air - C ₂ H ₂ OXYDANTE	3 μ g/ml	D.S.	0,055	3
Cr	357,9	0,7	Air - C ₂ H ₂ REDUCTR.	5 μ g/ml	A.D.	0,10	5
V	318,4	0,7	N ₂ O - C ₂ H ₂ REDUCTRI.	150 μ g/ml	A.D.	1,7	8

TABLEAU N° 1

* Borne supérieure du domaine de linéarité

** D.S. : Dilution simple ; A.D. : ajouts dosés

b) Au four

L'utilisation de la correction automatique d'absorbance non spécifique a été systématique pour le dosage de tous les métaux. D'autre part, durant l'atomisation le flux de gaz interne a été interrompu (Mode "GAZ STOP"), ce qui améliore la hauteur du signal et la sensibilité.

* 1. Sédiments : les courbes d'étalonnage pour Pb et Cd sont tracées à partir de solutions étalons contenant les acides utilisés au cours de l'attaque chimique des sédiments (HCl , HClO_4) et de façon à ce que leur PH soit du même ordre que celui des échantillons dilués à analyser.

En raison des interférences rencontrées, dues vraisemblablement à la charge en NaCl des solutions, nous avons été amenés à travailler par ajouts dosés et, pour ce faire, à restreindre la gamme de travail à la partie linéaire de la courbe d'étalonnage, nécessitant l'utilisation d'une expansion d'échelle. (Fig. 4 et 5).

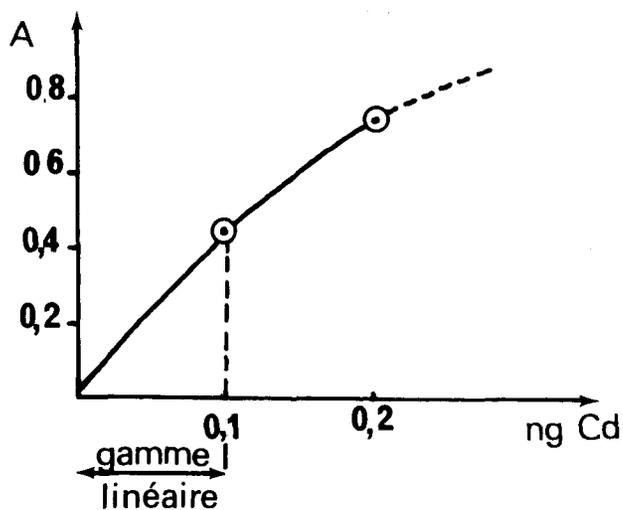


fig 4

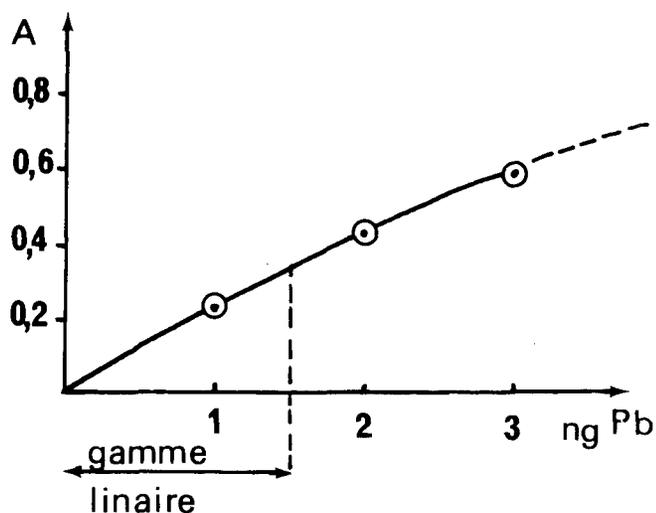


fig 5

Dans le tableau n°2 nous donnons l'ensemble des conditions opératoires, qui a permis de travailler avec une bonne sensibilité et une précision satisfaisante.

Elément	λ nm	Solutions standards	SECHAGE		CALCINATION		ATOMISATION		NETTOYAGE		Dilu.	P.E.	Sng	P %
			θ°C	ts	θ°C	ts	θ°C	ts	θ°C	ts				
Pb	283,3	0,1NHC1	100	60	700	60	2030	10	2800	5	1/5	50μL	2.10 ⁻²	10
Cd	228,8	0,1NHC10 ₄	100	100	500	60	1830	10	2800	5	1/50	50μL	10 ⁻³	15

P.E. : Prise d'essai

S : Sensibilité, pour 50 μL, 1ng = 0,02 μg/ml

P : Précision

TABLEAU N° 2

2. Echantillons biologiques (Eléments de la chaîne alimentaire ; Organes de poissons)

Compte tenu de la diversité des échantillons et des méthodes d'attaque employées pour les mises en solution, il serait trop long ici de détailler, pour chaque type, le processus d'analyse. D'une manière générale, pour les solutions peu chargées en calcium et en sodium (Vers, foies, filets, encéphales) la méthode par dilution simple utilisant la totalité des courbes d'étalonnage apparaît satisfaisante. Pour les solutions riches en calcium (crustacés, coquillages), des interférences apparaissent pour le dosage du plomb notamment et parfois pour celui du cadmium. Dans ces conditions, nous avons utilisé la méthode par ajouts dosés avec expansion d'échelle (Cf. sédiments). Nous avons rencontré quelques cas pour lesquels cette technique a donné de mauvais résultats sans qu'il nous soit possible d'y remédier de

façon efficace sans traitement des solutions (chélation notamment).

En ce qui concerne les solutions étalons, il était fastidieux pour chaque type d'échantillons de refaire des standards dans des conditions de charge en acide et de PH voisines de celles des solutions à doser. Nous avons donc, pour les solutions d'attaque de Denigès, fixé la normalité des standards à 0,05 N en H_2SO_4 , pour les solutions chlorhydriques de calcination amené les standards à 0,1 N en HCl et enfin, pour les solutions d'attaque triacide préparé les étalons dans des solutions à 0,05 N en HCl et 0,05 N en $HClO_4$. Ces précautions s'expliquent par le fait que l'absorbance des solutions étalons est, selon les métaux, en relation avec leur PH (49).

Le tableau n° 3 donne l'ensemble des conditions opératoires pour les 3 métaux que nous avons dosé au four (Cu, Pb, Cd).

Elément	λ nm	Solutions standards	SECHAGE		CALCINATION		ATOMISATION		NETTOYAGE		Dilu. (*)	P.E.	Sng	P %
			$\theta^\circ C$	ts										
Cu	324,7	variable selon le type d'attaque chimique	100	30	950	50	2550	10	2800	5	X	20 μ L	310 ⁻²	6
Pb	283,3		100	30	700	45	2100	10	2800	5	X	20 μ L	210 ⁻²	10
Cd	228,8		100	30	400	45	1900	10	2800	5	X	20 μ L	10 ⁻³	15

TABLEAU N° 3

(*) : les dilutions sont variables

P.E. : Prise d'essai

S : Sensibilité, pour 20 μ L, 1ng = 0,05 μ g/ml

3. Nodules hépatiques de morues

Compte-tenu des concentrations présentes dans les solutions d'attaques de nodules, en rapport avec les masses de nodules attaqués très faibles, nous avons travaillé pour tous les métaux en utilisant une expansion d'échelle de 2 pour Fe, Mn et Cd, de 5 pour Cu et Pb.

Si les effets de matrices et les interférences peu intenses rencontrés au cours des dosages ont été facilement corrigés par des dilutions successives (méthode de simple dilution), nous nous sommes attachés, plus encore que pour les autres échantillons, à éviter au maximum la contamination par la verrerie, les dilutions et la technique d'introduction de la micropipette dans le four, en vérifiant pour chaque dosage au moins trois fois la reproductibilité du signal d'absorbance.

Les solutions standards, compte-tenu de l'acidité des échantillons attaqués par la microméthode de Denigès ont été amenées à un titre 0,1 N en H_2SO_4 .

Les conditions opératoires pour Cu, Pb et Cd sont identiques à celles mentionnées au tableau n°3, celles utilisées pour Fe et Mn sont données dans le tableau n°4.

Elément	λ nm	Solutions standards	SECHAGE		CALCINATION		ATOMISATION		NETTOYAGE		Dilu.	P.E.	Sng	P%
			$\theta^\circ C$	ts										
Fe	248,3	H_2SO_4 0,1 N	100	30	1200	70	2550	10	2800	5	X	20 μ l	2 $\cdot 10^{-2}$	7
Mn	279,5	H_2SO_4 0,1N	100	30	1000	60	2600	10	2800	5	X	20 μ l	2 $\cdot 10^{-3}$	5

TABLEAU N° 4

II SPECTROMETRIE DE FLUORESCENCE X

1) Principe fondamental

Sous l'effet d'une excitation appropriée, tout élément chimique est susceptible d'émettre un spectre X qui lui est propre. Les électrons internes, qui possèdent une énergie comparable à celle des photons X, seront par conséquent, impliqués dans le processus conduisant à l'émission de rayons X.

C'est ainsi que, schématiquement, sous l'impact d'un faisceau de rayonnement primaire approprié, un électron peut être expulsé d'un niveau d'énergie E_1 d'un atome, qui, de ce fait, passe à l'état excité. La transition d'un électron d'un niveau E_2 au niveau E_1 ramène l'atome à un état plus stable et restitue de la sorte une partie de l'énergie excitatrice sous la forme d'un photon X d'énergie E définie par

$$E = E_1 - E_2 = h\nu = h \frac{c}{\lambda}$$

Compte-tenu des règles de sélection régissant les transitions électroniques, le spectre X de chaque élément sera constitué d'un nombre limité de raies caractéristiques.

2) Spectrométrie de fluorescence X

Les photons produits de façon statistique par des atomes sont d'autant plus nombreux que le nombre d'atomes excités est grand. Ceci permet l'analyse quantitative par mesure de l'intensité de fluorescence des éléments dont on désire évaluer la concentration.

La spectrométrie de fluorescence X doit satisfaire à deux exigences :

- Produire un rayonnement X primaire polychromatique capable de délocaliser les électrons internes des atomes constituant l'échantillon. C'est le rôle du tube à rayons X excitateur.
- Assurer la sélection, la détection et la quantification des différentes raies qui composent le rayonnement de fluorescence caractéristique de l'échantillon.

a) La sélection : Elle est assurée par la diffraction du rayonnement de fluorescence sur un cristal analyseur. C'est une lame monocristalline, taillée parallèlement à une famille de plans réticulaires et choisie pour sa distance interréticulaire et son facteur de structure. Elle joue un rôle de monochromateur puisqu'elle diffracte les rayons X uniquement pour les conditions particulières déterminées par la loi de Bragg ($n\lambda = 2d \sin \theta$).

b) La détection et la quantification.

Elles sont assurées par le système de mesure proprement dit. Celui-ci est composé d'un détecteur qui capte et transforme les photons X incidents en des signaux électriques qui seront ultérieurement amplifiés par un ensemble préamplificateur-amplificateur. 3 paramètres déterminent la qualité du détecteur : le seuil de détection, le temps de réponse, l'intensité du bruit de fond.

Plusieurs types de détecteurs sont utilisables parmi lesquels les compteurs proportionnels, qui fournissent des signaux d'amplitude proportionnelle à l'énergie des photons incidents. On peut citer le compteur à flux gazeux et le compteur à scintillations (NaI) que nous avons utilisés.

Il faut noter qu'il est souvent nécessaire d'opérer une discrimination des signaux pour obtenir une meilleure séparation de ceux-ci par rapport à celle obtenue au niveau de l'analyseur. La discrimination est réalisée par un dispositif de filtrage électronique au niveau de l'amplificateur qui ne permet que le passage et le comptage d'impulsions d'une hauteur déterminée.

3) Analyse des sédiments

L'analyse quantitative des roches silicatées par spectrométrie de fluorescence X a fait l'objet de nombreuses publications (5,9, 10, 15, 21). Pour ce type d'échantillons, celle-ci se heurte à deux problèmes principaux :

- Les éléments majeurs possèdent des numéros atomiques voisins et exercent une grande influence les uns sur les autres. Les effets interéléments y sont donc importants.

- La différence de dureté des minéraux constitutifs entraîne des "effets physiques" d'ordre granulométrique auxquels les broyages courants ne peuvent remédier.

a) Conditions expérimentales

Le dosage des métaux majeurs, Si, Al, Ca, Fe, Ti, contenus dans les sédiments a été effectué sur 2 types d'appareils : un spectromètre SIEMENS S.R.S. et un spectromètre PHILIPS P.W. 1410.

Le rayonnement excitateur est produit par un tube à anticathode de chrome.

Trois cristaux analyseurs ont été utilisés : LiF 100, LiF 200, LiF 420. L'enceinte du spectromètre a été placée sous vide compte-tenu du caractère peu énergétique du rayonnement de fluorescence des éléments à doser. C'est pour l'aluminium qu'on enregistre les temps de comptage les plus longs, pour le calcium, les temps les plus courts.

b) Préparation des échantillons

C'est la fusion de perles au tétraborate de Lithium ($\text{Li}_2 \text{B}_4 \text{O}_7$) qui a été retenue.

La fraction des sédiments destinée à l'analyse est broyée de façon à ce que sa granulométrie soit inférieure à 100μ . Une quantité connue de la poudre recueillie est mélangée au diluant auquel on peut inclure un peu de bromure de Lithium, qui, au cours de la fusion, limite l'adhérence au creuset.

On porte le mélange homogénéisé au four à 1100°C pendant 15 à 20 mm. dans un creuset en O.P.R. 3 (Au, Pt, Rh). Le produit de fusion est coulé dans une coupelle en alliage identique, préalablement chauffée pour limiter le choc thermique. Lors du refroidissement, la perle se solidifie et se désolidarise d'elle-même de la coupelle.

c) Méthode d'analyse

Compte-tenu des effets interéléments que nous étions susceptibles de rencontrer, nous avons eu recours à une méthode de correction : la méthode de double dilution mise au point par TERTIAN (19) qui permet de déterminer

expérimentalement les effets de matrice.

Une relation mathématique de forme simple lie l'intensité de fluorescence Y d'un élément donné et la concentration X de l'échantillon dans le fondant, suivant :

$$Y = \frac{X}{1 + \Psi X}$$

Ψ : facteur complexe caractérisant l'échantillon analysé dilué dans un fondant donné, pour l'élément considéré.

Il en résulte que la mesure de Y à deux concentrations différentes permet de connaître les effets de matrice et donc de corriger les intensités de fluorescence, qui, après correction sont proportionnelles aux concentrations.

De ce fait, en disposant d'un étalon qui renferme une concentration connue de l'élément à doser, il suffit de confectionner deux perles de dilution différente avec chaque échantillon pour pouvoir déterminer la concentration, sans avoir recours à un étalonnage systématique.

III MICROSONDE ELECTRONIQUE DE CASTAING (M.S.E.)

L'étude microscopique des nécroses et des nodules a été réalisée avec une microsonde CAMECA MS 46. Si les techniques de préparation des échantillons biologiques sont maintenant bien connues (50) certains points importants doivent être rappelés.

1) Fixation des échantillons

L'échantillon à analyser, suite à sa préparation, doit être représentatif du tissu vivant duquel on l'extrait, au niveau notamment de la distribution des éléments métalliques à mettre en évidence.

La congélation brutale est le meilleur moyen pour permettre de maintenir en place ces éléments. Cette technique a été utilisée pour les échantillons massifs de nécroses et de nodules. Cependant elle s'avère peu compatible avec

l'étude histologique menée, dans certains cas, en parallèle (93). Dans ces conditions, nous avons eu recours à la fixation chimique qui, pour ce type d'analyses, nécessite d'employer des liquides de fixation exempts de composés métalliques. Le matériel a été fixé au BOUIN alcoolique ou au formol.

Il faut remarquer d'une part que les éléments solubles dans le liquide de fixation disparaissent de l'échantillon dès cette étape de préparation, et que, d'autre part, on peut assister à une perte de substance importante, avant fixation, lorsqu'une dissection préalable est nécessaire (47).

2) Enrobage des échantillons

Les échantillons fixés par congélation ont été lyophilisés et étudiés "tel quel" si leur taille le permettait, ou enrobés dans une résine époxy. Dans ce cas, l'enrobage a été effectué de façon à éviter un polissage ultérieur, comme il est courant de le faire pour des matériaux géologiques, métallurgiques, etc... L'analyse à la M.S.E. porte, dans ces conditions sur des échantillons massifs.

Ceux fixés chimiquement, ont été inclus dans de la paraffine ou du paraplast. Les blocs obtenus ont ensuite été débités en coupes de 7 μ d'épaisseur, puis étalés sur une lame de terphane (mylar). Les inclusions à la paraffine ont subi une déparaffination avant l'analyse, le point de fusion assez bas de ce matériau pouvant être incompatible avec l'élévation thermique au point d'impact du faisceau électronique.

Une coupe sur deux a été colorée à l'hémalum-phloxine-safran, d'une part car il est nécessaire de visualiser préalablement au microscope photomicroscopique ce qui doit être analysé à la M.S.E. D'autre part, la coloration des coupes pouvant entraîner la concentration dans certaines structures cellulaires des traces de métaux contenus dans les colorants (50), il nous a semblé judicieux de corrélérer les observations sur des coupes alternativement colorées ou non.

3) Planéité des échantillons

En analyse qualitative, une certaine irrégularité de la surface de l'échantillon est permise. Elle doit être peu importante car elle peut être source d'artefacts, comme l'enregistrement d'un rayonnement parasite provenant des régions de la coupe autres que le point d'impact du faisceau lui-même.

En analyse quantitative et semi-quantitative par contre, il est impératif que la surface à analyser soit parfaitement plane, condition très difficile à réaliser pour des échantillons biologiques. De plus, il faut rappeler que pour de tels échantillons, l'analyse quantitative s'avère assez illusoire, en raison essentiellement de l'indétermination sur le volume d'ionisation.

4) Conduction thermique et électrique

Les coupes relativement épaisses effectuées dans un matériau biologique, incluses ou non dans une résine synthétique, ne sont pas conductrices de l'électricité et sont, thermiquement, mauvaises conductrices. Ceci se traduit lors de l'analyse à la M.S.E. par une instabilité du faisceau électronique résultant d'une accumulation de charges au point d'impact et par des phénomènes de microincinération locale entraînant une détérioration rapide des tissus. La microincinération, si elle peut ne pas être gênante pour la détection des éléments, à condition qu'il n'y ait pas pulvérisation de la substance analysée, l'est beaucoup plus au cours de l'observation simultanée au microscope photonique. Pour y remédier, nous avons déposé, par évaporation sous vide sur la surface des échantillons, soit une couche de carbone d'au plus 100 Å d'épaisseur soit, pour les coupes apparemment fragiles, une couche de carbone et une couche d'or de 30 à 40 Å d'épaisseur. Ce dernier type de film, s'il présente quelques inconvénients mineurs pour l'analyse (absorption, retrodiffusion...), permet d'utiliser des faisceaux électroniques parfaitement stables et d'intensité élevée (> 250-300 nA), sans risque de détériorer les tissus à étudier.

5) Artefacts liés à la contamination

Ils sont dus principalement à la contamination par les poussières

atmosphériques et à celle provenant de l'analyse elle-même.

a) Poussières atmosphériques :

Elles renferment généralement du silicium, du calcium, de l'aluminium et du titane. Malgré un maximum de précautions, l'expérience montre que ces poussières de taille microscopique s'insèrent dans les tissus biologiques et y demeurent. Au cours de l'analyse, elles donnent des spectres d'émission intenses. Nous avons, dans nos observations, tenu compte de cette contamination et on peut admettre, compte-tenu de la préparation pratiquement simultanée des échantillons, qu'elle doit les affecter de la même façon.

b) Contamination en relation avec le système d'analyse

Il existe toujours dans l'enceinte de la M.S.E., malgré un vide poussé, des vapeurs d'hydrocarbures provenant principalement de l'huile de la pompe à diffusion. Sous l'impact des électrons, il se produit une sorte de cracking : l'hydrogène libéré est évacué par le pompage continu, tandis que le carbone se dépose sur la zone analysée, entraînant les autres éléments "polluants" présents dans l'huile de la pompe qui peuvent ainsi former des taches de contamination.

Pour pallier à ce phénomène, un système anti-contamination a été adapté, utilisant notamment un piège maintenu à la température de l'azote liquide à proximité de l'échantillon. De plus, et dans la mesure du possible, nous avons opéré avec des intensités électroniques élevées, l'utilisation d'un courant élevé provoquant un "décapage" central de la tache de contamination.

Les photos présentées dans les planches n°1 et n° 2 sont les images X réalisées sur le même domaine d'observation d'une nécrose et d'un nodule hépatique de morue.

Les plages blanches sont synonymes de la présence de l'élément concerné et on peut estimer, en première approximation, que les variations de brillance au sein ou entre ces plages sont proportionnelles aux variations de concentrations massiques de l'élément.

Il faut signaler qu'en général, l'obtention d'images X de qualité satisfaisante n'est possible que si l'élément dont on veut analyser la répartition est en concentration suffisante (quelques centaines de ppm), et ce, principalement pour des questions de temps de pose photographique.

IIÈME PARTIE

DETERMINATION DES CONCENTRATIONS METALLIQUES

DANS LES SEDIMENTS MARINS

- CHAPITRE I -

NIVEAUX METALLIQUES DANS UN SEDIMENT

METHODES DE MESURES

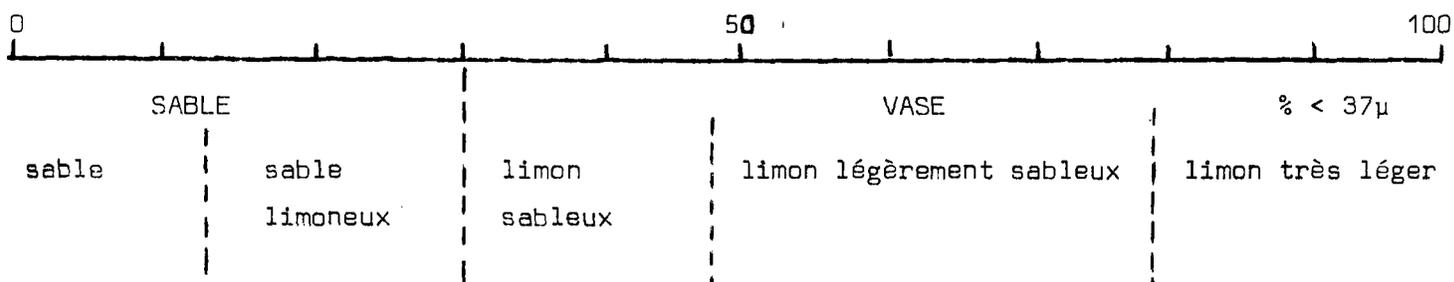
I) DESCRIPTION ET CHOIX DU SEDIMENT

1) DESCRIPTION

Un sédiment marin est un matériau particulièrement hétérogène de par sa structure physique (granulométrie) et sa nature liée à sa composition chimique (sable, limon, vase, argile). Toutefois la détermination de sa composition granulométrique permet de le situer de façon approximative par rapport à 3 classes :

- sable : sédiment contenant un fort pourcentage de fractions granulométriques supérieures à 63 μ .
- limon ou vase : sédiment contenant en majorité des fractions granulométriques comprises entre 2 et 63 μ .
- argile : une grande partie du sédiment possède une granulométrie inférieure à 2 μ .

Un autre type de classement peut se faire également en fonction, cette fois, du pourcentage relatif des fractions granulométriques inférieures à 37 μ présentes dans le sédiment. On peut alors, en fonction de ce pourcentage, le comparer aux types définis par l'échelle décrite ci-dessous. (37)



Ces méthodes de classement bien qu'assez grossières sont très utilisées en analyse de sols. Elles présentent également un certain intérêt dans les études de pollution.

2) CHOIX DU SEDIMENT, CRITERES D'ECHANTILLONNAGE

L'appréciation des niveaux métalliques dans les sédiments peut être envisagée selon le type d'études effectuées et qui rentre en fait dans deux grandes catégories : l'analyse sédimentologique ou l'analyse en vue d'un bilan de pollution.

Dans ce dernier cas, on peut considérer, en simplifiant les choses, qu'un sédiment est constitué d'un ensemble de "grains" de taille et de nature différentes dont les niveaux globaux en éléments métalliques sont le résultat de deux contributions. La première, qui est caractéristique du sédiment, définit ce qu'on pourrait appeler la matrice de constitution.

La seconde correspond à l'apport de l'environnement sur et dans les "grains", par des phénomènes d'absorption chimique et physique, des phénomènes de complexation, de sédimentation etc... De ce fait, une éventuelle pollution aura une influence sensible dans cette seconde contribution.

A ce propos, des études récentes ont montré que les niveaux en éléments métalliques dans les sédiments sont liés à leur nature et à leur granulométrie (37, 39, 41, 76, 80) et certains auteurs préconisent de sélectionner et de doser uniquement les fractions fines. Cependant on relève des divergences dans la définition de la fraction fine à prendre en considération, la granulométrie de celle-ci pouvant aller de 63 μ à 2 μ .

L'analyse limitée à la seule fraction fine, n'est cependant pas la seule à être intéressante puisqu'en sédimentologie notamment on s'intéresse au niveau global de l'ensemble du sédiment.

La sélection arbitraire des fractions fines apparaît justifiée si celles-ci représentent une part importante du prélèvement. Ce choix, par contre, paraît peu représentatif du sédiment lorsque le pourcentage en fractions de faible granulométrie est peu élevé comme c'est le cas dans la zone géographique retenue (93). Les informations tirées de l'analyse de la seule fraction fine seront en conséquence elles aussi peu significatives.

Comme il n'y a aucune raison à ce que ces phénomènes de captation des éléments métalliques dans un sédiment se limitent aux seules fractions légères, nous avons été amenés à nous intéresser à un échantillon plus représentatif de l'ensemble du prélèvement, incluant les fractions de granulométrie plus élevée.

Nous avons cherché à préciser l'influence des différents paramètres intervenant dans l'analyse, soit au stade de la préparation de l'échantillon, soit au stade de l'attaque chimique, en vue de donner le maximum d'informations pour permettre l'exploitation des résultats selon l'objectif propre

de l'étude du sédiment (sédimentologie - pollution). Notons à ce propos qu'on ne peut que constater, voire déplorer, la diversité des méthodes d'échantillonnage et d'attaque chimique employées dans les travaux actuels.

Pour l'étude proprement dite, nous avons retenu un échantillon dont la composition et la nature se situaient dans la moyenne de ceux collectés dans la zone géographique considérée. Dans la classification proposée (I,1) il s'agit d'un sable et toute la suite du travail sera relative à ce type de sédiment.

II) ECHANTILLONNAGE METHODES D'ATTAQUES

1) ECHANTILLONNAGE

Avant d'aborder l'étude chimique du sable retenu nous donnerons quelques informations générales relatives aux méthodes de prélèvement utilisées sur le terrain.

a) Modes de prélèvements :

α) Carottage :

Il respecte la stratification du sédiment et permet aussi une analyse dans le temps de l'évolution du sédiment. Ce type de prélèvement est très ponctuel et peut être sujet à caution quant à sa représentativité vis-à-vis d'une aire déterminée.

β) Dragage :

Il permet de recueillir préférentiellement les couches superficielles en les perturbant énormément. Le volume du prélèvement est généralement nettement plus important que dans le carottage, ce qui nécessite une "homogénéisation" préalable à la prise d'essai d'analyse.

γ) Prélèvement manuel :

Il est effectué à marée basse et s'avère être un compromis entre les deux modes précédents. Il ne permet que l'étude d'une mince frange littorale.

Quelque soit le mode de prélèvement, une grande inconnue subsiste : la représentativité de l'échantillon prélevé par rapport à l'aire qu'il est sensé décrire. Cette variable, très difficile à apprécier, est dans la plupart des cas purement et simplement ignorée. On pourrait envisager d'appréhender cet aspect du problème au cours du traitement statistique d'un grand nombre

d'analyses effectuées dans des secteurs restreints mais caractéristiques de chaque classe de sédiments.

b) Echantillonnage dans le prélèvement

On procède généralement au tamisage du prélèvement sur un tamis de 1 mm afin d'en éliminer la faune et les matériaux tels que galets, cailloux, résidus coquilliers, etc... La fraction inférieure à 1 mm est ensuite lavée et séchée à l'étuve à 105°C. Elle constitue l'état de référence du sédiment.

La quantité recueillie pouvant éventuellement atteindre plusieurs kilogrammes, le problème est alors de réaliser un échantillonnage de l'ordre de quelques grammes qui en soit l'image fidèle et représentative. Ceci est d'autant plus difficile que les sédiments sableux légèrement limoneux sont soumis à des effets importants de granulométrie et de gravité des grains, qui rendent assez illusoire toute tentative d'homogénéisation.

Plusieurs méthodes d'échantillonnage peuvent être envisagées dans la mise en oeuvre de l'analyse chimique proprement dite, elles se ramènent généralement aux procédures suivantes :

- * Prises dans le prélèvement initial d'un certain nombre d'échantillons qui sont dosés et dont on fait la moyenne.
- * Séparation des différentes fractions granulométriques par tamisage du prélèvement initial ou d'une partie représentative de celui-ci s'il est trop volumineux. Reconstitution d'un échantillon synthétique à partir des différentes fractions.
- * Homogénéisation par broyage à granulométrie donnée d'une partie représentative du prélèvement initial et prise de plusieurs échantillons en nombre inférieur ou égal à celui de la première procédure.
- * Broyage à granulométrie donnée de toutes les fractions granulométriques préalablement séparées. Reconstitution d'un échantillon synthétique à partir de celles-ci.

Nous avons, dans le cas du sable retenu, testé l'ensemble de ces procédures qui, outre les différences qu'elles risquent d'introduire dans l'appréciation des niveaux métalliques, sont susceptibles de mettre en

en évidence les écarts observables entre les niveaux de chaque fraction granulométrique. De ce fait, ceci nous amènera à juger de leur contribution au niveau global du sable dans son entier.

Remarques :

En ce qui concerne les boues et les vases, les problèmes d'échantillonnage se posent de façon différente, en raison de la texture de ces matériaux. Si les effets de granulométrie et de gravité y sont moins marqués, il n'en demeure pas moins, qu'après séchage, ils prennent en masse et nécessitent alors un broyage aussi doux que possible, afin de ne pas en altérer la granulométrie. Après ce traitement on peut réaliser les prises d'échantillons directement dans le prélèvement ou à la suite de la séparation granulométrique qui ne s'effectue pas par tamisage, mais par sédimentation ou densimétrie (27).

2) METHODES D'ATTAQUE CHIMIQUE

Si l'échantillonnage proprement dit est sujet à de nombreux choix, l'éventail des méthodes d'attaque chimique s'avère lui aussi très large.

a) Méthodes d'attaque généralement employées.

On peut les classer en deux grands types :

- les méthodes d'attaque totale, qui dissolvent entièrement ou presque la totalité de l'échantillon.
- les méthodes d'attaque partielle qui n'opèrent qu'une solubilisation partielle de la prise d'essai.

α) Les méthodes d'attaque totale :

Elles se subdivisent en deux grandes classes (1, 3, 17, 32).

* 1) Les méthodes par fusion de perles :

Très précieuses en fluorescence X, elles sont une première étape pour l'analyse en absorption atomique puisqu'elles sont alors suivies d'une redissolution acide avec introduction en solution d'une charge supplémentaire pouvant entraîner des interférences.

Elles permettent toutefois d'estimer les niveaux métalliques dans leur totalité par solubilisation complète des silicates.

* 2) Les méthodes par attaque acide :

L'acide fluorhydrique y est employé seul ou associé aux autres acides minéraux. Elles solubilisent presque entièrement la matrice de silicates et de ce fait permettent de mesurer les concentrations métalliques totales de l'échantillon.

β) Les méthodes d'attaque partielle :

Celles-ci respectent plus ou moins l'intégralité de la matrice siliceuse. Elles sont caractérisées par un rendement d'extraction variable et sont parfois spécifiques pour l'extraction de certains métaux. Elles peuvent être de ce fait subdivisées en deux groupes, à savoir :

* 1) Les méthodes par dissolution acide :

Elles **utilisent** les acides minéraux classiques seuls ou associés : acide nitrique, chlorhydrique, sulfurique, perchlorique (28, 32). Leur efficacité d'extraction varie, pour l'ensemble des métaux, avec la nature et la composition du mélange acide utilisé et les conditions de température retenues.

* 2) Les méthodes douces (13, 36, 44, 45) :

Généralement opérées à froid, elles se caractérisent par le fait qu'elles ne sont employées que pour extraire certains métaux de façon spécifique, avec des rendements d'extraction inférieurs à ceux des méthodes par dissolution acide. Ces procédures s'apparentent davantage à des lavages complexants qu'à des attaques chimiques de par les conditions opératoires et les réactifs utilisés : EDTA 0,05 N, HCl 0,5 N ou 1N, mélange chlorhydrate d'hydroxylamine acide acétique. Ainsi les rendements d'extraction comparés à ceux des autres méthodes acides sont voisins pour les alcalins et les alcalino-terreux mais beaucoup plus faibles pour les autres métaux.

b) Choix des méthodes d'attaque :

L'objectif d'information générale recherché dans ce travail nécessite de connaître les rendements d'extraction des différentes attaques chimiques et d'en tenir compte dans l'interprétation et l'appréciation des résultats. C'est pourquoi nous n'avons pas à priori, ni retenu, ni exclus, les méthodes d'attaque totale, d'autant que leur mise en oeuvre requiert généralement des prises d'essais d'un maximum de l'ordre du gramme, ce qui accroît considéra-

blement les problèmes posés par l'échantillonnage (II 1. b).

Les méthodes d'attaque partielle s'adaptent mieux à nos objectifs notamment par le fait qu'elles mettent en oeuvre des prises d'essai de masse supérieure. Cependant parmi elles, les méthodes douces s'avèrent peu fiables pour les métaux que nous avons choisi de doser, de par leur faible rendement d'extraction et leur spécificité.

Nous avons donc finalement surtout retenu les procédures d'attaque par dissolution acide dont l'efficacité et les rendements d'extraction sont élevés pour les éléments que nous voulons doser. Nous avons cependant éliminé les méthodes qui utilisent l'acide sulfurique seul ou associé, car celui-ci précipite notamment le sulfate de calcium, ce qui peut provoquer des phénomènes de rétention des autres métaux par le précipité, et donc conduire à une solution non représentative.

c) Comparaison de l'efficacité des méthodes d'extraction acide

α) Rendement d'extraction

Nous avons testé sur un même échantillon et pour le dosage du fer l'efficacité des 3 attaques acides suivantes : attaque nitrique à ébullition, attaque à l'eau régale à ébullition, attaque triacide à ébullition utilisant dans un premier temps l'eau régale, puis, l'acide perchlorique. Les attaques ont été répétées 3 fois de suite sur la même prise d'essai initiale. Les résultats de dosages du fer du sable initial exprimés en p.p.m, sont rassemblés dans le tableau n° 5.

Attaques	1ère	2ème	3ème	TOTAL
HNO ₃	4 285	333	160	4 778
EAU REGALE	4 900	160	-	5 060
TRIACIDE	6 000	-	-	6 000

Tableau n° 5

Une procédure d'extraction est d'autant plus efficace que les résultats des dosages sont plus élevés. Ainsi, l'attaque triacide est celle qui possède le meilleur rendement d'extraction relativement aux deux autres, ce résultat étant prévisible par le fait que l'acide perchlorique a le pouvoir oxydant le plus élevé et la température d'ébullition la plus haute.

D'autre part il faut noter qu'une seule attaque suffit à extraire la totalité du fer extractible par la méthode triacide tandis que l'eau régale et l'acide nitrique ne présentent pas une telle efficacité puisqu'ils solubilisent jusqu'à 10 % de la quantité de fer extractible au cours des seconde et troisième reprises.

Les écarts observés dans l'appréciation des niveaux en fer même après 3 reprises, montrent que les solutions d'attaque à l'eau régale et à l'acide nitrique, si elles sont équivalentes, sont finalement peu représentatives de l'échantillon initial puisqu'elles présentent un écart par défaut d'environ 20 % relativement à la solution d'attaque triacide.

Ainsi on peut classer les 3 procédures d'attaque testées en fonction de leur rendement d'extraction suivant l'inégalité $\text{HClO}_4 > \text{Eau régale} > \text{HNO}_3$.

Ce classement s'applique également aux taux de représentativité des solutions relativement à l'échantillon initial, et, à la limite, à la reproductibilité de l'attaque puisqu'on peut craindre pour les deux dernières que celle-ci dépende des niveaux de concentrations.

β) Influence de la granulométrie

La granulométrie qui est un paramètre propre à l'échantillon peut éventuellement influencer l'efficacité d'une attaque acide. Pour juger de cette influence éventuelle, nous avons entrepris de comparer l'efficacité de l'attaque nitrique et triacide pour le dosage du fer dans les différentes fractions granulométriques d'un sable en prenant comme référence les dosages effectués en fluorescence X après fusion au tétraborate de lithium.

Nous donnons dans le tableau n° 6 les résultats exprimés en ppm ainsi que les écarts calculés en pourcentage entre les résultats obtenus par les 2 méthodes acides et ceux obtenus par fluorescence X et attaque triacide.

Fractions mm	0,5<F<1	0,4<F<0,5	0,315<F<0,4	0,25<F<0,315	0,2<F<0,25	0,16<F<0,2	0,1<F<0,16
HNO ₃		5 200	2 800	2 650	3 000	2 600	3 300
Triacide	6 250	5 200	3 075	3 000	3 750	3 200	4 400
Fluo X	6 540	5 770	3 550	3 835	4 050	3 690	5 130
Ecart ₁		0	9 %	11 %	20 %	18 %	25 %
Ecart ₂	4,4 %	10 %	13 %	22 %	7 %	13 %	16 %

TABLEAU N° 6

$$\text{Ecart}_1 = \% \text{ d'écart HNO}_3 - \text{triacide} = \frac{(\text{Triacide}) - (\text{HNO}_3)}{(\text{Triacide})} \times 100$$

$$\text{Ecart}_2 = \% \text{ d'écart Triacide - FluoX} = \frac{(\text{Fluo X}) - (\text{Triacide})}{(\text{Fluo X})} \times 100$$

Pour l'ensemble des dosages, l'attaque triacide s'avère plus efficace que l'attaque nitrique. Cependant, si l'on compare les écarts calculés pour ces deux méthodes entre les concentrations mesurées (écart 1) nous observons qu'ils ne sont pas constants et qu'ils varient d'une fraction granulométrique à l'autre.

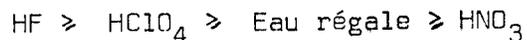
Ces variations peuvent être dues à la nature différente de chaque fraction mais elles reflètent également l'influence de la granulométrie sur les rendements d'extraction.

Ainsi pour une granulométrie comprise entre 400µ et 500µ les 2 méthodes ont la même efficacité alors que pour la fraction 100µ < F < 160µ, celle-ci est de 25 % supérieure pour l'attaque triacide.

Si nous considérons maintenant les écarts "attaque-triacide, fluorescence X" (Ecart 2) nous pouvons faire les mêmes constatations puisque là encore les écarts calculés pour chaque fraction ne sont pas constants. Il est difficile en fait d'apprécier dans les variations observées la part qui revient à la granulométrie propre de l'échantillon et celle qui est en relation avec sa nature (état chimique du métal dans l'échantillon). Ceci implique, dans la mesure où l'on voudrait s'affranchir de cette dernière contribution, de pouvoir disposer d'échantillons de même nature mais de granulométrie différente. Or le broyage, dans cette optique, n'est pas un artifice satisfaisant puisqu'il modifie l'intégralité des grains. Nous reviendrons sur ces problèmes au cours du 3ème paragraphe.

γ) Classement des méthodes

Les informations tirées des résultats de nos essais trouvent leur confirmation dans la bibliographie. HAGEMIAN et CHAU (52) ont entrepris une étude comparative des différentes méthodes d'extraction, portant sur 10 métaux présents dans la fraction de granulométrie inférieure à 180 μ de sédiments marins. Ils établissent un classement par efficacité d'extraction dans lequel il apparaît que les méthodes utilisant l'acide perchlorique seul ou en association donnent les résultats les plus proches de ceux obtenus par attaque fluorhydrique. Ce classement est confirmé par d'autres auteurs (14, 51, 52,) et peut se résumer par l'inégalité



A titre d'information, nous donnons dans le tableau n° 7 les rendements d'extraction calculés en pourcentage relativement à l'attaque fluorhydrique des différentes attaques testées et pour les éléments qui nous intéressent : fer, zinc, cuivre, plomb, cadmium.

TABLEAU N° 7

RENDEMENT EXPRIME EN % RELATIVEMENT A L'ATTAQUE HF				
attaques éléments	HNO ₃	EAU REGALE	HClO ₄ . HNO ₃	HF. HClO ₄ . HNO ₃
Fe	76	76	81	100
Zn	75	71	77	100
Cu	80	80	100	100
Pb	65	65	70	100
Cd	10	15	35	100

On constate que la classification établie lors de nos essais est valable pour l'ensemble des éléments que nous voulons doser.

Enfin, il ressort également de l'étude bibliographique que les rendements d'extraction des attaques acides dépendent de la granulométrie des échantillons ce qui amène certains auteurs à "standardiser" l'état granulométrique de ceux-ci par broyage ou par tamisage. (8, 40).

δ) Remarque à propos du titane

Le Titane figure dans la série des métaux auxquels nous nous sommes intéressés. Son dosage nécessite, quand il est à l'état de dioxyde, une solubilisation par lixiviation sulfurique en présence de sulfate d'ammonium, précédée d'une destruction chlorhydrique des carbonates. Il s'est avéré que

pour un sable, les résultats de dosages obtenus par cette méthode sont comparables à ceux résultant d'une attaque triacide, l'écart observé étant d'environ 10 %. Ceci permet de supposer que l'apport en titane dans le sédiment n'est pas sous forme de TiO_2 seulement mais aussi sous une forme oxydable (hydroxyde du complexe).

L'ensemble de nos essais et des informations bibliographiques montre que, pour chacun des métaux retenus dans notre étude, la méthode d'attaque triacide s'avère la plus fiable en raison de son efficacité et de sa reproductibilité d'extraction, et, la mieux adaptée aux objectifs que nous nous sommes fixés.

d) Description de la méthode d'attaque triacide (32)

α) Réactifs utilisés :

Ils sont répertoriés dans l'annexe

β) Matériel - Précautions opératoires.

La verrerie employée a été au préalable nettoyée à l'eau régale à chaud, mise à tremper plusieurs heures dans l'eau distillée pour permettre la désorption de toute trace métallique éventuellement présente et finalement rincée à l'eau distillée.

γ) Mode opératoire.

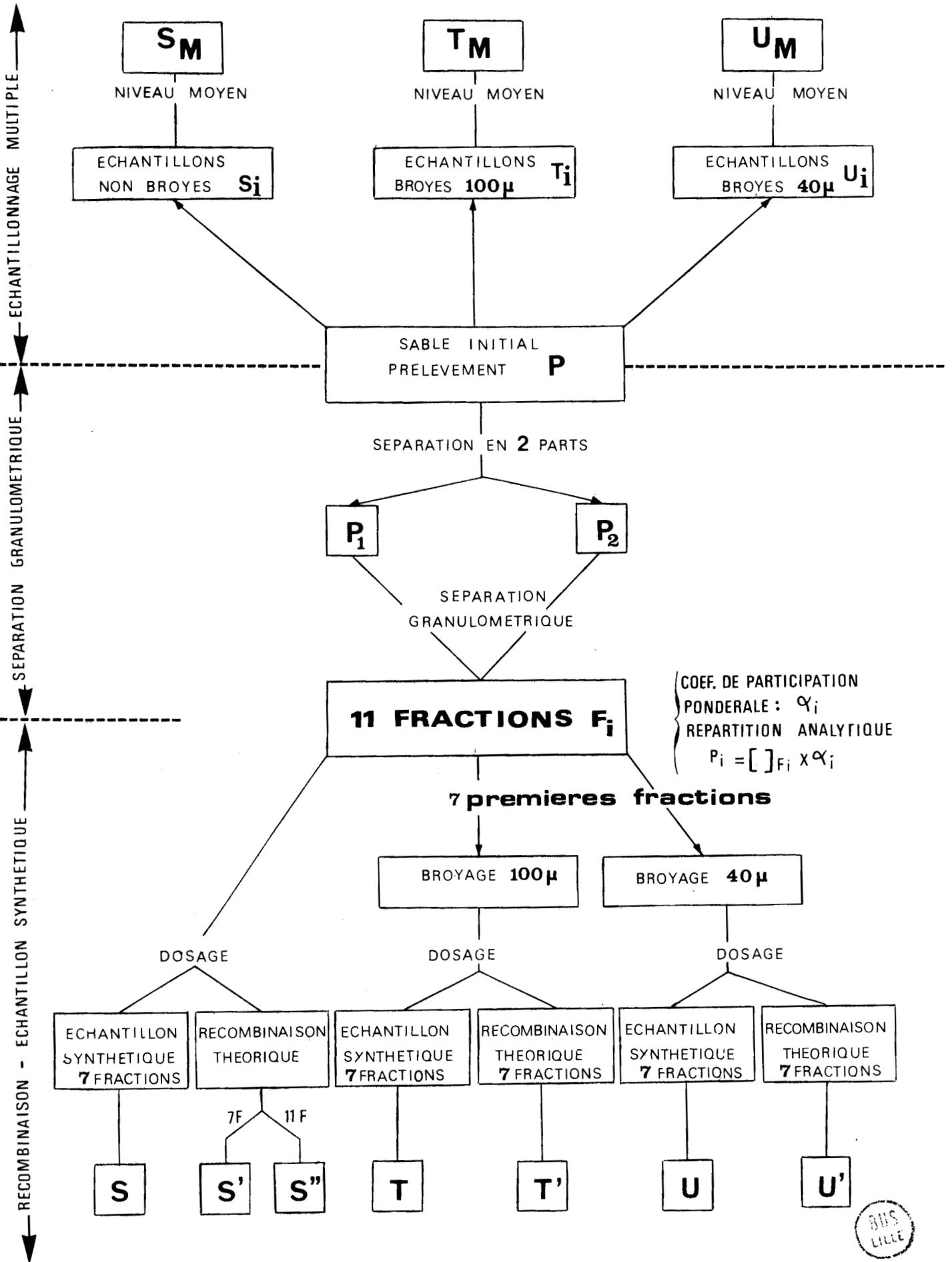
Les détails du mode opératoire sont reportés en annexe. On opère selon un processus d'oxydation, d'abord par lixiviation à l'eau régale à ébullition de l'échantillon, suivie d'une lixiviation à l'acide perchlorique bouillant. La solution d'attaque est ensuite reprise à l'eau bouillante, puis séparée du résidu par filtration et diluée.

III) RESULTATS DES ESSAIS

1) SCHEMA DIRECTEUR DES ESSAIS

Nous définirons tout d'abord le vocabulaire employé dans la suite des essais et qui figure dans le schéma directeur présenté à la figure n° 6.

FIG 6



a) Définitions

* Etat standard : Tous les résultats de dosages sont exprimés en ppm relativement au sable ou à une fraction granulométrique de celui-ci, séché à l'étuve à 105 °C pendant 24 heures.

* Echantillonnage multiple : Prise au hasard dans l'ensemble du prélèvement initial, après homogénéisation, d'un certain nombre d'échantillons qui sont soumis directement à l'analyse ou analysés après broyage.

* Echantillonnage synthétique : Reconstitution d'une prise d'essai unique à partir des fractions granulométriques du sable séparées en tenant compte de leur représentativité pondérale.

* Recombinaison théorique : Elle utilise les résultats de dosages de chaque fraction granulométrique. On effectue leur sommation en les affectant du coefficient de participation pondérale relatif à chaque fraction.

b) Schéma directeur des essais (Fig 6)

Il se décompose en deux grandes parties. La première dans laquelle aucune manipulation granulométrique (tamisage) n'est faite, traite de l'estimation du niveau global du prélèvement de sable pris comme référence. Cette estimation est faite à partir d'un échantillonnage multiple, suivi ou non d'un broyage, dans l'ensemble du sédiment. On peut estimer à ce stade, la dispersion des résultats due à l'échantillonnage et comparer l'influence du broyage sur les moyennes.

La seconde partie des essais est calquée sur la première après séparation des fractions granulométriques. Cette procédure permet aussi d'estimer le niveau global du sédiment, soit par recombinaison théorique des concentrations propres à chaque fraction, soit par dosage d'un échantillon synthétique reconstitué à partir de celles-ci, ces mesures pouvant alors être comparées à celles de la première partie, avec ou sans broyage.

Enfin le dosage de chacune des fractions granulométriques permet de juger de son niveau métallique relatif et de sa contribution à la concentration totale du sédiment.

2) DETERMINATION DES NIVEAUX PAR ECHANTILLONNAGE MULTIPLE

a) Description et résultats des essais

α) Analyse directe :

Nous avons prélevé dans l'ensemble du sable huit échantillons d'environ 20 grammes qui ont été ensuite traités par attaque triacide et dosés. Les résultats des dosages figurent au tableau n° 8 et correspondent aux niveaux globaux des échantillons non broyés dont la moyenne s'exprime par S_M .

β) Analyse après broyage à 100 μ :

Dans un second temps, une prise d'environ 80 grammes de sable a été broyée au broyeur planétaire jusqu'à ce que la granulométrie finale soit inférieure à 100 μ, résultat obtenu après un temps de broyage d'environ 40 minutes. Le broyat est séparé en 4 échantillons de 20 grammes qui sont alors soumis à l'analyse. Les concentrations correspondant aux niveaux des échantillons broyés à 100 μ dont la moyenne donne T_M sont regroupées dans le tableau n° 9.

γ) Analyse après broyage à 40 μ :

Le broyage à 40μ nous a occasionné quelques difficultés. En effet après des temps de broyage de l'ordre de 1 heure 30 mm nous n'avons pu obtenir une granulométrie totalement inférieure à 40μ, le refus à ce tamis étant de 39,4 %.

ECHANTILLONS NON BROYES	Fe	Ti	Cu	Zn	Pb	Cd
S ₁	4 314	253	1,86	32,2	1,86	0,37
S ₂	4 163	258	1,45	12,0	3,02	0,48
S ₃	4 169	263	3,51	20,0	3,13	1,00
S ₄	4 165	263	2,13	12,5	3,13	0,25
S ₅	4 166	307	2,63	8,6	3,13	0,25
S ₆	4 183	269	1,88	10,0	4,40	0,50
S ₇	4 244	270	1,25	8,8	3,76	0,25
S ₈	4 228	214	1,89	10,7	3,78	0,38
MOYENNE S_M	8:4 204	8:262	8:2,07 5:1,67	6:10,4	8:3,28	8:0,44

TABLEAU N° 8

ECHANTILLONS BROYES 100 μ	Fe	Ti	Cu	Zn	Pb	Cd
T ₁	4 336	370	3,58	-	5,39	0,68
T ₂	4 389	361	3,58	-	5,32	1,03
T ₃	4 206	419	3,67	-	5,31	0,49
T ₄	4 213	374	3,57	-	5,34	0,56
MOYENNE T _M	4 286	381	3,60	-	5,34	0,69

TABLEAU N° 9

ECHANTILLONS BROYES 40 μ	Fe	Ti	Cu	Zn	Pb	Cd
U ₁	4 908	450	3,79	-	7,01	0,78
U ₂	5 000	435	3,76	-	6,95	0,62
U ₃	5 025	448	3,71	-	6,98	0,93
U ₄	5 108	481	3,77	-	6,97	1,24
MOYENNE U _M	5 011	454	3,76	-	6,98	0,89
RESIDU R	3 662	299	4,88	-	6,10	0,64
U' _M	4 480	393	4,20	-	6,63	0,79

TABLEAU N° 10

(*) σ_M %	Fe	Ti	Cu	Zn	Pb	Cd
S _M : NON BROYE	2,6	18,3	69,5	17,3	34,4	127
T _M : BROYE 100 μ	2,4	10,0	2,0	-	1,0	50
U _M : BROYE 40 μ	2,0	6,0	1,3	-	0,4	39

(*) σ_M : Ecart maximum à la moyenne en pourcentage

TABLEAU N° 11



Prolonger le temps de broyage n'était pas souhaitable en raison des risques de contamination par abrasion. Aussi avons-nous augmenté le volume de la prise à broyer de façon à obtenir une masse suffisante de broyat nécessaire à 4 échantillons de 20 grammes et compte-tenu du pourcentage de refus au tamis. Le résidu correspondant à également été dosé (R). Les résultats de dosage figurent au tableau n° 10. Dans ce tableau nous avons appelé U'_M les niveaux de l'échantillon moyen broyé à 40 μ compte-tenu de la présence du résidu dont la contribution pondérale est prise en compte et exploité selon

$$U'_M = U_M (100 - 39,4) + R \times 39,4$$

N.B. : Les concentrations en zinc ne figurent pas aux tableaux 9 et 10, une contamination malencontreuse qui s'est produite durant les manipulations ayant enlevé toute signification aux résultats.

b) Discussion des résultats (Tableaux 8, 9, 10)

L'ensemble des résultats amène à formuler les remarques suivantes :

α) Dispersion des résultats

Les niveaux des échantillons non broyés (tableau n° 8) montrent une large dispersion qui a tendance à se resserrer pour les échantillons broyés à 100 μ (Tableau n° 9) et davantage encore pour les échantillons broyés à 40 μ (Tableau n° 10).

Pour mieux en juger, nous donnons dans le tableau n° 11 les écarts maxima aux moyennes S_M , T_M , U_M calculés en pourcentage.

Pour les échantillons non broyés, la dispersion est faible pour le fer, plus marqué pour le titane et le zinc mais très importante pour les autres métaux puisqu'elle atteint jusqu'à 127 % pour le cadmium. Sans préjuger pour le moment de l'exactitude des résultats moyens qu'il est nécessaire de comparer à ceux obtenus par les autres méthodes d'échantillonnage, il semble néanmoins que la validité de l'échantillonnage multiple sans broyage soit sujette à caution.

β) Influence du broyage

Le broyage à 100 μ resserre de façon notoire la dispersion, de même que celui à 40 μ . Celle-ci devient tout à fait acceptable pour tous les métaux sauf le cadmium qui semble être réparti dans les échantillons de façon très

hétérogène. De plus, les écarts observés pour le dosage du cadmium sont en relation avec l'erreur analytique plus importante que l'on peut commettre au cours du dosage de ce métal (Cf. partie analytique).

En ce qui concerne la procédure utilisée pour le broyage à 40 μ (Cf. III 2a 3), celle-ci ne s'avère pas satisfaisante car, comme on peut le constater dans le tableau n° 10, elle enrichit artificiellement le broyat relativement au résidu et fausse ainsi le résultat. Le calcul des niveaux U'_M , qui prend en compte les concentrations respectives du broyat et du résidu et leur participation pondérale, corrige cet effet, les nouvelles valeurs calculées restant en complète harmonie avec les remarques évoquées précédemment.

La comparaison entre les niveaux moyens obtenus pour les 3 variantes de cette méthode d'échantillonnage (S_M , T_M , U'_M) montre que le broyage affecte l'appréciation des niveaux en accroissant l'efficacité d'extraction de la méthode d'attaque. L'interaction n'est cependant pas constante pour tous les métaux puisque l'accroissement des niveaux en fer, titane et cadmium est plus faible que celui des autres niveaux métalliques. Ce fait est peut être particulier au sable étudié mais semble généralisable, si l'on admet que les métaux dans un sédiment ne sont pas tous inclus et absorbés de la même façon dans la matrice siliceuse.

γ) Signification des résultats :

Dans la mesure où l'on admet le modèle décrivant les niveaux métalliques comme étant la résultante de 2 contributions, l'une relative à la constitution propre des grains de sable, l'autre correspondant à l'apport du milieu extérieur, il est clair que l'appréciation des niveaux totaux s'apparentant à l'analyse des sols requiert l'utilisation d'une procédure spécifique, par le fait qu'elle doit solubiliser au maximum les éléments métalliques présents. Dans ces conditions, l'échantillonnage multiple accompagné d'un broyage aussi fin que possible apparaît tout à fait adapté à cet objectif, compte-tenu de sa bonne répétabilité et du fait qu'il permet d'atteindre et de solubiliser lors de l'attaque chimique la plus grande partie des métaux présents.

Si maintenant l'on s'intéresse à la signification des résultats relativement à l'appréciation des niveaux correspondant à l'apport du milieu

extérieur, et plus particulièrement, à ceux résultant de la pollution, la tendance actuelle, compte-tenu du modèle décrit précédemment veut qu'on ne le fasse qu'en respectant au maximum lors du traitement de l'échantillon la matrice de constitution.

Ainsi l'échantillonnage multiple sans broyage peut paraître conforme à ces exigences bien que l'importante dispersion des résultats restreigne notablement le degré de confiance.

D'autre part, nous avons vu que chaque métal avait un comportement particulier vis-à-vis de l'attaque chimique et du broyage. Ceci peut signifier, en dehors du fait que le broyage permet d'atteindre les métaux de constitution au coeur des grains, qu'il mobilise également, lors de l'attaque chimique, ceux, provenant d'un apport extérieur et qui ont été piégés à l'intérieur.

De ce fait, bien qu'il soit très difficile de définir la part exacte qui revient à chacune de ces contributions, il semble que le choix d'une méthode d'échantillonnage représentative pour les études en vue d'un bilan de pollution ne soit pas aussi simple que celui généralement adopté.

Nous essaierons dans la suite de nos essais de mieux définir les critères permettant d'orienter ce choix.

