

MANUEL DES MÉTHODES DE RECHERCHE SUR L'ENVIRONNEMENT AQUATIQUE

Troisième partie – Echantillonnage et analyse
du matériel biologique



avec la coopération du
Programme des Nations Unies pour l'environnement





ORGANISATION DES NATIONS UNIES POUR L'ALIMENTATION ET
L'AGRICULTURE



PROGRAMME DES NATIONS UNIES POUR L'ENVIRONNEMENT

MANUEL DES METHODES DE LA RECHERCHE SUR L'ENVIRONNEMENT AQUATIQUE

Troisième partie - Echantillonnage et analyse du matériel biologique
(Directives destinées au projet commun coordonné FAO/CGPM/PNUE
sur la pollution en Méditerranée)

par

M./Bernhard*
(Consultant)

Division des ressources halieutiques et de l'environnement
Organisation des Nations Unies
pour l'alimentation et l'agriculture
Rome, Italie



Les appellations employées dans cette publication et la présentation des données qui y figurent n'impliquent de la part de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture aucune prise de position quant au statut juridique des pays, territoires, villes ou zones, ou de leurs autorités, ni quant au tracé de leurs frontières ou limites.

*Pol
water/1
Part 3f*

M-45
ISBN 92-5-200053-4

Reproduction interdite, en tout ou en partie, par quelque procédé que ce soit, sans l'autorisation écrite de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, seule détentrice des droits. Adresser une demande motivée au Directeur de la Division des publications, Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, Via delle Terme di Caracalla, 00100 Rome, Italie, en indiquant les passages ou illustrations en cause.

© FAO 1977

PREPARATION DU PRESENT MANUEL

Le présent manuel a été préparé dans le cadre d'un projet commun du Programme des Nations Unies pour l'environnement et de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture, intitulé "Projet commun coordonné FAO (CGPM)/PNUE sur la pollution en Méditerranée".

* adresse actuelle de l'auteur:
Divisione per la Protezione Ambientale
Comitato Nazionale per l'Energia Nucleare
19030 Fiascherino-Lerici, Italie

Distribution:

FAO Département des pêches
FAO Fonctionnaires régionaux des pêches
Projet "pollution en Méditerranée"
PNUE

Référence bibliographique:

Bernhard, M. (1976)
FAO Fish.Tech.Pap., (158):132 p.
Manuel des méthodes de la recherche sur
l'environnement aquatique. Troisième partie.
Echantillonnage et analyse du matériel bio-
logique (Directives destinées au projet com-
mun coordonné FAO(CGPM)/PNUE sur la pollu-
tion en Méditerranée)
FAO manuals. Methodology. Marine pollution.
Monitoring. Sampling. Analytical techniques.
Heavy metals. Organochlorines.

PREFACE

Le Programme coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution en Méditerranée a été créé dans le cadre du Plan d'action pour la Méditerranée élaboré par le Programme des Nations Unies pour l'environnement et approuvé par la réunion intergouvernementale sur la protection de la Méditerranée (Barcelone, 28 janvier - 4 février 1975). Un projet commun coordonné FAO (CGPM)/PNUE sur la pollution en Méditerranée a été entrepris au titre de ce programme. Le dit projet vise notamment à organiser des études de base et à assurer la surveillance continue des métaux et, en particulier, du mercure, du DDT, des diphényles polychlorés (DPC) et autres hydrocarbures chlorés dans les organismes marins.

Le document opérationnel, qui sert de programme cadre aux fins de la collaboration des laboratoires méditerranéens en matière d'études de base et de surveillance continue de ces agents polluants a été élaboré lors de la consultation d'experts relative au projet commun coordonné sur la pollution en Méditerranée, réunie par la FAO (CGPM) à Rome du 23 au 27 juin 1975. Ce document précise quels organismes et agents polluants doivent être surveillés de façon continue et définit la méthodologie générale qu'il conviendrait d'appliquer.

A la demande de la consultation d'experts, le présent manuel a été préparé pour préciser les procédures d'échantillonnage et d'analyse acceptées dans le document opérationnel. Il se propose d'aider les laboratoires participant au projet en faisant fonction de guide en matière d'échantillonnage, de traitement des échantillons et de procédures analytiques acceptés par la consultation d'experts. De la sorte, on envisage d'améliorer les possibilités de comparaison des résultats et des données obtenus par les différents laboratoires.

Nous nous attendons à ce qu'au cours des premiers mois d'utilisation du Manuel des observations et propositions d'amélioration nous parviennent, il est donc envisagé de préparer une version révisée dudit manuel sur la base desdits commentaires et des avis reçus d'une deuxième consultation d'experts qu'il est prévu de réunir ultérieurement.

La mise en forme définitive du manuel a été l'oeuvre du personnel de la Division des ressources halieutiques et de l'environnement (FAO) et en particulier de M. A. Wenblad. Les opinions exprimées dans le manuel sont celles de l'auteur et ne représentent pas nécessairement les vues de la FAO ou du PNUE.

Les figures 1 à 18 ont été tirées des fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche - Méditerranée et mer Noire (Fischer, 1973).

TABLE DES MATIERES

| | <u>Page</u> |
|--|-------------|
| 1. INTRODUCTION | 1 |
| 2. IDENTIFICATION DES ORGANISMES SOUMIS A UNE SURVEILLANCE CONTINUE | 3 |
| 2.1 Précautions recommandées aux fins d'une identification correcte | 4 |
| 2.2 Identification des espèces de première priorité | 4 |
| 2.3 Identification d'autres espèces | 5 |
| 2.4 Identification du phytoplancton et du zooplancton | 6 |
| 3. SITES D'ECHANTILLONNAGE | 43 |
| 4. METHODES D'ECHANTILLONNAGE | 45 |
| 4.1 Echantillonnage des moules | 47 |
| 4.2 Echantillonnage des crevettes aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés | 49 |
| 4.3 Echantillonnage des crabes verts aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés | 50 |
| 4.4 Echantillonnage de <u>Mullus barbatus</u> | 50 |
| 4.5 Echantillonnage du thon et de l'espadon | 52 |
| 4.6 Présentation des données biologiques et méthodes d'échantillonnage | 52 |
| 5. PREPARATION DES ECHANTILLONS | 55 |
| 5.1 Préparation des échantillons destinés à l'analyse des métaux | 55 |
| 5.1.1 Choix et nettoyage des instruments et du matériel | 55 |
| 5.1.2 Préparation des échantillons entreposés en congélateur | 56 |
| 5.1.3 Préparation des échantillons de <u>Mytilus</u> | 57 |
| 5.1.4 Préparation des échantillons de <u>Mullus</u> | 59 |
| 5.1.5 Préparation des échantillons de thon et d'espadon | 62 |
| 5.2 Préparation des échantillons aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés | 64 |
| 5.2.1 Choix et nettoyage des instruments et matériaux | 64 |
| 5.2.2 Préparation des échantillons destinés à la conservation au congélateur | 64 |
| 5.2.3 Préparation des échantillons de <u>Mytilus</u> | 64 |
| 5.2.4 Préparation des échantillons de <u>Parapenaeus</u> | 66 |
| 5.2.5 Préparation des échantillons de <u>Carcinus</u> | 66 |
| 5.2.6 Préparation des échantillons de <u>Mullus</u> | 67 |
| 5.3 Préparation d'échantillons d'autres organismes marins aux fins d'analyse des métaux et des hydrocarbures chlorés | 68 |
| 6. METHODES D'ANALYSE | 69 |
| 6.1 Contamination de la verrerie; moyens de l'éviter | 69 |
| 6.2 Détermination du poids sec des matières biologiques | 70 |
| 6.3 Destruction de la matière organique dans les échantillons biologiques | 71 |

| | <u>Page</u> |
|---|-------------|
| 6.3.1 Danger d'explosion | 72 |
| 6.3.2 Décomposition de substances organiques sous pression de liquide pour l'analyse des métaux | 72 |
| 6.3.2.1 Combustion par voie humide dans des creusets clos en teflon | 74 |
| 6.3.2.2 Combustion par voie humide en bouteilles closes de plastique | 75 |
| 6.4 Spectrophotométrie d'absorption atomique | 77 |
| 6.4.1 Dosage de Hg | 81 |
| 6.4.1.1 Détermination de Hg total | 81 |
| 6.4.1.1.1 Détermination sans flamme de Hg dans un système clos (Munns et Holland, 1971) | 83 |
| 6.4.1.1.2 Détermination de Hg par le procédé sans flamme, dans un système ouvert (Parker, 1972) | 84 |
| 6.4.1.2 Détermination de Hg inorganique et total sans combustion par voie humide | 87 |
| 6.4.2 Dosage du cadmium | 89 |
| 6.4.3 Dosage de l'arsenic total | 89 |
| 6.4.4 Dosage du sélénium total | 92 |
| 6.4.5 Dosage du cuivre total | 92 |
| 6.4.6 Dosage du zinc total | 92 |
| 6.4.7 Dosage du manganèse total | 92 |
| 6.4.8 Dosage du chrome total | 93 |
| 6.4.9 Dosage du plomb total | 93 |
| 6.5 Analyse des hydrocarbures chlorés par chromatographie en phase gazeuse | 95 |
| 6.5.1 Nettoyage de la verrerie, des instruments et des réactifs | 96 |
| 6.5.2 Prétraitement | 97 |
| 6.6 Analyse du méthyl-mercure par chromatographie en phase gazeuse | 103 |
| 7. CONSIDERATIONS STATISTIQUES | 109 |
| 7.1 Considérations générales | 109 |
| 7.2 "Echantillon" moyen, médian et composite | 109 |
| 7.3 Limites de confiance | 110 |
| 7.4 Sources de variance | 111 |
| 7.5 Stratégie du choix des "échantillons" à analyser | 112 |
| 7.6 Critères relatifs à une comparaison rapide des moyennes et de l'écart type | 113 |
| 8. REFERENCES | 116 |
| Annexe A: Préparation des pinces en plastique | 127 |
| Annexe B: Longueur d'ondes recommandées, gammes d'opération optimales et sensibilités typiques (Parker, 1972) | 129 |
| Annexe C: Homogénéisation des échantillons | 131 |

1. INTRODUCTION

Le présent manuel devrait être utilisé en liaison avec le rapport de la Consultation d'experts FAO (CGPM)/PNUE relative au projet commun coordonné sur la pollution en Méditerranée (FAO/PNUE, 1975), qui fait fonction de document opérationnel pour le présent projet.

Lors de cette consultation, on avait distingué deux ordres de priorité: les polluants hautement prioritaires devaient être analysés par tous les participants dans les organismes de première priorité. L'analyse d'autres polluants, de moindre priorité, doit être encouragée et devrait être effectuée chaque fois que possible.

On trouvera au Tableau 1 une récapitulation des métaux, hydrocarbures chlorés et organismes mentionnés dans le document opérationnel, assortie de la priorité qui leur a été affectée.

Il faudra au minimum déterminer dans la moule méditerranéenne Mytilus galloprovincialis et dans le rouget barbet Mullus barbatus deux métaux et trois hydrocarbures chlorés ainsi que leurs métabolites. Le thon étant actuellement le poisson dont on signale qu'il présente la plus forte concentration de mercure en Méditerranée (Cumont et al., 1973), on analysera aussi Hg et Cd dans le thon. La crevette rose du large Parapenaeus longirostris a été choisie comme la troisième espèce devant faire l'objet de la détermination des hydrocarbures chlorés.

Les organismes seront recueillis au moins quatre fois par an: en septembre, en décembre, en mars et en juin.

Tous les instituts participant aux projets prendront part à un exercice d'interétalonnage pour faciliter la comparaison des données d'analyse obtenues. Bien que, pour des raisons évidentes, aucune méthode d'analyse normalisée ne soit recommandée dans le document opérationnel, la détermination spectrophotométrique de l'absorption atomique et la chromatographie en phase gazeuse seront employées comme méthodes de référence pour la détermination des métaux et des hydrocarbures chlorés, respectivement.

Le "programme minimum" proposé pour les projets pilotes a été volontairement limité à des échantillons composites d'un nombre minimum d'espèces et de polluants, afin de permettre au plus grand nombre possible de centres de recherche d'y participer. Ce programme minimum doit cependant être considéré comme la première approche d'une étude exhaustive de la pollution en Méditerranée. Chaque fois que possible, la concentration dans les échantillons constitués d'un seul spécimen devra également être déterminée, parallèlement à celle des échantillons composites, de manière à pouvoir se procurer les données nécessaires à une évaluation statistique de la variabilité. Il s'agit là de la seule façon d'établir les tendances de la pollution. En outre, il sera extrêmement intéressant pour les centres participants de pousser, si possible, leurs recherches au-delà du programme minimum décrit dans le document opérationnel et de déterminer les concentrations de ces polluants dans l'eau de mer, dans les sédiments et dans des espèces représentatives aux différents échelons de la chaîne alimentaire.

Les indications ci-après ont été préparées en supposant qu'un biologiste ou un chimiste seront chargés de l'exécution du programme. L'un ou l'autre devrait cependant s'entourer de l'avis de biologistes ou de chimistes, respectivement, afin d'être certain que les données obtenues sont valables. Etant donné que la contamination des échantillons constituera l'un des principaux problèmes que l'on rencontrera dans les déterminations, on suggère que les responsables des analyses participent également, de façon active, à la planification de la procédure d'échantillonnage, ce qui permettrait de réduire au minimum la contamination des échantillons en cours d'échantillonnage et de préparation. On perd souvent un temps précieux à effectuer l'analyse chimique d'échantillons contaminés ou d'échantillons autrement impropres à l'analyse, faute de s'être suffisamment préoccupé d'éviter la contamination pendant l'échantillonnage et l'entreposage des échantillons et leur préparation.

2. IDENTIFICATION DES ORGANISMES SOUMIS A UNE SURVEILLANCE CONTINUE

Il convient d'identifier avec précision les espèces échantillonnées aux fins de détermination chimique car plusieurs espèces du même groupe taxonomique peuvent accumuler des éléments à différents degrés. Ainsi, une concentration considérée comme normale pour certains organismes pourra être un indice de pollution dans d'autres. Même pour une personne relativement inexpérimentée, l'identification des organismes de première priorité (Mytilus, Mullus, Thunnus, Xiphias, Parapenaeus et Carcinus spp.) ne devrait pas présenter trop de difficultés avec l'aide des fiches FAO d'identification des espèces (Fischer, 1973). Toutes les espèces, à l'exception de Patella sont décrites dans lesdites fiches d'identification des espèces (Fig. 1 à 18). On trouvera à la Fig. 19 des données d'identification de Patella.

Tableau I

Ordre de priorité des éléments et substances dont la surveillance continue devra être assurée

| | |
|---|---|
| <u>Eléments</u> de première priorité | : Hg, Cd total |
| deuxième priorité | : As, Cu, Pb, Mn, Se, Zn, et méthylmercure |
| <u>Organismes</u> de première priorité | : <u>Mytilus galloprovincialis</u> <u>Mullus barbatus</u> <u>Thunnus thynnus</u> (<u>Xiphias gladius</u>) |
| <u>Hydrocarbures chlorés</u> de première priorité | : DDT, dieldrine, DPC et leurs métabolites |
| deuxième priorité | Autres substances organiques persistantes |
| <u>Organismes</u> de première priorité | : <u>Mytilus galloprovincialis</u> <u>Parapenaeus longirostris</u> (<u>Carcinus mediterraneus</u>) <u>Mullus barbatus</u> |
| <u>Autres organismes</u> | : <u>Patella</u> sp. <u>Merluccius merluccius</u> <u>Trachurus trachurus</u> <u>Sardina pilchardus</u> <u>Sarda sarda</u> Macrophytes Phyto/zooplancton Organismes vivant dans les sédiments |

La fiche d'identification donne un dessin de l'organisme considéré; ses caractères distinctifs et sa diagnose, des caractères permettant de la différencier d'avec les espèces les plus voisines, la gamme des longueurs normale et maximum, la distribution géographique et le comportement de l'espèce, les fonds de pêche actuels, les chiffres de production et les principaux engins de pêche utilisés. Elles signalent également les noms communs employés dans la plupart des pays méditerranéens, qui pourront être utiles lorsqu'on aura affaire à des pêcheurs commerciaux. Il convient cependant de tenir compte du fait que l'on devrait utiliser le seul nom scientifique lorsqu'on fera référence aux espèces dans ces projets pilotes, étant donné que les mêmes noms communs sont fréquemment appliqués à des espèces tout à fait différentes, suivant la région.

Si l'on a besoin d'informations complémentaires, on pourra consulter plusieurs faunes et flores. Ainsi, le Catalogue des noms de poisson, de crustacés et de mollusques d'importance commerciale dans la Méditerranée, de Bini (1965) (existe en anglais, espagnol et français); l'Atlas des poissons des côtes italiennes, également de Bini (1967) ainsi que le Guide de la faune marine des côtes méditerranéennes de Luther et Fiedler (1965) sont disponibles en italien, le dernier de ces ouvrages étant la traduction d'un texte allemand (Luther et Fiedler, 1961). Palombi et Santarelli (1961) ont écrit un ouvrage en italien sur les animaux marins d'importance commerciale. Dans la Fauna d'Italia (en italien),

Tortonese (1963, 1965) a traité des Echinodermata, des Leptocardia, des Cylostomata, des Selachii, etc. Riedl (1963) a publié, en allemand, un ouvrage sur la faune et la flore de l'Adriatique. On mentionnera également les publications suivantes en français: une traduction de l'ouvrage de Luther et Fiedler (1965a); Dieuzeide et al. (1953-55) - Catalogue des poissons des côtes algériennes et Collignon et Aloncle (1971-1973) - Catalogue raisonné des poissons des Mers marocaines. On pourra mentionner encore des textes sur la faune ibérique (Lozano Rey, 1947, 49, 52, de même les poissons marins de l'Adriatique, de Soljan (en croate) (1965), en anglais (1963), et en italien (1976).

2.1 Précautions recommandées aux fins d'une identification correcte

Bien que l'on ne prévoise aucune difficulté majeure dans l'identification des espèces, même par des personnes inexpérimentées, il serait souhaitable de conserver congelée ou dans du formol, ou de l'alcool quelques spécimens de chaque espèce recueillis, afin de permettre leur identification ultérieure par un expert. Il est facile de préparer une solution au formol en ajoutant à un litre d'eau distillée 100 ml de formol de titre analytique (45 pour cent de formaldéhyde). La solution finale devrait contenir environ 4 pour cent de formaldéhyde. La solution de conservation alcoolisée à 75 pour cent devrait être préparée avec de l'éthanol au titre analytique, dilué avec de l'eau distillée. Si l'on a besoin d'une solution alcaline de formol, la solution à 4 pour cent de formaldéhyde est saturée de bore; à cette fin on ajoute environ 7 g de bore pour 100 ml, on agite la solution jusqu'à ce que tout le bore soit dissous. Le pH, déterminé au pH-mètre devrait se situer entre 8,0 et 8,5.

On trouvera ci-après quelques indications destinées à faciliter l'identification des espèces mentionnées par la Consultation d'experts. Dans l'ensemble, une fois que l'on a acquis une certaine pratique, les différentes espèces peuvent être reconnues à première vue et il est inutile de se référer aux caractéristiques mentionnées ci-après pour les distinguer. Une personne expérimentée reconnaîtra les différentes espèces d'après une ou plusieurs caractéristiques générales, comme la forme du corps, les nageoires, etc., qu'il est moins facile de décrire et de quantifier et qui, cependant, facilitent la différenciation.

2.2 Identification des espèces de première priorité

L'identification de Mytilus galloprovincialis ne présente aucune difficulté pour des non spécialistes (Fig. 4). Bien que l'on distingue, dans les fiches FAO d'identification des espèces, entre M. galloprovincialis, M. edulis et Perna perna, on n'est pas certain si M. galloprovincialis constitue en fait une espèce distincte ou simplement une variante de M. edulis p. ex. (Riedl, 1963). On ne trouve P. perna ou Mytilus perna que le long des côtes de l'Algérie et du nord de la Tunisie et l'on ne saurait donc les confondre avec M. galloprovincialis dans les autres régions.

Carcinus mediterraneus a également une forme très typique et parfaitement caractéristique (Fig. 5), qui rend difficile toute confusion avec d'autres crabes. L'espèce la plus voisine, C. maenas, lui ressemble cependant beaucoup. On les distingue d'après les différences mineures mentionnées dans les fiches FAO d'identification; on peut d'ailleurs se demander si les deux espèces sont vraiment indépendantes ou s'il ne s'agit que de variations d'une même espèce.

L'identification de Parapenaeus longirostris demande un peu plus d'attention. Il s'agit d'une crevette Penaeidae. Il est aisé de distinguer ce groupe taxonomique des autres crevettes étant donné que les trois premières paires de membres thoraciques ou péreiopodes sont terminées par des pinces (cf. Fig. 2 pour les termes morphologiques). Afin d'éviter toute confusion avec d'autres appendices, on a avantage à compter les membres thoraciques à partir de l'extrémité postérieure de la carapace ou céphalothorax. La forme du rostre et la dent dorsale aident à distinguer P. longirostris des autres pénéidés (cf. Fig. 6 à 8).

Le genre Mullus est facile à identifier du fait de la couleur caractéristique rose-rougeâtre du dos et des côtés; il a une paire de longs barbillons sous le menton (d'autres espèces sont dotées d'un ou de quatre barbillons) et une mâchoire supérieure sans dents. La première nageoire a huit ou neuf rayons épineux et la deuxième, que se distingue de la première, un rayon épineux et huit mous. Les caractéristiques nécessaires pour distinguer M. barbatus des autres espèces analogues (ce qui n'est pas toujours facile) sont énumérées dans les fiches d'identification (Fig. 9 à 11).

Thunnus thynnus appartient aux scombridés, faciles à reconnaître aux petites nageoires situées entre la seconde nageoire dorsale et la nageoire anale et la queue (Fig. 12). T. thynnus a une forme et un aspect très typiques qui le distinguent aisément d'autres poissons. Les principales différences avec les autres scombridés voisins sont énumérées à la Fig. 12 sous le titre "Différences avec les espèces les plus similaires de la région".

L'espadon, X. gladius (Fig. 13) ne ressemble qu'au genre Tetrapturus. L'espadon n'a cependant pas de nageoires pelviennes et un seul renflement central de chaque côté du pédoncule caudal, au lieu des deux renflements que l'on observe de chaque côté de Tetrapturus. L'épée de l'espadon est d'ailleurs beaucoup plus longue et plus plate que celle du genre Tetrapturus.

2.3 Identification d'autres espèces

Trachurus trachurus a deux nageoires dorsales, la première, avec des rayons épineux, reliés par une membrane et plus haute que la seconde (Fig. 14). La principale caractéristique de tous les carangidés réside dans les deux rayons épineux reliés par une membrane à l'avant de la nageoire anale. Trachurus diffère des autres carangidés par une rangée très marquée et visible de grandes scutelles osseuses, le long de la ligne latérale, en pente au-dessus des épines anales. Les caractéristiques permettant de distinguer T. trachurus des deux autres espèces sont données à la Fig. 14.

Les sardines de la famille Clupeidae sont aisées à distinguer des anchois Engraulidae par la forme de la bouche et la minceur du corps (Fig. 15). Chez les anchois et, notamment, Engraulis encrasicolus la bouche dépasse largement l'oeil, la mâchoire supérieure est plus longue que celle des sardines, si bien que la bouche s'ouvre sous la tête (bouche "subterminale"); par contre, chez la sardine, la mâchoire inférieure est proéminente et la bouche s'ouvre vers le haut (bouche "terminale") (Fig. 15). Les différentes espèces de sardines sont plus malaisées à distinguer. Sardina pilchardus diffère des autres sardines par des saillies proéminentes rayonnant sur l'opercule de l'ouïe. La Fig. 15 récapitule les autres caractéristiques nécessaires pour distinguer S. pilchardus des autres sardines.

Merluccius merluccius se caractérise par ses deux nageoires dorsales, la première étant placée plus haut que la seconde (Fig. 16). La seconde nageoire dorsale et l'unique nageoire anale sont allongées. Il n'a pas de barbillon sous le menton. Les poissons ressemblant le plus à Merluccius sont deux espèces de Phycis, deux espèces de Molva et plusieurs espèces de Gaidropsarus. Les deux espèces de Phycis (Fig. 17) sont aisées à distinguer de Merluccius du fait de la présence de nageoires pelviennes spécifiques et d'un seul barbillon sous le menton. Les deux espèces de Molva, M. molva et M. elongata ont un corps très allongé et étroit et des nageoires ventrales très minces, ainsi qu'un seul barbillon sous le menton.

Sarda sarda est un scombridé (Fig. 18) et par conséquent possède les petites nageoires typiques entre les nageoires dorsales et anale et la nageoire caudale. On trouvera à la Fig. 12 des indications permettant de la différencier de T. thynnus. Elle est d'ailleurs aisée à reconnaître du fait de la présence de stries obliques caractéristiques.

Les fiches FAO d'identification des espèces ne contiennent aucune description de Patella, gastéropode ayant une coquille en forme de coupe ou de cône tronqué. On trouve en Méditerranée plusieurs espèces de Patella dont les caractéristiques sont décrites à la Fig. 19 qui donne également des indications pour les distinguer des espèces voisines.

2.4 Identification du phytoplancton et du zooplancton

Au cours de la réunion d'experts on a examiné la question de la surveillance continue du plancton (phytoplancton et zooplancton) capturé au filet à plancton. Etant donné que les échantillons sont très variables suivant les espèces qui les composent, l'analyse des métaux et hydrocarbures chlorés contenus dans les échantillons de plancton ne présente guère d'utilité si l'on ne donne aucune indication sur les espèces qui les composent. Il est donc absolument indispensable de conserver, aux fins d'analyse taxonomique, une partie aliquote tirée d'un échantillon bien mélangé pour être représentative. Ces analyses ne sauraient être effectuées que par des spécialistes, non seulement de la taxonomie du phytoplancton et du zooplancton, mais aussi des aspects quantitatifs de l'échantillonnage et de l'analyse du plancton (Bernhard et al., 1973). On peut identifier le phytoplancton et le zooplancton à l'aide du Manuel de planctonologie méditerranéenne de Tregouboff et Rose (1957) et de l'Introducción al estudio del plancton marino de Massuti et Margalef (1950). Neunes (1965) a publié une description simplifiée des copépodes pélagiques communs en Méditerranée, qui peut être utilisée pour l'identification des copépodes le plus largement représentés, même par des personnes relativement inexpérimentées.

PELECYPODES

(= Bivalves = Acéphales = Lamellibranches)

Morphologie generale

Mollusques à *symétrie bilatérale*. Corps sans tête distincte (Acéphales), enfermé dans une coquille à deux valves (Bivalves), articulées entre elles au niveau d'une *charnière dorsale*. Tégument formant de chaque côté un *manteau* dont la face externe sécrète et supporte la coquille; la face interne délimite la *cavité palléale*, en communication avec le milieu marin, et où baignent deux *branchies* de grande taille et lamellaires (Lamellibranches). La *masse viscérale* est ventrale ainsi que le *pied*, mobile, en forme de hache (Pélécytopodes), pouvant creuser le substrat ou coller sur des supports des filaments élastiques de fixation (*byssus*). Chez les formes fouisseuses, les deux bords externes du manteau sont soudés, sauf au niveau du pied, et forment deux *siphons* qui permettent l'entrée de l'eau dans la cavité générale (Siphon inhalant ventral) ou son rejet et celui des matières fécales à l'extérieur (Siphon exhalant ou dorsal).

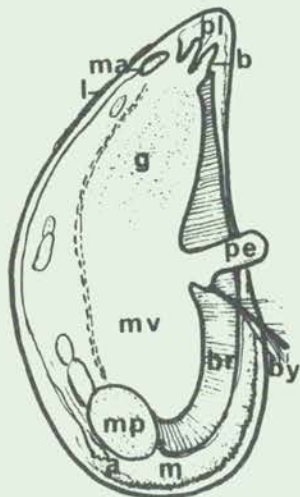


Figure 1:
Moule après ablation de la valve,
du manteau et des branchies
du côté droit

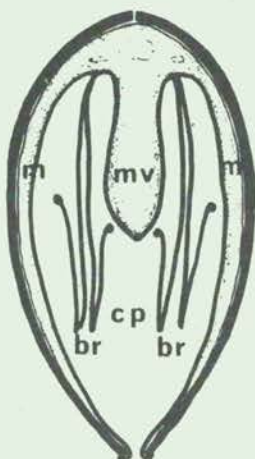


Figure 2:
Coupe transversale
dans une moule

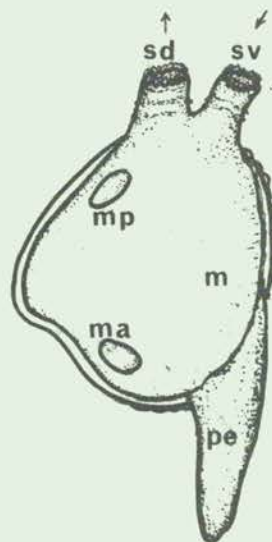


Figure 3:
Forme fouisseuse;
coupe après ablation
de la valve gauche

Légende: a = anus, b = bouche, br = branchie, by = byssus, cp = cavité palléale, g = glande digestive, l = ligament, m = manteau, ma = muscle adducteur antérieur, mp = muscle adducteur postérieur, mv = masse viscérale, pl = palpes labiaux, pe = pied, sd = siphon dorsal, sv = siphon ventral

Fig. 1 Morphologie d'un bivalve.

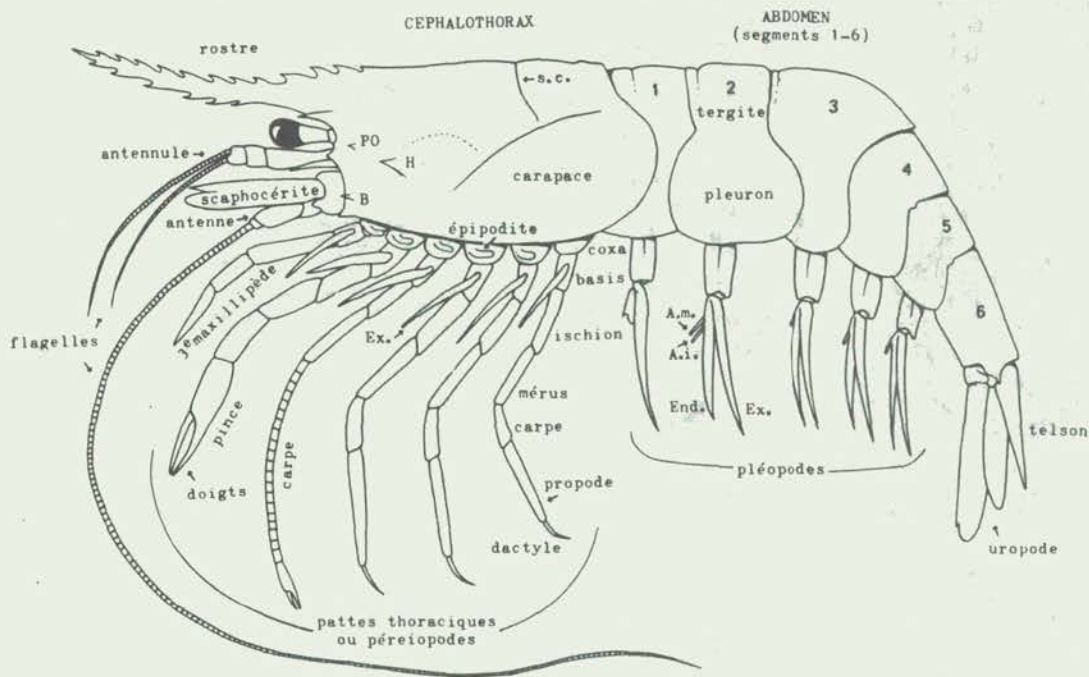
Remarques générales et terminologie

Les crustacés d'importance commerciale de la Méditerranée et de la mer Noire appartiennent à l'ordre des décapodes, à une exception près, celle des squilles qui sont des stomatopodes.

DECAPODES

Les décapodes peuvent être sommairement définis comme des crustacés possédant un corps divisé en deux régions:

- (a) Un céphalothorax doté d'yeux pédonculés et de 13 paires d'appendices, à savoir: les antennules, les antennes, les mandibules, les premières et les secondes maxilles, les premières, deuxième et troisième pattes-mâchoires (ou maxillipèdes) et les cinq paires de pattes thoraciques, dont en général une ou plusieurs (appelées alors chélipèdes), se terminent par des pinces, tandis que les autres sont locomotrices,
- (b) Un abdomen, typiquement composé de six segments dont chacun porte une paire d'appendices, et d'une pièce terminale, le telson.

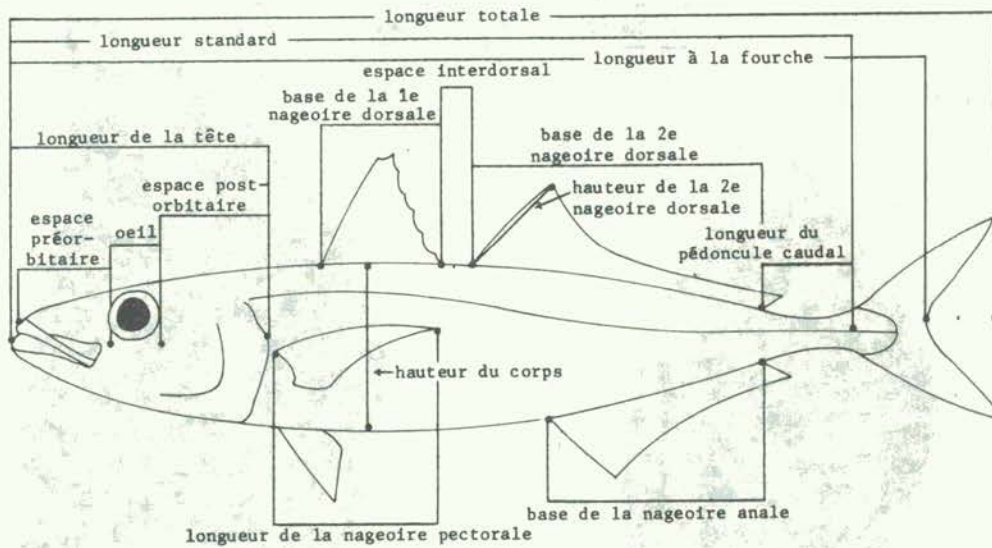


Dessin schématique d'une crevette: la terminologie employée dans les descriptions apparaît sur ce dessin explicatif qui représente un *Natantia* (crevette caride mâle). Si les homologues entre *Natantia* et *Reptantia* macroures sont évidentes, il faut tenir compte, en ce qui concerne les brachyours, d'un aspect très différent dû à la grande réduction de l'abdomen qui est rabattu sous un céphalothorax très développé et élargi.

Abréviations: s.c. = sillon cervical; B = épine branchiostège; H = épine hépatique; PO = épine post-orbitaire; Ex. = exopodite; End. = endopodite; A.i. = appendix interna; A.m. = appendix masculina

Fig. 2 Morphologie externe d'un décapode.

Principales mensurations utilisées
(plus courte distance entre les points marqués: *)



Nomenclature générale de la morphologie externe

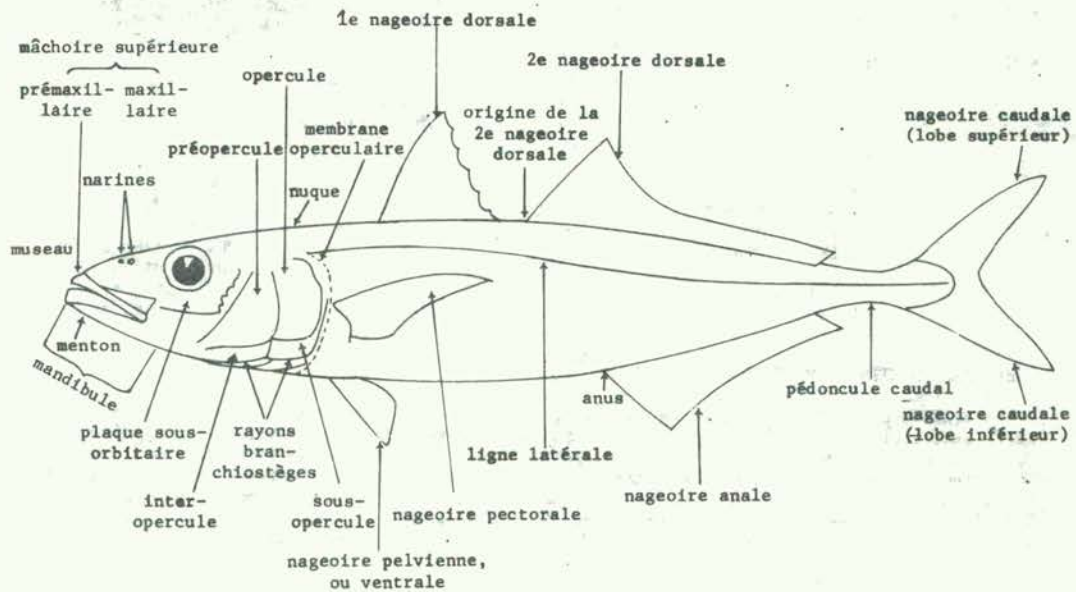


Fig. 3 Principales mensurations utilisées et nomenclature générale de la morphologie externe des poissons osseux.

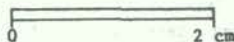
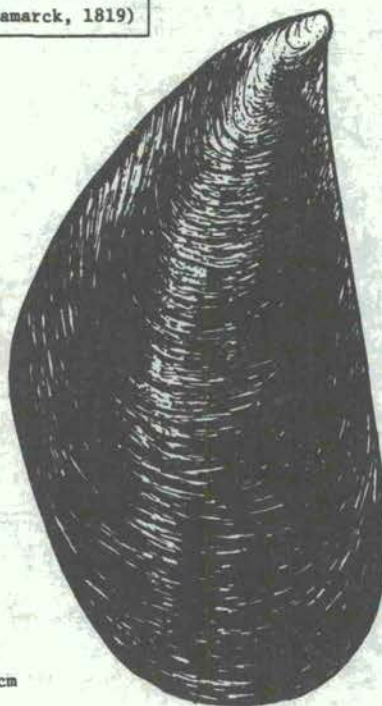
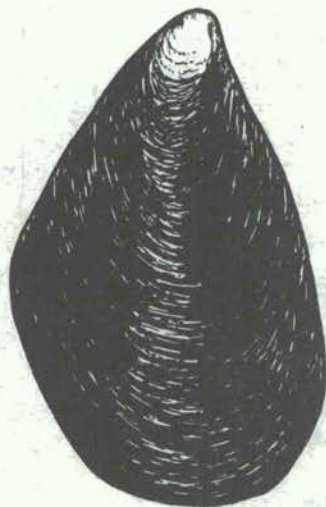
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: MYTILIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Mytilus galloprovincialis (Lamarck, 1819)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Méditerranéan mussel
Es : Mejillón mediterráneo
Fr : Moule méditerranéenne

NATIONAUX - ALBN:

ALGR: Babbouch
BULG: Cherna mida
CYPR: Mydia
EGYP: Mydia
ESPA: Mejillón
FRAN: Moule

GREC: Mýdi
ISRL: Zidpit galit
ITAL: Mítólo
LIBY: LIBY:
MALT: Masklu
MARC: Moule

MONC: Mula
ROUM: Midie
SYRI: SYRI:
TUNS: Tamar el bahr
TURQ: Midya
URSS: Midia
YOUG: Dagnja

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

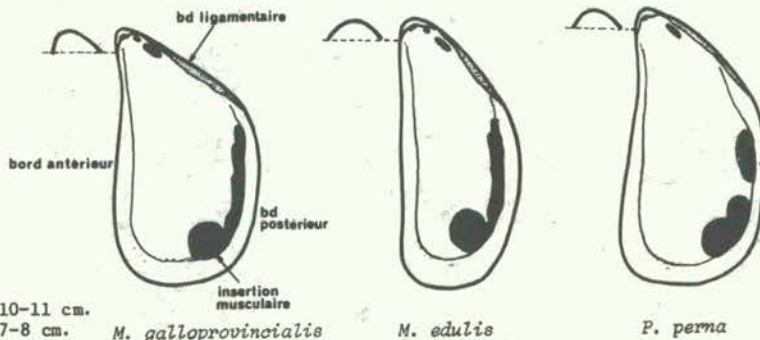
Coquille allongée, sub-quadrangulaire, équivalve, de couleur noir violacé. Crochet terminal, légèrement incurvé vers l'avant et pointu. Surface ventrale des valves aplatie en arrière du crochet. Bord ventral de la coquille droit, bord postérieur arrondi, bord ligamentaire formant un angle saillant. Insertion musculaire allongée dorsalement et postérieurement (muscles rétracteurs du pied, muscle rétracteur moyen et postérieur du byssus et muscle adducteur postérieur formant une trace circulaire). 2 petites insertions musculaires antérieures (muscle adducteur antérieur et muscle rétracteur antérieur du byssus). Intérieur des valves lisse. Charnière pourvue de 3-4 petits denticules.

Autres caractères marquants: bord du manteau de couleur violet ou violet-pourpre.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Mytilus edulis possède un bord ligamentaire moins saillant. La surface ventrale des valves n'est pas aplatie en arrière du crochet. Sa forme est souvent plus allongée et moins haute.

Perna (Mytilus) perna que l'on peut rencontrer sur le littoral de l'Algérie ou de la Tunisie du nord, possède une coquille nacrée et une trace d'insertion des rétracteurs du byssus distincte de celle du muscle adducteur postérieur.



TAILLE:

Maximum - longueur: 10-11 cm.

Commune - longueur: 7-8 cm. *M. galloprovincialis*

M. edulis

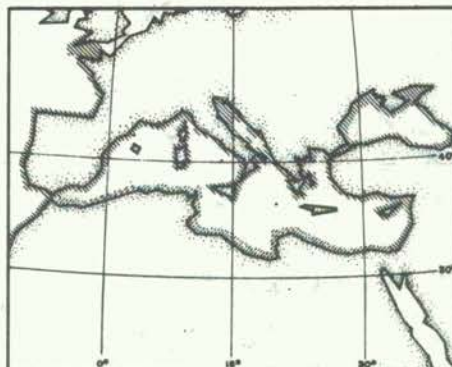
P. perna

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Espèce très commune, à vaste aire de répartition: Méditerranée occidentale et orientale (mais rare sur les côtes d'Afrique du nord) et mer Noire; également Manche occidentale, Atlantique (côtes de France, d'Espagne et du Portugal).

Elle vit à la limite supérieure et dans l'étage infralittoral, accrochée à des substrats durs (rochers, pieux, galets, digues, bouées). Sa culture (mytiliculture) est pratiquée sur une vaste échelle.

Elle se nourrit de phytoplancton et de particules organiques en suspension. Les sexes sont séparés; le cycle sexuel est très étalé dans l'année.



LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Rochers du littoral, digues ou installations portuaires dans les zones salubres.

La mytiliculture est pratiquée en Méditerranée (Espagne, France, Italie, Tunisie, Turquie, Yougoslavie) et en Atlantique. En Méditerranée les individus se fixent par leur byssus (filaments de fixation sortant par la marge antérieure) à des cordes suspendues à des parcs ou à des flotteurs.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des statistiques séparées pour cette espèce ont été recueillies en 1971 en Bulgarie, Espagne, France (8 900 tonnes), Italie (18 200 tonnes), Tunisie et Turquie, la production totale rapportée pour cette année dans la zone du CGPM s'étant élevée à 28 200 tonnes.

Elle peut être capturée sur les gisements naturels au râteau ou à la drague, mais l'essentiel de la production provient de la mytiliculture.

Sa valeur marchande est bonne. Sa chair, très estimée, est consommée crue ou cuite et se prête à de nombreuses préparations culinaires.

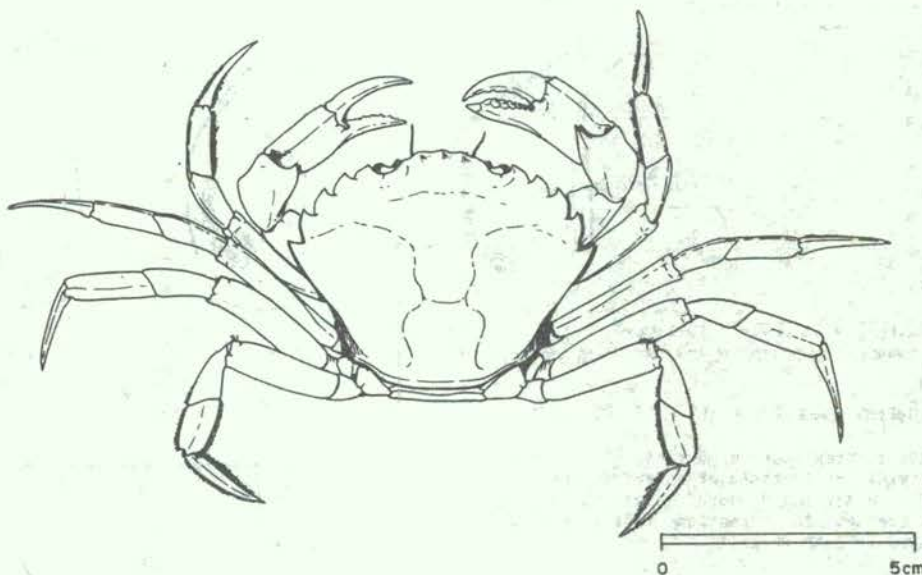
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: PORTUNIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Carcinus mediterraneus Czerniavsky, 1884

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Mediterranean shore crab
Es : Cangrejo verde del Mediterráneo
Fr : Crabe vert de la Méditerranée

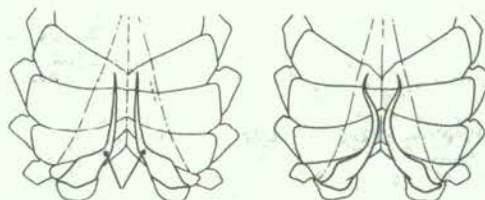
| | | |
|-----------------------|------------------------|--------------------------|
| NATIONAUX - ALBN: | GREC: Kavouras | MONC: Grita verde |
| ALGR: | ISRL: Granchio ripario | ROUM: Crab |
| BULG: Krivrak | ITAL: Granchio ripario | SYRI: Oum jniba |
| CYPR: Kavouros | LIBA: Granc tal-marsa | TUNS: Çingene pavuryasif |
| EGYP: Cangrejo de mar | MALT: Crabe | TURQ: İravjanoî kzab |
| ESPA: Cangrejo de mar | | URSS: Kosmej susa |
| FRAN: Crabe vert | | |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Carapace céphalothoracique hexagonale, à face dorsale lisse, faiblement pileuse et à relief présentant de faibles bosselures; bord frontal découpé en 3 lobes dont le médian est légèrement proéminent; bords antéro-latéraux découpés en 5 dents (angle orbitaire inclus), dont la dernière est la plus aiguë. Chélicères robustes, légèrement dissymétriques, lisses, avec une seule dent forte et aiguë sur la région antérieure du carpe. Pattes ambulatoires longues et assez grêles; dernière paire avec le propode plus aplati que celui des pattes précédentes et avec le dactyle également aplati et lancéolé. Coloration variable; la face dorsale est souvent d'un vert foncé chez les adultes, alors que la face ventrale est teintée de jaune ou de rouge.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Cette espèce a été confondue, jusqu'à une époque récente, avec l'espèce atlantique très commune et très anciennement connue, *Carcinus maenas*. Les deux espèces, très proches, se distinguent par une série de caractères relativement minimes: carapace granuleuse et un peu plus large, dents antéro-latérales moins aiguës, pilosité très faible chez *C. maenas*. Cependant, les mâles adultes présentent une différence frappante: la première paire de pléopodes sexuels, bien visibles lorsqu'on soulève l'abdomen, sont droits et parallèles chez *C. mediterraneus*, fortement arqués et divergents chez *C. maenas*.



pléopodes

C. mediterraneus
mâle

C. maenas
mâle

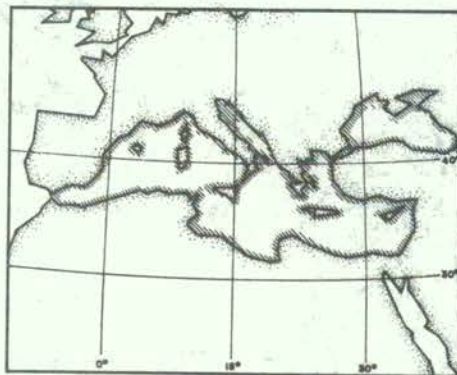
TAILLE:

Maximum: 5 cm de longueur sur 6 cm de largeur environ.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est présente dans toute la Méditerranée y compris la mer Noire. En Atlantique, elle est signalée aux Canaries. Il est à noter par contre que *C. maenas* est principalement présent dans l'Atlantique oriental, de la Norvège à la Mauritanie.

Elle se trouve en eau de mer peu profonde, dans les lagunes, et les étangs saumâtres.



LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Zones côtières du plateau continental.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des statistiques de pêche pour cette espèce ne sont recueillies qu'en Espagne (1971: 100 tonnes). Les captures totales de "crabes de mer divers" rapportées en 1971 pour la Méditerranée et la mer Noire se sont élevées à 800 tonnes.

Elle est capturée à la senne de plage, au chalut et aux casiers.

Elle est commercialisée fraîche.

PEN Parap 1

1972

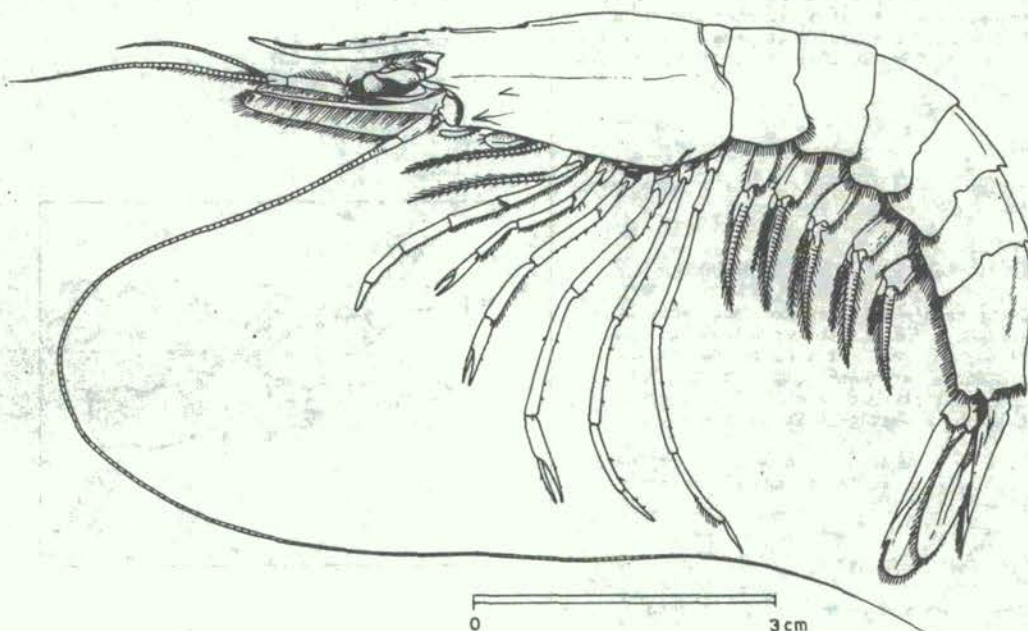
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: PENAEIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Parapenaeus longirostris (Lucas, 1846)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Deep-water pink shrimp
Es : Gamba de altura
Fr : Crevette rose du large

| | | |
|---------------------|---------------------|---------------------|
| NATIONAUX - ALBN: | GREC: Garidáki | MONC: |
| ALGR: | ISRL: Bar-penon | ROUM: |
| BULG: | ITAL: Gambero rosa | SYRI: |
| CYPR: Garida | LIBA: Kraides | TUNS: Gambri abiedh |
| ECYP: Gamberi agouz | LIBY: Gambari ahmar | TURQ: Karides |
| ESPA: Gamba | MALT: Gamblu mezzan | URSS: Krevetka |
| FRAN: Crevette rose | MARC: Crevette rose | YOUG: Kozica golema |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Carapace recouverte d'une très courte pubescence peu visible. Une ligne de suture s'étend sur toute la longueur des faces latérales, dans le prolongement de l'oeil. *Rostre sinuoux*, légèrement incliné vers le bas dans sa région proximale, mais dont la pointe est recourbée vers le haut; son bord inférieur est inerme, alors que son bord supérieur présente de 7 à 8 dents; une autre dent dorsale est implantée loin en arrière, sur la carène post-rostrale qui s'étend presque jusqu'au bord postérieur de la carapace. Epine hépatique présente.

Fig. 6 Fiche d'identification de Parapenaeus.

Autres caractères marquants: segments abdominaux I à III sans carène; segments IV à VI avec une carène dorsale de plus en plus marquée, chacun armé d'une petite dent postérieure aiguë. Telson avec une forte dépression longitudinale sur sa face dorsale. Les deux flagelles antennulaires sont longs.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

La forme du rostre et la disposition des dents rostrales distinguent immédiatement cette espèce des autres pénéides méditerranéens; la présence, sur la région antérieure de la carapace d'une dent dorsale isolée, éloignée des dents rostrales proprement dites, est aussi tout à fait caractéristique.

TAILLE:

Maximum: 12 cm; commune: 8 à 10 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est connue dans toute la Méditerranée et la mer de Marmara; elle est absente de la mer Noire. Dans l'Atlantique elle est présente, à l'est, du Portugal à l'Angola, et à l'ouest, du Massachusetts au Venezuela.

Elle vit surtout sur des fonds vaseux à sablo-vaseux, entre 100 et 400 m, mais on peut la rencontrer entre 50 et 700 m.

LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Plateau continental et talus.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Cette espèce ne fait pas l'objet de statistiques séparées. Des chiffres pour la catégorie statistique "crevettes" sont cependant recueillis en Algérie, Egypte, Espagne (1971: 2 200 tonnes), France, Grèce, Italie (1971: 9 800 tonnes), Maroc, Tunisie et Turquie. Le total rapporté par ces pays en 1971 pour la Méditerranée et la mer Noire s'est élevé à 17 500 tonnes.

Elle est capturée au chalut.

Elle est commercialisée fraîche.



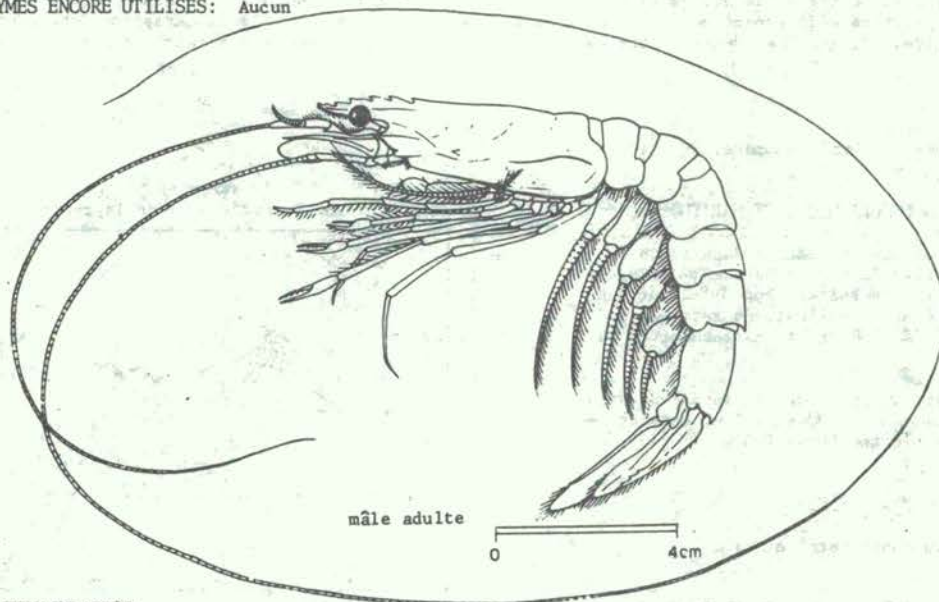
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: PENAEIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Aristeomorpha foliacea (Risso, 1827)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Giant red shrimp
Es : Langostino moruno
Fr : Crevette rouge

NATIONAUX - ALBN:

ALGR: Kam'rûn

BULG:

CYPR: Garida

EGYP:

ESPA: Langostino moruno

FRAN: Crevette rouge

GREC: Garída

ISRL: Ariston adom

ITAL: Gambero rosso

LIBA:

LIBY:

MALT: Gamblu tal-fond

MARC: Crevette royale

MONC: Gambaru de fundu

ROUM:

SYRI:

TUNS: Gambri ahmar

TURQ: Karides

URSS:

YOUG: Kozika crvena

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Carapace recouverte d'une courte pubescence; une carène saillante longeant le bord inférieur de ses faces latérales et une autre carène latérale, légèrement oblique, sur la moitié postérieure.

Chez les femelles et les jeunes mâles, rostre long, styloforme, fortement recourbé vers le haut avec, sur le bord dorsal, 5 ou 6 dents assez fortes dans la région proximale, et quelques denticules plus petits qui s'étendent jusqu'au voisinage de l'apex. Chez les mâles adultes, rostre beaucoup plus court portant seulement les 5 ou 6 dents correspondant aux dents proximales observées chez les femelles. Epine hépatique forte. Coloration rouge vineux, teinté de violacé sur la partie dorsale de la carapace.



Aristeomorpha foliacea
rostre de la femelle
et du jeune mâle

Autres caractères marquants: Segments abdominaux I et II non carénés; les suivants portent une carène dorsale de plus en plus marquée, se prolongeant vers l'arrière par une petite dent. Telson avec un sillon longitudinal médian. Antennule avec le flagelle supérieur court et aplati.

DIFFERENCES AVEC LES ESPÈCES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Parapenaeus longirostris est le seul pénéide méditerranéen avec lequel *Aristeomorpha foliacea* présente une certaine ressemblance. Cette ressemblance ne porte d'ailleurs que sur les femelles et les jeunes mâles, car les mâles adultes de *A. foliacea* ont un rostre beaucoup plus court que celui de *P. longirostris*. De toute façon, l'absence de dent dorsale isolée chez *A. foliacea* distingue immédiatement cette espèce de l'autre qui, en outre, présente une coloration rosée.

Une espèce apparentée, *Aristeus antennatus* présente le même dimorphisme sexuel en ce qui concerne l'allongement du rostre; celui-ci cependant est armé de 3 dents seulement chez cette espèce, au lieu de 5 ou 6 chez *A. foliacea*; cette dernière est d'une teinte rouge vineux moins sombre que la première.

TAILLE:

Maximum: 22 cm; commune: 15 à 18 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est connue dans toute la Méditerranée mais est absente de la mer Noire. On la trouve dans l'Atlantique oriental, depuis le golfe de Gascogne jusqu'au Rio de Oro. Elle est également signalée en Afrique du Sud, au Japon et en Australie.

Elle vit sur des fonds de vase, généralement entre 250 et 350 mètres; elle a cependant été capturée jusqu'à 1 300 mètres de profondeur.

LIUX DE PECHE ACTUELS:

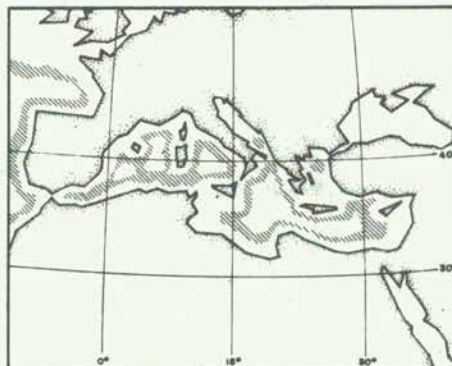
Zones profondes du plateau continental et talus.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Cette espèce ne fait pas l'objet de statistiques séparées. Des chiffres pour la catégorie statistique "crevettes" sont cependant recueillis en Algérie, Egypte, Espagne (1971: 2 200 tonnes), France, Grèce, Italie (1971: 9 800 tonnes), Maroc, Tunisie et Turquie. Le total rapporté par ces pays en 1971 pour la Méditerranée et la mer Noire s'est élevé à 17 500 tonnes.

Elle est capturée au chalut.

Elle est commercialisée fraîche.



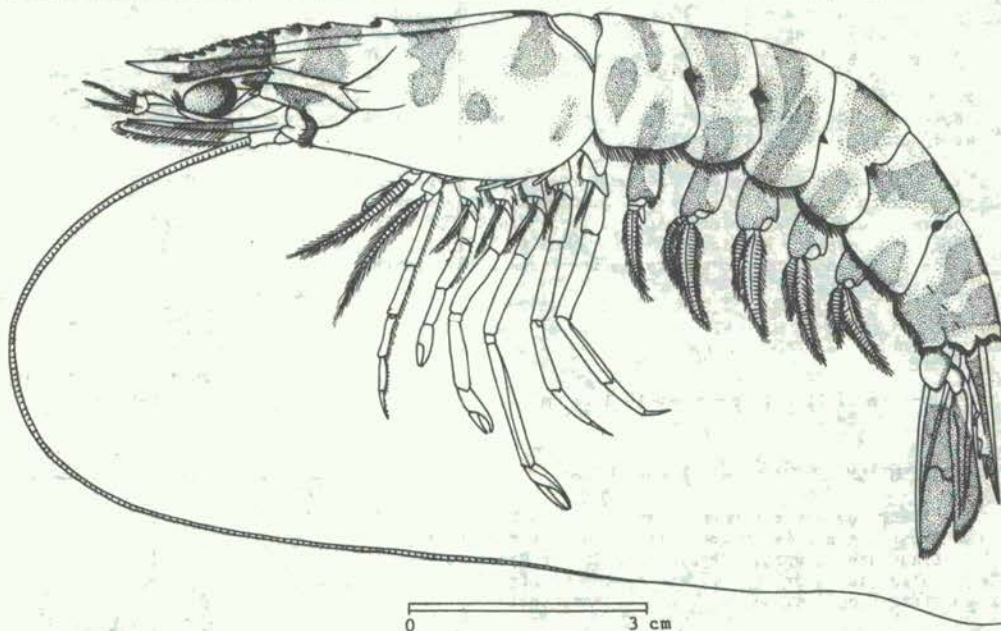
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: PENAEIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Penaeus kerathurus (Forskål, 1775)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: *Penaeus trisulcatus* Leach, 1815



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Triple-grooved shrimp
Es : Langostino
Fr : Caramote

| | | |
|----------------------|--------------------------|----------------------|
| NATIONAUX - ALBN: | GREC: Garída | MONC: Gambaru grossu |
| ALGR: Caramote | ISRL: Penon telat-harizi | ROUM: |
| BULG: | ITAL: Mazzancolla | SYRI: Kreidès |
| CYPR: | LIBA: | TUNS: Gambri kbeir |
| EGYP: Gambari azzari | LIBY: Gambari | TURQ: Karides |
| ESPA: Langostino | MALT: Gamblu mperjali | URSS: Krevetka |
| FRAN: Caramote | MARC: Bouquet | YOUG: |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Carapace céphalothoracique fortement calcifiée, creusée de gouttières sur la région dorsale et sur la moitié antérieure des faces latérales. Rostre fort, dépassant quelque peu les yeux, armé d'une dent ventrale et d'une dizaine de dents dorsales qui s'étendent jusqu'au milieu de la carapace; en arrière de la dernière dent, la carène médiane se dédouble, déterminant une rainure étroite. De part et d'autre de la ligne médiane, s'étend une crête haute et aiguë qui se prolonge sur le rostre; on observe ainsi sur toute la longueur de la carapace deux profondes gouttières dorsales. Epine hépatique présente. Coloration du corps caractérisée par des bandes ou taches transverses sombres sur un fond plus clair.



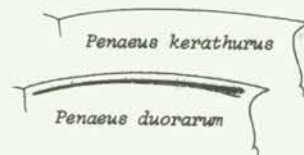
Penaeus kerathurus
vue dorsale de la carapace et du rostre

Autres caractères marquants: segments abdominaux I à III sans carène; segments IV à VI avec une carène de plus en plus aiguë, celle du segment VI se terminant en une petite dent. Telson avec une gouttière dorsale déterminée par une paire de carènes longitudinales aiguës. Les deux flagelles antennulaires sont très courts.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Les autres pénéidés méditerranéens se distinguent de *Penaeus kerathurus* par leur coloration, par l'absence d'une dent sur le bord inférieur du rostre, d'une carène rostrale dédoublée dans sa région postérieure, et d'une paire de carènes secondaires parallèles à la ligne médiane.

P. duorarum, espèce commune dans l'Atlantique tropical africain, diffère de *P. kerathurus* par la présence d'un sillon profond de part et d'autre de la carène dorsale du segment abdominal VI.



6ème segment abdominal
(vue latérale)

TAILLE:

Maximum: 20 cm environ; commune 14 à 16 cm.

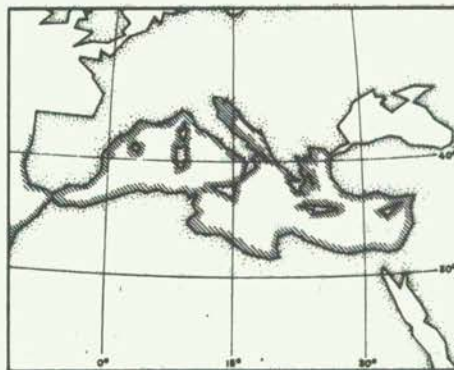
DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est connue dans toute la Méditerranée et l'Atlantique oriental, du Portugal à l'Angola. Elle est absente de la mer Noire.

Elle vit en eau relativement peu profonde, jusqu'à 50 à 70 m environ, sur des fonds de sables vaseux.

LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Plateau continental et, souvent, au voisinage des estuaires, à l'intérieur desquels pénètrent les formes juvéniles.



CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des statistiques séparées pour cette espèce ne sont rapportées que par l'Espagne (100 tonnes) et l'Italie (3 900 tonnes), chiffres de 1971. Cependant, d'autres pays peuvent l'inclure dans la catégorie statistique "crevettes" dont les captures rapportées pour la Méditerranée et la mer Noire en 1971 se sont élevées à 17 500 tonnes.

Elle est capturée au chalut et, rarement, aux casiers.

Elle est commercialisée fraîche.

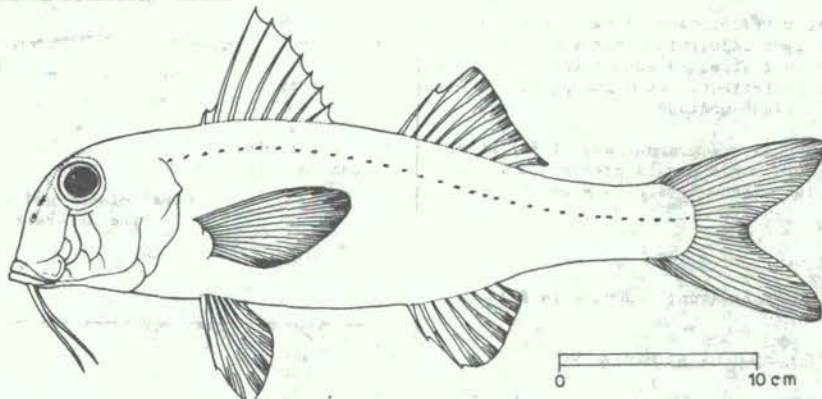
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: MULLIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Mullus barbatus Linnaeus, 1758

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Striped mullet
Es : Salmonete de fango
Fr : Rouget barbet

| | | |
|--------------------------|----------------------------|----------------------------|
| NATIONAUX - ALBN: | GREC: Koutsomoúra | MONC: Treglia d'arga |
| ALGR: Mlâl el khez | ISRL: Mulit adumma | ROUM: Barbun |
| BULG: Bârbunja | ITAL: Triglia di fango | SYRI: Sultan ibrahim ramli |
| CYPR: Strillia | LIBA: Sultan ibrahim ramli | TUNS: Mellou |
| EGYP: Barbouni | LIBY: Trilja tal-hama | TURQ: Barbunya |
| ESPA: Salmonete de fango | MALT: Rouget | URSS: Sultanka |
| FRAN: Rouget barbet | | YOUG: Trija od blata |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Tête haute et courte (sa longueur est comprise 4,8 à 5 fois dans la longueur totale); deux longs barbillons sous le menton; profil antérieur de la tête presque vertical; bouche atteignant le niveau des yeux; sous l'orbite deux grandes écailles précédées d'une plus petite (écailles suborbitaires); mâchoire supérieure sans dents; dos et flancs rose rougeâtre sans bandes horizontales jaunes; première nageoire dorsale sans pointes ou bandes foncées.

Autres caractères marquants: corps assez comprimé latéralement; deux nageoires dorsales bien séparées, la première avec 8, parfois 9, rayons épineux, la seconde pourvue d'un seul rayon épineux et de 8 rayons mous; écailles grandes et facilement détachables.

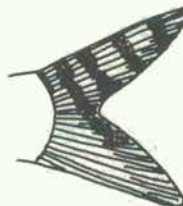
DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Mullus surmuletus: diffère de *M. barbatus* par le profil antérieur de la tête plus oblique, la longueur de la tête comprise 4 à 4,3 fois dans la longueur totale, la bouche qui n'atteint pas le niveau des yeux, la présence de seulement 2 écailles suborbitaires, de bandes jaunes au niveau inférieur des flancs et de points et bandes noirs sur la première nageoire dorsale.



Fig. 9 Fiche d'identification de Mullus barbatus.

Upeneus moluccensis et *U. asymmetricus*: différent de *M. barbatus* par la présence de dents à la mâchoire supérieure et de bandes obliques foncées sur la nageoire caudale.



U. moluccensis

TAILLE:

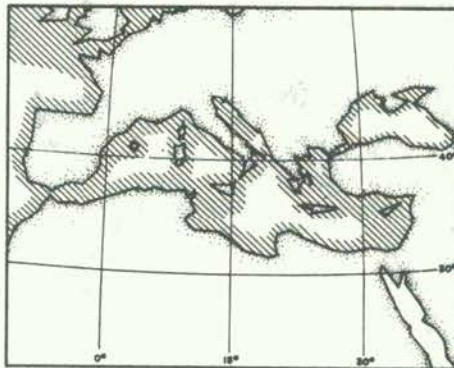
Maximum: 30 cm; commune: 10 à 15 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est très commune dans les eaux côtières de toute la Méditerranée, la mer Noire et la mer d'Azov. La population de la mer Noire et de la mer d'Azov est considérée comme appartenant à une sous-espèce (*M. barbatus ponticus*). Elle est présente dans l'Atlantique est, des îles britanniques aux côtes du Sénégal.

Elle vit généralement sur les fonds sableux et vaseux peu profonds mais on peut la pêcher parfois jusqu'à 300 m de profondeur.

Elle se nourrit surtout de petits invertébrés benthiques (crabes, vers, etc.).



LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Plateau continental, sur les fonds chalutables entre 20 et 200 m de profondeur.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

M. barbatus et *M. surmuletus* sont inclus dans une même catégorie statistique: Chypre, Egypte (1967: 1 500 tonnes), Espagne (1970: 2 200 tonnes), France, Grèce, Italie (1970: 7 600 tonnes), Israël, Malte, Tunisie (1967: 9 700 tonnes), Turquie (1969: 3 500 tonnes), URSS et Yougoslavie; le total rapporté pour la zone du CGPM est estimé pour 1970 à 28 600 tonnes.

M. barbatus est capturé au chalut et parfois à la senne de plage et au filet maillant.

Il est commercialisé frais ou congelé; sa chair est très estimée.

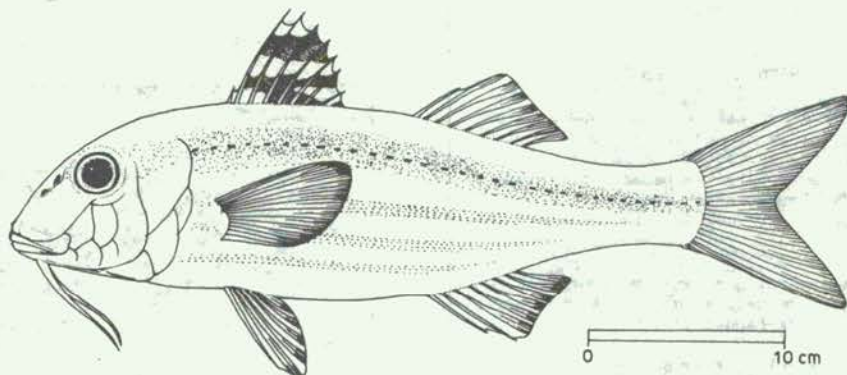
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: MULLIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Mullus surmuletus Linnaeus, 1758

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Red mullet
Es : Salmonete de roca
Fr : Rouget de roche

| | | |
|-------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| NATIONAUX - ALBN: | GREC: Barbouni | MONC: Treglia de scoegliu |
| ALGR: Mlal el hjar | ISRL: Muliit happassim | ROUM: |
| BULG: Pastra barbunja | ITAL: Triglia di scoglio | SYRI: Sultan ibrahim sakhri |
| CYPR: Barbouni | LIBA: Sultan ibrahim sakhri | TUNS: Mellou |
| EGYP: Barbouni | LIBY: Barbouni | TURQ: Tekir |
| ESPA: Salmonete de roca | MALT: Trilja tal-qawwi | URSS: Barbunya |
| FRAN: Rouget de roche | MARC: Rouget | YOUG: Trija od kamena |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Tête haute et courte (sa longueur est comprise 4 à 4,3 fois dans la longueur totale); deux longs barbillons sous le menton; bouche n'atteignant pas le niveau du bord antérieur de l'oeil; mâchoire supérieure sans dents; sous l'orbite deux grandes écailles (écailles suborbitaires); dos et flancs rougeâtres à rouge écarlate; des bandes jaunes horizontales au niveau inférieur des flancs.

Autres caractères marquants: corps assez comprimé latéralement; deux nageoires dorsales bien séparées, la première avec, le plus souvent, 8 rayons épineux, la seconde avec 1 rayon épineux et 8 rayons mous; écailles grandes et facilement détachables.

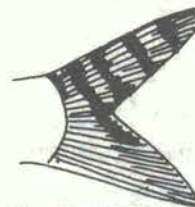
DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Mullus barbatus: diffère de *M. surmuletus* par le profil antérieur de la tête presque vertical; la longueur de la tête comprise 4,8 à 5 fois dans la longueur totale; la bouche qui atteint le niveau des yeux, la présence de 3 écailles suborbitaires (2 grandes précédées d'une petite) et l'absence de bandes jaunes sur les flancs et de points ou rayures foncés sur la première nageoire dorsale.



Fig. 10 Fiche d'identification de Mullus surmuletus.

Upneus moluccensis et *U. asymmetricus*: différent de *M. surmuletus* par la présence de dents à la mâchoire supérieure et de bandes obliques foncées sur la nageoire caudale.



U. moluccensis

TAILLE:

Maximum: 40 cm; commune: 10 à 25 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

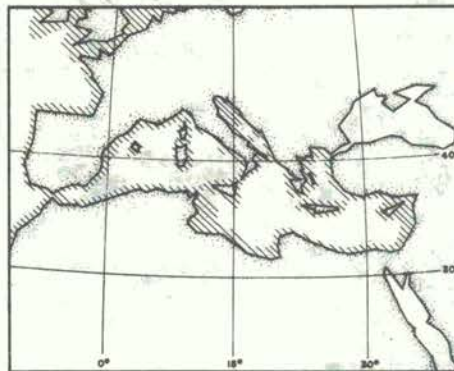
Cette espèce est commune dans les eaux côtières de toute la Méditerranée et dans l'Atlantique est, des îles britanniques au Sénégal. Elle est absente de la mer Noire.

Elle fréquente les fonds sableux, graveleux et rocheux jusqu'à 90 m de profondeur.

Elle se nourrit de petits invertébrés benthiques et de petits poissons.

LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Eaux côtières peu profondes du plateau continental.



CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

M. surmuletus et *M. barbatus* sont inclus dans une même catégorie statistique: Chypre, Egypte (1967: 1 500 tonnes), Espagne (1970: 2 200 tonnes), France, Grèce, Italie (1970: 7 600 tonnes), Israël, Malte, Tunisie (1967: 9 700 tonnes), Turquie (1969: 3 500 tonnes), URSS et Yougoslavie; le total rapporté pour cette catégorie en 1970 s'est élevé à 28 600 tonnes.

M. surmuletus est capturé au chalut, au filet maillant, à la senne de plage et à la nasse.

Sa chair, très estimée, est commercialisée fraîche ou congelée.

MULL Upen 1

1971

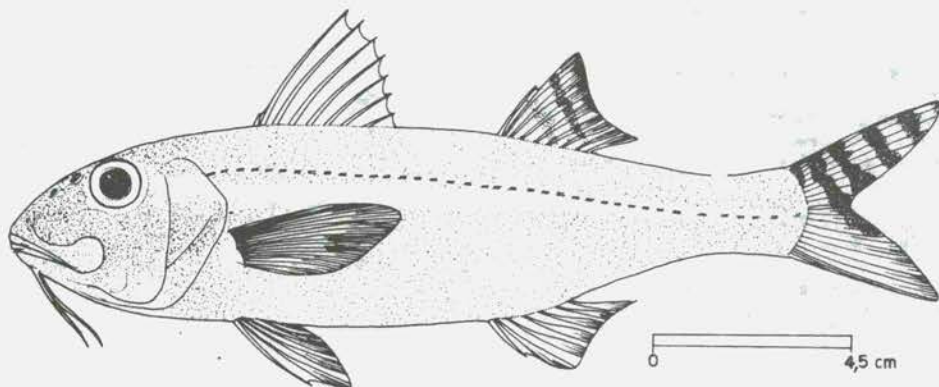
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: MULLIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Upeneus moluccensis (Bleeker, 1855)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Goldband goatfish
Es : Salmonete de banda dorada
Fr : Rouget de roche

| | | |
|-----------------------|------------------------------|----------------------|
| NATIONAUX - ALBN: | GREC: Lochias | MONC: |
| ALGR: | ISRL: Uppon zehuv pas | ROUM: |
| BULG: | ITAL: Triglia dorata | SYRI: |
| CYPR: Turko barbouno | LIBA: Sultan ibrahim yahoudi | TUNS: |
| EGYP: | LIBY: | TURQ: Nil barbunyasi |
| ESPA: | MALT: Trilja tal-lvant | URSS: |
| FRAN: Rouget de roche | MARC: | YOUG: |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Tête présentant deux longs barbillons sous le menton; profil supérieur de la tête faiblement déclive, museau arrondi; mâchoires supérieure et inférieure garnies de petites dents coniques; corps argenté avec une bande jaune très nette s'étendant de l'œil à la base de la nageoire caudale; nageoire caudale ornée de bandes obliques foncées.

Autres caractères marquants: corps allongé, peu comprimé latéralement; deux nageoires dorsales nettement séparées, la première avec un petit rayon épineux suivi de 7 longs rayons, la seconde avec 1 épine et 8 rayons mous.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Mullus barbatus et *M. surmuletus*: diffèrent de *U. moluccensis* par l'absence de dents à la mâchoire supérieure et de bandes foncées obliques sur la nageoire caudale, et par le profil antéro-supérieur de la tête plus accentué.

Upeneus asymmetricus diffère de *U. moluccensis* par l'absence d'une bande jaune sur les flancs du corps et d'une petite épine à la première nageoire dorsale.

TAILLE:

Maximum: 24 cm; commune: 10 à 15 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

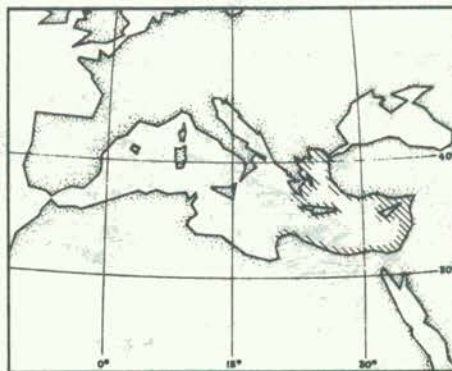
Cette espèce est commune dans les eaux peu profondes de l'est de la Méditerranée. Elle est absente de la mer Noire. Elle a immigré depuis la mer Rouge par le canal de Suez, son aire de distribution normale étant l'océan Indien et le Pacifique ouest.

Elle fréquente les fonds sableux et vaseux jusqu'à 100 m de profondeur au maximum.

Elle se nourrit de petits invertébrés benthiques.

LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Eaux côtières peu profondes du plateau continental, sur les fonds chalutables entre 10 et 80 mètres de profondeur.



CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des statistiques séparées ne sont pas recueillies pour cette espèce dans la zone du CGPM. Pourtant on peut estimer qu'elle représente 10 à 40 pour cent des mullidés pêchés dans la Méditerranée orientale.

Elle est surtout capturée au chalut, mais aussi au filet maillant et à la senne de plage.

Elle est commercialisée fraîche ou congelée.

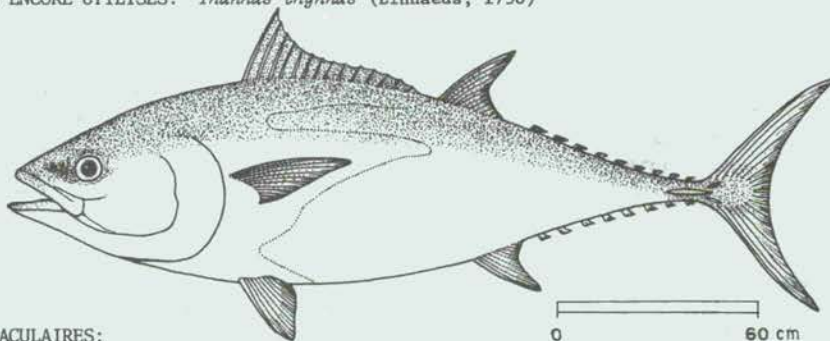
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: SCOMBRIDAE (THUNNIDAE)

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Thunnus thynnus thynnus (Linnaeus, 1758)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: *Thunnus thynnus* (Linnaeus, 1758)



NOMS VERNACULAIRES:

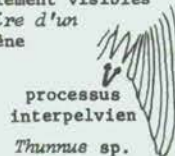
FAO - An : Bluefin tuna, Northern Atlantic
Es : Atún, Atlántico Norte
Fr : Thon rouge, Atlantique nord

| | | |
|-------------------|--------------------|-----------------|
| NATIONAUX - ALBN: | GREC: Tònnos | MONC: Tunu |
| ALGR: Tunn | ISRL: Tunna kehula | ROUM: Ton |
| BULG: Tunets | ITAL: Tonno | SYRI: Toumahmar |
| CYPR: Tonos | LIBA: | TUNS: Toumahmar |
| EGYP: Tonn | LIBY: Tonn | TURQ: Orkinos |
| ESPA: Atún | MALT: Tonn | URSS: Tunets |
| FRAN: Thon rouge | MARC: Thon | YOUG: Tun |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Grand poisson fusiforme à section transversale presque circulaire, très robuste en avant; des pinnules en arrière de la seconde nageoire dorsale et de la nageoire anale; deux nageoires dorsales séparées seulement par un court espace, la seconde étant plus haute que la première; nageoires pectorales courtes n'atteignant jamais le niveau de l'espace séparant les deux nageoires dorsales; corselet (région située en arrière de la tête et autour des nageoires pectorales recouverte d'écailles grandes et épaisses) bien développé mais pas particulièrement distinct; les autres parties du corps sont recouvertes de très petites écailles; de chaque côté du pédoncule caudal, une forte carène médiane entre deux plus petites situées à la base des lobes caudaux; dos bleu foncé ou noir; partie inférieure des flancs et ventre blanc argenté avec des lignes transversales ternes alternant avec des rangées de points eux-même ternes (les points dominant chez les vieux spécimens) seulement visibles sur les spécimens frais; première nageoire dorsale jaune ou bleuâtre, seconde nageoire d'un brun rougeâtre; nageoire anale et pinnules d'un jauné sombre, bordées de noir; carène latérale noire chez les adultes.

Autres caractères marquants: 9 à 10 pinnules dorsales et 8 à 9 anales; yeux petits; deux petits prolongements (processus interpelvien) entre les nageoires pelviennes; immatures plus élancés que les adultes.



DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

T. alalunga diffère de *T. t. thynnus* par la grande longueur de ses pectorales qui dépassent vers l'arrière l'extrémité postérieure de la seconde nageoire dorsale, par sa taille plus petite, un nombre inférieur de pinnules et sa couleur, particulièrement la nageoire caudale bordée de blanc.

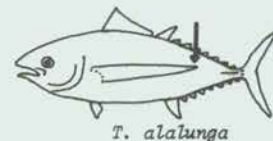


Fig. 12 Fiche d'identification de Thunnus thynnus.

Euthynnus alletteratus diffère de *T. t. thynnus* par sa seconde nageoire dorsale qui est nettement plus basse que la première, par la présence de seulement 8 pinnules dorsales et 7 anales, l'absence d'écailles en arrière du corselet et par son dos rayé.

Katsuwonus pelamis diffère de *T. t. thynnus* par la présence de bandes longitudinales sombres, très caractéristiques, sur la partie inférieure des flancs.



K. pelamis

Oreynopsis unicolor diffère de *T. t. thynnus* par son corps comprimé latéralement, la couleur de sa première nageoire dorsale, noire et blanche, et la forme (droite ou convexe) de cette nageoire.

Sarda sarda diffère de *T. t. thynnus* par son dos rayé et le plus grand développement de sa mâchoire supérieure qui atteint au moins le bord postérieur de l'oeil.

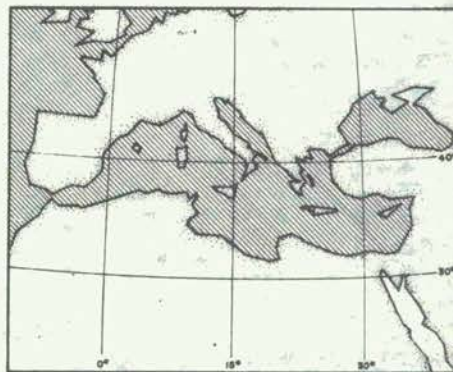
Les espèces des genres *Auris* et *Scomber* diffèrent de *T. t. thynnus* par le grand espace séparant les nageoires dorsales, espace au moins égal à la longueur de la base de la première nageoire dorsale.

TAILLE:

Maximum: plus de 300 cm; commune: 40 à 200 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est présente dans toute la Méditerranée et la mer Noire; commune surtout sur les côtes nord-africaines, de Gibraltar à la Libye, au large des côtes d'Espagne et de France, autour de la Sicile et de la Sardaigne, dans le Bosphore et la mer Noire. Largement répartie dans l'océan Atlantique oriental, cette espèce est présente vers le nord jusque sur les côtes de Terre-Neuve et celles septentrionales d'URSS, de Norvège, des îles Lofoten et de l'Islande.



Ce poisson pélagique, bon nageur, est connu pour les migrations transocéaniques qu'il effectue; les jeunes individus forment généralement des bancs, quelquefois avec d'autres espèces de scombridés de même taille; les immatures ne fréquentent que les eaux chaudes, tandis que les adultes pénètrent dans les eaux froides pour se nourrir.

En dehors de la période de ponte c'est un prédateur vorace qui se nourrit de toutes sortes de poissons, crustacés et mollusques.

LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Eaux superficielles côtières et du large.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des données statistiques concernant cette espèce sont recueillies en Algérie, Espagne, France (1971: 1 800 tonnes), Grèce, Italie (1971: 3 000 tonnes), Libye, Malte, Tunisie, Turquie et Yougoslavie; les quantités pêchées en 1971 par ces pays dans la zone du CGPM se sont élevées à 8 000 tonnes.

Elle est capturée dans les madragues des côtes d'Afrique du nord, du sud de l'Espagne, de la Sicile et de la Sardaigne; en pleine mer on la pêche à la traîne, à la palangre et à la senne tournante.

Sa chair très estimée est commercialisée essentiellement sous forme de conserve mais aussi fraîche.

XIPH Xiph 1

1971

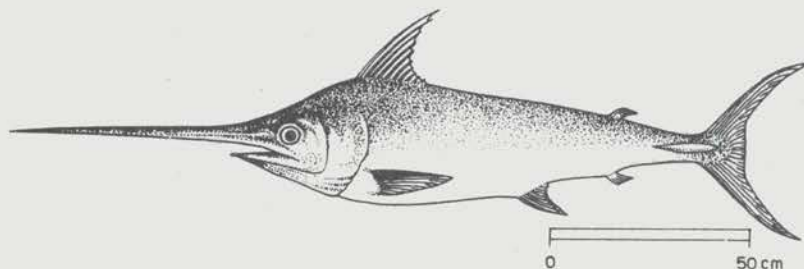
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: XIPHIIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Xiphias gladius Linnaeus, 1758

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Broadbill swordfish
Es : Pez espada
Fr : Espadon

NATIONAUX - ALBN:

ALGR: Pissi spada
BULG: Mechenosets
CYPR: Xiphias
EGYP: Om sheraa
ESPA: Pez espada
FRAN: Espadon

GREC: Xiphids

ISRL: Dac haherev
ITAL: Pesce spada
LIBA: Sinka
LIBY: Saif
MALT: Pixxispad
MARC:

MONC: Pisciu spada

ROUM: Peste spada
SYRI: Kharrayé
TUNS: Bou sif
TURQ: Kilic baligi
URSS: Mech-riba
YOUG: Igo

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Grand poisson caractéristique à corps de section circulaire, très robuste en avant; mâchoire supérieure prolongée en un long rostre aplati semblable à une épée; jeunes spécimens avec des écailles sur le corps; une seule nageoire dorsale et une seule nageoire anale, chacune d'elles se séparant en deux parties distinctes lorsque le poisson grandit; grands spécimens dépourvus d'écailles et présentant une nageoire dorsale et une nageoire anale composée chacune de deux parties bien séparées, la partie antérieure assez courte et très haute, la partie postérieure petite et basse; nageoires pelviennes absentes; une seule forte carène médiane de chaque côté du pédoncule caudal; dos et partie supérieure des flancs brun-noirâtre; partie inférieure des flancs et ventre brun clair.

Autres caractères marquants: la forme de la nageoire caudale change également au cours de la croissance; elle est tronquée chez les très jeunes (jusqu'à 20 cm de longueur) puis elle devient fourchue (spécimens de 60 cm environ) et enfin elle prend la forme d'un croissant chez les grands individus; dents présentes seulement chez les jeunes.



38 cm



120 cm



300 cm

Fig. 13 Fiche d'identification de Xiphias gladius.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Les espèces les plus proches de *X. gladius* dans la zone du CGPM appartiennent au genre *Tetrapturus*. Elles se distinguent facilement de *X. gladius* par le rostre dont la section transversale est plutôt circulaire, la présence de nageoires pelviennes et de deux carènes de chaque côté du pédoncule caudal.

TAILLE:

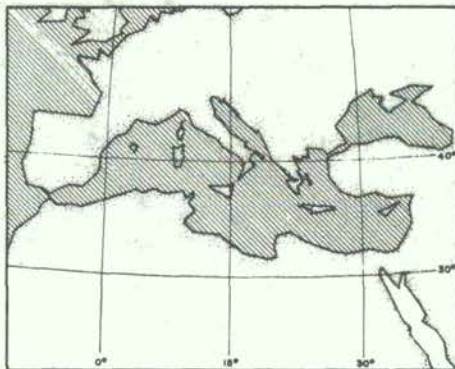
Maximum: 450 cm; commune: 100 à 220 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est commune dans toute la mer Méditerranée, la mer Noire et la mer d'Azov; elle fréquente les eaux tropicales et tempérées de tous les océans; dans l'océan Atlantique oriental, elle est présente de l'Islande et la mer du Nord jusqu'à 45° de latitude sud.

Poisson migrateur, très agressif, le plus souvent solitaire, fréquentant les eaux côtières comme celles du large.

Il se nourrit d'une grande variété d'espèces de poissons surtout celles vivant en bancs mais aussi de crustacés et de céphalopodes pélagiques. Il se servirait de son rostre pour tuer de grosses proies.



LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Eaux superficielles, dans toute sa zone de distribution.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des données statistiques concernant cette espèce sont recueillies en Espagne, Italie (1971: 2 900 tonnes), Libye, Malte, Tunisie et Turquie; la quantité totale pêchée par ces pays dans la zone du CGPM s'est élevée à environ 4 500 tonnes en 1971.

Cette espèce est principalement capturée au harpon, à la palangre flottante (petits spécimens); dans les eaux côtières, elle est également prise dans les filets fixes.

Elle est commercialisée fraîche et congelée.