3) DOSAGE DES FRACTIONS GRANULOMETRIQUES

a) Séparation des fractions granulométriques

α) Mode opératoire :

Le tamisage s'opère sur une série de 10 tamis AFNOR dont les vides de mailles sont compris entre 500 microns et 40 microns suivant une progression géométrique de raison $10\sqrt[10]{10}$

Les détails de la procédure sont donnés en annexe. Nous avons pour simplifier l'écriture attribué à chaque fraction un numéro : le n° 1 correspond à la fraction la plus grossière, le n° 11 à la plus fine. Les indices intermédiaires suivent la partition du tamisage (Tableau n° 12)

TABLEAU N° 12

CODE	VIDES DE MAILLES en microns (μ)	CODE	VIDES DE MAILLES en microns (μ)
F ₁	500 < F < 1 000	F ₇	100 < F < 160
F ₂	400 < F < 500	F ₈	80 < F < 100
F ₃	315 < F < 400	F ₉	63 < F < 80
F ₄	250 < F < 315	F ₁₀	40 < F < 63
F ₅	200 < F < 250	F ₁₁	F < 40
F ₆	160 < F < 200		

β) Résultats

En raison du volume important du prélèvement initial, nous avons opéré la séparation granulométrique sur 2 lots de masse égale et dans des conditions identiques. Les bilans pondéraux de tamisage ont été supérieurs à 99,5 %.

Le tableau n° 13 rend compte des pourcentages en poids des fractions recueillies. Les différences observées entre les 2 tamisages ne sont pas le fait d'une mauvaise reproductibilité de la séparation mais elles illustrent l'influence des effets de granulométrie et de gravité au sein du sable lors de sa séparation en 2 lots.

Nous avons de ce fait rassemblé en un même ensemble les fractions équivalentes des 2 tamisages et considéré pour la suite la moyenne des bilans pondéraux de séparation α_i , qui est défini par le rapport de la masse de la fraction F_i à la masse totale des fractions: $\alpha_i = \frac{M_i}{\sum_{L=1}^{11} M_i}$. Ainsi chaque frac-

$$\alpha_i = \frac{M_i}{\sum_{L=1}^{11} M_i}$$

tion F_i est affectée de son coefficient de participation pondérale défini par α_i .

TABLEAU N° 13

FRACTION	1er TAMISAGE	2ème TAMISAGE	MOYENNE α_i
F ₁	11,29	12,55	11,92
F ₂	6,98	7,73	7,36
F ₃	28,24	32,50	30,37
F ₄	15,76	20,20	17,98
F ₅	9,47	9,82	9,64
F ₆	20,35	11,32	15,83
F ₇	6,50	5,10	5,80
F ₈	0,19	0,40	0,30
F ₉	0,20	0,43	0,32
F ₁₀	0,11	0,16	0,14
F ₁₁	0,09	0,11	0,10

b) Dosage des fractions granulométriques

Le mode opératoire est semblable à celui exposé au 2ème paragraphe.(2a)

α) Analyse directe :

La prise d'essai pour l'analyse des fractions non broyée est d'environ 20 g pour les 7 premières fractions, de l'ordre du gramme pour les quatre dernières, du fait de leur faible quantité. Les 11 prélèvements sont attaqués simultanément par attaque triacide et dosés. Les résultats figurent dans le tableau n° 14.

β) Analyse après broyage :

Le broyage n'a été effectué que sur les 7 premières fractions, chacune des quatre dernières étant pondéralement trop faible pour subir efficacement ce traitement. Les analyses effectuées après broyage à 100 μ sont regroupées au tableau n° 15. Nous avons rencontré les mêmes problèmes au cours du broyage des fractions à 40 μ qu'avec celui du sable global (f 2, a, 3). Nous n'avons cependant pas dosé les résidus correspondant au refus du tamis à 40 μ pour chacune des fractions. Les résultats analytiques sont rassemblés dans le tableau n° 16. Ceux-ci, déterminés à partir du broyat sans tenir compte du résidu de refus sont néanmoins représentatifs car les écarts que nous avons observés entre les niveaux U_M et U'_M du sable global (tableau n° 10) sont de l'ordre de 10 %).

c) Détermination des niveaux par échantillonnage synthétique.

L'échantillonnage synthétique consiste à reconstituer une prise d'essai à partir des fractions granulométriques séparées en tenant compte de leur coefficient de participation pondérale α_i . Nous avons fixé la masse de l'échantillon à 20 g et, de ce fait, prélevé $20 \alpha_i$ grammes de chacune des 7 premières fractions en négligeant les autres dont la participation pondérale est trop faible.

Nous avons ainsi reconstitué 3 échantillons correspondant aux 3 types de traitement effectués précédemment et qui vont nous permettre de déterminer les niveaux globaux du sable reconstitué non broyé (S), ceux du sable reconstitué broyé à 100 μ (T), enfin ceux du sable broyé à 40 μ (U). Ces valeurs pour les 6 métaux dosés sont à comparer avec les résultats moyens définis au 2ème paragraphe (S_M, T_M, U_M).

d) Appréciation des niveaux par recombinaison théorique :

La recombinaison théorique utilise les résultats d'analyses de chaque fraction. On peut en effet, à partir des niveaux de chacune d'elles et en tenant compte de son coefficient de participation α_i , déterminer les niveaux théoriques en chaque élément en utilisant les formules :

$$\text{pour } S', T', U' : []_7 = \sum_{i=1}^7 \alpha_i \cdot []_{Fi}$$

pour S" :
$$\left[\right]_{II} = \sum_{i=I}^{II} \alpha_i \left[\right]_{Fi}$$

- $\left[\right]_7$: Niveau théorique calculé à partir des 7 premières fractions.
- $\left[\right]_{II}$: Niveau théorique calculé à partir des II fractions
- $\left[\right]_{Fi}$: Niveau de la fraction Fi

Nous comparons dans les tableaux 17, 18, 19 l'ensemble des mesures effectuées par échantillonnage synthétique et recombinaison théorique avec les niveaux globaux moyens précédemment déterminés par échantillonnage multiple. Chaque tableau correspond respectivement aux échantillons non broyés (Tableau n° 17), broyés à 100 μ (Tableau n° 18) broyés à 40 μ (Tableau n° 19).

NON BROYES	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇	F ₈	F ₉	F ₁₀	F ₁₁
Fe	6 598	5 695	3 261	3 068	3 736	3 218	4 504	5 963	5 838	6 223	9 989
Ti	376	442	289	172	171	107	156	375	234	366	389
Cu	1,89	1,86	1,01	1,00	1,25	1,51	1,88	9,65	10,95	17,41	72,14
Zn	12,6	14,9	8,2	7,6	9,3	9,4	16,3	36,9	36,5	56,6	133,2
Pb	2,14	3,29	3,66	3,39	3,98	3,02	4,00	17,04	18,25	21,76	66,48
Cd	0,13	0,62	0,63	0,63	0,50	0,63	0,63	1,14	1,46	1,74	4,44

TABLEAU N° 14

BROYES 100 μ	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇
Fe	6 908	5 760	3 463	3 518	3 900	3 432	5 307
Ti	400	523	491	329	258	172	243
Cu	4,42	6,35	2,60	4,00	2,58	2,29	3,80
Zn							
Pb	5,00	4,95	5,41	5,72	7,01	5,00	6,00
Cd	0,86	0,85	0,87	0,72	0,50	0,64	1,14

TABLEAU N° 15

BROYES 40 μ	F ₁	F ₂	F ₃	F ₄	F ₅	F ₆	F ₇
Fe	7 189	6 188	4 184	5 124	5 678	4 870	7 383
Ti	785	625	496	423	287	178	276
Cu	4,45	6,63	2,75	4,45	2,71	2,33	3,92
Zn							
Pb	6,89	5,89	6,18	5,90	9,05	5,17	6,53
Cd	1,21	1,03	1,10	0,82	0,65	0,91	1,31

TABLEAU N°16





ECHANTILLONS NON BROYES					
échantil. éléments	S _M	S	S'	S''	
Fe	4 204	3 766	3 903	3 920	
Ti	262	245	233	234	
Cu	2,07 1,67	1,40	1,35	1,47	
Zn	10,4	9,92	9,95	10,2	
Pb	3,28	3,50	3,34	3,48	
Cd	0,44	0,47	0,56	0,57	

TABLEAU N° 17

ECHANTILLONS BROYES 100 μ				
échantil. éléments	T _M	T	T'	
Fe	4 286	4 197	4 200	
Ti	381	365	361	
Cu	3,60	3,30	3,36	
Zn	/	/	/	
Pb	5,34	5,32	5,50	
Cd	0,69	0,76	0,78	

TABLEAU N° 18

ECHANTILLONS BROYES 40 μ				
échantil. éléments	U _M	U	U'	
Fe	5 011	5 200	5 250	
Ti	453	458	439	
Cu	3,76	4,00	3,55	
Zn	/	/	/	
Pb	6,98	6,60	6,32	
Cd	0,89	0,89	0,99	

TABLEAU N° 19

e) Exploitation des résultats - Discussion

α) Distribution des niveaux métalliques dans les fractions granulométriques

* 1) Variation des distributions métalliques

Les courbes de variations des niveaux en fonction de la partition granulométrique ont été tracées pour chaque métal et chaque type de traitement effectué. Elles sont données dans les figures 7 (FER), 8 (TITANE), 9 (CUIVRE), 10 (PLOMB), 11 (CADMIUM), et elles illustrent les tableaux n° 14, 15 et 16.

En abscisse figure l'ensemble des 11 fractions granulométriques qui ont été matérialisées arbitrairement par une série de segments égaux. En ordonnée sont portées les concentrations correspondantes déterminées pour chaque type de traitement et les points ainsi définis, reliés les uns aux autres, matérialisent les variations des distributions métalliques dans les fractions du sable. Sur chaque figure apparaît également le profil de distribution pondérale des mêmes fractions.

De façon générale, les concentrations métalliques de chaque fraction sont assez dispersées les unes par rapport aux autres. Ce sont les fractions fines (F8 à F11) qui sont les plus riches en éléments mineurs (Cu, Pb, Zn, Cd). Cette remarque est générale et a déjà été mentionnée dans la bibliographie. On peut faire la même observation en ce qui concerne le Fer et le Titane, toutefois les fractions grossières (F₁, F₂) présentent des teneurs équivalentes à celles des fractions légères, ce qui semble être une particularité des sables de la zone géographique étudiée.

S'il ne semble pas exister de nette corrélation entre les niveaux des différentes fractions et leur granulométrie, les teneurs élevées rencontrées au sein des fractions fines, ne sont pas explicables par la composition propre des matériaux (matrice). Elles mettent en évidence le fait que l'absorption des éléments métalliques se fait préférentiellement sur ces fractions.

* 2) Variation de la distribution métallique avec le broyage

Le profil de distribution des métaux dans les fractions est particulier à chaque élément métallique et se trouve modifié par le broyage.

Variations des niveaux métalliques dans les fractions granulométriques, influence du broyage :

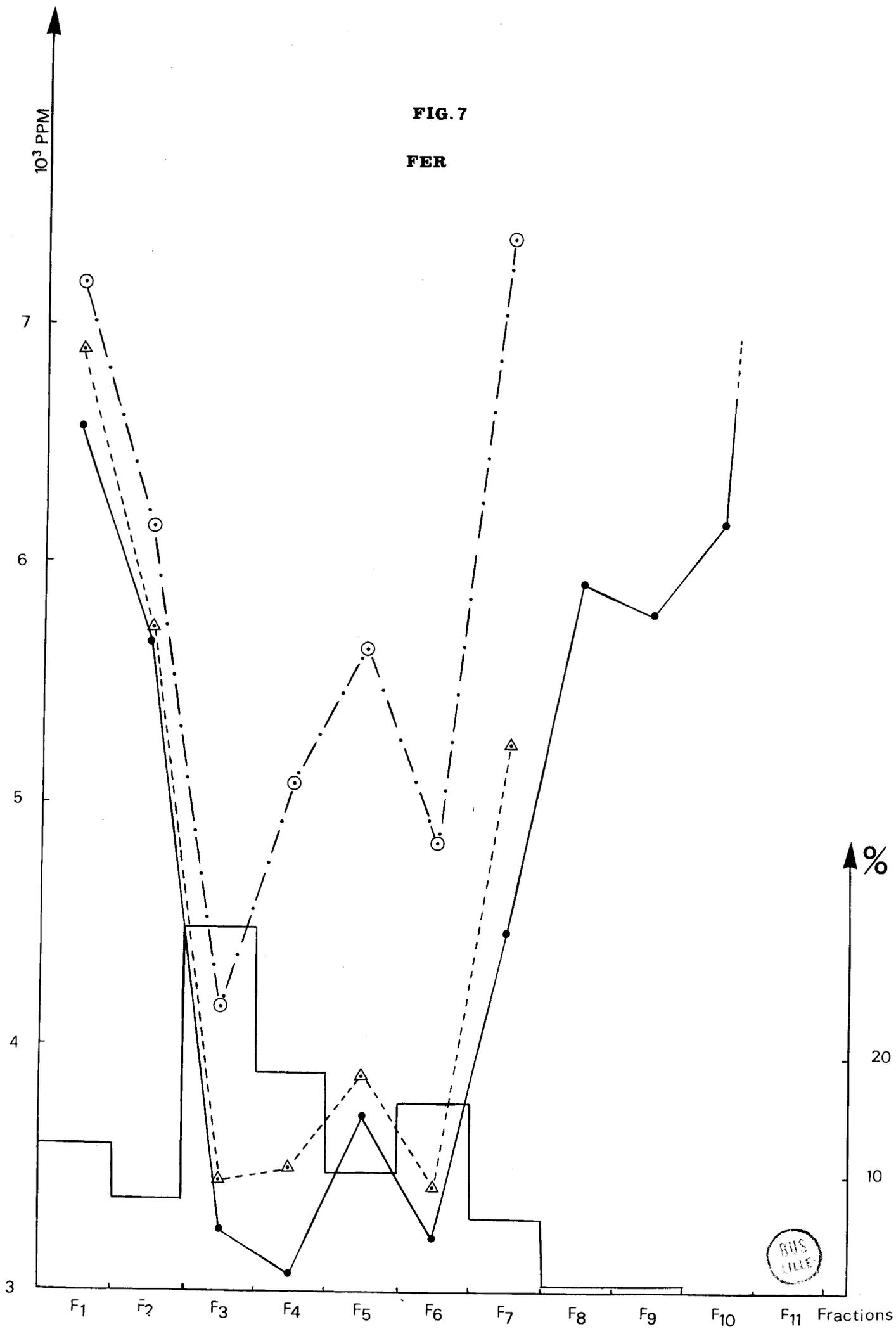
FER : Fig. 7
TITANE : Fig. 8
CUIVRE : Fig. 9
PLOMB : Fig. 10
CADMIUM : Fig. 11

- CLE -

————— Participation pondérale
● — ● — ● Fractions non broyées
△ — △ — △ Fractions broyées à 100 μ
⊙ — ⊙ — ⊙ Fractions broyées à 40 μ

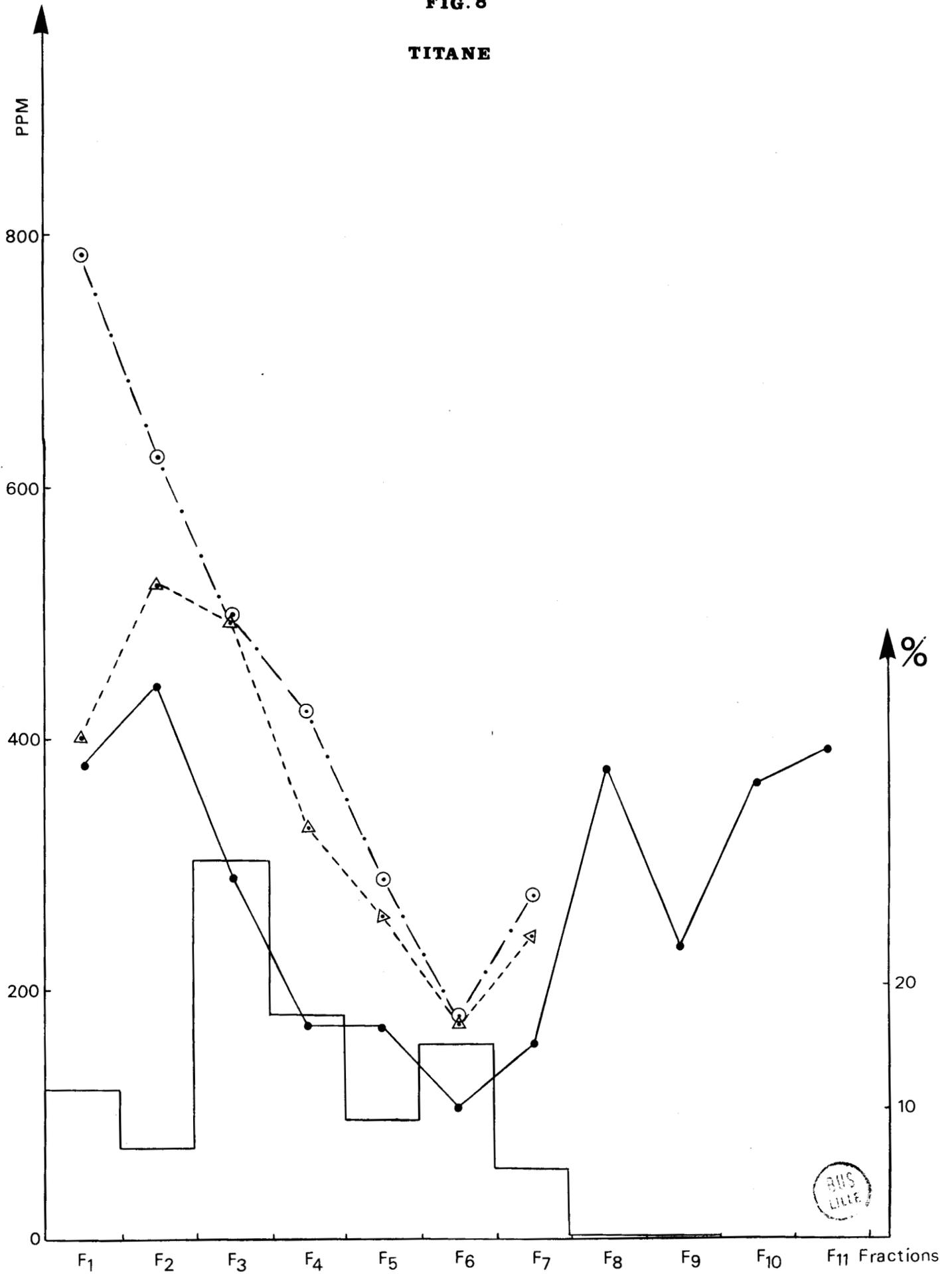
FIG. 7

FER



RHS FILE

FIG. 8
TITANE



BUS
LILLE

FIG. 9
CUIVRE

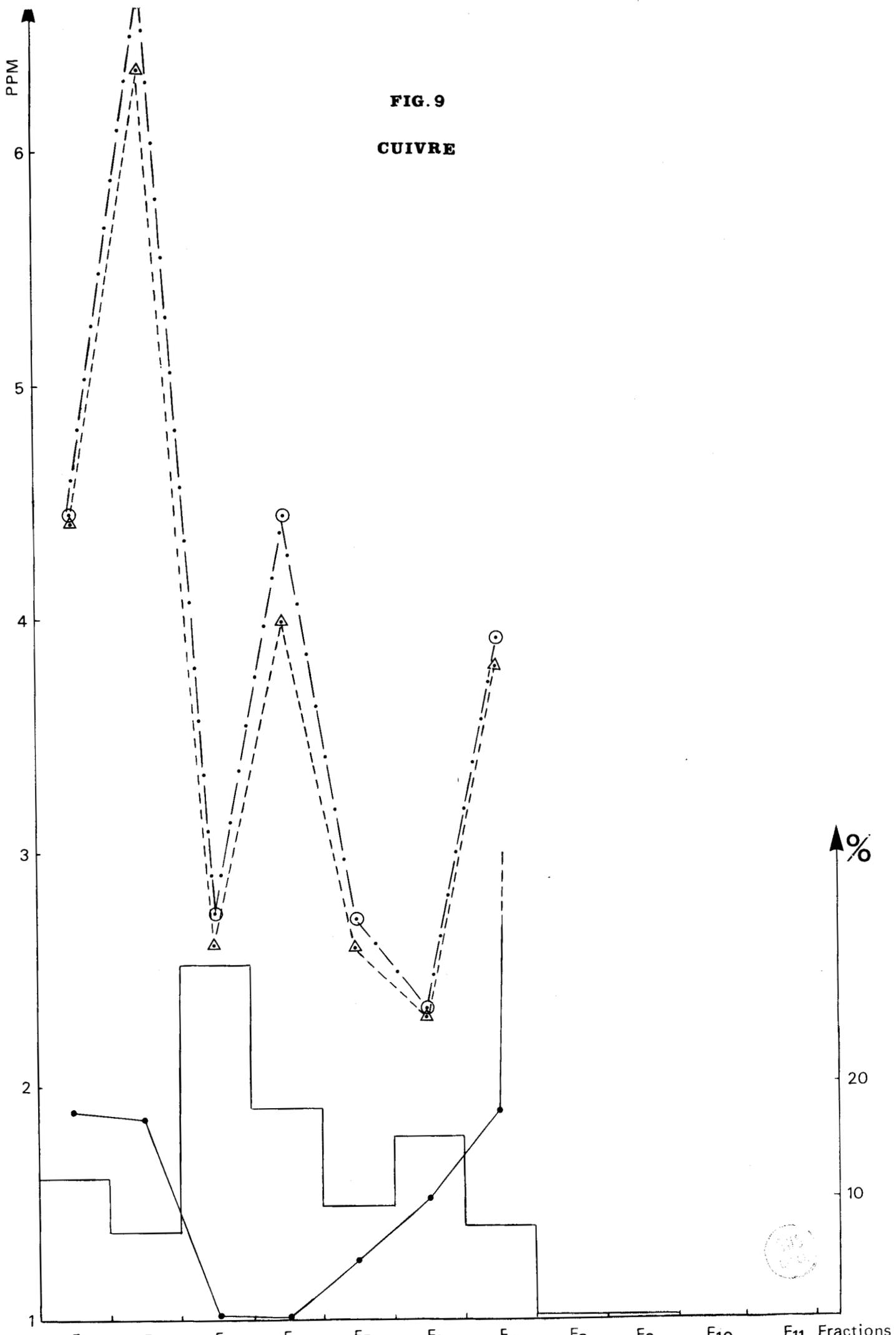


FIG. 10

PLOMB

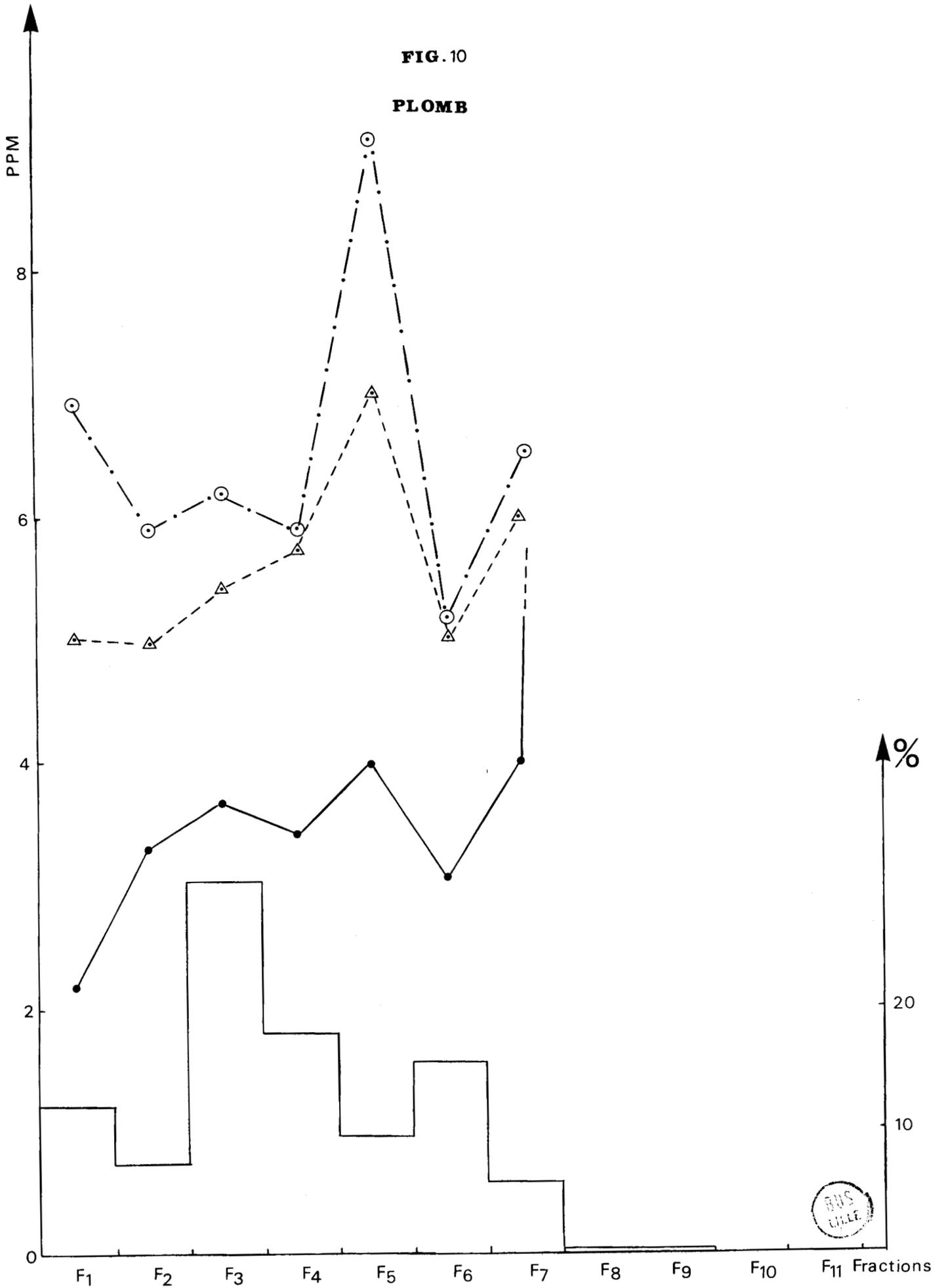
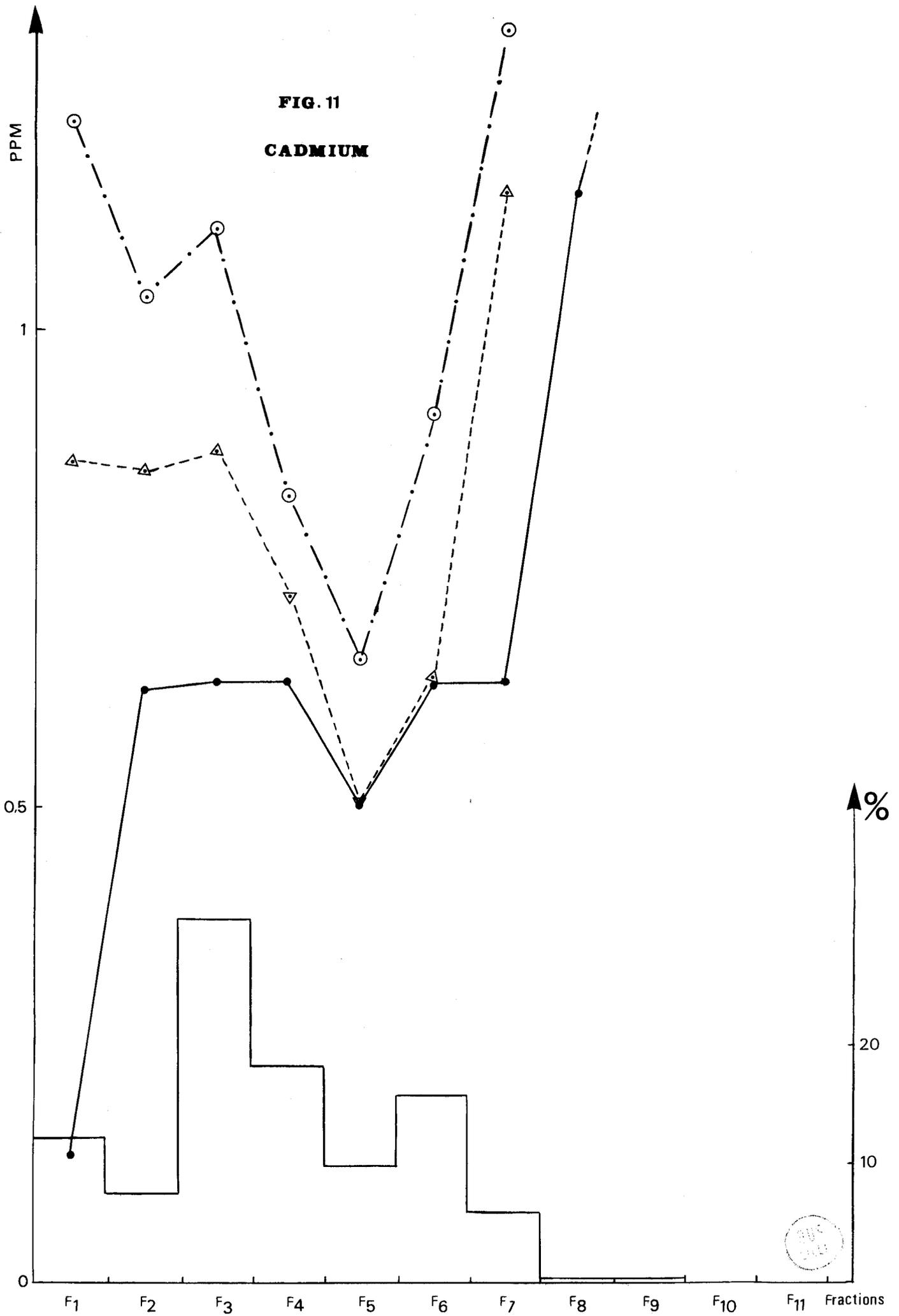


FIG. 11
CADMIUM



On constate que, si les déformations observées entre les profils de distribution des classes granulométriques non broyées et broyées à 100 μ sont importantes, les 2 profils correspondant aux broyages à 100 μ et 40 μ se déduisent pratiquement par translation sauf pour le fer. Cela peut signifier que l'augmentation pratiquement constante des niveaux entre 2 broyages est la conséquence uniquement d'une meilleure accessibilité lors de l'attaque chimique aux métaux de la matrice. Par contre, les différences sensibles observées dans l'accroissement des niveaux des fractions non broyées et broyées 100 μ résultent non seulement de cette meilleure accessibilité mais également de la mobilisation, lors de l'attaque chimique et par le broyage, des espèces métalliques qui semblent avoir, au cours de la sédimentation et du contact avec l'environnement, une affinité propre à chacune des fractions. De ce fait, les phénomènes de piégeage des éléments métalliques dans les sédiments sableux ne seraient pas limités, à la surface des grains et concerneraient aussi les fractions autres que les fractions fines.

* 3) Signification des résultats

Dans le cadre d'une analyse totale du sédiment ou des fractions qui le composent, il apparaît que la procédure la mieux adaptée pour atteindre les niveaux dans leur totalité, requiert un broyage aussi fin que possible de façon à solubiliser au maximum les éléments métalliques liés à la matrice siliceuse.

Dans le cadre d'une étude en vue d'un bilan de pollution, il semble, compte-tenu de nos observations, que le broyage des fractions autres que les fractions fines à une granulométrie de 100 μ , mais qui pourrait être supérieure, permet de solubiliser les métaux qui ont diffusé au sein des grains, et dont la solubilisation ne semble pas être complète lors de l'attaque chimique non précédée d'un broyage. Ce traitement augmente également l'accessibilité aux éléments constituant la matrice et, de ce fait, peut conduire à une estimation par excès des niveaux métalliques.

8) Participation des fractions granulométriques au niveau global.

Les classes granulométriques considérées dans le paragraphe précédent comme indépendantes, ont en réalité chacune leur contribution dans le sable global. Cette contribution est pondérale et a été définie par le coefficient

de participation α_i . Celui-ci, si on l'affecte aux niveaux métalliques de chacune des fractions permet de définir ce que nous appellerons leur participation analytique P_i exprimée en ppm et donnée par l'égalité.

$$P_i = \left[\right]_{F_i} \cdot \alpha_i$$

La somme de toutes les participations détermine le niveau global.

* 1) Variation des participations de chaque fraction.

Il est intéressant de tracer les courbes donnant les variations des participations analytiques relatives à chaque fraction en fonction de la partition granulométrique. Elles sont données dans les figures 12 pour le fer, 13 pour le titane, 14 pour le cuivre, 15 pour le plomb et 16 pour le cadmium, et ce, pour chaque type de traitement effectué.

On peut constater, en premier lieu, que toutes ces courbes ont la même allure, leurs variations étant en relation étroite avec celles de la courbe de participation pondérale, tandis que les différences observées entre les profils de distribution sont largement pondérées. C'est ainsi que la fraction F_3 , pondéralement la plus importante, sans être toutefois celle dont le niveau est le plus élevé, contribue le plus au niveau global.

Par contre, les quatre dernières fractions non broyées généralement les plus concentrées, de par leur faible contribution pondérale, participent peu à la concentration totale notamment pour les éléments majeurs (Fer et titane). Cette remarque est illustrée par le tableau n° 20.

METAL	Fe	Ti	Zn	Cu	Pb	Cd
P %	0,43	0,25	2,8	8,8	4	2,2

P % : Pourcentage de participation analytique des 4 dernières fractions.

TABLEAU N° 20

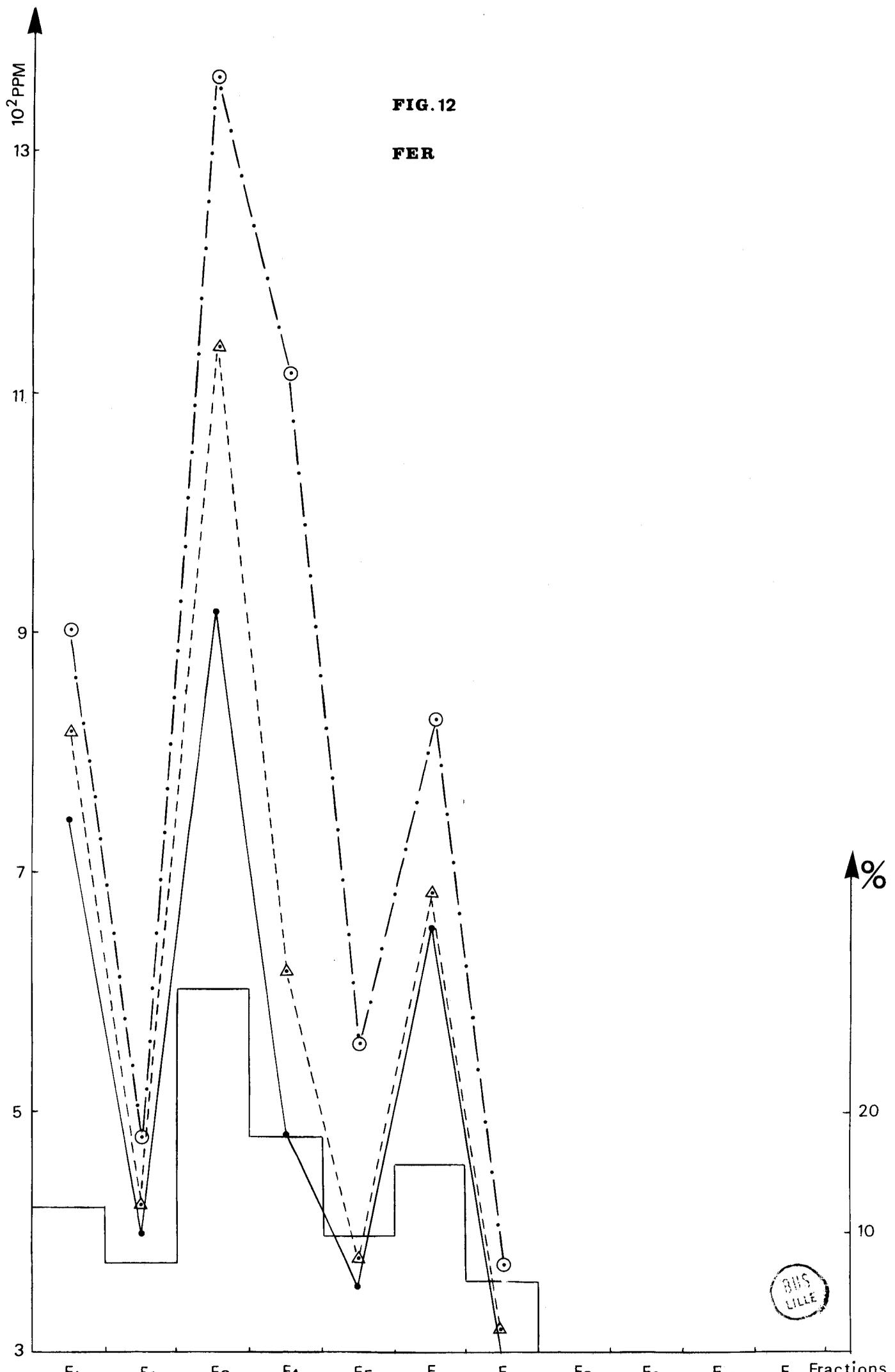
Participation des fractions granulométriques aux niveaux globaux, influence du broyage :

FER : Fig. 12
TITANE : Fig. 13
CUIVRE : Fig. 14
PLOMB : Fig. 15
CADMIUM : Fig. 16

- CLE -

————— Participation pondérale
●—●—● Fractions non broyées
△—△—△ Fractions broyées 100 μ
⊙—⊙—⊙ Fractions broyées 40 μ

FIG. 12
FER



BUS
LILLE

FIG. 13
TITANE

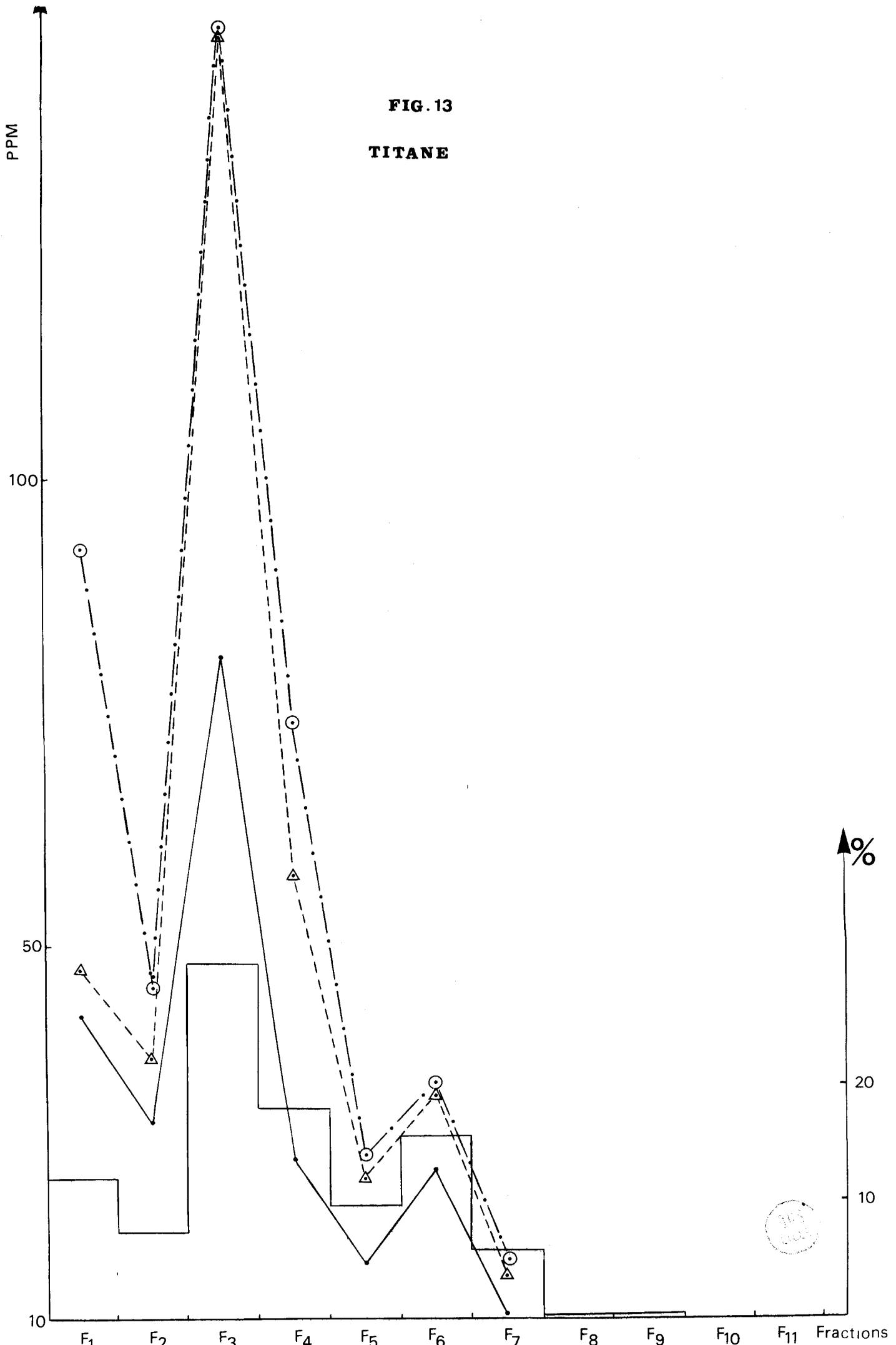


FIG. 14

CUIVRE

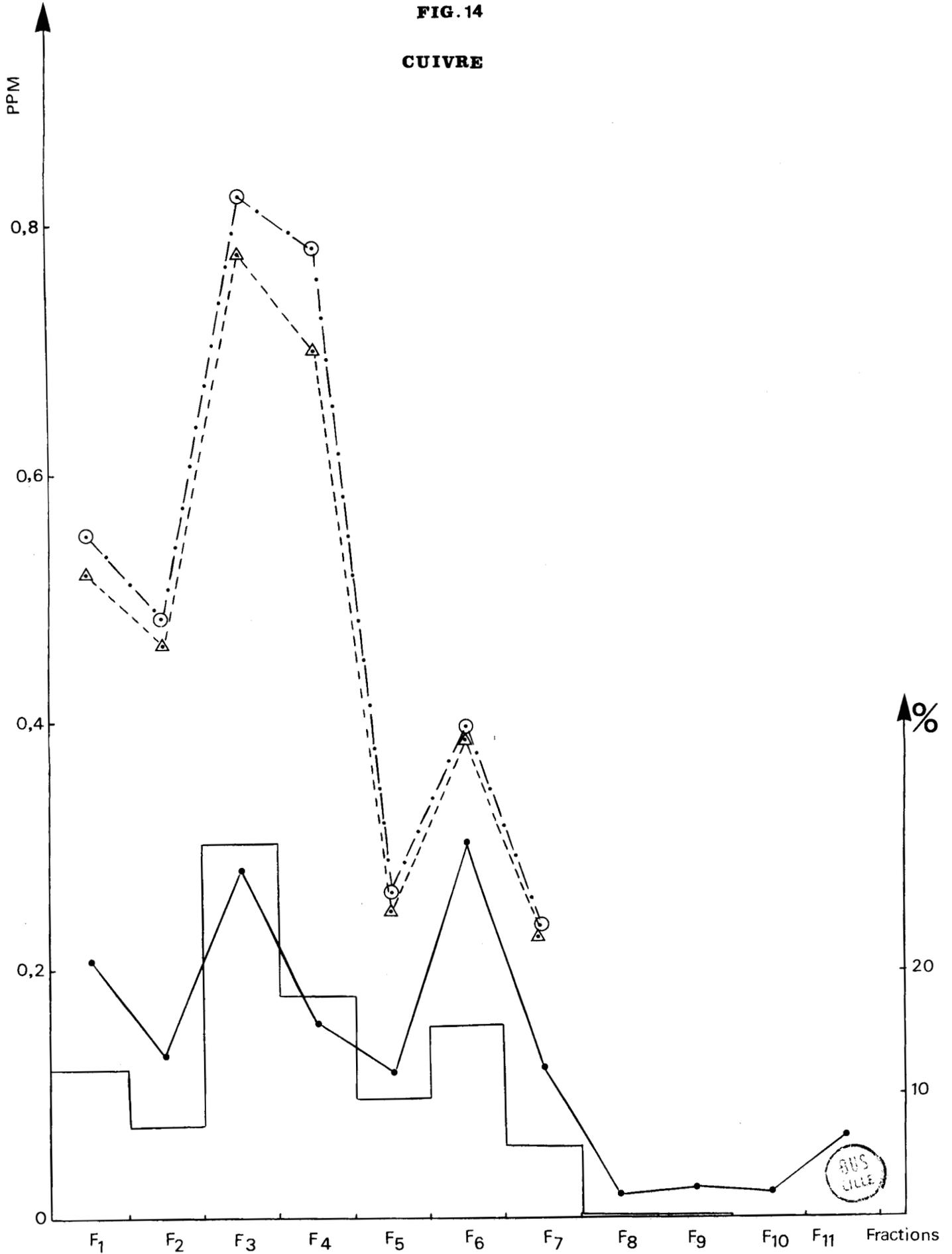


FIG.15

PLOMB

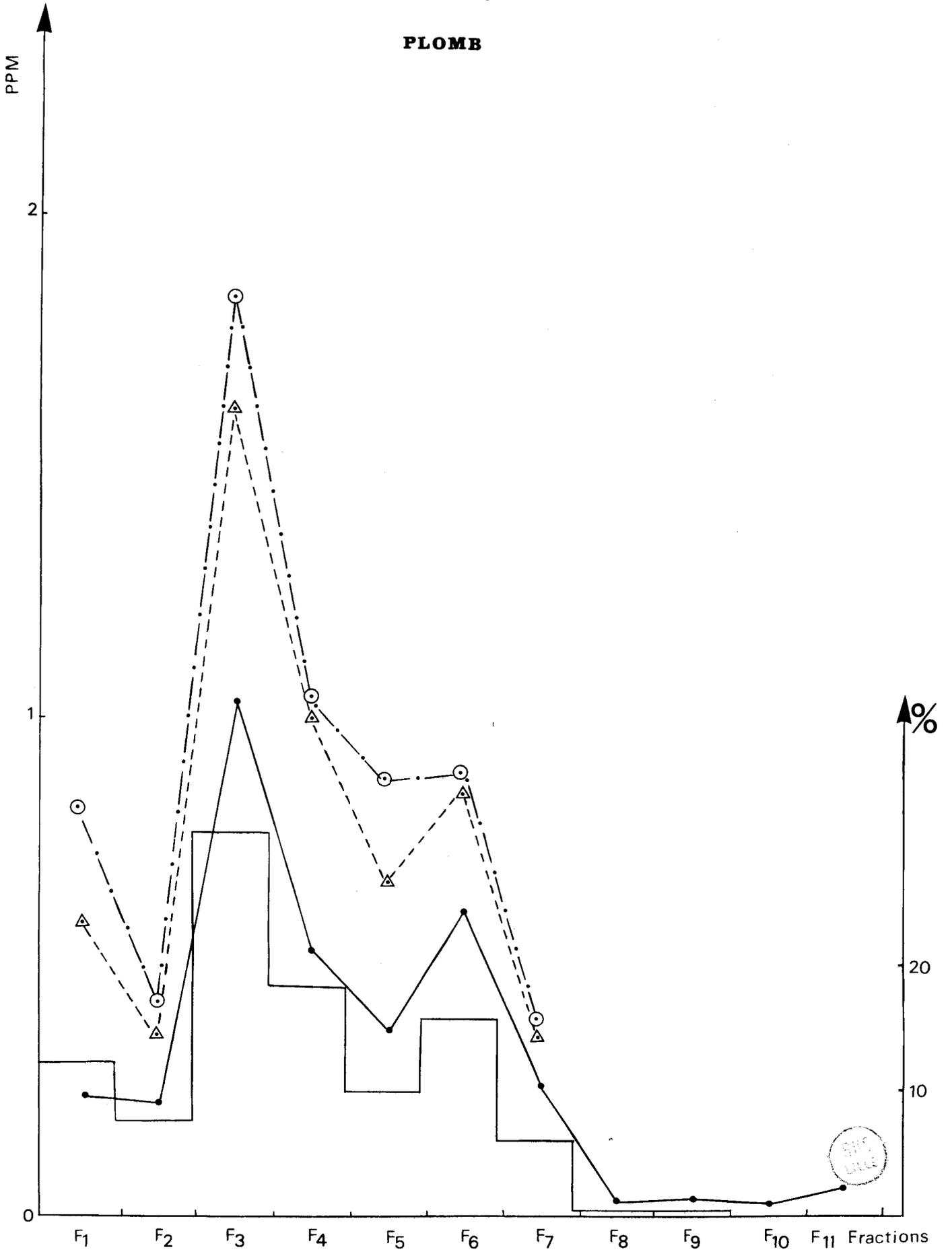
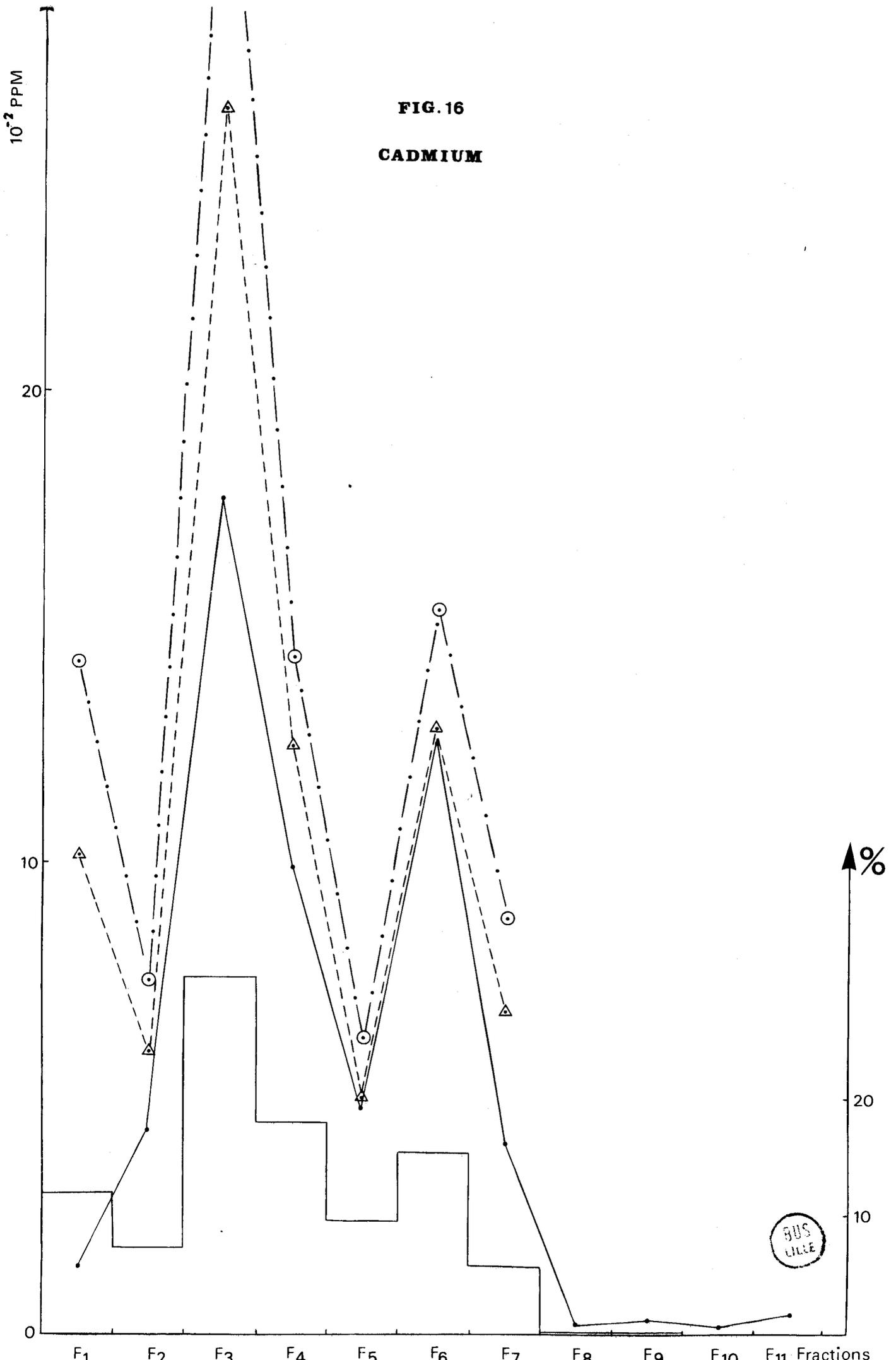


FIG. 16
CADMIUM



* 2) Variation des participations avec le broyage

Les différences sensibles observées entre les profils de distribution correspondant à chaque type de traitement effectué ($e, \alpha, 2$) sont largement pondérées pour les courbes de variation des participations analytiques des fractions. Celles-ci se déduisent pratiquement par translation à partir du profil de participation pondérale.

L'ensemble de ces observations semble indiquer qu'on ne peut sélectionner telle ou telle fraction granulométrique d'un sédiment et donner son niveau comme étant représentatif du niveau global, sans considérer en même temps sa contribution pondérale qui définit en fait sa participation réelle. Il faut noter toutefois que le niveau global du sédiment a tendance à se rapprocher de celui des fractions fines quand leur participation pondérale (α_i) s'accroît. De ce fait, et à partir d'une valeur minimale de α_i difficile à déterminer a priori, l'approximation précédente peut alors se justifier.

γ) Comparaison des différentes méthodes d'échantillonnage

Nos dernières remarques porteront plus particulièrement sur les résultats des tableaux n° 17, 18 et 19.

Si l'on compare, pour chaque type de traitement, les mesures effectuées lors du dosage d'un métal, par échantillonnage multiple (S_M, T_M, U_M), par échantillonnage synthétique (S, T, U), et par recombinaison théorique (S', S'', T', U'), on peut estimer qu'elles forment un ensemble assez cohérent dont le pourcentage de dispersion est, sauf pour le cadmium, inférieur à 10 %. Cela indique que la reproductibilité de l'attaque chimique et des traitements par broyage est bonne.

D'autre part, en ce qui concerne les dosages effectués sans broyage, on peut constater que les valeurs des niveaux observés par échantillonnage multiple sont pour 4 métaux (Fe, Ti, Cu, Zn) supérieures aux autres résultats. Ces écarts sont le reflet de la dispersion importante précédemment observée lors de l'échantillonnage multiple, même si celle-ci a été resserrée par la moyenne.

En dehors des écarts dans les résultats provenant de la présence, lors du broyage à 40 μ d'un refus au tamis, les niveaux obtenus, sans broyage ou après broyage et par recombinaison théorique sont en très bon accord avec les mesures faites par échantillonnage synthétique, montrant ainsi que cette dernière méthode s'avère certainement la plus fiable, l'échantillon synthétique obtenu étant vraiment représentatif du sable initial.

IV) CONCLUSIONS

L'ensemble de cette étude menée sur le cas particulier d'un sable nous permet de tirer des conclusions dont certaines peuvent être généralisées.

La méthode de mise en solution retenue, par attaque triacide utilisant les acides perchlorique, nitrique, et chlorhydrique, présente un bon rendement d'extraction et une bonne reproductibilité, les résultats obtenus par différentes méthodes d'échantillonnage étant tout à fait comparables.

Des procédures d'échantillonnage testées, il ressort que l'échantillonnage multiple opéré directement dans le prélèvement de départ confère aux résultats une importante dispersion. Aussi, pour que, sur le plan analytique, la moyenne soit aussi représentative que possible, il est nécessaire d'augmenter le nombre de prises d'essais.

L'échantillonnage synthétique réalisé à partir des fractions granulométriques préalablement séparées, s'il s'avère plus long à mettre en oeuvre, n'en demeure pas moins le plus représentatif du sédiment initial et donc analytiquement le plus significatif, et ce, pour un seul échantillon. D'autre part, les résultats de dosage relatifs à cette méthode, peuvent être vérifiés par ceux donnés en utilisant la recombinaison théorique des niveaux des fractions granulométriques s'ils ont été déterminés. Si c'est le cas, les niveaux des fractions affectés de leur coefficient de participation pondérale permettent de juger de la participation analytique de chacune d'elles à la concentration totale. Ce point particulier est important si l'on s'intéresse à la signification d'une sélection plus ou moins arbitrairement retenue d'une classe granulométrique considérée comme représentative du sédiment total, notamment dans le cadre d'analyses de pollution.

Dans la même optique, il nous semble préférable pour des sédiments sableux pauvres en fractions fines, d'opérer un broyage des fractions plus grossières à une granulométrie de 100 μ ou plus. Ce traitement s'il présente l'inconvénient de solubiliser au cours de l'attaque chimique une plus grande partie des métaux de la matrice de constitution des grains n'en possède pas moins deux avantages importants. D'une part, le broyage diminue sensiblement la dispersion des résultats analytiques dû à l'effet granulométrique sur l'efficacité d'extraction de l'attaque chimique. D'autre part et surtout il amène à mobiliser les éléments métalliques amenés par l'environnement et qui ont plus ou moins diffusé à l'intérieur des grains.

Ainsi donc, et dans la mesure où, à partir d'un sable, il est possible de généraliser nos observations aux sédiments, les limons légers exceptés, il nous semble plus fiable d'adopter pour les analyses de pollution une méthode d'attaque chimique à haut rendement d'extraction, la méthode triacide utilisant l'acide perchlorique, sur des échantillons synthétiquement recomposés à partir des fractions granulométriques et broyés à 100 μ ou plus.

Cette méthode s'avère également utilisable en sédimentologie, visant à l'analyse totale, en opérant cette fois un broyage aussi fin que possible.