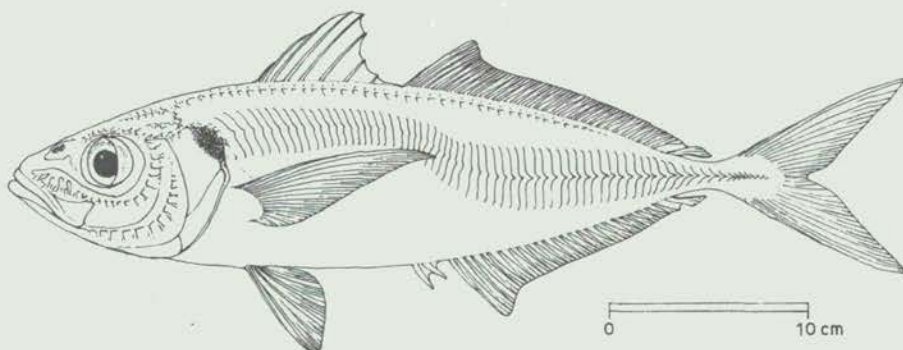
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: CARANGIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Trachurus trachurus (Linnaeus, 1758)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: *Trachurus scurus* Rafinesque, 1810



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Atlantic horse mackerel
 Es : Jurel
 Fr : Chinchard

| | | |
|---------------------------|---------------------------|-----------------|
| NATIONAUX - ALBN: Stavrid | GREC: Savridi | MONC: Cagnassun |
| ALGR: Chrel | ISRL: Trakhon gedol magen | ROUM: Stavrid |
| BULG: Okeanski safrid | ITAL: Suro | SYRI: Esfer |
| CYPR: Safridi | LIBA: Assaifar | TUNS: Shourou |
| EGYP: Shakhoura | LIBY: Sauro | TURQ: Istavrit |
| ESPA: Jurel | MALT: Sawrella kahla | URSS: Stavrida |
| FRAN: Chinchard | MARC: Chrene | YOUG: Snjur |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Deux nageoires dorsales, la première plus haute que la seconde et pourvue de rayons épineux réunis par une membrane; en avant de la nageoire anale, deux épines réunies par une membrane; une rangée complète de scutelles le long de la ligne latérale présentant une inflexion très marquée à l'aplomb des épines anales; près du profil supérieur, une ligne latérale accessoire qui débute sur la nuque et s'étend vers l'arrière au delà de l'aplomb du milieu de la seconde nageoire dorsale; dos gris verdâtre, flancs argentés avec des reflets métalliques violacés; ventre blanc.

Autres caractères marquants: devant la première nageoire dorsale, une épine fortement inclinée vers l'avant et cachée sous la peau; 69 à 79 scutelles sur la ligne latérale.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

T. mediterraneus: diffère de *T. trachurus* par la ligne latérale accessoire plus courte, se terminant à l'aplomb de l'origine de la seconde nageoire dorsale et par la présence de scutelles plus petites et plus nombreuses (78 à 92).



T. mediterraneus

Fig. 14 Fiche d'identification de Trachurus.

T. picturatus: diffère de *T. trachurus* par un nombre plus élevé (98 à 108) de scutelles latérales et par la position du point d'inflexion de la ligne latérale située en arrière des épines anales.



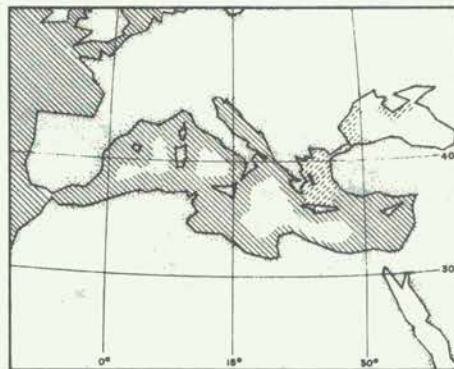
T. picturatus

TAILLE:

Maximum: 50 cm; commune: 30 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est commune dans la plupart des secteurs méditerranéens, mais peu abondante dans la mer Egée, la mer de Marmara et le Bosphore; elle est signalée dans la mer Noire (côtes de Roumanie et de Crimée); elle est présente dans l'Atlantique est, de l'Islande et Trondheim aux îles du cap Vert. Deux sous-espèces sont connues: *T. trachurus capensis* (Afrique du sud, de l'Angola au cap de Bonne Espérance et baie de Delagoa) et *T. trachurus maccullochi* (sud de l'Australie).



Pélagique et migratrice, cette espèce vit en bancs assez grands dans les eaux côtières durant l'été et plus en profondeur (jusqu'à 500 m) durant l'hiver.

Elle se nourrit de crustacés planctoniques, de larves et de jeunes poissons.

LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Plateau continental.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des statistiques séparées concernant cette espèce sont seulement rapportées par la Turquie (1969: 9 700 tonnes). Dans les autres pays *T. trachurus* et *T. mediterraneus* sont groupés dans une même catégorie statistique (chinchards). Les pays recueillant des statistiques pour cette catégorie sont: l'Espagne (1970: 9 500 tonnes), la France, la Grèce, l'Italie (1970: 7 800 tonnes), Malte, la Tunisie (1967: 6 000 tonnes), l'URSS et la Yougoslavie; la quantité totale pêchée dans la zone du CGPM a été estimée pour 1970 à 42 000 tonnes.

Elle est capturée au chalut, à la senne tournante (pêche au feu) et parfois à la palangre et à l'aide de filets-pièges.

Elle est commercialisée fraîche, mais aussi congelée et salée; les filets sont mis en boîtes dans l'huile et quelquefois fumés.

CLUP Sardi 1

1971

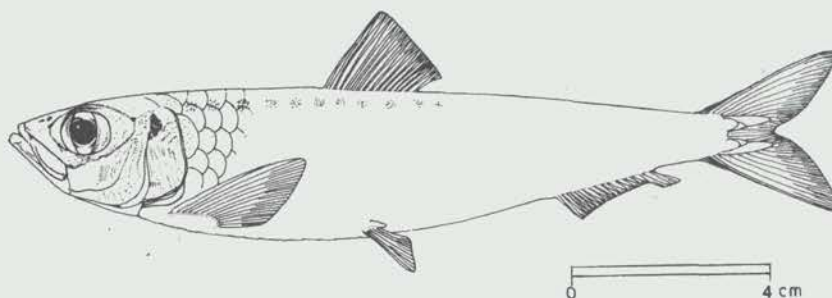
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: CLUPEIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Sardina pilchardus (Walbaum, 1792)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: *Clupea pilchardus* Walbaum, 1792
Sardina pilchardus sardina (Walbaum, 1792)



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : European pilchard
Es : Sardina europea
Fr : Sardine européenne

| | | |
|---------------------------|-----------------------|----------------|
| NATIONAUX - ALBN: Sardelë | GREC: Sardëlla | MONC: Sardina |
| ALGR: Sardin' | ISRL: Sardin zefoni | ROUM: Sardea |
| BULG: Sardina | ITAL: Sardina | SYRI: Sardîn |
| CYPR: Sardella | LIBA: Sardine mabroum | TUNS: Sardina |
| EGYP: Sardina | LIBY: Sârdin mabrum | TURQ: Sardalya |
| ESPA: Sardina | MALT: Sardina kahla | URSS: Sardina |
| FRAN: Sardine | MARC: Sardina | YOUG: Srdjela |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Corps à section transversale ovale; carène ventrale peu développée mais visible de la gorge à l'anus; nageoire dorsale débutant en avant de l'origine des nageoires pelviennes; opercule présentant des stries rayonnantes très prononcées; mâchoire supérieure dépourvue d'échancre médiane; mâchoire inférieure n'atteignant pas le bord postérieur de l'oeil; dos verdâtre, quelquefois olivâtre, flancs dorés devenant blanc-argenté ventralement; une rangée horizontale de taches sombres peu accentuées sur les côtés du corps.

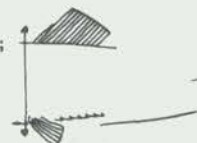
Autres caractères marquants: écailles grandes, argentées et caduques ne recouvrant pas la tête; ligne latérale invisible; les deux derniers rayons de la nageoire anale plus forts et plus longs que les précédents; une écaille longue et modifiée sur chacun des lobes de la nageoire caudale.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Sardinella aurita et *S. maderensis*: différent de *S. pilchardus* par l'absence de stries rayonnantes sur l'opercule et de points sombres sur les côtés du corps.

Fig. 15 Fiche d'identification de Sardina.

Sprattus sprattus: diffère de *S. pilchardus* par la présence d'une carène ventrale très développée, formée d'une rangée d'écaillés pointues s'étendant de la gorge à l'anus; l'absence d'écaillés modifiées sur la nageoire caudale; la position de la nageoire dorsale qui débute un peu en arrière de l'origine des nageoires pelviennes et l'absence de rayons plus développés que les autres à la nageoire anale.



S. sprattus

Alosa alosa et *A. fallax nilotica*: diffèrent de *S. pilchardus* par la présence d'une échancrure médiane à la mâchoire supérieure et l'absence de rayons plus développés que les autres à la nageoire anale.

Engraulis encrasicolus: diffère de *S. pilchardus* par le museau proéminent et la mâchoire supérieure longue, dépassant très nettement l'oeil.



E. encrasicolus

TAILLE:

Maximum: 22 cm en Méditerranée, 17 cm en mer Noire et 25 cm dans l'Atlantique;
commune: 10 à 25 cm en Méditerranée, 6 à 8 cm dans la mer Noire.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

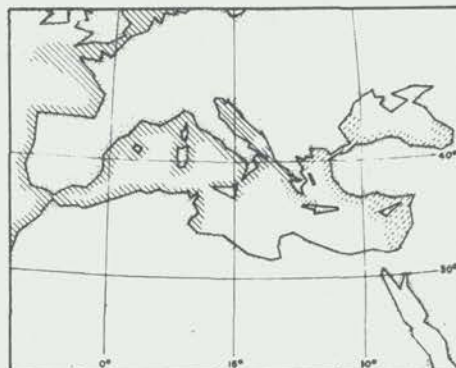
Cette espèce est commune dans le bassin ouest méditerranéen et dans l'Adriatique, rare dans le bassin est, la mer de Marmara et la mer Noire; elle est présente dans l'Atlantique est, du cap Blanc au Dogger Bank dans la mer du Nord.

Pélagique et migratrice, cette espèce forme des bancs en eau peu profonde (15 à 35 m la nuit et 25 à 55 m le jour).

Elle se nourrit de phyto et de zooplancton de petite taille.

LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Eaux côtières du plateau continental.



CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des statistiques séparées sont recueillies pour cette espèce en Algérie (1970: 17 000 tonnes), Egypte, France (1970: 23 000 tonnes), Grèce, Italie (1970: 44 000 tonnes), Malte, Maroc, Espagne (1970: 32 000 tonnes), Tunisie, Turquie et Yougoslavie (1970: 11 000 tonnes); le total rapporté pour les pays de la zone du CGPM en 1970 s'est élevé à 157 000 tonnes. D'autres pays incluent probablement cette espèce dans de plus vastes catégories statistiques.

Elle est capturée à la senne tournante et au lamparo (pêche au feu), au filet maillant, à la senne de plage, avec des filets fixes et parfois au chalut (côtes méditerranéennes françaises).

Elle est essentiellement commercialisée sous forme de conserves à l'huile ou à la sauce tomate; une partie importante est également conservée dans le sel et le vinaigre ou vendue fraîche.

GADI Merlu 1

1971

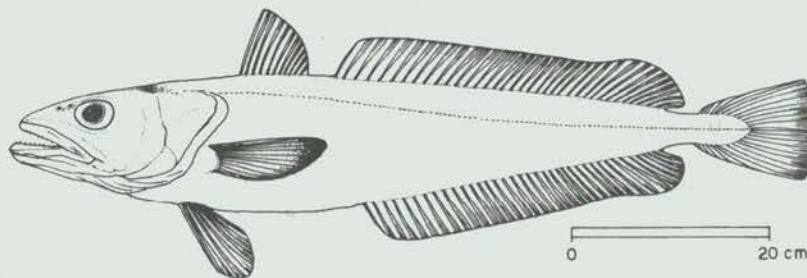
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: GADIDAE (MERLUCCIDAE)

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Merluccius merluccius (Linnaeus, 1758)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: *Merluccius vulgaris* Fleming, 1828
Merluccius merluccius mediterraneus Cadenat, 1950



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : European hake
Es : Merluza europea
Fr : Merlu européen

| | | |
|-------------------|-------------------|----------------------|
| NATIONAUX - ALBN: | GREC: Bacaliáros | MONC: Naselu |
| ALGR: Mernûz | ISRL: Zeev hayyam | ROUM: |
| BULG: Merluza | ITAL: Nasello | SYRI: |
| CYPR: Baccaliaos | LIBA: Armout | TUNS: Nazalli |
| EGYP: Nazelli | LIBY: Nazalli | TURQ: Berlâm |
| ESPA: Merluza | MALT: Merluzz | URSS: Merluza belaia |
| FRAN: Merlu | MARC: Lcola | YOUG: Oslić |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Corps allongé; deux nageoires dorsales, la première plus haute que la seconde; seconde nageoire dorsale et nageoire anale longues, de même forme, avec une légère inflexion dans la région postérieure; bouche grande, atteignant l'aplomb du centre de l'oeil; pas de barbillons mentonniers; dos gris ardoise, flancs plus clairs, ventre blanc.

Autres caractères marquants: ligne latérale droite et continue; mâchoire inférieure proéminente; fortes dents aux deux mâchoires; pas de rayons épineux aux nageoires.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Phycis blennioides et *Phycis phycis*: différent de *M. merluccius* par leurs nageoires pelviennes filiformes et fourchues, par la seconde nageoire dorsale et la nageoire anale à bords supérieur et inférieur rectilignes et la présence d'un barbillon mentonnier.

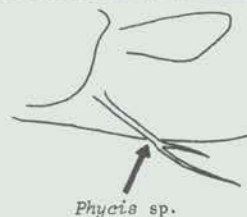
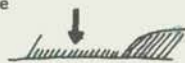


Fig. 16 Fiche d'identification de Merluccius merluccius.

Molva molva et *Molva elongata*: différent de *M. merluccius* par leur corps long et étroit presque anguilliforme et leurs nageoires pectorales courtes.

Les espèces du genre *Gaidropsarus*: différent de *M. merluccius* par leur première nageoire dorsale petite et très particulière, constituée d'une série de très courts rayons pilliformes placés dans une gouttière, précédés d'un rayon plus allongé.



Gaidropsarus sp.

TAILLE:

Maximum: 90 cm; commune: 15 à 35 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

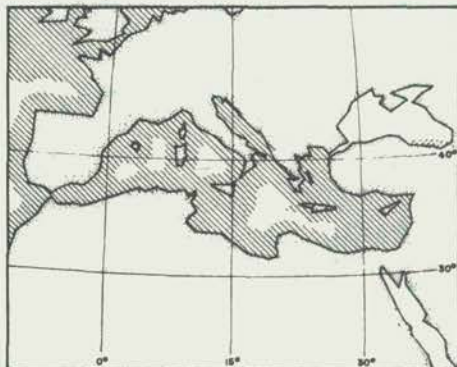
Cette espèce est commune dans toute la Méditerranée; dans la mer Noire, elle est seulement signalée sur la côte sud-est; dans l'Atlantique, elle est commune de l'Islande et des îles Lofoten au Maroc et rare de la Mauritanie au Sénégal.

Elle vit généralement à des profondeurs comprises entre 100 et 400 m (très près du fond durant le jour) mais on peut la pêcher de 30 à 700 m.

Elle se nourrit surtout de crustacés mais aussi d'anchois, de sardines et de gadidés.

LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Entre 150 et 400 m de profondeur.



CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des statistiques séparées concernant cette espèce sont rapportées par l'Algérie, Chypre, l'Espagne (1970: 4 600 tonnes), la France, la Grèce, Israël, l'Italie (1970: 8 800 tonnes), Malte, la Turquie et la Yougoslavie. Le total rapporté en 1970 pour les pays de la zone du CGPM s'est élevé à 17 800 tonnes.

Cette espèce est principalement capturée au chalut, à la palangre et au filet maillant de fond.

Elle est surtout commercialisée fraîche et, récemment, congelée entière ou sous forme de filets et de tranches; de petites quantités sont salées et séchées ou encore fumées.

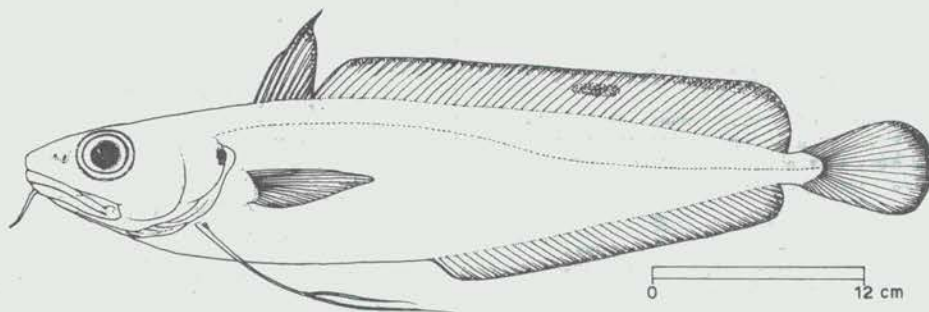
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: GADIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Phycis blennioides (Brünnich, 1768)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Greater forkbeard
 Es : Brótola de fango
 Fr : Motelle de roche

| | | |
|------------------------|---------------------|--------------------------|
| NATIONAUX - ALBN: | GREC: | MONC: |
| ALGR: | ISRL: | ROUM: |
| BULG: | ITAL: Musdea bianca | SYRI: Kharraye mouassata |
| CYPR: Malactos | LIBA: Samak gomok | TUNS: |
| EGYP: | LIBY: | TURQ: Gelincik |
| ESPA: Brótola de fango | MALT: Lipp abjad | URSS: |
| FRAN: Motelle blanche | MARC: | YOUG: Tabinja bjelica |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Cette espèce est caractérisée par la présence de nageoires pelviennes très particulières ayant l'apparence d'un long rayon fourchu qui dépasse, une fois rabattu vers l'arrière, l'origine de la nageoire anale; deux nageoires dorsales et une anale; la première nageoire dorsale est petite, triangulaire, son troisième rayon est long, deux fois plus haut que la seconde nageoire dorsale; cette dernière est très allongée et de hauteur uniforme comme la nageoire anale; couleur générale brunâtre à rose pâle; nageoires dorsales, anale et caudale bordées de noir; très souvent une tache noire sur la seconde nageoire dorsale.

Autres caractères marquants: écailles assez grandes et facilement détachables, yeux grands, ligne latérale incurvée antérieurement; pas de rayons épineux aux nageoires.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Phycis phycis: diffère de *P. blennioides* par les nageoires pelviennes plus courtes atteignant seulement l'origine de la nageoire anale, le corps plus haut, l'absence d'un rayon allongé à la première nageoire dorsale et d'une tache noire sur la seconde nageoire dorsale et la couleur générale du corps brune ou violacée.

Tous les autres gadidés diffèrent de *P. blennioides* par la présence de nageoires pelviennes normales, non filiformes.



P. phycis

Fig. 17 Fiche d'identification de Phycis blennioides.

TAILLE:

Maximum: 75 cm; commune: 30 cm environ.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est commune dans le bassin occidental de la Méditerranée, rare en Adriatique et dans le bassin oriental; elle est absente en mer Noire mais présente dans l'Atlantique, de l'Islande et la Norvège au Maroc.

Elle vit à proximité des fonds vaseux, entre 150 et 300 mètres de profondeur mais peut être capturée jusqu'à 800 mètres.

Elle se nourrit surtout de crustacés et de poissons.

LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Fonds vaseux profonds du plateau continental et du talus.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des statistiques séparées pour cette espèce sont rapportées seulement par l'Espagne (1970: 500 tonnes). La quantité totale pêchée en Méditerranée est certainement plus importante, cette espèce étant probablement incluse par d'autres pays dans des catégories statistiques plus vastes.

Elle est capturée principalement au chalut et à la palangre.

Elle est commercialisée fraîche; sa chair n'est pas très appréciée.



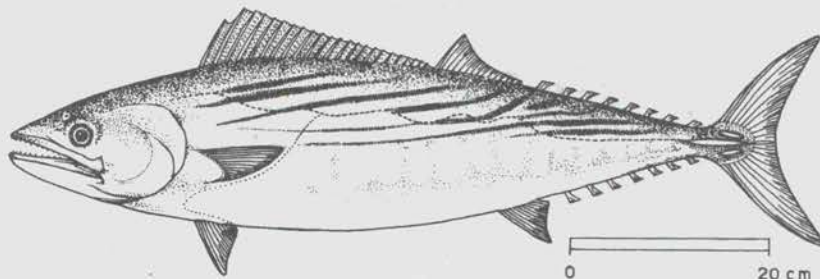
FICHES FAO D'IDENTIFICATION DES ESPECES

FAMILLE: SCOMBRIDAE

ZONE DE PECHE 37
(Médit. et m. Noire)

Sarda sarda (Bloch, 1793)

SYNONYMES ENCORE UTILISES: Aucun



NOMS VERNACULAIRES:

FAO - An : Atlantic bonito
 Es : Bonito
 Fr : Bonite à dos rayé

| | | |
|------------------------------------|----------------|------------------------------|
| NATIONAUX - ALBN: Palamiti | GREC: Palamida | MONC: Paramida à schina rigà |
| ALGR: Bonite | ISRL: Sarda | ROUM: Palamida |
| BULG: Palamud | ITAL: Palamita | SYRI: Balmida |
| CYPR: Palamida | LIBA: Ghazel | TUNS: Balamit |
| EGYP: Balamita | LIBY: Balamit | TURQ: Palamut |
| ESPA: Bonito | MALT: Plamtu | URSS: Palamida |
| FRAN: Pélamide (Bonite à dos rayé) | MARC: Bonite | YOUG: Polanda |

CARACTERES DISTINCTIFS ET DIAGNOSE:

Petit thon à corps allongé et légèrement comprimé; pinnules présentes en arrière de la seconde nageoire dorsale et de la nageoire anale; nageoires dorsales très proches l'une de l'autre; la première (épineuse), très longue, à bord supérieur rectiligne ou faiblement concave; bouche assez grande, la mâchoire supérieure atteignant ou dépassant le bord postérieur de l'oeil; nageoires pectorales courtes; ligne latérale remarquablement sinueuse; deux prolongements distincts entre les nageoires pelviennes (processus interpelvien); corps entièrement recouvert d'écaillés qui sont très petites, sauf sur le corselet (zone située en arrière de la tête et autour des pectorales, recouverte d'écaillés plus grandes et épaisses) bien développé; de chaque côté du pédoncule caudal, une forte carène médiane entre deux petits crêtes situées à la base des lobes caudaux; dos et partie supérieure des flancs bleu acier avec 5 à 11 bandes sombres légèrement obliques du dos vers l'avant; partie inférieure des flancs et ventre argentés.

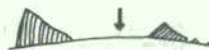
Autres caractères marquants: 7 à 10 pinnules dorsales et 6 à 8 anales.



Fig. 18 Fiche d'identification de Sarda sarda.

DIFFERENCES AVEC LES ESPECES LES PLUS SIMILAIRES DE LA REGION:

Tous les autres scombridés présents dans la zone du CGPM ont la mâchoire supérieure plus courte, n'atteignant jamais le bord postérieur de l'oeil, et la première nageoire dorsale moins longue et nettement concave. La plupart des autres espèces sont considérablement plus grandes et toutes ont une coloration différente; les maquereaux (*Scomber*) et les auxides (*Axidis*) ont les nageoires dorsales nettement séparées (espace interdorsal au moins égal à la longueur de la base de la première nageoire dorsale).



TAILLE:

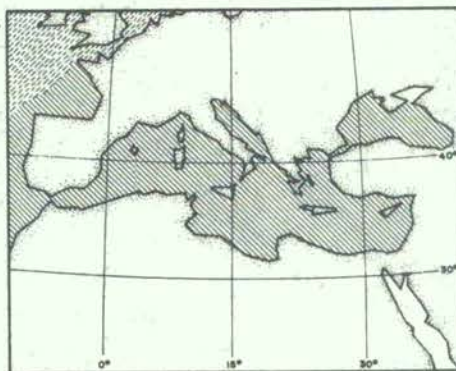
Maximum: 80 cm (85 cm dans l'Atlantique); commune: 30 à 50 cm.

DISTRIBUTION GEOGRAPHIQUE ET HABITUDES:

Cette espèce est commune dans toute la mer Méditerranée, la mer Noire et dans les eaux tropicales et subtropicales de l'océan Atlantique; elle est présente dans cet océan jusqu'à la côte d'Irlande et de Scandinavie.

Pélagique et migratrice, elle forme des bancs à la surface des eaux côtières.

Elle se nourrit surtout de poissons, et plus particulièrement de petits clupéidés, gadidés et de maquereaux.



LIEUX DE PECHE ACTUELS:

Eaux superficielles, surtout du plateau continental.

CAPTURES, ENGINS DE PECHE PRINCIPAUX ET FORMES PRINCIPALES D'UTILISATION:

Des données statistiques concernant cette espèce sont recueillies en Algérie, Bulgarie, Espagne, Grèce (1971: 2 000 tonnes), Italie (1971: 1 000 tonnes), Malte, Maroc, Roumanie, Tunisie, Turquie (1971: 20 000 tonnes), URSS et Yougoslavie. Dans la zone du CGPM, le total des captures rapportées pour 1971 s'est élevé à environ 25 000 tonnes. Cependant des quantités non identifiées sont certainement incluses par certains pays dans des catégories statistiques plus vastes.

Dans les eaux côtières, elle est surtout capturée au filet maillant et à la senne tournante, en haute mer à la ligne de traîne.

Elle est commercialisée fraîche ou en boîte.

| | |
|---|--|
| Mollusques ayant une seule coquille qui ne prend jamais la forme d'une spirale, d'une coupe ou d'une assiette | |
| 1) coquille avec un ou plusieurs trous ou une fente aux bords de la coquille | 2 |
| - coquille sans trous ou fente | 3 |
| 2) grosse coquille auriculée avec une série de trous le long de son bord; apex asymétrique | Haliotidae |
| - coquille avec un petit trou à l'apex ou une fente sur les bords du coquillage | Pissurellidae: <u>Emarginula</u> , <u>Diodora</u> , <u>Scissurella</u> sp. |
| 3) coquille circulaire ou elliptique avec côtes radiales, apex plus ou moins central | 4 |
| - petite coquille à apex légèrement décentré, | <u>Acmaea</u> sp. |
| 4) diamètre de la coquille égal à 3-5 fois la hauteur | 5 |
| - diamètre de la coquille environ le double de la hauteur | 6 |
| 5) diamètre de la coquille égal à 3-4 fois la hauteur; côtes radiales d'épaisseur et élévation égales, coquille blanc-rougeâtre avec taches noires | <u>P. lusitanica</u> (Gmel.) (= <u>P. rustica</u> (L.)) |
| - coquilles lisses ou à costulation radiale plus ou moins prononcée. Espèces représentées en de nombreuses variations; très communes en Méditerranée; diamètre atteignant 45 mm, coquille de couleur bleuâtre, plus mince que <u>P. vulgata</u> | <u>P. coerulea</u> (L.) |
| 6) apex de la coquille en forme de mamelon, coquille blanchâtre, partie inférieure striée de brun ou portant un petit anneau brun, bord de la coquille régulier | <u>P. mamillaris</u> (Lam.) |
| - sans apex en mamelon, bord de la coquille lisse, très commun dans la Manche, dans l'Atlantique, en mer du Nord mais présent uniquement à l'extrême ouest de la Méditerranée; diamètre atteignant 55 mm | <u>P. vulgata</u> (L.) |

Fig. 19 Caractères permettant de distinguer les espèces de Patella des autres gastéropodes

3. SITES D'ECHANTILLONNAGE

La pollution fera essentiellement l'objet d'une surveillance continue dans les régions côtières de la Méditerranée proprement dite (à l'exclusion de la mer Noire), sauf pour Hg et Cd qui seront également déterminés dans le thon ou l'espadon pélagiques.

La distribution géographique des zones d'échantillonnage le long de la côte devrait être fonction de la présence des principales sources de pollution: fleuves, villes et concentrations industrielles déversant leurs déchets en mer. Etant donné que les études-pilotes en cause se proposent d'évaluer le schéma général de la concentration de certains polluants potentiels, il ne faudrait pas prélever d'échantillons au voisinage immédiat des sources de pollution telles que tuyauterie des usines, décharges d'eaux usées, ni dans les ports et les petits estuaires des fleuves fortement pollués, mais dans des zones représentatives de la situation générale d'une région côtière donnée. Les zones très polluées pourront cependant être échantillonnées aussi pour permettre l'évaluation de la pollution maximum existante. Les parcs marins existants ou prévus devront servir de zones témoins chaque fois que possible.

Les sites d'échantillonnage devront être clairement identifiés sur une carte et les caractéristiques générales du site devront être décrites. Pour les échantillons prélevés en mer, la position devrait être indiquée par des coordonnées.

Etant donné que l'on peut prévoir des fluctuations importantes de la concentration d'un polluant dans les spécimens d'une espèce, recueillis dans une zone d'échantillonnage donnée, le "programme minimum" suppose l'analyse d'échantillons composites, regroupant des échantillons prélevés sur différents individus d'une même espèce. Il faut pour cela que les sites d'échantillonnage soient choisis suivant un plan (cf. section 7) établi de sorte que les fluctuations existant dans la zone d'échantillonnage soient effectivement représentées dans les échantillons composites. L'analyse des groupes d'échantillons ne fournira que des données équivalentes aux valeurs moyennes, sans donner d'indications sur la variabilité entre organismes. Afin d'établir des différences statistiquement significatives entre échantillons composites, il faudra au minimum déterminer la variabilité entre quelques échantillons supplémentaires constitués d'espèces isolées.

En choisissant les sites, il faudra tenir compte non seulement de la facilité d'accès mais aussi de l'abondance de l'espèce, afin de pouvoir disposer d'un matériel suffisant en provenance du même site pendant toute la durée du projet, sans risquer d'épuiser la ressource.

4. METHODES D'ECHANTILLONNAGE

Il faudra appliquer différentes méthodes d'échantillonnage pour obtenir les échantillons voulus. Pour recueillir les moules sauvages, on les arrache des rochers et autres substrats, alors que les moules d'élevage sont prélevées dans des parcs à moules. Les crabes verts, les crevettes et les rougets barbets peuvent être obtenus par chalutage de fond. On peut également se procurer des rougets barbets en les pêchant à la senne de rivage ou au filet maillant. Le thon pélagique est capturé à la traîne, à la palangre flottante et à la senne coulissante en haute mer. Dans certaines zones, on se sert de filets-pièges spéciaux: tonnaires, madragues, almadrabas, tonnarellas (Italie méridionale, sud de l'Espagne et Afrique du Nord). On prend l'espadon à la palangre flottante ou au harpon, sur des navires spéciaux ayant un mât de vigie très haut. On les prend parfois aussi aux filets fixes dans les eaux côtières.

Sauf dans les cas où le centre participant possède son propre navire de recherche, le meilleur moyen de se procurer les échantillons consiste à s'attacher les services d'un pêcheur professionnel. Il n'est recommandé d'acheter les spécimens nécessaires que si le vendeur peut garantir que le poisson vendu provient effectivement de la zone d'échantillonnage choisie par le centre participant. Si l'on dispose d'un navire de pêche commercial et de son équipage, on peut donner les instructions voulues, de manière que les échantillons soient effectivement prélevés dans les différents sites de la zone d'échantillonnage. Il importe cependant que la personne chargée de recueillir les échantillons accompagne, du moins au début, les pêcheurs pendant la campagne saisonnière d'échantillonnage, afin d'enseigner aux pêcheurs les précautions particulières qu'ils devront prendre et de surveiller les opérations d'échantillonnage.

Les échantillons ne devraient pas être préparés avant l'expédition à un centre participant ou à un laboratoire situés au voisinage de la zone d'échantillonnage. Cela limite la contamination.

Le transport ou l'entreposage des moules, des crevettes, des crabes et des poissons capturés à proximité du laboratoire ne pose aucun problème particulier. Les moules, surtout lorsqu'elles sont recueillies dans la zone intercotidale peuvent survivre à une exposition à l'air de plus d'une journée. Les moules immergées dans un seau ouvrent leurs valves et commencent à pomper de l'eau et à excréter des déchets, tandis que l'exposition à l'air réduit grandement leur métabolisme (Coleman et Trueman, 1971). Il est donc préférable de maintenir les moules à l'air et de les humecter d'eau de mer recueillie dans la zone d'échantillonnage de façon à éviter qu'elles excrètent dans l'eau, contaminant d'autres moules. On peut éviter de submerger les moules en fixant, par exemple, une grille au fond du seau. Si la durée du transport est plus longue, les moules destinées à l'analyse des métaux devront être entreposées dans des seaux ou sacs de plastique placés dans des récipients isothermes. Il faut pouvoir disposer de seaux métalliques ainsi que de récipients en verre, en porcelaine ou en émail sans éclats (le cas échéant contenus dans des récipients isothermes) pour l'entreposage temporaire des moules destinées à l'analyse des hydrocarbures chlorés. Il faut avoir grand soin d'éviter l'accumulation d'eau de mer au fond des récipients.

Les poissons, les crabes ou les crevettes morts peuvent être conservés dans des récipients isothermes en matière plastique s'ils sont destinés à l'analyse des métaux et de préférence enveloppés dans une feuille double d'aluminium dans des récipients métalliques, en émail, en porcelaine ou en verre si l'on se propose d'analyser les hydrocarbures chlorés. Lorsqu'on emploie des récipients de verre durci (pyrex ou analogue), on peut conserver ensemble les échantillons de poissons, de crustacés, et de mollusques destinés aussi bien à l'analyse des métaux qu'à celle des hydrocarbures chlorés; cela pourra être avantageux, encore que les récipients en verre soient bien plus fragiles que les récipients en plastique ou métalliques.

L'une des principales difficultés que l'on rencontrera à l'occasion des analyses prévues résidera dans la nécessité de maintenir au minimum la contamination de l'échantillon pendant les opérations d'échantillonnage, la préparation, etc. Les sources de contamination sont nombreuses: débris de peinture, graisse de treuil et de câbles, eau de refroidissement des moteurs ou eau de mer, ou précipitations tombant du pont des navires, suintement de la glace humide employée pour refroidir les échantillons (contamination par les DPC), particules suspendues dans l'air et provenant des tuyaux d'échappement de moteurs et enfin, mains des échantillonneurs et récipients eux-mêmes.

Pour éviter ces dangers, il faut s'entourer de précautions particulières. Ainsi, il ne faudrait pas amener à bord d'échantillons provenant du côté du bateau où est déversée l'eau de refroidissement du moteur. Pendant les opérations d'échantillonnage, le navire devrait être dans une position telle que les gaz d'échappement des moteurs ne retombent pas sur le pont. Pour éviter de contaminer les échantillons par la glace humide utilisée pour les refroidir, on peut les placer dans des récipients étanches. Etant donné que la plupart des échantillons sont préparés ultérieurement, et qu'on n'emploiera que les tissus internes, il n'est pas indispensable que les personnes appelées à manipuler les échantillons portent des gants; par contre, la personne chargée de préparer les échantillons devrait se laver les mains avec soin, avec des détergents et de l'eau de mer propre.

Pour ce qui est du nettoyage des instruments, des matières plastiques et des feuilles d'aluminium, ainsi que les précautions généralement applicables à la manipulation des échantillons, on se reportera aux sections 5.1.1 et 5.2.1.

Si l'on doit amener les échantillons à bord de navires qui ne rentrent pas au port tous les jours, on peut soit préparer les échantillons à bord, soit congeler l'ensemble du spécimen et préparer l'échantillon ultérieurement en le prélevant au spécimen partiellement décongelé. De la même façon, si par exemple le nombre des spécimens recueillis excède les possibilités de préparation des échantillons ou si ces spécimens doivent être rapidement transportés sur de longues distances, il est mieux, surtout en été, de les congeler immédiatement.

Le fait de disséquer des spécimens décongelés en partie seulement permet d'éviter la déperdition des substances contenues dans l'exsudat. Ceci peut se faire en déposant, dans un réfrigérateur réglé à environ -3°C , de 12 à 24 heures avant leur préparation, les spécimens congelés. Le spécimen entier atteint ainsi un état qui facilite la préparation des échantillons, surtout quand les spécimens sont grands ou épais, sans perte d'exsudat. Il est recommandé de recueillir un nombre suffisant d'échantillons supplémentaires pour pouvoir disposer de spécimens en surnombre, ce qui permet d'effectuer des essais sur la préparation des échantillons et les analyses chimiques et ce, en particulier, au début du projet-pilote, lorsque le personnel n'a pas acquis l'expérience des méthodes. Pour gagner du temps et être à même d'expérimenter sans retard sur les spécimens, on obtiendra au marché aux poissons des spécimens pour ces essais.

Etant donné que les instruments de mesure en bois ou en plastique ne conviennent pas à la détermination de la longueur des spécimens destinés aux micro-analyses, il est aisé de préparer un plat en pyrex, sous lequel on aura pris soin d'attacher un morceau de papier millimétré normal; il convient cependant de signaler que les fournisseurs d'instruments de laboratoire offrent maintenant des bandes adhésives graduées en centimètres. A défaut, on peut graduer le verre en l'incisant avec une pointe de diamant. Le verre présente l'avantage de convenir aux mesures de longueur dans l'un et l'autre types de micro-analyse et d'être très facile à nettoyer.

En aucun cas on ne doit conserver des organismes marins vivants échantillonnés aux fins du programme de surveillance continue dans un système à circulation d'eau de mer; en effet, la teneur de métal de la plupart de ces systèmes est beaucoup plus forte que celle de l'eau de mer naturelle et d'autres risques de contamination sont difficiles à exclure.

L'échantillonnage devrait être réalisé conformément à un plan fournissant, si possible, non seulement les valeurs moyennes obtenues par l'analyse d'échantillons composites, mais aussi des informations sur la précision et l'erreur stochastique de la procédure analytique et sur la variabilité biologique entre spécimens de la même espèce, provoquée par des facteurs intrinsèques et du milieu (cf. section 7).

S'il est absolument impossible de se procurer l'une des espèces hautement prioritaires dans l'échantillon, on devrait recueillir soit une espèce très voisine soit une espèce de priorité secondaire. Il convient cependant de tenir compte du fait que cela rendra plus difficile la comparaison des résultats obtenus par les différents instituts.

Afin de permettre une identification fiable des échantillons recueillis, chaque échantillon devrait porter au minimum les indications suivantes:

- i) nom de l'espèce échantillonnée;
- ii) nom du laboratoire;
- iii) nom de l'échantillonneur;
- iv) date et lieu de prélèvement de l'échantillon;
- v) numéro de code de l'échantillon.

4.1 Echantillonnage des moules

Les échantillons de moules serviront à la fois à l'analyse des métaux et des hydrocarbures chlorés. Par suite, il faudra appliquer des méthodes d'échantillonnage qui diffèrent quelque peu suivant leur destination:

Pour l'analyse des métaux

Equipement nécessaire

- a) Seaux en plastique ou récipients isothermes contenant des grilles de plastique pour éviter que les moules soient submergées par l'eau de mer servant à les humecter. Du matériel de camping pourra être modifié à cette fin
- b) Un seau en plastique pour l'eau destinée à maintenir l'humidité des moules
- c) Une drague ou instrument analogue (cf. Fig. 20) ou un couteau de plongeur en acier inoxydable
- d) Pouvoir disposer d'une petite embarcation à rames.

Préparatifs avant l'échantillonnage

Nettoyer la drague, le couteau de plongeur, les récipients isothermes et les seaux avec des détergents et rincer à l'eau distillée ou à l'eau de mer non contaminée prélevée dans la zone d'échantillonnage.

Pour l'analyse des hydrocarbures chlorés

Equipement nécessaire

- a) Seaux ou récipients isothermes en métal résistant à la corrosion, dotés au fond d'une grille métallique
- b) Seaux métalliques pour l'eau de mer destinée à maintenir l'humidité des moules

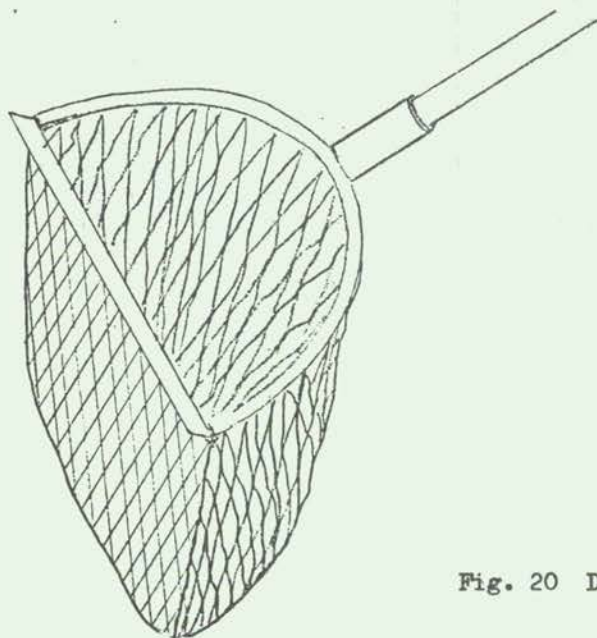


Fig. 20 Drague pour recueillir les moules.

- c) Une drague (cf. Fig. 20) ou instrument similaire ou couteau de plongeur en acier inoxydable
- d) Pouvoir disposer d'une petite embarcation à rames.

Préparatifs

Nettoyer la drague, le couteau de plongeur, les récipients isothermes et les seaux avec des détergents et les rincer à l'eau distillée ou à l'eau de mer non contaminée provenant de la zone d'échantillonnage (cf. 5.1.1).

Caractéristiques de l'échantillon

Longueur du coquillage: 4-5 cm

Nombre minimum de moules pour un échantillon composite: 10

Rendement approximatif d'une moule: 1 g poids frais

Les moules fixées à des tuyaux métalliques, aux coques de navires ou autres supports susceptibles de les avoir contaminées, soit avec des métaux, soit avec des hydrocarbures chlorés, ne devront pas être incluses dans les échantillons. Si l'on ne peut se procurer des moules sauvages de la taille voulue, on en prendra de plus petites ou on en prélèvera dans des parcs. Si l'on a le choix entre plusieurs parcs à moules, il conviendrait de choisir celui dont l'eau semble la plus propre. On pourra échantillonner le parc situé dans l'eau apparemment la plus polluée pour évaluer la contamination maximum.

On peut prévoir des variations importantes de la concentration des polluants dans les moules provenant de différentes stations d'échantillonnage dans une même région. On devrait, pour constituer un échantillon composite, disposer de moules provenant de différents points du même site et de différentes profondeurs. Un échantillon composite devrait contenir la partie comestible de 10 moules au moins, à l'exclusion du byssus et du fluide palléal. On devrait échantillonner chaque fois que possible un nombre supplémentaire de moules pour évaluer la variabilité de la concentration des polluants (cf. Section 7).

L'échantillonnage effectif des moules sauvages peut être réalisé à partir du rivage; il est cependant plus rentable et plus avantageux sans doute d'échantillonner à partir d'un petit bateau à rames doté d'une drague fixée sur un long manche. Une personne devra ramer tandis qu'une autre arrachera les moules des rochers ou du substrat, en les grattant. La drague devrait être en acier inoxydable, et le filet en nylon. On pourrait aussi envisager qu'un scaphandrier cueille les moules en les détachant avec un bon couteau de plongeur en acier inoxydable et les rassemble dans un filet de nylon.

Lorsque les échantillons sont prélevés dans un parc mytilicole, les moules devront être recueillies à différentes profondeurs et en différents endroits à l'intérieur du parc.

4.2 Echantillonnage des crevettes aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés

Les crevettes (Parapenaeus longirostris) sont recommandées pour l'analyse des hydrocarbures chlorés.

Equipement nécessaire

- a) Récipients isothermes avec revêtement de métal, de verre ou de porcelaine (matériel de camping);
- b) Feuilles d'aluminium ou récipients entièrement en métal ou en verre (articles de ménage, matériel de camping) suffisamment grands pour permettre l'entreposage temporaire et le transport des échantillons;
- c) Plat de pyrex gradué, pour la mesure des longueurs (cf. page 46);
- d) Pouvoir disposer d'un navire utilisant des chaluts de fond;
- e) Pendant la saison chaude: un réfrigérateur (plus 1 à plus 4°C) ou de la glace humide pour la réfrigération. Congélateur lorsque la sortie dure plus de 48 h ou si la préparation de l'échantillon doit attendre plus de 12 h, surtout en été (cf. 5.2.1).

Préparatifs

Nettoyer les récipients isothermes, les plats de pyrex gradués, les récipients en feuilles d'aluminium ou en acier inoxydable à l'éthanol à 95 pour cent pur pour analyse (ppa), en chauffant à 500°C pendant 24 h dans le cas où cela est possible (cf. 5.2.1).

Caractéristiques de l'échantillon

Longueur des crevettes: 8 à 10 cm

Nombre minimum de crevettes pour un échantillon composite: 10

Rendement approximatif de chaque crevette: 5 à 8 g poids frais

Chaque échantillon composite doit être constitué d'au moins 10 crevettes. Les crevettes sont capturées au chalut de fond. Dès que la pêche est amenée à bord, on choisit des crevettes de 8 à 10 cm et des groupes de 12 crevettes sont enveloppées de feuilles d'aluminium épaisses ou placées dans des récipients métalliques séparés. Si les extrémités des crevettes déchirent la feuille d'aluminium, il faudra la renforcer par une feuille supplémentaire. La fiche d'identification de l'échantillon (page 47) est ensuite placée sur le paquet enveloppé d'aluminium et le tout est enveloppé dans une autre feuille d'aluminium. Lorsque les crevettes sont placées dans des récipients métalliques, la fiche est fixée au récipient; on peut également inscrire ces informations directement sur le récipient. Le paquet d'aluminium ou le récipient métallique est alors entreposé dans un réfrigérateur (+ 1 à + 4°C) ou dans des récipients isothermes refroidis à la glace humide. Lorsque le navire ne rentre pas au port dans les 12 h suivant le dernier prélèvement d'échantillons, les échantillons doivent être congelés. Lorsqu'on dispose à bord

d'une cabine propre, les échantillons peuvent être préparés à bord; à défaut, il est préférable de manipuler l'échantillon le moins possible à bord afin de limiter les risques de contamination.

Préparation des échantillons à bord

Lorsqu'on prépare les échantillons à bord, la longueur des crevettes doit être déterminée sur un instrument de mesure gradué. Cette longueur doit être mesurée du rostre à l'uropode (Fig. 3) et chaque crevette est pesée à 0,1 g près. L'abdomen est alors détaché de la carapace et de la queue (telson et uropode) avec un couteau métallique; on s'assurera que tous les viscères sont éliminés avec la carapace.

Si l'on a des raisons de supposer que la préparation des échantillons à bord risquerait d'entraîner la contamination de l'échantillon, la préparation devra être remise jusqu'au moment où l'on disposera d'un laboratoire propre; dans ce cas, on congèlera les crevettes (température inférieure à -18°C).

S'il y a lieu, on conservera quelques crevettes (par congélation ou dans une solution de formol ou dans l'alcool) pour contrôle de l'identification de l'espèce (cf. section 2.1).

4.3 Echantillonnage des crabes verts aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés

La Consultation d'experts a recommandé que des échantillons de crabes verts (Carcinus mediterraneus) soient prélevés aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés pour remplacer P. longirostris là où l'on ne trouve pas ces crevettes.

Équipement nécessaire: comme pour les crevettes

Préparatifs: comme pour les crevettes

Caractéristiques des échantillons

Longueur de la carapace du crabe: 2-4 cm

Nombre minimum de crabes constituant un échantillon composite: 10

Poids de muscle obtenu pour 2 pinces (chélates): 0,2 à 0,5 g poids frais

Les pinces de 10 crabes au moins (longueur de la carapace 2 à 4 cm) sont nécessaires pour constituer un échantillon composite. Les échantillons de crabes peuvent être obtenus avec des chaluts de fond, des sennes de plage et des nasses. La meilleure méthode sera choisie en fonction de l'expérience locale.

Le programme d'échantillonnage ne prévoit que l'analyse des pinces. Pour réduire le volume des échantillons et limiter au minimum les risques de contamination, les pinces devraient être séparées dès que possible après échantillonnage et conservées dans les conditions décrites pour les crevettes. S'il est possible de préparer les pinces destinées à l'analyse chimique dans les 12 heures, il faut les congeler (température inférieure à -18°C). On inclura la fiche d'identification de l'échantillon (cf. page 47).

Après avoir enlevé les pinces, on détermine la longueur de la carapace et, s'il y a lieu, on conserve quelques crabes avec leur pinces aux fins de contrôle de l'identification de l'espèce (cf. section 2.1).

4.4 Echantillonnage de Mullus barbatus

M. barbatus servira à la surveillance continue des métaux aussi bien que des hydrocarbures chlorés. Afin d'éviter tout risque de contamination, on devra envisager deux méthodes d'échantillonnage distinctes, suivant qu'il s'agit de l'analyse des métaux ou des hydrocarbures chlorés. Il s'agit d'un poisson très délicat qui s'abîme facilement et qui ne peut être conservé longtemps à la température ambiante, surtout en été, ou au réfrigérateur.

Analyse des métaux

Equipement nécessaire

- a) Boîtes isothermes en matière plastique;
- b) Sacs en polyéthylène de forte densité;
- c) Règle graduée en matière plastique ou plat en pyrex gradué en cm (cf. page 46);
- d) Avoir l'usage d'un chalutier ou d'un senneur;
- e) Pendant la saison chaude, un réfrigérateur (+ 1 à +4°C) ou de la glace humide pour refroidir. Congélateur si les sorties d'échantillonnage durent plus de 12 h ou si la préparation de l'échantillon doit attendre plus de 12 h, surtout en été (voir aussi 5.2.1).

Préparatifs

Nettoyer les boîtes isothermes, les sacs en polyéthylène à forte densité ainsi que la règle graduée avec des détergents; rincer à l'eau distillée ou à l'eau de mer propre prélevée dans la zone d'échantillonnage.

Caractéristiques de l'échantillon

Longueur du poisson: 10 à 15 cm

Nombre minimum de poissons constituant un échantillon composite: 6

Rendement des filets, par poisson: 8 à 15 g poids frais

On se sert en général de chaluts de fond pour capturer M. barbatus; ce poisson peut cependant également être pêché avec des sennes de plage et des filets maillants. Une fois que la pêche a été amenée à bord, on choisit des mullets de 10 à 15 cm de long, à la peau intacte. Leur longueur approximative peut être déterminée sur un plat propre gradué en cm. Ils sont placés dans un sac en plastique préalablement nettoyé puis on en évacue l'air et on le ferme par un noeud ou à l'aide d'un procédé thermique. Le sac est alors placé dans un second sac en plastique, avec la fiche d'identification de l'échantillon (page 47), qui est fermé comme le premier sac. S'il y a lieu, l'échantillon est alors placé dans un réfrigérateur (+ 1 à +4°C) ou dans une boîte isotherme refroidie avec de la glace humide. Il faut prendre soin d'éviter la contamination par l'eau de la glace humide pénétrant dans la boîte.

Parfois l'intestin du rouget contient tellement de boue et de sable qu'il est souhaitable d'ouvrir la cavité viscérale au moyen d'un couteau propre et d'évacuer ces substances avant de conserver le poisson; ceci est particulièrement important quand le poisson doit être congelé.

Analyse des hydrocarbures chlorés

Equipement nécessaire: comme pour les crevettes

Préparatifs: comme pour les crevettes

Les étapes de l'échantillonnage sont les mêmes que celles qui ont été décrites pour les métaux; cependant, le poisson est emballé dans une feuille d'aluminium ou des récipients de verre prénettoyé, et non dans des sacs de matière plastique. Il faut surtout éviter de percer la feuille d'aluminium avec les nageoires et la queue. Les échantillons sont alors placés dans des boîtes isothermes à intérieur métallique, en verre, etc. (et non en matière plastique). Si l'on emploie de la glace humide pour la réfrigération, il faut en éviter le contact avec le poisson pour prévenir toute contamination. Préparer la fiche d'identification de l'échantillon (page 47).

4.5 Echantillonnage du thon et de l'espadon

Le thon et l'espadon servent essentiellement à la surveillance continue du mercure et du cadmium. Etant donné que le thon et l'espadon sont en général des poissons de grande taille très onéreux, on se bornera dans la plupart des cas à sous échantillonner les spécimens pris par des pêcheurs commerciaux. Avant de vendre le thon ou l'espadon, ceux-ci coupent généralement la queue et il devrait donc être assez facile d'acheter à peu de frais les parties voisines de la queue provenant de plusieurs spécimens. Il faudrait s'efforcer au maximum d'obtenir des tranches de 3 à 4 cm d'épaisseur, provenant de 3 spécimens au moins, ainsi que des informations sur le poids, la longueur des spécimens, le lieu d'échantillonnage, le moment de la pêche et la méthode de pêche employée.

Equipement nécessaire

- a) Sacs en polyéthylène de forte densité;
- b) Boîtes isothermes en matière plastique pour le transport des sous échantillons;
- c) Une règle graduée en cm pour mesurer la longueur des spécimens.

Préparatifs

Nettoyer les sacs de plastique et les boîtes isothermes avec des détergents et rincer avec de l'eau distillée ou déionisée.

Caractéristiques de l'échantillon

Si possible une tranche de 3 à 6 cm d'épaisseur, sans peau ni arête, prélevée dans le voisinage de l'extrémité caudale sur trois spécimens différents.

Méthode d'échantillonnage

- a) Evaluer la longueur à la fourche (cf. Fig. 3) des échantillons. Recueillir les informations relatives au poids des spécimens, à l'aire d'échantillonnage, à l'époque de la pêche et à la méthode employée. Préparer la fiche d'information sur les échantillons (Tableau II).
- b) Acquérir des sections de 3 à 4 cm d'épaisseur provenant de trois thons ou espadons au moins, auprès d'un pêcheur commercial et les placer dans des sacs individuels en matière plastique. Mettre dans les sacs la fiche d'identification de l'échantillon (cf. page 47). Si l'on doit attendre plus de 12 h avant de préparer l'échantillon, celui-ci sera congelé.

4.6 Présentation des données biologiques et méthodes d'échantillonnage

Il est essentiel que chaque échantillon soit accompagné des données biologiques pertinentes ainsi que des informations relatives à la méthode et au site d'échantillonnage.

On trouvera ci-après une liste des données minimums nécessaires:

- a) Espèce, noms scientifique et local;
- b) Type d'analyse;
- c) Date de la pêche;
- d) Lieu de pêche: description de la position géographique de la côte, coordonnées ou distance par rapport à une position connue;
- e) Nom de la personne responsable de l'échantillonnage, nom du navire de pêche et, le cas échéant, du patron;
- f) Méthodes d'échantillonnage et/ou de pêche employées;

- g) Méthodes d'entreposage employées avant préparation de l'échantillon;
- h) Préparation du pré-échantillon, durée d'entreposage et méthodes d'entreposage utilisées (par exemple: entreposé dans un réfrigérateur, congelé, séché au four à 60°C, etc.);
- i) Longueur de chaque spécimen;
- j) Poids de chaque spécimen;
- k) Numéro de code du récipient contenant l'échantillon.

Les données d'information complémentaires (données océanographiques générales - température de l'eau, turbidité, état de la mer, salinité; autres analyses complémentaires sur des échantillons d'eau; etc.) sont utiles. On trouvera au Tableau II l'exemple d'une fiche d'information sur les échantillons.

Tableau II

Exemple de fiche d'information sur les échantillons

Espèce : Mullus barbatus
 Analyses : Métaux
 Date : 17.10.75
 Zone : 2 km au large de Marina di Carrara, -18 m de profondeur, fond sableux
 Nom du responsable : A. Secondini, M/V S. GABRIELE, Commandant Guidi
 Engin de pêche : Chalut de fond
 Entreposage avant dissection : Une journée, au réfrigérateur (environ + 4°C)
 Entreposage final : Congelé en récipients de plastique

| Code de l'échantillon | Longueur à la fourche (cm) | PF du poisson (g) | PF filets (g) | Nombre de filets | Poids de l'échantillon ^{1/} |
|-----------------------|----------------------------|-------------------|---------------|------------------|--------------------------------------|
| F. 1 | 12,5 | 38,8 | 16,0 | 2 | 10,0 |
| | 13,5 | 41,3 | 14,1 | 2 | 10,2 |
| | 12,5 | 34,1 | 12,9 | 2 | 9,9 |
| | 11,5 | 27,4 | 10,1 | 2 | 10,1 |
| | 12,5 | 32,4 | 10,8 | 2 | 10,1 |
| | 12,3 | 34,4 | 11,1 | 2 | 9,8 |
| | | | Total filets: | <u>75,0</u> | Total échantillons: |
| F. 2 | 12,6 | 35,2 | 12,2 | 2 | 10,4 |
| | 14,0 | 47,3 | 15,9 | 2 | 10,6 |
| | 12,7 | 31,0 | 10,6 | 2 | 10,5 |
| | 12,5 | 33,1 | 12,7 | 2 | 10,4 |
| | 13,4 | 50,1 | 14,0 | 2 | 10,6 |
| | 13,2 | 41,3 | 12,8 | 2 | 10,7 |
| | | | Total filets: | <u>78,2</u> | Total échantillons: |

^{1/} On a levé des filets de dimensions à peu près égales afin que la détermination des échantillons mélangés soit représentative de la concentration moyenne (cf. section 7.2)

5. PREPARATION DES ECHANTILLONS

Pendant la préparation des échantillons, il convient de prendre des précautions particulières afin de minimiser la contamination de l'échantillon; il importe cependant tout autant que l'on évite toute déperdition, pendant l'opération, de composés organiques métalliques volatiles ou d'hydrocarbures chlorés. La contamination des échantillons pose un problème très grave quant aux micro-analyses proposées dans les projets pilotes. Il est donc absolument indispensable de prendre des précautions visant à éviter tout contact avec des substances susceptibles d'altérer la concentration de l'échantillon. Le problème de la contamination est plus grave pour les échantillons d'eau de mer que pour les organismes étant donné que, dans ces derniers, la concentration des métaux et des hydrocarbures chlorés est supérieure à ce qu'elle est dans l'eau et il est possible de prélever des sous échantillons sur un organisme de façon à éviter au maximum le risque de contamination.

La procédure la plus simple consisterait à congeler l'échantillon dans des récipients étanches. Dans ce cas, les échantillons sont maintenus à l'état congelé jusqu'à ce qu'ils soient analysés. Cela ne présente aucune difficulté lorsqu'on transporte les échantillons sur de petites distances. Cependant, l'expédition d'échantillons congelés par des voies commerciales (voie ferrée ou lignes aériennes) présente des problèmes, étant donné que même les échantillons expédiés dans de la glace sèche ne restent congelés que pendant un maximum de 24 h. Si l'on tient compte des retards subis pendant le transport, il n'apparaît guère judicieux d'expédier les échantillons congelés sur de longues distances et des trajets compliqués.

On pourrait encore expédier l'échantillon lyophilisé; toutefois, on a signalé des déperditions de composés volatils organométalliques et d'hydrocarbures chlorés pendant la lyophilisation (La Fleur, 1973, Pillay, 1972). Le séchage au four, à basse température (60°C) conviendrait, si l'on peut démontrer qu'il n'entraîne aucune déperdition.

Si les échantillons doivent être analysés dans les deux ou trois ans après l'échantillonnage, dans le laboratoire qui les a recueillis, la surgélation constitue la meilleure méthode de conservation, étant donné que la combustion des matières organiques est plus aisée dans le matériel frais ou congelé que dans les tissus secs. Si l'on peut démontrer que les matières biologiques séchées à basse température ne risquent aucune déperdition, les matériaux séchés sont préférables aux spécimens entreposés dans des conditions plus simples.

Afin d'éviter la contamination par les instruments et autres matériaux susceptibles d'entrer en contact avec les échantillons, il convient de choisir les instruments avec grand soin, ce qui réduira la contamination au minimum. Malheureusement, on ne peut utiliser les mêmes instruments et matériaux pour préparer les échantillons destinés à l'analyse des métaux lourds et ceux qui sont destinés à la détermination des hydrocarbures chlorés.

5.1 Préparation des échantillons destinés à l'analyse des métaux

5.1.1 Choix et nettoyage des instruments et du matériel

Pour l'analyse des métaux, tous les outils destinés à la manutention et au tri devraient être en polyéthylène à haute densité ou en teflon (Bertine et La Fleur, 1972). On peut aussi employer l'acier inoxydable dans les projets-pilotes, étant donné que lorsqu'il est de bonne qualité, il a une teneur très faible de métaux lourds inclus dans les listes de première et deuxième priorités. Cependant, si l'on prévoit aussi d'affecter les échantillons aux analyses multi-éléments d'autres métaux, on devra utiliser exclusivement du polyéthylène à haute densité, du teflon ou d'autres matières plastiques ppa, qui ne risquent pas de contaminer l'échantillon par des éléments et des substances inorganiques. Les matières plastiques même très pures peuvent être contaminées en surface par les métaux

lourds (cf. section 6.1) et doivent être vérifiées après nettoyage (cf. Annexe A - instructions relatives à la fabrication de pinces en plastique).

Les instruments zingués, parfois vendus comme acier "inox" doivent absolument être évités. Le nombreux aciers inoxydables sont très résistants à la corrosion et ne sont pas magnétiques; l'on peut donc les distinguer des autres aciers en utilisant un aimant.

Il ne faudrait employer que des verres au borosilicate, de marque connue (Pyrex, Duncan, Hylar, Iéna 50, etc.), étant donné que nombre de verres mous contiennent de grandes quantités de plomb et autres impuretés. Les instruments, ainsi que les récipients en plastique ou en verre utilisés pour les manipulations et l'entreposage, devraient être nettoyés avec des détergents puis rincés avec de l'eau distillée ou déionisée. La même procédure pourra être appliquée au nettoyage des feuilles de matière plastique qui recouvriront les surfaces de travail et autres, utilisées pendant la préparation des échantillons. On peut également employer, outre le détergent, ou pour le remplacer, 1 N H₂SO₄ ou 1 N HNO₃, obtenus en diluant H₂SO₄ ou HNO₃ concentrés avec de l'eau distillée ou déionisée.

L'eau distillée ou déionisée peut être remplacée par de l'eau de mer propre, que l'on peut recueillir soit à 10 m de profondeur (pour éviter qu'elle soit contaminée par le navire), si possible au large de la plateforme continentale soit à une profondeur minimum de 100 m. Cette eau de mer contient souvent des quantités de métaux lourds et autres impuretés moindres que l'eau bidistillée ordinaire qu'emploient la plupart des laboratoires.

L'eau doit être distillée dans un appareil de verre ou de quartz; il ne faut en aucun cas utiliser de l'eau distillée du commerce, à moins que le fournisseur ne soit en mesure de garantir que l'eau a été distillée dans un appareil entièrement en verre ou en quartz. L'eau distillée commerciale provient souvent d'appareils de cuivre.

Le sous échantillonnage des organismes et la préparation des échantillons devraient être effectués dans une pièce dépoussiérée. Les tables de travail devraient être recouvertes de feuilles de plastique prénettoyées. On peut employer pendant les opérations des gants de plastique. Cependant, ils ne sont guère pratiques et il faut pondérer la réduction du risque de contamination en regard de la difficulté accrue des manipulations de l'échantillon. Si l'on se sert d'échantillons composés d'organismes entiers, aux fins de l'analyse des métaux, il faudrait les manipuler avec des gants. Par contre, dans les projets-pilotes, les organismes sont sous échantillonnés de telle manière que les surfaces extérieures sont éliminées; aussi, si l'opération de sous échantillonnage est réalisée correctement et avec des instruments propres, il n'y a pas lieu de travailler avec des gants.

Les feuilles de plastique et, le cas échéant, les gants, sont nettoyés avec des détergents ou des acides (voir ci-dessus) et rincés avec de l'eau distillée ou déionisée ou de l'eau de mer non contaminée. On trouve dans les magasins d'articles de ménage, des récipients et des verres de pyrex résistant à la flamme et munis de couvercles; ils constituent des supports tout à fait convenables pendant la préparation des échantillons et sont d'une manipulation beaucoup plus aisée que les feuilles et sacs de plastique.

5.1.2 Préparation des échantillons entreposés en congélateur

Une fois que les spécimens ont été échantillonnés, ils sont traités et placés dans des sacs de matière plastique dans les conditions décrites ci-après. Pour les petits échantillons, on préférera des récipients de matière plastique pure d'excellente qualité, à couvercle vissé, etc. La méthode décrite ci-après devra être modifiée en tant que de besoin:

- 1) Peser le sac de plastique sec (qui a été préalablement nettoyé avec des détergents et de l'eau distillée, à 0,1 g près, sur une balance de précision). Noter le poids.

- 2a) Echantillon composite: découper chaque spécimen-échantillon en commençant par le plus petit, de manière que tous aient le même poids de façon à obtenir des spécimens-échantillons de même taille. Placer les spécimens-échantillons dans les sacs, peser le récipient avec son contenu et calculer le poids frais.
- 2b) Echantillon d'un seul spécimen: placer le spécimen dans le sac et déterminer le poids frais.
- 3) Evacuer l'air excédentaire du sac en le roulant doucement autour de l'échantillon, sans l'endommager.
- 4) Fermer le sac de plastique de manière étanche, à l'aide d'un procédé thermique, ou p. ex. à l'aide d'un élastique au-dessus de l'échantillon, ou par tout autre moyen.
- 5) Préparer une fiche d'identification de l'échantillon (page 47) en prenant les données nécessaires dans le "protocole" d'échantillonnage.
- 6) Placer la fiche d'identification de l'échantillon au-dessus de la première fermeture dans la partie restante du sac de plastique et fermer le sac une nouvelle fois par un processus thermique.
- 7) Placer le sac dans un second sac, évacuer l'air excédentaire comme précédemment et fermer à nouveau par processus thermique ou, par exemple, au moyen d'un élastique, puis placer le sac contenant l'échantillon dans un congélateur qui maintient une température inférieure à -18°C .

Les échantillons devraient être congelés rapidement de manière à éviter la formation de gros cristaux de glace à l'intérieur des cellules tissulaires de l'échantillon. Les gros cristaux de glace brisent la paroi cellulaire et à la décongélation, des quantités excessives d'exsudats cellulaires se forment. Etant donné que ces exsudats sont susceptibles de contenir une partie des éléments et substances que l'on se propose d'analyser, leur formation devrait être réduite au minimum par une congélation rapide. L'ensemble des exsudats devrait être considéré comme faisant partie de l'échantillon.

Afin d'assurer une congélation rapide et de ne pas surcharger le congélateur par du matériau frais, on peut congeler environ 1 kg par 50 l de volume net dans un congélateur ménager normal, toutes les 8 heures, sans accroître excessivement sa température interne. Le fait de placer les matières fraîches en contact direct avec les plaques de congélateur facilite le transfert de froid et accélère le refroidissement. Il ne faudrait jamais mettre un produit non congelé en contact direct avec un autre produit déjà congelé. Même si cela n'entraîne pas sa décongélation, sa durée d'entreposage sera grandement réduite si sa température est amenée au-dessus de -18°C . Il faudrait placer le matériel attendant d'être congelé dans un réfrigérateur normal, à une température voisine de la température de congélation ($+1$ à $+4^{\circ}\text{C}$).

5.1.3 Préparation des échantillons de Mytilus

L'échantillon composite devrait être constitué au minimum de 10 parties molles (c'est-à-dire corps de la moule, sans la coquille). L'attaché de la moule (byssus à la Fig. 1 doit être éliminée, de même que le fluide palléal contenu dans le manteau ou dans la cavité palléale. On se reportera à la Fig. 1 et au texte qui l'accompagne pour avoir plus de détails sur la morphologie externe de la moule. Pour préparer les échantillons, il faut être à deux. Une attention particulière doit être apportée pour éviter de contaminer la partie molle en tenant la partie externe de la coquille et en rinçant les parties molles pendant la préparation de l'échantillon. On s'assurera que le liquide de rinçage n'entre pas en contact avec la coquille extérieure avant de rincer la partie molle. Pour réduire au minimum la contamination de la partie molle, il faut employer deux couteaux et deux pinces. Un couteau (No. 1) et une pince (No. 1) serviront à gratter la coquille pour en éliminer les croissances épiphytales et épifaunales, etc., et un autre couteau (No. 2) ainsi qu'une autre pince (No. 2) pour couper les deux muscles adducteurs de la moule et prélever la partie molle.

Caractéristiques de l'échantillon

- a) Echantillon composite: nombre minimum de spécimens constituant un échantillon composite: 10 parties molles sans liquide palléal
- b) Echantillon d'un seul spécimen: partie molle d'une moule sans liquide palléal.
Ordre de longueur des coquilles: 4 à 5 cm
Rendement de la partie molle d'une moule: 1 à 2 g poids frais (après la saison du frai, le rendement peut être très inférieur)

Equipement nécessaire

- 1) 2 à 4 couteaux de plastique (polyéthylène à haute densité ou matériau analogue, extrêmement pur).
- 2) 5 plats en pyrex, feuilles de plastique ou similaire
- 3) 2 à 3 pinces en plastique (cf. Annexe A)
- 4) Sacs de polyéthylène à haute densité ou récipients en matière plastique avec couvercle à vis pour conservation de l'échantillon au congélateur
- 5) Feuilles de polyéthylène de haute densité pour recouvrir la table de travail
- 6) Feuilles de polyéthylène plus petites pour effectuer les pesées
- 7) Balance de précision (tolérance maximum 0,1 g)
- 8) Instruments de mesure des longueurs (cf. page 46)
- 9) Bouteille en matière plastique pour le lavage, contenant de l'eau distillée dans du verre
- 10) Bouteille en plastique pour lavage contenant H_2SO_4 dilué (1:10) avec de l'eau distillée ou déionisée.

Préparatifs

- 1) Nettoyer les couteaux, les plats, les pinces, l'appareil de mesure de longueur et les feuilles de polyéthylène avec des détergents et/ou H_2SO_4 dilué; rincer à l'eau distillée ou déionisée.
- 2) Recouvrir la surface de travail avec des feuilles de plastique prénettoyées

Préparation des échantillons

- 1) Se laver soigneusement les mains avec des détergents; les rincer avec de l'eau
- 2) Choisir des moules de 4 à 5 cm de long, si possible non recouvertes d'algues, etc.
- 3) Gratter toutes les matières étrangères restant attachées à la superficie de la coquille extérieure avec un couteau en matière plastique (No. 1) réservé à cet usage; manipuler les moules aussi peu que possible.
- 4) Rincer chaque moule avec de l'eau distillée (ou de l'eau de mer non contaminée) et laisser l'eau s'écouler
- 5) Arracher le byssus ("by" dans la Fig. 1) qui apparaît entre les valves fermées, sur la face concave.
- 6) Peser la moule entière, à 0,1 g près; noter le poids.
- 7) Insérer un couteau propre en matière plastique (No. 2) dans l'ouverture dont on a détaché le byssus (Fig. 1) et couper le muscle adducteur postérieur en faisant tourner le couteau comme il est indiqué aux Fig. 21 et 22; couper ensuite dans l'autre sens et ouvrir la moule. Ne pas essayer d'ouvrir la moule par la force

avec le couteau; si les deux muscles ont été coupés la moule s'ouvrira sans difficulté. Vérifier si le byssus a été complètement éliminé; sinon, éliminer le reste avec une pince propre.

- 8) Rincer la moule avec de l'eau distillée ou de l'eau de mer non contaminée.
- 9) Détacher tout le tissu avec un couteau No. 2 et prendre le tissu mou avec une pince en plastique, sans toucher à la partie externe de la coquille pour permettre à toute l'eau de s'écouler (Fig. 22).
- 10) Placer sur la balance de précision une feuille propre, mince, en matière plastique, la peser, noter le poids puis peser la partie molle de la moule et calculer le poids frais.
- 11) Placer les parties molles dans un sac ou autre récipient de plastique prénettoyé, pour l'entreposage.
- 12) Déterminer la longueur (cf. Fig. 21) d'une coquille en la plaçant de manière que sa partie interne touche la graduation en cm. Noter la longueur avec le poids total de la moule et celui de ses parties molles.

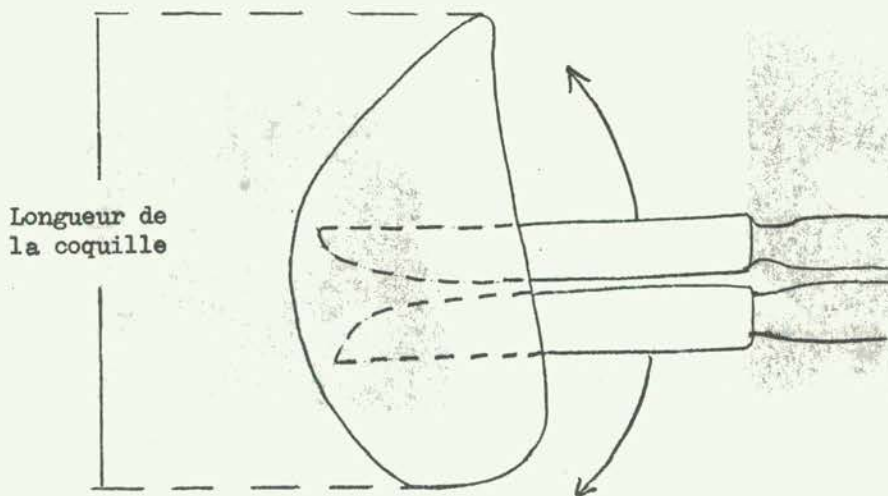
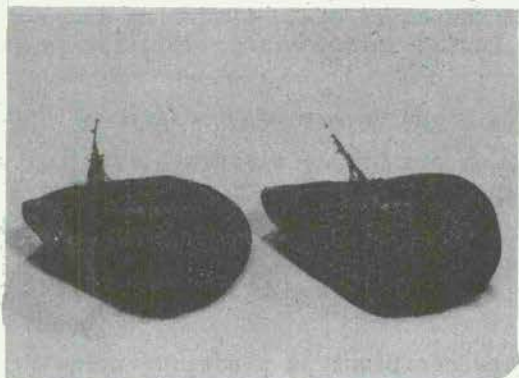


Fig. 21 Schéma montrant comment on coupe les deux muscles adducteurs de Mytilus.

- 13a) Echantillon composite: lorsqu'on a réuni le nombre d'échantillons voulus, congeler l'échantillon comme décrit au point 5.1.2.
- 13b) Echantillon d'un seul spécimen: fermer le récipient, congeler comme décrit sous 5.1.2.
- 14) Déterminer le poids sec de six parties molles spécialement préparées suivant les instructions données à la section 6.2.

5.1.4 Préparation des échantillons de Mullus

Il faut être à deux pour préparer ces échantillons. La seconde personne peut aider soit en levant les filets avec la pince, soit en tenant le poisson par la tête et par la queue tandis que la première personne le dissèque. On a sans doute avantage à disséquer le poisson sur un couvercle en pyrex. Afin d'éviter de contaminer les filets, on coupe la peau du poisson de chaque côté, comme il est décrit à l'étape 4, avant de dépiauter le spécimen. Il faut disposer de deux couteaux en plastique et de deux pinces, également en plastique, un couteau et une pince servant respectivement à couper et à détacher la peau et un couteau et une pince propres à couper et à détacher le filet des arêtes. Enlever la peau d'un mullet n'est pas facile car elle est très délicate. Il faut, par conséquent que les pinces aient une bonne adhérence.



A



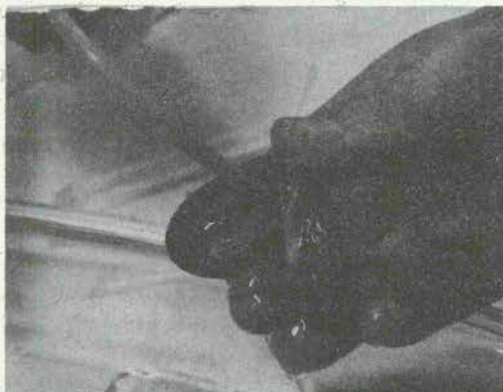
B



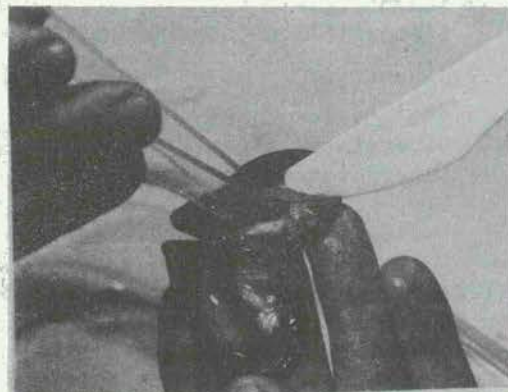
C



D



E



F

Fig. 22 Etapes de l'ouverture et du nettoyage de M. galloprovincialis dans la procédure de préparation des échantillons décrite dans le texte. (A: moules avec byssus s'étendant vers le haut)

a) Echantillon composite:

Nombre minimum de spécimens nécessaires: 6 poissons

b) Echantillon d'un seul spécimen: 1 ou 2 filets levés sur le même poisson

Gamme des longueurs totales: 10 à 15 cm

Rendement de filets d'un seul poisson: 8 à 15 g poids frais

Note: les filets ne devraient comporter ni peau, ni écailles, ni arêtes.

Equipement nécessaire: Comme pour Mytilus

Préparatifs: Comme pour Mytilus

Mode opérative

Note: Commencer par le plus petit spécimen (cf. section 7.2)

- 1) Déterminer la longueur à la fourche (cf. Fig. 3) au millimètre près (cf. page 46)
- 2) Peser le poisson sur une feuille de plastique propre, à 0,1 g près, puis calculer le poids frais
- 3) Rincer le poisson, d'abord avec H₂SO₄ dilué, puis avec de l'eau distillée déionisée
- 4) Eliminer la nageoire pectorale (Fig. 23); inciser la peau du poisson avec le couteau No. 1, à proximité des nageoires dorsales, de la tête vers la queue, comme le montrent les Fig. 23 et 24. Couper ensuite au voisinage des ouïes, en travers du corps, le long de l'extrémité ventrale, depuis les ouïes jusqu'à la queue et enfin, en travers du corps, à proximité de la queue. On devrait procéder à ces 4 entailles, d'abord d'un côté, puis de l'autre du poisson, en prenant soin de ne pas couper trop profond pour éviter d'atteindre les viscères. Il est à conseiller qu'une seconde personne tienne le poisson par la tête et par la queue pendant l'opération
- 5) Arracher la peau de la chair avec la pince en prenant soin de ne pas contaminer la chair avec l'extérieur de la peau
- 6) Avec un couteau propre No. 2, détacher le filet de la colonne vertébrale en partant de l'entaille proche des ouïes, tandis que la seconde personne tient la tête et la queue du poisson. Soulever le filet avec une pince No. 2 de manière à éviter tout contact avec le plat en pyrex ou d'autres parties du poisson
- 7) Peser une feuille de plastique légère et propre, prendre note du poids et y poser le premier filet
- 8) Peser le poisson, côté peau vers le haut, sur une surface encore propre du plat en pyrex ou un second plat en pyrex et détacher le second filet de l'arête principale, comme décrit à l'étape 6
- 9) Ajouter le second filet au premier sur la balance de précision et déterminer le poids des deux filets. Noter le chiffre et calculer le poids frais. Dans un échantillon composite, il est nécessaire de ramener le poids des deux filets à celui du plus petit poisson
- 10a) Echantillon composite: Placer les filets dans un sac de plastique (polyéthylène) ou un récipient de plastique prénettoyé. Lorsque les filets de 6 poissons au moins ont atteint le poids nécessaire pour les analyses chimiques, évacuer l'air du sac, le fermer hermétiquement, avec la "fiche d'identification de l'échantillon" (cf. page 47), et congeler
- 10b) Echantillon d'un seul spécimen: placer un ou deux filets dans un récipient
- 11) Préparer la fiche de renseignements décrite à la section 4.6
- 12) Déterminer le poids sec comme décrit à la section 6.2.

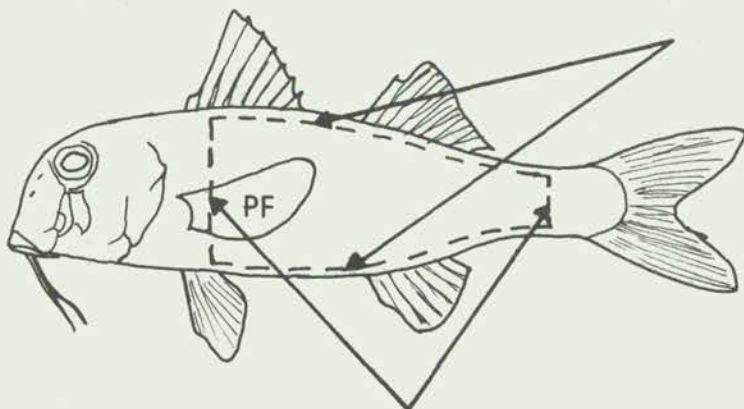


Fig. 23 Les flèches montrent comment inciser la peau de Mullus barbatus avec le couteau No. 1 pour le dépiauter. PF = nageoire pectorale

5.1.5 Préparation des échantillons de thon et d'espadon

Le thon rouge et son substitut, l'espadon, seront échantillonnés aux fins de détermination des métaux lourds, en particulier Hg et Cd. Etant donné qu'il s'agit de deux espèces de grandes dimensions, il sera très difficile voire impossible d'obtenir des échantillons composites. Aussi les analyses seront-elles réalisées sur des spécimens isolés. Afin d'éviter de gaspiller de gros thons ou espadons pouvant être vendus, on pourra prélever des sous échantillons à proximité de la queue, qui est généralement éliminée avant la vente du poisson. Chaque fois que possible, il faudrait échantillonner plus d'un poisson. On peut, le cas échéant, regrouper des échantillons provenant de spécimens de longueur analogue. Il ne faudrait jamais grouper d'échantillons provenant de spécimens de dimensions différentes.

Caractéristiques des échantillons

Nombre minimum de spécimens: non précisé; il est cependant souhaitable d'analyser au moins trois individus. On peut préparer des échantillons composites à partir de thons ou d'espadons de tailles voisines ($\pm 5\%$ de la longueur totale).

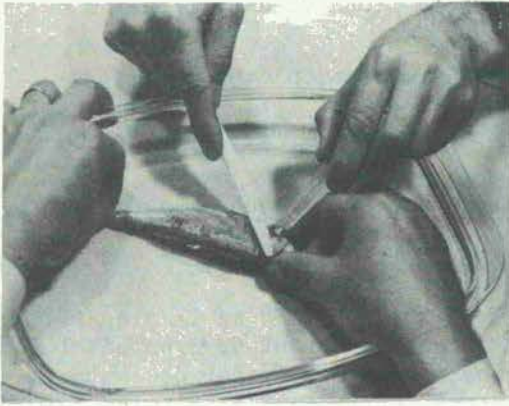
Gamme des longueurs totales: non spécifiée.

Equipement nécessaire: comme pour Mytilus.

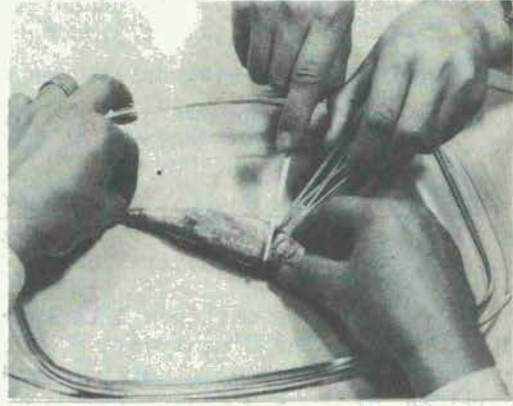
Préparatifs: comme pour Mytilus.

Mode opératoire

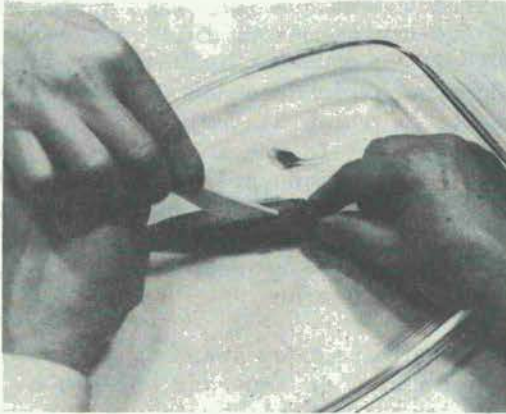
- 1) Rincer la tranche de thon ou d'espadon avec H_2SO_4 dilué et de l'eau distillée ou déionisée
- 2) Placer la tranche sur un plat de pyrex bien nettoyé; éliminer la peau et les arêtes. Si l'échantillon de tissu a été coupé avec un couteau métallique pendant les opérations d'échantillonnage, on enlèvera sur chacune des surfaces avec un couteau en plastique, une tranche mince afin d'obtenir une superficie propre non contaminée par des métaux
- 3) Peser un sac de plastique prénettoyé, noter son poids, placer la tranche nettoyée dans le sac, peser le sac avec son contenu et calculer le poids frais



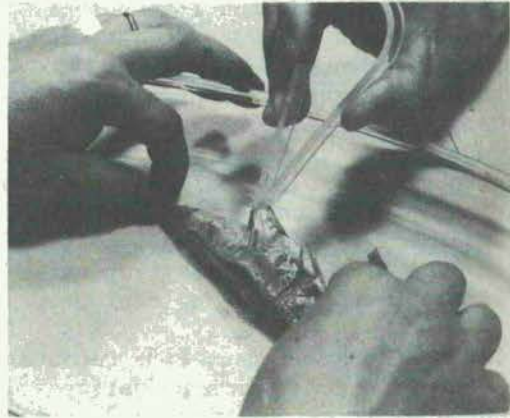
A



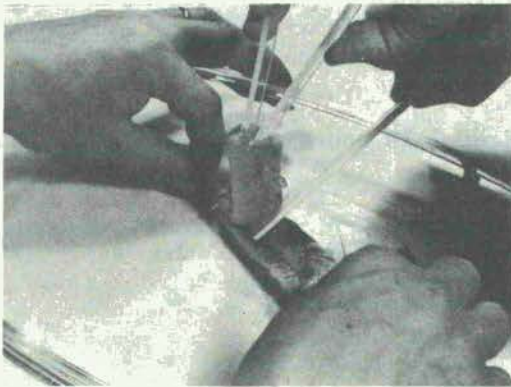
B



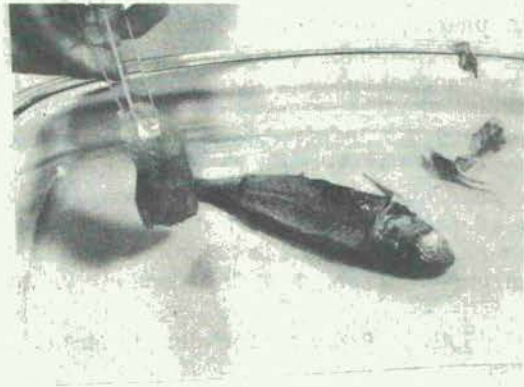
C



D



E



F

Fig. 24 Etapes de l'élimination de la nageoire pectorale (A) et de la peau (D) pour obtenir un filet (E et F) selon le mode de préparation des échantillons décrit dans le texte.

- 4) Fermer hermétiquement les échantillons, inclure la fiche d'identification de l'échantillon (cf. page 47), congeler
- 5) Préparer des fiches signalétiques comme décrit à la section 4.6
- 6) Déterminer le poids sec sur une partie de l'échantillon, conformément à la section 6.2.

5.2 Préparation des échantillons aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés

5.2.1 Choix et nettoyage des instruments et matériaux

Tous les instruments destinés à la manutention et au triage, lors de la préparation des échantillons aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés, doivent être en métal facile à nettoyer (acier inoxydable, aluminium anodisé ou en pyrex). Pour éviter de contaminer les échantillons en cours d'échantillonnage et de manutention, il faut absolument éviter tout produit en matière plastique, en caoutchouc et plus encore, en papier (papier absorbant, papier millimétré, papier filtre, etc.) à moins que ces articles n'aient fait l'objet d'essais visant à déterminer précisément les risques de contamination (Darrington et al., 1972). La contamination par les DPC est particulièrement grave, étant donné que ceux-ci sont largement employés dans l'industrie. Il arrive fréquemment que les plastiques eux-mêmes soient exempts de DPC mais que leur surface ait été contaminée du fait que l'on emploie fréquemment des DPC en tant qu'agent de séparation à la surface des moules utilisés pour former les plastiques. Aussi les échantillons doivent-ils être emballés dans des feuilles épaisses d'aluminium prénettoyées. Les instruments, ainsi que les feuilles d'aluminium, peuvent être nettoyés avec de l'éthanol à 95 pour cent ppa ou des solvants tels que l'hexane employé pour extraire les hydrocarbures chlorés en cours d'analyse. L'équipement prénettoyé est ensuite séché au four pendant une nuit. Chauffer les instruments, etc., à 450°C pendant huit heures est également efficace et facile à réaliser pour la décontamination car toutes les substances organiques sont brûlées à cette température. L'échantillonnage et le sous échantillonnage doivent être effectués dans un local propre, à l'abri de la poussière.

La table de travail peut être recouverte de feuilles d'aluminium épaisses prénettoyées ou encore de plaques de verre prénettoyées. On peut se servir, en tant que surface de travail ou de récipient provisoire, de plats en pyrex ou en porcelaine ou d'assiettes en verre prénettoyés. On peut utiliser pour les pesées des feuilles d'aluminium ou des verres de montre prénettoyés et/ou chauffés au four (450°C, 8 h) car le papier ne saurait être employé par suite du risque de contamination par les DPC. On ne mettra pas de gants pour préparer les échantillons afin d'éviter de contaminer ces derniers par le caoutchouc ou les matières plastiques. Il faut toutefois se laver soigneusement les mains avec des détergents. D'autres précautions sont décrites dans PAM - Pesticide Analytical Manual - (Département U.S. de la Santé publique, 1975) et l'EPA Pesticide Manual (Thompson, 1974). Distiller l'eau sur le permanganate.

5.2.2 Préparation des échantillons destinés à la conservation au congélateur

La procédure de congélation des échantillons (-18°C) est la même pour les différentes espèces et très analogue à celle qui a été décrite à la section 5.1.2; toutefois, on enveloppera les échantillons non dans des feuilles de polyéthylène mais dans des feuilles d'aluminium chauffées à 450°C pendant 24 heures ou prénettoyées avec de l'alcool ppa.

5.2.3 Préparation des échantillons de Mytilus

Les précautions générales décrites à la section relative à la préparation d'échantillons de Mytilus aux fins de l'analyse des métaux trouvent également leur application ici.

Caractéristiques des échantillons: comme à la section 5.1.3.

Equipement nécessaire

- 1) 2-4 couteaux en acier inoxydable ou similaire, à bout rond, pour faciliter l'ablation de la partie molle de la moule et un pour détacher les parties molles des coquilles
- 2) Environ 5 plats en pyrex
- 3) 2-4 pinces en acier inoxydable ou autre métal résistant à la corrosion
- 4) Plaque de verre ou feuille d'aluminium épaisse prénettoyées pour recouvrir la surface de travail
- 5) Morceaux prénettoyés de feuille d'aluminium pour peser les parties molles des moules
- 6) Balance de précision (tolérance maximum 0,1 g)
- 7) Flacon laveur en verre, contenant de l'eau distillée dans du verre
- 8) Flacon laveur en verre contenant de l'alcool à 95 pour cent
- 9) Règle graduée (cf. page 46)
- 10) Deux feuilles d'aluminium prénettoyées pour chaque échantillon.

Préparatifs

- 1) Se laver les mains soigneusement avec des détergents (ne pas employer de gants pour préparer les échantillons)
- 2) Nettoyer les couteaux, les pinces, les assiettes, les feuilles d'aluminium, etc., avec de l'éthanol à 95 pour cent ppa, sécher au four et, si possible brûler, les matières organiques en chauffant pendant 8 h à 450°C
- 3) Recouvrir la surface de travail d'une feuille prénettoyée d'aluminium ou d'une plaque de verre prénettoyée; ou employer comme surface de travail un ou plusieurs plats en pyrex.

Mode opératoire

- 1) Comme pour l'analyse des métaux
- 2) Comme pour l'analyse des métaux
- 3) Comme pour l'analyse des métaux, mais en utilisant le couteau No. 1 en acier inoxydable
- 4) Rincer l'extérieur de la moule avec de l'éthanol prélevé dans le flacon laveur.
- 5) Comme pour l'analyse des métaux
- 6) Peser toute la moule à 0,1 g près
- 7) Comme pour l'analyse des métaux, mais on utilisera le couteau No. 2 en acier inoxydable
- 8) Rincer l'intérieur de la moule avec de l'éthanol prélevé sur le flacon laveur, en tenant la moule comme le montre la Fig. 21
- 9) Comme pour l'analyse des métaux, mais en employant les couteaux et pinces No. 2 en acier inoxydable
- 10) Peser la partie molle de la moule sur un morceau de feuille d'aluminium prénettoyé et calculer le poids frais
- 11) Comme pour les métaux, mais avec des récipients en feuille d'aluminium prénettoyés
- 12) Comme pour les métaux, mais avec des récipients en feuille d'aluminium prénettoyés
- 13) Comme pour les métaux, mais avec des récipients en feuille d'aluminium prénettoyés.

5.2.4 Préparation des échantillons de Parapenaeus

La chair de la "queue" ou abdomen (Fig. 2) de dix crevettes au moins de 8 à 10 cm de long, fera office d'échantillon composite. Lorsqu'on ne peut se procurer de crevettes, on peut les remplacer par des échantillons prélevés sur les pinces du crabe Carcinus mediterraneus (cf. section 5.2.5).

Caractéristiques de l'échantillon:

Nombre minimum de spécimens constituant un échantillon composite: 10 crevettes

Valeurs extrêmes des longueurs totales: 8 à 10 cm

Muscles abdominaux provenant d'une crevette: 5 à 8 g poids frais.

Équipement nécessaire: comme pour Mytilus

Préparatifs: comme pour Mytilus

Mode opératoire: (Lorsque l'échantillon de crevette a été partiellement préparé à bord, on commencera à l'étape 4).

Commencer par la plus petite crevette de façon à pouvoir ne constituer que des échantillons de même poids (cf. section 7.2).