Dans cette première partie, nous nous sommes intéressés à l'influence du paramètre granulométrique sur les niveaux métalliques d'un sable. Or il existe d'autres paramètres physico-chimiques telles que les teneurs en éléments constitutifs (silicium, aluminium) ou les mesures de pertes au feu enregistrées à différentes températures, qui semblent également en relation avec les concentrations métalliques.

De ce fait, la mise en évidence de corrélations pouvant exister entre les données fournies par l'analyse physico-chimique d'une série de sédiments fera l'objet du second chapitre.

- CHAPITRE II -

RELATIONS ENTRE LES PARAMETRES PHYSICO-CHIMIQUES DES
SEDIMENTS PAR TRAITEMENT INFORMATIQUE D'UN FICHER DE DONNEES

INTRODUCTION

Dans le cadre d'une étude de bilan de pollution marine, la détermination des concentrations métalliques présentes dans les sédiments peut amener à juger de la qualité du milieu marin dans son ensemble et, dans certains cas, laisser prévoir le niveau de contamination métallique de certaines espèces vivant dans ce milieu (48, 87).

S'il existe de nombreux travaux traitant de ce sujet, ceux-ci sont pour la plupart une somme de résultats analytiques se rapportant à des zones géographiques plus ou moins restreintes, dont la comparaison, quand elle s'avère possible, permet de juger de façon relative de leur contamination, sans toutefois qu'une interprétation s'appuyant sur des relations avec des données physico-chimiques ne soit esquissée. Cette tendance semble à l'heure actuelle s'estomper au profit d'une recherche plus systématique de modélisation des phénomènes régissant le compartiment sédiments de l'écosystème marin.

Les tentatives de modélisation s'appuient le plus souvent sur la recherche d'éventuelles corrélations reliant les niveaux métalliques des sédiments aux paramètres physico-chimiques qui leur sont propres.

C'est ainsi que RAMONETTA (92), CHESTER et collaborateurs (89), JAFFE et collaborateurs (80) ont montré qu'il existait une bonne corrélation entre la présence des métaux lourds et la teneur en matières organiques des sédiments. VEARN et collaborateurs (96), MARTIN et collaborateurs (29), LINDBERG (54), RENZONI et collaborateurs (41), s'intéressent pour leur part à l'influence plus ou moins significative des fractions de faible granulométrie sur les teneurs en éléments métalliques lourds.

D'autres auteurs encore (83, 91) étudient l'influence des conditions de salinité, de température et de pH ou des conditions Red-Ox sur les échanges métalliques à l'interface eau-sédiment et les phénomènes de complexation et de captation des ions qui en résultent.

De l'examen de cet ensemble de travaux, il ressort que 2 paramètres semblent actuellement tenir une grande place dans l'étude des présences métalliques au sein des sédiments : le taux de matières organiques et la granulométrie.

Il nous a donc semblé intéressant de poursuivre ces essais de modélisation en recherchant de façon systématique l'existence éventuelle d'autres paramètres significatifs, dont l'utilisation simple peut être appliquée à tous les types de sédiments. En effet, si les teneurs en matières organiques et en fractions granulométriques fines ont une grande influence sur les niveaux des limons et des boues, il n'en est de même pour les sédiments sableux, dont la granulométrie notamment, est beaucoup plus grossière, et de ce fait, constitue une variable peu sensible. D'autre part, il existe une ambiguïté quant à la définition de la fraction fine, sa granulométrie variant selon les auteurs entre 2 et 63 microns.

I) ORIENTATION DES ESSAIS

1) Choix des paramètres

Dans la mesure où l'on peut comparer un sédiment à un "piège" susceptible de capter des ions métalliques, la question se pose de savoir quels sont les paramètres internes qui détermineront "l'efficacité" de ce piège, en excluant à priori les variables hydrologiques externes.

Dans cette optique, en dehors de la granulométrie que nous avons écarté dans un premier temps, la composition chimique de constitution du sédiment peut être une "variable significative", caractérisant dans une certaine mesure le type du sédiment, et en relation avec le comportement de celui-ci vis-à-vis de la captation des différentes espèces métalliques. Pour en rendre compte, nous avons donc choisi comme paramètres principaux les teneurs en calcium, aluminium et silicium, ramenées à leurs valeurs en oxydes.

D'autre part, la mesure des pertes au feu à différentes températures (550°C et 1000°C) constituent des données qui rendent compte de la composition du sédiment en matières organiques pour la première (37, 39, 76) et en carbonates pour la seconde. L'acquisition de ces dernières données est, de plus, d'une mise en oeuvre facile, ne demandant aucun appareillage spécialisé.

Enfin à ces paramètres "indicateurs", il faut ajouter ceux correspondant aux niveaux en métaux lourds, cet ensemble de données constituant le fichier de base de l'exploitation.

2) Conditions de l'exploitation

Du simple point de vue statistique, la détermination de relations corrélatives entre les variables n'est significative qu'à condition de manipuler un nombre suffisant de données. Nous avons donc recueilli et dosé dans les mêmes conditions 45 prélèvements de sédiments dans une zone portuaire du littoral de la mer du Nord. Ce premier groupe a fait l'objet d'un traitement séparé. Nous y avons adjoint les résultats d'analyses de 107 prélèvements tirés du recueil de données obtenues au cours du Programme National Belge de Recherches et de Développement sur l'Environnement et le "Modèle Mathématique Mer" (88), constituant ainsi un fichier total de 152 points, dont le traitement simultané nous a permis de juger de la coïncidence des résultats obtenus à partir des 2 groupes d'échantillons, et ainsi, de les intégrer dans un ensemble plus général.

La comparaison ou la collusion qui a été faite a été rendue possible par l'assez bonne homogénéité des 2 groupes de données, tant sur le plan analytique que sur le plan du choix des paramètres.

3) Recherches des corrélations entre les paramètres

Nous nous sommes, dans cette étude, non seulement intéressé aux relations qui peuvent exister entre les teneurs en métaux lourds et les paramètres physico-chimiques, mais également à celles pouvant relier ces derniers entr'eux, de façon à pouvoir juger de leur dépendance éventuelle. Celle-ci peut en effet interférer sur les résultats obtenus et, dans les cas favorables, mettre en évidence une meilleure définition des fonctions à étudier.

II) ECHANTILLONNAGE ET METHODES D'ANALYSES

1) Prélèvements de la zone étudiée

a) Echantillonnage

Les échantillons sont au nombre total de 45, prélevés par carottage et constituent ce que nous appellerons pour la suite la série A.

La série A se subdivise en deux : la série A' regroupe 36 prélèvements effectués en eau de mer tandis que la série complémentaire A'' est constituée de 9 échantillons prélevés en eau mixte (eau de mer, eau douce) qui, pour cette raison, ont parfois au cours du traitement été exclus du fichier.

L'ensemble des échantillons est constitué en majorité de sables plus ou moins envasés et de boues plus ou moins fluides.

Les séries d'analyses ont été conduites sur les échantillons lavés puis

séchés à l'étuve à 110°C pendant 24 heures et criblés au tamis de 1 mm pour en éliminer les cailloux, galets, résidus coquilliers etc... Cet état constitue l'état sec standard auquel se rapportent les différentes mesures et dosages chimiques effectués par la suite.

b) Analyses physiques

α) Mesures des pertes au feu

Une fraction de chacun des prélèvements, préalablement homogénéisé, est portée au four à moufle à 550°C pendant 4 heures. La perte de masse enregistrée, calculée en pourcentage, constitue la perte au feu à 550°C.

Le même échantillon est de nouveau placé au four et porté à 1 000°C pendant 4 heures. La nouvelle perte de masse, exprimée en pourcentage relativement à l'état sec standard, donne la perte au feu totale à 1 000°C, et la différence des 2 mesures précédentes constitue la perte au feu de 550°C à 1 000°C.

La perte au feu à 550°C correspond à l'oxydation de la matière organique présente dans le sédiment et à la déshydratation des minéraux hydratés qu'on peut y trouver (argiles, hydroxydes de fer et de manganèse...). Les pertes observées pour nos échantillons varient entre 0,5 % et 21 %. La perte au feu de 550°C à 1 000°C se rapporte principalement à la décomposition des carbonates par départ de CO₂, les variations observées vont de 1,8 % à 17,2 %.

β) Séparation granulométrique

Elle n'a été opérée que sur quelques échantillons sableux dont le taux de fractions granulométriques inférieures à 40 μ s'est révélé être de l'ordre de 0,2 %.

c) Analyses chimiques

α) Taux de matières organiques

On les détermine en utilisant la méthode de ANNE (27), par oxydation au bichromate de potassium en milieu sulfurique du carbone organique et dosage en retour par le sel de Mohr du bichromate non réduit.

Nous avons pour quelques échantillons vaseux appliqué cette méthode, uniquement dans le but de vérifier la bonne corrélation qui existe entre ces mesures et les pertes au feu à 550°C correspondantes, comme l'a montré WOLLAST (76).

B) Dosage des éléments métalliques

La fraction restante des prélèvements ou une partie de celle-ci a été broyée au broyeur planétaire pendant 40 mn, jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine. Ce broyage préalable supprime en grande partie la dispersion due aux écarts d'échantillonnage et nivelle les effets de granulométrie qui pourraient être observés au cours de la mise en solution (cf. chap. I).

* 1) Dosage des éléments constitutifs et des métaux lourds majeurs

Les éléments constitutifs (Si, Al, Ca) et les métaux majeurs (Fe, Ti) ont été dosés par fluorescence X par fusion de perle au tétraborate de lithium. Les résultats des dosages sont exprimés en pourcentage d'oxydes.

* 2) Dosage des métaux mineurs

Le zinc, le plomb, le cuivre, le manganèse, le cadmium, le chrome et le vanadium ont été dosés par absorption atomique en flamme ou au four après digestion de 1 gramme d'échantillon par le mélange acide fluorhydrique-acide perchlorique.

Nous avons retenu cette méthode d'attaque car son rendement d'extraction est maximum, et qu'ainsi, on peut être sûr de sa reproductibilité et de son efficacité quelque soit le type d'échantillon.

Les résultats de dosages sont tous exprimés en ppm relativement à l'état sec standard.

2) Données du Programme National Belge

Elles ont été recueillies à la suite des campagnes de prélèvements effectuées sur le littoral Belge de 1971 à 1974 sur les lieux de 12 stations.

Les prélèvements au nombre de 107 ont été effectués à la drague. Ils constituent la série B.

Nous avons pu disposer des mêmes données physiques que celles déterminées pour nos échantillons, avec en plus, les taux de matières organiques et les teneurs en fractions granulométriques inférieures à 37 μ pour l'ensemble des prélèvements.

Les résultats analytiques sont comparables aux nôtres par la méthode d'attaque chimique employée et par la technique analytique utilisée, sauf en ce qui concerne les dosages des éléments mineurs, qui ont été effectués par spectrométrie d'émission dans l'ultraviolet. Les résultats obtenus par cette méthode ne présentent aucun écart sensible comparativement à ceux de l'absorption atomique. Le seul élément pour lequel nous ne disposons d'aucune information est le silicium.

III) METHODES D'EXPLOITATION DES DONNEES

L'ensemble des données dont nous disposons a été traité sur IRIS 80 au Centre Interuniversitaire de Traitement de l'Information (C.I.T.I.).

Nous les avons rassemblé et organisé dans un fichier à accès aléatoire qui permet une grande vitesse de traitement.

Chaque jeu de données relatif à un prélèvement est classé en trois tableaux :

- un tableau d'identification indique le numéro de code de l'échantillon, les conditions de son prélèvement. Il y figure également un indice de sélection, qui permettra au cours du traitement, de ne pas prendre en considération les éléments à écarter : série A" par exemple.
- un second tableau regroupe les paramètres physiques (granulométrie, pertes au feu, taux de matières organiques).
- enfin le troisième tableau rassemble les résultats d'analyses chimiques classés en trois groupes : Eléments constitutifs, métaux lourds majeurs, métaux lourds mineurs.

Pour chaque échantillon, la dimension de chacun des tableaux a été fixée de façon à ce qu'il comporte en outre, un certain nombre de "mots mémoire" supplémentaires, dans le cas où le fichier devrait être complété.

Nous avons établi des sous-programmes de lecture rédigés en FORTRAN qui permettent, en citant l'élément de tableau intéressé, soit de sélectionner les données en vue d'un tracé graphique, soit d'extraire les renseignements nécessaires à l'établissement d'une régression linéaire, avec la possibilité pour chaque cas de fixer une limite supérieure aux variables, quand certaines valeurs de celles-ci apparaissent par trop singulières.

La sortie graphique des données est réalisée sur un traceur BENSON 1222. Un programme particulier a été rédigé à cet effet pour matérialiser les courbes sous forme de nuages de points, chaque série d'échantillons pouvant être traitée séparément ou simultanément par superposition des nuages de points correspondants.

Le programme de régression linéaire nous a permis d'estimer, dans certains cas favorables, les paramètres de la meilleure droite passant parmi les points expérimentaux. Ce calcul s'accompagne de la détermination du coef-

ficient de régression linéaire qui détermine le niveau de confiance que l'on peut accorder à la relation linéaire ainsi déterminée pour décrire les variations du couple de paramètres étudié. Il est donné par la relation:

$$r = \frac{a \cdot \sigma_x}{\sigma_y}$$

a : pente de la droite de régression

σ_x, σ_y : Déviation standard des abscisses et des ordonnées rendant compte de la dispersion des mesures et définie par

$$\sigma_x = \sqrt{\frac{\sum (x - \bar{x})^2}{(N - 1)}} \text{ avec}$$

\bar{x} : valeur moyenne des mesures

N : nombre total des mesures.

La valeur du taux de régression r varie entre 0 et 1. L'expérience nous a montré que la corrélation linéaire n'était vraiment significative que pour des valeurs de ce taux supérieures à 0,6.

Nous avons obtenu certaines courbes pour lesquelles la relation entre les données était non linéaire. Il est probable que des fonctions plus complexes que celles du premier degré puissent relier les variables étudiées. Cependant, et bien que le programme mis au point permette de réaliser des ajustements plus complexes (dans la mesure où il est possible de linéariser la fonction proposée), nous n'avons pas envisagé, au départ, ce type de traitement pour deux raisons essentielles :

- le nombre de données relativement limité oblige à restreindre le nombre de paramètres théoriques à calculer si l'on ne veut pas voir la signification statistique du calcul diminuer considérablement.
- la complexité des phénomènes mis en jeu et le peu d'informations relatives à la définition de fonctions susceptibles de les décrire, entraînent le plus souvent la méconnaissance d'un modèle mathématique plus élaboré dont l'approche par approximation linéaire apparaît, comme nous allons le voir dans les cas traités, assez satisfaisante.

IV) RESULTATS

De l'ensemble des résultats, nous ne détaillerons que ceux qui nous semblent significatifs au plan des relations corrélatives. Nous évoquerons rapidement ceux dont l'intérêt est moindre, soit en raison du fait qu'ils n'apportent pas d'informations nouvelles, soit en raison de la dispersion importante des nuages de points.

Pour simplifier l'écriture, nous avons adopté les symboles suivants :

PF 550 : Perte au feu à 550°C

PF 550-1000 : Perte au feu entre 550°C et 1000°C

P TOTALE : Perte au feu totale = PF 550 + PF 550-1000

M.O. : Taux de matières organiques exprimé en pourcentage

Σ MAJ : (Fe₂O₃) + (TiO₂) exprimé en pourcentage

Σ MIN : (Zn) + (Cu) + (Pb) + (Cd) + (Mn) + (Cr) + (V) exprimé en ppm.

Gran. = Granulométrie

D'autre part, les figures numérotées Xa correspondent aux courbes de la série A, les points étant matérialisés par (Δ).

Les figures numérotées Xb correspondent aux courbes des séries A et B, les points de la série B étant matérialisés par (+).

1) Approximation des teneurs en SiO₂ et en matières organiques

a) Teneurs en SiO₂ (Fig 17)

La non-homogénéité de l'ensemble des données relatives au silicium dont nous ne connaissons pas la teneur pour les échantillons de la série B, nous a conduit à en calculer des valeurs approchées en les assimilant à la différence $100 - \{ (Al_2O_3) + (CaO) \}$.

On constate qu'il existe une bonne corrélation entre ces deux variables, le nuage de points s'orientant suivant une droite avec une faible dispersion. Il faut noter toutefois que la droite ne passe pas par l'origine du repère et que sa pente est voisine de 2, ce qui indique, que si l'approximation est possible pour les sédiments riches en silice, ((SiO₂) > 90 %), elle ne l'est plus pour les autres types de sédiments. La différence importante alors observée entre le taux réel de silice et le calcul approché, qui peut atteindre 35 % à l'extrême, s'explique par le fait qu'au fur et à mesure que le taux de silice

FIG 17

+Y= % SiO2 REELLE

+X= % SiO2 PAR DIFFERENCE

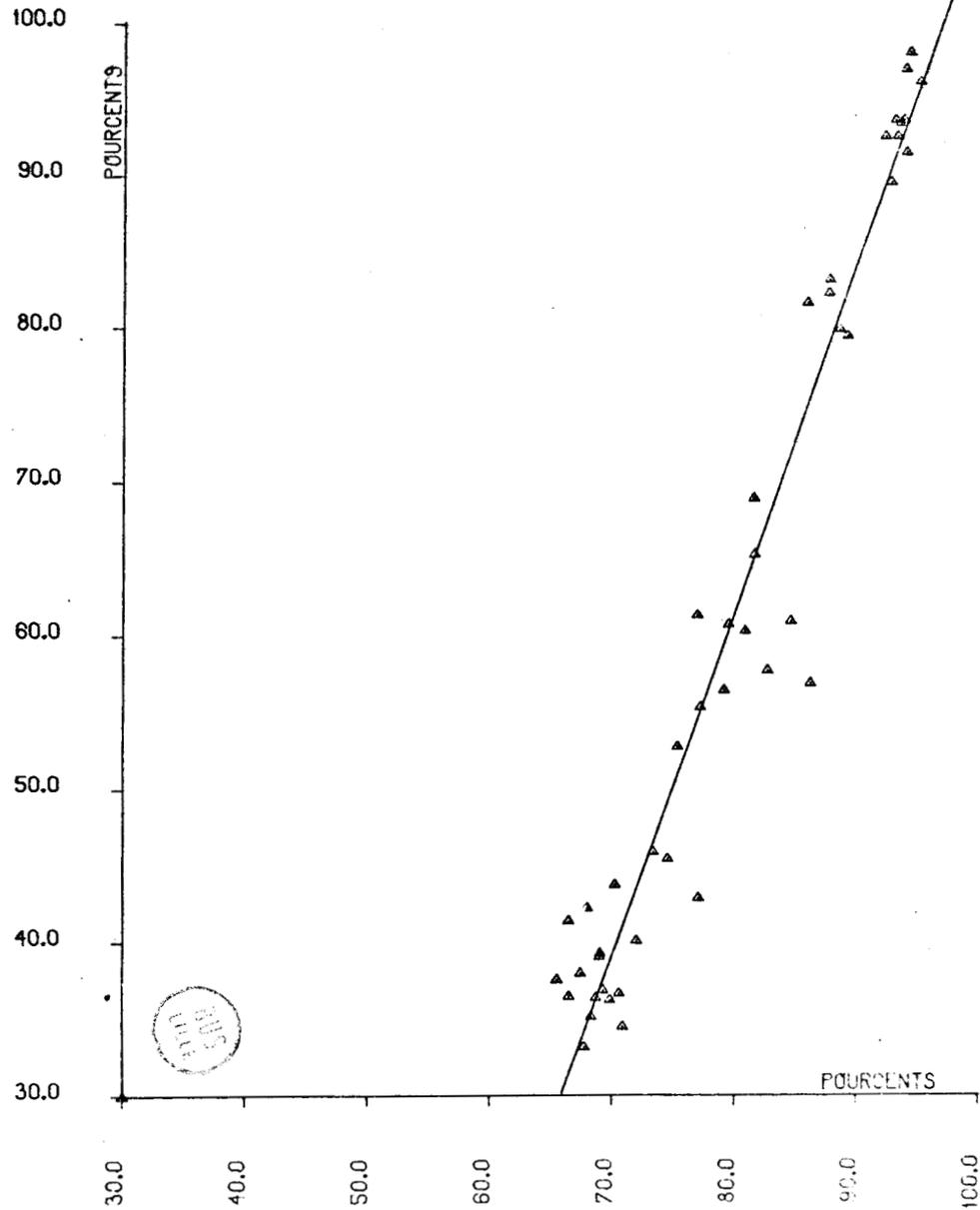
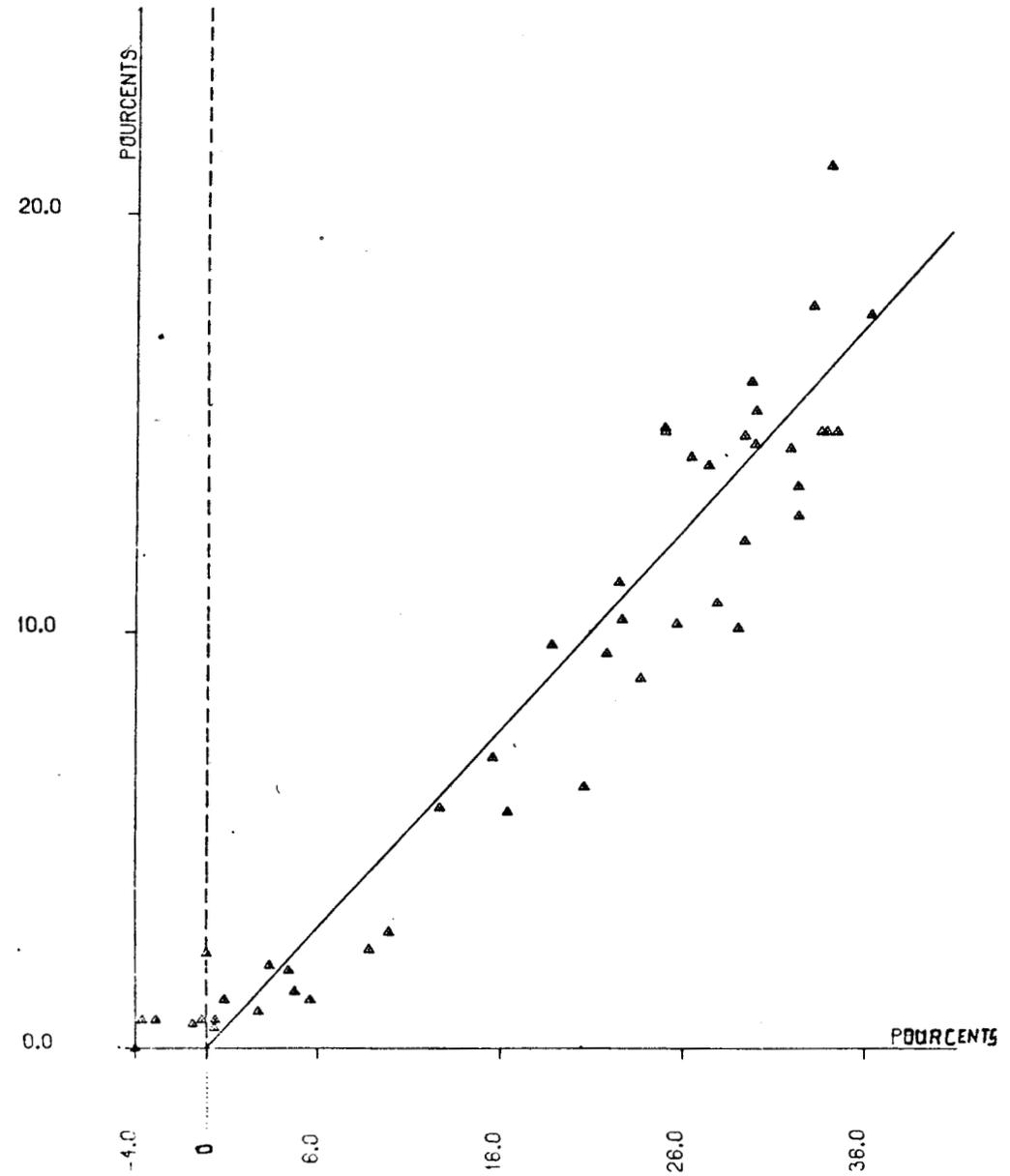


FIG 18

+Y= PERTE AU FEU A 550 DEGRES

+X= 100-%AL2O3-%CAO-%SiO2



des sédiments diminue, leur pourcentage en matières organiques augmente ainsi notamment que les concentrations en alcalins et alcalino-terreux autres que le calcium.

On pourrait, en utilisant l'équation de la droite de régression, s'approcher du niveau réel en silice, cependant et malgré la dispersion raisonnable, l'erreur commise serait trop grande et risquerait de se répercuter de proche en proche, en supposant qu'on utilise les valeurs ainsi calculées pour la recherche d'autres corrélations.

Ces essais d'approximation, s'ils se sont révélés peu probants, mettent en évidence néanmoins le rôle indicateur de la silice relativement à la teneur en matières organiques et la dépendance de ces 2 paramètres.

b) Teneurs en matières organiques (Fig 18)

WOLLAST (76) a montré qu'il existe une corrélation linéaire entre la perte au feu à 550°C et le taux de matières organiques dans les sédiments de la mer du Nord.

L'équation de la droite calculée par régression s'écrit :

$$M.O. = 0,4 \text{ PF } 550 \quad (1)$$

Pour notre part, nous n'avons déterminé que quelques M.O. Cependant, en utilisant la variable $100 - [(Al_2O_3) + (CaO) + (SiO_2)]$, qui, comme nous l'avons vu précédemment est en relation étroite avec les taux de matières organiques, il semble possible de les estimer de façon approchée en utilisant l'équation (1) et la corrélation que nous avons mises en évidence en traçant les variations de PF 550 et de la variable synthétique $100 - [(Al_2O_3) + (CaO) + (SiO_2)]$. Le nuage de points correspondant, présenté à la figure 18, s'oriente suivant une droite de pente égale à 0,5 passant par l'origine, les points d'abscisse négative étant à mettre au compte de l'erreur analytique commise lors des dosages.

On peut écrire : $PF \ 550 = 0,5 [100 - ((Al_2O_3) + (CaO) + (SiO_2))]$ (2)

la combinaison des relations (1) et (2) conduit à l'équation :

$$M.O. = 0,2 [100 - ((Al_2O_3) + (CaO) + (SiO_2))] \quad (3)$$

Nous avons vérifié la validité de cette approximation en utilisant les quelques valeurs de M.O. que nous avons déterminé par dosage.

Le tableau n° 21 rend compte de la comparaison. Les écarts observés entre les mesures et les valeurs calculées sont du même ordre que ceux occasionnés par la dispersion enregistrée lors des calculs précédents.

M.O. dosées	M.O. calculées
3,61	2,52
5,25	4,76
2,28	2,78
8,41	8,00
4,92	3,80
3,72	4,52

TABLEAU N° 21

En conclusion, si on ne peut assimiler la différence $100 - |(Al_2O_3) + (CaO)|$ aux valeurs approchées du taux de silice que dans le cas de sédiments sableux riches en silicium, la détermination par le calcul des taux de matières organiques utilisant la corrélation linéaire reliant PF 550 et la différence $100 - |(Al_2O_3) + (CaO) + (SiO_2)|$ s'avère possible. Il faut noter cependant que ce calcul, appliqué aux sédiments pauvres en matières organiques, sera entaché d'une erreur importante, en raison des écarts à la linéarité des données corrélées, auxquels s'ajoute l'erreur analytique commise lors du dosage des éléments constitutifs.

2) Relations pertes au feu - éléments constitutifs

La mesure des pertes au feu étant une opération facile à mettre en oeuvre, beaucoup plus que le dosage des éléments constitutifs eux-mêmes, le but de nos essais a été de définir jusqu'à quel point la seule connaissance de ces données physiques permet de préjuger de la composition chimique de constitution des sédiments et de déterminer la validité d'éventuelles corrélations reliant ces paramètres.

FIG 19a

+ Y = PERTE AU FEU A 550 DEGRES

+ X = %AL2O3

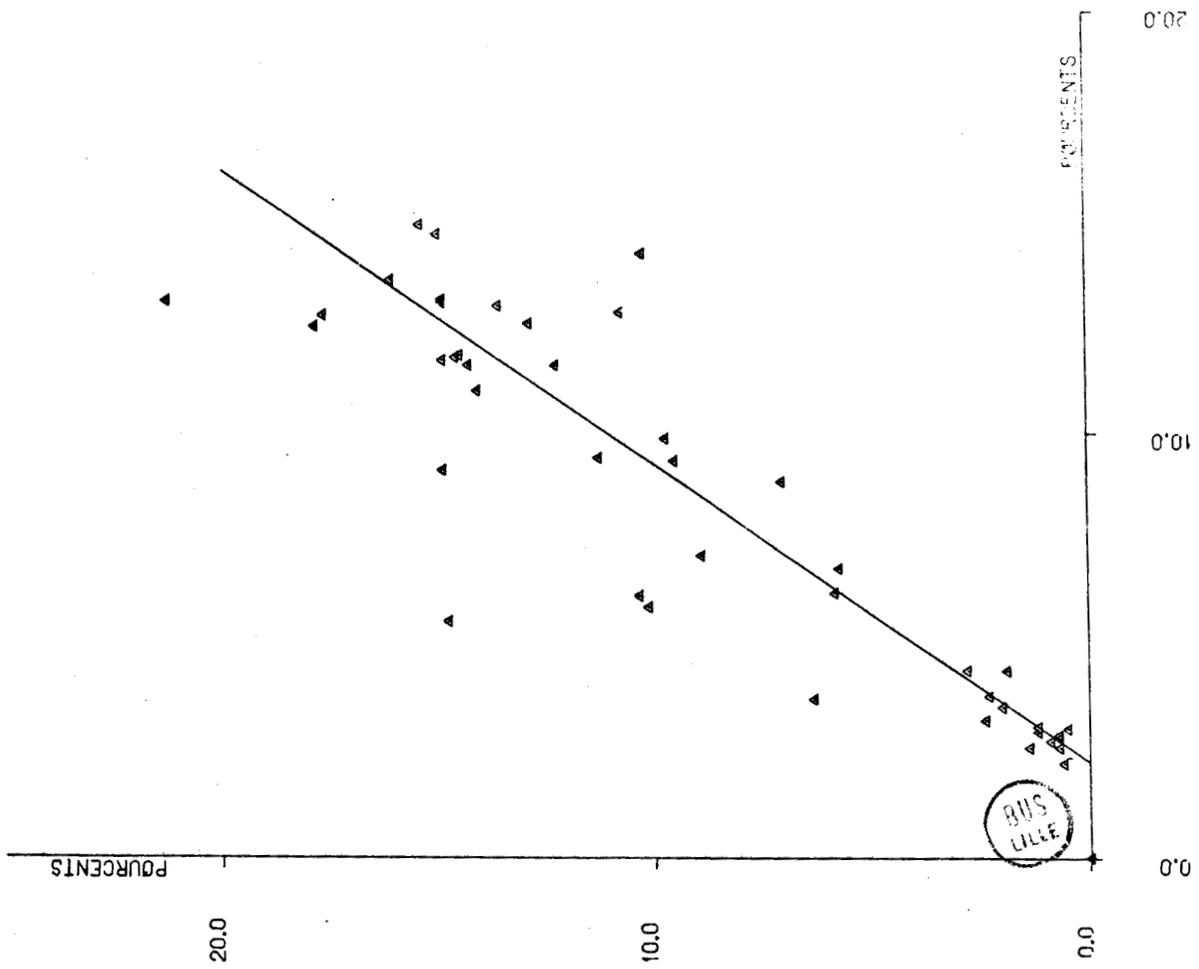


FIG 19b

+ Y = PERTE AU FEU A 550 DEGRES

+ X = %AL2O3

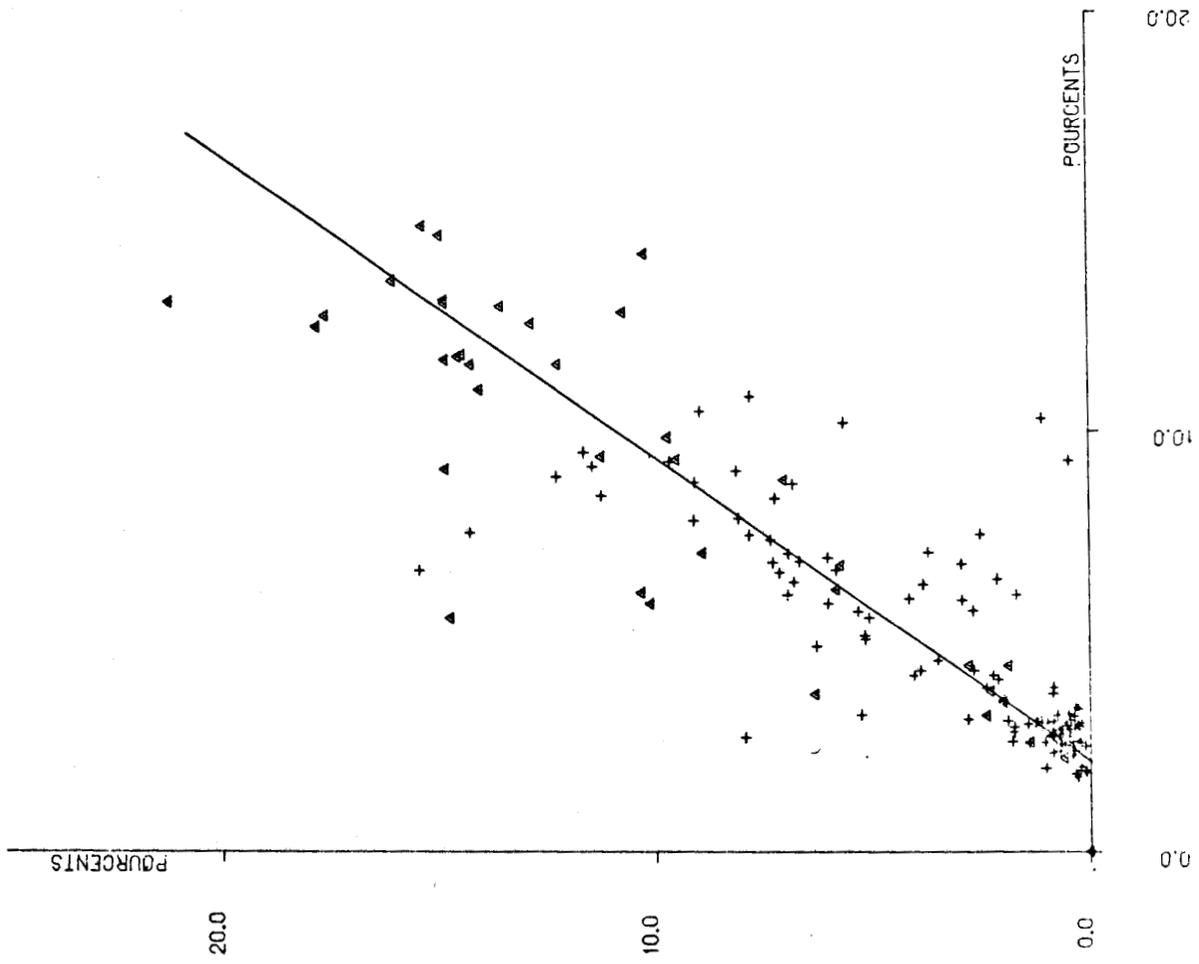


FIG 20a
 + Y = PERTE AU FEU DE 550 A 1000 DEGRES
 + X = %CAO

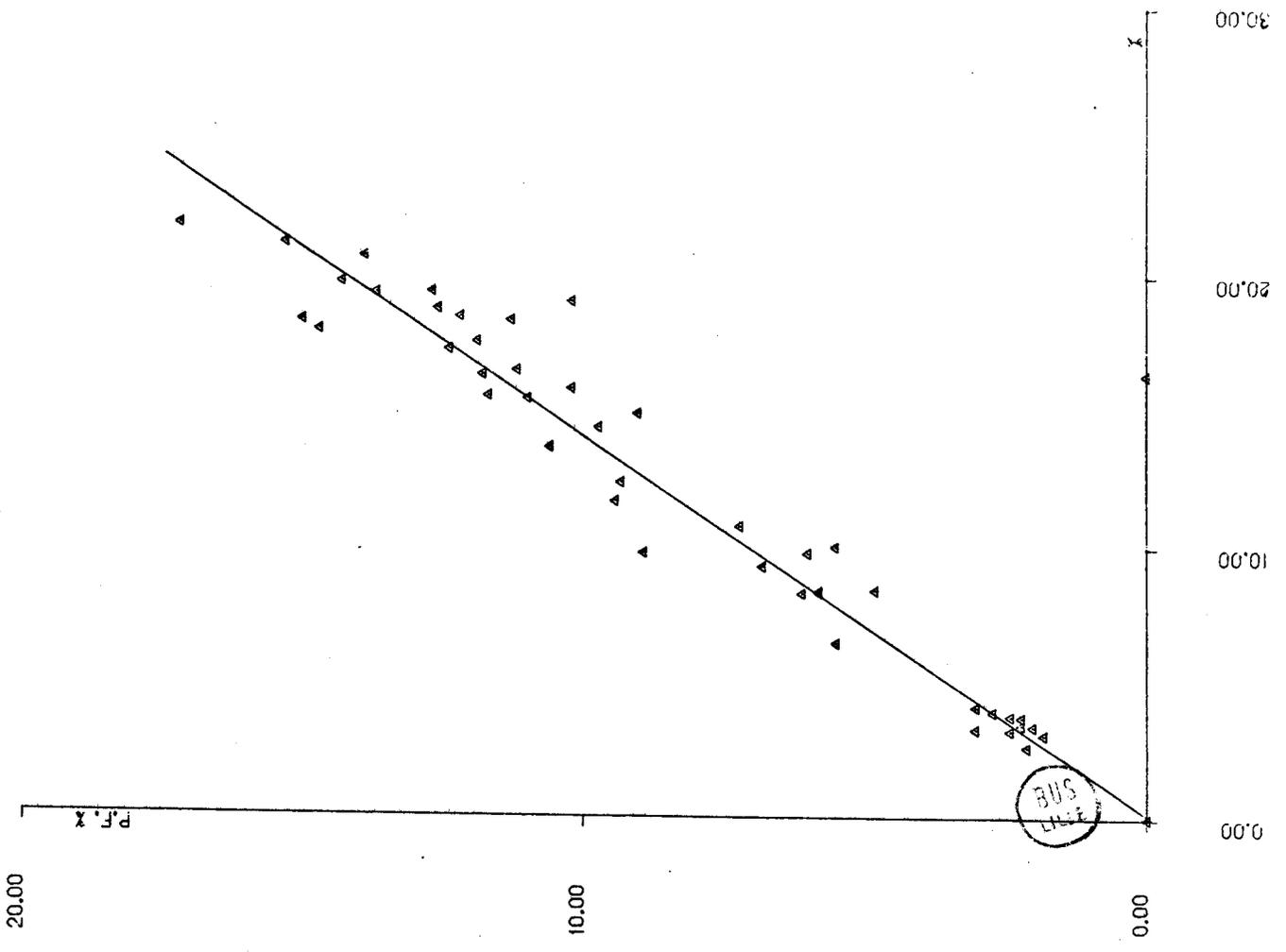
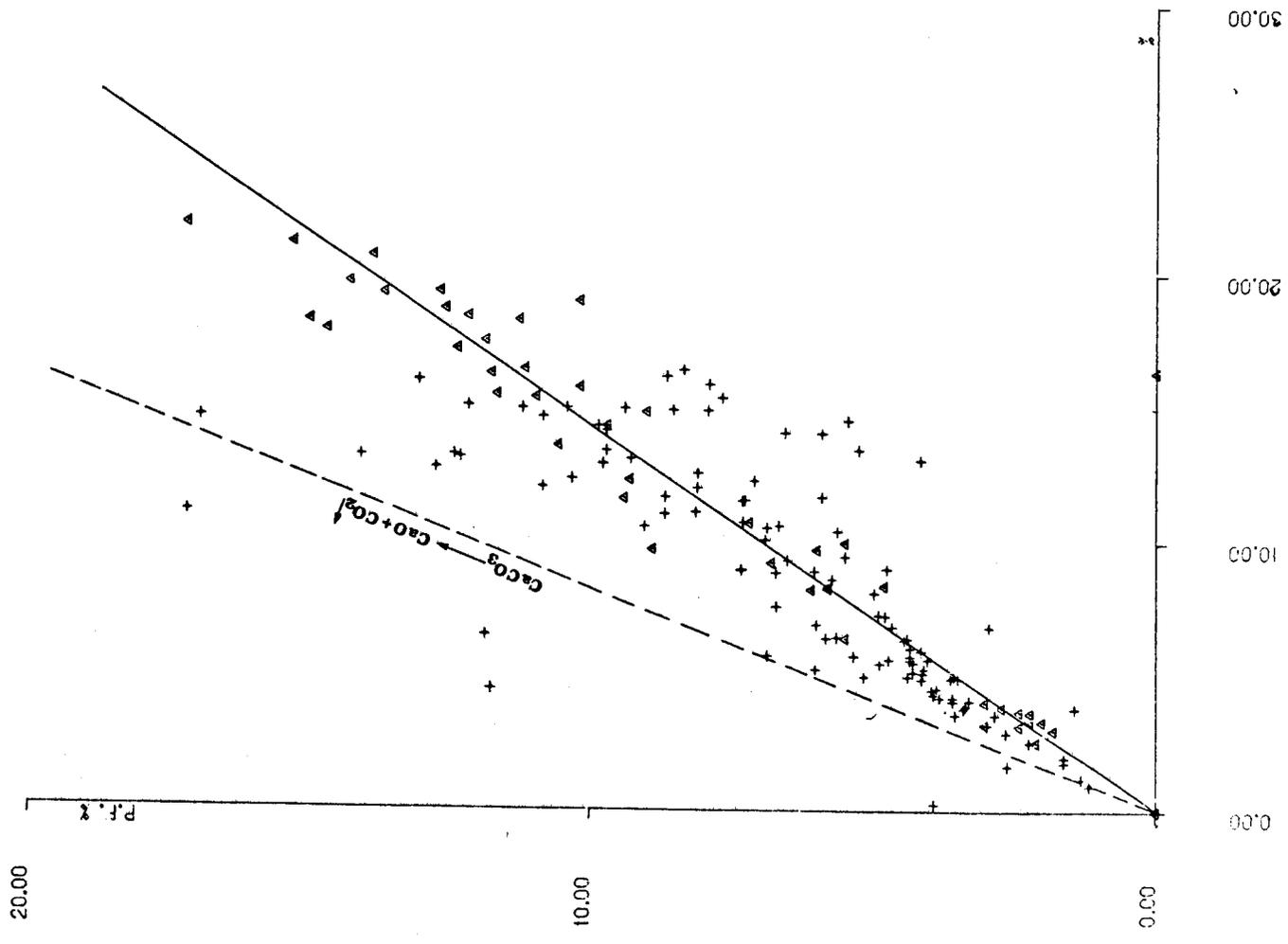
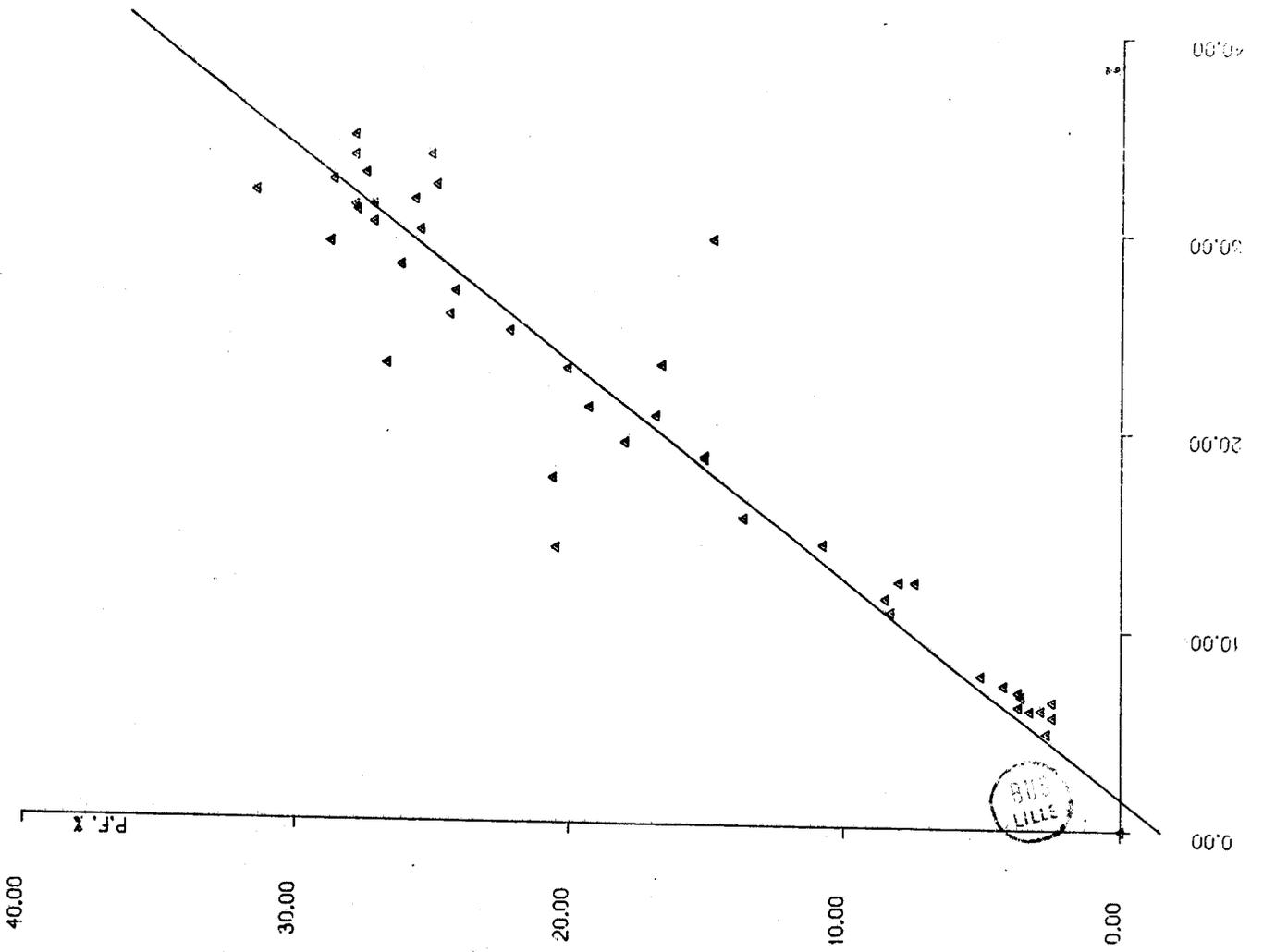


FIG 20b
 + Y = PERTE AU FEU DE 550 A 1000 DEGRES
 + X = %CAO



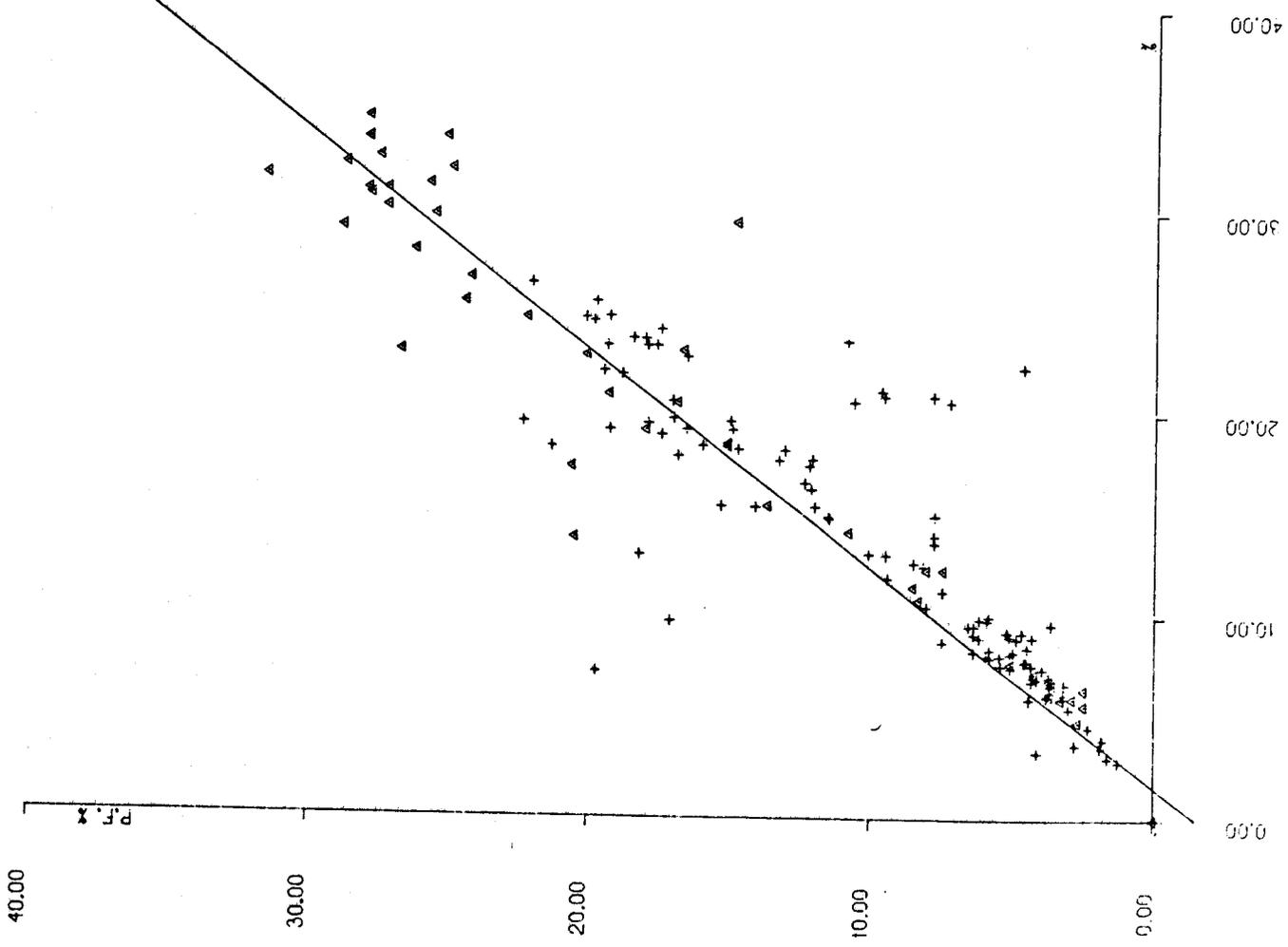
+Y= PERTE AU FEU TOTALE
+X= %AL2O3+%CAO

FIG 21a



+Y= PERTE AU FEU TOTALE
+X= %AL2O3+%CAO

FIG 21b



a) Relations pertes au feu - (Al₂O₃) (Fig. 19 a, b)

La seule corrélation qui semble exister entre ces variables est celle qui relie PF 550 et (Al₂O₃). Les nuages obtenus pour les séries A et B sont en bonne coïncidence comme le montrent les figures 19 a et b. Toutefois, la dispersion assez grande qu'on observe affecte particulièrement le taux de régression linéaire. La droite sur laquelle s'appuie le nuage de points est de pente sensiblement égale à 1 et d'ordonnée à l'origine négative. Elle coupe l'axe des abscisses en un point qui correspond à une teneur en alumine d'environ 2,5 %. On remarque qu'autour de celui-ci, existe un petit nuage de points assez resserrés, qui correspond pratiquement à tous les prélèvements de type sableux riches en silice et pauvres en fractions granulométriques fines, soit environ 50 prélèvements comptant pour un tiers de l'échantillonnage complet.

Cette remarque est intéressante par le fait, qu'en extrapolant, on peut distinguer, dans la teneur en alumine d'un sédiment, deux contributions : l'une pratiquement constante, en relation étroite avec la nature siliceuse des fractions les plus grossières et caractérisée par une grande inertie vis-à-vis de la captation des matières organiques et des métaux ; l'autre, variable, liée à la présence de matériaux argileux de faible granulométrie, et caractérisée par un grand pouvoir d'absorption ou de rétention. C'est cette dernière contribution qui s'avère la plus intéressante à étudier dans le cadre d'une étude de pollution.

b) Relations pertes au feu - (CaO) (Fig. 20 a, b)

Nous rappelons que la perte au feu mesurée entre 550°C et 1000°C est essentiellement due à la décomposition des carbonates par départ de CO₂. On pouvait donc s'attendre, en admettant que le calcium est en majeure partie sous forme de carbonate, à ce qu'il existe une relation liant PF 550-1000 et (CaO).

Les figures 20 a et b illustrent la bonne coïncidence des nuages de points, une relation linéaire unique liant les 2 variables pour les séries A et B.

Nous avons comparé la droite de régression définissant cette corrélation significative à la droite théorique qui décrit les variations pondérales enregistrées en fonction du résidu, au cours de la décomposition thermique du carbonate de calcium pur, selon la réaction.



On constate que l'ensemble du nuage, sauf quelques points, est entièrement situé sous la droite théorique, indiquant par là que le calcium, dont la teneur a été ramenée à celle de l'oxyde, n'est pas entièrement sous forme de carbonate, l'écart observé étant d'autant plus grand que les teneurs sont élevées. Ce sont les sables grossiers qui se rapprochent le plus de la droite théorique, bien que quelques prélèvements riches en débris coquilliers s'en écartent "anormalement".

Au vu des remarques précédentes, si le calcium n'est pas dans les sédiments uniquement sous forme de CaCO_3 , l'existence d'une corrélation linéaire entre (CaO) et la perte au feu entre 550°C et 1000°C , indicatrice de la teneur en carbonate, laisse supposer que c'est le calcium qui détermine et régule la charge en carbonate des sédiments.

c) Relations pertes au feu - somme $[(\text{Al}_2\text{O}_3) + (\text{CaO})]$ (Fig. 21 a, b)

Le fait d'utiliser la somme de 2 variables peut, par effet de pondération, restreindre la dispersion des nuages de points et ainsi mettre en évidence une corrélation dont le taux de régression linéaire se trouve amélioré, comparé à ceux déterminés pour les variables prises séparément.