- 1) Déterminer la longueur de la crevette (du rostre à l'éventail caudal)
- 2) Peser la crevette sur un morceau de feuille d'aluminium prénettoyé et calculer le poids frais
- 3) Séparer l'abdomen du céphalothorax et de la "queue" (telson et éventail caudal) avec un couteau métallique, en prenant soin d'éliminer tous les viscères de l'abdomen (Fig. 2)
- 4) Arracher tous les pléopodes (Fig. 2)
- 5) Disposer l'abdomen face ventrale en l'air et couper avec un couteau métallique le bord des anneaux abdominaux (Fig. 25), enlever les anneaux abdominaux avec une pince métallique et les jeter
- 6) Prendre un nouveau couteau propre, détacher le muscle abdominal et l'arracher de l'exosquelette avec une pince métallique propre
- 7) Peser le muscle abdominal sur un morceau de feuille d'aluminium prénettoyé, calculer le poids frais.
- 8a) Échantillon composite: poser le muscle abdominal sur un morceau de feuille d'aluminium prénettoyé; lorsqu'on a préparé un nombre suffisant de morceaux, fermer la feuille d'aluminium, joindre la fiche d'identification de l'échantillon (cf. page 47) inclure dans une autre feuille d'aluminium et congeler
- 8b) Échantillon d'un spécimen unique: emballer, joindre la fiche d'identification de l'échantillon (cf. page 47) et congeler le muscle
- 9) Déterminer le poids sec (cf. section 6.2).

5.2.5 Préparation des échantillons de Carcinus

Caractéristiques de l'échantillon

Nombre minimum de crabes constituant un échantillon composite: 10

Valeurs extrêmes des longueurs et largeurs de carapace: 2-4 cm.

Tissu des pinces provenant d'un crabe: 0,3-0,5 g poids frais.

Équipement nécessaire: comme pour Mytilus; au lieu des couteaux, une paire de ciseaux en acier inoxydable.

Préparatifs: comme pour Mytilus.

Procédure

- 1) Si les crabes sont intacts, déterminer longueur et largeur de la carapace;
- 2) Peser un morceau de feuille d'aluminium prénettoyée;
- 3) Enlever la partie mobile de la pince et en retirer le tissu musculaire (gratter). Poser le tissu musculaire sur la feuille d'aluminium placée sur la balance de précision;
- 4) Ouvrir la pince avec les ciseaux inoxydables en coupant le long de l'arête; enlever le tissu musculaire. Poser le tissu sur la feuille d'aluminium prénettoyée sur la balance de précision;
- 5) Lorsqu'on aura recueilli assez de matériel, déterminer son poids et poursuivre comme pour Mytilus (étape 10).

5.2.6 Préparation des échantillons de Mullus

On prépare l'échantillon de Mullus barbatus selon la procédure décrite à la section 5.1.4; cependant, tous les instruments en matière plastique sont remplacés par des instruments métalliques (acier inoxydable), du verre résistant aux produits chimiques et des feuilles d'aluminium. Les opérateurs devraient procéder mains nues, après les avoir lavées avec des détergents.

Caractéristiques des échantillons: comme pour les métaux (section 5.1.4)

Équipement nécessaire: comme pour Mytilus (section 5.2.3)

Préparatifs: comme pour Mytilus

Méthode

On commence par le plus petit poisson de manière à pouvoir lever le cas échéant des filets de même poids pour l'échantillon composite pour les raisons expliquées à la section 7.2.

- 1) Comme pour l'analyse des métaux
- 2) Comme pour l'analyse des métaux
- 3) Rincer le poisson avec de l'alcool à 95 pour cent
- 4) Comme pour l'analyse des métaux; toutefois, employer des couteaux et pinces métalliques au lieu d'instruments en plastique
- 5) Comme pour l'analyse des métaux; toutefois, employer des couteaux et pinces métalliques au lieu d'instruments en plastique
- 6) Comme pour l'analyse des métaux; toutefois, employer des couteaux et pinces métalliques au lieu d'instruments en plastique
- 7) Comme pour l'analyse des métaux; cependant, employer des feuilles d'aluminium prénettoyées pour les pesées
- 8) Comme pour l'analyse des métaux; cependant, employer des feuilles d'aluminium prénettoyées pour les pesées
- 9) Comme pour l'analyse des métaux; cependant, employer des feuilles d'aluminium prénettoyées pour les pesées

- 10) Préparer les échantillons destinés à l'entreposage congelé comme décrit à la section 5.2.2
- 11) Comme pour l'analyse des métaux
- 12) Comme pour l'analyse des métaux.

5.3 Préparation d'échantillons d'autres organismes marins aux fins d'analyse des métaux et des hydrocarbures chlorés

On peut préparer les mollusques, les crustacés et les poissons conformément aux méthodes décrites ci-dessus pour les espèces respectives. On peut préparer des échantillons de plancton suivant les indications de Martin et Knauer (1973), Harvey et al. (1974) et Grice et al. (1972).

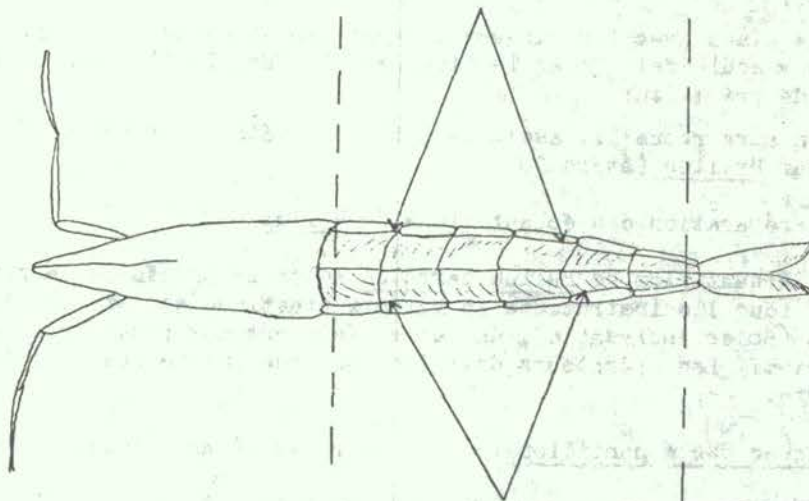


Fig. 25 Les flèches donnent l'indication du point où l'on découpe les crevettes une fois que les pattes ont été enlevées pour dégager le muscle caudal.

6. METHODES D'ANALYSE

La consultation d'experts a recommandé la spectrophotométrie d'absorption atomique (AAS) et la chromatographie en phase gazeuse (GC) comme techniques analytiques de base pour l'analyse des métaux et pour l'analyse des hydrocarbures chlorés (Chl-HCs) respectivement.

L'activation neutronique, la fluorescence X, etc., ont aussi été reconnues comme des méthodes analytiques qui donnent satisfaction. Leur utilisation devra être encouragée pour l'analyse multiple des éléments. Il s'agit en effet de méthodes indépendantes nécessaires pour évaluer la précision des résultats obtenus par spectrophotométrie d'absorption atomique.

On a recommandé en outre l'emploi d'unités chromatographie en phase gazeuse - spectroscopie de masse, qu'elles soient existantes ou à créer, dans le but de vérifier et de faciliter l'identification des substances qui sont décelées par chromatographie en phase gazeuse.

On n'emploiera dans ces projets-pilotes aucune technique analytique normalisée, que ce soit pour l'analyse des métaux ou pour celle des hydrocarbures chlorés. Néanmoins, on trouvera ci-après quelques suggestions quant aux méthodes qui pourraient se révéler particulièrement utiles pour les laboratoires qui n'ont pas encore adopté leurs propres méthodes.

Plusieurs déterminations chimiques supposent un prétraitement de l'échantillon. Pour les métaux ce prétraitement consiste à détruire la matière organique de l'échantillon et à transformer en ions métalliques libres les métaux organiquement liés. Dans le cas des hydrocarbures chlorés des étapes de séparation doivent précéder les déterminations proprement dites.

Le principal problème en matière d'analyse chimique des organismes marins réside dans le manque d'uniformité de la "matrice" c'est-à-dire la composition chimique des échantillons. On sait notamment qu'elle diffère d'une espèce à l'autre (Windom, 1972). Il importe donc tout particulièrement de pouvoir estimer la précision des résultats obtenus par une méthode analytique. On peut contrôler cette précision de deux façons:

- 1) en analysant un matériel normalisé de référence, de composition chimique bien connue, chimiquement identique (même matrice) aux échantillons à étudier;
- 2) en analysant une série d'échantillons identiques par des méthodes indépendantes.

Un autre aspect important de la surveillance continue réside dans: (1) l'estimation de la variation analytique (précision), c'est-à-dire la variance ou écart statistique de la détermination analytique toute entière, en commençant par le prétraitement et jusqu'à la détermination proprement dite et (2) l'estimation de la variation biologique des concentrations de polluants, provoquée par les variations des facteurs biologiques intrinsèques ou ceux de l'environnement. Il faut admettre qu'à défaut d'une bonne estimation de ces sources de variation, il est impossible d'établir des différences statistiquement significatives entre échantillons prélevés en des lieux différents ou encore au même lieu à des moments différents, en d'autres termes, les tendances de la pollution dans le temps et dans l'espace. Il est évident que la détermination réalisée sur un échantillon groupé ne donne qu'une valeur équivalente à une moyenne et ne fournit aucune indication quant aux variations entre spécimens; par suite, elle ne saurait suffire à établir des conclusions sur les différences entre échantillons. Les analyses d'échantillons groupés devraient, chaque fois que possible, être complétées par un certain nombre de déterminations visant à estimer les différentes sources de variation (cf. section 7).

6.1 Contamination de la verrerie; moyens de l'éviter

Les modifications de l'échantillon provoquées par la contamination et la déperdition constituent un problème primordial dans l'analyse des éléments traces. Le zinc, le plomb et le cuivre sont présents partout et de nombreux laboratoires sont contaminés par le

mercure. Bothner et Robertson (1975) ont montré que Hg provenant du sol d'un laboratoire contaminé peut pénétrer dans des bouteilles de polyéthylène et contaminer l'eau de mer qu'elles contiennent. Bien que les matières biologiques aient en général des concentrations de mercure de 100 à 1 000 fois plus élevées que l'eau de mer, il convient d'envisager les risques de contamination par Hg et, s'il y a lieu, de les éliminer. Slavin *et al.* (1975), effectuant des analyses sur 9 métaux lourds, ont dû faire face à des problèmes graves de contamination qui ont pu être résolus par lavage de toute la verrerie à l'acide nitrique. Afin de minimiser la contamination par la verrerie, Julshamm et Braekkan (1975) ont lavé toute la verrerie avec un mélange de 30 % de HCl concentré et 10 % de H₂O₂ dans de l'eau distillée. Ils ont ensuite rincé avec HCl dilué et de l'eau déionisée et enfin effectué un séchage à 90°C. Néanmoins, des procédés de nettoyage aussi poussés ne s'imposent pas toujours et il suffit de nettoyer la verrerie en la trempant pendant une nuit dans un bon détergent et en la rinçant plusieurs fois à l'eau distillée. Il faut éviter à tout prix le mélange acide chromique-acide sulfurique, car il contamine les surfaces de verre avec Cr, qui est très difficile à éliminer (Thiers, 1957).

Sperling (1975) a constaté qu'il devait nettoyer à l'acide le bout de ses pipettes avant de s'en servir pour extraire Cd par lixiviation. Il a également observé que différentes marques de tubes de polypropylène utilisés pour la digestion des matières biologiques donnaient, pour plusieurs blancs, des valeurs de Cd différentes, de l'ordre de 0,1 à 0,2 µg Cd/l. Sommerfeld *et al.* (1975) suggèrent de rincer les pipettes trois fois avec HCl ultra-pur à 1 % pour réduire la contamination par Zn et Fe. Robertson (1968), Bernhard et Piro (1971) et Everson (1972) ont montré que le caoutchouc et certains CPV peuvent contaminer les solutions avec lesquelles ils entrent en contact. Ils suggèrent de n'utiliser que des tubes en polyéthylène, en teflon, en tygon, etc., dont on a prouvé qu'ils ne libèrent pas de métaux lourds. On trouvera chez Robertson (1972) un état récent de la question.

6.2 Détermination du poids sec des matières biologiques

La concentration d'éléments et de substances est en général donnée par rapport au poids frais (PF) ou par rapport au poids sec (PS) et il faudrait, si possible, déterminer les deux. Le poids frais ou poids vif est difficile à définir car les organismes marins perdent de l'eau plus ou moins rapidement après leur capture en mer. Cependant, la plupart des modèles biologiques se réfèrent au poids frais car il est plus facile à comparer aux mesures de volume. La détermination par rapport au poids sec présente également des difficultés car les tissus doivent être desséchés jusqu'à ce que le poids reste constant; cela n'est pas toujours possible, notamment en présence de grosses quantités de lipides, comme c'est souvent le cas pour les tissus de poisson. Les données relatives au seul poids des cendres ne signifient pas grand-chose.

La détermination du poids sec suppose que l'échantillon soit desséché à 110°C jusqu'à ce que le poids reste constant (en général au bout de 24 à 48 h). Il faut déterminer le poids de l'échantillon à plusieurs reprises pour savoir si l'on a atteint le poids constant.

Equipement nécessaire:

- 1) flacon à tare muni d'un bouchon rodé
- 2) dessiccateur
- 3) balance de précision
- 4) four de séchage équipé d'un thermomètre

Mode opératoire:

- 1) Un flacon à tare propre, le bouchon rodé enlevé est placé dans le four à sécher (110°C, 8 h) à l'aide d'une pince propre. Il importe d'utiliser la pince chaque fois que l'on touche le verre afin d'éviter de laisser sur le verre des empreintes digitales et des particules de saleté

- 2) Le bouchon et le flacon sont placés dans le dessiccateur le temps de leur refroidissement
- 3) Le flacon et le bouchon sont ensuite soigneusement pesés sur la balance de précision. Le poids obtenu est le poids du flacon à tare vide et sec et du bouchon (P 1). Noter ce poids
- 4) Enlever le bouchon et placer dans le flacon à tare de 1 à 2 g de matière, remettre le bouchon
- 5) Déterminer soigneusement le poids du flacon à tare avec son bouchon. Le poids obtenu est le poids frais (PF) du tissu, plus le poids du verre et du bouchon (P 2)
- 6) Placer le flacon dans le four à sécher (110°C) en enlevant le bouchon et en la plaçant également dans le four
- 7) Après 24 h, remettre le bouchon sur le flacon, enlever le flacon bouché du four à sécher et le placer dans un dessiccateur pendant son refroidissement
- 8) Peser le flacon (P 3) et noter le poids
- 9) Remettre le flacon dans le four à sécher (110°C) en prenant soin d'enlever le bouchon
- 10) Après 24 h, répéter les étapes 7 et 8. Si le poids P 3 ne change pas, la détermination est terminée.

$$P 2 - P 1 = PF ; P 3 - P 1 = PS$$

6.3 Destruction de la matière organique dans les échantillons biologiques

La spectrophotométrie d'absorption atomique suppose que la matière organique des échantillons soit détruite. Cela est possible par combustion (réduction en cendres ou attaque par les acides). En général on préfère la combustion par voie humide, car le fait de porter les substances à des températures dépassant 450°C pour brûler la matière organique entraîne la perte des composés les plus volatils. Il ne semble pas douteux qu'il y ait déperdition de composés volatils organo-métalliques en cours du séchage et de la combustion par voie sèche; les données expérimentales publiées sont néanmoins contradictoires. Strohal et al., (1969) et Doshi et al. (1969) ont étudié la perte de plusieurs éléments sur des organismes marins qui avaient accumulé des radio-isotopes provenant d'un environnement artificiel ou auxquels des isotopes avaient été injectés. Strohal et al. ont trouvé que, même à basse température (110°C), les pertes étaient de 9 (Zn) à 14% (Mn et Co). A 450°C, les valeurs respectives varient entre 23% (Zn) et 15% (Mn). Doshi et al., ont observé des pertes analogues, cependant moins élevées, à 400°C: entre 9% (Zn et Co) et 4% seulement (Mn). D'autre part, plus récemment, Van Raaphorst et al. (1974) ont étudié la déperdition de Zn et Co sur des moules et des algues marquées aux isotopes. Ils n'ont observé aucune perte de zinc ou de cobalt par volatilisation, même à des températures allant jusqu'à 1 000°C. Contrairement aux autres auteurs qui avaient observé d'importantes absorptions d'éléments par les creusets en porcelaine employés, Van Raaphorst et al. n'ont noté que des absorptions minimales, même à des températures élevées.

L'interprétation des résultats de Van Raaphorst n'est pas facile, surtout si l'on tient compte des points peu élevés de fusion et d'ébullition de certaines substances inorganiques, sans parler des points de fusion et d'ébullition des composés organo-métalliques également peu élevés. Des expériences effectuées dans des fours à graphite utilisés en absorption atomique montrent très clairement qu'il se produit une déperdition d'éléments. En fait, la détermination de nombreux éléments est basée sur la volatilisation quantitative dans le four. Ainsi Sperling (1975) a montré que $CdCl_2$ est rapidement perdu lorsqu'on chauffe pendant une minute à des températures dépassant 420°C. La présence des mélanges de HNO_3/H_2SO_4 ou $HNO_3/HClO_4$ utilisés dans la digestion humide, retarde quelque peu la déperdition.

Il n'est guère recommandé de réduire la matière en cendres sèches à basses températures, avec de l'oxygène excité; Pillay et al. (1971) notamment, ont observé des pertes de composés

volatils de Hg. En séchant des foies d'oiseaux à 105°C, Parslow (1973) a constaté des pertes de Hg (15%). Ces résultats contradictoires semblent indiquer que pendant le chauffage des échantillons, les différents éléments de la matrice réagissent les uns sur les autres, modifiant leur volatilité. En fait, Ediger (1975), cherchant à réduire la volatilité des éléments soumis à l'analyse et accroître la volatilité des composés organiques de la matrice afin de faciliter leur élimination avant atomisation au four à graphite, a noté, par exemple, que l'addition de petites quantités de Ni ou Cu limite la volatilisation du sélénium dans des échantillons étalons de foie de bovins provenant du NBS. Dans des expériences sur modèle, aucune perte de Se ne s'est produite lorsqu'on a ajouté 20 µg de Ni (quantité qui, selon la méthode d'analyse, pourrait sans difficulté être apportée par la contamination) à un échantillon contenant 2 ng de Se, dans de l'eau déionisée, l'échantillon étant porté jusqu'à 1 200°C. On a également observé des diminutions de la volatilité de As, Ge, Ga, Cd et Hg dans différentes conditions expérimentales. Etant donné que dans les matrices compliquées il n'est guère possible de prévoir ces "transformations de matrice", il conviendrait d'entreprendre des expériences de récupération portant sur les différentes matrices rencontrées, afin de s'assurer que la récupération quantitative est certaine dans les conditions utilisées pour la digestion.

Afin de garantir un traitement uniforme des échantillons par tous les participants, il serait souhaitable d'appliquer à tous les éléments les mêmes traitements de combustion par voie humide. Il est par conséquent recommandé, dans le cadre du présent projet pilote, de n'utiliser que des vases clos pour les digestions et d'effectuer, avant d'entreprendre l'analyse des échantillons, une expérience de récupération afin d'acquérir la certitude que les conditions expérimentales sont satisfaisantes. Il convient également d'accompagner d'un blanc chaque série d'analyses, afin de compenser les risques de contamination inhérents aux substances chimiques utilisées dans le processus de digestion.

On trouvera ci-après quelques recommandations d'ordre (Windom, 1972). Lorsqu'on utilise de l'acide nitrique fumant, il faut avoir soin d'éviter de produire une flamme. Après avoir ajouté l'acide nitrique, il faut laisser l'échantillon au repos pendant 30 min sans chauffer. Si l'échantillon devait prendre feu, il convient de l'éteindre immédiatement avec de l'eau distillée, afin d'éviter que les substances à analyser se volatilisent et se perdent. S'il est impossible d'éteindre immédiatement, il faut jeter l'échantillon et en minéraliser un autre.

La destruction des matières organiques a été étudiée récemment par Gorsuch (1970), Christian (1960), Reimers et al. (1973) et, surtout en ce qui concerne Hg, par Ure (1975).

6.3.1 Danger d'explosion

Si l'on place dans des vases clos des quantités trop élevées de matières organiques, par exemple si l'on prend, au lieu d'une quantité de substance exprimée en poids frais (PF) la même quantité en poids sec (PS) les récipients, et particulièrement les récipients en matière plastique employés dans le procédé d'Adrian (voir ci-après), peuvent éclater. Par suite il faut effectuer toutes les opérations de digestion en prenant toutes les précautions qui s'imposent avec les acides chauds. En particulier, les hottes aspirantes doivent être closes lorsqu'on chauffe les récipients.

Les récipients de plastique défectueux doivent être jetés, et ceux qui ont été employés de nombreuses fois doivent être remplacés avant qu'ils n'éclatent (Aitzetmüller et al., 1973).

6.3.2 Décomposition de substances organiques sous pression de liquide pour l'analyse des métaux

On emploie des agents oxydants forts pour détruire la matière organique. Ainsi, on a employé l'acide nitrique et l'acide sulfurique, parfois suivi d'une oxydation au permanganate de potassium, à l'eau oxygénée et/ou au persulfate de potassium (Bouchard, 1973; Barber et al., 1972; Cutshall et Naidu, 1972; Stainton, 1971; et Uthe et al., 1974). Etant

donné que nombre de composés organiques du mercure sont très volatils, on ne saurait employer de récipients ouverts (ballons de Kjeldahl). Même les systèmes à reflux ne sont pas en mesure de prévenir les déperditions de composés métalliques volatils: seuls les systèmes clos sont fiables (Holak et al., 1972; Stoeppler et Backhaus, sous presse). Plusieurs firmes fabriquent des récipients dont l'intérieur est revêtu de téflon ou qui renferment intérieurement un creuset en téflon; ils possèdent un couvercle étanche et ils sont d'une utilisation facile. Les digestions à des températures dépassant 100°C facilitent la dissolution des matières organiques, réduisent la durée de la réaction et, par suite, le processus de décomposition. On peut utiliser plusieurs creusets simultanément, ce qui accroît l'efficacité dans l'exécution d'un programme de minéralisation. Comme c'est généralement le cas pour les systèmes clos, le seul désavantage réside dans la possibilité d'explosion et de provoquer des dommages lorsque de trop grandes quantités de matière organique sont traitées. La digestion doit par conséquent toujours être effectuée sous une hotte aspirante possédant une fenêtre qui isole des vapeurs, protège d'une manière adéquate et élimine les dommages que peuvent causer les dégagements de vapeurs acides hautement corrosives. Les échantillons ne seront jamais gardés longtemps dans les creusets après la digestion car les solutions de digestion fortement acides peuvent attaquer la matière du creuset et se dissoudre, avec les impuretés qu'elle contient, dans la solution de digestion créant aussi un risque de contamination. Par conséquent et du fait que beaucoup d'échantillons peuvent être traités ensemble, les digestions devront toutes être réalisées en même temps.

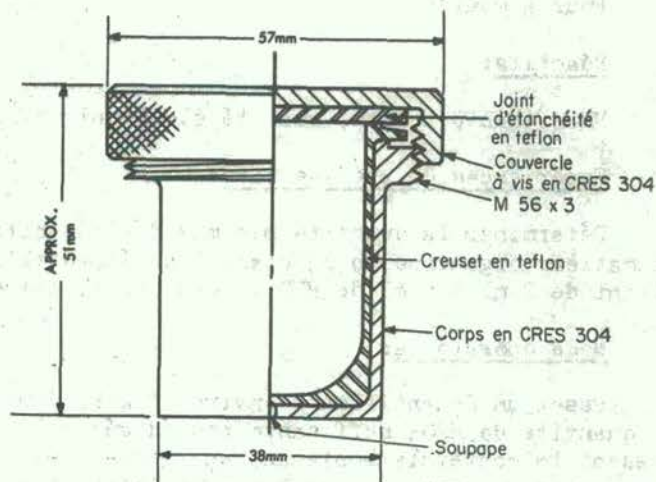


Fig. 26 Récipient à décomposition (Bernas, 1968).
(reproduit avec l'aimable autorisation de l'auteur)

Les vases clos sont, de nos jours, facilement disponibles, et il est recommandé de les employer exclusivement.

Il importe aussi de ne pas dépasser les quantités de matières organiques recommandées ci-après. Etant donné que l'acide nitrique excédentaire doit être éliminé pour éviter qu'il interfère avec les déterminations on suggère, par des expériences préliminaires, de déterminer la quantité d'acide nécessaire pour détruire la matière organique contenue dans les quelques matrices choisies pour le présent projet.

Nettoyage du creuset avant et entre les digestions

Nettoyer s'il y a lieu avec des détergents et rincer avec de l'eau distillée; effectuer ensuite une digestion sans échantillon. Rechercher dans la solution la substance à analyser, selon le procédé analytique choisi. Si la valeur obtenue est élevée, répéter la digestion à blanc.

6.3.2.1 Combustion par voie humide dans des creusets clos en teflon

Holak et al. (1972) ont décrit l'utilisation d'un creuset clos en teflon monté dans un bloc d'acier, aux fins de digestion des tissus de poisson. On trouvera ci-après une description (légèrement modifiée) de leur méthode.

Appareillage:

Récipient à digestion (Uni-Seal Decomposition Vessels, P.O. Box 9463, Haïfa, Israël, Fig. 26)

Four à moufle

Réactifs:

HNO₃, haute pureté, qualité électronique, 65%

Expériences de prédigestion:

Déterminer la quantité minimum d'acide nitrique nécessaire pour détruire complètement la matière organique en ajoutant à un échantillon de 1 g PF des quantités croissantes d'acide, allant de 2 ml à 6 ml de HNO₃. Ceci doit être effectué pour chaque nouvelle matrice.

Mode opératoire:

Peser un échantillon d'environ 1 g PF dans un récipient à digestion en teflon. Ajouter la quantité de HNO₃ suffisante pour digérer la matrice organique et fermer le récipient en vissant le couvercle contenant un disque d'étanchéité en teflon. Placer le récipient, sans le renverser, dans le four à moufle préchauffé à 150°C, pendant 30 à 60 min ou jusqu'à ce que la solution soit limpide (la durée optimum peut varier suivant le type de substance; si la solution est colloïdale, chauffer jusqu'à ce qu'elle soit limpide). Sortir le récipient du four et ramener à la température ambiante. Dévisser le couvercle, mettre en place le bec et transférer l'échantillon, à l'aide d'un peu d'eau distillée, dans une fiole jaugée de 10 ml et compléter le volume avec de l'eau distillée. Analyser dans les six heures.

Stoeppler et Backhaus (sous presse), ont élaboré un appareil de digestion analogue. Plusieurs récipients également en teflon, avec couvercle, sont placés dans un bloc en acier inoxydable. Le couvercle en teflon est maintenu en place par une série de ressorts d'acier. Si, pendant la combustion, la pression dépasse une certaine valeur, le couvercle en teflon se soulève et la pression est relâchée sans explosion.

Appareillage:

Blocs en acier inoxydable avec creuset en teflon d'un volume approximatif de 50 ml (Firma H.J. Groteklaes Maschinen-und Stahlbau, 517 Jülich, Margaretenstr. 7, République fédérale d'Allemagne. Fig. 27).

Plaque chauffante à contrôle thermostatique.

Réactifs:

HNO₃, haute pureté électronique, 65%

Expérience de prédigestion:

Déterminer comme dans la méthode précédente la quantité minimum de HNO₃ nécessaire pour détruire la matrice organique.

Mode opératoire:

- 1) Déposer un échantillon d'environ 1 g PF dans chacun des creusets de teflon
- 2) Ajouter la quantité prédéterminée de HNO₃ concentré, couvrir le creuset et monter le couvercle en acier avec les ressorts. Serrer les boulons en croix
- 3) Laisser s'opérer la prédigestion pendant 30 min au moins
- 4) Chauffer le bloc d'acier contenant les creusets en teflon (100°C) sur un réchaud à contrôle thermostatique, pendant 60 min
- 5) Laisser le bloc refroidir sans autre intervention, ou en appliquant de l'air froid, ou en le plaçant dans un bain d'eau. Ouvrir après refroidissement. La solution peut maintenant être analysée
- 6) Si la solution n'est pas limpide, porter de nouveau à 100°C pendant 60 min.

6.3.2.2 Combustion par voie humide en bouteilles closes de plastique

Adrian (1971) a proposé une autre méthode de digestion en récipients clos; elle permet de traiter simultanément un grand nombre d'échantillons, avec un matériel bon marché. Luyten et al. (1973) ont comparé cette méthode à d'autres procédés de digestion et ont montré que le procédé d'Adrian supporte aisément la comparaison avec les autres techniques pour la détermination de Cu et de Zn, sauf lorsqu'on traite des tissus à forte teneur lipidique. Néanmoins Bothner et Robertson (1975) ayant montré que Hg est susceptible de pénétrer les plastiques, il faut envisager les risques de contamination par le mercure.

Appareillage:

Bouteilles en nalgène ou en plastique similaire (50 à 100 ml), avec couvercle pouvant se visser,

Bain-marie (70°C) assez grand pour contenir le nombre de bouteilles (10 à 100) à traiter.

Réactifs:

HClO₄, haute pureté électronique

HNO₃, haute pureté électronique

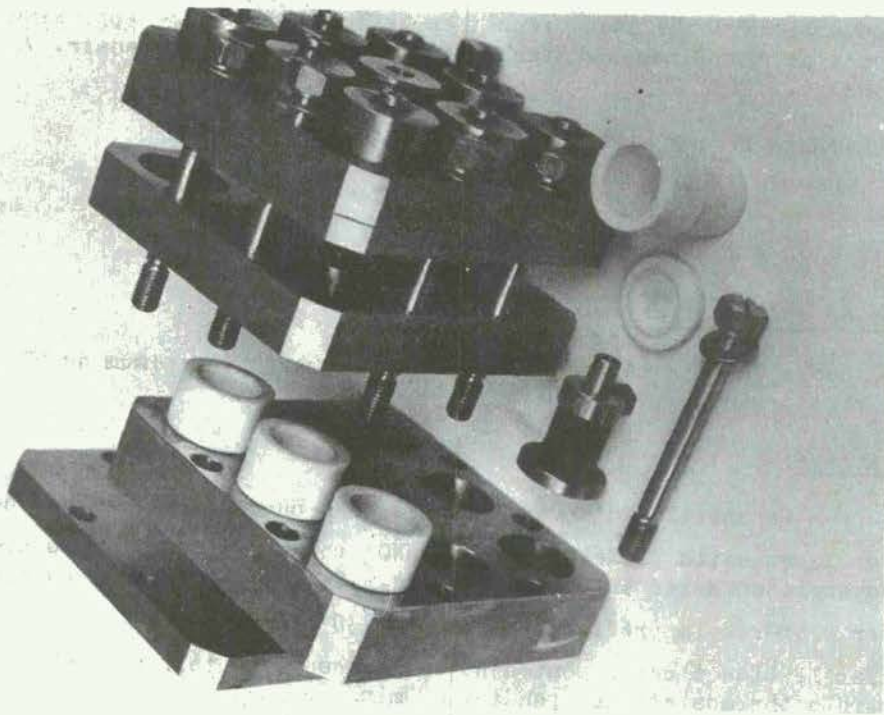
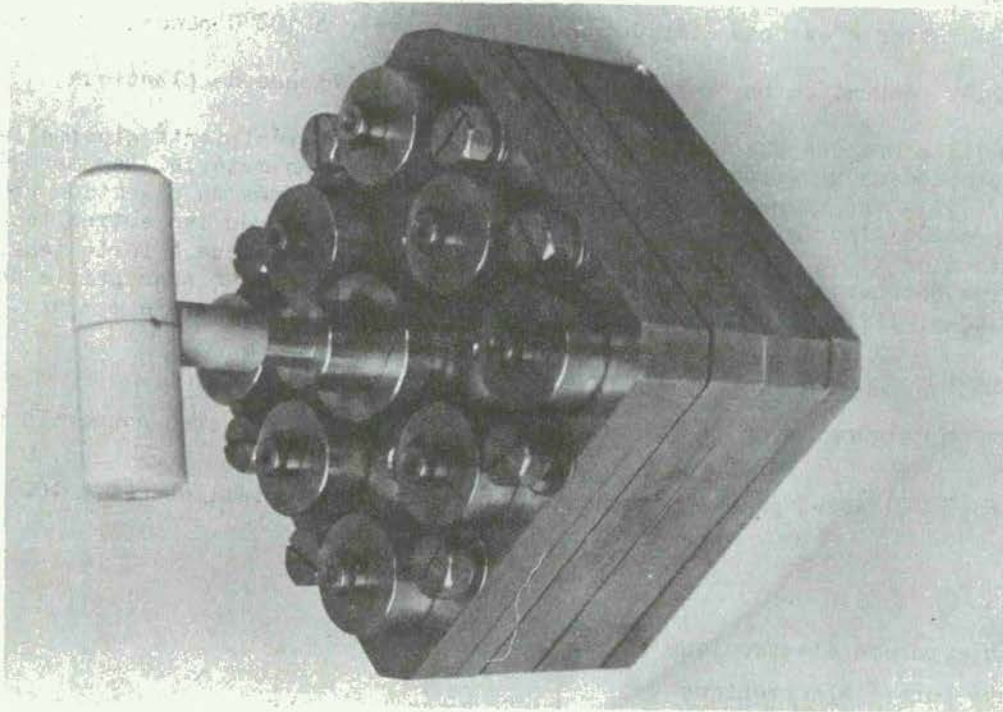


Fig. 27 Cuve à décomposition à plusieurs récipients, reproduite avec l'aimable autorisation de la Firma Groteklaes Maschinen-und Stahlbau Jülich. Dimensions du bloc d'acier pour échantillons: 150 x 150 mm; hauteur 117 mm

Mode opératoire:

- 1) Placer des échantillons d'environ 5 g PF dans chaque bouteille
- 2) Ajouter 1,5 ml de HClO_4 et 3,5 ml de HNO_3 (déterminer la quantité minimum nécessaire), bien fermer et laisser sous la hotte aspirante
- 3) Placer les bouteilles dans un bain-marie chaud (60 à 70°C) pendant 2 à 3 h (jusqu'à ce que la solution soit limpide)
- 4) Enlever les couvercles et ajouter de 2 à 3 ml d'eau distillée
- 5) Réchauffer les bouteilles ouvertes sous la hotte aspirante pour éliminer l'excès d'acide qui peut interférer avec les déterminations par spectrophotométrie d'absorption atomique.

Une fois refroidis, les échantillons sont prêts pour l'analyse. Les bouteilles peuvent être utilisées comme récipients de réaction au cours du processus d'aération-réduction sans flamme pour déterminer Hg, As et Se.

Précaution: Les bouteilles en matière plastique peuvent éclater si le processus de digestion produit une pression trop élevée, aussi faut-il opérer dans une hotte aspirante fermée.

6.4 Spectrophotométrie d'absorption atomique

L'utilisation de la spectrophotométrie d'absorption atomique pour déterminer certains éléments dans des substances biologiques consiste en général à introduire après combustion le produit d'une digestion de matière, dans le brûleur d'un spectrophotomètre d'absorption atomique, l'échantillon étant atomisé par une flamme (AAS avec flamme). Un faisceau de lumière émis par une lampe à cathode creuse dont l'élément à analyser constitue la cathode passe à travers la flamme. Lorsqu'un échantillon est vaporisé dans la flamme, ses atomes absorbent les raies émises par la cathode, réduisant le signal de la raie spectrale qui est reçue dans un phototube à l'aide d'un monochromateur. La réduction du signal est proportionnelle à la quantité de l'élément présent dans l'échantillon. Néanmoins l'absorption non atomique de la raie émise par la lampe à cathode creuse peut aussi se produire, notamment lorsqu'on brûle dans une flamme à faible température des échantillons contenant de fortes doses d'autres substances. Cette absorption non atomique a deux causes: l'absorption moléculaire et la diffusion de la lumière.

L'absorption moléculaire se produit lorsque la température de la flamme n'est pas assez élevée pour transformer toutes les molécules en atomes. L'augmentation de la température de la flamme provoque la désintégration d'un nombre plus grand de molécules mais produit aussi un nombre plus élevé d'ions, ce qui diminue l'absorption atomique et, par conséquent, la sensibilité.

La diffusion de la lumière est causée par les particules présentes dans la solution-échantillon. Ces particules sont produites dans la flamme lorsque la matière organique n'est pas complètement détruite lors de la combustion, du fait de la teneur élevée en solides de l'échantillon aspiré. Elles réduisent le signal qui arrive au photomultiplicateur. Ces deux types d'absorption non atomique se produisent dans une vaste gamme de longueurs d'onde et sont grandement augmentés pour les faibles longueurs d'onde.

Trois méthodes peuvent être employées pour réduire ou compenser l'absorption non atomique. La première est une séparation chimique qui est réalisée avant d'introduire la solution-échantillon dans la flamme. Une autre méthode consiste à appliquer une correction de fond à la mesure de l'absorption atomique, et la troisième demande que les étalons soient préparés dans des solutions dont la composition chimique est voisine de celle des matrices. La mesure de l'absorption de la source du faisceau lumineux (lampe à cathode creuse, par exemple) est la somme de l'absorption atomique et non atomique. La correction de fond de l'absorption due à la diffusion de la lumière et à l'absorption moléculaire peut être

réalisée en déterminant l'absorption à la longueur d'onde choisie, d'une source lumineuse émettant un spectre continu (lampe à cathode creuse ou lampe à arc, à hydrogène ou au deutérium). En pratique, cela signifie que: (i) l'absorption à la raie choisie émise par la lampe à cathode creuse et (ii) l'absorption du spectre continu sont déterminées toutes les deux.

Dans les instruments modernes ces deux mesures sont effectuées simultanément, si bien qu'à intervalles très rapprochés (20 à 150 fois par seconde) chacun des faisceaux de la lampe à cathode creuse ou de la source continue passe par la flamme. L'unité de traitement des données qui reçoit l'output du photomultiplicateur est synchronisée sur les sources lumineuses modulées, de sorte que le signal de la lampe à cathode creuse peut être distingué du signal de la source continue, ce qui permet la correction automatique de l'absorption non atomique (correction de fond automatique).

La troisième méthode employée pour corriger l'absorption non atomique consiste à préparer les étalons dans des solutions dont la composition chimique est très voisine de celle de l'échantillon examiné ou à employer la méthode standard des additions aux fins d'étalonnage. Cela suppose que l'on connaisse la concentration des éléments pouvant interférer (voir par exemple Windom, 1972) ou que des quantités connues de l'élément à analyser soient ajoutées (après prétraitement) à des sous échantillons de l'échantillon initial. Les résultats obtenus permettent de construire une courbe d'étalonnage qui, après avoir été extrapolée à l'absorption 0, permet d'évaluer la concentration de l'élément présent dans l'échantillon.

Il n'est guère aisé de préparer une solution qui simule la matrice souvent compliquée des échantillons provenant de l'environnement, étant donné qu'il est parfois impossible de reproduire avec la précision voulue la viscosité, la tension superficielle et la composition chimique complexe. Il faut aussi effectuer des analyses chimiques complémentaires portant en particulier sur les métaux alcalins et alcalinoterreux existant en fortes concentrations dans les échantillons marins. En outre, les substances chimiques employées pour simuler la matrice présentent un danger de contamination. On trouvera au Tableau III une indication des concentrations approximatives de Na, K, Ca, Mg, Cl, S, P et Fe dans les organismes marins.

Deux autres techniques de spectrophotométrie d'absorption atomique, différentes de la technique de la flamme, sont intéressantes. Les éléments et composés volatils à température ambiante (Hg métal, hydrures de As, Se, Pb, Sb, etc.) sont alors introduits, après leur transformation en composés volatils, dans le parcours du faisceau lumineux. L'absorption de Hg métal est déterminée sans flamme et certains hydrures sont atomisés dans une flamme particulière. Cette transformation chimique, qui élimine de nombreuses interférences matricielles, est essentiellement employée pour les déterminations de Hg, As et Se.

Une autre méthode de spectrophotométrie d'absorption atomique sans flamme repose sur la volatilisation des éléments à haute température. A cette fin, on chauffe un petit échantillon (5-100 μ l) dans un four à graphite situé sur le passage du faisceau lumineux. Il ressort de la comparaison de la sensibilité des différentes méthodes que la détermination par les méthodes sans flamme a un seuil de détection plus bas, sauf lorsqu'il se produit dans le four à graphite des interférences matricielles. Un autre avantage du four à graphite est qu'il nécessite une quantité d'échantillon particulièrement faible. On trouvera au Tableau IV un exemple des seuils de détection des différentes méthodes de spectrophotométrie d'absorption atomique, ainsi que des gammes de concentration typiques des organismes marins. Dans de nombreux cas, la sensibilité de la méthode de spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme suffirait aux déterminations et permettrait de raccourcir la procédure d'analyse des échantillons.

En conclusion, on peut affirmer qu'en dépit du fait qu'un grand nombre d'auteurs ont, sans difficulté apparente, analysé nombre d'éléments différents par l'une ou l'autre méthode, on observe à l'occasion d'exercices d'interétalonnage (cf. ICES, 1974) des données très divergentes. La détermination des éléments traces n'est pas nécessairement facile et

Tableau III

Constituants principaux (Na, K, Ca, Mg, Cl, S, P) de quelques organismes marins, en µg d'élément par g de poids frais

| | Na | K | Ca | Mg | Cl | S | P | Ref. |
|----------------------------------|-------------|-------------|---------------|-------------|---------------|-------------|------------------|------|
| <u>Ulna lactuca*</u> | 10 600 | 380 | 400 | 1 300 | 18 000 | 800 | 10 ⁻⁵ | (6) |
| <u>Calanus finmarchicus</u> | 3 100-5 600 | 4 100-4 700 | 3 500-17 200 | 4 100-4 500 | 200 | 800-34 300 | - | (1) |
| <u>Plancton, 76 µ-net*</u> | 5 400-6 500 | 2 900 | 360-400 | 240-300 | 10 500-11 800 | 1 400-1 500 | 1 300-1 500 | (2) |
| <u>Plancton, 360 µ-net*</u> | 11 500 | 7 900 | 1 200 | 1 300 | - | - | - | (8) |
| <u>Euphausiades*</u> | 8 000 | 1 000 | 2 000 | 900 | - | - | - | (8) |
| <u>Copépodes*</u> | 5 600 | 1 200 | 900 | 800 | - | - | - | (8) |
| <u>Naïdiolaires*</u> | 7 400 | 1 200 | 800 | 850 | - | - | - | (8) |
| | 10 300 | 1 100 | 850 | 1 100 | - | - | - | (8) |
| <u>Pennaeus sp. partie molle</u> | 1 000-1 100 | 3 800-4 100 | 500-1 400 | 400-500 | - | - | 1 500-2 200 | (3) |
| <u>Mytilus edulis, muscle</u> | 1 400 | 9 000 | 130 | 700 | 1 100 | 100 | 3 600 | (4) |
| <u>Cardium edulis, muscle</u> | 5 100 | 3 050 | 410 | 930 | - | - | - | (4) |
| <u>Patella vulgaris, podium</u> | 4 200 | 2 400 | 1 000 | 760 | - | - | - | (4) |
| <u>Sepia officinalis, muscle</u> | 600 | 5 260 | 60 | 310 | 650 | 50 | 2 190 | (4) |
| <u>Ostrea edulis</u> | 6 500 | 2 580 | 1 850 | 410 | - | - | - | (4) |
| <u>Engraulis encrasicolus</u> | 1 300 | 2 700 | 3 000 | 540 | 2 100 | 2 600 | 2 200 | (5) |
| <u>Sardina pilchardus</u> | 930 | 5 000 | 2 300 | 460 | 1 700 | 2 700 | 2 200 | (5) |
| <u>Merluccius vulgaris</u> | 750 | 5 000 | 750 | 4 500 | 2 200 | 2 100 | 1 000 | (5) |
| <u>Mugil cephalus</u> | 1 000 | 3 200 | 300 | 300 | - | - | 1 700 | (5) |
| <u>Scomber australasicus</u> | 1 000 | 4 200 | 200 | 400 | - | - | 2 700 | (5) |
| <u>Fundulus heteroclitus*</u> | 1 160-2 100 | 3 320-3 930 | 11 900-25 000 | 530-800 | - | - | - | (7) |

* estimations à partir du poids sec ou de celui des cendres

Réf: Vinogradov (1953) (1) p. 65, (2) p. 387, (3) p. 383, (4) p. 291-292, (5) p. 506-509, (6) Sverdrup et al. (1942), (7) Eisler et La Roche (1972), (8) Martin et Knauer (1973)

Tableau IV

Concentrations typiques (ng/g de poids frais) dans des organismes marins, et limites de détection (ng/ml) dans la spectrophotométrie d'absorption atomique à flamme ou sans flamme

| Elément | Concentration dans les organismes | Flamme (relatives) | Four à graphite (relatives) | Aération-réduction (relatives) |
|---------|-----------------------------------|--------------------|-----------------------------|--------------------------------|
| Hg | 100-3 000 | | | 0,05-0,1 |
| Cd | 10-1 500 | 2 | 0,003-0,02 | 0,0003-0,0005 |
| Zn | 3 000-100 000 | 1-3 | 0,001-0,02 | 0,001-0,00008 |
| Pb | 50-5 000 | 10-30 | 0,05-1 | 0,005 |
| Cu | 200-50 000 | 1-8 | 0,05-1 | 0,005-0,007 |
| Cr | 200-10 000 | 3-8 | 0,1-1 | 0,01-0,005 |
| Mn | 100-20 000 | 2-8 | 0,01-0,1 | 0,001-0,0005 |
| As | 200-10 000 | | | 0,15-0,2 |
| Se | 500-2 000 | | | 0,15-0,3 |
| Na | | < 0,2-1 | | |
| K | | < 2-4 | | |
| Ca | | < 2-2 | | |
| Mg | | < 2-4 | | |

nombre de facteurs peuvent influencer la qualité des résultats. La facilité de répétition des expériences ou la précision des résultats obtenus dans un laboratoire constituent une indication du fait que de nombreux facteurs susceptibles de se répercuter sur les résultats de la détermination sont bien contrôlés; cependant, les erreurs de méthodologie peuvent constituer un problème. Ces erreurs ne peuvent être déterminées que par interétalonnage, référence à un étalon homologué ou analyse par différentes méthodes indépendantes.

6.4.1 Dosage de Hg

On trouve le mercure dans l'environnement à la fois sous des formes organiques et inorganiques. Etant donné que les formes organiques du mercure sont les plus toxiques et que, dans de nombreux organismes, 60 à 95% du mercure possède une liaison organique (Knauer et Martin, 1972, Cumont *et al.*, 1972), il est nécessaire de disposer d'informations sur les concentrations de mercure organique et inorganique. Le dosage des composés organomercuriels peut être effectué par chromatographie en phase gazeuse ou spectrophotométrie d'absorption atomique. Si l'on utilise cette dernière méthode, les concentrations de mercure organique sont obtenues en faisant la différence entre mercure total et mercure inorganique. Le mercure inorganique est libéré en présence de composés organo-mercuriels par addition de chlorure d'étain (II) seul (Magos, 1971). Par contre si l'on ajoute du chlorure d'étain et un sel de cadmium ou de cuivre, Hg inorganique, méthyl-Hg et d'autres composés organomercuriels, sont libérés. On dispose donc de différentes possibilités pour déterminer séparément Hg organique et inorganique. On peut déterminer le mercure inorganique et soustraire la valeur obtenue de la concentration totale de Hg déterminée après digestion par voie humide, ou encore par une libération différentielle, déterminer d'abord Hg inorganique, puis Hg organique ensuite.