Si l'effet de pondération s'est révélé négatif pour l'étude des variations des paramètres PF 550 et PF 550-1000 en fonction de $[(\text{Al}_2\text{O}_3) + (\text{CaO})]$, il n'en est pas de même pour le couple perte au feu totale, $[(\text{Al}_2\text{O}_3) + (\text{CaO})]$ dont les figures 21 a et b illustrent les variations. Pour les 2 séries d'échantillons, la dispersion s'avère très raisonnable et les nuages de points, pratiquement confondus, s'orientent suivant une droite. En raison de cette bonne coïncidence, nous avons calculé pour chacun d'eux l'équation de la droite génératrice et son taux de régression linéaire.

$$Y = P \text{ totale en } \%$$

$$X = [(\text{Al}_2\text{O}_3) + (\text{CaO})] \text{ en } \%$$

* Série A

$$y = aX + b$$

$$a = 0,91 \pm 0,05$$

$$b = - 1,36 \pm 1$$

$$r = 0,95$$

FIG 22a

Y= %FE203 + %TiO2 (MAJEURS)
X= PERTE AU FEU A 550 DEGRES

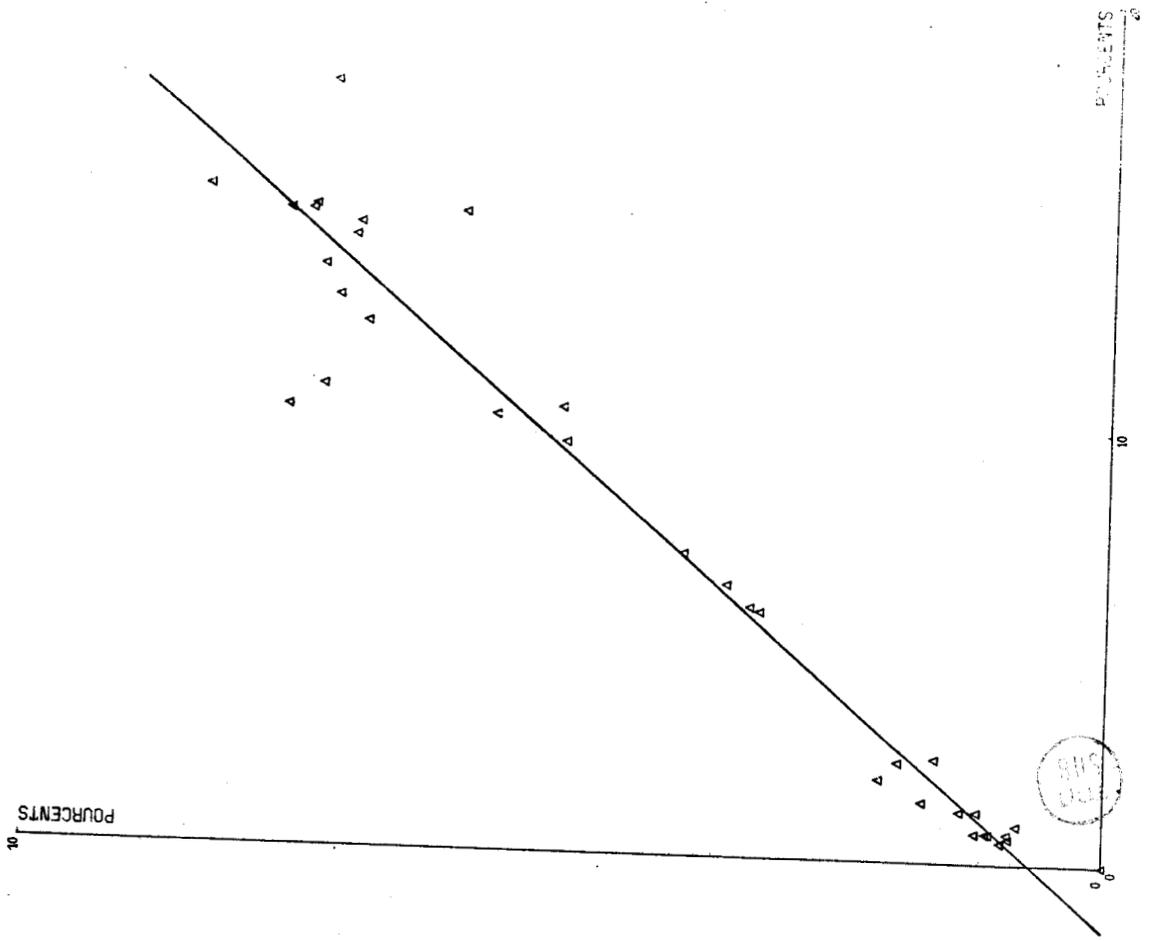
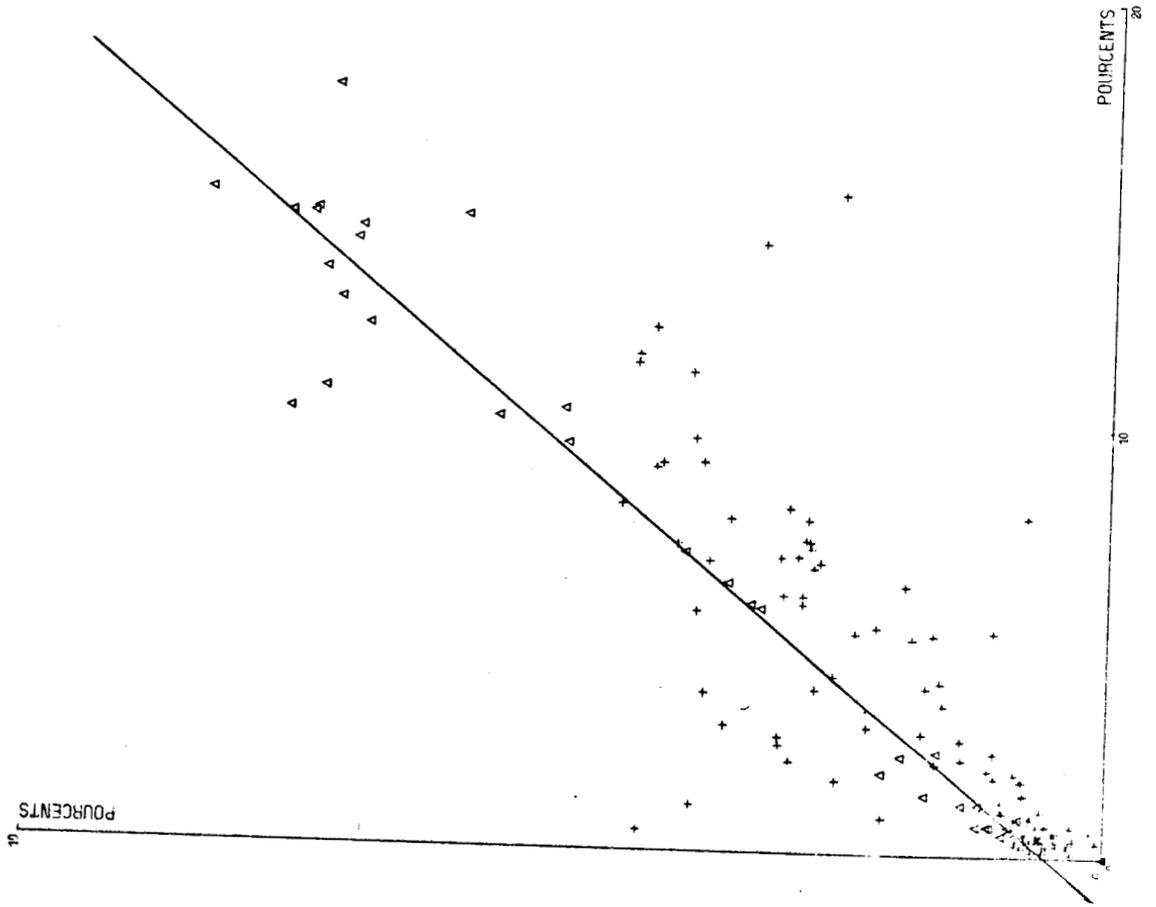


FIG 22b

Y= %FE203 + %TiO2 (MAJEURS)
X= PERTE AU FEU A 550 DEGRES



* Série B $y = aX + b$
 $a = 0,77 \pm 0,05$
 $b = - 0,52 \pm 0,72$
 $r = 0,84$

* Ensemble A et B $a = 0,87 \pm 0,03$
 $b = 1,49 \pm 0,57$
 $r = 0,91$

Ces résultats montrent qu'il y a peu de différence entre les 2 groupes de données, ceux-ci pouvant être confondus en un ensemble cohérent caractérisé par une corrélation linéaire unique. Ils montrent également que la mesure de la perte au feu totale est un bon moyen d'apprécier assez justement les teneurs cumulées en aluminium et en calcium.

d) Conclusion

La détermination des pertes au feu apparaît comme un moyen rapide et fiable de connaître à priori pour un sédiment, outre son niveau approché en éléments constitutifs, sa richesse en matières organiques et en carbonates, en utilisant pour chaque type d'information les corrélations précédemment mises en évidence et qui offrent un bon niveau de confiance.

3) Relations Σ majeurs - Pertes au feu

$$\Sigma MAJ = (Fe_2O_3) + (TiO_2) \text{ en } \%$$

a) $\Sigma MAJ = f(PF_{550})$ (Fig. 22 a, b)

Les variations de ce couple de données sont illustrées par les figures 22 a et b.

Nous n'avons retenu que les prélèvements de la série A' pour lesquels les points correspondants s'orientent suivant une droite et présentent une faible dispersion pour les valeurs moyennes et faibles, celle-ci devenant plus importante aux teneurs élevées. L'ordonnée à l'origine de la droite, de l'ordre de 0,75 %, rend compte de la quantité de fer et de titane de constitution qui correspond ici encore aux sédiments sableux grossiers, et permet, par extrapolation, d'interpréter les niveaux comme cela a été fait par l'alumine (§ 2 a).

La figure 22 b montre quant à elle la même orientation du nuage de

points de la série B relativement au précédent, avec cependant une dispersion beaucoup plus grande. De nombreux points se singularisent et il apparaît difficile de classer globalement les niveaux cumulés en fer et en titane de chaque série. D'autre part, s'il est normal qu'une relation existe entre les paramètres (la perte au feu à 550°C étant en partie due à la déshydratation des hydroxydes de fer), on ne peut cependant pas considérer globalement, pour toutes les données, qu'il y ait corrélation avec un degré de confiance suffisant, mais simplement tendance corrélatrice.

Nous avons également étudié les variations des couples (Σ MAJ, PF 550-1000) et (Σ MAJ, P totale). Les nuages de points obtenus sont assez dispersés, bien que l'on remarque la même tendance corrélatrice rencontrée précédemment avec PF 550.

$$b) \text{ [Fe}_2\text{O}_3] = f(\text{PF 550}) ; \text{ [TiO}_2] = f(\text{PF 550})$$

Les variations des couples $[(\text{Fe}_2\text{O}_3), \text{PF 550}]$ et $[(\text{TiO}_2), \text{PF 550}]$ révèlent que la pondération engendrée par l'utilisation de leur somme faite précédemment est négative, dans la mesure où, l'absence totale de relations entre (TiO_2) et PF 550, dégrade en partie, lors de la sommation, la tendance corrélatrice qu'on observe entre (Fe_2O_3) et PF 550. Cette dégradation est en fait minimisée puisque les teneurs en titane sont environ dix fois plus faibles que les concentrations en fer.

On ne peut parler ici encore que de tendance corrélatrice pour $[(\text{Fe}_2\text{O}_3), \text{PF 550}]$, tendance liée sans nul doute au dénominateur commun des 2 variables (Cf définition de PF 550). L'allure des nuages de points est voisine de celle des nuages donnés aux figures 22 a et b, avec toutefois une dispersion un peu plus faible. Nous notons simplement que les teneurs en fer de la série A' sont globalement un peu plus élevées que celles de la série B, la détermination d'une corrélation unique pour toutes les données, si elle est envisageable, serait affectée d'un taux de régression médiocre.

c) Conclusion

Les tentatives d'estimation des niveaux en titane par l'intermédiaire de la mesure des pertes au feu à 550°C se sont avérées infructueuses. En ce qui concerne le fer, cette méthode apparaît plus intéressante, mais trop imprécise du fait de la grande dispersion des points et de la singularité de certains d'entr'eux. Il semble en fait que la perte au feu à 550°C ne soit pas une variable permettant de caractériser avec suffisamment de fidélité et de précision les niveaux en métaux lourds majeurs des sédiments.

FIG 23a

+ Y = PERTE AU FEU A 550 DEGRES
+ X = SOMME DES MINEURS

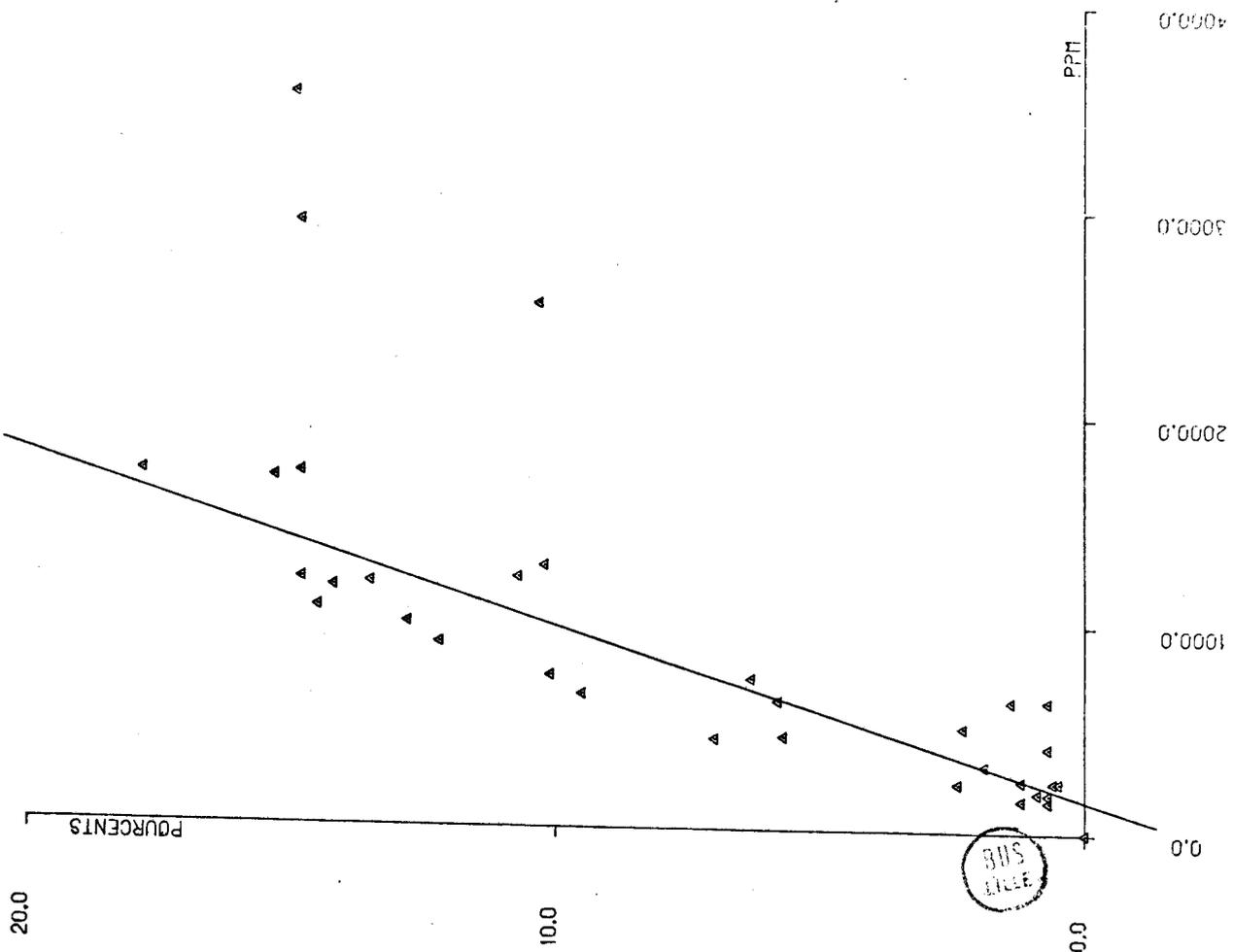
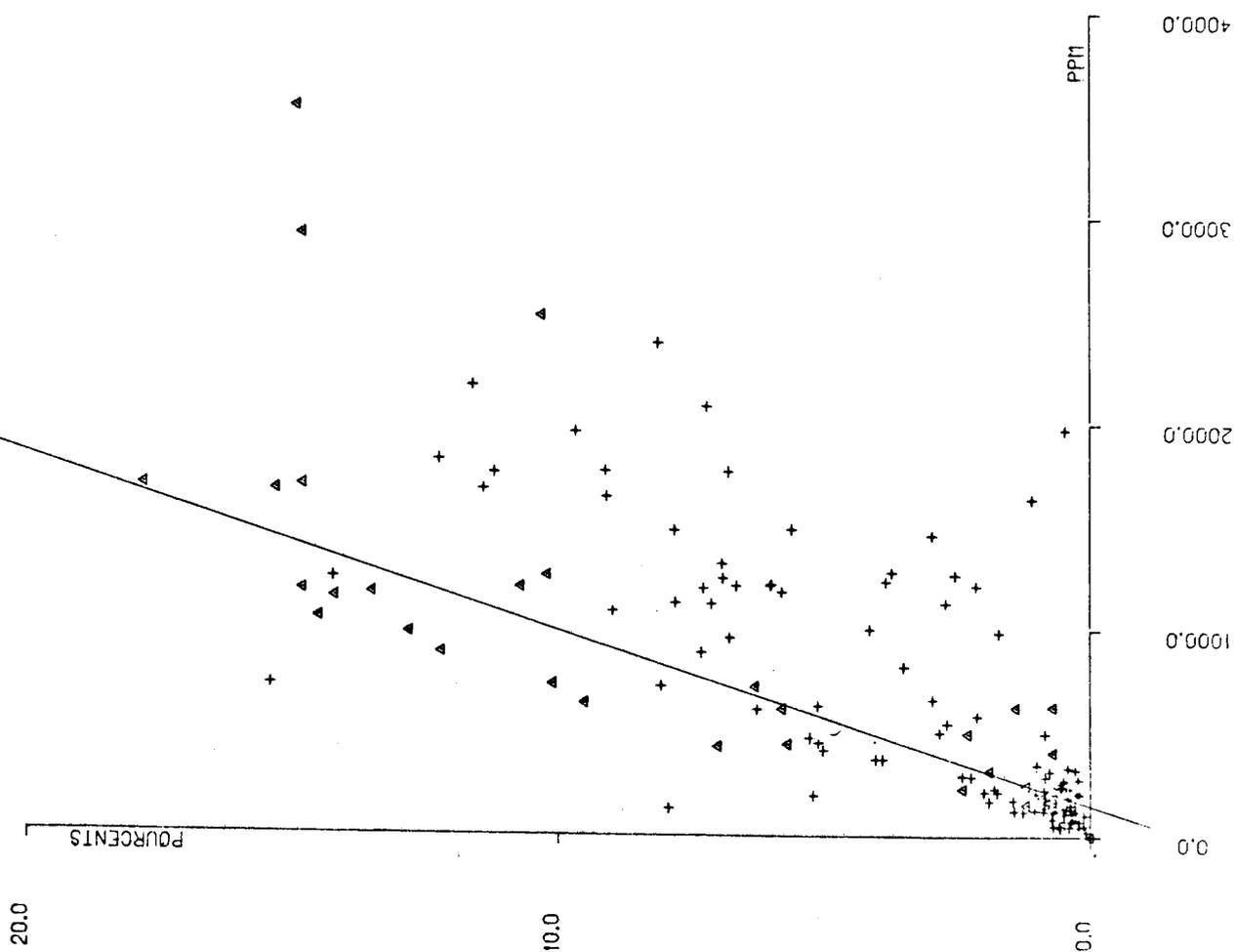


FIG 23b

+ Y = PERTE AU FEU A 550 DEGRES
+ X = SOMME DES MINEURS



4) Relations Σ MINEURS - Pertes au feu (Fig. 23 a, b)

$$\Sigma \text{ MINEURS} = (\text{Zn}) + (\text{Pb}) + (\text{Cu}) + (\text{Mn}) + (\text{Cd}) + (\text{Cr}) + (\text{V})$$

Nous avons, dans un premier temps, utilisé la somme des éléments mineurs que nous avons dosé plutôt que chacun d'eux, pris séparément, de façon à connaître pour l'ensemble de ces variables l'allure de leurs variations en fonction des différentes mesures de pertes au feu. Il s'est avéré, en fin de compte, que seules les variations du couple (Σ MIN, PF 550) présentaient un certain intérêt, les autres doublets composés avec PF 550-1000 et P totale variant de façon anarchique.

Les figures 23 a et b, rendent compte des variations de la fonction PF 550 = f (Σ MIN). Les 36 prélèvements de la série A' apparaissent assez bien corrélés sauf pour 3 d'entr'eux dont les niveaux en éléments mineurs sont particulièrement élevés. Par contre, les points correspondants à la série B (Fig. 23 b) sont d'une part beaucoup plus dispersés et d'autre part le nuage qu'ils forment est distinct du précédent : à perte au feu égale, les niveaux métalliques des sédiments de la série B sont plus élevés que ceux de la série A'.

La corrélation médiocre observée pour les sédiments belges semble assez éloignée des résultats de WOLLAST (76) portant sur 75 échantillons prélevés également sur le littoral belge. Cet auteur a mis en évidence une relation linéaire corrélant les teneurs en métaux lourds (Zn, Cu, Pb, Mn) aux taux de matières organiques. Comme une autre corrélation existe entre ces métaux et les pertes au feu à 550°C (Cf. § 1 b), on pouvait s'attendre, par combinaison, à ce que les pertes au feu à 550°C et les métaux mineurs soient également bien corrélés, avec vraisemblablement un taux de régression linéaire inférieur. Or, ce n'est pas du tout ce qu'on observe, que ce soit pour la somme des éléments mineurs, que pour chacun d'eux considéré séparément. Ceci tenderait à prouver que la prise en considération de la seule perte au feu à 550°C, pour décrire avec fidélité les variations des concentrations métalliques, semble insuffisante, voire inadaptée.

L'exploitation a été poursuivie avec la même systématique, en étudiant cette fois les relations éventuelles liant les teneurs en métaux lourds et celles en éléments constitutifs Al_2O_3 et CaO.

5) Relations Σ MAJEURS - Eléments constitutifs

L'étude des variations des couples $|\Sigma \text{ MAJ}, [\text{CaO}]|$, $|\Sigma \text{ MAJ}, [\text{Al}_2\text{O}_3]|$, $|\Sigma \text{ MAJ}, [\text{Al}_2\text{O}_3] + [\text{CaO}]|$ montre que ceux-ci sont tous corrélés au 1er ou au 2ème degré.

La corrélation linéaire existant entre les éléments majeurs et l'alumine contribue à la corrélation reliant $\Sigma \text{ MAJ}$ à la somme $|\text{Al}_2\text{O}_3 + [\text{CaO}]|$, cette dernière n'étant cependant pas linéaire mais du second degré comme celle qui caractérise le couple $|\Sigma \text{ MAJ}, [\text{CaO}]|$. En fait, comme le montre la figure 24, le nuage de points pour l'ensemble des données peut se diviser en 2 régions : la première rassemblant les points pour lesquels les variations de la teneur en CaO jusqu'à 8 % n'entraînent que peu de variations des teneurs cumulées en fer et en titane (Maximum 1,2 %), cette région correspondant aux sédiments sableux plus ou moins grossiers ; la seconde, où le nuage de points s'étire pratiquement le long d'une droite, et pour lesquels l'amplitude des variations des teneurs est beaucoup plus grande.

Mathématiquement, une représentation parabolique traduit bien ce phénomène qui, dans la réalité, signifie que les sédiments de type sableux, en tenant compte de leurs niveaux de constitution en fer et en titane, ont un faible pouvoir de rétention ou de captation pour ces 2 métaux.

a) $\Sigma \text{ MAJ} = f([\text{Al}_2\text{O}_3])$ (Fig. 25 a, b)

La corrélation linéaire qui relie ces deux paramètres est représentée aux figures 25 a et b.

Pour les prélèvements de la série A', l'équation de la droite s'écrit :

* Série A' : $Y = aX + b$

avec $X = [\text{Al}_2\text{O}_3]$, $Y = \Sigma \text{ MAJ}$

$$a = 0,58 \pm 0,03$$

$$b = - 0,28 \pm 0,23$$

$$r = 0,97$$

On peut remarquer que la corrélation serait encore meilleure, si on excluait 3 points qui se trouvent sensiblement décalés par rapport à la direction principale du nuage, sans raison déterminée.

FIG 24

$$Y = \%FE_2O_3 + \%TiO_2 \text{ (MAJEURS)}$$

$$X = \%CAO$$

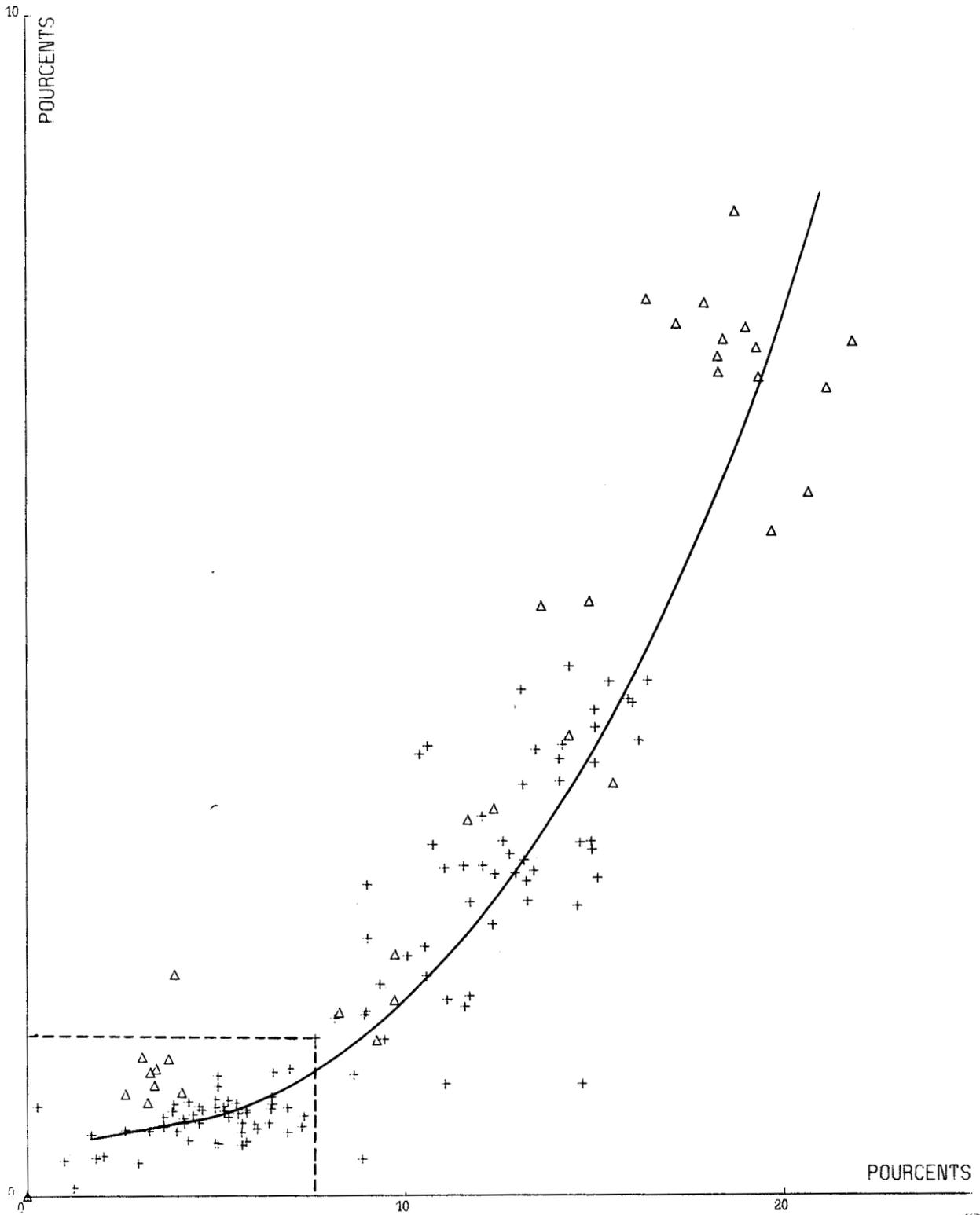


FIG 25a

$$Y = \%FE203 + \%TiO2 \text{ (MAJEURS)}$$

$$X = \%AL2O3$$

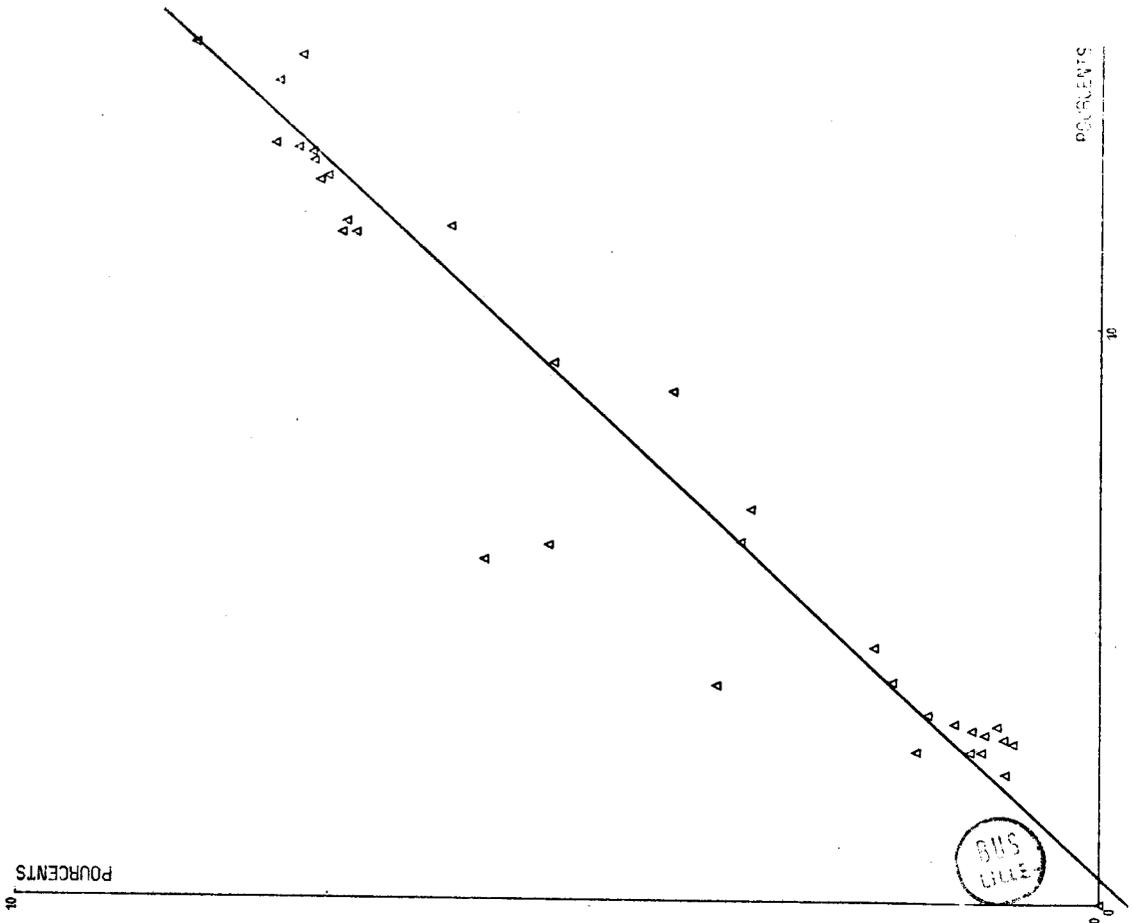


FIG 25b

$$Y = \%FE203 + \%TiO2 \text{ (MAJEURS)}$$

$$X = \%AL2O3$$

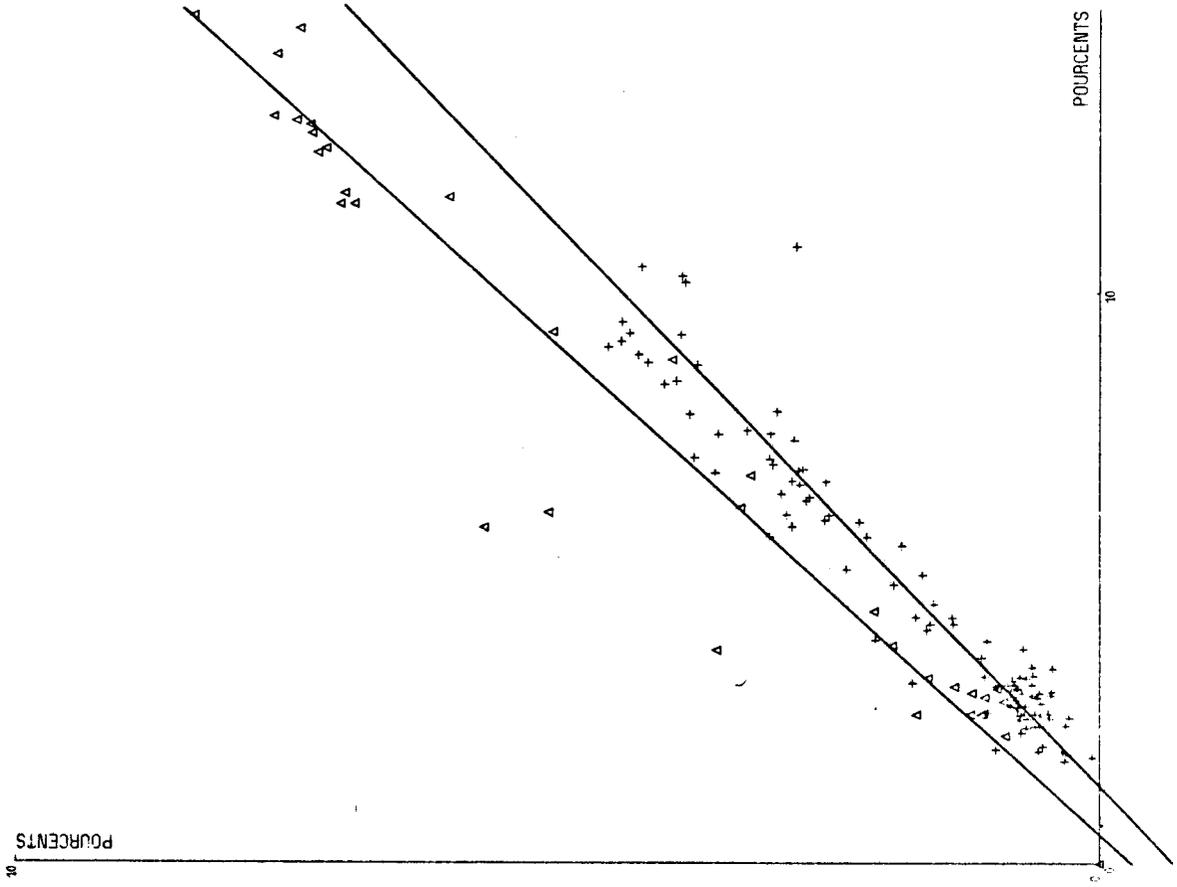


FIG 26a

Y= FE203 EN POURCENTS

X= AL2O3 EN POURCENTS

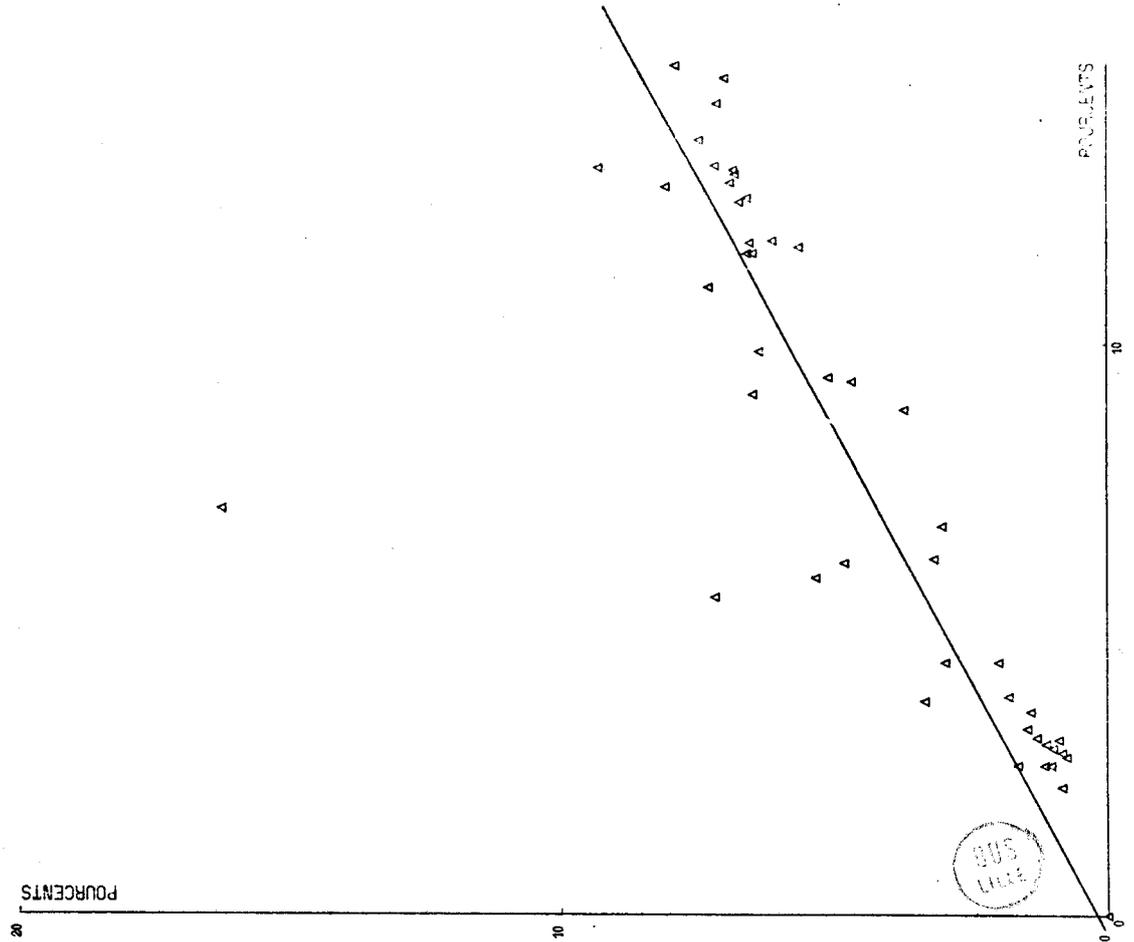
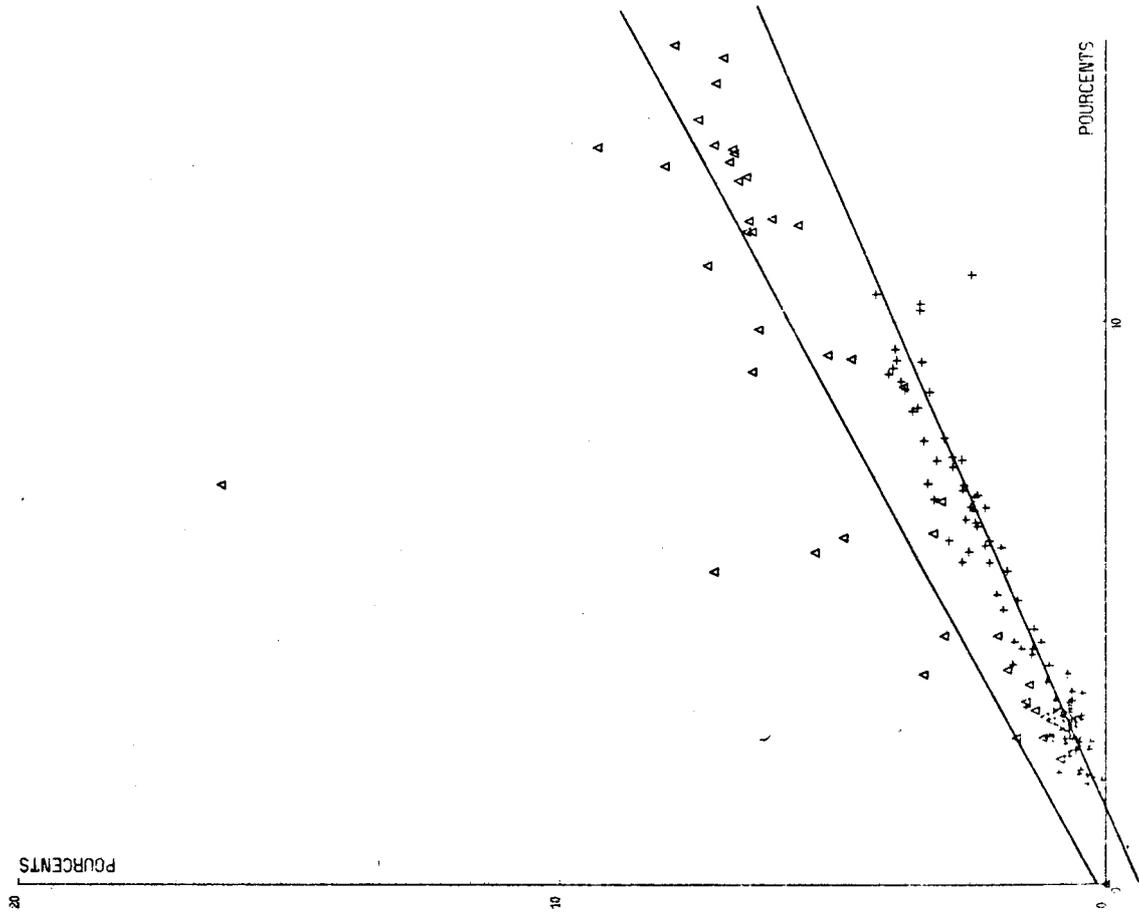


FIG 26b

Y= FE203 EN POURCENTS

X= AL203 EN POURCENTS



Pour la série B la relation s'écrit :

$$\begin{aligned} * \text{ Série B : } & y = ax + b \\ & a = 0,50 \pm 0,01 \\ & b = - 0,66 \pm 0,08 \\ & r = 0,96 \end{aligned}$$

L'ensemble de ces résultats montre que les droites de régression décrivant les variations de chaque groupe de données sont pratiquement parallèles. L'écart observé entr'elles, bien qu'assez faible, illustre le fait que les échantillons de la série A' ont des teneurs cumulées en fer et en titane supérieures à celles rencontrées dans les prélèvements du littoral belge.

D'autre part, la densité importante du nuage de points observée pour les faibles teneurs est à relier, comme nous l'avons vu précédemment pour (CaO), au type sableux des sédiments correspondants.

Les corrélations avec la somme $[(Fe_2O_3) + (TiO_2)]$ étant excellentes, nous avons déterminé quelle était la contribution de chaque élément à la relation linéaire les liant au taux d'alumine.

$$b) \ (Fe_2O_3) = f \ |(Al_2O_3)| \ \text{(Fig. 26 a, b)}$$

Les variations de ce couple sont illustrées par les figures 26 a et b,

Pour les échantillons des séries A' et A, on constate qu'une relation linéaire relie les variables. Les équations des droites calculées par régression s'écrivent :

$$(Fe_2O_3) = a \ |(Al_2O_3)| + b$$

$$\begin{aligned} * \text{ Série A' } & a = 0,54 \pm 0,08 \\ & b = 0,25 \pm 0,74 \\ & r = 0,74 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} * \text{ Série A } & a = 0,54 \pm 0,07 \\ & b = 0,40 \pm 0,67 \\ & r = 0,75 \end{aligned}$$

Pour la série B, la corrélation apparaît excellente. Elle est définie par la même équation du premier degré que ci-dessus, les valeurs des paramètres étant :

* Série B $a = 0,44 \pm 0,01$
 $b = - 0,54 \pm 0,07$
 $r = 0,96$

Le taux de régression linéaire calculé est meilleur que celui relatif aux séries A et A', de même que l'incertitude sur le calcul de l'ordonnée à l'origine qui s'avère plus faible. Ceci provient du fait que la dispersion du nuage est faible et qu'il ne présente que très peu de points singuliers.

Les remarques faites au paragraphe précédent, relatives aux niveaux métalliques, restent valables ici, le quasi-parallélisme des droites de régression montrant que les teneurs en fer de notre échantillonnage sont supérieures à celles des prélèvements belges. Les faibles écarts existant entre les paramètres calculés pour les séries A et A' laissent supposer que l'absorption du fer par les sédiments de la zone considérée est peu sensible aux conditions hydrologiques.

c) $(TiO_2) = f [(Al_2O_3)]$ (Fig. 27 a, b)

Les figures 27 a et b rendent compte de l'allure des nuages de points obtenus.

Le calcul de régression effectué pour les données des séries A' et A donne les équations suivantes :

$$(TiO_2) = a [(Al_2O_3)] + b$$

* Série A'
 $a = 0,037 \pm 0,002$
 $b = - 0,040 \pm 0,020$
 $r = 0,94$

* Série A
 $a = 0,037 \pm 0,002$
 $b = - 0,033 \pm 0,020$
 $r = 0,93$

Il y a très peu de différence entre les paramètres des droites corrélant les 36 ou les 45 points ce qui semble indiquer que les prélèvements effectués pratiquement en eau douce ne se distinguent pas des échantillons d'eau de mer en ce qui concerne l'absorption du titane comme nous l'avions remarqué également pour celle du fer.

Y = TIO2 EN POURCENTS

X = AL2O3 EN POURCENTS

FIG 27b

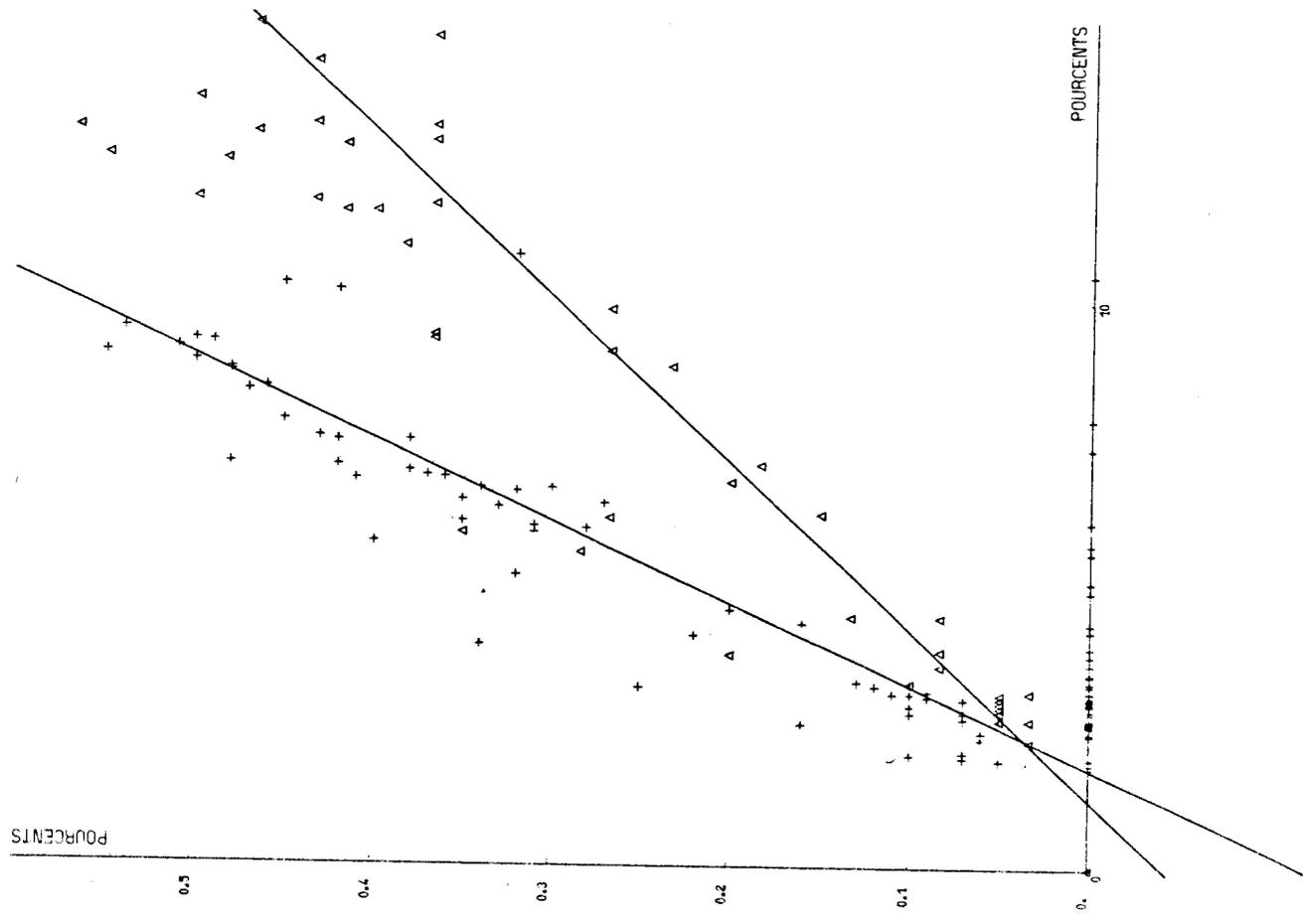
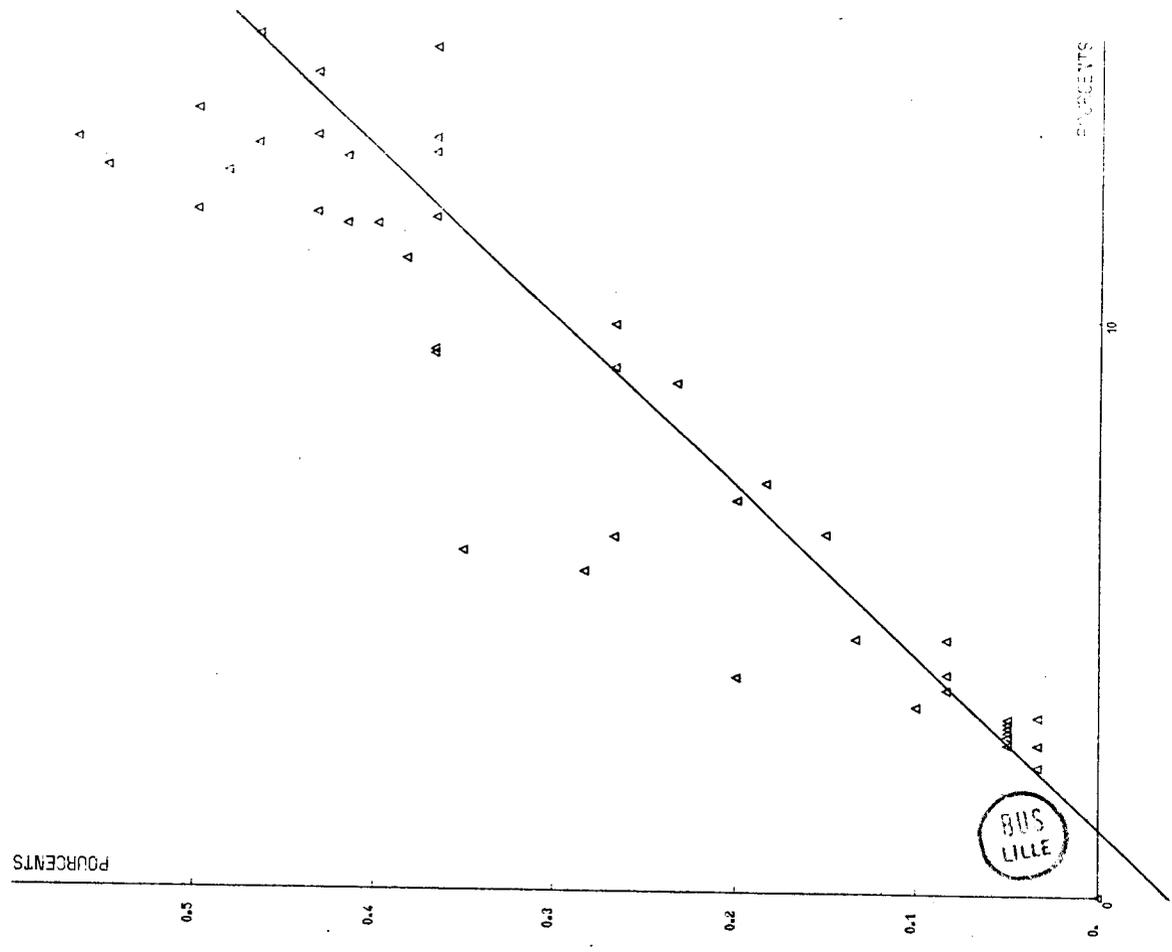


FIG 27a

Y = TIO2 EN POURCENTS

X = AL2O3 EN POURCENTS



La droite de régression qui corrèle les données de la série B est sensiblement différente des précédentes. Son taux de régression est nettement moins bon car, pour un certain nombre d'échantillons, le titane n'a pas été dosé et de ce fait, les concentrations ont été considérées comme nulles lors de l'établissement du fichier. Néanmoins, la corrélation reliant les autres points est excellente, la dispersion observée étant moins importante que celle de nos données. Les paramètres de la droite de régression ont les valeurs suivantes :

* Série B

$$a = 0,060 \pm 0,004$$
$$b = - 0,12 \pm 0,02$$
$$r = 0,80$$

On ne peut cette fois encore assimiler les 2 nuages en un même ensemble et les caractériser par une corrélation unique, puisqu'à teneur égale en alumine, ce sont les sédiments de la série B qui sont les plus riches en titane et que, globalement sur la base des droites de régression, les niveaux en titane de la série B sont plus élevés que ceux de la série A, à l'inverse de ce qui a été observé pour le fer.

d) Conclusion

Si l'on admet que l'alumine est un constituant majeur des argiles, qui sont par ailleurs riches en hydroxydes de fer, la corrélation fer-alumine alors prévisible devrait être pratiquement la même pour tous les prélèvements. Or chaque série étudiée se caractérise par une corrélation qui lui est propre. Cette différenciation peut être expliquée soit par l'interaction de l'environnement, soit par la nature différente des matériaux argileux composant chacune des séries d'échantillons.

On peut en effet admettre que la structure cristalline des argiles est un facteur qui détermine leur pouvoir de capture des éléments métalliques.

La corrélation alumine-titane, moins évidente à priori, illustre encore mieux la différenciation marquée entre les 2 séries de sédiments.

Non seulement la relation existant entre l'alumine et les métaux majeurs permet de comparer de façon relative deux zones géographiques, mais également d'estimer, et mieux, de prévoir l'impact de l'environnement sur le milieu.

6) Relations ΣMINEURS Eléments constitutifs

Comme pour l'étude des relations avec les pertes au feu, nous avons préféré, dans un premier temps, utiliser comme variable unique celle résultant de la somme des teneurs en métaux lourds mineurs.

Des nuages de points obtenus pour les couples $|\Sigma \text{ MIN, (CaO)}|$, $|\Sigma \text{ MIN, (Al}_2\text{O}_3)|$, $|\Sigma \text{ MIN, (CaO) + (Al}_2\text{O}_3)|$, seuls ceux relatifs à l'alumine présentent une allure intéressante sur le plan des corrélations. Ils sont donnés aux figures 28 a et b.

Pour les échantillons de la série A, la corrélation s'avère assez mauvaise par l'existence de nombreux points singuliers. En éliminant les 9 prélèvements de la série A" on améliore assez sensiblement celle-ci, bien que, comme on le constate sur la figure 28 a, 3 points se détachent encore nettement de l'ensemble, sans raison déterminée.

L'équation de la droite de régression calculée s'écrit :

$$\Sigma \text{ MIN} = a |(Al_2O_3)| + b$$

* Série A'

$$a = 123 \pm 25$$
$$b = 72 \pm 225$$
$$r = 0,64$$

Le taux de régression est assez faible et l'incertitude sur les paramètres de la droite est importante surtout pour l'ordonnée à l'origine, conséquence de la singularité de 3 points et de la dispersion assez grande du nuage lui-même.

En ce qui concerne les échantillons de la série B (Fig. 28 b), le nuage de points est beaucoup plus resserré, ce qui se traduit par une amélioration sensible des taux de régression et de l'incertitude sur les paramètres de la droite.

* Série B

$$a = 230 \pm 9$$
$$b = - 458 \pm 50$$
$$r = 0,92$$

Dans la mesure où la comparaison de 2 corrélations de qualité si différente peut s'avérer valable, on remarque qu'en dehors des sédiments contenant de 3 à 5 % d'alumine, les teneurs en éléments mineurs pour les 2 séries d'échantillons ne sont plus comparables, les sédiments belges ayant des niveaux cumulés nettement plus élevés que ceux de la zone étudiée, puisqu'il existe un facteur 2

FIG 28a

+ Y = SOMME DES MINEURS
+ X = % AL2O3

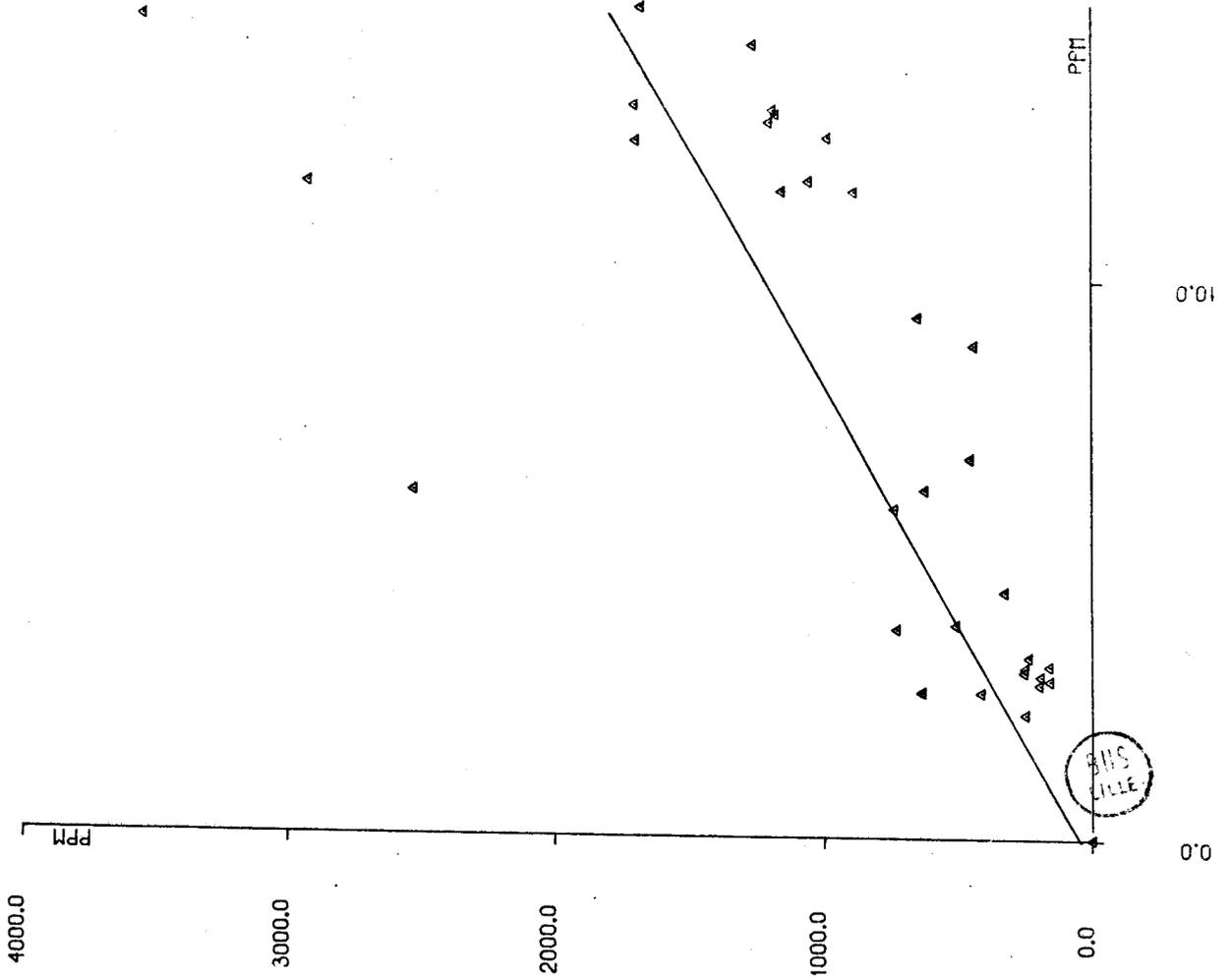
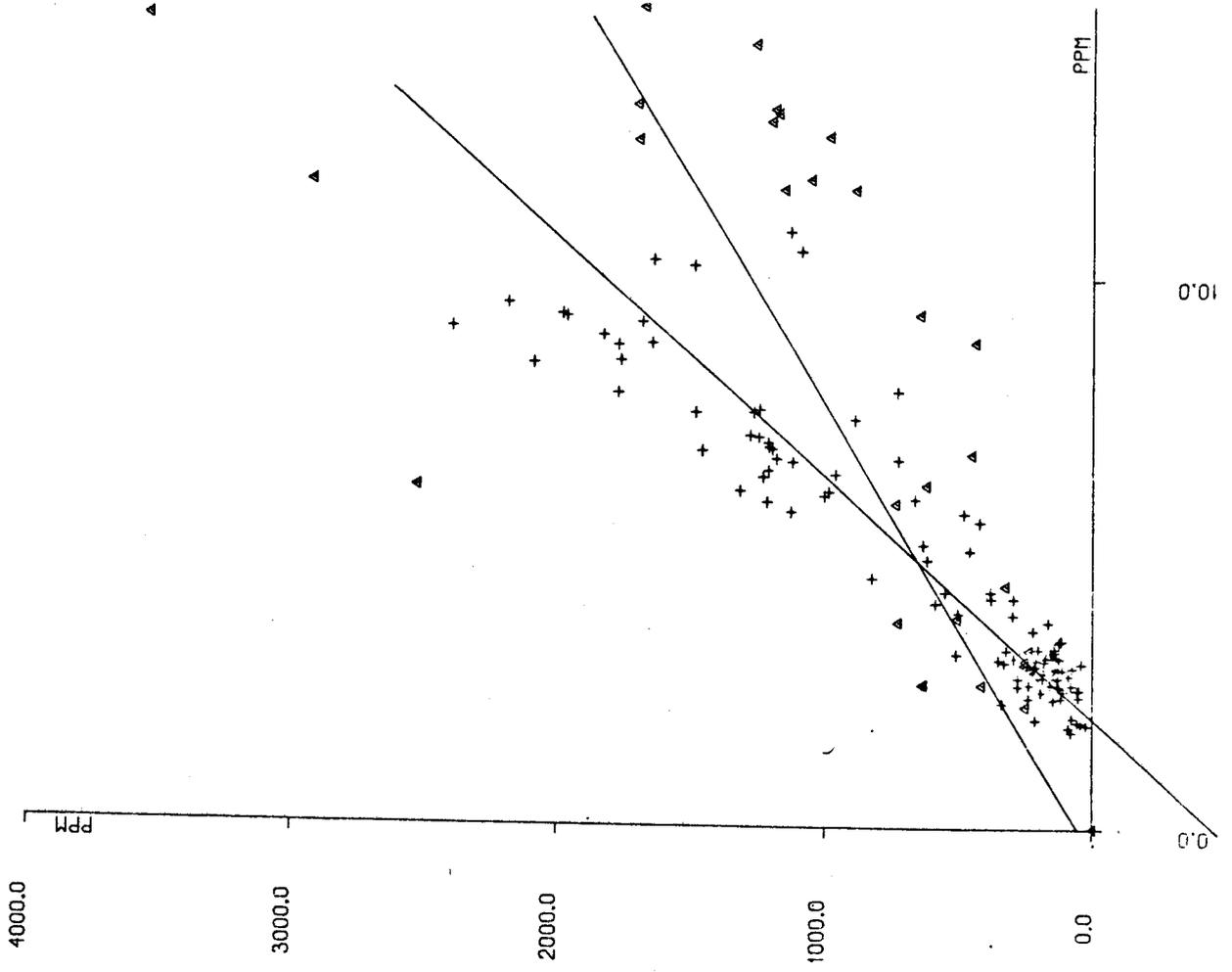


FIG 28b

+ Y = SOMME DES MINEURS
+ X = % AL2O3



entre les pentes des droites de régression au-delà de leur intersection.