6.4.1.1 Détermination de Hg total

Compte tenu des progrès récemment réalisés avec les méthodes de spectrophotométrie d'absorption atomique sans flamme et notamment les techniques de réduction-aération, on trouve maintenant dans le commerce des ensembles d'équipements auxiliaires (Stux et Rothery, 1971; Klemm et Fetter, 1972; Wolber et Bosshart, 1972; Kahn, 1971; Anon., 1972, etc.). Ces appareillages ont grandement facilité l'analyse de Hg; néanmoins, et bien que la technique de réduction-aération soit en principe simple et sensible, en pratique la détermination précise de Hg dans des échantillons naturels est difficile (Ure, 1975). Cela est dû notamment à la volatilité des composés organiques du mercure, à la contamination des échantillons par l'intermédiaire de l'air, de l'équipement d'entreposage et d'échantillonnage et à plusieurs facteurs qui se répercutent sur les méthodes d'analyse elles-mêmes.

La détermination du mercure total Hg_T dans les échantillons biologiques, par spectrophotométrie d'absorption atomique suppose:

- (1) la transformation de tous les composés organiques du mercure en Hg inorganique, soit par combustion par voie humide, soit par addition de sels de Cd ou de Cu pendant le processus de la réduction avec $SnCl_2$;
- (2) la réduction de l'ion mercurique en Hg métallique, avec un excédent de $SnCl_2$ ou de $SnSO_4$;
- (3) la volatilisation de Hg métallique, à température ambiante par aération, et sa mesure par spectrophotométrie d'absorption atomique sans flamme.

Les étapes (2) et (3) représentent la méthode dite de réduction-aération.

Plusieurs ouvrages traitent des différentes versions de cette méthode:

(a) Aération avec recyclage. Dans ce cas, l'air utilisé pour la volatilisation circule dans un système clos contenant l'échantillon et traverse plusieurs fois le récipient. Ce système se compose du récipient où a lieu la réaction, de la cellule d'absorption du spectrophotomètre d'absorption atomique, d'une pompe et souvent d'un séchoir destiné à

éviter la condensation d'eau dans la cellule d'absorption (Uthe et al., 1970, etc.). Cette configuration permet de libérer Hg dans des échantillons très volumineux. L'absorption enregistrée atteindra un plateau après un certain temps; cependant les nombreuses composantes du système produisent souvent des effets de "mémoire".

(b) Aération sans recyclage (Armstrong et Uthe, 1973; Iskander et al., 1972). Dans ce système, le mélange air-Hg est évacué du système après son passage dans la cellule du spectrophotomètre. Il s'agit là d'un système plus simple, où le nombre de composantes en contact avec le mélange air-Hg est moins élevé; cependant, la séparation de Hg en solution et dans l'air n'est pas optimale. Cependant l'effet de "mémoire" est négligeable et il est facile d'automatiser le système (Armstrong et Uthe, 1973).

(c) Avec et sans séchage de l'air. Pour éviter les condensations d'eau dans le tube d'absorption, le mélange air-Hg est souvent desséché avec du perchlorate de magnésium, du sulfate anhydre de calcium ou du gel de silice (Hatch et Ott, 1968; Ure et Shand, 1974). Les inconvénients des tubes desséchants sont: l'effet de "mémoire", la déperdition de Hg et les risques de contamination par les substances chimiques employées comme desséchants. Gilbert et Hume (1973) ont utilisé des cellules d'absorption chauffées pour éviter la condensation d'eau. Stux et Rothery (1971) ont laissé 10 à 15% de l'air utilisé pour l'aération entrer directement dans le récipient d'absorption, sans passer par le récipient où a lieu la réaction. De la sorte, l'air sec évite la condensation dans la cellule d'absorption.

(d) Agitation et brassage de l'échantillon avant aération ou au lieu de l'aération. Ure et Shand (1974), ont agité l'échantillon avec un volume fixe d'air au lieu de l'aérer avec des bulles; ils ont ensuite envoyé le mélange air-Hg dans la cellule de mesure. Dans ce cas aucun séchage n'est nécessaire. Stux et Rothery (1971) ont combiné l'agitation et l'aération par bulles. Après avoir ajouté SnCl_2 ou SnSO_4 , la solution-échantillon a été agitée pendant 90 secondes avant l'aération par bulles. La hauteur maximum est environ le quintuple de ce qu'elle est lorsque le passage des bulles est effectué immédiatement après addition des sels de Sn.

Armstrong et Uthe (1973) ont proposé une détermination semi-automatique de Hg dans laquelle les échantillons sont d'abord digérés manuellement dans un mélange d'acide nitrique et d'acide sulfurique, oxydés par KMnO_4 et clarifiés par H_2O_2 . Il est cependant possible que cette digestion cause des pertes de substance. Une série d'échantillons traités est ensuite automatiquement analysée en utilisant un "Technicon Auto-Analyser Equipment", qui procède à la réduction de Hg par l'hydroxylamine et SnSO_4 , puis entraîne la vapeur de Hg de la phase air vers la cellule d'un spectrophotomètre d'absorption atomique. De même Bailey et Lo (1971), entre autres, ont publié des résultats d'analyses automatiques de Hg. Cependant la digestion est toujours manuelle. Les analyses automatiques devraient être préférées, étant donné qu'elles augmentent les possibilités de reproduction. Armstrong et Uthe (1973) signalent un écart-type relatif de 3 à 8% dans une gamme de concentrations variant entre 0,100 et 9,000 ppm soit 100 à 9 000 $\mu\text{g}/\text{kg}$ PF.

Plusieurs publications traitent des interférences possibles (cf. Ure, 1975 pour une revue de la question). Lors de la digestion des tissus d'organismes marins des bromures et des iodures peuvent se former et interférer avec la détermination sans flamme de Hg (Omang, 1973). L'interférence des anions des acides les plus communément employés dans le processus de digestion est négligeable lorsque les solutions digérées sont diluées. Les chlorures entraînent une dépression du signal lorsqu'ils dépassent 4 M. Dans la plupart des échantillons digérés, les interférences sont minimales à condition que les solutions-étalons soient préparées selon une matrice similaire. Les procédés de concentration de Hg dans des solutions, examinés par Ure (1975), peuvent être employés pour recueillir les produits d'une réduction-aération préliminaire, si l'on a des doutes quant aux interférences matricielles. On pourra consulter les études récentes de Koch et Manning (1973), Westö (1974) et Ure (1975), pour informations complémentaires.

On trouvera ci-après la description détaillée des procédés appliqués dans deux versions de la méthode de réduction-aération: un système ouvert, utilisant l'appareil commercial fourni par Varian (Stux et Rothery, 1971), après digestion dans un creuset fermé en teflon ou une bouteille en plastique et un système clos, après méthode de digestion analogue, publié par Munns et Holland (1971) et recommandé par la Consultation d'experts FAO/OMS chargée d'identifier les contaminants alimentaires dont la surveillance continue doit être assurée et de recommander des plans et des méthodes d'échantillonnage (FAO/OMS, 1975). La version en système clos a également été adoptée officiellement par l'American Association of Official Analytical Chemists, dans un premier temps tout au moins, pour déterminer Hg_T dans les produits de la mer (Krinitz et Holak, 1974).

Avant de décrire en détail les méthodes relatives à la détermination de Hg, il convient de mentionner quelques précautions générales et d'émettre quelques suggestions. Il faut purifier l'air employé dans la méthode d'aération-réduction pour transporter Hg volatil vers la cellule d'absorption; à cet effet on le fait passer dans deux barboteurs remplis d'une solution acide de permanganate de potassium préparée en mélangeant des volumes égaux d'une solution à 2% de permanganate de potassium et de H₂SO₄ à 50% (v/v) (Topping et Pirie, 1972).

Lorsqu'on n'a pas employé de permanganate de potassium dans l'opération de digestion, l'échantillon digéré peut être réduit directement en Hg élémentaire par SnSO₄. Des bouteilles non bouchées, contenant une solution acide de permanganate de potassium comme celle utilisée pour préparer les mélanges de digestion, recueillent Hg dans l'air ambiant contaminé (Ure, 1975).

6.4.1.1 Détermination sans flamme de Hg dans un système clos (Munns et Holland, 1971)

Appareillage:

- a) Spectrophotomètre d'absorption atomique équipé d'une lampe à mercure et d'une cellule de circulation de gaz à fenêtres en quartz, ainsi que d'une lampe à spectre continu et d'un enregistreur
- b) Pompe à diaphragme à revêtement intérieur de plastique de type acrylique appliqué par pulvérisation, ou similaire
- c) Tube de raccordement en teflon, diamètre 16
- d) Tulipe pour arrivée de gaz, rodage N° 24/40, (Kontes Glass Co. K-18100 ou similaire)
- e) Fiole conique de 250 ml à tubulure et ballon à rodage N° 24/40, ou similaire.

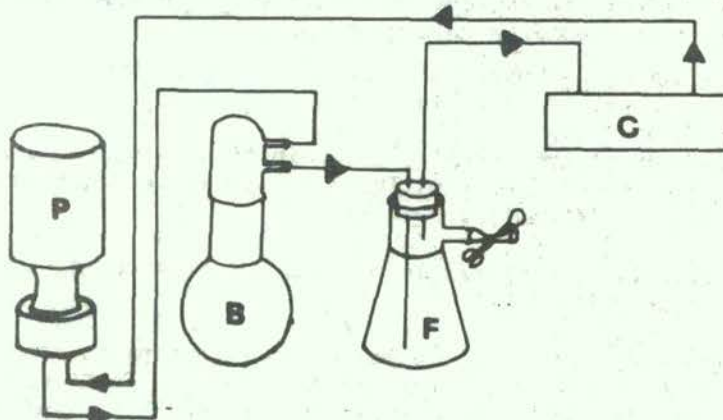


Fig. 28 Appareillage pour la détermination du mercure par le procédé sans flamme.
P: pompe; B: ballon; F: fiole de filtrage par barbotage; C: cellule d'absorption
(d'après Munns et Holland, 1971)

Réactifs:

a) Solution pour réduction; mélanger 50 ml de H_2SO_4 avec approximativement 300 ml de H_2O . Puis, après avoir laissé refroidir à la température ambiante, dissoudre dans H_2SO_4 dilué 15 g de $NaCl$; 15 g de sulfate d'hydroxylamine et 25 g de $SnCl_2$; amener le volume à 500 ml avec H_2O .

b) Solution pour dilution: dans une fiole jaugée de 1 litre contenant environ 500 ml d'eau, ajouter 58 ml de HNO_3 et 67 ml de H_2SO_4 et compléter avec H_2O .

Attention: (le perchlorate de Mg peut exploser s'il entre en contact avec des substances organiques)

c) Agent desséchant à placer dans la fiole conique de barbotage: $Mg(ClO_4)_2$

d) Solution de base de Hg pour préparer des étalons: dissoudre 0,1354 g de $HgCl_2$ dans une fiole jaugée de 100 ml et remplir avec H_2O .

Solutions-étalons de Hg

Préparer des étalons internes en effectuant des ajouts dans différents sous échantillons qui ont été prélevés sur un échantillon minéralisé de même matrice. Ou bien encore reconstituer une matrice modèle en tenant compte de la composition chimique des organismes marins (cf. Tableau III) et du procédé de digestion utilisé. Les ajouts dans les solutions pour étalonnage sont effectuées avec des aliquotes de la solution de base de Hg .

Mode opératoire:

- 1) Transférer après refroidissement dans une fiole jaugée de dimension appropriée (50 ou 100 ml) un échantillon minéralisé, rincer le récipient ayant servi à la digestion avec des petites quantités d'eau distillée; les verser dans la fiole et compléter avec H_2O
- 2) Transférer une aliquote (20 ml, par exemple) dans le récipient destiné à la réaction
- 3) Régler la pompe sur un débit approximatif de 2 l/min
- 4) Brancher l'appareillage d'aération-réduction comme le montre la Fig. 28, exception faite de la tulipe d'arrivée de gaz
- 5) Mettre à zéro le spectrophotomètre d'absorption atomique
- 6) Ajouter 20 ml de solution pour réduction et brancher immédiatement la tulipe d'arrivée de gaz. Aérer pendant environ 3 min et enregistrer le signal. Ajuster la durée d'aération pour obtenir un signal optimal
- 7) Débrancher sur la pompe, le tuyau de l'arrivée d'air et ouvrir la pince de la fiole conique de barbotage pour ventiler le système.

L'appareillage est maintenant prêt pour la détermination suivante ou pour l'étalonnage. On calcule la concentration de Hg de l'échantillon à partir de la courbe d'étalonnage en tenant compte de la dilution de l'échantillon initial.

6.4.1.1.2 Détermination de Hg par le procédé sans flamme, dans un système ouvert (Parker, 1972)

L'appareillage utilisé pour déterminer le mercure par absorption atomique sans flamme (Fig. 29) se compose d'un tube d'absorption (en "Vycor" avec les fenêtres des extrémités en "Vitrosil"), d'un support de tube, de six récipients à réaction, d'un support et d'un bouchon. Une dérivation est incorporée dans le bouchon, pour permettre à 20% environ du gaz porteur de ne pas passer dans le récipient où a lieu la réaction. L'équilibre des circuits d'air entre dérivation et récipient est réalisé par deux orifices, dont l'un est

l'extrémité du tube à bulles. On notera que la modification des dimensions de cet orifice peut entraîner une réduction de la sensibilité voire une inefficacité totale de la dérivation.

La dérivation est prévue pour permettre à l'air entrant dans le tube d'absorption de ne pas être saturé en vapeur d'eau. Cela évite les condensations sur les fenêtres situées aux extrémités du tube, qui produiraient un signal d'absorption prolongé avec augmentation d'une absorption non atomique. Dans ce cas, il est inutile de prévoir un tube desséchant.

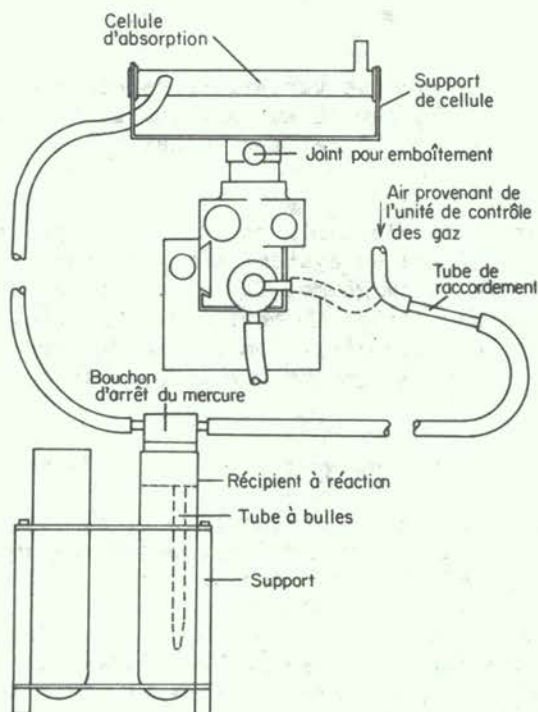


Fig. 29 Disposition générale de l'appareillage à Hg (Parker, 1972). Reproduit avec l'aimable autorisation de Varian AG.

Paramètres affectant le signal

Agitation

L'efficacité de l'agitation est le facteur principal d'une bonne répétition et d'une sensibilité satisfaisante.

A mesure que la solution est agitée, le mercure diffuse du liquide dans la tête du récipient à réaction. L'importance d'une bonne agitation réside dans le fait que la hauteur du pic enregistré dépend entièrement de la concentration de mercure dans la phase air. En conséquence, il importe que la teneur en mercure de l'air soit constamment représentative de la teneur en mercure de l'échantillon. Cela n'est réalisée que si l'on assure une distribution équilibrée du mercure entre les phases gazeuse et liquide. Si l'agitation n'est pas suffisamment vigoureuse ou trop brève, l'équilibre requis ne sera pas réalisé; la sensibilité et la répétition en subiront les conséquences. Il est recommandé d'agiter assez vigoureusement pour produire un tourbillon qui descend jusqu'au fond du récipient. Dans ces conditions, la distribution est pratiquement équilibrée au bout de 60 secondes, la concentration du mercure en phase gazeuse ne se modifie que lentement et l'on obtient des résultats acceptables.

Débit de gaz

En conditions normales, les grosses variations de débit n'entraînent que des variations infimes de la hauteur du pic. Cela est dû au fait que la hauteur du pic dépend de la concentration de mercure dans l'air et que celle-ci n'est guère affectée par la vitesse de passage du courant d'air.

Un débit de 4 l/min permettra d'obtenir rapidement un pic effilé; il est recommandé dans les cas normaux. Si la latence du système enregistreur ou électronique dépasse une seconde environ pour couvrir toute la gamme, il en résultera un étalonnage en courbe et une réduction de la précision des fortes absorptions. Ces problèmes peuvent être résolus sans difficulté en réduisant le débit d'air (on utilisera par exemple 1,5 à 2 l/min). L'air chargé de mercure reste plus longtemps sur le passage de la lumière et le pic est enregistré plus lentement.

Barbotage dans la solution ou passage d'un courant d'air au-dessus de celle-ci.

Lorsque la solution est bien agitée et que la distribution de mercure entre les phases liquide et gazeuse est équilibrée le courant d'air peut être envoyé dans la solution ou au-dessus de la solution. Le même résultat est obtenu dans l'un et l'autre cas. La méthode qui consiste à faire circuler le courant d'air au-dessus de la surface de la solution est préférable; elle présente comme avantages d'éviter un entraînement de la vapeur d'eau vers la cellule d'absorption et d'éviter la formation de mousses dans la solution. On peut donc, tout en effectuant l'agitation, faire passer le courant d'air au-dessus de la solution, ceci même en présence de gros échantillons.

Appareillage:

- a) Spectrophotomètre d'absorption atomique avec lampe à mercure, lampe à spectre continu et enregistreur
- b) Appareillage Varian pour détermination du mercure ou similaire (Fig. 29)
- c) Deux flacons laveurs pour éliminer Hg de l'air (voir plus haut).

Réactifs:

Solution pour réduction: dissoudre 10 g de sulfate d'hydroxylamine et 15 g de $\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ dans 40 ml 1:6 H_2SO_4 et compléter à 100 ml avec H_2O .

Solutions-étalons de Hg

Préparer les solutions-étalons de Hg selon la méthode décrite précédemment.

Mode opératoire:

- 1) Après avoir assemblé l'appareillage suivant les instructions du fabricant, régler le débit d'air à la valeur désirée, en tenant compte des observations précédentes. Fermer la valve en T
- 2) Transférer après refroidissement l'échantillon minéralisé dans une fiole jaugée de dimension appropriée (50 à 100 ml); compléter avec H₂O distillée
- 3) Ajouter 5 ml de solution digérée diluée et 5 ml d'eau distillée dans un récipient à réaction
- 4) Ajouter 1 ml de solution pour réduction; mettre immédiatement le bouchon
- 5) Agiter pendant 90 secondes et mesurer la hauteur du pic après avoir ouvert l'arrivée d'air au moyen de la valve en T
- 6) Enlever le récipient à réaction après avoir arrêté l'arrivée d'air.

L'appareillage est maintenant prêt pour une nouvelle détermination. Calculer la teneur de Hg en se référant à la courbe d'étalonnage et en tenant compte de la dilution de l'échantillon initial.

6.4.1.2 Détermination de Hg inorganique et total sans combustion par voie humide

Les méthodes décrites ci-après n'ont guère été appliquées et peuvent par conséquent donner lieu à des difficultés. Etant donné qu'elles permettent cependant de déterminer les composés organiques du mercure par spectrophotométrie d'absorption atomique on indique ci-après quelques détails sur les procédés utilisés. Il conviendra évidemment d'en calculer les rendements avant de les utiliser pour les analyses de routine.

Ces méthodes sont basées sur le fait qu'il est possible de déterminer Hg inorganique en présence de Hg organique lorsque Hg inorganique est complexé en milieu acide avec de la cystéine; Hg inorganique complexé peut ensuite être libéré par addition de SnCl₂ et de NaOH qui rend la solution alcaline (Magos, 1971). Hg total peut être déterminé en ajoutant des sels de cadmium et de cuivre au stade de la réduction afin de libérer Hg à la fois de ses composés organiques et inorganiques.

Pour déterminer Hg dans l'eau douce, Baltisberger et Knudson (1974) ont appliqué la partie de cette méthode qui a trait à la libération sélective de Hg inorganique en présence de composés de Hg organique, en utilisant le sulfate d'étain (II) en milieu acide sulfurique. Hg_T a été déterminé après traitement avec H₂O₂.

Méthode d'après Magos (1971)

Appareillage:

Spectromètre d'absorption atomique avec appareillage pour réduction-aération

Réactifs:

- a) Chlorhydrate de cystéine, 1% (p/v), très pur
- b) NaCl 1%, très pur
- c) H₂SO₄ 16 N, très pur
- d) SnCl₂, 100 mg pour chaque détermination

- e) Réactif $\text{SnCl}_2\text{-CdCl}_2$: ajouter 25 g de SnCl_2 et 5 g de CdCl_2 à environ 40 ml d'eau distillée, porter à ébullition. Après refroidissement, amener à 50 ml dans une fiole jaugée
- f) NaOH très pur à 45%
- g) Antimousse (Silicone MS "Antifoam"): il a parfois fallu employer des antimousses pour éviter la formation de mousses dans le récipient où a lieu la réaction.

Solutions-étalons de Hg

a) Solutions-étalons de Hg inorganique: dissoudre 0,6767 g de HgCl_2 dans une solution à 5% de H_2SO_4 en utilisant une fiole jaugée de 1 000 ml. Ajouter 1 ml de cette solution, 9 g de NaCl, 0,7545 de Na-EDTA et 0,063 g de chlorhydrate de L-cystéine dans une fiole jaugée de 1 000 ml; dissoudre et compléter avec de l'eau distillée (au réfrigérateur cette solution se conserve au moins pendant six mois).

b) Solutions-étalons de méthylmercure: dissoudre 60,08 mg de chlorure de méthylmercure (AB Casco, Stockholm, Suède, par exemple) dans de l'acétone en utilisant une fiole jaugée de 100 ml. Diluer cette solution à 1 : 1 000 avec de l'eau distillée dans une fiole jaugée.

On peut aussi préparer ces étalons avec 36,96 mg de dicyandiamine de méthylmercure (AB Casco, Stockholm, Suède, par exemple) dans de l'eau distillée; compléter à 500 ml dans une fiole jaugée puis diluer à 1%. Ces solutions ne sont pas très stables du fait que des pertes se produisent par volatilisation et précipitation; leur teneur en Hg doit être vérifiée.

Préparation des échantillons

Magos (1971) a proposé un procédé de préparation des échantillons analogue à celui suggéré par Skare (1972). Ce dernier a constaté qu'il est facile d'homogénéiser de la chair de poisson en présence d'une base en excès, en agitant de temps en temps et en laissant reposer la nuit à température ambiante. De plus cet homogénéisat reste stable pendant longtemps lorsqu'on le conserve au réfrigérateur.

Les échantillons peuvent être homogénéisés dans une solution à 1% de NaCl avec un broyeur en acier inoxydable, en verre ou en teflon. On peut souvent aussi utiliser le procédé indiqué ci-après qui est plus simple mais qui présente des risques de contamination. La soude (NaOH) en concentration relativement élevée dissout en effet la surface du verre avec laquelle elle est en contact et de ce fait les impuretés contenues dans le verre sont libérées (Adams, 1972).

Farine de poisson: on mélange 0,5 g de farine de poisson avec 1 ml de la solution de cystéine à 1%, 1 ml de NaCl à 20% et 1 ml de solution de NaOH à 45%. On porte à ébullition et l'on transfère la solution, avec de l'eau distillée, dans le récipient à réaction de l'appareillage à Hg.

Spécimen entier: amener à ébullition une solution à 40% de NaOH pesant deux fois le poids en g du spécimen. Faire tomber le spécimen dans la solution de NaOH et laisser dissoudre (20 min). Après ébullition, diluer avec de l'eau distillée de telle sorte que la concentration finale en NaOH soit de 20% (p/v), par rapport au poids du spécimen.

a) Détermination de Hg inorganique

Mode opératoire:

- 1) Préparer l'instrument suivant la méthode choisie
- 2) Transférer à la pipette une aliquote de l'échantillon (1-20 ml) ou de l'étalon dans le récipient à réaction

- 3) Ajouter 1 ml de solution de cystéine et compléter à 21-23 ml avec la solution à 1% de NaCl
 - 4) Ajouter 10 ml de H₂SO₄ 15 N
 - 5) Ajouter 100 mg de SnCl₂ dans le récipient à réaction et, rapidement, 20 ml de la solution de NaOH à 45%; fermer immédiatement le récipient à réaction
 - 6) Enregistrer la hauteur du pic qui résulte de la réduction-aération.
- b) Détermination de Hg total

Mode opératoire:

Procéder comme ci-dessus, à l'exception de l'étape 5, qui prend la forme suivante:

- 5) Ajouter 1 ml de réactif SnCl₂-CdCl₂ (réactif "e")
- c) Détermination consécutive de Hg inorganique puis de Hg organique dans le même récipient à réaction

Appliquer le procédé (b) jusqu'à l'étape 6. Une à trois minutes après avoir ajouté NaOH, ajouter 10 ml de H₂SO₄ 15 N, 1 ml de réactif SnCl₂-CdCl₂ et 20 ml de NaOH à 45%; lire la hauteur du pic.

6.4.2 Dosage du cadmium

Etant donné que la concentration moyenne de Cd dans les organismes marins est particulièrement faible et voisine du seuil de détection (Tableau IV), il ne faudrait employer les techniques à la flamme, telles que le fabricant de l'instrument les recommande, que pour les concentrations les plus élevées.

Dans le cas où l'on aurait affaire à de faibles concentrations, on pourrait suivre les recommandations du "Analytical Methods Committee" (1975) de la Chemical Society. Elles prévoient une concentration avec un échangeur d'ions liquide (Amberlite LA-2) dans du 4-méthylpentane-2-one, après digestion par voie humide et transformation de Cd en iodocadmate. Julshamn et Braekkan (1975) ainsi que Childs et Gaffke (1974) ont concentré Cd, Fe, Cu, Mn, Zn et Pb à l'état de traces après les avoir complexés avec du diéthylthiocarbamate de Na puis extraits avec de la méthylisobutylacétone, après digestion humide. De la sorte, ils ont pu déterminer approximativement 0,05 µg de Cd/g PF.

Si l'on dispose d'un four à graphite, son seuil de détection bas (Tableau IV) permet d'effectuer les analyses sans qu'il soit nécessaire d'utiliser un procédé de concentration. Les détails relatifs à l'emploi des fours à graphite sont donnés dans les instructions des fabricants, ainsi que dans les ouvrages de Sperling (1975) et Slavin et al. (1975).

6.4.3 Dosage de l'arsenic total

L'arsenic est l'un des éléments dont le dosage par spectrophotométrie d'absorption atomique est difficile du fait que ses lignes d'absorption sont toutes deux situées au-dessous de 200 nm et que l'absorption directe dans la flamme de solutions contenant de l'arsenic s'accompagne d'une forte absorption non spécifique et d'un bruit de fond élevé, qui ont pour résultat un faible rapport signal sur bruit. Plusieurs remèdes ont été proposés, et notamment l'utilisation de gaz combustibles particuliers et de brûleurs spéciaux (Kirkbright et al., 1969; Kahn et Schallis, 1968); cependant, nombre de problèmes peuvent être éliminés lorsque l'arsenic de l'échantillon est transformé en hydrogène arsénisé gazeux et que l'on procède à l'analyse avec une flamme argon-hydrogène.

Description du dosage de As par génération d'hydrogène arsénié

Après digestion par voie humide de la substance organique par l'acide nitrique ou un mélange d'acides contenant de l'acide nitrique, la solution est débarrassée des oxydes d'azote par addition de CO_2 ou par ébullition. L'échantillon est ensuite dilué avec un mélange de HCl et de H_2SO_4 . L'arsenic présent est réduit en As^{+3} par KI et SnCl_2 , puis transformé en hydrogène arsénié par addition de poudre de zinc. L'hydrogène arsénié gazeux est finalement entraîné dans la flamme avec un courant d'argon et il y est atomisé. Divers systèmes de production d'hydrogène arsénié ont été proposés, puis par la suite améliorés; ils consistent à recueillir As dans un piège à azote liquide ou encore à recueillir l'hydrogène arsénié dans un ballon de caoutchouc avant de libérer les gaz accumulés dans la flamme du spectrophotomètre d'absorption atomique (Holak, 1969; Manning, 1971; Dalton et Malanoski, 1971; Thompson et Thomerson, 1974; Freeman et Uthe, 1974). Seulement quelques déterminations de As ont été réalisées par la méthode de la spectrophotométrie d'absorption atomique sur des organismes marins (Windom, 1972, par exemple).

Une étude sur l'efficacité des différents agents réducteurs a montré que le plus fort signal d'absorption était obtenu en utilisant KI , SnCl_2 et la poudre de zinc (Maruta et Sudoh, 1975). Dans une gamme donnée, il n'est pas nécessaire de respecter avec une grande exactitude les quantités de KI et de SnCl_2 (Maruta et Sudoh, 1975). Vijan et Wood (1974) ont publié une méthode automatique sans flamme dans laquelle As, Sb, Bi, Se, Te et Ge sont d'abord transformés en hydrures, puis entraînés avec une pompe péristaltique dans une cellule en quartz sans fenêtres qui est chauffée. Maruta et Sudoh (1975) ont étudié différents facteurs susceptibles d'interférer avec la détermination. Ils concluent que des interférences graves ne se produisent qu'avec l'acide nitrique, le plomb, le chrome et le sélénium, tandis que les solutions d'arsenic contenant 0,05 à 1 M d'acide sulfonique, perchlorique ou phosphorique avec HCl 1 M, ne présentent pas les mêmes interférences. Si l'on emploie HNO_3 pour digérer les échantillons biologiques, tous les oxydes d'azote susceptibles d'interférer peuvent être éliminés par ébullition avant la formation d'hydrogène arsénié. On a observé une variation de signal inférieure à 5% lorsqu'on a ajouté 80 μg de Na, K, Mg, Ca, Mn, Co, Ni, Cu, Al, Fe et V à une solution-étalon contenant 0,8 μg de As. Dans les mêmes conditions, Cr, Pb et Se ont réduit le signal de 30%, 13% et 10% respectivement; Cr et Pb ont interféré avec la production d'hydrogène arsénié mais non avec le processus d'atomisation; tandis que Se a réduit le signal après avoir été introduit dans la flamme à l'état de H_2Se . L'adjonction de 8 μg de Cr, Pb ou Se n'a produit aucune interférence.

Stux et Parker (1972) ont observé que la poudre de zinc employée est susceptible de contenir de l'arsenic comme impureté, à des fortes concentrations, et en conséquence susceptible de donner des blancs élevés. Il importe donc d'essayer plusieurs lots de zinc provenant de fabricants différents avant de choisir une poudre de zinc à faible teneur en As.

Toutes les méthodes précitées, à l'exception de celle de Maruta et Sudoh, consistent à accumuler l'hydrogène arsénié formé au cours d'un certain laps de temps, et à le transférer très rapidement dans la flamme. Stux et Parker (1972) ont étudié les paramètres de la production d'hydrogène arsénié afin d'éliminer ces systèmes de conservation. Presque tous les fabricants de spectrophotomètres d'absorption atomique offrent un appareillage pour la détermination de As et Se. Il convient de suivre leurs instructions lorsqu'on utilise leur appareillage. On trouvera ci-après la méthode de Stux et Parker (1972) à titre d'illustration.

Appareillage:

Spectrophotomètre d'absorption atomique Varian Techtron, avec lampe As à cathode creuse et lampe hydrogène à spectre continu ou appareil similaire.

Brûleur pour flamme air entraîné par un mélange azote-hydrogène.

Appareillage pour As et Se (Fig. 30)

Réactifs:

- a) acide chlorhydrique, très pur (ppa)
- b) acide sulfurique, très pur (ppa)
- c) solution à 15% d'iodure de potassium très pur (ppa)
- d) solution à 20% de SnCl_2 dans HCl concentré, très pur (ppa)
- e) poudre de zinc sans As

Mode opératoire:

Si l'on a utilisé de l'acide nitrique pour la digestion par voie humide, il faut l'éliminer, soit par ébullition sous une hotte aspirante, soit en purgeant l'échantillon avec CO_2 .

Avec une flamme alimentée par un mélange d'air, d'azote et d'hydrogène, dont le débit d'azote est de 7,5 unités (environ 11 litres/minute) on choisit la position optimum du brûleur et de la flamme en aspirant simultanément une solution aqueuse d'arsenic. On notera que les conditions optimales obtenues conviennent également pour la détermination du sélénium. Retirer de la chambre à vaporisation le nébuliseur et son support et fixer un support ordinaire, muni d'un raccord à crans pouvant convenir à des tubes de laboratoire de 0,635 cm. Brancher le bouchon spécial comme indiqué à la Fig. 30 et placer sur "BY-PASS".

Régler la pression à environ 15 psi pour obtenir un débit d'azote de 5,5 unités (8 litres/minute). Utiliser alors la commande auxiliaire du support pour réaliser un débit d'azote de 7,5 unités (11 litres/minute). S'assurer que le débit d'hydrogène reste au taux optimum fixé lors du réglage initial de la flamme.

Mettre dans le tube à réaction aux fins de l'analyse, 20 ml d'une solution témoin qui devrait contenir jusqu'à 250 ng d'arsenic et devrait lorsqu'elle est diluée être à 20% en acide chlorhydrique et à 5% en acide sulfurique. Ajouter 1,0 ml de solution d'iodure de potassium à 15% et 1,0 ml de chlorure d'étain à 20% dans de l'acide chlorhydrique concentré. Insérer le bouchon spécial dans le tube à réaction, mettre le robinet sur "SAMPLE" et enregistrer pendant le passage du courant gazeux. Lorsque la plume de l'enregistreur est revenue à 0, injecter rapidement 2,0 ml de boue de zinc (1 g/ml) à travers le diaphragme. Une réaction violente se produit alors au bout de 1 ou 2 secondes et le pic apparaît sur l'enregistreur. Lorsque la plume de l'enregistreur est revenue pratiquement à 0, remettre sur "BY-PASS" et enlever immédiatement le couvercle du tube à réaction. L'appareillage est alors prêt pour la réaction suivante.

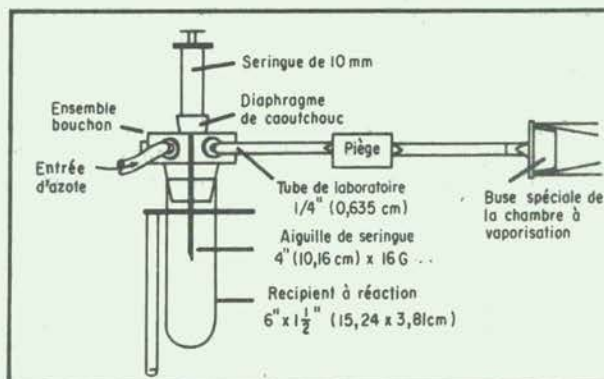


Fig. 30 Appareil pour la détermination de As et de Se (Stux et Parker, 1972). Reproduit avec l'aimable autorisation de Varian AG.

6.4.4 Dosage du sélénium total

On peut déterminer le sélénium avec un appareil analogue à celui qui sert pour les déterminations de As (cf. section 6.4.3); la méthode doit être légèrement modifiée. On a toutefois constaté que lorsqu'on réduit Se (II), (IV) ou (VI) avec KI et SnCl_2 , l'élément une fois formé est rapidement transformé en une substance plus stable dont la réduction ultérieure est malaisée (Stux et Parker, 1972). Stux et Parker ont palié les difficultés en portant la concentration d'acide à 40% pour l'acide chlorhydrique et à 10% pour l'acide sulfurique. Thompson et Thomerson (1974) ont constaté que les solutions de Se (VI) ne donnent que des réponses négligeables par rapport aux résultats obtenus avec des quantités équivalentes de Se (IV). Le traitement des solutions-échantillons à la térébenthine a amélioré la détection de Se (VI); l'efficacité reste cependant inférieure à 50%. Il semble donc que l'on puisse se trouver confronté à des problèmes analytiques en présence de l'état de valence de Se (VI).

6.4.5 Dosage du cuivre total

Les concentrations de cuivre dans les organismes marins vont de 200 à 50 000 $\mu\text{g Cu/kg}$ PF (Tableau III). Etant donné que les seuils de détection du cuivre dans un spectrophotomètre d'absorption atomique avec flamme sont de l'ordre de 0,01 $\mu\text{g Cu/ml}$ pour la raie la plus sensible (324,7 nm), par la dilution ou le choix d'une raie moins sensible (222,6 ou 244,2 nm, par exemple) on peut amener la concentration dans la région optimale (Tableau IV). Topping (1973), Windom et al. (1973) ainsi que Segar et al. (1971), entre autres, ont utilisé, sans signaler de difficultés, la spectrophotométrie d'absorption atomique pour déterminer le cuivre dans les organismes marins. Les résultats des déterminations de Cu effectuées à l'occasion de l'exercice d'interétalonnage du CIEM ont été tout à fait conformes et l'on n'a constaté aucune difficulté. Si l'on doit déterminer des concentrations inférieures au seuil de détection, on peut extraire le cuivre avec de l'ammonium pyrrolidone dithiocarbamate (Analytical Methods Committee, 1971) ou du diéthylidithiocarbamate de sodium (Julshamm et Braekkan, 1975). Lorsqu'on dispose d'un four à graphite, le fait que le seuil de détection soit plus bas évite la nécessité d'une extraction. On trouvera des indications sur les conditions d'expérimentation dans les instructions des fabricants ainsi que dans Slavin et al. (1975).

6.4.6 Dosage du zinc total

Compte tenu des fortes concentrations de zinc total présentes dans les organismes marins, ainsi que des faibles seuils de détection des spectrophotomètres d'absorption atomique avec flamme, on ne prévoit aucune difficulté lorsque les échantillons digérés sont analysés dans les conditions suggérées habituellement par les fabricants des spectrophotomètres d'absorption atomique (Windom et al., 1973; Topping, 1973; Cutshall et Holton, 1972; ICES, 1974). Des dilutions peuvent s'imposer pour ramener les concentrations élevées dans la région optimale (Tableau IV); on peut aussi utiliser une raie mille fois moins sensible (307,6 nm) ce qui évite de contaminer le zinc par le liquide de dilution.

Si, par contre, on doit doser des concentrations de zinc particulièrement faibles, l'extraction de Zn par l'ammonium pyrrolidone dithiocarbamate peut être employée (Analytical Methods Committee, 1973); on peut aussi, si l'on en possède un, utiliser le four au graphite (Clark et al., 1973).

6.4.7 Dosage du manganèse total

Les seuils de détection sont assez bas pour permettre directement sa détermination par spectrophotométrie d'absorption atomique avec flamme. Bradfield (1974) a étudié les interférences possibles dans le cas de déterminations sur des matières végétales. Il a observé l'interférence de Ca et de Mg en présence de sulfate. On n'a pas constaté d'interférence en présence de Fe, K et Cl. L'addition de chlorure de lanthane ou de NaCl (1 mg/ml) a pratiquement ramené l'interférence à 0. D'autres remèdes consistent à mesurer l'absorbance

en un point relativement plus élevé de la flamme ou à diminuer la dimension de la gouttelette et, par suite, la dimension des particules solides présentes dans la flamme, par l'addition d'un alcool. Aussi Bradfield suggère-t-il d'éviter la combustion par voie humide avec H_2SO_4 . En tout état de cause, ces interférences peuvent être contrôlées par l'emploi de la méthode des ajouts de standards; ils sont additionnés à des sous échantillons de l'échantillon initial, afin de reproduire convenablement la matrice. Les corrections suggérées par Bradfield peuvent être effectuées si la sensibilité est insuffisante pour assurer la détermination de Mn.

Shigematsu *et al.* (1975) ont étudié les conditions optimales de température, l'influence de différents gaz, etc., sur la détermination de Mn avec un four au graphite. On n'a observé aucune diminution de l'absorbance en présence de HCl, HNO_3 , $HClO_4$ et H_2SO_4 à des faibles concentrations (0,05 M) sur 25 μg de Mn par litre. Seul H_3PO_4 a réduit le signal de 15%. L'effet de sel à des concentrations égales à 40 fois la teneur de Mn, a été négligeable, sauf pour Na_2SiO_2 . Pour des concentrations 400 fois et 4 000 fois supérieures et pour $CaCl_2$, par contre, le signal a été sensiblement réduit (48 et 77% respectivement), l'interférence étant la même que celle qui a été précédemment signalée. La réduction de l'absorbance de Mn est prévisible du fait que les organismes marins contiennent des quantités relativement élevées de Mg, de Ca ainsi que de SO_4^{2-} , par rapport aux éléments traces (Tableau III).

6.4.8 Dosage du chrome total

La détermination du chrome (Slavin *et al.*, 1975, etc.) ne devrait guère poser de problèmes en ce qui concerne les limites de détection, étant donné que la concentration moyenne dans les organismes marins est environ 25 fois supérieure à ce seuil (Tableau III). Cependant, il faut prévoir les effets de matrice et en tenir compte lors de la préparation des étalons. Yanagisawa *et al.* (1970) signalent des petites interférences pour Cu, Fe, Na, K, Zn et d'autres éléments, lorsqu'ils sont présents à des concentrations égales à 5 fois celle du Cr (250 $\mu g/ml$). La température de la flamme est un facteur qui influence beaucoup les effets observés. Green (1975) a démontré l'importance de l'état de valence de Cr dans les solutions d'acide perchlorique. Il suggère de le convertir totalement en Cr (III) par un traitement à l'eau oxygénée. En outre, l'addition de NH_4Cl peut améliorer la réponse de 30%. Si la détermination dans les conditions normales avec la flamme air-acétylène est difficile par suite du manque de sensibilité, on peut utiliser les méthodes d'extraction avec l'ammonium pyrrolodine dithiocarbamate dans la méthylisobutylcétone (Gilbert et Clay, 1973).

6.4.9 Dosage du plomb total

Du point de vue strictement analytique, les déterminations du plomb ne devraient guère poser de problèmes. Les seuils de détection sont assez bas pour permettre l'analyse directe au spectrophotomètre d'absorption atomique avec flamme. Néanmoins, il convient de prévoir les graves problèmes de contamination qui proviennent du fait que le plomb est présent partout dans l'air, dans l'eau, sur les surfaces de verre, etc. Patterson (1974), un spécialiste des dosages du plomb, a affirmé tout récemment à ce sujet que, du fait de la contamination par le plomb, la plupart de ses déterminations ne sont pas valables. Il est évident qu'il faut donc s'efforcer de prévenir au maximum la contamination par le plomb au cours du traitement et de l'analyse des échantillons. Il faut vérifier avec soin les blancs des réactifs; l'air utilisé dans les spectrophotomètres d'absorption atomique devrait passer par des barboteurs, ceci surtout lorsque le laboratoire est situé en un lieu où la circulation automobile est intense.

L'interférence de l'acide nitrique, de l'acide sulfurique et de l'étain sur la digestion des échantillons a été rapportée (Roschnik, 1973), aussi convient-il d'éviter les digestions à l'acide nitrique ou d'éliminer cet acide par ébullition après la digestion.