D'autre part, et comme précédemment la densité importante du nuage pour les faibles teneurs en métaux mineurs dans une zone de concentration en Al_2O_3 de l'ordre de 3 % se rapporte aux points correspondants aux sédiments sableux de granulométrie grossière.

Afin de juger de la contribution de chaque métal à la relation générale mise en évidence pour leur somme, nous avons approfondi l'étude en nous intéressant successivement aux 4 métaux mineurs les plus répandus : Zn, Mn, Cu, Pb.

Des essais préliminaires ont montré qu'il était nécessaire, pour 3 métaux, d'effectuer une sélection de nos échantillons, en ne considérant que ceux de la série A' dont ont été exclus quelques prélèvements où les concentrations rencontrées apparaissent anormalement élevées.

a) $(Zn) = f([Al_2O_3])$ (Fig. 29)

La figure 29 nous montre les variations de cette fonction pour chaque série d'échantillons. Les données de la série B n'ont fait l'objet d'aucune exclusion, tandis que pour la série A, les points considérés sont ceux pour lesquels les teneurs en zinc n'excèdent pas 1 000 ppm.

Les 2 nuages de points correspondants s'orientent selon deux directions presque parallèles, les points de la série A étant les plus dispersés. Les équations des droites de régression s'écrivent

$$(Zn) = a [Al_2O_3] + b$$

* Série A' ramenée à 30 points

$$a = 25,5 \pm 5,2$$

$$b = 35,9 \pm 43,2$$

$$r = 0,66$$

* Série B

$$a = 27,8 \pm 1,2$$

$$b = - 54,6 \pm 6,3$$

$$r = 0,92$$

La dispersion observée pour notre échantillonnage affecte évidemment l'incertitude sur les paramètres de la droite et son taux de régression. Le nuage de points belges est remarquablement orienté et l'incertitude sur les coefficients directeurs de la droite, raisonnable, mettant en évidence la bonne qualité de la corrélation.

Alors que globalement nous avons vu que les niveaux cumulés en éléments mineurs étaient supérieurs sur le littoral belge, il apparaît ici, pour le zinc, que ce sont les prélèvements de la zone portuaire considérée qui ont les teneurs les plus élevées.

b) $(Cu) = f[(Al_2O_3)]$ (Fig. 30)

La règle de sélection appliquée pour cet élément fait que nous n'avons retenu que les sédiments de la série A' dont les niveaux en cuivre ne dépassaient pas 70 ppm, cette sélection ne concernant pas la série B.

Les nuages obtenus, reproduits à la figure 30 peuvent être corrélés linéairement par l'équation suivante

$$(Cu) = a [(Al_2O_3)] + b$$

* Série A' ramenée à 30 points

$$a = 2,7 \pm 0,5$$

$$b = 8,8 \pm 3,8$$

$$r = 0,72$$

* Série B

$$a = 4 \pm 0,2$$

$$b = - 9,3 \pm 1,4$$

$$r = 0,82$$

Les données de la série B sont ici encore les mieux corrélées mais d'une façon un peu moins bonne que pour le zinc, tandis que celles de la série A voient leur coefficient de régression amélioré relativement à celui déterminé précédemment. D'autre part, les niveaux en cuivre rencontrés au sein de nos prélèvements sont, comme pour le zinc, globalement supérieurs à ceux des sédiments belges, phénomène qui passe inaperçu, compte-tenu des quantités présentes quand on considère la somme des métaux, comme nous l'avons fait au départ.

FIG 29

Y= ZINC EN PPM

X= % AL2O3

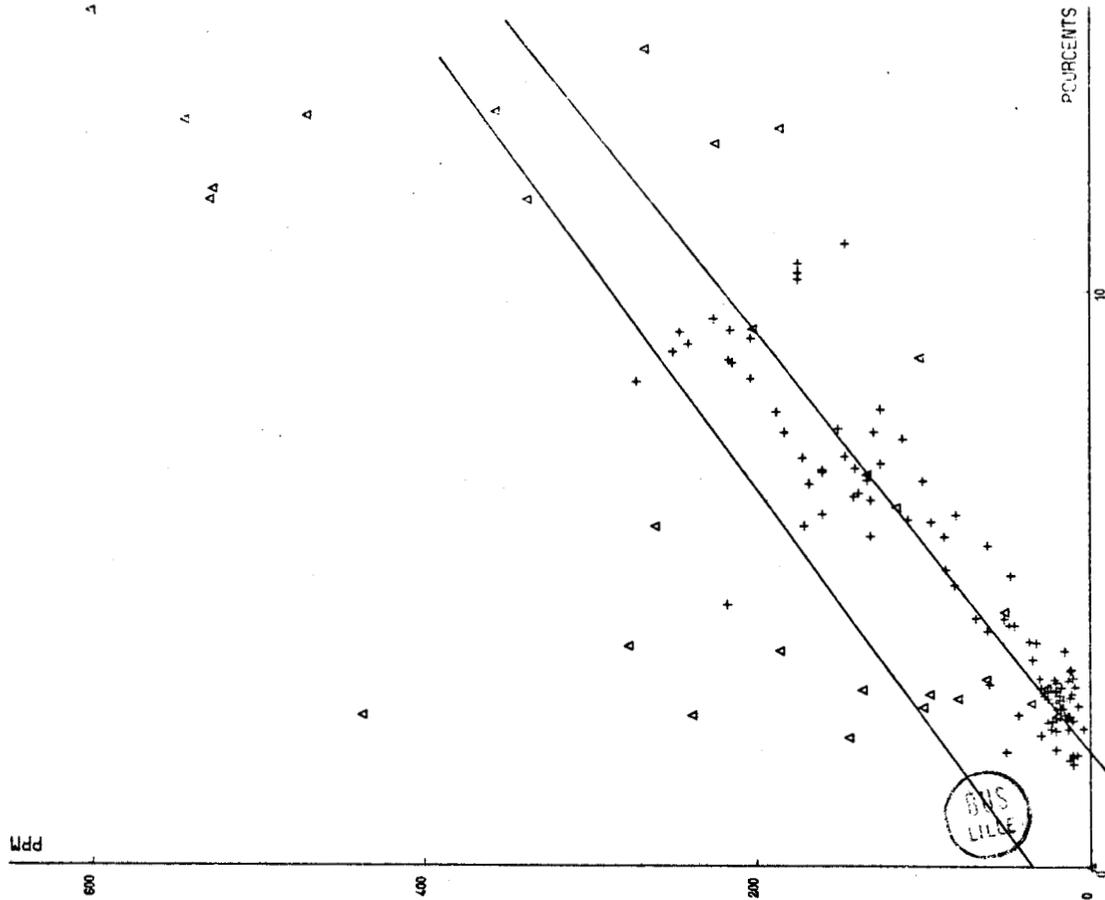
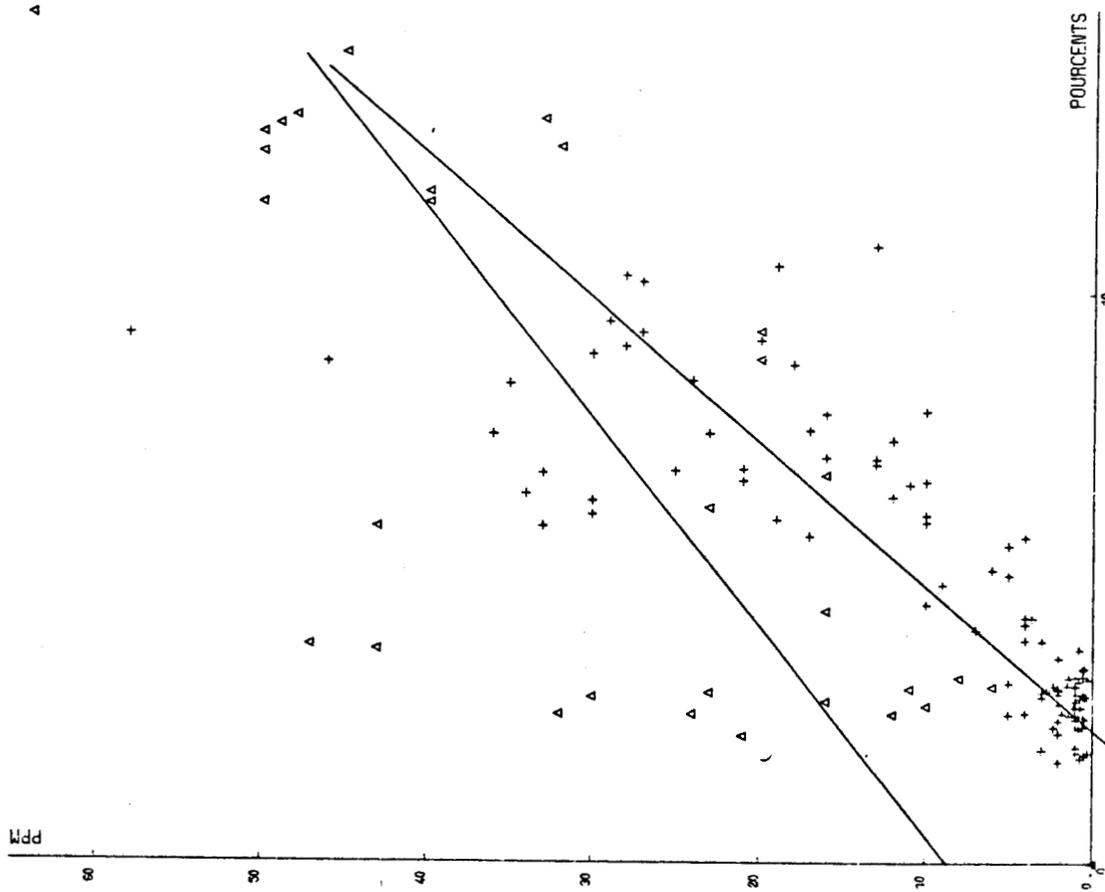


FIG 30

Y= CUIVRE EN PPM

X= % AL2O3



c) $[Pb] = f_{[(Al_2O_3)]}$

L'étude des variations de ce couple donne des résultats assez médiocres. Pour les sédiments de la série A', et après exclusion des points dont les concentrations en plomb dépassent 500 ppm, la valeur du taux de régression n'atteint que 31 % avec une incertitude sur la pente de la droite de près de 45 %.

Pour tous les prélèvements de la série B, la corrélation s'améliore nettement, le taux de régression atteignant 80 % et l'incertitude sur les paramètres étant de même ordre que celles déterminées jusqu'à présent. Dans ces conditions, la comparaison des niveaux respectifs de chaque série d'échantillons sur la base des équations des droites de régression n'est pas significative. On peut simplement constater que ceux-ci sont globalement du même ordre, et il semble que le plomb possède, comme l'a noté WOLLAST (76), un comportement particulier vis-à-vis des sédiments, comparativement aux autres métaux mineurs.

d) $[Mn] = f_{[(Al_2O_3)]}$ (Fig. 31)

De l'ensemble des 4 métaux étudiés individuellement, c'est la relation manganèse-alumine qui, pour les 2 ensembles de données, donne les meilleurs résultats comme l'illustre la figure 31. Nous n'avons appliqué aucune règle de sélection particulière et les équations des droites de régression s'écrivent :

$$(Mn) = a [(Al_2O_3)] + b$$

* Série A'
 $a = 33,9 \pm 4,9$
 $b = 5,8 \pm 42,9$
 $r = 0,77$

* Série A
 $a = 32,7 \pm 4,7$
 $b = 31,6 \pm 43,2$
 $r = 0,73$

* Série B
 $a = 131 \pm 5,8$
 $b = - 263 \pm 31$
 $r = 0,91$

Pour la série A, l'exclusion des 9 prélèvements de la série A" ne modifie pas sensiblement les coefficients de la droite, ce qui semble indiquer que l'absorption du manganèse serait moins soumise à l'influence des conditions hydrologiques.

D'autre part, si les 2 nuages de points ont en commun une région pour laquelle le taux d'alumine est de l'ordre de 3 % et correspondant comme nous l'avons déjà noté précédemment aux sédiments sableux grossiers, ils s'individualisent nettement au-delà, puisqu'un rapport voisin de 4 existe entre les pentes des droites qui les corrélient. Il apparaît de ce fait, et compte-tenu des valeurs des concentrations, que ce sont les niveaux en manganèse qui contribuent le plus à la somme des mineurs, et, de ce fait, orientent préférentiellement les profils de distribution globale, masquant complètement les particularités rencontrées pour chacun des autres métaux. (Zn et Cu notamment).

e) Conclusion

La bonne corrélation reliant le taux d'alumine et la somme des teneurs en éléments mineurs est en fait le résultat pondéré de corrélations élémentaires décrivant avec plus ou moins de fidélité les variations des teneurs en chaque élément en relation avec l'alumine.

Si pour notre propre échantillonnage, l'existence de certains points singuliers affecte sensiblement la qualité des relations, on constate cependant en comparant les résultats à ceux obtenus pour le couple (Σ MIN PF 550) (Cf. § 4) que les variations des teneurs en alumine sont beaucoup plus significatives que celles des pertes au feu à 550°C pour apprécier la contamination des sédiments, plus particulièrement d'ailleurs pour les échantillons belges, pour lesquels les divers coefficients de régression s'avèrent nettement meilleurs.

Nous avons à maintes reprises, constaté que les nuages de points décrivant les variations des couples de paramètres étudiés présentent une zone d'accumulation de points, au voisinage de l'origine du repère, correspondant aux sédiments de type sableux et de granulométrie grossière.

Nous avons donc cherché à mettre en évidence dans quelle mesure les variables que nous avons précédemment choisies étaient en dépendance avec l'état granulométrique des sédiments. Cet aspect de notre étude a été traité avec les échantillons de la série B uniquement, et nous en exposons brièvement les résultats dans le paragraphe suivant.

FIG 31

Y= MANGANESE EN PPM

X= % AL2O3

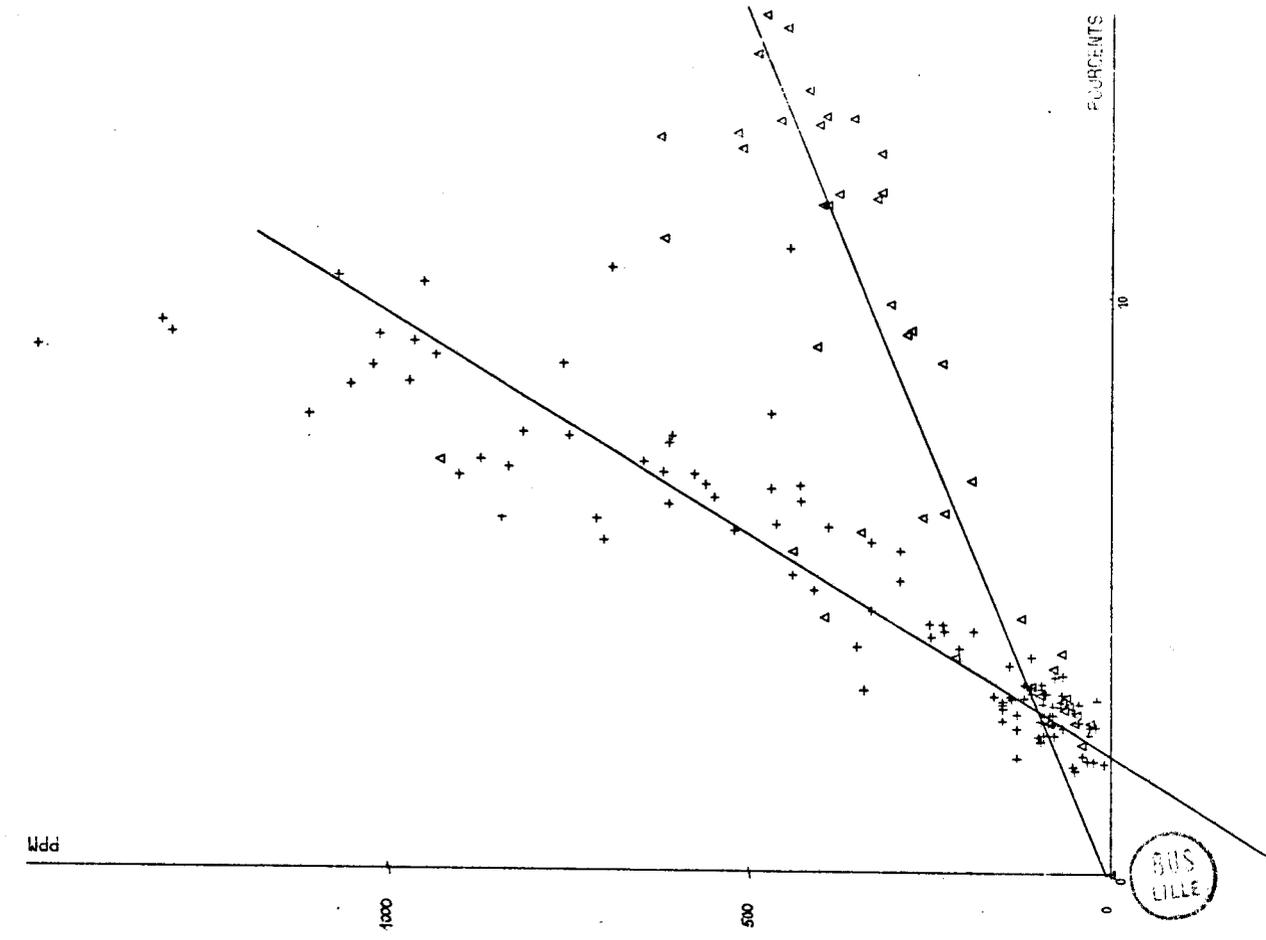


FIG 32

+ Y= GRANULOMETRIE < A 37 MICRONS

+ X= %CAO

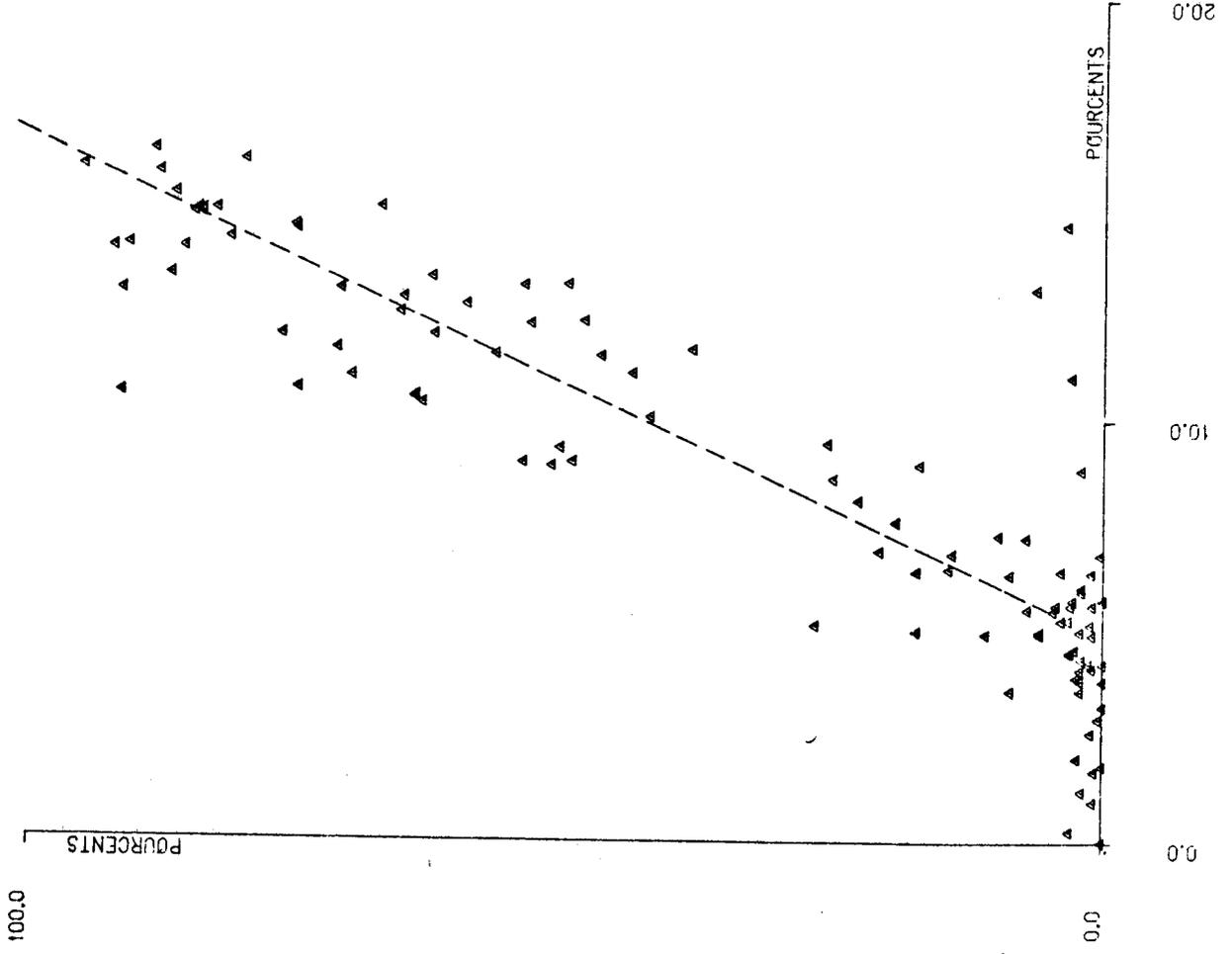
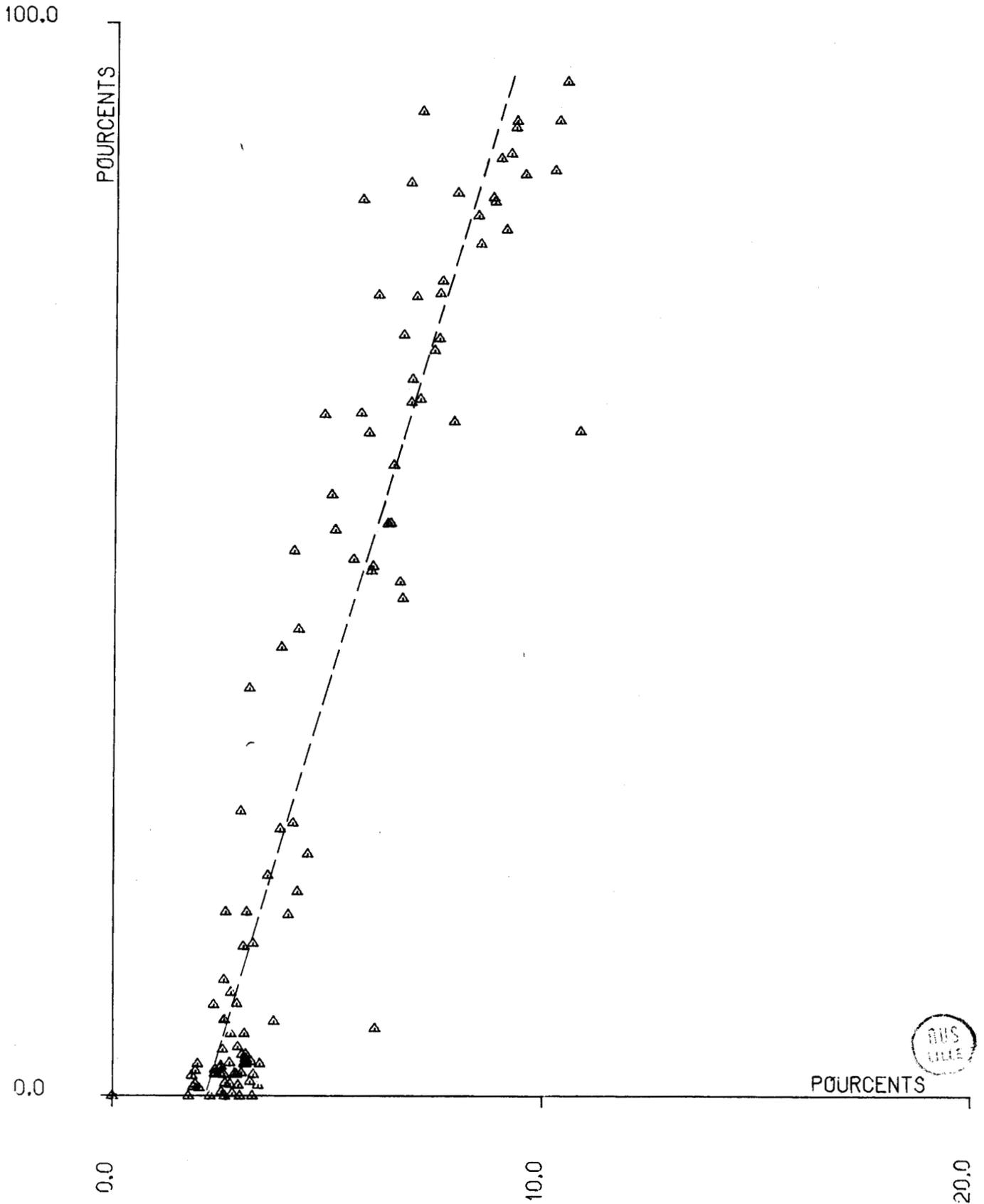


FIG 33

+Y= GRANULOMETRIE < A 37 MICRONS

+X= %AL2O3



7) Relations granulométrie - Pertes au feu - Eléments constitutifs

a) Relations pertes au feu - granulométrie

De l'ensemble des couples étudiés, seule la perte au feu à 550°C présente une tendance corrélative avec la granulométrie. L'ensemble du nuage de points s'oriente suivant une droite passant par l'origine et dont la pente est voisine de 0,1. Cependant, 15 à 20 % des points s'en écartent singulièrement, diminuant notablement la qualité de la corrélation.

Ces écarts à la linéarité peuvent être interprétés par le fait que l'état granulométrique du sédiment n'est pas suffisamment représenté par la seule fraction granulométrique inférieure à 37 μ . Une définition plus précise de cet état devrait prendre en considération d'autres fractions, dont le choix reste cependant à définir.

Cette corrélation implique donc aussi que la granulométrie peut influencer la fixation des matières organiques, et laisse supposer que ces 2 paramètres ne sont pas indépendants.

b) Relations granulométrie- éléments constitutifs

α) Gran. = f [(CaO)] (Fig. 32)

Comme le montre la figure 32 le nuage de points décrivant les variations de la fonction présente une allure analogue à celui rencontré précédemment à la figure 24 pour la relation $\{(\Sigma \text{MAJ}, (\text{CaO}))\}$. Il se divise en deux sous-ensembles nettement distincts : le premier rassemble les points correspondants aux sables très pauvres en fractions fines, pour lesquels l'accroissement des niveaux en calcium jusqu'à 6 % semble pratiquement indépendant de la granulométrie. Ce phénomène se reproduit également pour la variation de la somme en éléments majeurs en fonction de CaO (Cf. § 5, Fig. 24), le taux d'oxyde de calcium atteignant cette fois 8 %, ce qui traduit l'accumulation plus ou moins importante de débris coquilliers dans les sables. Le second sous-ensemble de points est corrélé linéairement et se montre assez peu dispersé, traduisant la dépendance des 2 paramètres qui sont, au demeurant, des paramètres de constitution.

En rapprochant les figures 24 et 32 et en combinant les relations qu'elles illustrent, on peut penser que les niveaux cumulés en fer et titane

sont en relation avec la présence de fractions granulométriques fines dans les sédiments.

$$\beta) \text{ Gran.} = f \left[(\text{Al}_2\text{O}_3) \right] \text{ (Fig. 33)}$$

Ce couple de variables exclusivement de constitution apparaît remarquablement corrélé et dépendant comme on l'observe sur la figure 33. L'équation de la droite de régression est donnée par :

$$\begin{aligned} \text{Gran.} &= a \left[(\text{Al}_2\text{O}_3) \right] + b \\ a &= 12,6 \pm 0,5 \\ b &= - 26,6 \pm 2,6 \\ r &= 0,93 \end{aligned}$$

On retrouve, comme précédemment avec les différents jeux de paramètres utilisant l'alumine, le resserrement des points de faibles teneurs en (Al_2O_3) en relation avec les faibles pourcentages en fractions fines, le nuage de points formant un seul ensemble particulièrement bien orienté.

La dépendance étroite remarquée entre les données caractérisant l'état constitutif des sédiments (granulométrie, taux d'alumine et de CaO), ajoutée aux corrélations précédemment mises en évidence, permet, comme nous allons le voir au paragraphe suivant, d'émettre un certain nombre d'hypothèses quant à l'interprétation des résultats et de tirer des enseignements utiles dans la perspective d'essais de modélisation plus affinés.

V) INTERPRETATIONS DES RESULTATS ET DISCUSSION

Les informations que l'on peut dégager de l'ensemble de cette étude sont de deux types :

- celles qui concernent la comparaison des résultats entre les 2 séries d'échantillons et l'estimation relative de leurs niveaux de contamination métallique.
- celles d'ordre plus général, qui, si l'on considère les 2 séries comme un même ensemble, nous amènerons à proposer des éléments de réponses aux questions concernant le comportement des sédiments vis-à-vis de la pollution métallique et l'établissement d'un modèle théorique d'étude et de prévision de leurs interactions.

1) Etude comparative des 2 séries d'échantillons

a) Comparaison des niveaux métalliques

Nous avons mis en évidence des corrélations uniques reliant les paramètres physico-chimiques des sédiments des séries A et B. Les pertes au feu totales, notamment, peuvent décrire avec une certaine fidélité les niveaux en calcium et en aluminium de ces sédiments, ce qui tend à montrer que leurs compositions chimiques de constitution sont comparables, indépendamment de leur origine. On remarque toutefois qu'un certain nombre de prélèvements de la série A ont des teneurs en alumine et CaO plus élevées que ceux de la série B, les points correspondants prolongeant le nuage de la série B mais restant en parfait accord avec la corrélation linéaire.

Dans ces conditions, on pouvait s'attendre à ne relever que peu de différences entre leurs niveaux en éléments métalliques lourds. En réalité, les 2 zones s'individualisent nettement sur le plan de la contamination. Si l'on effectue la comparaison sur la base des corrélations alumine - métaux lourds, que nous avons mises en évidence et qui s'avèrent caractéristiques, on constate que les sédiments du littoral belge ont des teneurs plus élevées en manganèse et en titane que les sédiments de la zone portuaire française, ceux-ci étant par contre plus concentrés en fer, zinc et cuivre. Les différences marquées que l'on observe pour le manganèse et le titane le sont moins pour les autres éléments.

Les causes susceptibles d'expliquer la différenciation qui s'observe entre les deux séries d'échantillons peuvent relever d'une part, de l'impact de l'environnement dans les zones correspondantes et, d'autre part, de la structure cristalline des matériaux argileux contenus dans les sédiments.

Des argiles de composition chimique comparable auront un pouvoir de captation des ions métalliques différent selon la structure physique qu'elles acquièrent au cours de la sédimentation. On peut même, à la limite, supposer que ce pouvoir de captation présente une certaine spécificité en raison de l'encombrement stérique des ions métalliques et des conditions physico-chimiques régnant dans le milieu.

Dans ces conditions, il faut également admettre l'existence d'un transfert des métaux par la colonne d'eau, celle-ci assurant la migration des espèces métalliques vers des zones de sédimentation ou des zones dans lesquelles la structure des matériaux sédimentaires est particulièrement propice à la captation des métaux.

Les conditions hydrologiques qui apparaissent à l'heure actuelle de plus en plus déterminantes pour la rétention des métaux par les sédiments peuvent être évoquées ici quand on compare les niveaux des sédiments marins de la série A' et ceux des sédiments prélevés en eau mixte de la série A". On constate, pour ces 2 groupes d'échantillons, qu'à paramètres physiques équivalents, les niveaux en fer, manganèse et titane sont du même ordre de grandeur et corrélés avec l'alumine, alors que pour zinc, cuivre et plomb, les sédiments prélevés en eau mixte apparaissent beaucoup plus concentrés que les sédiments marins et non corrélés avec (Al_2O_3) . Ce phénomène est à rapprocher des observations de WOLLAST (76) qui a mis en évidence des différences de comportement entre sédiments marins et estuariens. D'autre part, l'accumulation particulière des 2 groupes de métaux précédents peut être reliée à leurs types d'association avec la matière organique dans les eaux interstitielles des sédiments, Mn et Ti formant des complexes inorganiques instables, alors que les autres métaux s'y associent par complexation organique stable, le fer occupant une position intermédiaire (91).

b) Comparaison des types de corrélations

Si l'on se réfère aux relations linéaires qui ont été mises en évidence entre (Al_2O_3) et les teneurs en métaux lourds majeurs et mineurs, on constate que les couples de droites qui les décrivent pour les séries A et B, peuvent se classer en 2 types.

- Le premier type de corrélation (type P) est caractérisé par le quasi parallélisme des droites de régression, qui s'observe notamment pour le zinc, le fer et à la limite le cuivre (Cf. Fig. 26, 29, 30).

- Le second type (type S) particulier au manganèse et au titane (Cf. fig. 27 et 26), est caractérisé par le fait que les 2 droites de régression ne sont plus parallèles ou presque, mais sécantes, leur point d'intersection se situant dans la zone correspondant aux sédiments sableux grossiers.

Ce fait, particulier aux séries de prélèvements étudiés, nous amène à formuler les remarques suivantes qui pourraient éventuellement servir d'hypothèses de base à d'autres études comparatives plus approfondies.

- Pour les corrélations de type P, les niveaux en zinc, fer, et cuivre corrélés avec (Al_2O_3) se déduisent par translation d'une droite théorique de pente pratiquement constante, caractéristique de chaque métal. Dans la réalité, cela peut signifier que l'accroissement des teneurs de ces métaux s'observe

avec la même amplitude, que ce soit pour les sables ou que ce soit pour les sédiments vaseux. Cette remarque est illustrée par la figure 34.

- Pour les corrélations de type S, les droites corrélant l'alumine et les niveaux en manganèse et en titane semblent se déduire par rotation, la pente des droites étant variable, tandis que l'ordonnée à l'origine reste pratiquement fixe et peut être assimilée au centre de rotation. Autour de ce centre de rotation qui est propre à chaque métal, il y a accumulation des points, de faibles teneurs, correspondant aux sables grossiers et, de ce fait, les différences d'accumulation se marquent de plus en plus au fur et à mesure que l'on s'en éloigne, comme le montre la figure 35. Cette fois, ce sont les sédiments riches en alumine qui marqueront le plus les écarts entre les teneurs en manganèse et titane.

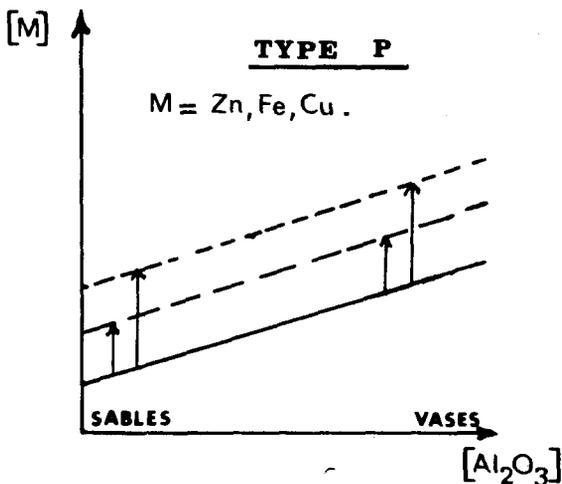


Figure 34

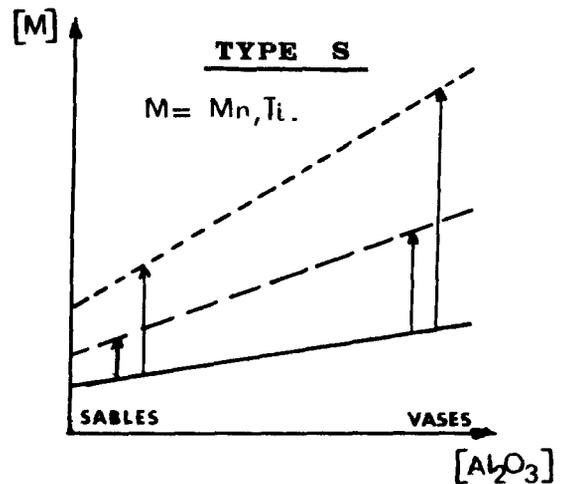


Figure 35

Il ne nous est pas possible de généraliser les schémas précédents, puisqu'il faudrait, pour juger de leur validité, comparer entr'elles d'autres zones en supposant qu'elles soient caractérisées par les mêmes corrélations. Nous pouvons tout au plus émettre l'hypothèse que les 2 modes de corrélation rencontrés dans cette étude peuvent être en rapport avec les phénomènes de complexation des ions métalliques qui en déterminent l'accumulation au sein des sédiments, ces ions formant, selon leur nature, des associations ou des complexes organiques ou inorganiques avec la matière en suspension, responsable pour une part de la contamination. (89, 91).

2) Signification et validité de l'approche du modèle par régression linéaire

On peut estimer globalement que les corrélations alumine-autres paramètres mises en évidence pour les 2 séries d'échantillons sont suffisamment significatives. S'il apparaît de ce fait que l'alumine est un bon indicateur des teneurs métalliques présentes dans les sédiments, nous avons mis en évidence d'autres relations linéaires en utilisant les autres variables physico-chimiques que sont la granulométrie et les pertes au feu. Ces relations, si elles s'avèrent plus particulières, n'en démontrent pas moins que les différents paramètres caractérisant les sédiments sont plus au moins dépendants les uns des autres et que cette dépendance doit être représentée au niveau de la fonction susceptible de décrire le mieux les phénomènes de capture métallique. De plus, on relève dans la bibliographie l'existence d'autres corrélations, caractéristiques de zones géographiques déterminées, utilisant la granulométrie, le taux de matières organiques ou la perte au feu à 550°C, les teneurs en argile des sédiments.

Cet ensemble d'informations, ajouté à nos propres observations, nous amène à admettre que la prise en considération de chaque paramètre séparément, si elle peut donner, comme pour l'alumine, d'assez bons résultats, n'est cependant pas suffisante pour rendre compte avec finesse des phénomènes observés, compte-tenu d'une part de la dispersion des nuages de points obtenus et de l'obligation d'y pratiquer, pour certains cas, une sélection.

On peut espérer affiner cette approche de modélisation en utilisant par contre des fonctions de variables multiples, en tenant compte des différentes corrélations rencontrées plus particulièrement avec l'alumine, la granulométrie et le taux de matières organiques. Ces fonctions pourraient être linéaires et du type $Z = a (Al_2O_3) + b (Granul.) + c (M.O.) + d$ et l'étude porterait alors sur les variations des niveaux métalliques en fonction de Z.

Il est probable aussi que les fonctions de variables multiples ne soient pas linéaires, ce qui dans ce cas, nécessiterait de les rendre linéaires ou d'adopter un système de traitement beaucoup plus lourd que celui que nous avons utilisé.

Dans cette perspective, il nous paraît nécessaire de disposer d'un nombre d'échantillons supérieur à celui que nous avons utilisé, le nombre de paramètres théoriques à calculer pour définir des fonctions complexes nécessitant une quantité plus importante de données dans la mesure où l'on ne veut pas

voir leur signification statistique diminuer sérieusement. Enfin, pour juger de la signification réelle du modèle, il est souhaitable de pouvoir comparer la dispersion et les écarts à la loi théorique à des marges d'incertitude relevant de l'analyse proprement dite et de l'échantillonnage. Ceci revient à dire que chaque point étudié doit être en fait l'image moyenne de plusieurs prélèvements effectués dans une zone restreinte, cette image étant ainsi celle d'une "station" affectée pour chaque mesure de sa déviation standard.

CONCLUSION

L'étude des corrélations existant entre les différents paramètres physico-chimiques et les teneurs en métaux lourds majeurs et mineurs de 2 séries d'échantillons a permis de mettre en évidence le rôle indicateur de l'alumine pour les niveaux de contamination métallique.

La mesure de la perte au feu totale permet d'estimer à priori les teneurs en éléments constitutifs des sédiments. La relation unique qui corrèle dans ce cas l'ensemble des données montre que les sédiments du littoral belge ont une composition chimique de constitution analogue à celle des sédiments de la zone française étudiée. Cependant, ils se différencient par leurs niveaux métalliques en éléments majeurs et mineurs et, globalement, sur la base des corrélations avec l'alumine, les teneurs en manganèse et en titane, sont plus fortes sur la côte belge, alors que les concentrations en fer, cuivre et zinc sont plus élevées dans la zone portuaire française.

Ces différences s'expliquent d'une part par l'impact de l'environnement propre à chaque secteur géographique, et d'autre part, par l'influence que la structure cristalline des matériaux argileux présents dans les sédiments peut avoir sur leur pouvoir de captation, laissant supposer par ailleurs, l'existence de phénomènes de transfert et de mobilisation des ions au sein de la colonne d'eau.

Les 2 types de corrélations alumine-éléments métalliques que l'on rencontre dans la comparaison des 2 zones semblent refléter les différences de comportement de chaque métal et de son accumulation, en rapport avec sa complexation par les matières en suspension.

La définition d'un modèle mathématique traduisant théoriquement les phénomènes observés nécessite une approche par l'étude de régressions linéaires entre les différents couples de variables. On peut estimer que cette approche est satisfaisante au travers de la régression linéaire alumine, concentrations métalliques. Toutefois, les écarts à la linéarité qu'on y observe et l'existence d'autres corrélations que nous avons mises en évidence ou relevées dans la bibliographie, indiquent que les paramètres caractéristiques des sédiments ne sont pas indépendants.

Cette dépendance doit être prise en considération dans l'élaboration du modèle, et l'on peut espérer que la définition d'une fonction linéaire ou non, traduisant notamment les interactions et les contributions de la granulométrie, du taux d'alumine et de la teneur en matières organiques permettra d'affiner les résultats.

3 ÈME PARTIE

DETERMINATION DES CONCENTRATIONS METALLIQUES DANS LES
ORGANISMES MARINS VIVANTS

- CHAPITRE I -

METHODES DE MINERALISATION

I) INTRODUCTION

La mise en oeuvre de la méthode d'analyse retenue (c'est-à-dire l'absorption atomique) exige une minéralisation et une solubilisation préalable des échantillons à analyser. Cependant, lors du choix des processus à appliquer, nous avons été confrontés à la multiplicité et à la variété des méthodes préconisées pour minéraliser la matière d'origine biologique. Un des objectifs de cette étude a donc été de définir la procédure convenant le mieux à nos propres échantillons.

Ce choix doit se faire en tenant compte, d'une part, de l'élément ou des éléments métalliques dont nous voulons déterminer la teneur, et d'autre part, du type de matériau à analyser.

En outre, il est impératif, pour la validité des processus retenus, que soient remplies les conditions suivantes :

- les pertes de métaux doivent être minimales, sinon nulles.
- la totalité du métal doit participer aux signaux donnés par l'analyse.
- la méthode doit être relativement facile à appliquer
- la procédure doit présenter une sécurité de mise en oeuvre suffisante.
- enfin, si les différents processus de minéralisation retenus sont corrects, les résultats obtenus avec chacun d'entre eux doivent être comparables.

Le but recherché est donc la mise en solution et la détection du maximum, sinon de la totalité du métal présent dans l'échantillon. Il en ressort que de plusieurs méthodes de minéralisation différentes appliquées au même échantillon homogénéisé, celle que nous retiendrons comme la meilleure sera celle qui donnera le résultat d'analyse le plus élevé. C'est ce critère que nous appliquerons pour la comparaison des différentes méthodes étudiées.

De plus, il est encore utile de préciser ici que les procédures choisies doivent remplir les conditions citées ci-dessus à propos de l'analyse des échantillons que nous avons retenus.

La sélection des traitements mis en oeuvre sera influencée par le fait que l'échantillon considéré se rattache ou non à l'une des catégories suivantes :

- échantillons mous (filets, foies et encéphales de poissons, partie consommable des crevettes, vers marins... etc.)
- échantillons durs généralement riches en calcium (contenus stomacaux de poissons, crevettes ; animal entier ou partie non consommable, coquillages ... etc.).
- échantillons riches en graisse (foies et certains filets de poisson ... etc.).
- échantillons pauvres en graisse (crevettes, vers marins... etc.).
- échantillons volumineux et de constitution diverse (contenus stomacaux, foies et filets de poissons... etc.).
- échantillons peu volumineux de constitution plus "homogène" (vers marins, encéphales de poissons... etc.).

Parmi tous les types d'échantillons étudiés, celui qui nous est apparu comme le plus commode pour la comparaison des méthodes de minéralisation testées, a été le filet de morue. Les résultats obtenus avec ce matériau nous ont permis de généraliser et d'adapter les procédures retenues à l'ensemble des autres échantillons.

Enfin, on peut encore noter que le cas des microéchantillons (nodules) sera traité dans un chapitre particulier.

II) APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE

On peut classer les méthodes de minéralisation citées dans la bibliographie et applicables aux milieux d'origine biologique en deux grandes catégories : les méthodes par voie sèche, les méthodes par voie humide.

1) Les méthodes par voie sèche

a) Principe et description

Le principe de ces méthodes est de provoquer la destruction de la ma-

tière organique par simple élévation de la température. Celle-ci entraîne une oxydation de l'échantillon au cours de laquelle on peut distinguer plusieurs étapes : d'abord, on assiste à la formation de goudrons, puis à leur destruction par la chaleur, les éléments minéraux liés à la matière organique sont "libérés" et passent généralement sous forme d'oxydes ou de carbonates, l'existence de plusieurs formes différentes pour le métal pouvant gêner la mise en application de certaines méthodes d'analyse.

Suivant la méthode d'analyse retenue, le calcinat obtenu peut être utilisé directement (spectrométrie d'étincelle, fluo. X... etc.), ou solubilisé (absorption atomique, méthodes polarographiques... etc.). La phase de calcination peut donc être suivie ou non d'une phase de solubilisation.

Les deux étapes intervenant pour les minéralisations par voie sèche se définissent donc comme étant :

α) La calcination

C'est l'étape la plus longue et la plus importante par le nombre de paramètres dont elle dépend.

Elle est conduite généralement au four dans des capsules en platine, alumine, silice ou quartz fondu (32 p. 477), l'oxygène atmosphérique étant le plus souvent utilisé comme oxydant, quoique certains auteurs aient utilisé la calcination sous courant d'oxygène (32 p. 477) ou sous pression d'oxygène (minéralisation par la bombe de PARR (32 p. 480)). Les autres paramètres principaux peuvent être définis comme étant :

* 1) La température de calcination

La montée en température doit se faire progressivement pour éviter qu'une oxydation trop rapide entraîne une surchauffe locale amorçant une fusion par point avec enrobage de particules de carbone. La température finale de la calcination doit être assez élevée pour permettre une destruction complète des matières organiques et assez basse pour ne pas entraîner les transformations physiques préjudiciables citées ci-dessous :

- un entraînement mécanique provoqué par une oxydation trop rapide (inflammation).
- une volatilisation partielle.
- une fusion analogue à celle des alcalins avec formation d'un "verre"

plus ou moins siliceux incluant des particules de carbone.

- une transformation en oxydes difficilement solubles.
- une adsorption ou une absorption sur les parois du récipient.

Appréciées tout d'abord à la couleur du "rouge", les températures de calcination sont de l'ordre de 600 à 700°C dans les publications anciennes. Actuellement, par suite de la mise en évidence de nombreuses pertes par volatilisation ou insolubilisation d'oxydes (79), les températures couramment admises sont généralement comprises entre 450 et 550°C (66). Cependant, on peut signaler le cas de FEINBERG et DUCAUZE qui, pour l'analyse du plomb et du cadmium dans des foies de boeuf, utilisent des températures de 980°C sans constater de pertes significatives, en utilisant l'acide sulfurique comme aide de minéralisation (90).

* 2) La durée de la calcination

Les temps de calcination classiquement retenus varient de 24 à 36 heures (4), (73), (79), le critère d'appréciation couramment employé étant de continuer la calcination jusqu'à obtention de cendres blanches ou grises. Cependant, dans leur procédure d'analyse du plomb et du cadmium dans les foies de boeuf, FEINBERG et DUCAUZE sont parvenus à réduire ce temps de calcination à 4 heures, (90).

* 3) Les aides de minéralisation

Les plus couramment employés sont $Mg (MO_3)_2$ (42), H_2SO_4 (4), (73) ou HNO_3 (79).

Ces aides de minéralisation ont deux rôles essentiels : oxydants, ils accélèrent le processus d'oxydation de la matière organique, acides forts ou en dérivant, ils forment avec les métaux des sels moins volatils (nitrates ou sulfates).

β) La solubilisation

Cette étape n'est indispensable que pour la mise en oeuvre des techniques d'analyse exigeant la mise en solution des éléments minéraux. La solubilisation est couramment obtenue par reprise directe des cendres par différents

acides HCl (66), HNO₃ (77), HClO₄ (23) ou HF (32 p. 478).

b) Appréciations des méthodes et vérifications proposées

La plupart des auteurs proposent des procédures de minéralisation qu'ils pensent adaptées à leur problème d'analyse, mais rares sont ceux qui comme FEINBERG et DUCAUZE proposent une procédure de minéralisation après avoir vérifié que celle-ci ne s'accompagne pas de pertes de métaux (90).

Pour notre part, il nous a donc semblé intéressant de vérifier les points suivants :

α) que les conditions de calcination retenues (température de 450°C et temps variant de 24 à 36 heures) ne conduisent pas à des pertes de métaux.

β) si la méthode de dissolution des cendres utilisée (reprise chlorhydrique) donne satisfaction ou non.

γ) que la totalité du métal participe bien au signal donné par l'analyse.

δ) si les aides de minéralisation essayés (Mg(NO₃)₂ et H₂SO₄) ont un effet bénéfique ou non.

ε) la méthode choisie doit s'adapter aux différents types d'échantillons à doser et être également fonction de l'élément ou des éléments métalliques dont on veut déterminer la teneur.

De plus, il va sans dire que toute contamination des échantillons par les métaux exogènes doit être évitée au cours de la minéralisation.

2) Les méthodes par voie humide

a) Principe et description

L'oxydation de la matière organique est obtenue cette fois par l'action d'oxydants chimiques sur les échantillons. La destruction est donc généralement opérée en solution et fait intervenir l'un ou plusieurs des acides suivants : HNO₃, H₂SO₄, HClO₄, HCl, HF... etc. combinés ou non à un ou plusieurs oxydants tels que : H₂O₂, K₂Cr₂O₇, KMnO₄... etc.

Il est souvent nécessaire de chauffer pour démarrer ou entretenir la réaction d'oxydation, cependant, les températures du milieu réactionnel sont toujours inférieures à celles nécessaires pour les minéralisations par voie sèche.

La minéralisation peut se scinder en deux phases principales : d'abord la dissolution de la matière organique, ensuite sa destruction par oxydation. En fin de compte, on aboutit généralement à l'obtention d'un liquide de minéralisation contenant les métaux sous forme de sels des acides utilisés.

Les méthodes par voie humide sont donc plus particulièrement adaptées aux méthodes d'analyse en solution (absorption atomique, méthodes polarographiques... etc.).

On peut citer en exemple :

α) La digestion nitro-chlorhydrique (32 p.545)

Cette méthode ne s'applique qu'aux métaux faiblement liés aux protéines (alcalins et alcalino-terreux par exemple).

β) La digestion nitro-perchlorique (32 p. 545)

Pour les éléments ayant des liaisons très riches avec la trame organique (Cu, et Fe par exemple), il apparaît préférable d'utiliser cette technique qui, faisant appel à l'acide perchlorique, doit cependant être appliquée avec beaucoup de prudence aux organes riches en graisse, du fait des risques d'explosion.

γ) La méthode de DENIGES (20)

Cette méthode, employée en toxicologie pour doser des métaux aussi volatils que arsenic et antimoine, utilise les pouvoirs oxydants combinés des acides nitrique et sulfurique. Ce dernier, du fait de son point d'ébullition élevé, présente de plus l'avantage de permettre le chauffage de la matière organique à une température relativement élevée sans risquer d'atteindre la siccité.

δ) La méthode triacide ou méthode sulfo-nitro-perchlorique de KAHANE (11)

Cette méthode dérivée de la méthode de DENIGES, met à profit le pouvoir oxydant considérable de l'acide perchlorique à la température d'ébullition de H_2SO_4 .

Parmi toutes les méthodes relevées dans la bibliographie, nous avons retenu la méthode de DENIGES et la méthode triacide qui apparaissent comme les mieux adaptées à notre problème d'analyse.

b) Appréciations des méthodes et vérifications proposées

Les méthodes par voie humide sont, comme celles par voie sèche, appliquées par la plupart des auteurs sans qu'ils aient vérifié préalablement si la méthode convient ou non à leur problème d'analyse. Ou bien, lorsqu'elle a été effectuée, cette vérification ne figure généralement pas dans le compte-rendu du travail.

A propos des méthodes de DENIGES et triacide, il nous est donc apparu intéressant de contrôler les mêmes points que ceux cités au b) γ) et ε) pour les méthodes par voie sèche, avec en outre, les réponses à apporter aux questions suivantes :

α) La mise en oeuvre de ces procédures entraîne-t-elle des pertes de métaux ?

β) Quelle est l'influence du degré d'avancement de la réaction sur le résultat de l'analyse ?

Bien entendu, là encore, la verrerie utilisée et la quantité importante de réactifs ne doivent en aucun cas être sources de pollution par les éventuels métaux étrangers à l'échantillon.

III) PROCEDURES RETENUES

1) Matériel

Toute contamination par les métaux étrangers à l'échantillon devant être exclue au cours de la minéralisation, la verrerie a été soigneusement nettoyée plusieurs fois à l'eau régale et à l'eau distillée, et nous avons vérifié à l'aide de blancs que cette préparation permet d'éviter la pollution par les métaux exogènes.

Cette vérification a été menée en particulier pour les coupelles de porcelaine utilisées aussi bien pour les calcinations que pour les méthodes par voie humide.

2) Réactifs (voir annexe).

Les produits courants "pour analyse" et "ultra pur" trouvés dans le commerce ont été utilisés, après vérification de leur qualité à l'aide de blancs.

3) Préparation des échantillons

a) Broyage

Certains échantillons tels que foies et filets de morue par exemple, présentent des masses volumineuses de matière compacte. Or, on a intérêt à faciliter le contact avec l'oxygène de l'air lors des calcinations ou avec les réactifs lors des digestions acides, cela afin d'accélérer le processus d'oxydation de la matière organique. Il nous est donc apparu utile de réduire les échantillons le plus finement possible avant la minéralisation.

Pour cela, nous avons employé un broyeur ultra-rapide d'organes utilisé habituellement en toxicologie. Au cours du broyage, la matière est soumise à des compressions et décompressions à fréquence ultra-sonore, provoquant l'éclatement des cellules qui aboutit à l'obtention d'une bouillie liquide finement divisée.

Cette opération a été appliquée à tous les organes relativement mous au départ, c'est-à-dire par exemple les foies ou filets de poissons. Par contre, en ce qui concerne les échantillons contenant des parties dures (par exemple crabes ou crevettes), ce type de broyage est inapplicable, car le broyeur utilisé ne se prête pas à la mise en oeuvre de ce genre d'échantillon et l'utilisation d'autres broyeurs aurait entraîné des risques de pollution. La minéralisation de ces échantillons tels quels n'a finalement entraîné que des dissolutions un peu plus longues pour les méthodes par voie humide. En ce qui concerne les méthodes par voie sèche, le broyage a pu s'effectuer au moment de la calcination sur plaques chauffantes (voir paragraphe 4) a) α)).

Certains auteurs (32 p. 544) envisagent l'homogénéisation par pulvérisation des organes après séchage. Nous n'avons pas retenu cette méthode, la minéralisation des échantillons non broyés ne présentant pas d'inconvénients majeurs, du fait que l'homogénéisation a toujours lieu de toute façon lors de la solubilisation.

b) Définition de l'état humide standard

Les échantillons humides broyés sont transférés dans la coupelle qui servira jusqu'à la fin aux étapes de séchage et de minéralisation, ceci afin d'éviter au maximum les transvasements risquant d'entraîner les pertes d'échantillon. Il en est de même pour ceux minéralisés sans être broyés.

La pesée des échantillons dans leur coupelle permet de définir la masse de ceux-ci à l'état standard qui sera appelé "l'état humide standard".

Pour l'ensemble des résultats donnés par la suite et lorsque aucune précision contraire ne sera apportée, toutes les concentrations métalliques mesurées seront exprimées en p.p.m. (partie par million ou µg/g) par rapport à cet "état humide standard".

c) Séchage des échantillons

Les échantillons humides sont placés à l'étuve à 80°C. Les contrôles de perte de poids en fonction du temps montrent qu'après 24 heures au plus, le poids de l'échantillon reste constant, dénotant la fin du "séchage". Il est bien évident que plus on améliore la surface d'évaporation de l'eau, et plus le séchage se fera rapidement.

Pour un échantillon donné, on a donc intérêt à prendre la coupelle la plus grande possible. De même, les coupelles à fond plat, qui permettent l'étalement maximum de l'échantillon sur le fond, seront préférées aux coupelles à fond sphérique, qui au contraire ont tendance à provoquer un tassement de l'échantillon en leur centre. Le volume de la coupelle a aussi son importance. Pour les méthodes de minéralisation par voie sèche, on choisira des coupelles à bords peu élevés qui facilitent les contacts avec l'air atmosphérique lors de la calcination. Au contraire, les méthodes de minéralisation par voie humide nécessitent des coupelles ayant un volume important (environ 100 cm^3 pour un échantillon humide de 10 grammes). Cette précaution est indispensable pour éviter tout débordement des acides lors des minéralisations et minimiser autant que possible les pertes par projection.

d) Définition de l'état standard sec

Le séchage terminé, les échantillons sont pesés à nouveau, définissant cette fois "l'état standard sec".

4) Minéralisations par voie sèche

La procédure que nous avons retenue pour certains de nos échantillons a été la calcination au four à 450°C précédée d'une pré-calcination sur plaques chauffantes à 420°C . L'oxydant utilisé a été l'oxygène de l'air ambiant. La calcination au four jusqu'à obtention de cendres blanches ou grises a duré de 24 à 36 heures suivant l'échantillon. La solubilisation des cendres s'est effectuée par une reprise à l'acide chlorhydrique suivie d'une reprise à l'eau bidistillée. Enfin, certains aides de minéralisation tels que $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ et H_2SO_4 ont été utilisés dans quelques cas.

a) Calcination simple et reprise chlorhydrique

α) Calcination

Les capsules contenant les échantillons secs sont placées sur plaques chauffantes et la température est montée progressivement jusqu'à environ 420°C . Durant cette opération, les échantillons charbonnent et ont plutôt tendance à former des agglomérats de matière goudronneuse compacte, ce qui gêne l'oxydation. Il est donc nécessaire de les broyer de temps à autre (environ toutes les heures) à l'aide d'un pilon, de façon à améliorer le contact avec l'oxygène de

l'air.

Cette opération facilite également le chauffage de l'échantillon en améliorant le contact de ce dernier avec le fond de la capsule.

Remarque : Cette étape de la calcination nécessite pour la mener à bien l'acquisition d'un certain "coup de main" de la part de l'opérateur, toute perte de matière par projection de cendres ou adhérence des goudrons sur le pilon ou le fond de la capsule devant être évitée.

L'intérêt de commencer la calcination sur plaque chauffante réside principalement dans le fait que les fumées abondantes dégagées en début de calcination sont évacuées à l'extérieur, ce qui évite la pollution du four, et par voie de conséquence la pollution réciproque des coupelles. Ensuite, le volume d'air atmosphérique n'est pas limité, alors qu'il le serait à celui du four dans le cas où la totalité de la calcination se déroulerait à l'intérieur du four sans circulation d'air. Enfin, nous avons préféré opérer de cette façon plutôt que d'utiliser le four à circulation d'air ou d'oxygène préconisé par certains auteurs (32 p. 477), car la calcination sur plaques chauffantes présente l'avantage :

- 1) d'évacuer suffisamment vite les fumées abondantes dégagées dans le cas d'échantillons volumineux.
- 2) d'éviter les phénomènes de surchauffe locale accompagnée de fusion que l'on a pu constater dans certains calcinateurs fonctionnant sous courant d'oxygène.

Les échantillons sont laissés sur plaque chauffante jusqu'à ce qu'ils ne dégagent plus de fumées. Cela se passe en général après 12 heures de chauffage pour les échantillons peu volumineux contenant peu de corps gras (exemple : échantillon constitué par un seul ver marin), mais cela peut durer jusqu'à cinq jours pour les échantillons volumineux en contenant beaucoup. (exemple : échantillon constitué par la totalité d'un foie de morue).

Après cette première oxydation sur plaque chauffante, les échantillons se présentent sous la forme d'une poudre noire charbonneuse qui est placée au four à 450°C jusqu'à obtention de cendres blanches ou grises. La température a été choisie volontairement basse de façon à éviter au maximum les pertes par volatilisation signalées par certains auteurs (90). Selon la masse des cendres, la calcination au four peut durer jusqu'à 24 ou 36 heures.



β) Définition de l'état calciné standard

Les cendres obtenues sont pesées, définissant ainsi la masse de l'échantillon à l'état standard qui sera appelé pour la suite "état calciné standard".

γ) Reprise à l'acide chlorhydrique

Une quantité connue de cendres est attaquée à l'acide chlorhydrique. L'opération dure en général deux heures. L'acide est chauffé sous faible ébullition, l'attaque étant conduite dans un erlenmeyer couvert d'un verre de montre, de façon à éviter au maximum toute perte par projection. Les quantités d'acide utilisées sont de 5 cm³ de HCl à 37 % par gramme de cendres.

Une reprise à l'eau bidistillée est ensuite menée dans les mêmes conditions, les quantités d'eau ajoutées étant de l'ordre de 20 cm³ par gramme de cendres.

δ) Filtration

On obtient une solution acide, de laquelle le résidu éventuel est séparé par filtration sur verre fritte n°5. Le résidu non dissous est constitué essentiellement de grains de sable et de quelques particules de matière organique non détruite. La masse du résidu est en général négligeable par rapport à la masse de cendres attaquées, sauf si les échantillons sont fortement contaminés par le sable.

Le tableau n°22 ci-dessous montre les pourcentages, pour différents échantillons, de la masse du résidu obtenu après attaque chlorhydrique en fonction de la masse de cendres initiale :

Nature de l'échantillon	Filet de morue	Foie de morue	Ver marin (Nephtis)	Crevettes
% du résidu	1,4	5,7	5,5	5

TABLEAU N° 22

On constate que ces pourcentages sont négligeables pour les filets de morue. Ils sont un peu plus élevés pour les foies de morue assez huileux. En effet, la calcination est souvent rendue plus difficile par la présence de produits gras.

Par contre, les grains de sable constituent la quasi totalité du résidu pour les crevettes et les vers marins. On peut essayer de remédier à cette

situation en abandonnant l'animal vivant 48 heures dans l'eau de mer. A la suite de ce dégorgeant, l'échantillon est encore rincé plusieurs fois afin d'éliminer encore un peu de sable.

Il est enfin possible, pour certains animaux tels que les gros vers (arénicoles par exemple), de pratiquer une incision longitudinale suivie d'un brassage dans l'eau bidistillée qui les débarrasse encore d'une partie du sable résiduel.

On peut noter que dans le cas des échantillons tels que crustacés, vers marins ou planctons, il est toujours très difficile de séparer la totalité du sable du reste de l'échantillon, des particules siliceuses se retrouvant pratiquement toujours présentes dans le résidu après attaque chlorhydrique.

e) Dilution

Suite à la filtration, on récupère une solution acide exempte de toute particule solide. Cette solution est diluée à volume connu pour analyse ultérieure.

b) Calcination avec aides de minéralisation suivie de reprise chlorhydrique;

La procédure a été la même que celle décrite précédemment pour la calcination simple. Les ajouts d'acide sulfurique ou de nitrate de magnésium ont eu lieu après le séchage de façon à ne pas perturber les pesées des échantillons à l'état standard sec. Les quantités mises en oeuvre ont été les suivantes pour 10 grammes d'échantillon à l'état standard humide : 4 cm^3 de H_2SO_4 à 20 % pour les calcinations sulfuriques et 4 cm^3 d'une solution de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ à 20 % pour les calcinations magnésiennes.

5) Minéralisations par voie humide

a) La méthode de DENIGES (20)

L'emploi de l'acide nitrique et de l'acide sulfurique pour cette méthode entraîne la transformation des métaux en nitrates ou sulfates peu volatils, ce qui permet de limiter les pertes par volatilisation. Par contre, l'utilisation de l'acide sulfurique présente l'inconvénient de conduire à la formation de sulfate de calcium insoluble.

La procédure de minéralisation peut se décomposer en plusieurs étapes; les organes sont d'abord "digérés" à l'acide nitrique, puis on procède à une éventuelle élimination des graisses, elle-même suivie de la destruction proprement dite de la matière organique en présence d'acide sulfurique.

α) "Digestion" nitrique

Elle est obtenue par l'action de l'acide nitrique sur les échantillons secs contenus dans une capsule de grand volume (voir séchage au paragraphe I b)). Les quantités d'acide utilisées sont de 12,5 cm³ d'acide nitrique à 65% pour 10 grammes d'échantillon à l'état humide standard. La "digestion" nitrique est commencée en chauffant doucement les capsules au bec BUNSEN. Dès l'apparition des premiers dégagements de vapeurs nitreuses, les capsules sont placées sur la pailleuse froide et la réaction, exothermique, s'entretient d'elle-même.

La dissolution dure généralement d'une demi-heure pour les échantillons broyés, à deux ou trois heures pour les échantillons non broyés.

On observe au cours de la digestion nitrique les phénomènes suivants :

- apparition rapide d'une mousse abondante et envahissante libérant des jets de vapeurs nitreuses. C'est pour cette phase de l'opération que l'on a intérêt à prendre des capsules de grand volume ayant des bords assez hauts, tout débordement ou projection hors de la capsule au cours de la "digestion" nitrique entraînerait bien évidemment des pertes en métaux.

- disparition de la mousse. On obtient alors un liquide de couleur jaune-orangé due à la réaction xanthoprotéique par nitration des acides aminés à noyau phénolique des protéines. A ce stade, celles-ci ne sont donc pas encore détruites. Leur destruction complète est effectuée par la suite.

β) Élimination des graisses

Dans le cas d'échantillons gras tels que les foies de morue, une pellicule de graisse surnage au-dessus du liquide de dissolution. Ces graisses risquent de retenir des traces métalliques par simple imbibition et sont difficilement destructibles. Il y a donc tout intérêt à les éliminer. Un simple refroidissement du liquide de dissolution assure leur remontée en surface et leur durcissement. Les "gâteaux" de graisse ainsi isolés sont lavés trois fois à l'eau bidistillée bouillante. Les eaux de lavage sont jointes au liquide de dissolution.

γ) Destruction intégrale de la matière organique

* 1) Concentration du liquide de dissolution

Le liquide de dissolution, additionné des eaux de lavage des graisses et d'une quantité suffisante d'acide sulfurique ($1,5 \text{ cm}^3$ de H_2SO_4 à 98 % pour 10 grammes d'échantillon à l'état humide standard), est chauffé dans la capsule.

On observe alors successivement :

- un abondant dégagement de vapeurs nitreuses
- leur disparition progressive
- un noircissement de la masse qui aboutit à un liquide sirupeux noir.
- finalement, l'apparition de vapeurs blanches d'anhydride sulfurique.

Ce stade de l'opération nécessite une attention toute particulière de façon à éviter que la masse ne charbonne, ce qui pourrait entraîner des pertes de métaux dues à un début de calcination incontrôlée.

* 2) "Prédestruction"

On laisse refroidir, on ajoute 10 cm^3 d'acide nitrique à 65 %, on chauffe jusqu'à nouvelle apparition des vapeurs d'anhydride sulfurique.

Cette opération est renouvelée trois fois.

Grâce à ce traitement, on évite la mousse gênante qui risque de se former à l'étape suivante.

* 3) Destruction proprement dite

Le résidu noir sirupeux obtenu après la "prédestruction" est transvasé quantitativement au moyen d'acide nitrique dans un matras de KJELDAHL disposé avec une inclinaison d'environ 60° . Le liquide de dissolution est concentré jusqu'à fumées blanches. On ajoute alors, sans cesser de chauffer, l'acide nitrique goutte à goutte de façon à maintenir le dégagement de fumées, mélange de vapeurs nitreuses et d'anhydride sulfurique, pendant toute la durée de l'oxydation. Le liquide s'éclaircit progressivement pour atteindre une teinte jaune paille décelant la fin de l'opération. A ce stade, la destruction de la matière organique peut être plus ou moins poussée de façon à en mesurer les conséquences éventuelles sur le dosage des métaux.

Le liquide obtenu en fin de destruction est constitué principalement d'acide sulfurique contenant les métaux présents à l'origine dans l'échantillon. On hydrolyse ce résidu sulfurique par addition dans le matras d'une dizaine de cm³ d'eau bidistillée.

Après refroidissement, la solution obtenue est diluée à volume connu pour dosage ultérieur.

b) La méthode TRIACIDE (II)

L'opération est conduite de la même façon que la minéralisation suivant DENIGES jusqu'à la phase dite de "Destruction proprement dite" (voir paragraphe précédent). Après concentration à fumées blanches dans le matras, la fin de l'oxydation est opérée par l'addition goutte à goutte d'acide perchlorique à 70 %.

On observe alors le même comportement que lors de la destruction suivant DENIGES : le liquide perd progressivement sa couleur brun foncé pour s'éclaircir jusqu'à ce qu'une nouvelle concentration à fumées blanches ne provoque plus de recoloration. L'oxydation est alors terminée.

Parfois, il peut être utile de compléter l'oxydation par l'addition d'une goutte d'acide nitrique qui rend la liqueur parfaitement limpide et incolore.

La même remarque que pour la méthode de DENIGES peut être faite en ce qui concerne la destruction de la matière organique c'est-à-dire que l'on peut plus ou moins "pousser" cette destruction.

La solution obtenue après refroidissement est diluée à volume connu pour dosage ultérieur.

6) Cas particulier des micro-échantillons (nodules)

Il sera traité au chapitre II Etude de la morue et de sa chaîne alimentaire.

IV VALIDITE DES METHODES

A) Etudes effectuées à partir de filets de morue

1) Voie humide

a) Dispersion des résultats

Afin d'apprécier la dispersion des résultats obtenus avec la méthode de préparation des échantillons, un filet de morue a été homogénéisé par broyage et huit prises d'essai de 10 grammes ont été constituées, dont quatre pour minéralisation suivant la méthode de DENIGES, et quatre autres suivant la méthode triacide.

Les concentrations métalliques exprimées en p.p.m. par rapport aux échantillons humides figurent dans les tableaux suivants (Tableaux 23 et 24).

METHODE DE DENIGES

N° de la prise d'essai	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
I	II0	8,0	0,76	8,6	0,56	0,13
2	II9	8,2	0,80	9,0	0,50	0,13
3	II2	8,5	0,74	9,2	0,51	0,11
4	I23	7,9	0,76	8,7	0,48	0,14
M	II6	8,1	0,76	8,9	0,51	0,13
Ecart MAXI A LA MOYENNE	6,0%	4,9%	5,2%	3,3%	10%	12%

TABLEAU N° 23

METHODE TRIACIDE

N° de la prise d'essai	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
5	121	5,0	0,65	8,9	0,47	0,10
6	116	5,1	0,66	9,1	0,49	0,08
7	112	4,8	0,63	8,8	0,54	0,08
8	117	4,9	0,63	8,9	0,49	0,09
M	117	5,0	0,64	8,9	0,50	0,09
Ecart MAXI A LA MOYENNE	3,4%	4%	3,1%	2,2%	8%	14,3%

TABLEAU N° 24

On remarque que, malgré la tendance du calcium à reprécipiter après les minéralisations mises en oeuvre, la convergence des résultats reste bonne pour ce métal. Celle-ci est également satisfaisante pour les autres métaux, compte-tenu de la dispersion due à l'analyse (voir Ière partie méthodes d'analyse), l'ensemble des résultats obtenus dénotant une assez bonne représentativité de l'échantillon par chacune des prises d'essai préparées suivant la technique retenue, ainsi qu'une bonne reproductibilité de la méthode d'attaque chimique.

b) Comparaison des méthodes

α) Echantillonnage

Plusieurs filets de morue ont été analysés simultanément par la méthode de DENIGES et par la méthode triacide.

Après homogénéisation, l'échantillonnage a été effectué sur chacun des échantillons de la matière suivante :

- DENIGES : 4 prises d'essai de 10 grammes et une de 130 grammes.
- TRIACIDE : IDEM

Nous donnons les résultats concernant deux de ces filets.

β) Résultats

* 1) Influence de la masse de la prise d'essai

Pour mesurer cette influence, les rapports :

Moyenne des concentrations calculée sur 4 prises d'essai de 10 grammes

Concentration mesurée de la prise d'essai de 130 grammes

ont été calculés et reportés dans les tableaux n° 25 et 26.

FILET I

Méthode	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
DENIGES	0,72	1,37	1,09	1,05	1,06	1,44
TRIACIDE	0,78	1,02	0,93	1	1,06	1

TABLEAU N° 25

FILET II

Méthode	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
DENIGES	0,73	1,44	1,14	1	1,06	1,5
TRIACIDE	0,74	1,06	0,94	0,94	1,04	1

TABLEAU N° 26

Il ressort que les rapports ainsi mesurés sont comparables d'un filet à l'autre, apportant ainsi une preuve supplémentaire de la reproductibilité des méthodes mises en oeuvre.

De plus, il apparaît que, pour une méthode donnée, les concentrations mesurées avec les prises d'essai de 10 g sont supérieures ou au moins équivalentes. Seul, le calcium se singularise par des résultats inférieurs. Enfin, on remarque que les mesures effectuées pour zinc et plomb ne semblent pas sensibles à la masse de la prise d'essai.

* 2) Influence de la méthode

Cette fois, nous avons calculé les rapports :

Résultat obtenu avec la méthode de DENIGES

Résultat obtenu avec la méthode triacide

pour chacun des métaux selon la masse des échantillons analysés. Ils figurent dans les tableaux n° 27 et 28.

FILET I

Masse de la prise d'essai	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
10 g	0,99	1,65	1,19	1,00	1,02	1,44
130 g	1,07	1,23	1,10	0,96	1,02	1

TABLEAU N° 27

FILET 2

Masse de la prise d'essai	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
10 g	1,04	2,45	1,44	1,06	1,04	2,29
130 g	1,07	1,69	1,18	1	0,94	1,43

TABLEAU N° 28

Les tableaux ne sont plus comparables pour Fe, Cu, et Cd. Cependant, les rapports obtenus étant toujours supérieurs à 1, il en ressort que c'est la méthode de DENIGES qui donne les meilleurs résultats pour le dosage de ces trois éléments.

Quant à Ca, Zn et Pb, ils montrent des résultats sensiblement équivalents quel que soit le filet considéré, et les rapports mesurés étant voisins de 1 dans tous les cas, il apparaît que ces trois derniers métaux ont des comportements identiques quelle que soit la minéralisation mise en oeuvre.

* 3) Influence du degré d'avancement de la réaction de destruction de la matière organique.

Les rapports :

C mesurée après destruction complète de la matière organique

C mesurée après destruction partielle de la matière organique

ont été calculés pour mesurer cette influence. Le tableau n° 29 ci-dessous montre les résultats obtenus avec des prises d'essai de 130 g sur le même filet de morue :

Méthode	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
DENIGES	1,06	1,74	1,08	1,03	1,00	1,25
TRIACIDE	1,32	1,57	1,71	1,57	1,27	1,40

TABLEAU N° 29

Dans tous les cas, les rapports supérieurs à 1 obtenus montrent que l'on a intérêt à toujours pratiquer une destruction totale de la matière organique.

c) Conclusions

La dispersion assez faible des résultats obtenus avec la méthode de préparation des échantillons met en évidence la bonne fiabilité des techniques retenues.

En ce qui concerne les méthodes par voie humide testées, il est préférable pour tous les métaux, sauf le calcium, d'utiliser des prises d'essai faibles (de l'ordre de 10 g). La méthode de DENIGES donne des résultats supérieurs à la méthode TRIACIDE pour Fe, Cu et Cd. Elle donne des résultats équivalents pour Ca, Zn et Pb. Zn se distingue des autres métaux par un comportement

pratiquement indépendant de la masse de la prise d'essai et de la méthode de minéralisation utilisée. Enfin les essais montrent encore que la destruction de la matière organique doit être complète pour obtenir de bons résultats.

Globalement, du point de vue de l'analyse multi-éléments, la méthode de DENIGES avec prises d'essai faibles (de l'ordre de 10 g) et destruction complète de la matière organique donne les meilleurs résultats sur les filets de morue, exception faite pour le calcium, pour lequel ces méthodes ne sont de toute façon pas adaptées à priori.

2) Voie sèche

a) Influence des différents paramètres

L'échantillonnage a été effectué de façon analogue à celui des méthodes par voie humide. 12 prises d'essai de 50 grammes ont été constituées à partir de chacun des filets, puis elles ont été calcinées dans différentes conditions afin de pouvoir mesurer l'influence des différents paramètres de la calcination. Nous donnons à titre d'exemple les résultats obtenus à partir de deux de ces filets.

α) Influence du temps de calcination

Des calcinations au four de 0 h (calcinations uniquement sur plaques), 6h, 12 h, 24 h, 36 h et 72 h ont été faites sur les prises d'essai du 1er filet.

Pour le 2ème filet, les calcinations de 0 h et 6 h, jugées trop courtes, ont été supprimées. A l'inverse, celle de 72 h, trop longue, a été remplacée par une calcination de 48 heures.

Les concentrations maximales ont été trouvées pour les métaux après une calcination de 24 heures pour le premier filet et de 36 heures pour le deuxième filet, comme le montrent les tableaux n° 30 et 31.

FILET 1

Temps de calcination à 450°C	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
0 h	18	2,5	0,11	3,0	0,21	0,06
6 h	20	3,8	0,12	3,3	0,28	0,07
12 h	21	4,9	0,14	5,5	0,31	0,12
24 h	49	7,8	0,38	8,6	0,38	0,17
36 h	45	7,7	0,36	7,9	0,34	0,15
72 h	22	3,4	0,10	3,7	0,24	0,04

TABLEAU N° 30

FILET 2

Temps de calcination à 450°C	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
12 h	132	2,5	0,16	6,6	0,35	0,03
24 h	163	4,3	0,29	8,2	0,42	0,05
36 h	177	4,5	0,35	9,0	0,45	0,06
48 h	146	3,5	0,18	8,3	0,40	0,02

TABLEAU N° 31

L'optimum du temps de calcination n'est pas le même d'un filet à l'autre. A la suite de nombreux essais, nous avons été amenés à prendre comme référence un critère tenant compte de l'apparence particulière de chacun des échantillons. Le critère de calcination à cendres blanches ou grises, quoique assez suggestif,



nous est cependant apparu comme celui susceptible de donner les meilleurs résultats, surtout avec l'expérience acquise par l'opérateur après un nombre suffisant de calcinations. Dans tous les cas, le temps optimal nécessaire a été compris entre 24 et 36 heures quel que soit l'échantillon.

8) Influence des aides de minéralisation

Des comparaisons ont été effectuées entre les différents modes de calcination simple, magnésienne ou sulfurique sur divers filets. Nous donnons les résultats relatifs à deux de ces essais, pour lesquels les temps de calcination ont volontairement été pris à 24 et 36 heures. (Tableaux n° 32 et 33).

FILET 1

Type de calcination	Temps de calcination	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
Simple	24 h	49	7,8	0,38	8,6	0,38	0,17
Magnésienne	24 h	33	4,8	0,16	6,3	0,33	0,13

TABLEAU N° 32

FILET 2

Type de calcination	Temps de calcination	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
Simple	36 h	177	4,5	0,35	9,0	0,45	0,06
Magnésienne	36 h	175	3,1	0,17	7,4	0,35	0,05
Sulfurique	36 h	157	3,3	0,19	7,7	0,43	

TABLEAU N° 33

Dans tous les cas, les concentrations mesurées pour les calcinations magnésiennes ou sulfuriques ont été inférieures à celles pour les calcinations simples.

De plus, le dosage du cadmium s'est révélé impossible après la calcination sulfurique, du fait des problèmes d'interférences existant dans ce milieu (voir 1ère partie) absorption atomique).

Y) Influence de la température de calcination

Des pertes de métaux par volatilisation dès 450°C sont signalées dans la bibliographie (voir paragraphe II I) a) et sont également sensibles pour nos propres essais, comme le montrent plusieurs filets de morue pour lesquels nous avons mesuré les rapports :

C mesurée après calcination à cendres blanches ou grises

C mesurée en dépassant de 12 heures la calcination à cendres blanches ou grises

Nous donnons comme exemple dans le tableau n° 34 les mesures effectuées sur l'un de ces filets

Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
1,13	1,12	1,10	1,19	1,18	1,21

TABLEAU N° 34

Le départ des métaux n'est jamais négligeable, malgré la température relativement basse, aussi avons-nous préféré ne pas utiliser de températures supérieures susceptibles d'accélérer encore ces pertes.

b) Conclusions

La calcination au four à 450°C sans aides de minéralisation donne les meilleurs résultats pour la minéralisation par voie sèche avec les filets de morue. Le temps de calcination à retenir ne semble pas pouvoir être fixé à priori pour tous les échantillons. Par contre, le critère de calcination à cendres blanches ou grises a été retenu du fait qu'il tient compte du cas particulier présenté par chacun d'eux. Les temps optima nécessaires ont été dans tous les cas compris entre 24 et 36 heures.

3) Comparaison voie humide - voie sèche

Du fait des résultats antérieurs, la calcination simple à cendres blanches ou grises et la méthode de DENIGES sur prises d'essai faibles (de l'ordre de 10 g) ont été retenues pour cette comparaison. Cette fois, le rapport :

C mesurée par voie sèche

C mesurée par voie humide

a été utilisé comme critère d'appréciation. Nous faisons figurer dans le tableau n° 35 les résultats obtenus pour trois filets de morues différents :

N° filet	Ca	Fe	Cu	Zn	Pb	Cd
I	1,26	1,05	0,98	0,98	1,02	1,06
II	1,31	1,08	0,96	0,99	1,01	1,02
III	1,10	1,02	0,99	1,02	1,04	0,97

TABLEAU N° 35

Les résultats sont toujours sensiblement équivalents quelle que soit la méthode, sauf pour le calcium dont le sulfate a tendance à précipiter pour la méthode de DENIGES. Cependant, cette précipitation n'est pas immédiate (20), et dans le cas où le dosage du calcium suit immédiatement la minéralisation, on trouve des résultats voisins avec les deux méthodes. A titre d'exemple, les rapports :

(Ca) mesurée par voie sèche / (Ca) mesurée par voie humide

immédiatement après minéralisation ont été calculés pour quatre filets. Ils sont respectivement de 1,05 ; 1,02 ; 0,99 et 1,04, donc tous très voisins de 1.

4) Conclusion

Pour l'analyse globale multi-éléments des filets de morue, la méthode de DENIGES appliquée à des prises d'essai faibles (de l'ordre de 10 g) donne les meilleurs résultats par voie humide. Il en est de même, en ce qui concerne la voie sèche, pour la calcination simple à cendres blanches ou grises.

Enfin, la comparaison de ces deux méthodes montre qu'elles donnent toutes deux des résultats équivalents, à condition que, pour la méthode de DENIGES, le dosage du calcium ait lieu immédiatement après la minéralisation. On peut souligner que l'équivalence des deux méthodes retenues confirme l'absence de pertes par volatilisation lors de la calcination simple menée suivant les conditions choisies.

B) Influence de la nature de l'échantillon sur la méthode retenue

Etant donné la diversité des échantillons étudiés, nous avons dû adapter les résultats obtenus avec les filets de morue à chaque type d'échantillon, en tenant compte de la classification suivante (établie au paragraphe I) INTRODUCTION)

1) Echantillons mous

Il est toujours possible pour ce type d'échantillons de les homogénéiser et de n'en minéraliser qu'une faible partie. Aussi, la méthode de DENIGES sur petites prises d'essai leur est-elle bien adaptée.

2) Echantillons durs

Ces échantillons difficilement homogénéisables à l'état humide sont facilement réduits à l'état de poudre fine lorsqu'ils sont calcinés. La méthode par calcination à cendres blanches ou grises leur convient donc le mieux, d'autant plus que la quantité de calcium assez importante qu'ils contiennent ne permet plus le dosage par la méthode de DENIGES, comme le montrent les rapports :

(Ca) mesurée par calcination simple à cendres blanches ou grises

(Ca) mesurée par la méthode de DENIGES immédiatement après minéralisation
calculés pour différents lots de crevettes :

Lot de crevettes N° 1 :	7,6
" N° 2 :	2,3
" N° 3 :	9,8
" N° 4 :	6,1

3) Echantillons riches en graisse

Les temps de calcination sont beaucoup trop longs pour ces échantillons si on les minéralise par voie sèche (voir paragraphe III 4) a) α), et cela risque d'entraîner des pertes de métaux. Par contre, l'élimination des graisses, que permet la méthode de DENIGES, implique une meilleure adaptation de celle-ci à ce type d'échantillon.

4) Echantillons pauvres en graisse

Ces échantillons peuvent être traités indifféremment par les deux méthodes.

5) Echantillons volumineux

Il est préférable pour ceux-ci, d'utiliser la calcination à cendres blanches ou grises, en effet, la méthode de DENIGES ne donne de bons résultats que sur de petites prises d'essai, et son utilisation entraînerait une consommation de réactifs trop importante.

6) Echantillons peu volumineux

La méthode de DENIGES, plus rapide à mettre en oeuvre pour ce genre d'échantillons, sera retenue.

En conclusion, on peut donner quelques exemples de choix de méthodes dans différents cas :

- foies de morue : échantillon volumineux, mais facilement homogénéisable et riche en graisse → méthode de DENIGES.

- crevettes (lot d'une cinquantaine d'animaux entiers) : échantillon volumineux, dur pauvre en graisse → méthode par calcination

- contenus stomacaux : cas identique au précédent → méthode par calcination

- encéphales de morue : échantillon mou, pauvre en graisse, peu volumineux → méthode de DENIGES.

- filets de poissons : la teneur en matières grasses de ces échantillons a été l'élément déterminant pour le choix de la méthode. Dans le cas d'échantillons pauvres en graisses, la méthode par calcination simple a été retenue, la méthode de DENIGES étant utilisée dans le cas contraire.

Enfin, on soulignera que la bonne corrélation entre les deux méthodes retenues ne peut être obtenue qu'après l'acquisition par l'opérateur d'un certain "coup de main".

- CHAPITRE II -

ETUDE DE LA MORUE ET DE SA CHAINE ALIMENTAIRE

INTRODUCTION

Si les constatations faites lors des essais de mise au point des méthodes de minéralisation et d'analyse décrites aux chapitres précédents sont en elles-mêmes intéressantes, les méthodes ne peuvent prendre toute leur valeur que si elles sont appliquées.

C'est ce que nous avons fait dans le cadre de la zone littorale Nord - Pas-de-Calais, avec comme but principal d'évaluer les niveaux d'accumulation métallique dans les différents maillons de la chaîne alimentaire et de les comparer aux données bibliographiques relevées pour une zone voisine: les côtes belges.

Le premier point qui a retenu notre attention est la représentativité de l'échantillon prélevé sur un filet de gros poisson. Si intuitivement les analystes prélèvent un échantillon "équivalent" sur les poissons à analyser et ceux servant de référence, cette précaution peut s'avérer insuffisante notamment si la répartition des éléments est inhomogène au sein du filet pris dans son ensemble. En effet, dépendant de cette hétérogénéité de la répartition, on pourra avoir des écarts importants selon la localisation du morceau de filet prélevé, et les résultats donnés par les analyses risquent d'être en fait peu représentatifs de la composition moyenne de l'ensemble du filet.

Le second point de l'étude concerne les phénomènes d'accumulation le long d'une chaîne alimentaire qui sont signalés par divers auteurs (59 p. 258 à 266). Nous avons cherché pour notre part à centrer nos travaux sur la zone Nord - Pas-de-Calais (Z. N. P. C.) et à déterminer les valeurs propres à cette zone : maillons des chaînes relevées in situ, dont le terme final est la morue, ce qui nous a fait porter un maximum d'intérêt à ce poisson.

Les comparaisons avec les données de la bibliographie sont effectuées à propos d'échantillons équivalents et, le filet de morue entrant dans l'alimentation humaine, avec les teneurs couramment admises dans les tables alimentaires.

Pour rendre compte des résultats, nous avons déterminé les facteurs de transfert en prenant comme référence la teneur moyenne de l'eau de mer pour la zone Nord - Pas-de-Calais (Dunkerque, Calais, Boulogne), la zone côtière belge (Z.C.B.) et la côte sud de la Bretagne (Z.B.S.) étant prises comme référence. Nous avons donc été amenés à estimer, pour chacune des zones concernées, les concentrations moyennes des métaux dans l'eau de mer à partir de différentes sources bibliographiques (53, 68, 69, 70). Le détail des calculs effectués ne présentant pas d'intérêt en lui-même, tout au moins en ce qui concerne notre propre travail, nous ne ferons figurer que les résultats auxquels nous avons abouti, compte-tenu des informations suivantes :

1) Pour Ca, faute de références bibliographiques précises concernant les différentes zones, la teneur moyenne couramment admise dans l'eau de mer (53) a été retenue.

2) En ce qui concerne les autres métaux, il existe, pour une même zone, des différences appréciables entre les chiffres selon leur origine bibliographique, les écarts pouvant être attribués entre autres à la position géographique des lieux de prélèvements. A titre indicatif, nous donnons dans le tableau n° 36 les fourchettes de concentration (C), en p.p.b., pour la zone Nord - Pas-de-Calais et la côte sud de la Bretagne.

ZONE	Réf.	Fe		Zn		Cu		Pb		Cd	
	Bibl	Mini	Maxi								
Z.N.P.C.	70	<1	180	<1	200	<1	20	<1	12	<1	3
	69	<50	1600			2,2	207	0,8	180	0,02	5,3
Z.B.S.	70			0,1	187	0,6	66	0,1	4,5	0,05	0,80
	69	107	1980			3,8	29	6,8	26	0,05	0,7

TABLEAU N° 36

3) Les résultats devant être utilisés pour des comparaisons entre échantillons provenant de différentes zones, il a été nécessaire "d'homogénéiser" les données en faisant intervenir des facteurs correctifs. En ce sens, d'autres travaux effectués au laboratoire nous ont permis d'incorporer des mesures expérimentales concernant la zone entre 1975 et 1979.

Les valeurs auxquelles nous avons finalement abouti, exprimées en p.p.b., figurent dans le tableau n° 37 et interviennent pour les calculs des facteurs de transfert par rapport à l'eau de mer :

ZONE	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
Z.N.P.C.	400	110	46	6	7	0,7
Z.C.B.	400	240	58	8	9	0,5
Z.B.S.	400	95	37	5	5	0,2

TABLEAU N° 37

La dernière partie est réservée à l'étude des différentes anomalies pathologiques présentées par les morues de la zone -nécroses et nodules- en relation avec les niveaux métalliques qu'on y rencontre. Cette partie des travaux est complétée par des observations à la microsonde de CASTAING.

REMARQUES : - Pour l'ensemble des résultats donnés par la suite et lorsqu'aucune précision contraire n'est apportée, toutes les concentrations (C) sont exprimées en p.p.m. par rapport à l'"état standard humide" (défini au chapitre I paragraphe II 3) b)).

- Pour simplifier l'écriture, nous avons adopté les symboles suivants :

* C = Concentration

* \bar{M} = Moyenne

* F.T. = Facteur de transfert par rapport à l'eau

$$\text{de mer} = \frac{\text{C. de l'espèce considérée en p.p.m.}}{\text{C. de l'eau de mer en p.p.b.}} \times 1\,000$$

* Z.N.P.C. = Zone littorale Nord - Pas-de-Calais

* Z.C.B. = Zone côtière belge

* Z.B.S. = Zone Bretagne Sud.

NIVEAUX METALLIQUES

I) ECHANTILLONNAGE - HOMOGENEITE DES ECHANTILLONS

A) ECHANTILLONNAGE

Si le problème de l'échantillonnage est résolu de différentes façons par la plupart des auteurs, il est en général peu détaillé dans le compte rendu des travaux. Seuls apparemment, HERMAN et VANDERSTAPPEN (61) expliquent brièvement leur méthode qui consiste à "répartir les prélèvements dans toute la chair égouttée". Cette technique permettrait d'obtenir des résultats tels que l'hétérogénéité de la répartition des éléments ne peut être distinguée de l'approximation moyenne du dosage par absorption atomique, soit plus ou moins 5%. Cependant, ni le nombre de prélèvements, ni la masse exacte de ceux-ci ne sont précisés.

Aussi, nous sommes nous intéressés au problème, qui se pose de façon différente selon la masse de l'échantillon considéré, trois catégories pouvant être distinguées :

1) Echantillons composés d'animaux de petite taille

a) Echantillons de faible masse (< 10 g) (lots de vers marins)

Pour ceux-ci, le problème de l'échantillonnage ne se pose pas dans les mêmes termes que pour les autres catégories d'échantillons. En effet, leur masse étant inférieure à la masse idéale requise pour la minéralisation, celle-ci est mise en oeuvre sur la totalité de l'échantillon, et la question de tirer une prise d'essai représentative de l'ensemble ne se pose donc pas. Par contre, à l'inverse, il est nécessaire de définir une masse limite inférieure à partir de laquelle le dosage de l'ensemble, ou même seulement quelques-uns des métaux retenus, ne sera plus possible. Cette masse limite inférieure est bien évidemment en relation directe avec les limites de dosage de la technique d'analyse retenue (voir 1ère partie Absorption atomique), mais dépend également de la concentration propre de l'échantillon considéré.

b) Echantillons volumineux constitués d'un grand nombre d'individus de petite taille (lots de crevettes, crabès... etc.).

Dans ce cas, le problème se pose uniquement au point de vue "biologique" et il a été résolu en choisissant un nombre restreint d'individus représentatifs de l'ensemble du lot, la totalité des animaux sélectionnés devant constituer une prise d'essai de masse convenable.

2) Echantillons de taille moyenne (environ 400 grammes)

Dans ce cas (filets de limande ou moruette), l'homogénéisation de la totalité de l'échantillon ne présentant pas d'inconvénient majeur, celle-ci a été mise en oeuvre et une masse convenable a été minéralisée (voir Chapitre I - Méthodes de minéralisation). Aucun problème ne se pose quant à la représentativité de l'échantillon (voir Chapitre I paragraphe IV A) 1) a)).

3) Echantillons de grande taille (masse pouvant être nettement supérieure à 1 kg) (filets de morue)

La mise en oeuvre d'une minéralisation effectuée sur la totalité de tels échantillons présente des inconvénients évidents et il est nécessaire de tirer des prises d'essai représentatives. En ce qui concerne les minéralisations conduites suivant la méthode de DENIGES, la masse idéale de la prise d'essai apparaît comme devant être de l'ordre de 10 grammes d'échantillon à l'état humide standard. Par contre, pour la méthode par calcination, cette masse peut aller jusqu'à 50 grammes sans inconvénient majeur (voir Chapitre I - Méthodes de minéralisation). Dans le cas d'échantillons de masse nettement supérieure à ces valeurs, le préalable de l'analyse est le contrôle de la technique d'échantillonnage qui doit rendre compte, le plus fidèlement possible, de la concentration globale existant dans l'échantillon initial. De plus, la méthode retenue doit également rester simple et facile dans sa mise en oeuvre. Trois possibilités ont été envisagées au départ :

1- prendre une prise d'essai "au hasard" sur l'échantillon, celle-ci devant rendre compte de la concentration globale. C'est la technique la plus simple, mais aussi la plus gênante en raison des risques d'hétérogéné-

ité. Pour les essais comparatifs, on peut améliorer la méthode en effectuant le prélèvement au même endroit sur l'animal à étudier et sur la référence (Il est souvent effectué au niveau de la partie caudale par exemple).

Cette technique est en fait la plus couramment utilisée pour ce type d'études.

2- pratiquer de multiples prélèvements répartis sur la totalité de l'échantillon, rassembler ceux-ci de façon à avoir une prise d'essai finale de 10 ou 50 grammes selon la minéralisation retenue. Cette technique est désignée par la suite du travail sous le terme de "reconstitution arithmétique de l'échantillon".

3- découper l'échantillon en plusieurs fractions et effectuer après homogénéisation des prélèvements de masse proportionnelle à chacune d'elles, la masse totale prélevée devant être de 10 ou 50 grammes selon la minéralisation retenue. Nous appellerons cette technique : "reconstitution pondérée de l'échantillon".

La deuxième, et surtout la troisième technique de prélèvement citées présentent une certaine lourdeur de mise en oeuvre. Aussi, afin de comparer les résultats obtenus par chacune des différentes méthodes "d'échantillonnage", celles-ci ont été appliquées à plusieurs filets de morues nécrosées. Nous donnons à titre d'exemple le schéma des manipulations et calculs effectués à partir de l'un des essais.

B) REPARTITION DES METAUX LE LONG D'UN FILET DE MORUE

1) Préparation du filet

Le filet est débité en 20 fractions réparties comme le montrent les figures n° 36 a, b. Chaque fraction est homogénéisée et pesée, puis une masse convenable de chacune d'elle est minéralisée et dosée.

2) Résultats

Le détail des résultats d'analyse est reporté dans les figures 36 a, b

Trois résultats (un pour chacun des métaux Ca, Fe, et Cd), paraissant beaucoup trop forts par rapport au niveau général des autres concentrations trouvées, sont jugés aberrants et écartés de l'exploitation ultérieure des données. Il est probable que l'origine de l'erreur puisse être attribuée : pour Ca, à la présence dans la fraction concernée de morceaux d'arêtes entraînés lors du prélèvement, pour les autres métaux, à une pollution accidentelle. On note que, même pour un nombre aussi important d'analyses, le nombre de ces résultats apparemment erronés reste relativement faible (trois sur 120). Par contre, la dispersion entre les différentes fractions du filet reste forte, et dépasse de beaucoup celles dues aux analyses (voir chapitre I paragraphe IV A) 1) a)). Le tableau n° 38 met en évidence cette dispersion :

Elément	C mini	C maxi (*)	C maxi / C mini
Ca	44	673	15
Fe	4	33	8
Zn	3,5	12,2	3,5
Cu	0,12	0,81	7
Pb	0,5	1,69	3
Cd	0,032	0,34	10

TABLEAU N° 38

(*) : les résultats "aberrants" ayant été écartés

L'observation des figures n° 36 a, b ne montre pas de disposition particulière des accumulations métalliques dans les différentes fractions. En particulier, on ne relève pas de zones d'accumulation préférentielle plus riches en métaux. Ceux-ci semblent au contraire se répartir dans l'échantillon de façon aléatoire.

COTE GAUCHE

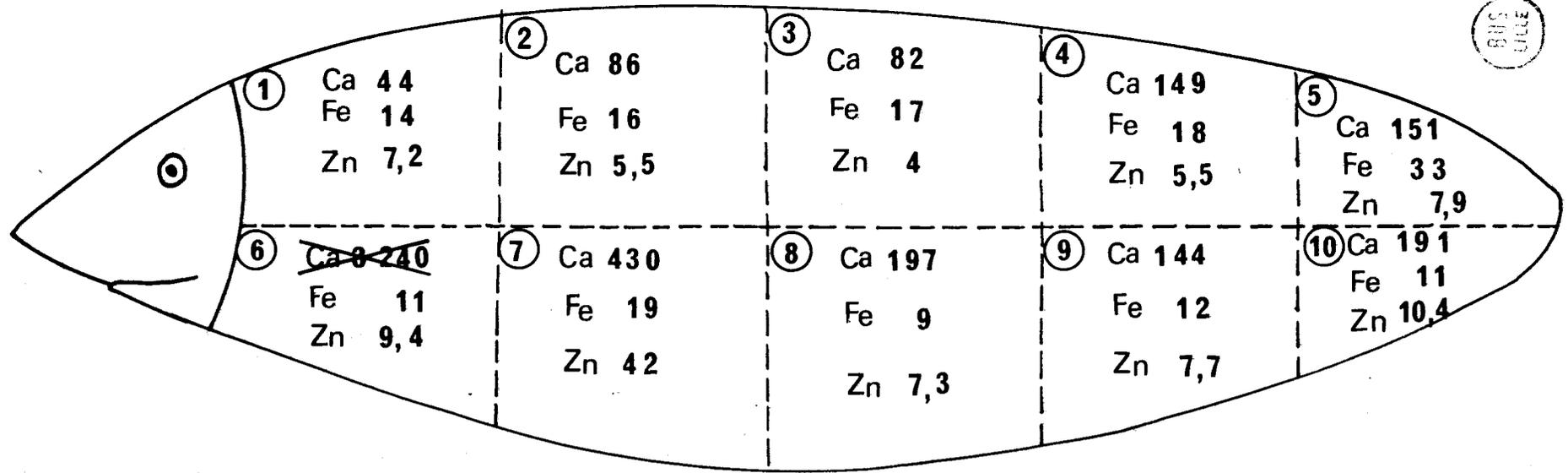
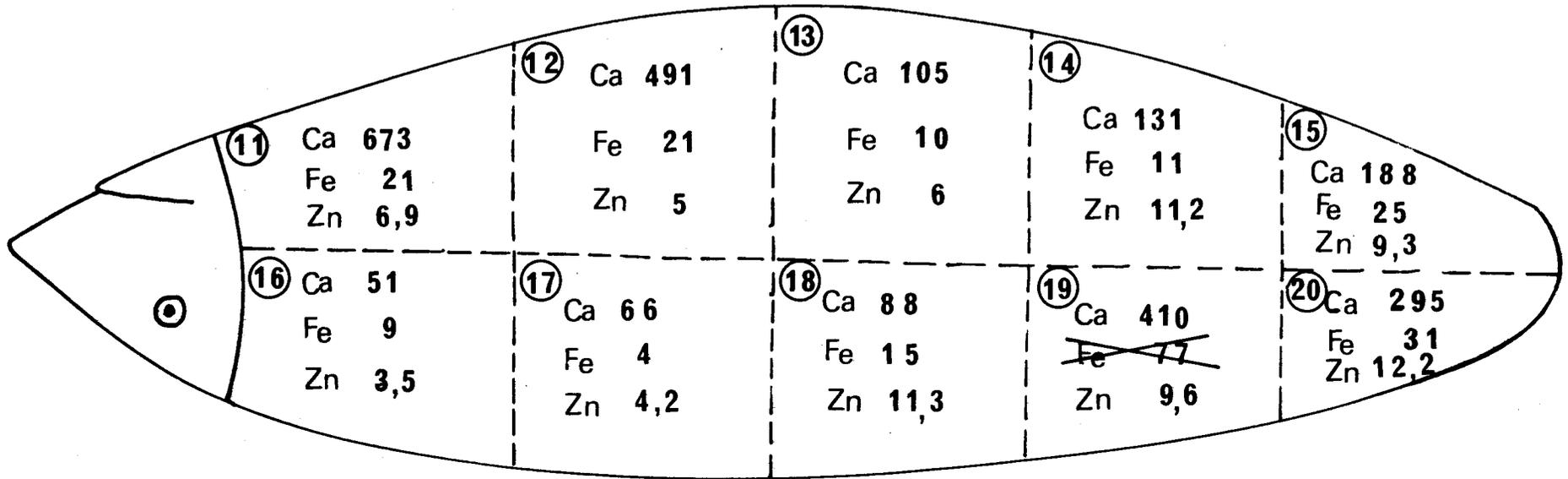


Figure 36 a



COTE DROIT

COTE GAUCHE

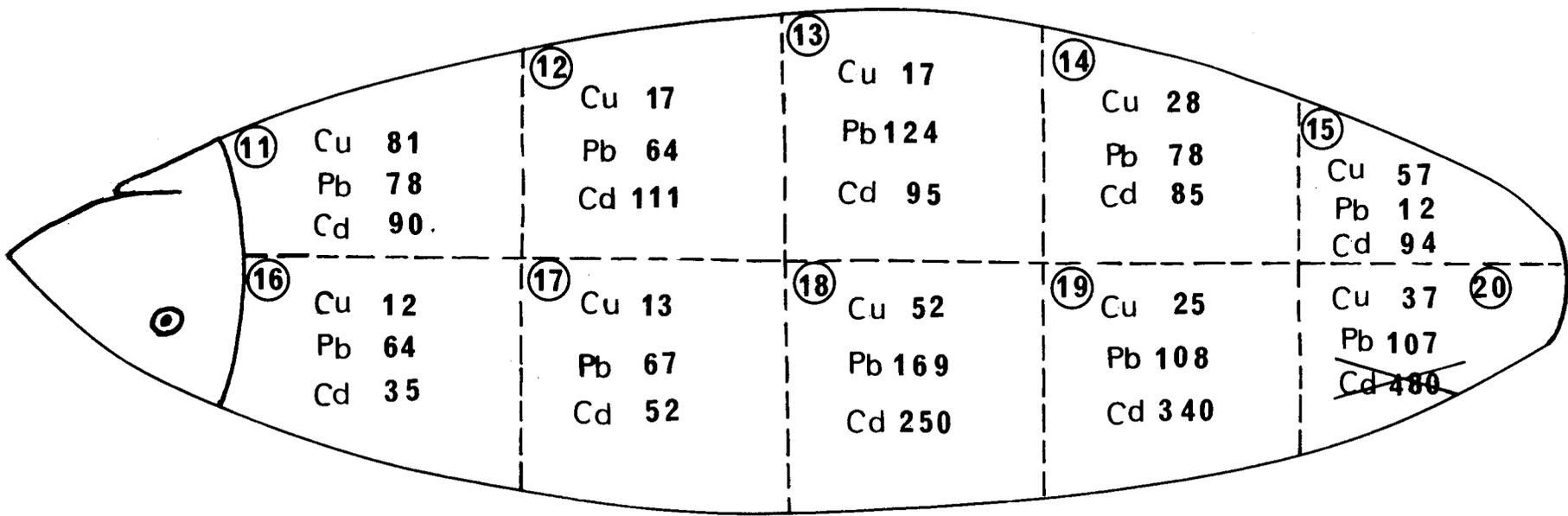
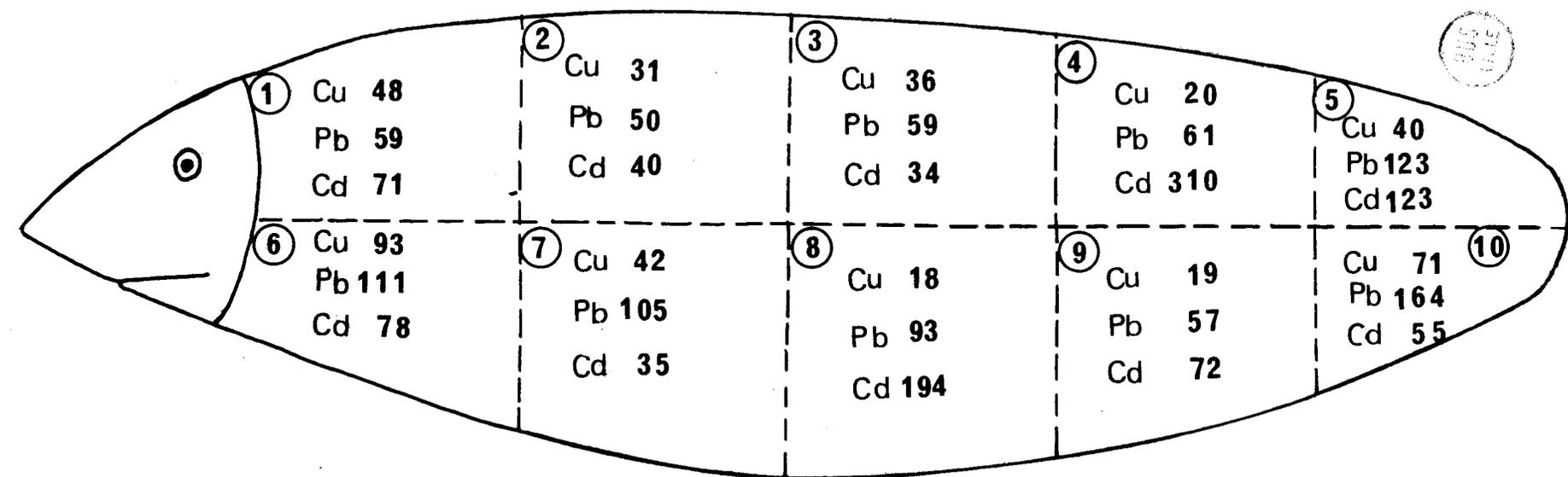


Figure 36 b

[Cu] x 100
 [Pb] x 100
 [Cd] x 1000

Les concentrations globales, qui auraient été mesurées pour tout le filet en suivant le modèle de "reconstitution arithmétique" ou en suivant celui de "reconstitution pondérée", ont été calculées à partir de ces résultats. Elles figurent dans le tableau ci-dessous, ainsi que la fourchette obtenue en ne tenant compte que des écarts analytiques (2 % pour Ca, 5 % pour Fe, Cu et Zn, 10 % pour Pb et 15 % pour Cd - voir 1ère partie Absorption atomique). Pour chaque élément, nous avons également reporté dans le tableau n° 39 le nombre de tranches correspondant aux concentrations mesurées comprises à l'intérieur des fourchettes analytiques :

Elément	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
Fourchette analyt. de la \bar{M} arithmétique	209 \pm 4	16,8 \pm 0,8	7,5 \pm 0,4	0,37 \pm 0,02	0,93 \pm 0,09	0,12 \pm 0,02
Nbre de tranches donnant des résultats compris à l'intérieur de la fourchette	0	1	4	1	0	2
Fourchette analyt. de la \bar{M} pondérée	188 \pm 4	14,3 \pm 0,7	6,9 \pm 0,4	0,31 \pm 0,02	0,87 \pm 0,09	0,11 \pm 0,02
Nbre de tranches donnant des résultats compris à l'intérieur de la fourchette	3	2	3	1	2	5

TABLEAU N° 39

C) DISCUSSION DES RESULTATS ET CONCLUSIONS

1) Echantillons de grande taille

Des essais analogues conduits à partir de plusieurs filets de morues nécrosées ont abouti à des résultats et conclusions identiques, c'est-à-dire :

a) La répartition des éléments métalliques le long du filet présente une hétérogénéité fortement marquée. La distribution des concentrations métalliques ne semble obéir à aucune loi particulière. En effet, on ne distingue aucune accumulation préférentielle des métaux dans telle ou telle partie du filet. Au contraire, ceux-ci paraissent se répartir de façon complètement aléatoire, la répartition étant différente pour chaque métal.

On remarque cependant que la répartition de Zn dans le filet paraît plus homogène que celle des autres métaux. En effet, le nombre de tranches donnant des résultats compris à l'intérieur des fourchettes analytiques est le plus élevé pour cet élément, tandis que le rapport $C_{\text{maxi}}/C_{\text{mini}}$ se situe parmi les plus faibles (voir tableaux n° 38 et 39).

b) En ce qui concerne le problème de l'échantillonnage, l'hétérogénéité de la répartition des éléments métalliques condamne le mode de prélèvement n°1 qui s'avère en fait peu adapté pour rendre compte du niveau moyen effectif. En effet, le nombre de résultats compris à l'intérieur des fourchettes analytiques étant relativement restreint, la probabilité qui en résulte de trouver un résultat correct avec un prélèvement unique fait au hasard, est pratiquement négligeable. De plus, du fait de la répartition aléatoire des métaux dans l'échantillon, il ne semble pas qu'il soit possible d'espérer obtenir des résultats comparables d'un filet à l'autre en prélevant toujours la prise d'essai sur une partie identique, la partie caudale par exemple.

La "reconstitution arithmétique" donne des résultats nettement meilleurs, et pratiquement équivalents à ceux de la reconstitution pondérée, quoique les fourchettes analytiques ne se chevauchent pas pour Ca, Fe et Cu. Elles restent cependant toujours très voisines pour ces trois éléments et se chevauchent assez largement pour Zn, Pb, et Cd.

La technique de "reconstitution arithmétique", moins lourde à mettre en oeuvre, et donnant des résultats pratiquement équivalents à celle de "reconstitution pondérée" a donc été retenue pour effectuer les prélèvements sur échantillons de grande taille.