Lorsque la technique classique de la flamme n'est pas suffisamment sensible, on peut opérer une préconcentration à l'ammonium pyrrolidine dithiocarbamate (Analytical Methods Committee, 1975 a) ou au diéthylidithiocarbamate d'ammonium (Roschnik, 1973). Lorsqu'on

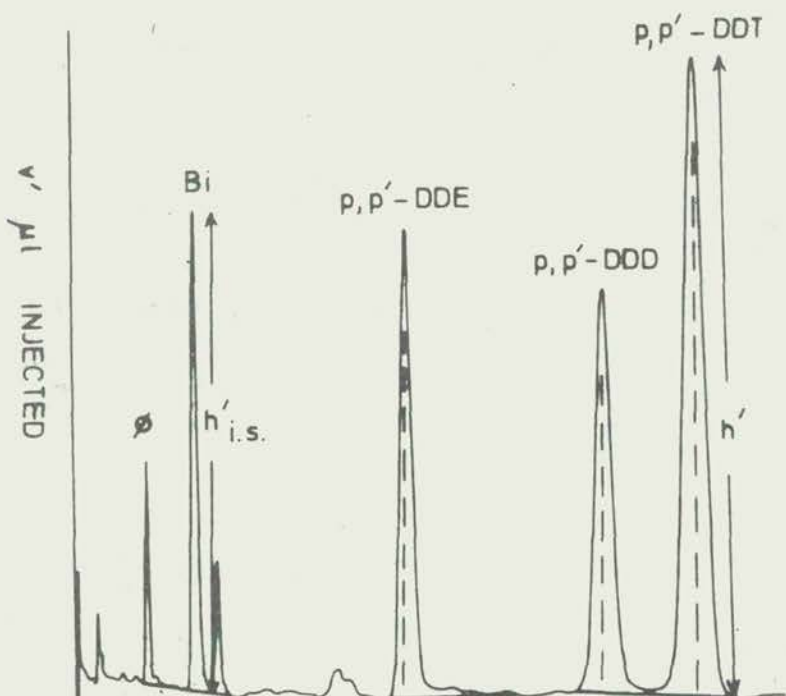


Fig. 31a

Chromatogramme d'un étalon (DDT)

Cet étalon contient:

| | |
|------------|-----------|
| $p,p'-DDE$ | 0,1 ng/µl |
| $p,p'-DDD$ | 0,2 ng/µl |
| $p,p'-DDT$ | 0,3 ng/µl |

(d'après Jensen *et al.*, 1975a)

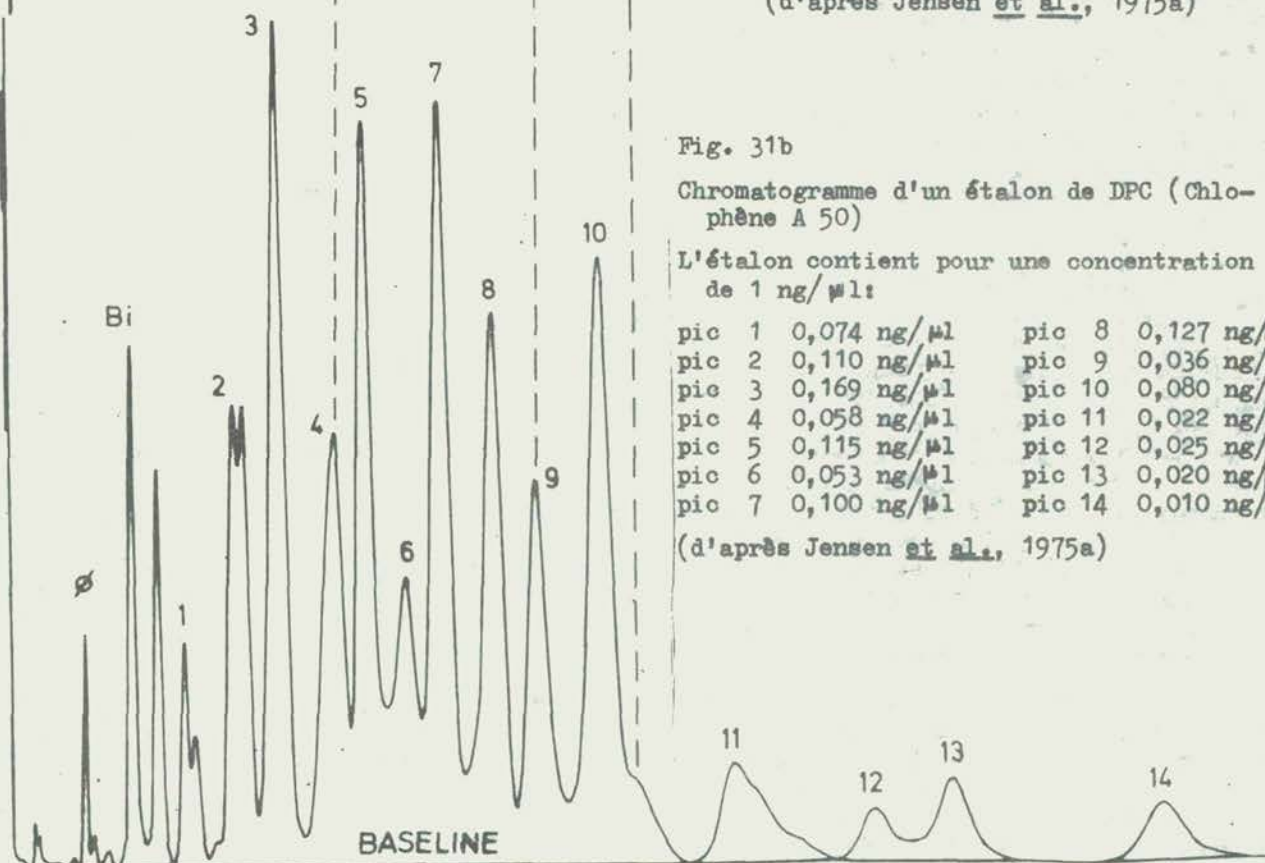


Fig. 31b

Chromatogramme d'un étalon de DPC (Chlophène A 50)

L'étalon contient pour une concentration de 1 ng/µl:

| | | | |
|-------|-------------|--------|-------------|
| pic 1 | 0,074 ng/µl | pic 8 | 0,127 ng/µl |
| pic 2 | 0,110 ng/µl | pic 9 | 0,036 ng/µl |
| pic 3 | 0,169 ng/µl | pic 10 | 0,080 ng/µl |
| pic 4 | 0,058 ng/µl | pic 11 | 0,022 ng/µl |
| pic 5 | 0,115 ng/µl | pic 12 | 0,025 ng/µl |
| pic 6 | 0,053 ng/µl | pic 13 | 0,020 ng/µl |
| pic 7 | 0,100 ng/µl | pic 14 | 0,010 ng/µl |

(d'après Jensen *et al.*, 1975a)

dispose d'un four à graphite, sa plus grande sensibilité peut être avantageuse (cf. Tableau III). On trouvera dans les manuels des fabricants, ainsi que dans l'ouvrage de Slavín et al. (1975), quelques indications sur la programmation du four.

6.5 Analyse des hydrocarbures chlorés par chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie gaz-liquide se fonde sur les différences existant dans les coefficients de séparation des différentes composantes d'un mélange, entre une phase liquide stationnaire et une phase gazeuse mobile, pour séparer les différentes composantes. La phase liquide est adsorbée sur les matières inertes. Les matières inertes imprégnées par la phase liquide sont alors placées dans un tube en verre, en métal ou en plastique (colonne chromatographique) par lequel on fait passer le gaz porteur. Aux fins d'analyse, un échantillon contenant une ou plusieurs substances à analyser est volatilisé à température élevée dans la chambre d'injection située à l'une des extrémités de la colonne de chromatographie, qui est maintenue à température donnée dans un four (GLC isotherme). Le gaz vecteur (azote par exemple), en passant, transporte l'échantillon dans la colonne et provoque la dissolution en continu des prises d'essai se trouvant en phase liquide le long du tube et assure leur élution continue de la phase liquide. Les prises d'essai moins solubles en phase liquide sont élues avant les plus solubles, ce qui permet de séparer les différents éléments composant un échantillon par chromatographie. Lorsque les matières à analyser quittent la colonne, elles entrent dans un détecteur approprié (pour analyser les hydrocarbures chlorés, on se sert généralement d'un détecteur de capture d'électrons qui enregistre les courbes d'élution sur un appareil enregistreur (chromatogramme)). La quantité de matières à analyser est déterminée à partir de la surface du pic ou, dans certains cas, à partir de la hauteur maximale du pic. Bien que la chromatographie gazeuse soit très sensible, l'identification, aussi bien que la quantification, posent plusieurs problèmes (Jensen et al., 1973; Chau et Sampson, 1975). Dans l'ensemble, on peut identifier et quantifier avec certitude les mélanges connus de matières à analyser en les comparant à des étalons ou en comparant leur durée de rétention par rapport à une substance témoin (DDE, aldrine, etc.); toutefois, dans les échantillons environnementaux, on ne peut pas toujours prévoir la nature des substances. Même dans ce cas, plusieurs substances peuvent avoir la même durée de rétention. Ainsi, les pics du p,p'-DDE et p,p'-DDD coïncident avec ceux des Nos 4 et 9 respectivement, tandis que p,p'-DDT est extrêmement proche du pic de DPC No 10 (Fig. 31a et 31b).

On peut y remédier en séparant les différentes matières à analyser par extraction aux solvants, chromatographie en phase gazeuse, chromatographie en couches minces, destruction sélective en cours de prétraitement, etc. On peut aussi répéter l'analyse chromatographique en phase gazeuse après transformation chimique aux fins d'identification.

Ces dernières années, on s'est de plus en plus servi d'une caractérisation par spectrométrie de masse qui fournit des informations complémentaires sur les matières à analyser. L'analyse spectrométrique de masse consiste à bombarder la matière à analyser avec un faisceau d'électrons qui entraîne une perte d'électrons et la fragmentation de la molécule. La fragmentation, ainsi que la forme des spectres des différents fragments résultant de la fission des liaisons et du réarrangement des atomes sont tout-à-fait caractéristiques de la structure moléculaire initiale et peuvent donc servir à identifier une matière à analyser inconnue. On peut procéder à cette analyse simultanément avec l'analyse chromatographique en phase gazeuse ou après avoir recueilli les fractions élues par le chromatographe.

Lorsqu'on combine la chromatographie en phase gazeuse et la spectrométrie de masse, le chromatographe est directement couplé avec le spectrographe, ce qui permet d'introduire continuellement les composés élues dans le spectrographe qui, pendant que la courbe d'élution est enregistrée, balaye de façon répétée le spectre de masse des fragments. Le spectre de masse obtenu est analysé par comparaison avec les spectres de substances connues, soit manuellement, soit avec l'aide d'un ordinateur (Stenhagen et al., 1973). On peut trouver davantage de détails dans les études de Biros (1971) et Fenselau (1974). Le principal inconvénient de l'identification des hydrocarbures chlorés par spectrographie de masse réside dans le coût relativement élevé de l'instrument, en comparaison du coût d'un chromatographe

en phase gazeuse, ainsi que dans la nécessité d'un supplément de personnel spécialisé pour son fonctionnement. Aussi, la plupart des centres devront-ils se contenter de la séparation et de la transformation chimiques aux fins de l'identification des matières à analyser.

Pour les projets-pilotes, les recherches seront limitées à certains pesticides persistants, ce qui permettra d'employer des méthodes beaucoup plus simples, en particulier pour le prétraitement des échantillons.

Dans une étude récente des aspects de la pollution marine par des substances organiques, Duursma et Marchand (1974) soulignent que les pesticides non persistants ne risquent guère de contaminer gravement l'environnement marin étant donné qu'ils sont dégradés avant de l'atteindre. Seuls les DPCs et les pesticides comme la dieldrine, l'endrine, les DDT, l'heptachlore, l'aldrine, le lindane, le chlordane, le toxaphène, l'hexachlorocyclohexane, l'endosulfan, le méthoxychlore et les déchets de la production de CPV (hydrocarbures chlorés aliphatiques) ont été détectés dans les organismes marins (Académie nationale des sciences des Etats-Unis, 1973).

Avant d'être en mesure d'analyser les hydrocarbures chlorés par chromatographie en phase gazeuse, il faut éliminer, par prétraitement, les substances organiques et notamment les lipides faisant interférence. Pour une analyse complète, les prétraitements nécessaires sont assez complexes. Plusieurs méthodes d'élimination simultanée de plusieurs résidus ont été élaborées et sont décrites en détail dans des publications comme le "Pesticide Analytical Manual" du Ministère fédéral de la santé et de l'éducation des Etats-Unis, 1975, le manuel sur les pesticides du Bureau fédéral des Etats-Unis pour la protection de l'environnement (EPA), (Thompson, 1974), ou encore dans les "Official Methods of the AOAC" (Horwitz, 1975). Le "Pesticide Analytical Manual" peut être fourni à tous les participants effectuant l'analyse des hydrocarbures chlorés par la "Food and Drug Administration" des Etats-Unis.

Somers (1974) a récemment étudié les analyses de pesticides dans différents produits alimentaires, y compris le poisson, pour le compte de la "Consultation d'experts FAO/OMS" chargés d'identifier les contaminants alimentaires dont la surveillance continue doit être assurée et de recommander des plans et méthodes d'échantillonnage (FAO/OMS, 1975). Cette étude pourra être consultée aux fins de comparaison des différentes méthodes appliquées pour l'analyse des pesticides dans différents pays.

Il convient aussi de mentionner que l'extraction d'importants échantillons environnementaux est coûteuse, non seulement en termes de temps de travail, mais aussi du fait que les solvants de ces pesticides sont onéreux. Chaque fois que possible, il faudrait étudier de petits sous échantillons et employer un micro-équipement (micro-mélangeurs et micro-soxhlets) (fabriqués par "Fisher Scientific" or "Karl Kolb Scientific Technical Supply", Buchschlag-Frankfurt, République fédérale d'Allemagne).

Le manuel susmentionné considère que l'examen de tous les pesticides existants, ainsi que la méthodologie employée, peuvent être simplifiés dans de nombreux cas. Ainsi, si l'on se propose d'effectuer la surveillance continue des seuls DPC, DDT et du lindane (γ -HCH), il suffit d'un simple nettoyage au H_2SO_4 concentré après l'extraction des lipides. Si, par contre, on doit également assurer la surveillance continue de la dieldrine (hydrocarbure chloré figurant sur la liste des premières priorités) un prétraitement plus complexe s'impose. Etant donné que les méthodes complexes de préparation des échantillons entraînent des pertes et des risques de contamination, on devrait réduire la préparation d'échantillons au minimum mais être très attentif aux déterminations de rendement de l'analyse. Le simple nettoyage à l'acide susmentionné peut également être utilisé pour déterminer séparément les DPC, le DDT et ses dérivés et le lindane, ce qui permet de vérifier les prétraitements complexes.

6.5.1 Nettoyage de la verrerie, des instruments et des réactifs

On trouvera dans le "EPA - Pesticide Analytical Manual" des instructions détaillées sur la façon de nettoyer et d'éviter la contamination de différentes provenances; il faut les suivre scrupuleusement. Giam et Wong (1972) ont étudié tout particulièrement les

problèmes de la contamination de fond lors de l'analyse biologique des océans. Ils ont recommandé de chauffer tous les matériaux supportant des températures élevées (verrerie, laine de verre, feuilles d'aluminium, Florisil, sulfate de soude, chlorure de sodium, etc.) dans un four à 300-350°C pendant une nuit. Tous les autres matériaux, y compris les mélangeurs, qui ne résistent pas à la chaleur, peuvent être nettoyés par lavage aux solvants, d'abord avec de l'acétone puis avec de l'éther de pétrole ou de l'hexane. L'eau distillée devrait être distillée deux fois en présence de 0,1 à 0,2 g de permanganate de potassium pour trois litres, dans un appareil de distillation spécialement réservé à cet usage.

6.5.2 Prétraitement

On peut identifier trois étapes de prétraitement:

- (a) Extraction des lipides plus hydrocarbures chlorés;
- (b) Dosage des lipides (teneur en matières grasses);
- (c) Nettoyage et séparation des substances pouvant interférer.

Principe de la méthode d'extraction des lipides

Le tissu est tout d'abord homogénéisé dans un mélangeur ultrarapide en présence de Na_2SO_4 anhydre. L'homogénat est ensuite extrait à plusieurs reprises dans le même mélangeur (extraction à froid) ou dans un extracteur Soxhlet (extraction à chaud) avec le solvant choisi (éther de pétrole, hexane, etc.); les différents extraits sont combinés, séchés avec Na_2SO_4 anhydre puis concentrés, par exemple dans un concentrateur Kuderna-Danish.

Les procédures détaillées sont données dans le "Pesticide Analytical Manual" (section 211ff, et plus particulièrement 211, 13f), dans les "Official Methods of AOAC" (Horwitz, 1975) (procédure 29.012(e) pour le poisson), dans le "EPA Pesticide Manual" (Thompson, 1974) (section 5.A(1)) et dans Farrington et al. (1972).

On a extrait des lipides de poisson et d'autres organismes aquatiques avec de l'hexane (Harvey et al., 1974; Addison et al., 1972; Murphy, 1972) avec de l'hexane/acétone (Bourne et Bogan, 1972), avec de l'éther de pétrole (Nimmo et al., 1971; Pesticide Analytical Manual), avec de l'acétonitrile (Smith et Cole, 1970) avec un mélange d'acide perchlorique et d'acide acétique à chaud (Stanley et Le Favoure, 1965) etc. Le mélange chaud d'acide perchlorique et d'acide acétique employé par Stanley et Le Favoure peut ne pas convenir, du fait qu'il détruit plusieurs "pesticides" et notamment la dieldrine, le malathion, le parathion, et réduit la récupération de l'aldrine, de l'heptachlore, de son époxyde et de l'endrine.

Les mélanges contenant des solvants déshydratants comme l'acétone, l'isopropanol, etc., augmentent la perméabilité des membranes cellulaires aux lipides, accroissant les quantités de graisse extraites (Jensen et al., 1973).

Selon le "EPA Pesticide Manual", l'éther de pétrole devrait être préféré à tout autre solvant pour l'extraction, du fait qu'à ce jour, aucune étude n'a été réalisée en commun pour montrer que les différentes techniques d'extraction sont effectivement équivalentes. En fait, Hattula (1974) a récemment comparé différentes méthodes d'extraction à froid en colonne et à chaud, en Soxhlet, de Na_2SO_4 pour analyser les homogénats de poisson séché provenant de 3 espèces de différente teneur lipidique. Il a employé quatre solvants différents: diéthyléther; diéthyléther et n-pentane (1:1); une solution à 25 pour cent de n-hexane dans de l'acétone et une solution à 10 pour cent de diéthyléther dans l'éther de pétrole (1:1), enfin, un mélange de chloroforme et de méthanol (1:1). Hattula a pu montrer que les extractions à froid donnent en général des quantités moindres (50 à 90 pour cent) de lipides pouvant être extraits que l'extraction à chaud en Soxhlet; il n'en est cependant pas toujours ainsi. Les résultats les plus variables ont été obtenus avec l'extraction "classique" au chloroforme/méthanol, qui a également extrait des matières protéiques. En recalculant les données de Hattula, on a trouvé que les différentes méthodes n'extraient même pas des fractions lipidiques identiques de poissons de teneur lipidique différente, ni des fractions analogues d'hydrocarbures chlorés des trois espèces de poisson étudiées.

Duursma (1976), comparant six méthodes différentes de détermination de pesticides dans des échantillons d'organismes aquatiques et de sédiments, a observé des différences tout aussi considérables entre les résultats d'analyses.

Bien qu'il semble raisonnable de s'attendre à ce que différents mélanges de solvants et différentes méthodes provoquent l'extraction de fractions lipidiques différentes, plusieurs publications montrent que des méthodes différentes donnent des résultats analogues (Pettinati et Swift, 1975). Toutefois, ces résultats ont été obtenus par comparaison de matières homogènes (farine de poisson de même teneur lipidique) ou de différentes formes de chair. Si, d'autre part, on étudie de la viande, des légumes et plusieurs régimes alimentaires complexes avec ou sans hydrolyse acide pour comparer les différentes méthodes d'extraction, on observe des différences considérables entre les quantités de lipides extraites (Conway et Adams, 1975).

Méthode témoin recommandée pour l'extraction

A la lumière de ces résultats, il semble judicieux de n'avoir recours pour les études pilotes qu'à un type de solvant: l'éther de pétrole (30 à 60°C) et d'appliquer la méthode du mélangeur décrite dans le "Pesticide Analytical Manual", section 211.13f. Toutefois, en climat très chaud, l'hexane, dont le point d'ébullition est plus élevé, peut être préférable. Si l'on emploie d'autres méthodes, il est fortement recommandé de les référer pour chaque espèce à la méthode d'extraction à l'éther de pétrole dans un mélangeur, pour permettre de comparer les résultats de différents laboratoires.

Elimination des substances provoquant des interférences

Analyse multirésidus: L'élimination des substances interférentes dans le cas des analyses portant simultanément sur plusieurs résidus est complexe. Elle se fonde sur la séparation entre hexane et acétonitrile. La purification et la séparation plus poussées sont réalisées dans des colonnes chromatographiques (Florisil, gel de silice, alumines, magnésium, célite, etc.) ou avec des combinaisons de ces substances absorbantes. On trouvera les procédures détaillées à la section 211ff du Pesticide Analytical Manual, dans l'"EPA Pesticide Manual" (section 5.A) ainsi que dans les "Official Methods AOAC" (procédure 29.014-7).

Prétraitement simplifié aux fins d'analyse des DDT, DPC et du lindane

Lorsque l'analyse porte uniquement sur les DDT, les DPC et le lindane, les méthodes de purification et de séparation peuvent être grandement simplifiées. Murphy (1972) a montré qu'un simple traitement à l' H_2SO_4 concentré suffit après l'extraction des lipides, pour l'analyse chromatographique en phase gazeuse de ces substances. Duursma (1976 et communication personnelle) suggère, après extraction en mélangeur à l'éther de pétrole ou à l'hexane (cf. Pesticide Analytical Manual, section 211.13f) trois nettoyages simples pour: (A) les hydrocarbures chlorés stables aux acides (DPC, DDT et métabolites), HCH et esters du 2,4 D avec ou sans préconcentration, (B) pour les hydrocarbures chlorés stables aux acides plus l'aldrine, la dieldrine et l'endrine et (C) pour la saponification forte et faible en milieu alcalin, qui transforme certains hydrocarbures chlorés par déhydrochloration et permet ainsi, simultanément, une purification et une identification (voir ci-après).

- A. Purification des hydrocarbures chlorés résistant aux acides sous préconcentration de l'extrait

Méthode:

1. Ajouter 8 gouttes de H_2SO_4 concentré à un sous échantillon (2 ml) de l'extrait contenu dans un petit tube de centrifuge;
2. Secouer vigoureusement pendant 10 min dans un vibreur et centrifuger;
3. Injecter 10 μ l provenant de la couche superficielle dans le chromatographe en phase gazeuse.

- A'. Purification des hydrocarbures chlorés résistant aux acides avec préconcentration de l'extrait (applicable lorsque la réponse du chromatographe est trop faible après l'opération précédente).

Mode opératoire:

1. Evaporer 10 ml de l'extrait initial dans un tube gradué de centrifugeuse en plaçant le tube au bain-marie à $\pm 40^{\circ}\text{C}$ et sous un jet d'air propre ou d'azote jusqu'à ce que le volume soit réduit à 1 ml exactement
2. Ajouter 4 gouttes de H_2SO_4 concentré, secouer vigoureusement pendant 10 min dans un vibreur et centrifuger
3. Injecter 10 μl de l'hexane surnageant dans le chromatographe.

- B. Purification des hydrocarbures chlorés stables aux acides (plus aldrine, dieldrine et endrine (chromatographie sur Florisil)).

L'élution sur Florisil peut être effectuée avec un mélange d'éther (d'hexane/éther éthylique) ou un mélange (éther de pétrole/éther éthylique). L'opérateur devrait avoir conscience du fait que les éluions quantitatives au Florisil sont difficiles à réaliser et demandent beaucoup d'expérience. Par suite, avant de traiter des échantillons réels irremplaçables, il faudrait effectuer des essais, avec détermination du rendement, avec des échantillons surchargés des hydrocarbures chlorés à rechercher. Une solution à 6 pour cent d'éther d'éthyle dans l'éther de pétrole provoque l'élution des substances suivantes:

| | | |
|---------------|-----------------------|----------|
| aldrine | époxyde d'heptachlore | BHC |
| lindane | DDD | DPC |
| heptachlore | DDE | Disyston |
| méthoxychlore | DDT | |

Une solution à 15 pour cent d'éther d'éthyle dans l'éther de pétrole:

| | |
|--------------|--------------------|
| endrine | parathion |
| dieldrine | méthyl-parathion |
| thiodane (I) | malathion (traces) |

Une solution à 50 pour cent d'éther d'éthyle dans l'éther de pétrole:

| | |
|------------------|-----------|
| endosulfane (II) | malathion |
|------------------|-----------|

Pour plus de détails, on se reportera au "Pesticide Analytical Manual" (section 211.14d). Pour l'élution à l'éther d'hexane/éther éthylique suivre les instructions ci-après (Duursma, communication personnelle):

Mode opératoire:

1. Préparer une colonne de chromatographe au Florisil, dans un tube de verre de 12 cm de long et 6 mm de diamètre, clos à une extrémité avec un disque en verre fritté ou de la laine de verre, nettoyé à haute température, en ajoutant du Florisil préconditionné (cf. Pesticide Analytical Manual, sections 121.3 et 211.14d) de manière à produire une colonne de 2 cm de long; placer sous la colonne un petit tube de centrifugeuse
2. Verser 2 ml d'extrait par la colonne et recueillir dans le tube de la centrifugeuse
3. Ajouter ensuite 8 ml d'un mélange d'éther d'hexane/éther éthylique (9/1;v/v) et recueillir dans la même colonne. Faire évaporer; éluer à 2 ml exactement, comme décrit à la section A'1
4. Injecter 10 μl dans le chromatographe en phase gazeuse. Le chromatogramme portera sur la dieldrine, l'aldrine et l'endrine lorsqu'elles sont présentes

5. Suivre les étapes A1 à A3; H_2SO_4 détruit tous les hydrocarbures chlorés sauf ceux qui sont résistants aux acides. On notera que l'aldrine n'est pas complètement détruite
6. Injecter $10 \mu l$ dans le chromatographe, pour rechercher les hydrocarbures chlorés résistants aux acides et comparer les deux chromatogrammes obtenus.

C. Saponification faible et forte en milieu alcalin

Il arrive fréquemment que les maxima relatifs à plusieurs hydrocarbures chlorés et, notamment, les diphenyles polychlorés, chevauchent ceux relatifs aux DDT (cf. Fig. 31). On peut purifier par saponification avec KOH en milieu alcoolique; en effet les corps gras sont hydrolysés et, simultanément, certains DDT sont déchlorés; ainsi, pp'DDT est transformé en pp'DDE et DDD en DDMU, etc., tandis que les DPC stables subissent ce traitement sans modification. Cela permet d'employer la saponification en milieu alcalin, d'une part, en guise d'essai de confirmation de présence de DPC et, d'autre part, pour éliminer les interférences dans la détermination quantitative des DPC. La technique est décrite à la section 211.15d du "Pesticide Analytical Manual" et mentionnée également à la section 251.16(1).

Duursma (communication personnelle) suggère la méthode suivante:

Saponification faible:

1. Ajouter à 2 ml d'extrait d'hexane, dans un petit tube de centrifugeuse, une pastille de KOH dissoute dans 0,2 ml d'eau distillée
2. Agiter légèrement, centrifuger et injecter $10 \mu l$ de l'hexane surnageant dans le chromatographe en phase gazeuse. Le chromatogramme représente une saponification faible
3. Attendre 6 à 24 h; injecter à nouveau $10 \mu l$ dans le chromatographe. Comparer les pics des deux chromatogrammes obtenus.

Saponification forte:

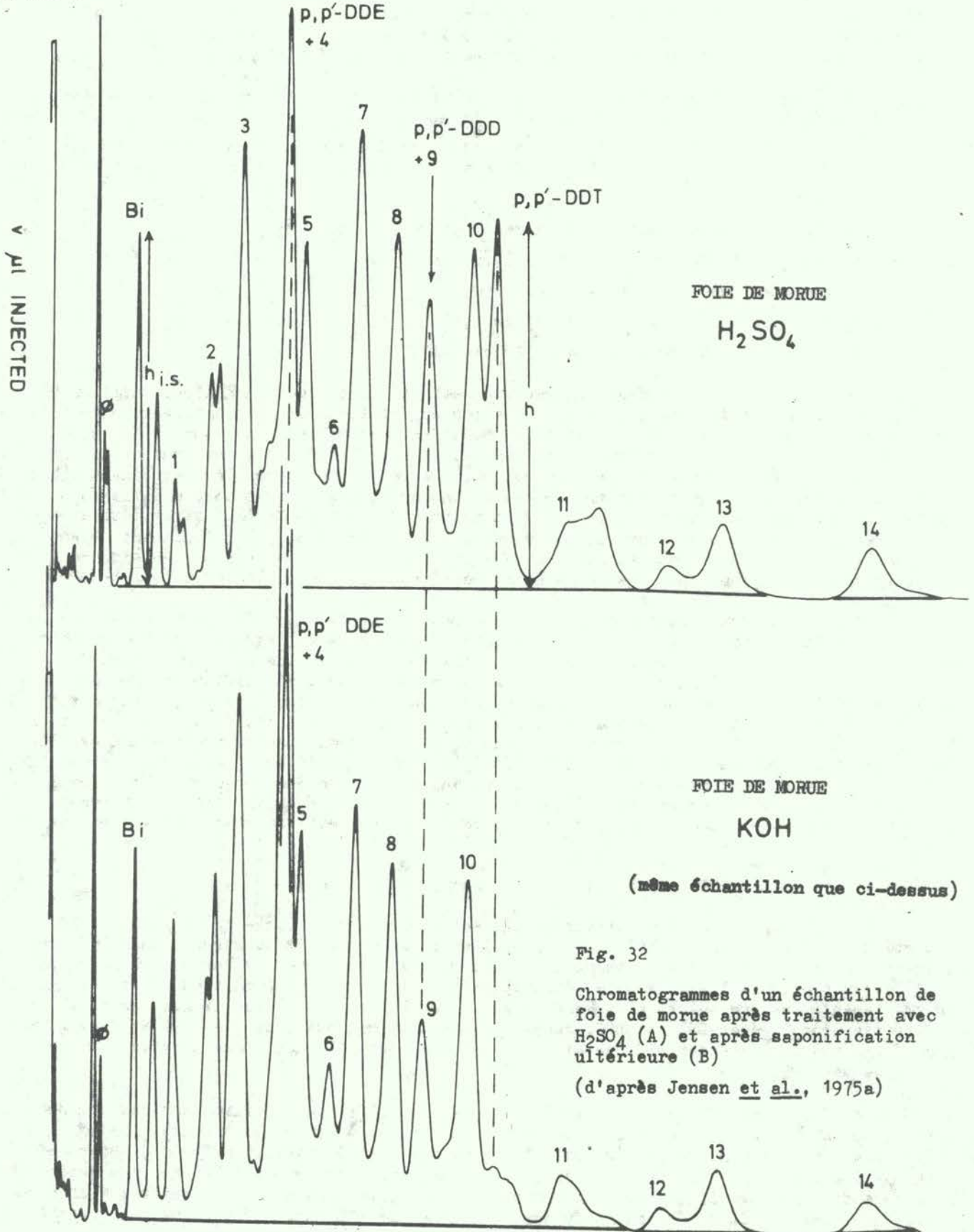
1. Ajouter à 2 ml d'extrait, dans un petit tube de centrifugeuse, une pastille de KOH dissoute dans 1 ml d'alcool éthylique (KOH à 2 pour cent d'alcool environ)
2. Secouer pendant 10 min et injecter l'hexane surnageant
3. Comparer les chromatogrammes obtenus avec ceux que l'on a obtenu par les autres méthodes.

L'effet de la saponification en milieu alcoolique est illustré à la Fig. 32. Il est difficile de prescrire une méthode de purification précise convenant à différentes matrices; aussi les méthodes décrites précédemment doivent-elles être modifiées compte tenu de l'expérience de l'opérateur. Il est recommandé d'ajouter aux sous échantillons les différents hydrocarbures chlorés et de passer par tout le processus afin d'accroître la précision de l'interprétation des chromatogrammes.

Analyse quantitative des chromatogrammes

Les différentes méthodes et les différents aspects de l'analyse quantitative des chromatogrammes sont examinés dans le Pesticide Analytical Manual (section 302.4ff). On rencontre des difficultés particulières dans l'analyse des DPC (Jensen et al., 1973). Les DPC du commerce sont des mélanges de DPC plus ou moins chlorés et le code ne correspond qu'à un nombre moyen d'atomes de chlore. Dans la Fig. 31, on peut identifier 14 DPC différents dans un échantillon de Chlophène A 50; on peut cependant obtenir un nombre de pics infiniment supérieur avec des méthodes extrêmement complexes de chromatographie gazeuse. Une des méthodes les plus pratiques de quantifier les chromatogrammes de DPC consiste à faire coïncider les pics avec ceux de DPC témoins. Cependant, cette méthode ne réussit

DDT, PCB 6



(même échantillon que ci-dessus)

Fig. 32

Chromatogrammes d'un échantillon de foie de morue après traitement avec H₂SO₄ (A) et après saponification ultérieure (B)

(d'après Jensen et al., 1975a)

guère du fait que la dégradation et l'absorption sélective des DPC par les échantillons environnementaux ont considérablement modifié la distribution relative des pics des DPC, si bien que l'échantillon environnemental ne correspond pas aux échantillons-témoins disponibles.

Chau et Sampson (1975) ont comparé sept des méthodes les plus couramment employées pour analyser les DPCs:

1. Quantification pic par pic, sur la base de la distribution des isomères et du pourcentage en poids du DPC représenté dans chaque maximum (méthode Webb et McCall)
2. Moyenne de tous les pics (Aroclor 1254)
3. Moyenne de tous les pics élués après p,p'DDE (Aroclor 1254)
4. Hauteur totale de tous les pics (Aroclor 1254)
5. Moyenne de tous les pics (Aroclor 1260)
6. Moyenne de tous les pics élués après p,p'DDE (Aroclor 1260)
7. Hauteur totale de tous les pics (Aroclor 1260).

Ils ont constaté que la précision, avec une méthode donnée, est en général suffisante, mais que la précision des dosages de DPC dans les échantillons environnementaux est pratiquement inconnue. L'analyse pour déterminer les DPC dans les matières n'ayant subi que de faibles modifications entre le traitement des DPC et l'analyse ne présente pas de difficultés par rapport aux étalons du commerce, contrairement à ce qui se passe avec les échantillons environnementaux qui ont subi des photo-altérations ou la discrimination des différents DPC pendant l'accumulation. Il est apparu que la méthode de Webb et McCall est la meilleure en ce que les valeurs obtenues sont les moins hétérogènes possibles. On a également obtenu des résultats assez bons avec les méthodes 2 et 5. Comme prévu, on n'a pu choisir aucun pic particulier ou groupe de pics comme étant représentatifs de la teneur totale de DPC.

Outre les sept méthodes susmentionnées, on peut citer la quantification fondée sur un seul pic, après chloration totale de tous les DPC présents dans l'échantillon. Dans cette méthode, tous les DPCs sont perchlorés au pentachlorure d'antimoine et l'on obtient du décachloro-diphényle. Bien que cette méthode ne permette pas d'identifier chacune des composantes des DPC, elle présente l'avantage de ne donner qu'un seul pic, ce qui accroît la sensibilité et facilite le dosage de tous les DPC. On peut aussi l'utiliser pour vérifier la concentration totale de DPC obtenue par les autres techniques de quantification examinées ci-dessus. Plus récemment, Trotter et Young (1975) ont constaté que plusieurs lots de $SbCl_5$ sont plus ou moins contaminés par les DPC ainsi que le bromonachlore-diphényle, ce qui impose une vérification soigneuse du niveau de contamination de $SbCl_5$ utilisé. Lorsque l'échantillon contient des diphényles non chlorés, ils sont évidemment perchlorés par ce traitement.

Identification par transformation chimique

Etant donné que plusieurs substances peuvent avoir la même durée de rétention, il importe de confirmer leur identité. On peut identifier certaines substances dans le chromatogramme en faisant repasser l'échantillon dans plusieurs colonnes de chromatographe (ICES, 1974) et en comparant les durées de rétention avant et après transformation chimique. Ainsi, un traitement dans une solution de NaOH ou de KOH en milieu alcoolique transforme le DDT et le DDD déhydrochloré en DDE et DDMU, respectivement. Simultanément, les lipides sont hydrolysés sans modification des DPC, aussi cette méthode peut-elle servir de purification pour l'analyse des DPC.

Chau et Lanouette (1972) ont proposé une matrice solide pour confirmation des transformations en milieu alcalin du DDT, du DDD et de plusieurs autres pesticides. Miles (1972) signale un processus de déhydrochloration avec 1,5 diazobicyclo (5.4 D) undec-5-ène (DBU) puis oxydation par l'acide chromique; on obtient des dichlorobenzophénones, ce qui permet à la fois de confirmer la présence de DDT et de les séparer des DPC. Le traitement au dichromate de potassium dans l'acide sulfurique entraînerait DDE sans altérer les DPC (West88

et Noren, 1970). On peut aussi oxyder DDE avec du trioxyde chromique dans l'acide acétique et l'on obtient du dichlorobenzophénone (Mulhern et al., 1971). La conversion susmentionnée de tous les DPC en DDC, par chloration totale, peut également faire fonction de vérification (Armour, 1973).

6.6 Analyse du méthyl-mercure par chromatographie en phase gazeuse

La chromatographie en phase gazeuse est généralement employée pour déterminer la teneur en méthyl-mercure (Hg_M). On trouve à la section 6.4.1 une méthode de remplacement qui n'a cependant pas encore fait l'objet d'une expérimentation suffisante et qui fait appel à la spectrophotométrie d'absorption atomique.

L'analyse par chromatographie gaz/liquide est effectuée par les étapes suivantes;

1. Homogénéiser l'échantillon (0,5-5,0 poids frais)
2. Libérer Hg_M de son lien protéique avec un acide fort (2-3 n HCl, Hbr, sel de bromure d'azote dans H_2SO_4 , NaBr dans HCl)
3. Extraire Hg_M avec un solvant organique (benzène ou toluène)
4. Séparer Hg_M des impuretés qui font interférence par extraction avec une solution aqueuse ou éthanolique contenant un composé-thiol (cystéine, glutathione, thio-sulfate)
5. Libérer Hg_M du composé-thiol avec un acide, comme au stade 2
6. Extraire à nouveau avec un solvant organique
7. Analyser dans le chromatographe gaz-liquide.

Le seuil de détection est $1 \mu g/kg$ poids frais avec une déviation standard de 2 pour cent lorsque la concentration dépasse $50 \mu g Hg_M/kg$ poids frais.

On récupère environ 95 pour cent du mercure.

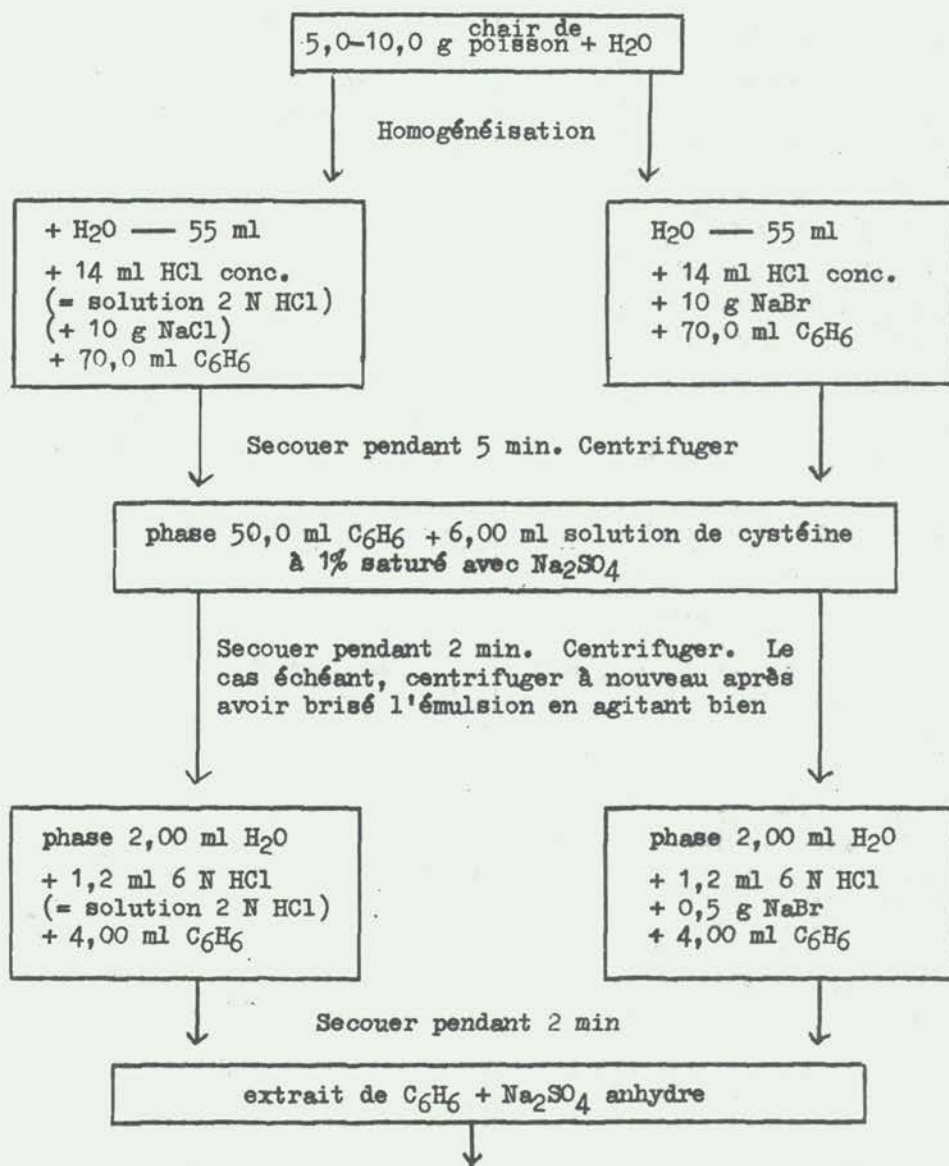
Dans une étude récente préparée comme document de travail pour la consultation d'experts FAO/OMS chargés d'identifier les contaminants alimentaires dont la surveillance continue doit être assurée et de recommander des plans et méthodes d'échantillonnage (FAO/OMS, 1975). Westö (1974) a recommandé la méthode de référence ci-après (Fig. 33). Jensen et al. (1975) décrivent une procédure analogue.

La description ci-après de la méthode d'analyse proposée par Westö (1974) a été reproduite avec l'aimable autorisation de l'auteur.

ANALYSE DU METHYL-MERCURE CONTENU DANS LA CHAIR DE POISSON

Appareillage

- (a) Adaptateur avec deux joints rodés 29/32 et un joint rodé 14/23 avec thermomètre
- (b) Centrifugeuse
- (c) Ballons à centrifugeuse, 200 ml (bouchons en liège recouverts de pellicule de viscosse ou de polyéthylène)
- (d) Tubes de centrifugeuse, 10 à 15 mm
- (e) Condensateurs à serpentin avec joint rodés 29/32, longueur du serpentin 20 cm
- (f) Colonne à distiller, Widmer, avec deux joints rodés 29/32, longueur effective 20 cm
- (g) Erlenmeyers, 200 ml et 2 l



Chromatographie gaz-liquide avec détecteur à capture d'électrons
Calculer sur la base de la pente de la courbe d'étalonnage

Fig. 33 Analyse du méthylmercure contenu dans la chair de poisson
(West88, 1974).

- (h) Ballons à fond rond, 3 l, avec joint rodé 29/32
- (i) Appareil pour chromatographie en phase gazeuse avec détection de la capture d'électrons (^3H) et enregistreur de 1 mV. Colonne: colonne de verre de 12,5 cm, avec chlorure de lithium et succinate de phényldiéthanolamine (PDEAS) sur mèche de Chromosorb maille 60/80 W, AW, DMCS. Débit de gaz: 60 à 75 ml N_2 /min, purifié par tamis moléculaire 13 A, 30/60 (Varian). Température dans la colonne: 175°C. Température à l'injection: 200°C. Température au détecteur: 205°C. Durée de rétention du maximum du méthylmercure: 1,5 min
- (k) Epruvette graduée, 100 ml
- (l) Manchon chauffant pour ballon de 3 l, 550 W, avec régulation d'énergie
- (m) Homogénéiseur, Polytron par exemple
- (n) Pipettes: 1,00, 2,00, 3,00, 4,00, 6,00, 8,00, 10,00, 15,00 et 50,0 ml, à bulbe et pipette graduée de 5,0 ml
- (o) Ampoules à décantation, 75 ml
- (p) Agitateur
- (q) Tubes à essai avec joints rodés, 5 et 15 ml
- (r) Pipettes de Vogel, 70,0 ml, étalonnées, et 14 ml
- (s) Ballons de densité: 50,0, 100,0, 200,0, 500 et 1 000 ml.

Toute la verrerie devrait être nettoyée d'abord par lavage pratiqué ordinairement en laboratoire, puis rincée avec une solution d'hydroxyde d'ammonium 1N, de l'eau déionisée et de l'éthanol.

Remplissage de la colonne du chromatographe, préparation etc.: Dissoudre 0,5 g de chlorure de lithium et 1,5 g de succinate de phényl-diéthanolamine dans 2,5 ml d'éthanol et 50 ml d'acétone dans un ballon à fond rond. Ajouter 10 g de Chromosorb S, maille 60/80, AW, DMCS. Evacuer le ballon jusqu'à ce que toutes les bulles d'air aient disparu. Au bout de 10 min, transférer le mélange dans une ampoule de décantation en verre et évacuer le liquide par succion. Sécher à l'air sur papier filtre.

Remplir la colonne de Chromosorb sec enrobé de PDEAS et LiCl, suivant les prescriptions des manuels.

Faire chauffer la colonne à 210°C pendant 18 h (colonne non reliée au détecteur); faible débit de gaz (25,30 ml M_2 /min).

Régler l'appareillage suivant les conditions normales (cf. i). Saturer la colonne avec du méthylmercure en injectant de façon répétée de grosses quantités d'une solution standard de méthylmercure (environ 10 ng chaque fois). Si la préparation de la colonne est satisfaisante, une injection de 0,10 ng de Hg sous forme de méthylmercure devrait provoquer un pic égal à 20 pour cent au moins de la déflexion totale. Si la sensibilité n'est pas assez bonne et si les pics sont étalés, on observera une amélioration dans la colonne en la maintenant à la température de l'expérience pendant plusieurs jours et en injectant de façon répétée des solutions de benzène sous forme d'iodure de méthylmercure ou d'iodure de méthoxyéthylmercure (environ 40 ng de Hg pour chaque injection). On prépare ces solutions en ajoutant de l'iodure de sodium à des solutions aqueuses de chlorure de méthylmercure ou d'hydroxyde de méthoxyméthylmercure et en extrayant au benzène (sécher la couche de benzène au sulfate de soude).

Réactifs

Les produits chimiques devraient si possible être de qualité "réactive" et il faudrait distiller et déioniser l'eau:

1. Benzène. Distiller dans une colonne de Widmer (a,e,f,g,h,l)

2. Solution de cystéine. Dissoudre 1,00 g d'hydrochlorure de cystéine (1 H₂O), 0,775 g d'acétate de sodium (3 H₂O) et 12,5 g de sulfate de sodium anhydre dans de l'eau et diluer à 100 ml
3. Acide chlorhydrique concentré
4. Acide chlorhydrique, 6 N. Mélanger des volumes égaux d'eau et d'acide chlorhydrique concentré
5. Bromure de sodium
6. Sulfate de sodium anhydre. Sécher pendant une nuit à 450°C
7. Solutions standard de méthylmercure:
 - (a) Solution mère. Préparer une solution de stock contenant 100 µg Hg/ml sous forme de méthylmercure en dissolvant 0,1254 g de chlorure de méthylmercure dans de l'eau et en complétant jusqu'à 1 000 ml. Reste stable pendant des années.
 - (b) Solution d'étalonnage. Aux fins d'étalonnage, diluer 2,00 ml de la solution mère en ajoutant de l'eau jusqu'à 200,00 ml. Cette solution, qui contient 1,00 µg de Hg/ml ne devrait pas avoir plus de 2 jours.
 - (c) Solutions standard pour le chromatographe. Dissoudre 0,125 g de chlorure de méthylmercure dans 1 000 ml de benzène. Diluer 5,00 ml en complétant à 500 ml avec du benzène. Les aliquotes de cette solution sont diluées au benzène et l'on obtient des solutions contenant respectivement 0,005, 0,010, 0,020, 0,030, 0,040, 0,050, 0,100, 0,200, et 0,300 ng de Hg/µl (on dilue 1,00, 2,00, 4,00, 6,00, 8,00 et 10,00 ml en complétant à 200 ml et 5,00, 10,00 et 15,00 ml en complétant à 50 ml). Des quantités équivalentes de chlorure de méthylmercure et de bromure de méthylmercure donnent le même pic.