2) Autres échantillons

Les échantillons de faible masse (≤ 10 g) ont été minéralisés dans leur totalité, le minimum de matière pour atteindre la limite de détection de chacun des métaux devant être mis en oeuvre.

Pour les échantillons volumineux constitués d'un grand nombre d'individus de petite taille, nous avons sélectionné un nombre restreint d'animaux représentatifs de l'ensemble, pour constituer des prises d'essais de masse convenable.

Enfin, les échantillons de taille moyenne (environ 400 grammes) ont été homogénéisés dans leur totalité et une fraction de masse convenable a été minéralisée.

II) DOSAGE D'ELEMENTS DE LA CHAINE ALIMENTAIRE [*]

A) MATIERE EN SUSPENSION

1) Prélèvements

Les prélèvements ont été réalisés par des traits obliques de filets WP2 (filets normalisés UNESCO) avec un maillage de 40 microns pour les prélèvements de matière en suspension (micro et phytoplancton) et de 200 microns pour les récoltes de zooplancton.

2) Analyse des matières en suspension

Les concentrations mesurées dans cinq échantillons de matière égouttée figurent au tableau n°I (voir Annexe), la dispersion assez forte des résultats étant mise en évidence dans le tableau n° 40.

Elément	C mesurées		M̄ des C mesurées	C maxi / C mini	C relevées dans la bibliog.	
	C mini	C maxi			C mini	C maxi
Ca	5 x 10 ³	25x10 ³	14,3x10 ³	5		
Fe	1,3 x 10 ³	4,7x10 ³	1,8x10 ³	23	1x10 ³	6x10 ³
Zn	16,5	120	51	7	17	300
Cu	2,3	4,8	3	2	4	260
Pb	5,2	63	19	12	10	60
Cd	0,2	0,6	0,4	3		

TARLEAU N° 40

(*) Nous remercions Monsieur le Professeur RICHARD de nous avoir fourni les échantillons nécessaires à cette partie de l'étude.

On observe que, dans la zone étudiée, la plupart des métaux, et surtout Cu, présentent des résultats relativement faibles par rapport à ceux relevés dans la bibliographie (prélèvements de matière en suspension effectués en Mer du Nord (62 p. 201)).

3) Analyse de zooplancton

Nous n'avons pu traiter qu'un seul échantillon. Les teneurs mesurées dans la matière égouttée et les facteurs de transfert par rapport à l'eau de mer sont reportés dans le tableau n° 41 ainsi que des données bibliographiques comparables concernant des récoltes effectuées en Mer du Nord pendant la période 73-74 (58 p. 87 à 111).

Elément	Mesures Z.N.P.C.		Référence bibliog. 58	
	C	F.T.	C	F.T.
Ca	39×10^3	10×10^4		
Fe	$2,5 \times 10^3$	230×10^2		
Zn	770	$1,7 \times 10^4$	480	$0,8 \times 10^4$
Cu	31	5×10^3	28	$3,5 \times 10^3$
Pb	48	7×10^3	14	$1,5 \times 10^3$
Cd	1,3	2×10^3	0,9	$1,8 \times 10^3$

TABLEAU N° 41

A propos de ce tableau, nous pouvons faire les remarques suivantes :

* 1 Les valeurs trouvées dans la zone étudiée pour le zooplancton sont du même ordre de grandeur que celles relevées dans la bibliographie.

Zn, Pb, et Cd apparaissent cependant légèrement plus concentrés pour la Z.N.P.C., alors que c'est l'inverse qui se produit pour les matières en suspension.

* 2) Nous n'avons pu traiter qu'un seul échantillon de zooplankton, cependant les concentrations de celui-ci sont supérieures à celles des matières en suspension pour pratiquement tous les métaux. Ceci est en apparence contradiction avec les conclusions auxquelles aboutissent généralement la plupart des auteurs, à savoir que : en milieu pollué ou non, les concentrations les plus élevées en métaux lourds (du moins pour Cu et Zn) sont presque toujours atteintes par les organismes occupant les échelons trophiques inférieurs (58 p. 286). Cependant, on fera remarquer comme ESLKENS (58 p. 87), qu'il est toujours très difficile d'isoler les organismes constituant le phytoplancton du reste de la matière en suspension et plus spécialement de faire la part des choses entre la contamination intracellulaire et la contamination par adsorption (voir chapitre I paragraphe III 4) a) δ).

B) VERS MARINS

Les échantillons ont été soit prélevés à la bêche sur les hauts fonds (arénicoles), soit récoltés par chalutage (aphrodites).

La minéralisation a été effectuée après dégorgeement de l'animal dans l'eau de mer et élimination du sable accompagnant l'échantillon (voir chapitre I).

Les concentrations mesurées pour les différentes espèces figurent au tableau n° II (voir Annexe).

La comparaison avec la bibliographie a été réalisée en ce qui concerne les lanices pour des animaux de même espèce prélevés sur la côte belge de la Mer du Nord (61 p. 36). Le tableau n° 42 montre que si les concentrations en Cu et Pb sont plus élevées pour les annélides prélevés sur le littoral belge, c'est l'inverse qui se produit pour Zn et surtout Cd :

Elément	Zn	Cu	Pb	Cd
(I) = [C]lanices Z.N.P.C.	50	0,66	2,75	0,33
(II) = [C]lanices Z.C.B.	30	1,73	6,5	0,11
$R_1 = \frac{(I)}{(II)}$	1,3	0,4	0,4	3

TABLEAU N° 42

Afin de suivre l'évolution de l'accumulation métallique dans la chaîne trophique, les F.T. moyens ont été calculés pour chacune des espèces de vers, et reportés dans le tableau n° 43 ci-dessous :

Elément Espèce	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
NEPHTIS	$1,25 \times 10^4$	$4,6 \times 10^2$	$6,9 \times 10^2$	83	51	$3,7 \times 10^2$
NEREIS	$0,03 \times 10^4$	$3,5 \times 10^2$	12×10^2	9	190	$2,6 \times 10^2$
NOTOMASTUS	$2,4 \times 10^4$	65×10^2	$6,3 \times 10^2$	30	180	$1,8 \times 10^2$
LANICES	$0,34 \times 10^4$	9×10^2	11×10^2	110	400	$6,6 \times 10^2$
MAGELONES	$1,7 \times 10^4$	82×10^2	25×10^2	300	144	10×10^2
SABELLA	$0,19 \times 10^4$	11×10^2	$6,5 \times 10^2$	17	16	$13,2 \times 10^2$
ARENICOLE	$0,7 \times 10^4$	$5,3 \times 10^2$	$6,2 \times 10^2$	12	80	$3,8 \times 10^2$
APHRODITE	$1,0 \times 10^4$	83×10^2	$7,1 \times 10^2$	7	76	$1,8 \times 10^2$

TABLEAU N° 43



L'observation des résultats précédents montre la grande dispersion des niveaux des différentes espèces, dispersion mise en évidence dans le tableau

n° 44 ou \bar{M} représente la moyenne des facteurs de transfert calculée pour les 8 espèces et R_2 le rapport des facteurs de transfert :

$$R_2 = \frac{\text{F.T. espèce la plus concentrée}}{\text{F.T. espèce la moins concentrée}}$$

Elément	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
\bar{M}	1×10^4	39×10^2	10×10^2	77	140	550
R_2	2,6	18	4	27	23	7

TABLEAU N°44

La comparaison de la grandeur " \bar{M} " définie ci-dessus pour les différents métaux montre que les vers marins sont de bons indicateurs de la présence de fer dans la zone étudiée puisque, mis à part Ca, élément de constitution normal des êtres vivants, c'est pour Fe que le facteur de transfert moyen est maximum pour les 8 espèces. Ces résultats sont en bon accord avec ceux de BOILLY et RICHARD (87).

D'autre part, la comparaison des résultats espèce par espèce indique que parmi les 8 espèces étudiées, les magelones apparaissent globalement comme le meilleur indicateur général de l'accumulation métallique, sans être limité au seul Fe, ainsi qu'il est mis en évidence dans le tableau n° 45 où R_3 représente le rapport des facteurs de transfert :

$$R_3 = \frac{\text{F.T. Magelones}}{\bar{M} \text{ calculée pour les 8 espèces}}$$

Elément	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
R_3	1,7	2,1	2,5	3,8	1,1	1,9

TABLEAU N° 45

Enfin, on peut encore relever que le comportement de chaque espèce particulière est assez variable en fonction de l'élément métallique considéré. Ainsi, SABELLA semble concentrer plus fortement le cadmium que les autres métaux, les facteurs de transfert étant relativement moyens pour Ca, Fe, et Zn, et même assez faibles pour Cu et Pb. SABELLA serait donc l'indicateur préférentiel pour Cd. Il en est de même pour les lanices en ce qui concerne Pb, les concentrations des autres éléments métalliques apparaissant moyennes pour Zn, Cu et Cd, et même assez faibles pour Ca et Fe.

C) CREVETTES (CRANGON-CRANGON)

Les prélèvements, constitués essentiellement de crevettes grises (CRANGON-CRANGON), ont été effectués soit à pied à la basse mer, soit par chalutage.

Une partie de l'animal étant consommée par l'homme, il nous a paru intéressant de comparer les concentrations de la partie consommable (P.C.) des crevettes avec les données des tables alimentaires. Aussi, les animaux constituant quelques-uns des différents lots recueillis ont-ils été décortiqués et les parties consommables et non consommables (P.N.C.) ont été dosées séparément.

Pour les autres lots, les résultats des dosages sur les crevettes entières ont pu être comparés avec ceux obtenus à partir d'échantillons prélevés dans les zones de référence (zone côtière belge et côte sud de la Bretagne).

1) Animaux décortiqués

Pour tous les essais, nous avons trouvé une accumulation préférentielle des métaux dans la partie non consommable.

Le tableau n° 46 donne les résultats pour l'un des lots de crevettes analysés en ce qui concerne les 4 éléments Fe, Zn, Cu et Pb.

Elément	Fe	Zn	Cu	Pb
(P.N.C.) (70 % de la matière humide]	48	29	6,6	3,2
(P.C.) (30 % de la matière humide]	15	22	6,5	1,8
<u>(P.N.C.)</u> (P.C.)	3,2	1,3	1	1,8

TABLEAU N° 46

Les concentrations mesurées dans la partie consommable peuvent être comparées aux chiffres figurant dans les tables alimentaires. On peut distinguer en ce sens deux catégories de données :

1- Une première catégorie concerne les teneurs moyennes relevées généralement dans la partie comestible de la crevette. Nous en faisons figurer quelques-unes (exprimées en p.p.m./matière humide) dans le tableau n° 47).

Elément Référ. Biblio.	Fe	Zn	Cu
99	20	17,5	10
2		6-27	

TABLEAU N° 47

On observe en général que les concentrations mesurées dans la partie consommable des crevettes de la zone étudiée sont du même ordre de grandeur, sinon inférieures aux chiffres cités ci-dessus.

2- Une deuxième catégorie concerne les éléments minéraux n'ayant pas le caractère de "substances étrangères" quand ils se trouvent à des taux inférieurs à ceux indiqués ci-dessous (taux limites exprimés en p.p.m. dans la substance telle qu'elle est offerte à la consommation) : TABLEAU N° 48.

Réf. / Biblio. / Substance alimentaire.	Elément Fe	Zn	Cu	Pb
69 / Mollusques-crustacés	300	200	40	2,5

TABLEAU N° 48

On constate cette fois que les concentrations mesurées dans la partie consommable des crevettes de la zone Nord - Pas-de-Calais sont nettement inférieures aux chiffres pris en référence.

2) Animaux entiers

Le tableau n° III (voir Annexe) regroupe les concentrations de quelques-uns des échantillons prélevés dans la zone Nord - Pas-de-Calais.

La dispersion des résultats est assez large comme il apparaît dans le tableau n° 49.

Elément	C mini	C maxi	C moyenne	$\frac{C \text{ maxi}}{C \text{ mini}}$
Ca	$3,4 \times 10^3$	14×10^3	$9,3 \times 10^3$	4,1
Fe	14	82	42	5,8
Zn	22	33	26	1,5
Cu	4,1	7,1	5,5	1,7
Cd	0,06	0,2	0,09	3,3
Pb	1,2	2,8	2,3	2,3

TABLEAU N° 49

A partir de résultats obtenus avec des lots de crevettes pêchées en Bretagne du Sud, ainsi que d'autres relevés dans la bibliographie pour des échantillons prélevés sur la côte belge de la Mer du Nord, en 1972 et 1975 (61 p. 36), les facteurs de transfert moyens dans le sens eau de mer → crevettes ont été calculés. Ils sont donnés dans le tableau n° 50.

Origine	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
Z.N.P.C.	$2,3 \times 10^4$	$3,6 \times 10^2$	6×10^2	930	330	130
Z.B.S.	$1,8 \times 10^4$	4×10^2	5×10^2	2300	180	150
Z.C.B.			4×10^2	1600	210	90

TABLEAU N° 50



On constate que l'ordre de grandeur est sensiblement le même pour les animaux provenant des trois zones. Seuls, Cu et Pb présentent des écarts plus sensibles.

D) AUTRES ESPECES

Quelques échantillons de mollusques, crustacés ou petits poissons ont été récoltés soit à pied à la basse mer (Balanes) soit par chalutage (Pagures ou Sardines).

Le tableau n° IV (voir Annexe) rassemble les concentrations mesurées dans quelques-uns de ces échantillons.

Pour la comparaison avec les autres maillons de la chaîne alimentaire ainsi qu'avec des résultats analogues relevés dans la bibliographie, les F.T. de chaque espèce ont été calculés et reportés dans le tableau n° 51.

Espèce	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
ABRA ALBA	21×10^4	95×10^2	6×10^2	600	150	500
TELLINA FABULA	9×10^4	7×10^2	10×10^2	80	160	560
BALANES	22×10^4	240×10^2	8×10^2	530	40	90
PAGURES	10×10^4	9×10^2	6×10^2	610	440	290
CRABES	7×10^4	14×10^2	5×10^2	530	470	120
SARDINES	$0,6 \times 10^4$	2×10^2	2×10^2	30	9	50

TABLEAU N° 51

On constate que les petits poissons, tels que les sardines, qui occupent les échelons trophiques les plus élevés, présentent généralement les facteurs de transfert les plus faibles.

La comparaison avec la bibliographie a pu être réalisée en ce qui concerne des pagures et crabes de même espèce (*macropipus holsatus*) pêchés sur la côte belge (61 p. 37). Les facteurs de transfert calculés à partir des chiffres relevés figurent dans le tableau n° 52 ci-dessous.

Espèce	Zn	Cu	Pb	Cd
PAGURES	$6,7 \times 10^2$	$6,6 \times 10^3$	76	170
CRABES	$6,7 \times 10^2$	$1,8 \times 10^3$	48	170

TABLEAU N° 52

On observe que, si les résultats concernant Zn et Cd conservent le même ordre de grandeur, Cu et Pb présentent des écarts assez importants par rapport à nos propres résultats.

E) CONTENUS STOMACaux DE MORUE

Afin d'établir la comparaison avec les résultats obtenus pour les différentes espèces d'animaux composant le régime alimentaire de la morue, le détail des constituants de chaque contenu a été relevé avant minéralisation et analyse (voir Annexe tableau n° V). On observe, d'après les animaux identifiés dans les estomacs, que, dans la zone Nord - Pas-de-Calais, les morues se nourrissent principalement de crevettes et de crabes. Sardines et arénicoles ne sont présents que dans quelques contenus stomacaux et lorsqu'ils s'y trouvent, c'est toujours en nombre limité.

Le tableau n° V (voir Annexe) rend compte des résultats obtenus pour quelques-uns des échantillons analysés. A la suite d'un incident technique, le plomb n'a pu être dosé. Les concentrations mesurées ont été rapprochées de celles trouvées précédemment pour les lots de crevettes ou de crabes pêchés dans la zone étudiée. Elles figurent dans le tableau n° 53.

Elément	CONTENUS STOMACaux			CREVETTES	CRABES
	C Mini	C Maxi	C moyenne	C moyenne	C moyenne
Ca	55	4 000	800	9 300	30 000
Fe	22	154	78	42	140
Zn	15	35	22	26	20
Cu	2,7	7	4	5,5	3,1
Cd	0,01	0,1	0,04	0,09	0,08

TABLEAU N° 53

On relève que Ca est moins concentré dans les contenus stomacaux que dans crevettes et crabes de la zone. Les écarts constatés peuvent être attribués éventuellement au fait que les prélèvements ont été effectués sur les proies de la morue en cours d'assimilation gastrique.

En ce qui concerne les autres métaux, il existe un assez bon recoupe-ment entre les différentes concentrations mesurées.

F) FILETS DE MORUE

La préparation et l'échantillonnage des filets ont été détaillés antérieurement (voir chapitre I paragraphe I et chapitre II paragraphe II)

Dans le tableau n° VI (voir Annexe) figurent les concentrations mesurées dans quelques-uns des échantillons analysés.

Les résultats sont assez variables d'un échantillon à l'autre suivant l'élément métallique considéré et le comportement particulier de chacun des métaux ne semble pas lié à celui des autres. On n'observe pas en effet de loi générale régissant l'accumulation métallique de l'un des éléments par rapport

aux autres, et, au contraire, celle-ci paraît se faire dans chaque filet de façon aléatoire. Entre autres, on ne relève pas d'échantillons où les niveaux métalliques sont tous à la fois anormalement élevés ou anormalement bas par rapport à la moyenne.

Le tableau n° 54 montre les différentes concentrations mesurées dans les filets :

Elément	C mini	C maxi	C moyenne	F.T. moyen
Ca	49	829	231	600
Fe	3,4	16,6	13	120
Zn	7,2	16,3	11	240
Cu	0,38	0,76	0,6	100
Pb	0,2	0,87	0,6	90
Cd	0,01	0,17	0,08	110

TABEEAU N° 54

On observe que, mis à part le calcium, élément de constitution normal des tissus, c'est le zinc qui présente le facteur de transfert moyen le plus important parmi les éléments métalliques analysés.

Les résultats peuvent être rapprochés d'autres relevés dans la bibliographie et rassemblés dans le tableau n° 55.

Référence biblio.	Zn	Cu	Pb	Cd
N°1	11	2	6	0,03
N°2	4,4	0,45	0,32	0,04
N°3	5	0,41	0,37	0,01
N°4	6,6	0,42	0,35	0,03
N°5	11	0,6	0,67	0,08

TABLEAU N° 55

N° 1 : 82 p. 52 : C moyennes pour 9 échantillons de filets de morue à l'état humide.

N° 2 : 82 p. 54 : Teneurs en métaux lourds de morues pêchées en Mer du Nord de 1967 à 1972. Teneurs mesurées dans les tissus frais. Nombre d'échantillons : 146.

N°3 : 61 p. 29 : C moyennes pour 6 filets égouttés (Z.C.B. - pêches 1975).

N° 4 : 61 p. 33 : C moyennes pour un nombre d'échantillons non précisé (Islande-pêches 1975).

N° 5 : Rappel des C. moyennes mesurées pour la zone Nord - Pas-de-Calais (voir tableau n° 54).

On observe d'un point de vue général une bonne concordance entre les résultats trouvés pour la zone étudiée et les quatre références bibliographiques. L'ordre de grandeur des résultats est en effet respecté pour tous les métaux. Seul le résultat du Pb diverge d'un facteur supérieur à 10 pour la référence n°1. D'une manière générale, les niveaux dans nos échantillons sont pour tous les métaux légèrement supérieurs à ceux des références 2, 3 et 4.

Les concentrations mesurées ont été comparées avec les données des tables alimentaires rappelées dans le tableau n° 56 (concentrations exprimées en p.p.m. dans la partie comestible).

Réf. biblio.	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
N°1	50 à 1300	4 à 30	7 à 30	0,5 à 6		
N°2			0,2 à 1200 (hareng)	1,5 à 6 (thon)	0,3 à 6	0,15 à 3
N°3		100	35	5	2,5	1

TABLEAU N° 56

- N° 1 : (38) : Limites relevées pour des poissons de différentes espèces.
 N° 2 : (2) : Limites relevées pour différentes espèces précisées pour Zn et Cu.
 (hareng et thon) ou non précisées pour Pb et Cd.
 N° 3 : (2) : Eléments minéraux n'ayant pas le caractère de " substances étrangères " quand ils se trouvent dans les aliments à des taux inférieurs à ceux indiqués.

Les fourchettes de concentration mesurées dans les morues de la zone sont en général comprises à l'intérieur de celles des tables alimentaires. Nos résultats sont cependant situés parmi les plus faibles, et certains d'entre eux sont, en ce qui concerne Fe, Cu, Pb et Cd, en dessous de la limite inférieure mentionnée dans les tables.

G) ACCUMULATION METALLIQUE DANS LA CHAÎNE ALIMENTAIRE

Le tableau n° 57 ci-dessous montre les facteurs de transfert calculés en prenant comme référence les teneurs moyennes de l'eau de mer dans la zone étudiée (voir INTRODUCTION). Les différents types d'échantillons ont été classés en fonction de la position qu'ils occupent dans la chaîne alimentaire, le terme final de celle-ci étant la morue.

TABLEAU N° 57

Niveau trophique	Echantillon	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd	SECONDAIRE OU TERTIAIRE	
								SECONDAIRE	TERTIAIRE
Matières en suspension		36×10^4	160×10^2	11×10^2	500	2 700	600		
	Zooplancton	10×10^4	230×10^2	170×10^2	5 000	7 000	2 000		
Crevettes (Crangon-Crangon)		$2,3 \times 10^4$	$3,8 \times 10^2$	6×10^2	900	330	130		
	Balanes	22×10^4	240×10^2	8×10^2	500	40	90		
	Albra-Alba	21×10^4	95×10^2	6×10^2	600	150	500		
	Tellina Fabula	9×10^4	7×10^2	10×10^2	80	160	560		
TERTIAIRE	Vers marins	1×10^4	39×10^2	10×10^2	80	140	550		
	Crabes	7×10^4	14×10^2	5×10^2	500	470	120		
	Ragures	10×10^4	9×10^2	6×10^2	600	440	290		
	Sardines	$0,6 \times 10^4$	2×10^2	2×10^2	30	9	50		
	Morues	$0,6 \times 10^4$	$1,2 \times 10^2$	$2,4 \times 10^2$	100	90	110		



La lecture du tableau ligne par ligne permet, pour une même espèce, d'établir des comparaisons entre métaux. On observe que c'est le calcium qui présente pour toutes les espèces l'accumulation la plus importante, suivi en général par Fe et Zn. Le classement de Cu, Pb et Cd est assez variable selon les types d'échantillons.

La lecture colonne par colonne permet, quant à elle, de suivre l'évolution des facteurs de transfert dans la chaîne alimentaire. On remarque que ce sont généralement les espèces occupant les échelons trophiques inférieurs qui présentent l'accumulation la plus forte. Cette constatation est en bon accord avec les résultats obtenus par la plupart des auteurs en ce qui concerne l'accumulation des métaux lourds (59 p. 258 à 266). L'évolution n'est cependant pas toujours très nette et des contradictions apparaissent qui peuvent être attribuées éventuellement, soit à une accumulation particulière du métal pour certaines espèces, soit à l'ambiguïté qui existe pour situer certains animaux par rapport à d'autres dans la chaîne trophique. On peut citer en exemple le classement des crabes par rapport à la morue qui peut s'effectuer de deux façons différentes selon que l'on considère que le poisson se nourrit de ces crustacés (voir paragraphe E), ou selon que l'on considère que le crabe se nourrit de matières détritiques provenant éventuellement de la décomposition des poissons morts.

H) CONCLUSIONS

Globalement, les résultats obtenus dans la zone étudiée sont du même ordre de grandeur que ceux relevés dans la bibliographie. Quelques divergences apparaissent pour certains des métaux. Du fait des différences entre les techniques de préparation et d'analyse mises en oeuvre, il est difficile de faire la part des choses et de dire si les quelques écarts observés ont pour origine ou non une accumulation métallique différente selon les zones.

La comparaison avec les tables alimentaires pour les teneurs des espèces consommées par l'homme, essentiellement crevettes et filets de morue, ne montre pas d'accumulations métalliques anormales pour les échantillons provenant de la zone étudiée : les concentrations relevées dans les crevettes sont de l'ordre de grandeur attendu, celles mesurées dans les filets apparaissent même inférieures à celles mentionnées dans les tables.

D'autre part, on peut relever que les vers marins, et en particulier les magelônes apparaissent comme d'excellents indicateurs de la présence de métaux dans la zone. A part Ca, élément de constitution normal des êtres vivants, c'est Fe qui apparaît comme l'élément métallique se concentrant de la façon la plus marquée dans ces animaux, les autres métaux se comportant différemment selon les espèces.

Enfin, la comparaison des facteurs de transfert pour chaque espèce montre que :

- Ca présente les facteurs de transfert les plus élevés, suivi généralement par Fe et Zn. Le classement de Cu, Pb et Cd est variable selon les espèces.

- l'accumulation métallique a globalement tendance à diminuer au fur et à mesure qu'on avance vers les échelons trophiques supérieurs, cette constatation étant en parfait accord avec les résultats obtenus en général par la plupart des auteurs.

III) ANALYSE DES FOIES ET ENCEPHALES DE MORUE

Si la mesure des concentrations dans le filet de morue présente le plus grand intérêt du fait de sa consommation par l'homme, nous avons pensé qu'il serait également intéressant d'évaluer l'accumulation métallique dans d'autres organes du poisson tels que foie et encéphale. La mesure des niveaux pour ces deux organes nous a permis de les situer par rapport aux filets, des comparaisons avec la bibliographie pouvant être établies en ce qui concerne les foies.

A) FOIES

Le tableau n° VII (voir Annexe) rassemble les concentrations mesurées dans quelques-uns des foies de morue étudiés.

On observe là encore une dispersion assez large des résultats mise en évidence dans le tableau n° 58 :

Elément	C mini	C maxi	C moyenne	F.T. moyen
Ca	155	303	232	600
Fe	10,5	22	18	160
Zn	18,5	50	36	800
Cu	2,8	15,5	9,7	1 600
Pb	0,13	0,55	0,38	50
Cd	0,04	0,44	0,20	290

TABLEAU N° 58

Le cuivre présente le facteur de transfert moyen le plus élevé, dépassant même celui du calcium et du zinc.

La comparaison avec la bibliographie a pu être réalisée à propos de résultats analogues obtenus avec des morues pêchées en Mer du Nord (82 p. 52-54) : (Cf. Tableau n° 59).

Nbre d'échantillons	Zn	Cu	Pb	Cd
2	30	13	17	0,08
80	21	3,4	0,2	0,09

TABLEAU N° 59

On observe, comme pour les filets, une bonne concordance entre les résultats trouvés pour la zone étudiée et ceux relevés dans la bibliographie.



Seul diverge d'un facteur voisin de 45 un résultat concernant Pb.

La comparaison avec les résultats obtenus pour les filets montre que si Fe, Zn, Cu et Cd s'accumulent préférentiellement dans les foies, c'est l'inverse qui se produit pour Pb. Par contre, le calcium se répartit de façon équivalente entre foies et filets. L'ensemble des observations notées ci-dessus est résumé dans le tableau n° 60 où R représente le rapport des concentrations moyennes foies/filets :

Elément	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
R	1	1,4	3,3	16	0,6	2,5

TABLEAU N° 60

Les calculs de "R" à partir de la bibliographie (82 p. 52-54) donnent des résultats comparables comme le montre le tableau n° 61.

Elément	Zn	Cu	Pb	Cd
R (82)p 52)	2,9	6,5	2,8	2
R (82)p 54)	4,8	7,6	0,6	2,2

TABLEAU N° 61

Comme pour foies et filets, seul diverge le résultat concernant Pb calculé à partir de la référence bibliographique (82 p. 52).

B) ENCEPHALES

Huit échantillons ont pu être analysés.

Les concentrations portées au tableau n° VIII (voir Annexe) sont exprimées en p.p.m. par rapport à l'état standard humide.

On remarque une dispersion des résultats comparable à celle relevée dans foies et filets et mise en évidence dans le tableau n° 62.

Elément	C mini	C maxi	C moyenne	F.T. moyen
Ca	55	870	230	600
Fe	18	97	34	300
Zn	7	17	12	260
Cu	1,3	6	3,1	520
Pb	0,3	0,7	0,42	60
Cd	0,22	0,11	0,14	200

TABLEAU N° 62

Mis à part Ca, c'est le cuivre qui présente le facteur de transfert le plus élevé. Fe s'accumule également de façon appréciable dans les encéphales, et présente un F.T. supérieur à celui du Zn.

C) DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Le tableau n° 63 rend compte de la répartition des métaux dans les trois organes de la morue étudiés. Les différents rapports qui y figurent sont définis de la façon suivante :

R = rapport des C moyennes encéphales/filets

R' = rapport des C moyennes encéphales/foies

Elément	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
R	1	2,6	1	5,2	0,7	1,75
R'	1	1,9	0,7	0,3	1,1	0,7

TABLEAU N° 63

On relève que Ca se répartit de façon équivalente dans les trois organes, de même que Zn dans filets et encéphales. Par contre Fe s'accumule préférentiellement dans les encéphales, tandis que les concentrations en Cu, Pb et Cd se situent dans une position moyenne entre celles des foies et des filets.

Les remarques ci-dessus peuvent être résumées dans le tableau n° 64 ci-dessous :

Elément	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
Organe le moins concentré	C moyennes sensible- ment équivalen- tes	Filet	Filet et encé- phale	Filet	Foie	Filet
↓		Foie		Encéphale	Encéphale	Encéphale
Organe le plus concentré		Encéphale	Foie	Foie	Foie	Filet

TABLEAU N° 64

La comparaison des facteurs de transfert des trois organes de la morue est réalisée dans le tableau n° 65 :

Organe	Filet	Foie	Encéphale
F.T. le plus élevé	Ca	Cu	Ca
↓	Zn	Zn	Cu
	Fe	Ca	Fe
	Cd	Cd	Zn
	Cu	Fe	Cd
F.T. le plus faible	Pb	Pb	Pb

TABLEAU N° 65

Dans ce classement et parmi les métaux lourds, le zinc apparaît comme l'élément métallique présentant l'accumulation la plus importante dans les filets, alors que c'est le cas du cuivre dans foies et encéphales. Par contre, le plomb présente le F.T. le plus faible pour les trois organes.

IV) ANALYSE D'ECHANTILLONS DIVERS

NOUS donnons ci-dessous, pour mémoire, les résultats concernant divers organes de poissons que nous avons eu l'occasion d'analyser :

Elément Organe	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
Coeur	64	41	15	0,23	0,068	0,020
Branchie	20 000	91	43	0,19	2,02	0,140

MORUE

TABLEAU N° 66



Elément Organe	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
Filet	1 500	17	19	0,20	0,53	0,37
Foie	400	40	32	1,8		
Estomac	5 200	46	41	0,88	0,42	0,19
Peau	47 000	200	31	2,24	0,15	0,31

LIMANDE TABLEAU N° 67

Elément Organe	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
Filet	320	11	8	0,14	0,15	0,04
Foie	227	132	31	0,15	1,77	0,08
Rate	1 200	350	48	6,5	1,82	0,19

FLET TABLEAU N° 68

Elément Organe	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
Ovaire	275	42	31	0,13	0,30	0,07

LIPARIS TABLEAU N° 69

Le nombre restreint d'analyses effectuées sur ces échantillons ne présente pas de valeur significative et de ce fait exclut pratiquement toute exploitation.

On remarque cependant que les niveaux mesurés dans les filets, foies et estomac de limande et de flet sont en général du même ordre de grandeur que les résultats obtenus avec des échantillons analogues analysés pour les morues (voir Tableaux n° 53-54 et 58).

ETUDE DES NECROSES ET DES NODULES DE MORUES

EN RELATION AVEC LEURS TENEURS METALLIQUES

I) INTRODUCTION

L'étude récente réalisée par AUBERT et collaborateurs (97) sur l'extension géographique et l'origine des nécroses des poissons du littoral méditerranéen montre que les phénomènes nécrotiques observés se manifestent chez des espèces pélagiques variées, relativement sédentaires, vivant dans des fonds n'excédant pas 30 mètres, dans des eaux riches en pollutions organiques ou industrielles. D'autre part, les lésions tégumentaires observées, essentiellement ulcéro-nécrotiques, sont parfois hémorragiques et parasitaires, indiquant que l'étiologie de ces maladies peut être variée.

La synthèse des différents travaux relevés dans la bibliographie permet de classer les lésions externes en deux catégories, selon que leur étiologie est connue ou inconnue. (88)

LES LÉSIONS D'ORIGINE CONNUE

Elles sont plus ou moins caractéristiques de l'agent pathogène qui les engendre et peuvent être classées en fonction de l'origine de celui-ci :

1) Origine virale :

C'est le cas de la lymphocistis qui affecte particulièrement les poissons plats. Cette maladie n'est pas létale mais provoque des excroissances ou des taches sur n'importe quelle partie du corps du poisson (25, 30, 56).

2) Origine bactérienne :

Les maladies bactériennes les plus caractéristiques sont la vibriose (22, 35), la furunculose (6, 12, 16, 34), la septicémie hémorragique (34). On peut également citer la maladie "columnaris" (26) et la maladie du rein des poissons (26). L'agression bactérienne se manifeste à un stade ou à un autre de la maladie par une ulcération dermique présentant diverses formes (ecchymoses, ulcères, vésicules, taches, ampoules, escarres) accompagnées ou non de manifestations hémorragiques.

3) Origine fongique :

L'infection fongale est très rarement mortelle et ne relève, dans la plupart des cas, que d'un processus de contamination secondaire sur des plaies ou des ulcérations préexistantes (25, 56).

4) Origines diverses :

Certaines classes de l'embranchement des protozoaires provoquent l'apparition de nécroses dermiques ou branchiales favorisant ainsi l'installation d'infections bactériennes secondaires (25, 56).

Enfin, il faut noter également que des lésions peuvent être provoquées par effet mécanique (érosion du tégument en relation avec la turbidité de l'eau, blessures occasionnées par les filets de pêche) ou par des agents chimiques (effluents acides, rejets de pesticides, etc...). Ces lésions, quand elles ne sont pas mortelles, offrent un terrain particulièrement propice à l'installation d'un foyer infectieux (30, 56).

LES LESIONS D'ORIGINE INCONNUE

Par opposition avec les précédentes caractérisées par des symptômes assez nets, ces maladies sont dites atypiques et sont en fait rencontrées le plus souvent.

De nombreux auteurs les ont étudiées et ont recherché, sans grand succès, à mettre en évidence une cause pathogène. C'est le cas notamment de la nécrose dermique ulcéralive (U.D.N.), d'étiologie encore inconnue, mais dont on pressent comme possible l'origine virale. Cette maladie oedémateuse forme dans les stades précoces, des cavités remplies de liquide dans l'épiderme ou la jonction dermoépithéliale (71), qui, par rupture externe, deviennent ulcéreuses. Les ulcères formés sont alors le siège d'une infection bactérienne ou fongique secondaire. Cette maladie semble assez spécifique des salmonidés et demeure inconnue chez les autres poissons (24, 33, 71, 72, 81). Une autre maladie couramment décrite dans la bibliographie affecte diverses espèces de poissons.

Elle est nommée "FINT ROT DISEASE" ou "PEDUNCLE DISEASE", le vocable employé décrivant bien les symptômes observés, qui se manifestent par une ulcération nécrotique des nageoires dorsales, pectorales et caudales, pouvant entraîner leur complète disparition. L'agent pathogène responsable, s'il en est un, n'est pas à l'heure actuelle déterminé. Il semble par contre que l'érosion des nageoires affecte souvent des poissons en mauvaise santé et notamment des individus porteurs de nécroses cutanées et de kystes de lymphocistis (30, 38, 43, 55).

Différentes travaux font état de la relation qui semble lier l'apparition des lésions à la mauvaise qualité du milieu marin, notamment aux paramètres tels que la turbidité, la D.B.O., et le taux de matières organiques de l'eau de mer (38, 65, 74). Cependant aucune relation nette de cause à effet n'a été démontrée entre la présence des nécroses et la dégradation des milieux côtiers ou estuariens liée à leur charge en polluants organiques ou métalliques (30, 38, 63, 64, 65, 74, 84).

L'étude des nécroses affectant certaines espèces de poissons du littoral Nord - Pas-de-Calais, en relation avec leurs teneurs métalliques, a fait l'objet d'un certain nombre de travaux (93, 94, 95). Il en ressort que les lésions externes sont souvent accompagnées de la présence de nodules au niveau des organes internes tels que le foie et la rate, la corrélation n'étant cependant pas systématiquement observée. D'autre part, l'étude histologique des nécroses révèle l'existence d'un état inflammatoire et l'examen de coupes de nécroses et de nodules effectué à la microsonde de Castaing montre la présence certaine de zones d'accumulation de métaux. Il faut noter cependant que les teneurs globales en éléments métalliques entre poissons sains et poissons malades ne se différencient pas de façon significative.

Sur la base de ces informations essentiellement qualitatives, nous avons abordé le problème sous l'angle de l'analyse quantitative, d'une part en déterminant les niveaux métalliques présents dans les filets nécrosés, les foies noduleux et les nodules de morues et en les comparant aux valeurs des tissus sains et des tissus avoisinants, d'autre part en reliant les résultats obtenus aux observations effectuées parallèlement à la microsonde de Castaing de quelques échantillons représentatifs. [*]

Dans un premier paragraphe, nous donnons quelques informations relatives aux nécroses cutanées de morues, pour lesquelles nous nous sommes limités à l'étude microscopique et à la comparaison des teneurs globales entre les filets sains et les filets nécrosés.

Nous abordons ensuite l'étude des nodules hépatiques de morues qui ont plus particulièrement retenu notre attention. L'analyse quantitative menée à leur propos complète l'examen microscopique et l'interprétation globale qui en est faite a pour but de préciser les mécanismes de l'accumulation métallique susceptible d'être rencontrée.

(*) Les études à la microsonde de CASTAING ont été effectuées en collaboration avec Monsieur LE MAGUER.

II) ETUDE DES NECROSES CUTANÉES DE MORUES

1) Description macroscopique :

Les nécroses sont portées par des poissons de nombreuses espèces, les pleuronectidés et la morue étant principalement touchés.

Elles se présentent comme des ulcères de forme et de taille variables, le plus souvent arrondis, et l'on peut, semble-t-il, relier leurs différents types de conformation à l'état d'avancement de la lésion. Les nécroses ont toujours un centre ulcéré plus ou moins étendu, laissant apparaître un tissu rouge fortement hémorragique. Tout autour, s'étend une zone où le tégument apparaît ou non modifié, mais qui présente des signes d'inflammation et d'hémorragie. Toutes les parties du corps du poisson peuvent être le siège de telles lésions, celles-ci s'observant seules ou en groupe, sans disposition préférentielle.

L'étude histologique (93), montre que les nécroses cutanées présentent tous les caractères des lésions inflammatoires chroniques, par le fait qu'il existe une réponse inflammatoire persistante à une nécrose tissulaire importante, pouvant engendrer une tentative de cicatrisation.

2) Analyse microscopique (Cf. Planche n° 1 en Annexe)

Nous n'avons pas cherché à effectuer une analyse quantitative à la microsonde en raison des difficultés d'analyse inhérentes aux types d'échantillons. Seule l'analyse qualitative a été entreprise, elle constitue une première approche du problème par comparaison de divers échantillons de nécroses et de tissus sains.

Une première série d'essais a été menée sur des nécroses d'origines diverses, congelées puis lyophilisées, dans le but de mettre en évidence les éléments métalliques éventuellement présents.

Nous avons ainsi pu déceler la présence d'une grande variété de métaux, indépendamment des éléments habituellement détectés dans ce type d'échantillon (P, Cl, O, N, S) à savoir : Mg, Al, K, Ca, Fe, Ti, Zn, Si. D'autres tels que Cr, Mn et Ni ne sont observés qu'occasionnellement. Tous les métaux se répartissent dans les nécroses de façon assez régulière, mais aucun ne présente d'accumulation préférentielle, puisque dans des zones de concentration notable ,

lorsqu'un élément est présent, tous les autres sont détectés au voisinage immédiat, formant ainsi des amas. Ces amas, s'étendant au maximum sur quelques centaines de microns carrés, peuvent être très nombreux au sein d'une nécrose.

La présence simultanée dans les amas des éléments métalliques nous amène à formuler quelques remarques relatives à leurs associations et aux formes chimiques qu'ils peuvent présenter :

- le titane est distribué sous forme de petits "grains" à forte concentration. Il n'est cependant pas possible d'en préciser la ou les formes chimiques ;

- Fe, Al, Ca, K, Si, Mg sont généralement associés, probablement sous forme de silicates complexes et hétérogènes ;

- une partie importante du fer apparaît comme non alliée au silicium sous forme de silicate, sans qu'il soit possible par ailleurs de définir cette forme, bien qu'on le trouve le plus souvent associé au zinc ;

- des accumulations assez diffuses de calcium sont détectées, qui correspondent à des zones de calcification assez importantes de la lésion.

L'examen des coupes de nécroses d'une épaisseur de 7 μm apporte quelques informations supplémentaires au plan de la localisation des amas métalliques précédemment décrits.

C'est au niveau des zones qui correspondent à la phase granulomateuse d'évolution de la nécrose qu'on enregistre les plus fortes concentrations métalliques. On n'observe plus, à ce niveau, de larges plages plus ou moins diffuses, mais au contraire, les métaux sont condensés en amas assez denses où dominent Ca, S, K. On y trouve également Fe, Zn, Ti, Al, Si, P, le cuivre étant plus rarement détecté.

3) Comparaison des niveaux métalliques entre filets sains et nécrosés :

Nous avons prélevé et analysé les filets de quelques morues nécrosées. Ces résultats de dosages sont donnés au tableau n° IX (Cf. Annexe). Dans le tableau n° 70, nous avons reporté les valeurs moyennes des concentrations dosées dans les filets nécrosés et les filets sains ainsi que les niveaux extrêmes qu'on y relève. Les concentrations sont exprimées en p.p.m. relativement à l'état standard humide.

	Métaux	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
FILETS SAINS	Moyenne	106	13	11	0,60	0,60	0,08
	Mini	49	3,4	7,2	0,38	0,20	0,01
	Maxi	188	16,6	16,3	0,76	0,87	0,17
FILETS NECROSES	Moyenne	124	10,7	9,7	0,60	0,53	0,09
	Mini	54	3	7,2	0,34	0,38	0,01
	Maxi	190	16,1	16	0,80	0,80	0,14

TABLEAU N° 70

La comparaison des niveaux des filets sains et nécrosés montrent que ceux-ci sont du même ordre de grandeur et que la dispersion qui affecte les concentrations est pratiquement la même. Au vu des teneurs globales, il n'existe pas d'accumulation préférentielle de certains métaux dans les filets nécrosés et les différences faibles entre les concentrations moyennes présentes dans les tissus sains et nécrosés n'apparaissent pas significatives en regard de la dispersion des résultats et de l'erreur analytique.

Ces remarques sont en accord avec les conclusions de différents auteurs relevées dans la bibliographie (65, 82).

Nous n'avons pas entrepris l'analyse quantitative des nécroses elles-mêmes pour obtenir la confirmation de l'accumulation métallique observée par microsonde. Pour mener à bien cette partie de l'étude, il est nécessaire de ne prélever que la partie nécrosée du tégument entraînant de ce fait une prise d'échantillon de faible masse, qui, compte-tenu des teneurs habituellement rencontrées dans les filets complets, pose au cours de l'analyse de sérieux problèmes de dosages liés à la sensibilité et à la limite de détection de l'instrument d'analyse.

4) Conclusion :

Si les teneurs globales en éléments métalliques présents dans les filets de morues nécrosées ne se différencient pas de manière significative des niveaux métalliques des filets de morues saines, l'examen à la microsonde de Castaing des nécroses elles-mêmes, démontre l'existence d'un phénomène d'accumulation métallique très localisé.

Ceci n'est nullement contradictoire puisqu'on ne peut espérer voir coïncider les résultats d'analyse quantitative et les observations qualitatives qu'à condition de pouvoir doser uniquement le secteur lésé du tégument, procédure qui tient alors compte de la localisation du phénomène d'accumulation, ce dernier étant complètement masqué par la dilution dans la masse des échantillons quand on dose la partie nécrosée du filet ou sa totalité.

III) ETUDE DES NODULES HEPATIQUES DE MORUES

Si nous avons personnellement constaté à de nombreuses reprises que l'existence de nécroses chez une morue s'accompagnait souvent de la présence de nodules au niveau du foie, cette association n'est pas toujours observée (93, 94, 95).

Les nodules hépatiques sont généralement de forme sphérique, de couleur blanchâtre et leur taille varie entre moins de 1 mm à quelques millimètres. Ils peuvent être isolés ou regroupés en "grappes", le tissu hépatique qui les entoure apparaissant sain, sans trace de nécrose ou d'hémorragie. S'ils sont visibles à la surface du foie, on les trouve également en profondeur, à l'intérieur de l'organe, quand on découpe celui-ci.

SMIGIELSKI (93), dans son étude histologique, montre que les nodules sont constitués d'une enveloppe externe formant un tissu scléreux. Celui-ci isole l'intérieur du nodule du parenchyme hépatique et réalise un enkystement. Le centre du nodule est constitué d'éléments cellulaires nécrosés et on peut trouver dans des nodules de taille importante plusieurs foyers de nécroses contiguës.

Nous avons, dans un premier temps, comparé les niveaux métalliques des foies noduleux entiers et des foies sains, avant de nous intéresser plus particulièrement aux nodules eux-mêmes.

A la suite de l'examen microscopique, nous avons mis en oeuvre l'analyse quantitative de façon à corroborer les observations qualitatives et les compléter.

Les résultats obtenus ont été interprétés en relation avec le poids, la taille et le degré d'hydratation des nodules et nous ont amenés à préciser davantage le processus d'accumulation métallique.

1) Comparaison des niveaux métalliques entre foies sains et foies noduleux

Le tableau X (Cf. Annexe) rassemble les résultats de dosages effectués sur 12 foies noduleux. Le manganèse complète la liste des métaux analysés, celui-ci pouvant présenter un certain intérêt en raison de son accumulation possible dans le foie.

Nous donnons dans le tableau n° 71 les niveaux moyens et extrêmes déterminés à partir des résultats précédents, qui sont à comparer avec ceux des foies sains, les concentrations en ppm étant relatives à l'état standard humide.

	Métaux	Ca	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd
FOIES SAINS	Moyenne	232	17,6	36	9,7	1,19	0,38	0,20
	Mini	155	10,5	18,5	2,8	0,67	0,13	0,04
	Maxi	303	21,7	49,6	15,5	2,39	0,55	0,44
FOIES NODULEUX	Moyenne	292	31,2	35,6	9,5	1,00	0,34	0,14
	Mini	155	13,8	23,6	2,8	0,69	0,16	0,04
	Maxi	705	104,2	49,6	15,5	1,42	0,55	0,44

TABLEAU N° 71

La comparaison des teneurs globales entre foies sains et noduleux montre que si le fer et le calcium apparaissent plus concentrés dans les foies noduleux les autres éléments ne montrent pas d'accumulation préférentielle en relation avec l'état du foie, les concentrations rencontrées ne se différenciant pas de manière significative. La dispersion qui affecte les niveaux moyens apparaît elle aussi du même ordre quel que soit le type de foie (noduleux ou non).

Au vu des teneurs globales, il semble que l'on se trouve confronté au même problème que celui signalé pour les nécroses, à savoir qu'on ne peut espérer mettre en évidence une accumulation métallique éventuelle au sein des nodules qu'en les isolant du tissu hépatique environnant.

2) Analyse microscopique (Cf. Planche n° 2 en Annexe)

Nous avons mis en évidence dans des nodules congelés puis lyophilisés la présence d'une grande variété d'éléments : C, N, O, Mg, Al, Si, P, S, Cl, Ca, K, Ni, Ti, Cr, Fe, Cu, Zn.

La présence de certains d'entr'eux que l'on pourrait qualifier "d'étrangers" à ce type d'échantillon permet de penser que leur origine est endogène, celle-ci ne pouvant, comme pour les nécroses, être en relation avec une ulcération externe.

On ne peut cependant pas considérer les nodules comme de simples "concrétions" métalliques, puisque le tissu organique d'origine est encore visible sur les coupes. Il est plus vraisemblable de parler "d'agglomérats", présentant le même aspect général, mais caractérisés par 2 grands types de distribution métallique.

Dans les petits nodules, qu'on peut supposer en cours de développement, les métaux se répartissent de façon relativement régulière, sans qu'on puisse mettre en évidence une répartition préférentielle.

Dans les gros nodules, par contre, les métaux apparaissent concentrés dans des zones formant des "pavés" séparés par des "veines" où la concentration est moindre (Cf. Planche n° 2). Dans les "pavés", on observe selon l'élément, une répartition métallique régulière ou des zones de surconcentrations, ou encore des "grains" à forte densité généralement localisés en bordure des pavés. C'est ainsi que :

- le fer apparaît distribué régulièrement avec des "grains" à forte concentration. Il n'est pas sous forme de silicate ;
- Ca est distribué à peu près régulièrement sans zone de surconcentration ;
- Si est présent à peu près partout dans le nodule et l'on observe des zones de surconcentration ainsi qu'une nette augmentation de sa teneur à la périphérie du nodule ;
- P, S, K se répartissent de façon assez homogène ;
- Enfin, Ti, Cr, Ni, Cu et Zn s'observent en "grains" à forte concentration.

En ce qui concerne les "veines" de très faible concentration métallique, l'absence de détection de C et O peut être reliée à un manque de matière important à ce niveau.

L'ensemble de ces observations ne permet pas de préciser sous quelles formes chimiques se trouvent les éléments métalliques. On peut noter, pour les échantillons examinés, que c'est le fer qui semble le plus concentré, suivi par ordre décroissant de Ti, Cu, Cr et Zn, ce dernier métal apparaissant moins fréquemment que dans les nécroses.

Si l'étude microscopique de quelques nodules a permis de mettre en évidence une accumulation métallique, la question reste posée de savoir comment elle s'effectue au cours du développement des nodules. C'est par l'analyse quantitative mise en oeuvre ultérieurement que nous essaierons d'apporter quelques éléments de réponses.

3) Analyse quantitative

a) Méthode de minéralisation

Si la récupération des nodules dans les foies noduleux ne pose pas de problème particulier en dehors des risques de contamination métallique possible par les instruments employés, il n'en est pas de même en ce qui concerne les étapes de minéralisation et de mise en solution qui doivent répondre à certains impératifs spécifiques au type d'échantillon traité, impératifs venant s'ajouter à ceux déjà évoqués au chapitre I.

Compte-tenu des teneurs susceptibles d'être rencontrées au sein d'échantillons d'aussi faible masse (de l'ordre du milligramme à quelques dizaines de mg), il est nécessaire de ne pas descendre sous un seuil correspondant pratiquement aux limites de détection de l'instrument d'analyse.

D'autre part, étant pratiquement amenés à doser des traces métalliques, il nous a semblé essentiel d'éviter au maximum, lors de la mise en solution, les manipulations intermédiaires et, lors de l'analyse, les dilutions répétées pour restreindre le plus possible la contamination par les métaux exogènes.

Ceci nous a fait exclure d'emblée les méthodes de minéralisation par voie sèche en raison surtout de la contamination éventuelle par le four et des pertes possibles par volatilisation.

Nous ne détaillerons pas les nombreux essais qui nous ont conduits à mettre au point une microméthode de DENIGES qui a été, par la suite, systématiquement utilisée. Suite à des tentatives infructueuses de dosage d'un seul nodule de grosseur moyenne ou de quelques petits nodules, nous avons fixé des limites minimales à la masse de la prise d'essai et maximales pour le volume de la solution finale d'attaque, limites au-delà desquelles l'analyse présente une bonne fiabilité. C'est ainsi que nous avons, pour la suite, fait en sorte que la solution finale d'un volume de 25 ml corresponde à l'attaque d'au moins 20 mg de petits nodules ou 50 mg de gros nodules, à l'état standard humide.

La microméthode que nous avons mise en oeuvre est calquée sur la méthode de DENIGES décrite précédemment au chapitre I.

La verrerie employée est préalablement lavée plusieurs fois à l'eau régale bouillante, puis mise à tremper au moins 24 heures dans de l'eau bidistillée, enfin rincée.

Les acides employés sont de qualité "ULTRAPUR".

Après pesée des nodules humides ou séchés à l'étuve à 80°C pendant 24 heures, ceux-ci sont introduits dans une fiole jaugée de 25 ml. On y ajoute 3 ml d'acide nitrique et on porte à ébullition jusqu'à dissolution totale des nodules et évaporation d'au moins la moitié de l'acide. Après refroidissement, on introduit 200 µl d'acide sulfurique et on porte à nouveau à ébullition jusqu'à noircissement de la solution et émission de vapeurs blanches. On ajoute alors goutte à goutte entre 1 et 2 ml d'acide nitrique, jusqu'à ce que la solution apparaisse jaune clair ou incolore. Après refroidissement et addition de 2 ml d'eau on porte à nouveau à ébullition jusqu'à émission de fumées blanches. On répète cette opération une nouvelle fois et on amène finalement la solution à 25 ml. Parallèlement à cette procédure, on mène un blanc de minéralisation en utilisant les mêmes quantités de réactifs, ce blanc permettra au cours de l'analyse d'apprécier la charge éventuelle provenant des réactifs.

b) Résultats

a) Mise en évidence quantitative de l'accumulation métallique au sein des nodules

Une première série d'essais a été conduite dans le but de comparer les teneurs métalliques présentes dans les nodules et les foies qui les contiennent.

La comparaison est effectuée sur la base des concentrations ramenées à l'état sec standard, les échantillons de nodules ayant été constitués sans tenir compte de la taille et du poids des différents nodules.

L'ensemble des résultats présenté au tableau n° 72, montre que globalement les nodules apparaissent plus concentrés que les foies, les premiers étant le siège d'une accumulation métallique, plus ou moins préférentielle, les niveaux atteints étant très variables. Il ne semble pas, par ailleurs, exister de relation entre les concentrations des divers éléments.

N°	ECHANTILLONS	Ca	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd
1	FOIE	349	35,7	71,3	18,4	1,93	0,67	0,46
	NODULES	748	58,0	256	26,7	1,82	4,6	1,2
2	FOIE	314	33,7	84,7	24	1,8	0,61	0,15
	NODULES	1271	85,0	582	106	1,95	11,44	1,2
3	FOIE	335	24,1	42,7	4,9	2,07	0,45	0,26
	NODULES	1090	273	420	13,7	3,45	8,64	2,7
4	FOIE	259	28,0	69,4	17,7	1,16	0,65	0,19
	NODULES	315	105	221	30,9	1,18	7,35	0,6
5	FOIE	513	41,3	79	18	2,02	0,88	0,17
	NODULES	24540	98,2	191,8	30,7	6,75	12	2,08
6	FOIE	423	78,9	87,4	34,4	2,59	0,67	0,25
	NODULES	2125	61,2	120	29	3,61	2,79	0,48

TABLEAU N° 72

Pour faciliter la comparaison et mieux apprécier l'accumulation métallique dans les nodules, nous avons calculé pour chaque groupe d'échantillons les coefficients d'accumulation en chaque élément, R, défini par :

$$R = \frac{(\quad) \text{ NODULE}}{(\quad) \text{ FOIE}}$$

Le tableau n° 73 regroupe les différentes valeurs prises par R.

R	Ca	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd
1	2,14	1,62	3,59	1,45	0,94	6,87	2,61
2	4,05	2,52	6,87	4,42	1,08	18,80	8
3	3,25	11,30	9,84	2,80	1,67	19,20	10,40
4	1,22	3,75	3,18	1,75	1,02	11,30	3,16
5	47,80	2,38	2,43	1,71	3,34	13,60	12,20
6	5,02	0,78	1,37	0,84	1,39	4,16	1,92

TABLEAU N° 73

On constate que pour chaque métal, les coefficients d'accumulation varient de manière importante, les écarts maxima enregistrés pour ces essais correspondant au calcium, les écarts minima au manganèse.

Pour le calcium, l'accumulation observée semble correspondre au phénomène de calcification observé précédemment à la microsonde et à l'examen de coupes de nodules au microscope photonique (93, 95). Si on exclut cet élément, qui n'est pas toxique, et dont l'origine peut être considérée comme naturelle, puisque résultant d'une réaction de défense de l'organe lésé, les autres éléments métalliques semblent s'individualiser assez nettement. Dans tous les échantillons de nodules, on observe que c'est le plomb qui s'accumule le plus, suivi par le cadmium et le zinc, ce qui permet de supposer que ces 3 métaux sont l'objet d'une accumulation quasi préférentielle. Suivent ensuite

et dans l'ordre le fer et le cuivre dont on peut considérer globalement l'accumulation comme moyenne. Un échantillon cependant constitue une exception (échantillon n° 6), le coefficient R étant pour celui-ci inférieur à 1. Enfin, le manganèse semble se démarquer des métaux précédents par son faible coefficient d'accumulation.

Ces premiers résultats et les remarques qui en découlent viennent confirmer et compléter les observations faites lors de l'étude à la microsonde. Ils mettent en évidence un classement des espèces métalliques réalisé à partir de leur accumulation au sein des nodules.

β) Relations entre les teneurs métalliques et les poids des nodules

Après isolement et séchage à l'étuve d'une trentaine de nodules présents dans un même foie, chacun d'entr'eux a été pesé à la microbalance électronique. Les nodules ont été regroupés en 4 lots caractérisés par des échantillons de poids secs sensiblement équivalents.

Dans le tableau n° 74 figurent le poids moyen des nodules constituant chaque prise d'essai d'analyse et les teneurs métalliques correspondantes ainsi que celles du foie dans lequel les nodules ont été prélevés. Les concentrations sont exprimées relativement à l'état sec standard.

LOT	NOMBRE DE NODULES	POIDS MOY-EN SEC mg	Ca	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd
a	12	0,92	3022	91	454	51,6	9,55	7,95	2,1
b	5	1,97	3650	80	254	65	9,1	-	2,6
c	3	3,87	5766	73,2	417	51,1	4,73	6,08	1,8
d	2	6,1	5815	51,2	348	38,9	4,91	5,53	1,7
7 : CONCENTRATION FOIE SEC			717	44,1	102,4	36,6	3,36	1,31	1,05

TABLEAU N° 74

Globalement et quelle que soit la masse des nodules, leurs niveaux métalliques sont supérieurs à ceux du foie. Nous distinguerons, comme précédemment, le calcium des autres métaux. Celui-ci voit sa concentration s'accroître avec le poids des nodules secs, sans qu'une relation simple entre ces paramètres semble exister. Par contre, les teneurs en Fe, Mn, Cd diminuent constamment en fonction de l'augmentation pondérale, tandis que Cu, Zn et Pb présentent en partie la même décroissance, celle-ci étant marquée au moins une fois pour chaque métal par un "accident".

De ces observations se dégage une "impression" qui peut constituer l'hypothèse de base relative au mode de développement des nodules. Il est permis de supposer que les concentrations des métaux toxiques sont les plus importantes dans les petits nodules et qu'elles ont tendance à diminuer au cours du grossissement de ceux-ci, grossissement qui semble lié à leur calcification. En fait, la charge métallique du nodule serait petit à petit "diluée" au cours de son développement, même si les phénomènes d'accumulation demeurent. Il ne faut cependant pas exclure le fait, qu'à un moment donné, elle puisse s'accroître brusquement, pour des raisons difficiles à définir mais qui pourraient être en relation avec un "apport" supplémentaire, transmis de l'extérieur par l'organisme, et qui justifieraient les "accidents" constatés dans la variation des teneurs métalliques en fonction de l'accroissement de poids du nodule.

Si l'on confronte à présent cette hypothèse aux observations faites au cours de l'étude à la microsonde, il faut admettre que la croissance du nodule s'accompagne d'une réorganisation interne qui engendre l'existence de zones d'accumulation métallique préférentielle à partir d'une distribution originelle à peu près régulière. Cette réorganisation se traduit par la création d'une topographie caractéristique de "pavés" séparés par des "veines", où l'on ne décèle pratiquement aucun élément.

γ) Relations entre les teneurs métalliques et la taille des nodules

Les résultats des essais précédents, relatifs à des échantillons séchés, s'ils permettent une comparaison dans l'absolu des niveaux métalliques, ne reflètent qu'en partie la réalité, ne faisant pas intervenir le degré d'humidité des différents échantillons. Or, nous avons constaté que les nodules voyaient leur taux d'humidité s'accroître de façon systématique avec leur taille. D'autre part, le caractère fastidieux des pesées individuelles d'un grand nombre de nodules, auquel s'ajoutent les risques non négligeables de contamination au cours des opérations, nous ont amenés à considérer la taille des nodules comme critère de sélection dans la constitution des différents

échantillons.

Nous avons opéré sur différents foies noduleux, qui, en fonction de leur état, nous ont permis, pour chacun d'eux, de rassembler jusqu'à 5 lots de nodules. Chaque lot (a, b, c, ...) est composé de nodules de taille moyenne équivalente et le nombre total recueilli par foie est compris entre 62 et 173 nodules.

Il faut noter ici que les concentrations étant définies cette fois relativement à l'état humide standard, nous avons pris soin de débarrasser au maximum les nodules des lambeaux de tissu hépatique et du liquide plus ou moins huileux qui les entourent parfois.

Les informations concernant l'état physique des lots de nodules et leurs niveaux calculés relativement à l'état humide standard sont regroupés dans le tableau n° 75. Nous y avons fait figurer, pour comparaison, les teneurs métalliques des foies humides correspondants.

D'une manière générale, il ne semble pas y avoir de relations liant l'état des foies à leurs niveaux métalliques globaux, ni à ceux des nodules qu'ils contiennent. Comme nous l'avons vu précédemment, quelle que soit la taille des nodules, ceux-ci sont le siège d'une accumulation métallique constante par rapport aux foies pour Ca, Pb, Cd, Zn et Cu, tandis que pour Mn et Fe surtout, il est des cas pour lesquels elle n'existe pas.

Les niveaux en calcium dans les nodules sont extrêmement variables et semblent indépendants de la concentration calcique du foie qui les contient.

On constate que le classement des autres métaux établi sur la base de leurs coefficients d'accumulation R (Cf. § b) α) est approximativement respecté.

Pb, Cd, Zn, apparaissent comme des éléments à accumulation préférentielle, le zinc étant celui qui se concentre le plus dans les foies 9, 10, et 11. Le cuivre conserve sa position moyenne au même titre que le manganèse, et c'est finalement le fer, qui, cette fois, se démarque nettement par le fait qu'on ne constate le plus souvent dans les différents échantillons, aucune accumulation (foies n° 9 et 11 notamment).

Si pour ce métal, on confronte les différents résultats analytiques et les observations microscopiques, certaines divergences semblent apparaître.

N°	LOT	taille mm	nombre nodule	poids moyen (*)	%HO / 2	Ca	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd
8	concentration foie humide					198	23,5	23,6	8,4	0,75	0,25	0,06
	a	> 5	5	41,2	55	3800	23,4	38,6	9,7	1,57	0,54	0,15
	b	3-4	7	22,7	47	3314	21,6	46,5	10,5	2,40	0,93	0,13
	c	2	14	12,1	45	3605	27,5	40,8	10,0	2,18	0,41	0,24
	d	2.1	17	6,9	37	3326	35,2	60,1	13,4	2,51	1,51	0,54
	e	< 1	44	1,96	30	3658	41,9	72,9	15,3	3,58	1,07	0,66
9	concentration foie humide					393	36,2	36,0	5,5	1,12	0,35	0,09
	a	23	6	12,2	60	7781	20,7	257	6,0	2,07	1,87	0,48
	b	12	20	4,8	50	6048	32,7	216	7,2	2,70	1,23	0,36
	c	< 1	36	2,2	4,1	8816	32,1	254	8,3	3,47	1,29	0,39
10	concentration foie humide					705	104,2	29,0	4,3	0,80	0,30	0,04
	a	≥ 5	8	31,1	62	582	48,0	102	5,4	0,40	0,55	0,10
	b	3.4	15	6,8	43	483	46,7	144,8	5,9	0,37	1,00	0,22
	c	2.3	30	3,6	41	724	75,4	201,7	9,2	0,67	1,20	0,21
	d	1.2	40	1,5	31	1240	102,3	308,0	12,2	1,04	1,90	0,38
	e	< 1	80	0,36	21	3364	179,2	695	15,3	2,29	5,40	1,07
11	concentration foie humide					412	27,3	28,9	10,4	0,91	0,16	0,07
	a	3.4	9	9,5	44	8943	18,9	253,8	10,4	2,27	0,96	0,30
	b	2	16	3,8	38	15114	19,5	322,7	10,9	3,44	1,06	0,35
	c	< 2	50	1,1	24	16215	24,3	358,4	17,4	5,01	1,43	0,44

TABLEAU N° 75



(x) Il s'agit du poids moyen d'un nodule du lot calculé en faisant le rapport de la masse totale du lot au nombre de nodules.

Nous avons vu que, globalement, les teneurs en fer étaient plus élevées dans les foies noduleux que dans les foies sains. Par ailleurs, cet élément ne montre pas d'accumulation notable dans les nodules, au vu de la comparaison faite entre les niveaux de ces derniers et des foies noduleux.

A ce propos, il faut noter que la comparaison entre nodules et foies entiers (nodules compris) a tendance à minimiser les écarts éventuels relativement à ceux observables si l'on comparait les niveaux par rapport au tissu hépatique sain, environnant les nodules. Ceci peut expliquer en partie la divergence apparemment observée entre les résultats d'analyse. On peut également formuler l'hypothèse selon laquelle la richesse naturelle du foie en fer fait que celui-ci n'est pas fixé de la même façon dans les nodules que les autres métaux, l'accumulation dans le foie noduleux étant répartie pour une grande part, dans l'ensemble du tissu hépatique, avec, dans les nodules, des zones de surconcentration très localisées, observables à la microsonde.

Si l'on se réfère maintenant à l'évolution des concentrations métalliques dosées dans un même lot en fonction de la taille moyenne des nodules de ce lot, on remarque tout d'abord que le phénomène de calcification précédemment mis en évidence n'apparaît plus de manière si nette (foie n° 8 et 9), il est même inversé pour les foies n° 10 et n° 11.

Cette inversion n'est pas explicable par la seule interférence des degrés d'hydratation qui vont croissants avec la taille des nodules et, de ce fait, ont tendance à diluer davantage la concentration de la matière sèche dans les gros nodules. Cela revient à dire que la croissance des nodules n'est pas systématiquement en relation avec un phénomène de calcification. Une étude plus approfondie s'avère, sur ce plan, nécessaire pour lever cette ambiguïté.

Pour l'ensemble des autres métaux, à l'exception de quelques "accidents" il est remarquable de noter la décroissance des niveaux métalliques avec l'augmentation de la taille des nodules. Il existe certes, entre les tailles intermédiaires, des exceptions, mais, quel que soit le métal, on assiste à une dilution des concentrations quand on passe des petits aux gros nodules.

L'étude des rapports de concentrations entre les différents métaux ne met pas en évidence de relation simple permettant de corréliser ceux-ci à la taille ou au poids moyen des nodules. Cette remarque reste cependant à confirmer, ce qui impose de traiter un nombre beaucoup plus important d'échantillons aux paramètres affinés, pour pouvoir obtenir une réelle signification.

Si l'on met en parallèle la décroissance observée dans les teneurs métalliques avec l'augmentation du degré d'hydratation des nodules, on peut effectivement parler de dilution. Ceci semble corroborer l'hypothèse que nous avons émise précédemment, à savoir que les teneurs métalliques sont, au stade du petit nodule, les plus fortes, celles-ci diminuant au cours de son développement, même si, à l'inverse, la charge métallique globale s'accroît. En fait, la dilution n'est qu'apparente, bien qu'il faille la considérer comme telle en regard de la variation des concentrations mesurées.

Si l'on tient compte des restrictions émises plus haut, concernant la corrélation entre le développement des nodules et un phénomène de calcification, il est difficile de préciser leur processus de croissance. On peut à la limite, mettre en parallèle le taux d'hydratation plus important des gros nodules et l'existence de "veines" caractérisant leur structure microscopique, celles-ci étant en fait la trace laissée par la déshydratation consécutive au traitement de préparation des échantillons en vue de l'examen microscopique.

IV) CONCLUSION

Si les différences que nous observons entre filets nécrosés et filets sains, foies noduleux et foies sains, ne sont pas globalement significatives d'une accumulation métallique au sein des tissus malades, l'analyse à la microsonde des nécroses isolées montre qu'elles sont le siège d'une concentration métallique certaine.

En ce qui concerne les nodules hépatiques, les analyses quantitatives complémentaires effectuées permettent de préciser les observations microscopiques et de les compléter.

Les nodules, indépendamment de leur taille, accumulent préférentiellement le zinc, le plomb et le cadmium, tandis que le cuivre et le manganèse s'y concentrent plus faiblement.

Le fer tend à se démarquer des autres éléments, puisque son accumulation dans les nodules n'est pas systématique, quand on compare leurs niveaux à ceux des foies noduleux dans leur entier. Il n'en demeure pas moins que, pour ces derniers, l'accumulation existe si l'on se réfère aux niveaux des foies sains et l'on peut émettre l'hypothèse que le fer est distribué dans l'ensemble du tissu hépatique, avec dans les nodules, des zones de surconcentration très lo-

calisées observables à la microsonde.

La teneur en calcium, qu'on peut relier à un phénomène de calcification, ne semble pas être systématiquement en rapport avec leur croissance. On assiste par contre à la dilution des autres métaux au cours du grossissement des nodules, ainsi qu'à une augmentation de leur degré d'hydratation. La dilution observée n'est qu'apparente, car si les concentrations diminuent durant le développement du nodule, sa charge métallique globale s'accroît.

Certaines ambiguïtés, qu'une étude plus poussée pourrait peut être lever, ne nous permettent pas de définir avec précision le mode de croissance des nodules, ni dans quelle mesure les métaux décelés interviennent dans le processus pathologique. Sur ce dernier point, l'intervention possible d'agents tels que pesticides, hydrocarbures, virus ou bactéries... est également envisageable mais se situe hors du cadre de ce travail.

RESUME ET CONCLUSIONS

RESUME ET CONCLUSIONS

Les problèmes relatifs à l'environnement et à l'évolution des milieux naturels ont retenu, ces dernières années, l'attention des chercheurs de toutes disciplines. La participation de chimistes aux travaux en cours ou en projet est une nécessité qu'on ne peut contester.

Les activités du laboratoire ont évolué dans ce sens, d'autant plus que des problèmes particuliers se posent au plan local sur le littoral Nord - Pas-de-Calais, où des cas de nécroses de poissons ont été signalés, susceptibles d'être en relation avec une pollution chimique.

Pour notre part, nous nous sommes intéressés aux problèmes de la détermination des concentrations métalliques dans les sédiments et les organismes marins.

Dans un premier temps, nous avons cherché à définir des procédures d'analyses chimiques adaptées aux divers types d'échantillons provenant du littoral Nord - Pas-de-Calais, tant sur le plan de l'échantillonnage au laboratoire que sur celui des méthodes chimiques de mise en solution et des techniques d'analyse proprement dites. Par la suite, nous discutons de la signification des informations recueillies.

Le choix des métaux étudiés s'est porté sur les éléments toxiques "courants", à savoir zinc, cuivre, plomb et cadmium, auxquels nous avons adjoint fer et titane, métaux considérés comme non toxiques mais qui font l'objet d'un apport important localisé dans ce secteur géographique.

Le cas des sédiments sableux nous est apparu comme le cas à traiter, car il correspond au type le plus représentatif de la zone littorale Nord - Pas-de-Calais. Nous avons cherché à dégager des critères chimiques d'appréciation qui tiennent compte du sédiment dans sa totalité, même si le plus souvent, on s'intéresse surtout aux fractions fines argileuses, les procédures analytiques les plus courantes en sédimentologie ayant été développées dans cette optique. Différentes techniques d'attaques chimiques ont été comparées sur la base des critères que sont rendement et reproductibilité de l'extraction. A ce propos, le broyage des échantillons à une granulométrie de 100 μ constitue un facteur favorable. Nous avons retenu l'attaque triacide dont la mise en

oeuvre est moins "gênante" que l'attaque fluorhydrique, mais de fiabilité comparable.

Les essais ont montré que "l'échantillonnage synthétique" réalisé à partir des fractions granulométriques préalablement séparées est très représentatif de l'ensemble du sédiment et confère à l'analyse d'une prise d'essai unique une grande signification, tandis que "l'échantillonnage multiple", effectué directement dans le prélèvement, entraîne une importante dispersion des résultats. La recombinaison théorique des niveaux des fractions granulométriques, dont le dosage permet en outre de juger de leurs participations aux niveaux globaux du sédiment, assure le contrôle de la validité de l'échantillonnage synthétique.

En conséquence, que ce soit pour une analyse sédimentaire ou pour l'étude de bilan de pollution, il nous semble préférable, pour déterminer les niveaux métalliques des sédiments sableux pauvres en fractions fines, de procéder à l'attaque chimique par la méthode triacide. Une prise d'essai unique est à réaliser par échantillonnage synthétique et broyage de chacune des fractions. Le broyage sera aussi fin que possible dans le cadre d'une analyse totale, de l'ordre de 100 μ pour une analyse de pollution, même si ce traitement peut amener à une évaluation par excès des concentrations, du fait de la mobilisation, lors de l'attaque, des métaux de constitution, inconvénient d'autant moins important s'il s'agit de mesures relatives.

Nous avons cherché à mettre en évidence des corrélations linéaires entre les paramètres physico-chimiques des sédiments (pertes au feu, teneurs en Al_2O_3 , CaO , SiO_2) et leurs niveaux métalliques.

La perte au feu à 1000 °C permet d'apprécier la composition des sédiments en leurs éléments constitutifs et la teneur en alumine est une variable corrélée avec un grand nombre de paramètres, y compris la perte au feu à 550°C qui est en relation avec la teneur en matières organiques.

Il est intéressant de noter que les sédiments de la zone portuaire étudiée sont comparables, en ce qui concerne leur constitution chimique, à ceux des côtes belges. Globalement et sur la base des corrélations alumine-niveaux métalliques, des différences apparaissent cependant entre ces deux zones : fer, cuivre et zinc atteignent des niveaux supérieurs dans le secteur français, l'inverse étant observé pour titane et manganèse. Ceci s'explique,

car c'est en fait une conséquence de l'impact de l'environnement propre à chaque secteur géographique et de l'influence que la structure des matériaux argileux présents dans les sédiments peut avoir sur leur pouvoir de capture, à laquelle s'ajoutent les phénomènes de transfert et de mobilisation au sein de la colonne d'eau.

Les deux types de corrélation alumine - éléments métalliques que nous avons mis en évidence au cours de cette étude, semblent refléter le comportement particulier de chaque métal en relation avec les phénomènes de complexation qui les lient avec la matière organique.

La recherche préalable de régressions linéaires liant les différents couples de variables constitue une approche d'un modèle traduisant les phénomènes observés, notamment au travers des corrélations avec l'alumine, et permettant la prévision des niveaux dans un secteur donné. L'existence d'autres corrélations, mises en évidence dans nos essais ou relevées dans la bibliographie, indique que les paramètres caractéristiques des sédiments ne sont pas indépendants. Ce fait doit être pris en considération pour l'élaboration du modèle, et la définition d'une fonction linéaire ou non, traduisant les contributions et les interactions des trois paramètres principaux que sont, à notre avis, la granulométrie, la teneur en alumine, le taux de matières organiques, devrait permettre d'affiner les résultats.

Pour l'étude des organismes vivants, nous avons retenu l'absorption atomique comme seule méthode d'analyse. Le traitement particulier de l'échantillon doit tenir compte à la fois des impératifs exigés par la méthode d'analyse mise en oeuvre, des caractéristiques des informations recherchées et de la nature propre de l'échantillon.

Les essais effectués avec les filets de morue et limités au calcium, fer, cuivre, zinc, plomb et cadmium ont permis de comparer les réponses des méthodes de DENIGES et TRIACIDE. Dans les deux cas, la destruction de la matière organique doit être la plus complète possible. Le zinc se distingue des autres métaux par un comportement particulier et le résultat de son analyse est pratiquement indépendant de la masse de la prise d'essai et de la méthode de minéralisation utilisée. Il n'en est pas de même pour les autres métaux, et,

avec des prises d'essai de masses les plus favorables (10 g), la méthode qui entraîne le moins de pertes pour fer, cuivre et cadmium est la méthode de DENIGES, les deux techniques de minéralisation étant équivalentes pour calcium, zinc et plomb.

La calcination au four à 450°C sans aide de minéralisation donne les meilleurs résultats pour la minéralisation par voie sèche. Le temps de calcination à retenir ne semble pas pouvoir être fixé à priori. Par contre, le critère de calcination à cendres blanches ou grises est meilleur puisqu'il tient compte du cas particulier présenté par chacun des types d'échantillons. Les temps optima ont été dans tous les cas compris entre 24 et 36 heures.

Les pertes de métaux pouvant fausser les dosages ne sont jamais exclues de manière absolue, malgré la température relativement basse.

Lorsque la maîtrise des techniques est acquise, les résultats donnés par l'une ou l'autre voie sont sensiblement équivalentes et la dispersion assez faible des résultats obtenus avec les méthodes de préparation des échantillons met en évidence la bonne fiabilité des techniques retenues.

Une classification a été effectuée permettant le choix de la méthode de minéralisation à retenir en fonction de la nature de l'échantillon.

L'application des méthodes a permis d'obtenir différentes informations sur les échantillons analysés. En ce qui concerne les filets de morue nécrosés, il faut mentionner l'hétérogénéité fortement marquée de la répartition des éléments métalliques. Le prélèvement d'une prise d'essai faite au hasard apparaît comme inadaptée pour fournir un prélèvement représentatif de l'échantillon en vue de l'analyse et de la détermination significative du niveau métallique global. Il semble nécessaire de multiplier les prises d'essai le long de chaque filet et la procédure de "reconstitution arithmétique" apparaît comme la méthode à retenir pour les échantillons volumineux. L'étude comparative des filets prélevés sur les morues "saines" et les morues nécrosées ne permet pas de montrer de différences significatives pour tous les métaux.

L'étude des différents organes de la morue montre que le calcium atteint des niveaux équivalents dans les filets, les foies et les encéphales, le fer s'accumulant de préférence dans ces derniers. Ceux-ci apparaissent d'ailleurs

dans une position moyenne entre foies et filets en ce qui concerne les concentrations en cuivre, plomb et cadmium. Les concentrations mesurées pour les crabes et les crevettes constituant l'essentiel des contenus stomacaux analysés correspondent bien, calcium mis à part, aux teneurs trouvées pour d'autres lots constitués d'individus récoltés à pied ou par chalutage.

En ce qui concerne la chaîne alimentaire, les résultats obtenus comparativement aux références ne montrent aucune accumulation anormale dans les échantillons, notamment en ce qui concerne les planctons. La détermination des facteurs de transfert et l'évolution des niveaux propre à la zone indiquent que l'accumulation métallique des différents maillons a tendance à diminuer lorsqu'on avance vers les échelons trophiques supérieurs. Les espèces consommées par l'homme (crevettes et morues) montrent des concentrations dans la norme vis-à-vis des tables alimentaires. Les essais indiquent l'accumulation préférentielle des métaux dans la partie non consommable des crevettes.

Les vers marins apparaissent comme des indicateurs possibles de la présence des métaux. Pour une zone de récolte géographiquement peu étendue, on relève des comportements différents selon les espèces. SABELLA apparaît comme particulièrement sensible au cadmium dont il serait indicateur privilégié, alors que celui du plomb serait plutôt les LANICES. Nous avons également retrouvé l'accumulation très nette du fer par les MAGELONES dont le rôle d'indicateur peut être étendu aux autres métaux, les MAGELONES retenant bien l'ensemble des métaux étudiés.

Diverses informations ont été obtenues à propos des nodules hépatiques de morue. Le fer présente un comportement différent de celui des autres éléments. Son accumulation dans les nodules n'est pas systématique, même si la comparaison foies entiers "sains"-foies entiers noduleux permet de la mettre en évidence dans les foies noduleux. A partir des résultats quantitatifs obtenus, on peut émettre l'hypothèse que le fer est distribué dans l'ensemble du tissu hépatique avec, dans les nodules, des zones de surconcentration localisées que nous avons pu observer par microsonde de CASTAING. Les analyses menées sur les autres métaux montrent que cadmium, plomb et zinc semblent se concentrer préférentiellement dans les nodules hépatiques par rapport au foie d'origine, ce phénomène étant moins marqué pour cuivre et manganèse.

Une hypothèse peut être proposée quant au développement des nodules. Tout se passe comme si les niveaux métalliques du petit nodule originel tendaient à diminuer malgré l'accumulation constatée au cours de la croissance (apport extérieur), mais ces niveaux restent supérieurs à ceux du tissu hépatique. Le grossissement du nodule s'accompagne d'une augmentation du taux "d'hydratation". Le niveau de calcium relié à un phénomène de calcification ne semble pas devoir dépendre systématiquement de la croissance.

Les observations microscopiques à la microsonde de CASTAING ont permis de corroborer les résultats des analyses quantitatives.

Enfin, si la comparaison foies entiers "sains"-foies entiers noduleux montre dans les seconds une accumulation significative à propos des seuls éléments calcium et fer, aucune différence notable ne peut être mise en évidence en ce qui concerne les autres métaux.

A la suite de cette étude, certaines ambiguïtés subsistent encore et il serait intéressant de préciser par une étude complémentaire le mode de croissance des modules et de pouvoir dire si et dans quelle mesure les métaux décalés interviennent à l'origine et dans le développement du processus pathologique. Notons à ce propos que l'intervention possible d'autres agents est à prendre en considération : pesticides, P.C.B., hydrocarbures, virus ou bactéries... dont l'étude ne s'incrirait pas dans le cadre de ce travail.

Si l'hétérogénéité de la répartition métallique au sein des filets de morues nécrosés est à notre avis établie, les résultats obtenus à propos des nodules et du rôle d'indicateurs des vers marins méritent d'être contrôlés sur un plus grand nombre de cas, ce qui permettrait de confirmer les tendances qui se dégagent de ce travail.

ANNEXE

REACTIFS UTILISES

QUALITE "POUR ANALYSES"

- Acide chlorhydrique à 38 % d = 1,19
- Acide nitrique à 65 % d = 1,38
- Acide perchlorique à 70 % d = 1,67
- Acide sulfurique à 95 % d = 1,83

QUALITE "ULTRA PUR"

- Acide chlorhydrique à 38 % d = 1,19
- Acide nitrique à 65 % d = 1,38
- Acide sulfurique à 95 % d = 1,83

ANALYSE DES SEDIMENTS

METHODE D'ATTAQUE TRIACIDE : MODE OPERATOIRE

L'échantillon pesé après séchage à 105° C est introduit dans un erlen de 500 cm³. Pour un poids d'environ 20 grammes de sédiment on ajoute 100 cm³ d'eau bidistillée, 75 cm³ d'acide chlorhydrique et 25 cm³ d'acide nitrique. On porte à douce ébullition au bain de sable pendant 2 H 30 après avoir couvert l'erlen d'un verre de montre pour éviter les projections et ne pas atteindre la siccité. On laisse refroidir et on introduit alors 100 cm³ d'acide perchlorique à 70 %. On porte à nouveau à ébullition pendant 2 heures. Durant l'opération, on constate un net blanchiment du sédiment et on règle la température de façon à éliminer au maximum l'acide perchlorique sans toutefois aller à sec. On laisse refroidir et on ajoute 50 cm³ d'eau au moins, selon la dilution finale désirée. Selon la granulométrie de la prise d'essai on filtre sur un verre fritté n° 4 ou n° 5 préalablement taré. Le résidu est séché 24 heures à 110° C et pesé. Il est constitué essentiellement de quartz et de la silice résultant de la décomposition des silicates. Le filtrat recueilli après filtration est amené à la dilution choisie, généralement 250 cm³.

Afin de restreindre au maximum les écarts dans les résultats liés aux variations de certains paramètres du mode opératoire (température, temps de contact), nous avons, dans la mesure du possible, procédé par série, ou sinon, en respectant scrupuleusement les conditions décrites. Pour l'exploitation, parallèlement à chaque série ou groupe d'attaques mises en oeuvre, nous avons constitué un blanc représentatif des quantités de réactifs introduites afin d'apporter une correction éventuelle aux résultats des dosages.

SEPARATION DES FRACTIONS GRANULOMETRIQUES : MODE OPERATOIRE

Elle s'effectue sur la fraction granulométrique inférieure à 1 mm du sable, lavée et séchée à l'étuve à 105° C pendant 24 heures.

Le tamisage s'opère sur une série de 10 tamis AFNOR dont les vides de mailles sont compris entre 0,5 mm et 0,040 mm, suivant une progression géométrique de raison $\sqrt[10]{10}$. Les tamis sont utilisés par ensemble de 5, montés sur la machine à tamiser pendant une demi-heure et "secoués" avec un rythme de 100 secousses environ à la minute. La fréquence des secousses ne doit pas être trop élevée, ni le temps de tamisage trop long, afin de ne pas endommager les grains, surtout ceux des fractions riches en carbonates. PRENANT (7) préconise un temps variant du quart d'heure à la demi-heure. Finalement, chaque fraction granulométrique correspondant au refus successif de chaque tamis est récupérée et pesée.

Nous avons pour simplifier l'écriture attribuée à chaque fraction un numéro. Le n° 1 correspond à la fraction la plus grossière, le N° 11 à la plus fine. Les indices intermédiaires suivent la partition du tamisage.

ECHANTILLONS	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
N°1	12500	1600	16,5	2,3	8,2	0,5
N°2	25000	1230	120	4,8	63	0,3
N°3	5000	2060	29,5	1,9	5,2	0,2
N°4	11000	4700	52	3,2	6,4	0,6
N°5	18000	1270	35	2,7	10,2	0,4

CONCENTRATION METALLIQUE DU PLANCTON EXPRIMEE EN PPM
RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE



TABLEAU N°I

ECHANTILLONS	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
NEPHTIS N°1	4320	39	43	0,83	0,35	0,24
NEPHTIS N°2	5700	62	32	0,17	0,36	0,13
NEREIS	130	39	57	0,056	1,31	0,13
NOTOMASTUS	9700	710	29	0,18	1,23	0,09
LANICE	1350	99	50	0,66	2,75	0,33
MAGELONE N°1	7250	660	66	1,84	1,38	0,15
MAGELONE N°2	6300	1150	161	1,70	0,64	0,86
SABELLA	750	119	30	0,10	0,11	0,66
ARENICOLE N°1	1800	850	25	0,42	0,23	0,20
ARENICOLE N°2	3450	320	32	0,44	0,86	0,18
APHRODITE	4080	910	33	0,04	0,53	0,09

CONCENTRATIONS METALLIQUES DE DIVERSES ESPECES DE VERS MARINS
EXPRIMEES EN PPM RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE

TABLEAU N° II



ECHANTILLONS	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
N° 1	12200	39	27	6,6	2,8	0,06
N° 2	11500	38	22	5,6	2,5	0,06
N° 3	14000	32	25	5,9	2,6	0,11
N° 4	5200	44	23	7,1	2,6	0,20
N° 5	10200	14	26	4,1	1,2	0,09
N° 6	8350	45	23	4,2	2,6	0,06
N° 7	3400	82	33	5,3	1,8	0,06
Bretagne	7200	38	18	11,5	0,89	0,03

CONCENTRATIONS METALLIQUES DANS DIFFERENTS LOTS DE CREVETTES
EXPRIMEES EN PPM RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE

TABLEAU N° III

ECHANTILLONS	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
TELLINA FABULA	36500	72	46	0,43	1,1	0,39
ABRA ALBA I	91000	1350	24	4,9	1,22	0,50
ABRA ALBA II	76000	730	29	2,9	0,88	0,20
BALANES I	104000	1010	28	4,3	0,16	0,05
BALANES II	109000	4345	32	2,0	0,17	0,04
PAGURES (chair)	48000	4125	41	3,3	0,42	0,11
BALANES III	62000	132	29	0,9	—	0,46
OPHIURES	40100	97	29	3,7	3,1	0,20
CRABES	29500	141	21	3,1	3,3	0,08
SARDINES	2500	22	10	0,17	0,06	0,03



CONCENTRATIONS METALLIQUES DE DIVERSES ESPECES MARINES
EXPRIMEES EN PPM RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE

TABLEAU N° IV

CONTENUS STOMACaux		Ca	Fe	Zn	Cu	Cd
n°	Contenu					
1	2 vers. 10 cre..	730	143	21	2,7	0,09
2	15 cre..	709	26,2	19	4,7	0,04
3	12 cre.. 2 sar..	2140	63,7	22	4,8	0,06
4	20 cre.. 1 sar. (reste)..	542	54,2	20	3,6	0,02
5	7 cra.. 3 cre.. 2 sar..	77	223	15	3,1	0,02
6	8 cra..	56	154	18	1,3	0,01
7	4 cra..	3986	138	33	6,8	0,10
8	2 cre.. 8 cra.. 1 sar.. 1 ver..	65	109	25	4,9	0,04
9	4 cre.. 1 cra.. Divers..	1605	61,2	21	4,4	0,02
10	5 cre.. 6 cra.. 1 sar. (reste)..	115	31,7	16	3,2	0,01
11	30 cre.. 1 cra..	180	123	20	3,4	0,05
12	17 cra. (petits)..	158	46,7	35	4,9	0,01
13	30 cre. 5 sar..	126	41,2	18	3,3	0,02

Cra. = CRABE
 Cre. = CREVETTE
 Sar. = SARDINE

CONCENTRATIONS METALLIQUES DES CONTENUS STOMACaux DE MORUES
 EXPRIMEES EN PPM RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE

TABLEAU N° V



ECHANTILLON	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
n° 1	49	7,8	8,6	0,38	0,38	0,17
n° 2	177	8,1	8,9	0,76	0,51	0,13
n° 3	179	8,8	7,2	0,65	0,55	0,01
n° 4	54	3,4	16,3	0,60	0,52	0,11
n° 5	86	15,0	9,8	0,40	0,51	0,01
n° 6	829	16,0	8,5	0,56	0,55	0,01
n° 7	58	16,6	7,9	0,52	0,20	0,02
n° 8	188	14,3	7,0	0,31	0,87	0,11

CONCENTRATIONS METALLIQUES DES FILETS DE MORUES
EXPRIMEES EN PPM RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE

TABLEAU N° VI

ECHANTILLON	Ca	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd
n° 1	201	20,6	41,1	10,6	1,11	0,39	0,26
n° 2	303	18,6	43,2	15,5	1,42	0,55	0,44
n° 3	184	19,7	49,6	14,0	1,05	0,36	0,09
n° 4	191	13,8	24,4	2,8	1,18	0,26	0,15
n° 5	155	16,7	41,4	10,6	0,69	0,39	0,11
n° 6	157	10,5	18,5	6,8	0,67	0,13	0,04
n° 7	272	17,4	25,1	4,4	1,21	0,68	0,33
n° 8	299	19,1	35,0	7,6	1,10	0,29	0,30
n° 9	302	21,7	41,5	12,5	2,39	0,45	0,15
n° 10	252	18,0	39,8	12,1	1,04	0,26	0,18



CONCENTRATIONS METALLIQUES DES FOIES DE MORUES
EXPRIMEES EN PPM RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE

TABLEAU N° VII

ECHANTILLONS	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
n° 1	313	36,6	11	5,4	0,7	0,11
n° 2	55	22,4	6,9	1,3	0,35	0,11
n° 3	138	96,6	12,6	2,6	0,31	0,22
n° 4	106	27,5	13,5	2,4	0,65	0,12
n° 5	109	28,6	12,1	3,0	0,53	0,15
n° 6	131	18,1	11,0	2,7	0,26	0,13
n° 7	867	19,1	10,2	4,1	0,29	0,14
n° 8	113	23,9	17,4	3,0	0,31	0,13

CONCENTRATIONS METALLIQUES DES CERVEAUX DE MORUES

EXPRIMEES EN PPM RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE

TABLEAU N° VIII

ECHANTILLONS	Ca	Fe	Zn	Cu	Pb	Cd
n° 1	190	16,1	7,2	0,30	0,80	0,11
n° 2	80	3,0	16,0	0,62	0,50	0,11
n° 3	90	16	10,0	0,34	0,47	0,01
n° 4	172	10,8	7,5	0,62	0,58	0,03
n° 5	54	10,0	8,2	0,40	0,38	0,14
n° 6	180	8,2	9,2	0,80	0,52	0,13

CONCENTRATIONS METALLIQUES DES FILETS DE MORUES NECROSEES

EXPRIMEES EN PPM RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE

TABLEAU N° IX



ECHANTILLON	Ca	Fe	Zn	Cu	Mn	Pb	Cd
n° 1	180	14,5	27,7	6,3	0,71	0,31	0,06
n° 2	198	23,5	23,8	8,4	0,75	0,25	0,06
n° 3	182	34,0	37,7	14,8	1,12	0,29	0,11
n° 4	402	45,0	44,5	11,3	1,29	0,46	0,09
n° 5	393	36,2	36,0	5,5	1,12	0,35	0,09
n° 6	705	104,2	29,0	4,3	0,80	0,30	0,04
n° 7	412	27,3	28,9	10,4	0,91	0,18	0,07
n° 8	184	19,7	49,6	14,0	1,05	0,36	0,09
n° 9	155	16,7	41,4	10,6	0,69	0,39	0,11
n° 10	303	18,6	43,2	15,5	1,42	0,55	0,44
n° 11	191	13,8	24,4	2,8	1,18	0,26	0,15
n° 12	201	20,6	41,1	10,6	1,11	0,39	0,26

CONCENTRATIONS METALLIQUES DE FOIES NODULEUX DE MORUES
 EXPRIMEES EN PPM RELATIVEMENT A L'ETAT STANDARD HUMIDE

TABLEAU N°X



PLANCHE N° 1

NECROSE COMPLETE DE MORUE

Observations en microsonde de quelques éléments métalliques

Photo 1 : Calcium

Photo 2 : Soufre

Photo 3 : Silicium

Photo 4 : Aluminium

Photo 5 : Fer

Photo 6 : Zinc

Grossissement : x 375

200 μ



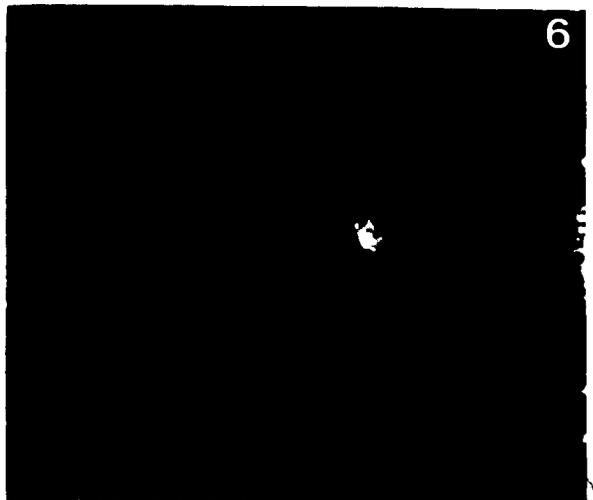
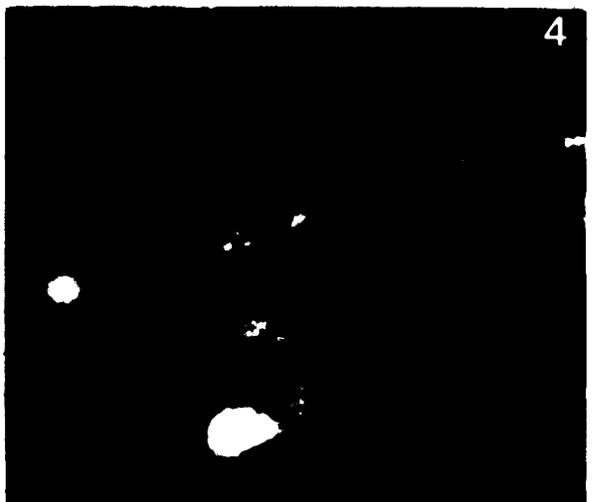
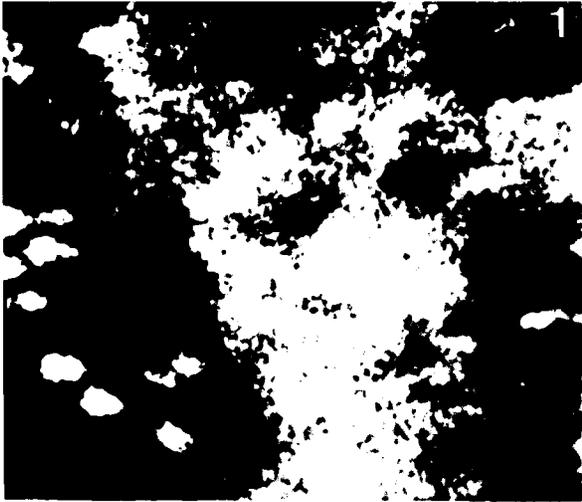


PLANCHE N° 2

NODULE HEPATIQUE DE MORUE

Observations en microsonde de quelques éléments métalliques

Photo 1 : Calcium

Photo 2 : Soufre

Photo 3 : Silicium

Photo 4 : Potassium

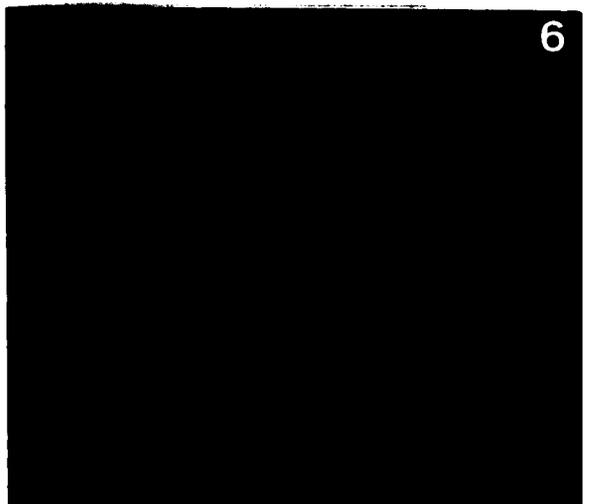
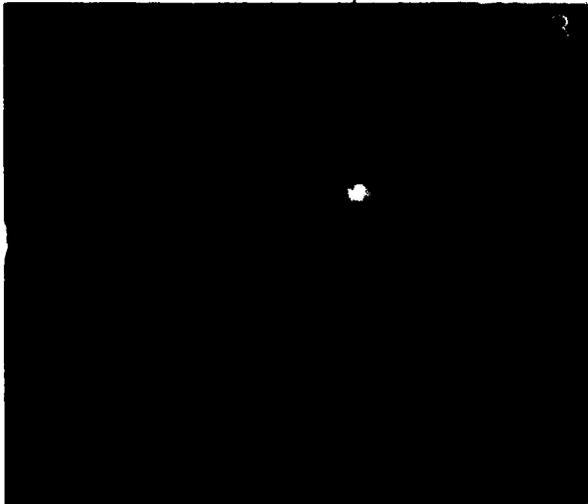
Photo 5 : Fer

Photo 6 : Nickel

Grossissement : x 375

200 μ





1000
LIFE

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

1938

- 1 LUNDELL G.E.F., HOFFMAN J.I. - Outlines of Methods of Chemical Analysis.

1950

- 2 La réglementation des produits alimentaires : Extraits des travaux de la commission d'études des substances étrangères dans les aliments - DEHOVE - Commerce Editions.

1958

- 3 JACKSON M.L. - Soil Chemical Analysis Prentice Halls - Englewood Cliffs N.J.

1959

- 4 GORSOCH T.T. - Analyst - 84 p. 135.

1960

- 5 CHADOS, BAANCS, ENGLE - Rock analysis by X Ray Fluorescence. Spectroscopy advances in X Ray Analysis - Vol. 1, pp. 315 - 317.
- 6 ECONOM P. - Furunculosis in Northern Pike - Trans. Amer. Fish Soc. - 89 (2), pp. 240-241.
- 7 PRENANT M. - Etudes écologiques sur les sables - Cah. Biol. Mar. - Tome I, 3.

1962

- 8 HAWKES H.E., WEBB J.S. - Geochemistry in Mineral Exploration - Harper and Row, New York.

1963

- 9 INGAMELS C.O., NORMAN M. - Chemical and Spectrochemical analysis of standard silicate samples - Geochimia et Cosmoehimia Acta - Vol. 27, pp. 897-910.

1964

- 10 HOOPER P.R. - Rapid Analysis of Rocks by X-Ray Fluorescence - Analytical Chemistry - Vol. 36, N° 7, pp. 1271-1276.

1965

- 11 LECOQ R. - Manuel d'analyses alimentaires - Tome II, pp. 1524-1525.

1966

- 12 CHRISTENSEN N.O. - Maladies des poissons - Revue des Membres de l'Union Danoise des Vétérinaires - Tome 49, pp. 331-337, 516-546, 914-944, 1031-1044, Adaptation française de P. BESSE.

1967

- 13 CHESTER R., HUGHES M.J. - J. Chem. Geol. - 2, p. 249.
- 14 PRESLEY B.J., BROOKS R.R., KAPPEL H. M. - J. Mar. Res. - 25, p. 355.
- 15 STASHEIM A. - A quantitative X-Ray Fluorescent method of analysis for geological samples using a correction technique for the matrix effects - Spectrochimica Acta - Vol. 23 B, pp. 183-186.

1968

- 16 HERMAN R.L. - Fish Furunculosis 1952-1966 - Trans. Amer. Fish Soc. - 97(3), pp. 221-230.
- 17 MAXWELL J.A. - Rock and Mineral analysis - Interscience New-York.
- 18 RAMIREZ MUNOZ J. - Atomic Absorption Spectroscopy - Elsevier Publishing Company
- 19 TERTIAN R. - Contrôle de l'effet de matrice en Fluorescence X et principe d'une méthode quasi-absolue d'analyse quantitative en solution solide ou liquide - Spectrochimica Acta - Vol. 23 B, pp. 303-321.

1969

- 20 OLIVIER H.R. - Traité de Biologie Appliquée - Tome VII : Toxicologie industrielle médicamenteuse et agricole, pp. 8-11.
- 21 TERTIAN R. - Conditions théoriques et pratiques pour l'analyse chimique quantitative par Fluorescence X - Chimie Analytique - Vol 51, N° 11, pp. 525-536.

1970

- 22 ANDERSON J.I.W., CONROY D.A. - Vibriodisease in marine fishes - Amer. Fish Soc. : Special Publication n° 5, pp. 266-272.

- 23 DECLEIR W., LEMAIRE J., RICHARD A. - Determination of copper in embryos and very young specimen of "sepia officinalis" - Mar. Biol. - Vol. 5, N°3, p. 256.
- 24 ROBERTS R.J., SHEARER W.M., MUNRO A.L.S., ELSON K.G.R. - Studies of ulcerative dermal necrosis of Salmonids : II - The sequential pathology of the lesions - J. Fish Biol., 2, pp. 373-378.
- 25 SINDERMAN C.J. - Principal Diseases of marine fish and shell fish - Academic Press, New-York and London, p. 369.

1971

- 26 BULLOCK G.L., CONROY D.A., SNIESZKO S.F. - Diseases of fishes book 2 A : Bacterial diseases in fishes - T.F.H. Publ. Inc. Neptune (N.J., U.S.A.), p. 151.
- 27 DUCHAUFOUR - Précis de Pédologie : Méthodes d'analyse - Ed. MASSON.
- 28 HESSE - A text book of soil chemical analysis - Chemical publishing Co, New-York.
- 29 MARTIN J.M. and al. - The physical-chemical aspects of trace element behavior in Estuarine Environments - Thalassia Jugoslavica, 7, p. 619.
- 30 PERKINS E.J., GILCHRIST J.R.S., ABBOTT O.J. - Incidence of epidermal lesions in fish of the North East Irish Sea area - Nature 23 (5359), pp. 101-103.
- 31 PINTA M. - Spectrométrie d'absorption atomique : Applications à l'analyse chimique - Tome I - Edit. MASSON.
- 32 PINTA M. - Spectrométrie d'absorption atomique : Applications à l'analyse chimique - Tome II - Edit. MASSON.
- 33 ROBERTS R.J., BALL H.J., MUNRO A.L.S., SHEARER W.M. - Studies in ulcerative dermal necrosis of Salmonids III : The healing process in fish maintained under experimental conditions - J. Fish Biol., 3, p. 221-224.

1972

- 34 GHITTINO P. - The principal aspects of bacterial diseases in Italy - Symp. Zool. Soc. Lond., 30, pp. 25-38.

- 35 HAASTEIN T., HOLT G. - The occurrence of Vibrio diseases in wild Norwegian fish - J. Fish Biol., 4(1), pp. 33-37.

1973

- 36 HAYNARD D.E., FLETCHER W.K. - J. Geochem. Explor., 2, p. 19.
- 37 HERMAN P., BOUQUIAUX J. - Inventory of Water Pollutions - Belgian National Program on the Environment : Mathematical Model - Annual Report, Vol. III.
- 38 MAHONEY J.B., MIDLIDGE F.H., DUEL D. G. - A fin rot disease of marine and euryhaline fishes in the New-York Bight - Trans. Amer. Fish Soc., 102 (3), pp. 596-605.
- 39 MOENS M. - Bottom Sediments - Belgian National Program on the Environment : Mathematical model - Annual Report, Vol. III.
- 40 OLIVER B.G. - Envir. Sci. Technol., 7, p. 135.
- 41 RENZONI A., BACCI E., FALCIAL L. - Mercury concentrations in the water, sediments and fauna of an area of the Tyrrhenian coast - R.I.O.M., Tomes 31-32, pp. 17-45.
- 42 ROSCHNIK R.K. - Analyst, 98, p. 596.
- 43 VAN DUIJN C. - Diseases of fishes - 3rd edition : Iliffe Books London, p. 372.

1974

- 44 BRADSHAW P.M.O., THOMSON I., SMEE B.W., LARSSON J.O. - J. Geochem. Explor., 3, p. 203.
- 45 HOLMES C.W., SLADE E.A., MC LERRAN C.J. - J. Envir. Sci. Technol., 8, p. 255.
- 46 OELSCHLAGER W. - Landwirtschaftliche Forschung, 27, p. 62.
- 47 ROGNONI J.B., SIMON C. - Journal de Microscopie, Vol. 20, n° 1, p. 87.
- 48 ROMERIL M.G. - Trace metals in sediments and bivalve mollusca in Southampton water and the solent - Rev. Intern. Oceanogr. Med., Tome XXXIII, pp. 31-47.

1975

- 49 EVENSON M.A., ANDERSON C.T. - Clinical Chemistry, 21/4, pp. 537-543.
- 50 GALLE P. - Journal de Microscopie - Vol. 22, n°^S 2-3, pp. 179-184, 315-322.
- 51 GUPTA S.K., CHEN K.Y. - Envir. Lett., 10, p. 129.

- 52 HAGEMIAN H., CHAU A.S.Y. - *Analytica Chim. Acta* - 80, p. 61.
- 53 IVANOFF A. - *Introduction à l'océanographie - Tome I*, pp. 162-163.
- 54 LINDBERG S.E. and al. - *Geochemistry of Mercury in the Estuarine Environment - Estuarine Res.*, 1, p. 64.
- 55 MURCHELAND R.A. - *The histopathology of fin rot disease in winter flounder from the New-York Bight - J. Wild Dis.*, 11, pp. 263-268.
- 56 RIBELIN W.E., HIGAKI G. - *The pathology of fishes - The University of Wisconsin Press, Madison (WISC.)*, p. 1004.

1976

- 57 BOUQUEGNEAU, NOEL-LAMBOT, DISTECHE - *La translocation des polluants dans l'écosystème marin - Projet Mer (BELG.) Vol. 9 : Contamination des produits de la mer, Chap. I, 3ème partie*, pp. 253-274.
- 58 ELSKENS I. - *Les niveaux de contamination du plancton par les métaux lourds - Projet Mer (BELG.), Vol. 9 : Contamination des produits de la mer, Chap. III, 1ère partie*, pp. 87-108.
- 59 ELSKENS I. - *Le transport de certains métaux lourds à l'intérieur de l'écosystème marin de la partie Sud de Southern Bight - Projet Mer (BELG.), Vol. 9 : Contamination des produits de la mer, Chap. II, 3ème partie*, pp. 283-294.
- 60 HAIG AGEMIAN, CHAU AS.Y. - *The Analyst* - Vol. 101, n° 1207, pp. 760-767.
- 61 HERMAN P., VANDERSTAPPEN R. - *Analyse corrélative des facteurs liés à l'évolution de la contamination in situ des poissons... - Projet Mer (BELG.) Vol. 9 : Contamination des produits de la mer, Chap. II, 1ère partie*, pp. 49-80.
- 62 HOENIG M. - *Polluants inorganiques dans les sédiments et les suspensions de la Mer du Nord et de l'Escaut - Projet Mer (BELG.), Vol. 6 : Inventaire des polluants, Chap. III, 3ème partie*, pp. 193-204.
- 63 HOFFMAN G.L. - *Fish diseases and parasites in relation to the environment - Fish Pathol.*, 10(2), pp. 123-128.
- 64 MEARNS A.J., SHERWOOD M.J. - *Fin erosion prevalence and environment exchange - Southern California Coastal-Water Research Project : Annual Report*, pp. 139-142.

- 65 HEARNS A.J., SHERWOOD M.J. - Ocean waste water discharge and tumors in a Southern California flat fish - Progr. Exp. Tumor Res., 20, pp. 75-85.
- 66 MINISTERE DE L'ECONOMIE ET DES FINANCES - BULLETIN DE SERVICE DES LABORATOIRES : Dosage du zinc et du plomb dans les conserves de poissons par spectrométrie d'absorption atomiques.
- 67 PRITCHARD M.W., REEVES R.D. - Anal. Chem. Acta - 82, p. 103.
- 68 PROGRAMME NATIONAL DE RECH. ET DE DEVEL. ENVIR. EAU : PROJET MER (BELG.), Vol. 11 - Niveaux de pollution du réseau hydrographique et de la zone côtière belge, Recueil des données.
- 69 RESEAU NATIONAL D'OBSERVATION DE LA QUALITE DU MILIEU MARIN : Enquête nationale sur l'état sanitaire des zones marines côtières - Campagnes 1976-1977.
- 70 RESEAU NATIONAL D'OBSERVATION DE LA QUALITE DU MILIEU MARIN : Recueil des observations, Campagnes 1976-1977.
- 71 ROBERTS R.J., BULLOCK A.M. - The dermatology of teleost fishes : a bibliography - MATTON J.P. Edit. (Univ. of Stirling, Scotland), p. 270.
- 72 ROBERTS R.J., BULLOCK A.M. - The dermatology of marine teleost fish II : Dermatology of the integument - Oceanogr. Mar. Biol. Ann. Rev., 14, pp. 227-246.
- 73 SCHONHARD G., SCHENKE H.D. - Landwirtschaftliche Forschung, 29, p. 248.
- 74 SHERWOOD M.J., Mc CAIN B.B. - Comparison of fin erosion disease - Los Angeles and Seattle Southern California Coastal Water Research Project.
- 75 VANDERSTAPPEN R., VAN HOEYWEGHEN P. - Dosage des métaux lourds dans les échantillons biologiques par spectrophotométrie d'absorption atomique - Projet Mer (BELG.), Vol. 6 : Inventaire des polluants, Chap. I, 2ème partie, pp. 99-103.
- 76 WOLLAST - Propriétés physico-chimiques des sédiments et des suspensions de la Mer du Nord - Projet Mer (BELG.), Vol. 4.

1977

- 77 CAPAR S.G. - Atomic Absorption Spectrophotometric determination of lead, cadmium, zinc and copper in clams and oysters : Collaborative study - J. Assoc. of Offic. Analyt. Chem., pp. 1400-1407.

- 78 FRIEND M.T., SMITH C.A., WISHART D. - Atomic Absorption New Letters - 16,p. 46.
- 79 HOLAK W. - J. Asso. of Offic. Analyt. Chem. - 60, p. 239.
- 80 JAFFE D., WALTERS J.K. - Intertidal trace metals concentrations in some sediments from the Humber estuary - Sci. total environ., p. 7.
- 81 JOHANSON N., LJUNGBERG O. - Ulcerative Dermal Necrosis (U.D.N.) in Swedish salmon rivers - ICES, C.M. 1977/M 41, p. 7.
- 82 LAMOLET J., CHEPEAU C., REA B. - Etude sur les pollutions le long du littoral français de la Mer du Nord - Institut Scientifique et Technique des Pêches maritimes, pp. 52-54.
- 83 LU J.C.S., CHEN K.Y. - Migration of trace metals in interface of seawater and polluted surficial sediments - Environ. Sci. and Technol., 11, pp. 174-182.
- 84 SINDERMAN C.J. - Recent data on possible associates of coastal estuarine pollution with fish and shellfish diseases - ICES, CM 1977/E. 14, p. 32.
- 85 WEGSCHEIDER W., KNAPP G., SPITZY H. - Zur Anal. Chem. - 253, p. 9.
- 86 ZANDER A.T., O'HAVER T.C., KEAHER P.N. - Anal. Chem. - 49, p. 838.

1978

- 87 BOILLY B., RICHARD A. - Accumulation du fer chez une Annélide Polychète : *Magelona papillocornis* F. Muller - C.R. Acad. Sciences, 286 D, pp. 1005-1008.
- 88 CABANE F. - Réseau National d'Observation de la Qualité du Milieu Marin - Bulletin n° 5, p. 115-141.
- 89 CHESTER R., GRIFFITHS A., STONER J.H. - Minor metals contents of surface seawater particulates and organic rich shelf sediments - Nature, 275 (5678), p. 308-309.
- 90 FEINBERG M., DUCAUZE C. - Bul. Soc. Chim. de France, Nov. Déc. 1978, pp. 419-425.
- 91 KROM M.D., SHOLKOVITZ E.R. - On the association of iron and manganese with organic matter in anoxic marine pure water - Geochim. and Cosmochim. Acta, 42, pp. 607-611.

- 92 RAMONDETTA P.J. - Heavy metals distribution in Jamaica Bay. Sediments - Environmental Geology, 2, pp. 145-149.
- 93 SMIGIELSKY F. - Thèse de 3ème cycle - U.S.T. Lille.
- 94 VANDORPE B., SMIGIELSKY F. - Journées du G.A.B.I.M. - La Rochelle, Nov. 78 - Communication.
- 95 VANDORPE B., SMIGIELSKY F. - Présence de métaux dans les nodules et nécroses de poissons (Morues et pleuronectidés) - Rev. Int. Océanogr. Méd., Tome XLIX, p. 29-35.
- 96 YEARN K.W., PARK Y.A. - Distribution of trace metals and sediments in the estuaries of the Kum River and the Mankyung River - J. of Ocean. Soc. of Korea, 13, pp. 19-28.

1979

- 97 AUBERT M.; AUBERT J., ORCEL L. - Etude sur l'extension géographique et l'origine des nécroses des poissons sur le littoral méditerranéen - Rev. Int. Océan. Méd., Tomes LIII et LIV, pp. 3-21.

1980

- 98 RANDRIA A. - Thèse de 3ème cycle - U.S.T. Lille

19..

- 99 RANDOIN L. - Institut Scientifique d'Hygiène Alimentaire - Table de composition des aliments - Ed. J. LANORE.