Mode opératoire

Extraction et purification

Homogénéiser 5,00 g de chair de poisson avec de l'eau dans un ballon à centrifugeuse ou un Erlenmeyer de 200 ml. Rincer l'homogénat avec de l'eau pour recueillir la chair de poisson de façon quantitative. Lorsqu'on a employé un Erlenmeyer, transférer l'homogénat quantitativement dans un ballon à centrifugeuse de 200 ml. Il faudrait employer au total 60 ml d'eau pour l'homogénéisation et le transfert. Ajouter à l'homogénat 14 ml d'acide chlorhydrique concentré et 10 g de bromure de sodium. Mélanger. Ajouter 70 ml de benzène et secouer le mélange pendant 15 min dans un autoclave à agitation ou à la main pendant 5 min. Centrifuger. Transférer 50 ml de l'extrait de benzène dans une ampoule à décantation. Ajouter 6,0 ml de solution de cystéine avec une pipette et agiter vigoureusement pendant 2 min. Centrifuger la couche d'eau (contenant souvent une émulsion). Eliminer la phase benzène. S'il reste encore beaucoup d'émulsion, la briser en agitant vigoureusement avec une baguette en verre et centrifuger à nouveau. Transférer 2,00 ml de la couche d'eau limpide dans un tube à essai de 15 ml à joint rodé. Acidifier avec 1,2 ml d'acide chlorhydrique 6 N, ajouter 0,5 g de bromure de sodium et extraire avec 4,0 ml de benzène en secouant pendant 2 min. Transférer l'extrait dans un tube à essai de 5 ml avec joint rodé. Assécher au sulfate de sodium anhydre. Analyser par chromatographie en phase gazeuse. Employer une courbe d'étalonnage pour le calcul.

Quant on prévoit que la teneur du méthylmercure de l'échantillon sera si élevée que l'extrait purifié une fois injecté dans le chromatographe, le pic obtenu dépassera la partie graduée de la courbe standard, il faut soit utiliser une quantité moindre d'échantillon, soit diluer l'extrait purifié pour l'amener à la bonne concentration. Lorsqu'on prévoit des teneurs faibles de méthylmercure, on peut augmenter la sensibilité de la méthode en secouant l'extrait de benzène avec un volume de solution de cystéine inférieur à la normale et en adaptant tous les volumes proportionnellement, ou encore en augmentant la quantité de l'échantillon analysé. Si l'on doit interrompre l'analyse, il faut le faire soit après la première centrifugation, soit avant la chromatographie en phase gazeuse.

Chromatographie en phase gazeuse

Immédiatement avant et après l'injection de l'échantillon, injecter un étalon à concentration à peine différente de celle de l'échantillon, de manière à obtenir les mêmes pics pour l'échantillon et l'étalon sans que les volumes de l'échantillon et de l'étalon diffèrent de plus de 25 pour cent. L'erreur, qui peut être produite par le calcul de la teneur de méthylmercure de l'extrait, comme si la courbe standard fondée sur les hauteurs pics passait toujours par l'origine, sera réduite de la sorte à des proportions insignifiantes.

En général les extraits sont stables et peuvent être entreposés pendant plusieurs semaines. Cependant, en quelques occasions, on a observé une perte de méthylmercure lorsque les extraits ont été conservés pendant environ deux mois.

Courbe standard

Injecter dans le chromatographe en phase gazeuse 5,0 et 7,0 μ l de solution standard contenant 0,050, 0,100, 0,200 et 0,300 ng de Hg/ μ l. Reporter sur un diagramme la hauteur maximum relative aux quantités de mercure injecté. On devrait obtenir une ligne droite coupant l'axe des x à 0,05 ng de Hg au maximum à partir de l'origine.

Calcul des résultats

On ne perd qu'un faible pourcentage de méthylmercure dans cette méthode par suite d'extraction incomplète. En dépit de ce fait, une courbe d'étalonnage devrait être effectuée chaque semaine, car il s'agit là d'un moyen aisé de vérifier que les solutions standard n'ont pas changé par évaporation et que le système de la chromatographie gaz/liquide donne des résultats corrects.

Courbe d'échantillonnage

Analyser 1,00, 2,00, 3,00, 4,00 et 5,00 ml de la solution standard de chlorure de méthylmercure (1,00 μ g de Hg/ml) selon la procédure ci-dessus, en remplaçant l'échantillon de poisson par v ml de solution standard. Il est inutile de centrifuger. Injecter les extraits purifiés dans le chromatographe. Reporter 200 x de mercure ajouté, en ml, sur l'axe des x, dans un système de coordonnées rectangulaires. On obtient une ligne droite passant par l'origine lorsqu'on combine les points. En multipliant la teneur de mercure des extraits purifiés de poisson dans ng/ μ l par la pente de cette ligne, on obtient la teneur de méthylmercure de poisson, exprimée en mg Hg/kg. (Lorsqu'on utilise des échantillons autres que de 5 g, lorsque les extraits sont concentrés par application d'un volume de solution de cystéine inférieure à la normale ou lorsqu'on dilue les extraits, il y a lieu de corriger les teneurs.)

Passage à blanc

Remplacer l'échantillon de poisson par 5 ml d'eau. Procéder à tous égards selon le processus décrit ci-dessus. L'échantillon blanc ne devrait donner aucun pic à la durée de rétention de méthylmercure.

7. CONSIDERATIONS STATISTIQUES

7.1 Considérations générales

De nombreux textes existent sur des questions statistiques; leur aspect mathématique est plus ou moins complexe. Il n'est donc pas nécessaire de répéter ici des concepts et méthodologies bien décrits par ailleurs. Cependant, il peut apparaître intéressant de discuter quelques questions particulièrement pertinentes aux projets pilotes et, notamment: incidences statistiques des échantillons composites ou groupés, précision des méthodes analytiques et de la variabilité biologique, stratégies applicables au choix des échantillons destinés à être analysés et plans d'échantillonnage.

Ces questions seront examinées par référence à trois textes élémentaires:

- 1) "Statistical Methods" dans Documenta Geigy, (Diem, 1962) (versions anglaise, espagnole et française)
- 2) "Statistical Methods" par Snedecor et Cochran (1967)
- 3) "Experimental Statistics" par Gibbons Natrella (1963).

Les ouvrages de Snedecor et Cochran et de Gibbons Natrella donnent de nombreux exemples détaillés de leur application. Les symboles que nous utilisons sont ceux de Diem (1962), puisque son manuel est traduit en plusieurs langues.

Dans le texte ci-après, l'utilisation du mot "échantillon" dans plusieurs contextes peut prêter à confusion. Dans la section relative aux prélèvements et à la préparation de l'échantillon, le terme "échantillon" suppose le prélèvement d'une aliquote ou d'un spécimen. En statistique, par contre, un échantillon choisi dans une population de données statistiques consiste en n valeurs de la variable stochastique x_i . Pour éviter les confusions dans le paragraphe ci-après le terme "échantillon" sera mis entre guillemets lorsqu'il est employé dans le sens de prélèvement et préparation d'échantillon.

7.2 "Echantillon" moyen, médian et composite

Moyen (\bar{x}): la moyenne de n déterminations (x_i) d'une quantité donnée de polluants est

$$\bar{x} = \frac{x_1 + x_2 + \dots + x_n}{n} = \frac{\sum_i x_i}{n} \quad (I)$$

La concentration moyenne \bar{c} d'un mélange de n "échantillons" de poids g_i et de concentration c_i est:

$$\bar{c} = \frac{g_1 c_1 + g_2 c_2 + \dots + g_n c_n}{g_1 + g_2 + \dots + g_n} = \frac{\sum_i g_i c_i}{g_T} \quad (II)$$

où g_T est le poids total de tous les "échantillons".

"Echantillon composite"

La valeur moyenne peut également être déterminée par analyse d'un "échantillon composite" obtenu par mélange homogène de n "échantillons" de poids g_i et de concentration c_i . Etant donné que dans un "échantillon composite", les concentrations individuelles c_i ne sont pas déterminées et, par conséquent inconnues, la concentration moyenne \bar{c} n'est égale à la somme des concentrations individuelles des "échantillons" individuels que dans le cas où tous les poids sont égaux (c'est-à-dire lorsque $g_1 = g_2 = \dots = g_n$). La détermination d'une concentration dans un "échantillon composite" est très efficace aux fins de l'estimation de la moyenne d'une série d'échantillons étant donné que cette estimation se fonde sur une détermination unique. La seule condition nécessaire consiste dans le fait que lorsqu'on mélange

des "échantillons composites", les aliquotes prélevées sur les différents spécimens devraient être de poids ou de volume approximativement égaux. Cela peut être réalisé notamment, lors de la préparation des "échantillons", en traitant d'abord les plus petits organismes et en ramenant le poids de tous les "échantillons" plus grands au poids du premier "échantillon".

Médiane

Dans les distributions non normales, on préfère souvent la valeur médiane à la valeur moyenne. Si le nombre total n est un nombre impair, la médiane \bar{x} est la valeur du milieu d'une série de n données x_i rangées par ordre de grandeur. La médiane est la moyenne arithmétique des deux valeurs du milieu lorsque n est un nombre pair.

Variance

La variance permet d'évaluer la variabilité de données distribuées normalement ou non. La plupart des essais statistiques supposent que les données sont distribuées normalement ou presque normalement. Il importe donc de vérifier la normalité avant de réaliser ces essais.

La variance s^2 d'un échantillon de n déterminations x_i est:

$$s^2 = \frac{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}{n - 1} = \frac{\sum_i x_i^2 - \frac{(\sum_i x)^2}{n}}{n - 1} \quad (\text{III})$$

Il s'agit d'une estimation sans erreur systématique de la variance de population σ^2 .

La variance de la moyenne \bar{x} de l'échantillon est:

$$s_{\bar{x}}^2 = \frac{s^2}{n} \quad (\text{IV})$$

La variance peut également être évaluée par des déterminations en double du même "échantillon",

$$s^2 = \frac{\sum_i d_i}{2p} \quad (\text{V})$$

où p est le nombre de paires en double et $2p = n$ est le nombre total de toutes les déterminations.

La variance s^2 de k variances indépendantes s_i^2 est:

$$s^2 = \frac{(n_1 - 1)s_1^2 + (n_2 - 1)s_2^2 + \dots + (n_k - 1)s_k^2}{n - k} \quad (\text{VI})$$

On dispose d'un moyen rapide d'évaluer l'écart type s :

$$s = d \cdot f_n \quad (\text{VII})$$

où f_n est un facteur qui varie en fonction du nombre n d'"échantillons" qui constitue l'échantillon. Lorsque $n = 2$, $f_2 = 0,886$, $f_3 = 0,591$ et $f_4 = 0,486$. La précision de l'évaluation de s diminue rapidement lorsqu'on dispose de plus de deux variables; (III) est alors plus efficace.

7.3 Limites de confiance

L'évaluation de la moyenne μ d'une population et l'écart-type de paramètres de l'échantillon correspondant ne donne aucun renseignement quant à la probabilité d'écarts par

rapport aux paramètres de population. Le calcul des limites de confiance d'un échantillon donne un intervalle qui, dans une gamme donnée de probabilités, contiendra le paramètre. Dans le cadre des limites de confiance on peut inférer rapidement et sans difficultés la différence significative entre paramètres.

Moyenne

On peut déterminer les limites de confiance à 95 pour cent pour une moyenne d'échantillons par l'équation suivante:

$$\bar{x} \pm \frac{t_{n-1} \cdot s}{\sqrt{n}} \quad (\text{VIII})$$

en supposant une distribution normale ou voisine de la normale. Les valeurs de t peuvent être obtenues à partir de la distribution de Student, dans les tableaux figurant dans la plupart des manuels de statistiques.

Ecart type

Dans une évaluation d'échantillon (s), les limites de confiance de l'écart type effectif sont:

$$\begin{aligned} L_L &= k_L s_v ; & k_L &= \sqrt{\frac{v}{\chi^2_{v, 1-\alpha}}} \\ L_R &= k_R s_v ; & k_R &= \sqrt{\frac{v}{\chi^2_{v, \alpha}}} \end{aligned} \quad (\text{IX})$$

où v est le degré de liberté (DF), χ^2 = distribution chi au carré avec v DF et probabilité α . L_L et L_R sont les seuils inférieur et supérieur de fiabilité, la distribution chi au carré existe sous forme de tableaux dans la plupart des ouvrages et souvent on y trouve même les valeurs pour k_L et k_R .

7.4 Sources de variance

Dans le programme de surveillance continue, on peut distinguer 4 sources différentes de variation:

- 1) Variabilité de la méthode d'analyse chimique ("entre détermination")
- 2) Variabilité dans le pré-traitement chimique ("entre pré-traitement")
- 3) Variabilité provoquée par des facteurs biologiques (génétiques) intrinsèques ("entre "échantillons" même lieu, même date")
- 4) Variabilité provoquée par des facteurs inhérents à l'environnement ("entre sites et date" ou "entre dates, même site").

Le fait d'avoir connaissance de ces possibilités de variation accroît grandement l'efficacité et la précision des programmes de surveillance continue et permet de disposer des informations nécessaires pour établir les différences entre concentrations de polluants et tendances du degré de contamination.

Variance de la méthode d'analyse chimique (variance des instruments)

En choisissant la méthode chimique, cette variance est en général évaluée à partir de déterminations répétées effectuées sur un étalon donné et déterminée par calcul d'après l'équation (III). La variance peut également être évaluée à partir de l'équation (V) au cours de la détermination de la concentration de polluants dans des "échantillons" environnementaux. Cela ne demande que des déterminations en double sur le même "échantillon" pré-traité et, dans la plupart des méthodes d'analyse, ne demande guère de temps et ne présente pas de difficultés. Le fait de déterminer la variance inhérente à l'analyse

chimique sur des "échantillons" effectifs au lieu de solutions standard présente l'avantage que les éventuels effets de matrice sont inclus dans l'évaluation de la variance. Lorsque les déterminations en double sont coûteuses, on peut se contenter de les effectuer occasionnellement, pour vérifier si la variance reste constante pendant la durée des recherches. Le résultat de l'évaluation est en général donné comme l'écart type à partir de la moyenne s tirée de (IV).

Variance due au pré-traitement chimique

Cette variance peut être évaluée en soumettant le même "échantillon" à la procédure de pré-traitement à plusieurs reprises. La variance est alors estimée à l'aide de (III). Autre méthode possible: effectuer le pré-traitement sur des "échantillons" doubles différents de même matrice et évaluer la variance avec (V) et la déviation standard de la moyenne avec (IV).

La variance de l'ensemble de l'analyse chimique, en d'autres termes la variance inhérente à l'appareillage et au pré-traitement, est alors la somme des deux variances (V) et leur déviation standard est alors obtenue avec (VI), où $n = n_1 + n_2 + \dots + n_k$. Cette variance et cette déviation standard permettent d'évaluer la précision de la méthode chimique.

Variance des facteurs biologiques intrinsèques

La variance biologique intrinsèque est estimée à partir de la détermination des concentrations de polluants de spécimens rassemblés dans des biotopes homogènes où les facteurs environnementaux importants varient peu. L'analyse d'un certain nombre de spécimens prélevés dans des conditions identiques de profondeur, de salinité, de température, d'exposition à la contamination, etc., permettra d'estimer cette variance. Pour certains polluants (à action cumulative) tels que Hg, DDT et autres, on a observé une corrélation entre l'âge et la concentration (Cumont et al., 1972; Cross et al., 1973). Cette corrélation influence les estimations de la variance.

Variabilité provoquée par les facteurs environnementaux

L'évaluation de cette variance est sans doute la plus importante du fait qu'il s'agit probablement de la plus grande de toutes les variances que l'on rencontrera. Ainsi, des fluctuations saisonnières des concentrations de métaux dans les zones côtières ont été observées (Ireland, 1974; etc.). Une concentration croissante de polluants dans les eaux à mesure qu'on se rapproche de la source de pollution coïncide avec une concentration croissante dans les invertébrés marins étudiés (Butterworth et al., 1972; Nickless et al., 1972; Peden et al., 1973). Les variations des expositions aux polluants (c'est-à-dire les modifications de l'apport des fleuves en concentrations sous forme de traces) retentiront sur la concentration des polluants dans les organismes, encore que d'autres facteurs puissent intervenir. Une plus grande disponibilité d'organismes alimentaires accroît l'accumulation de métaux lourds (Nassogne, 1972). Etant donné que, pour la plupart des polluants, le stade de l'enrichissement maximum est celui du passage de l'eau de mer au premier niveau trophique (phytoplancton et macrophytes), une fluctuation dans la production primaire saisonnière peut entraîner des variations dans les concentrations de polluants. L'analyse de différents "échantillons" permet d'évaluer cette variance. Le fait d'établir des corrélations avec des facteurs environnementaux améliore l'efficacité de l'évaluation.

7.5 Stratégie du choix des "échantillons" à analyser

Le fait de connaître l'existence de sources possibles de variance et leur ordre de grandeur permet d'établir un ordre de priorité dans la détermination des différentes variances. Etant donné que la variabilité provoquée par les facteurs environnementaux risque d'être la plus forte et la plus prononcée selon les sites et les dates, tout nouvel effort aux termes de l'analyse d'un "échantillon composite" devrait viser à déterminer cette variance pour chaque site.

Une fois que les variances inhérentes aux analyses et aux prétraitements auront été évaluées, elles ne devront être vérifiées qu'occasionnellement pour s'assurer que la précision de l'analyse chimique reste la même. Ainsi, en spectrophotométrie d'absorption atomique, il n'est pas difficile de vérifier la précision de l'analyse; il suffit de faire passer un double de l'échantillon par le spectrophotomètre. En chromatographie gaz/liquide ce processus du double échantillon demande bien plus longtemps et l'on a sans doute intérêt, du point de vue de l'efficacité, à vérifier la précision de l'ensemble de la méthode d'analyse, pré-traitement inclus, étant donné que l'évaluation de l'output du chromatographe demande du temps. On trouvera au Tableau V un schéma de cette stratégie.

Aux fins du programme d'échantillonnage, cela signifie qu'en sus des "échantillons composites" relatifs à chaque site et à chaque saison, il faudra recueillir et préparer un nombre limité d'"échantillons spécimens" individuels ainsi qu'un certain nombre d'"échantillons composites" additionnels.

La préparation d'"échantillon" de Mullus barbatus peut donc être modifiée; à cette fin on utilisera un filet pour l'"échantillon composite" et l'autre comme "échantillon spécimen" que l'on entrepose (surgelé) séparément. Les "échantillons composites" préparés à partir de différents spécimens recueillis dans le même site et à la même date constitueront des doubles de l'"échantillon composite" de site.

Les deux parties des crustacés et des mollusques ne sont pas faciles à séparer. On peut d'une part répartir les parties molles en deux ou plusieurs spécimens pour préparer l'"échantillon composite" et les "échantillons spécimens" individuels. Il est tout particulièrement recommandé d'employer des spécimens différents pour les "échantillons" de moule car selon toute probabilité, une moule, même entière, ne suffirait pas à fournir assez de matière pour l'analyse chimique en certaines saisons.

7.6 Critères relatifs à une comparaison rapide des moyennes et de l'écart type

Les ouvrages statistiques ont décrit plusieurs tests susceptibles d'être utilisés pour établir si des moyennes diffèrent de façon significative l'une de l'autre. Dans ce cas, seul les critères fondés sur des limites de confiance que permettent des déductions par inférence aisées et rapides sont examinés. L'utilisation de limites de confiance présente deux avantages par rapport aux tests statistiques (Sachs, 1970). Les limites de confiance sont à la même échelle que les données et l'on en tire immédiatement des conclusions quant à la précision de la moyenne.

On peut décider si deux paramètres diffèrent au niveau de signification des limites de confiance en se fondant sur les critères ci-après:

- 1) Si le L_r du plus petit des paramètres est inférieur au L_1 du plus grand des paramètres il existe, au niveau de signification choisi, une différence effective entre les deux paramètres. En d'autres termes, si les intervalles de confiance des deux paramètres ne se chevauchent pas, les paramètres sont différents.
- 2) Si L_r , pour le plus petit des paramètres, est supérieur à L_1 du plus grand des paramètres mais si l'intervalle de confiance le plus étendu des deux paramètres ne chevauche pas de plus d'un quart l'intervalle de confiance le plus étroit, on peut se servir d'un test statistique pour établir une différence significative.

Tableau V Stratégie d'analyse des "échantillons" par spectrophotométrie d'absorption atomique et chromatographie liquide/gaz

| Méthode d'analyse | Effort initial | Effort en cours de spectrophotométrie/A.A. | Surveillance continue de la chromatographie |
|---|--|---|--|
| Pré-traitement | 5 à 10 répliques en cours de préparation de la méthodologie ou doubles en estimant la variance du pré-traitement | Doubles avec les étalons | L/G Néant, vérifié à l'occasion du pré-traitement |
| "Echantillon spécimen" | 5 à 10 répliques de pré-traitement en cours de préparation de la méthodologie ou doubles de pré-traitement de l'"échantillon". | Pré-traitements en double avec les étalons ou lors-que l'on change de matrice | Comme en spectrophotométrie/A.A. |
| "Echantillons composites de site" ("même lieu, date différente" ou "même date, lieu différent") | "Echantillons" doubles au début du programme en un lieu donné | "Echantillon" double chaque fois que possible, au moins une fois par an | Comme en spectrophotométrie/A.A. |
| "Echantillons composites" | Répliques des "échantillons composites" | "Echantillons composites" chaque fois que possible en doubles | Comme en spectrophotométrie/A.A. |

Tableau VI Ordre hiérarchique des sources de variance et de l'évaluation des moyennes et variances

| | variable | moyenne | variance ^{1/} |
|--|----------------------|------------------------------------|---|
| 1. Méthode d'analyse chimique | x_c | $\bar{x}_c = \frac{\sum x_c}{n_c}$ | $s_c^2 = \frac{\sum (x_c - \bar{x}_c)^2}{n_c - 1}$ |
| 2. Prétraitement | $x_p = \bar{x}_c$ | $\bar{x}_p = \frac{\sum x_p}{n_p}$ | $s_p^2 = \frac{\sum (x_p - \bar{x}_p)^2}{n_p - 1}$ |
| 3. "Echantillons" prélevés sur les spécimens | $x_{si} = \bar{x}_p$ | $x_s = \frac{\sum x_s}{n_s}$ | $s_s^2 = \frac{\sum (x_s - \bar{x}_s)^2}{n_s - 1}$ |
| 4. Lieux ("échantillons composites") | $x_{si} = \bar{x}_s$ | $x_s = \frac{\sum x_{si}}{n_{si}}$ | $s_{si}^2 = \frac{\sum (x_{si} - x_s)^2}{n_{si} - 1}$ |

1/ La variance peut évidemment être calculée à partir des équations (VI)

On notera que \bar{x} est égal à la valeur obtenue par l'analyse d'un "échantillon composite"

8. REFERENCES

- Adams, P.B., Glass containers for ultrapure solutions. In Ultrapurity, M. Ziel et
1972 R. Speights (Eds.). New York, Marcel Dekker, pp. 294-352
- Addison, R.F., M.E. Zinck et R.G. Ackman, Residues of organochlorine pesticides and poly-
1972 chlorinated biphenyls in some commercially produced Canadian marine oils. J.Fish.
Res.Board Can., 29:349-55
- Adrian, W.J., A new wet digestion method for biological material utilizing pressure. At.
1971 Abscrtpt.News., 10:96
- Aitzetmüller, K., V. Bugdahl et G. Aggensteiner, Gefahr beim Säureaufschluss nach der
1973 Polyäthylenflaschen-Methode. Z.Lebensmittelunters.Forsch., 152:348
- Analytic Methods Committee, The determination of small amounts of copper in organic matter
1971 by atomic-absorption spectroscopy. Analyst, 96:747-8
- _____, The determination of small amounts of zinc in organic matter by atomic absorp-
1973 tion spectroscopy. Analyst, 98:458-60
- _____, The determination of small amounts of cadmium in organic matter. Analyst,
1975 100:761-3
- _____, The determination of small amounts of lead in organic matter by atomic absorp-
1975a tion spectrometry. Analyst, 100:899-902
- Armour, J.A., Quantitative perchlorination of polychlorinated biphenyls as a method for
1973 confirmatory residue measurement and identification. J.Assoc.Off.Anal.Chem.,
56:987-93
- Armstrong, F.A.J. et J.F. Uthe, Semi-automated determination of Hg in fish tissue. In
1973 Mercury in the Western environment, D.R. Buhler (Ed.). Corvallis, Oregon,
Continuing Education Book, pp. 242-9
- Bailey, B.W. et F.C. Lo, Automated method for determination of mercury. Anal.Chem., 43:
1971 1525-6
- Baltisberger, R.J. et C.L. Knudson, The differentiation of submicrogram amounts of inorganic
1974 and organomercury in water by flameless atomic absorption spectrometry. Anal.
Chim.Acta, 73:265-72
- Barber, R.T., A. Vijayakumar et F.A. Cross, Mercury concentration in recent and ninety-year-
1972 old benthopelagic fish. Science, Wash., 178:636-9
- Bernas, B., A new method for decomposition and comprehensive analysis of silicates by atomic
1968 absorption spectrometry. Anal.Chem., 40:1682-6
- Bernhard, M. et A. Piro, The use of automatic chemical analysis in oceanography. Thalassia
1971 Yugosl., 7:601-18
- Bernhard, M. et A. Zattera, Major pollutants in the Marine Environment. In Marine Pollution
1975 and Marine Waste Disposal, P. Pearson et G. Frangipane (Eds.). Pergamon Press,
Oxford, pp. 195-300
- Bernhard, M. et al., Influence of pore size of plankton nets and towing speed on the sampling
1973 performance of two high speed samplers (Delfino I and II) and its consequences
for the assessment of plankton population. Mar.Biol., 20:109-36

- Bertine, K.K. et P.D. La Fleur, Aid to analyses. In Marine pollution monitoring: Strategies for a national program. Deliberations of a workshop, E.D. Goldberg (Ed.). Washington, D.C., NOAA, U.S. Department of Commerce, pp. 191-8
1972
- Bini, G., Catalogue des noms de poissons, mollusques et crustacés d'importance commerciale en Méditerranée. Rome, FAO, 407 p.
1965
- _____, Atlante dei pesci delle coste italiane. Milano, Mondo Sommerso Editrice,
1967- vol. 1 (1967)-vol. 8 (1975)
1975
- Biros, F.J., Recent applications of mass spectrometry and combined gas chromatography-mass spectrometry to pesticide residue analysis. Residue Rev., 40:1-63
1971
- Bothner, M.H. et D.E. Robertson, Mercury contamination of sea water samples stored in polyethylene containers. Anal.Chem., 47:592-5
1975
- Bouchard, A., Determination of mercury after room temperature digestion by flameless atomic absorption. At.Absorpt.Newsl., 12:115-7
1973
- Bourne, W.R.P. et J.A. Bogan, Polychlorinated biphenyls in North Atlantic seabirds. Mar. Pollut.Bull., 3:171-5
1972
- Bradfield, E.G., Chemical interferences in the determination of manganese in plant material by atomic absorption spectrometry. Analyst, 99:403-17
1974
- Butterworth, J., P. Lester et G. Nickless, Distribution of heavy metal in the Severn Estuary. Mar.Pollut.Bull., 3:72-3
1972
- Chau, A.S.Y. et M. Lencuette, Confirmation of pesticide residue identity. 2. Derivative formation in solid matrix for the confirmation of DDT, DDD, methoxychlor, perthane, cis- and trans- chlordane, heptachlor, and heptachlor epoxide pesticide residues by gas chromatography. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 55:1058-66
1972
- Chau, A.S.Y. et R.C.J. Sampson, Electron capture gas chromatographic methodology for the quantitation of polychlorinated biphenyls: Survey and compromise. Environ.Lett., 8:89-101
1975
- Childs, E.A. et J.N. Gaffke, Possible interference in the measurement of lead and cadmium from elements found in fish muscle. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 57:365-7
1974
- Christian, G.D., Medicine, trace elements and atomic absorption spectroscopy. J.Water Pollut.Contr.Fed., 45:814-28
1969
- Clark, D., R.M. Dagnall et T.S. West, Atomic absorption determination of zinc with a graphite furnace. Anal.Chim.Acta, 63:11-8
1973
- Coleman, N. et E.R. Trueman, The effect of aerial exposure of the mussels Mytilus edulis (L.) and Modiolus modiolus (L.). J.Exp.Mar.Biol.Ecol., 7:295-304
1971
- Collignon, J. et H. Aloncle, Catalogue raisonné des poissons des mers marocaines. 1^{ère} partie. Cyclostomes. Bull.Inst.Pêches Marit.Casablanca, (19):163 p.
1972
- _____, Catalogue raisonné des poissons des mers marocaines. 2^{ème} partie. Poissons osseux. Bull.Inst.Pêches Marit.Casablanca, (21):267 p.
1973
- Conway, E.S. et M. Adams, Determination of fat in body tissues and in food mixtures. J. Assoc.Off.Anal.Chem., 58:23-7
1975

- Cross, F.A. et al., Relation between total body weight and concentrations of manganese, iron, copper, zinc and mercury in white muscle of bluefish (Pomatomus saltatrix) and a bathyl-demersal fish Antimora rostrata. J.Fish.Res.Board Can., 30:1287-91
1973
- Cumont, G. et al., Contamination des poissons de mer par le mercure. Rev.Int.Océanogr.Méd.
1972 CERBOM, 28:95-197
- Cutshall, N. et R. Holton, Metal analysis in IDOE baseline samples. In Proceedings of the International Decade of Ocean Exploration (IDOE) Workshop held in 1972, Brookhaven, pp. 67-82
1972
- Cutshall, N. et J.R. Naidu, Mercury (determination). In Marine pollution monitoring: Strategies for a national program. Deliberations of a workshop, E.D. Goldberg (Ed.). Washington, D.C., NOAA, U.S. Department of Commerce, pp. 136-44
1972
- Dalton, E.F. et A.J. Malanoski, Note on the determination of arsenic and atomic absorption by arsine generation into an argon-hydrogen entrained air flame. At.Absorpt. Newsl., 10:92
1971
- Diem, K., Statistical methods. In Documenta Geigy, K. Diem (Ed.). Bâle, J.R. Geigy, S.A., pp. 145-98
1962
- Dieuzeide, R., M. Novella et J. Roland, Catalogue des poissons des côtes algériennes. 1. Squales, raies, chimères. Bull.Trav.Publ.Stn.Aquicult.Pêche Castiglione, 4(1952):274 p.
1953
- _____, Catalogue des poissons des côtes algériennes. 2. Ostéoptérygiens. Bull. Trav.Publ.Stn.Aquicult.Pêche Castiglione, 5(1953):258 p.
1954
- _____, Catalogue des poissons des côtes algériennes. 3. Ostéoptérygiens (Suite et fin). Bull.Trav.Publ.Stn.Aquicult.Pêche Castiglione, 6(1954):384 p.
1955
- Doshi, G.R. et al., Ashing procedures for biomaterial. Curr.Sci., 38:206-8
1969
- Duursma, E.K., Role of pollution and pesticides in brackish-water aquaculture in Indonesia, A report prepared for the Brackish Water Shrimp and Milkfish Culture Research and Development Project. Rome, FAO, FI:DP INS/73/003 (Restricted)
1976
- Duursma, E.K. et M. Marchand, Aspects of organic marine pollution. Oceanogr.Mar.Biol., 12:315-431
1974
- Ediger, R.D., Atomic absorption analysis with the graphite furnace using matrix modification. At.Absorption.Newsl., 14:127-30
1975
- Eisler, R. et G. LaRoche, Elemental composition of the estuarine teleost Fundulus heteroclitus (L.). J.Exp.Mar.Biol.Ecol., 9:29-42
1972
- Everson, R.J., Zinc contamination from rubber products. At.Absorpt.Newsl., 11:130
1972
- FAO/PNUE, Rapport de la Consultation d'experts FAO (CGPM)/PNUE relative au projet commun coordonné sur la pollution en Méditerranée, Rome, Italie, 23 juin-4 juillet 1975, Rome, FAO, Access No. H 0975:42 p.
1975
- FAO/WHO, Expert consultation to identify the food contaminants to be monitored and to recommend sampling plans and methodology. Rome, Italy, 7-11 October 1974. Rome, FAO, Access No. 29172:37 p.
1975

- Farrington, J. et al., Analytical techniques for selected organic compounds. In Marine pollution monitoring, E.D. Goldberg (Ed.). Washington, D.C., NOAA, pp. 151-90
1972
- Fenselau, C., Gas chromatography mass spectrometry: a report on the state of art. Appl. Spectros., 28:305-17
1974
- Fischer, W. (Ed.), Fiches FAO d'identification des espèces pour les besoins de la pêche. Méditerranée et Mer Noire (zone de pêche 37). Rome, FAO, vol. 1 et 2:pag.var.
1973
- Freeman, H.C. et J.F. Uthe, An improved hydride generation apparatus for determining arsenic and selenium by atomic absorption spectroscopy. At.Absorpt.Newsl., 13: 75-6
1974
- Giam, C.S. et M.K. Wong, Problems of background contamination in the analysis of open ocean biota for chlorinated hydrocarbons. J.Chromatogr., 72:283-92
1972
- Gibbons Natrella, M., Experimental statistics. Natl.Bur.Stand.Handb.U.S., (91):29 p.
1963
- Gilbert, T.R. et A.M. Clay, Determination of chromium in sea water by atomic absorption spectrometry. Anal.Chim.Acta, 67:289-95
1973
- Gilbert, T.R. et D.N. Hume, Improved apparatus for determination of mercury by flameless atomic absorption. Anal.Chim.Acta, 65:461-5
1973
- Gorsuch, W., The destruction of organic matter. Oxford Pergamon Press.
1970
- Green, H.C., The effect of valancy state on the determination of chromium in perchloric acid media by atomic absorption spectrometry. Analyst, 100:640-2
1975
- Grice, G.D. et al., The collection and preservation of open ocean marine organisms for pollutant analysis. Bull.Environ.Contam.Toxicol., 7:125-32
1972
- Harvey, G.R. et al., Observations on the distribution of chlorinated hydrocarbons in Atlantic Ocean organisms. J.Mar.Res., 32:103-18
1974
- Hatch, W.R. et W.L. Ott, Determination of sub-microgram quantities of mercury by atomic absorption spectrophotometry. Anal.Chem., 40:2085-7
1968
- Hattula, M.L., Some aspects of the recovery of chlorinated residues (DDT-type compounds and PCB) from fish tissue by using different extraction methods. Bull.Environ.Contam. Toxicol., 12:301-7
1974
- Holak, W., Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry. Anal.Chem., 41:1712-3
1969
- Holak, W., B. Krinitz et J.C. Williams, Simple, rapid digestion techniques for the determination of mercury in fish by flameless atomic absorption. J.Assoc.Off.Anal. Chem., 55:741-2
1972
- Horwitz, W. (Ed.), Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Washington, D.C., Benjamin Franklin Station
1975
- ICES, Report of a working group for the international study of the pollution of the North Sea and its effects on living resources and their exploitation. Coop.Res.Rep. ICES, (39):191 p.
1974
- Ireland, M.P., Variation in the zinc, copper, manganese and lead content of Balanus balanoides in Cardigan Bay, Wales. Environ.Pollut., 7:65-75
1974

- Iskander, I.K. et al., Determination of total mercury in sediments and soil. Analyst, 1972 97:388-93
- Jensen, S., L. Renberg et R. Vaz, Problems in the quantification of PCB in biological material. PCB Conference 2. Publ.Natl.Swed.Environ.Protect.Board, (4E):7-14
- _____, Gas chromatographic analysis of methylmercury in fish. FAO Fish.Tech.Pap., 1975 (137):237-8
- _____, Methods for analysis of DDT and PCB in environmental samples using chromatographic methods. FAO Fish.Tech.Pap., (137):229-36
- Johnsen, R.E. et R.I. Starr, Ultra-rapid extraction of insecticides from soil using a new ultrasonic technique. J.Agric.Food Chem., 20:48-51
- Julshamm, K. et O.R. Braekkan, Determination of trace elements in fish tissues by the standard addition method. At.Absorpt.Newsl., 14:49-52
- Kahn, H.L., A mercury analysis system. At.Absorpt.Newsl., 10:58-9
- 1971
- Kahn, H.L. et J.E. Schallis, Improvement of detection limits for arsenic, selenium, and other elements with an argon-hydrogen flame. At.Absorpt.Newsl., 7:5-9
- 1968
- Kirkbright, G.F., M. Sargent et T.S. Went, The determination of Arsenic and selenium by atomic absorption spectroscopy in a nitrogen-separated air acetylene flame. At.Absorpt.Newsl., 8:34-7
- 1969
- Klemm, W.A. et N.R. Fetter, An improved apparatus for the flameless atomic absorption determination of mercury. At.Absorpt.Newsl., 11:108-9
- 1972
- Knauer, G.A. et J.H. Martin, Mercury in a marine pelagic food chain. Limnol.Oceanogr., 1972 17:868-76
- Koch, A.A. et D.C. Manning, Non-flame methods for mercury determination by atomic absorption: a review. In Mercury in the Western environment, D.R. Buhler (Ed.). Corvallis, Oregon, Continuing Education Book, pp. 234-41
- 1973
- Krinitz, B. et W. Holak, Simple, rapid digestion techniques for the determination of mercury in sea food by flameless atomic absorption spectrometry. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 1974 57:560-9
- La Fleur, P.D., Retention of mercury when freeze-drying biological materials. Anal.Chem., 1973 45:1534-6
- Lindstedt, G. et I. Skare, Microdetermination of mercury in biological samples. Part 2. An apparatus for rapid automatic determination of mercury in digested samples. Analyst, 96:223-9
- 1971
- Lozano Rey, L., Peces ganóideos y fisóstomos. Mem.Acad.Cienc.Exact.Fis.Nat.(Cienc.Nat.), 1947 9:840 p.
- _____, Los principales peces marinos y fluviales de España; descripción somera e iconografía de un centenar de especies y noticia escueta de otras tantas. Madrid, Subsecretaría de la Marina Mercante, 128 p.
- 1949
- _____, Los peces fluviales de España. Madrid, Academia de ciencias exactas, físicas y naturales, 251 p.
- 1952

- Luther, W. et K. Fiedler, Die Unterwasserfauna der Mittelmeerküsten. Berlin, Verlag Paul
1961 Parey, 253 p.
- _____, Guida alla fauna marina costiera del Mediterraneo. Milano, Edizioni Labor,
1965 268 p.
- _____, Guide de la faune sous-marine des côtes méditerranéennes. Paris, Les Guides
1965a du Naturaliste, 268 p.
- Luyten, S., J. Smeyers-Verbeke et D.L. Massart, A comparison of fast destruction methods
1973 for the determination of trace metals in biological materials. At.Absorpt.Newsl.,
12:131-2
- Magos, L., Selective atomic-absorption determination of inorganic mercury and methyl-mercury
1971 in undigested biological samples. Analyst, 96:847-53
- Manning, D.C., A high sensitivity arsenic-selenium sampling system for atomic absorption
1971 spectroscopy. At.Absorpt.Newsl., 10:123-4
- Martin, J.H. et G.A. Knauer, The elemental composition of plankton. Goechim.Cosmochim.Acta,
1973 37:1639-53
- Maruta, T. et G. Sudoh, Arsine generation and determination of trace amounts of arsenic by
1975 atomic absorption spectrometry. Anal.Chim.Acta, 77:37-42
- Massuti, M. et R. Margalef, Introducció n al estudio del plancton marino. Barcelona,
1950 Patronato J.de la Cierva de Investigació n t écnica, 182 p.
- Miles, J.R.W., Conversion of DDT and its metabolites to dichlorobenzophenones for analysis
1972 in the presence of polychlorinated biphenyls. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 55:1039-41
- Milhern, B.M. et al., Semiquantitative determination of polyphenyls in tissue samples by
1971 thin layer chromatography. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 54:548-50
- Munns, R.K. et D.C. Holland, Determination of mercury in fish by flameless atomic absorption:
1971 a collaborative study. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 54:202-5
- Murphy, P.G., Sulfuric acid for the cleanup of animal tissues for analysis of acid-stable
1972 chlorinated hydrocarbon residues. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 55:1360-2
- National Academy of Sciences, Water quality criteria - 1972. Washington, D.C., Government
1973 Printing Office, 594 p.
- Neunes, H.N., A simple key for common pelagic Mediterranean copepods. A tool for the
1965 identification of species in production and radioaccumulation studies. Pubbl.
Stn.Zool.Napoli, 34:462-75
- Nassogne, A., First heterotrophic level of the food chain. In Studies on the radioactive
1972 contamination of the sea. Annual report 1971, M. Bernhard (Ed.). Rome CNEN
Report No. RT/BIO(71) 7, p. 33-54
- Nickless, G., R. Stenner et N. Terrille, Distribution of cadmium, lead and zinc in the
1972 Briston Channel. Mar.Pollut.Bull., 3:188-90
- Nimmo, D.R. et al., Toxicity and distribution of Aroclor 1254 in the pink shrimp Penaeus
1971 duorarum. Mar.Biol., 11:191-7
- Omang, S.H., Trace determination of mercury in biological materials by flameless atomic
1973 absorption spectrometry. Anal.Chim.Acta, 63:247-53

- Palombi, A. et M. Santarelli, Gli animali commestibili dei mari d'Italia. Milano, Editore Hoepli, 437 p.
1961
- Parker, C.R., Determination of mercury by the vapor generation technique. Tech.Topics
1972 Varian, Springvale, Aust., August issue: 5-7
- Parslow, J.L.F., Mercury in waders from the Wash. Environ.Pollut., 5:295-304
1973
- Patterson, C., Report concerning public health hazards in industrial lead pollution. Paper presented to the NATO Scientific Committee Conference on Co-toxicity of heavy metals and organo-halogen compounds, Mont Gavriel, Canada, May 6-10, 1974
- Peden, J.D. et al., Heavy metals in Somerset marine organisms. Mar.Pollut.Bull., 4(1):7-9
1973
- Pettinati, J.D. et C.E. Swift, Rapid determination of fat in meat and meat products by Foss-let solvent extraction and density measurement. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 58:1182-7
1975
- Pillay, K.K.S., Preparation of biological samples for neutron activation analysis of mercury. In Environmental Mercury Contamination, R. Hartung et B.D. Dinman (Eds.). Ann Arbor, Science Publications, pp. 137-41
1972
- Pillay, K.K.S. et al., Determination of mercury in biological and environmental samples by neutron activation analysis. Anal.Chem., 43:1419-25
1971
- Reimers, R.S., W.D. Burrows et P.A. Krenkel, Total mercury analysis: review and critique. J.Water Pollut.Control Fed., 45:814-23
1973
- Riedl, R. (Ed.), Fauna und Flora der Adria. Berlin, Verlag Paul Parey, 640 p.
1963
- Robertson, D.E., Role of contamination in trace element analysis of sea water. Anal.Chem., 40:1067-72
1968
- _____, Contamination problems in trace-element analysis and ultrapurification. In Ultrapurity, M. Zief et R. Seights (Eds.). New York, Marcel Dekker, pp. 207-53
1972
- Roschnik, R.K., Determination of lead in foods by atomic absorption spectrophotometry. Analyst, 98:596-604
1973
- Sachs, L., Statistische Methoden. Ein Soforthelfer. Berlin, Springer-Verlag, 103 p.
1970
- Segar, D.A., J.D. Collins et J.P. Riley, The distribution of the major and some minor elements in marine animals. Part 2. Molluscs. J.Mar.Biol.Assoc.U.K., 51:131-6
1971
- Shigematsu, T. et al., Determination of manganese in natural waters by atomic absorption spectrometry with a carbon tube atomizer. Anal.Chim.Acta, 76:329-36
1975
- Skare, I., Microdetermination of mercury in biological samples. Part 3. Automated determination of mercury in urine, fish and blood samples. Analyst, 97:148-55
1972
- Slavin, S., G.E. Peterson et P.C. Lindahl, Determination of heavy metals in meats by atomic absorption spectroscopy. At.Absorpt.Newsl., 14:57-9
1975
- Smith, R.M. et C.E. Cole, Chlorinated hydrocarbon insecticide residues in winter flounder, Pseudopleuronectes americanus, from the Wewantic River estuary, Massachusetts. J.Fish.Res.Board Can., 27:2374-80
1970

- Snedecor, G.W. et W.G. Cochran, Statistical methods. Ames, Iowa, Iowa State University Press, 593 p.
- Soljan, T., Ribe Jadrana. Zagreb, Nakladni zavod hrvatske. 437 p. (Institut za Oceanografiju i Ribarstvo Fnr Jugoslavije, Split. Fauna i Mora Jadrana volumen I)
- _____, Fishes of the Adriatic. Translated from Serbo-Croatian. Rev. and enl. for the English edition. Beograd, Nolit, 428 p.
- _____, Pesci dell'Adriatico. Milano, Mondadori, 680 p.
- 1975
- Somers, E., Methodology of organochlorine compounds including PCB's for food contaminants monitoring. Working Paper for FAO/WHO expert consultation to identify the food contaminants to be monitored and to recommend sampling plans and methodology. Rome, 7-11 October 1974. Rome, FAO-ESN:MON/74/19
- Sommerfeld, M.R., T.D. Love et R.D. Olsen, Trace metal contamination of disposable pipet tips. At.Absorpt.Newsl., 14:31-2
- Sperling, K.-R., Heavy metal determinations in sea water and in marine organisms with the aid of flameless AAS. 2. Determination of cadmium in biological material. At.Absorpt.Newsl., 14:60-2
- Stainton, M.P., Syringe procedure for transfer of nanogram quantities of mercury vapor for flameless atomic absorption spectrophotometry. Anal.Chem., 43:625-7
- Stanley, R.L. et H.T. LeFavoure, Rapid digestion cleanup of animal tissues for pesticide residue analysis. J.Assoc.Agric.Chem., 48:666-7
- Stenhagen, E., S. Abrahamsson et F.W. McLafferty, Registry of mass data. New York, J. Wiley, Vol. 1-3
- Stoeppler, M. et F. Backhaus, New safe systems for simultaneous multiple sample pressure digestion. Z.Anal.Chem., (sous presse)
- Strohal, P., S. Lulic et O. Jelisavcic, The loss of cesium, cobalt, manganese, protactinium, ruthenium and zinc during dry ashing of biological material. Analyst, 94:678-80
- Stux, R.L. et C.R. Parker, The determination of arsenic and selenium by a vapor generation technique. Tech.Topics Varian, Springvale, Aust., August issue
- Stux, R. et E. Rothery, A simple procedure for determining mercury at ppb levels. Tech. Topics Varian, Springvale, Aust., January issue:1-3
- Sverdrup, H.U., M.W. Johnson et R.H. Fleming, The oceans. New York, Prentice Hall, 1087 p.
- 1942
- Thiers, R.E., Contamination of trace element analysis and its control. In Methods of biochemical analysis, D. Glick (Ed.). New York, Wiley, vol. 5:274-309
- 1957
- Thompson, J.F. (Ed.), EPA pesticide manual. Analysis of pesticide residues in human and environmental samples. Research Triangle Park, N.C., Environmental Protection Agency. Pesticides and Toxic substances effects laboratory, National Environmental Research Center
- 1974
- Thompson, K.C. et D.R. Thomerson, Atomic Absorption studies on the determination of antimony, arsenic, bismuth, germanium, lead, selenium, tellurium and tin by utilizing the generation of covalent hydrides. Analyst, 99:595-601

- Topping, G., Heavy metals in fish from Scottish waters. Aquaculture, 1:373-7
1973
- Topping, G. et J.M. Pirie, Determination of inorganic mercury in natural waters. Anal. Chim. Acta, 62:200-3
1972
- Tortonese, E., Leptocardia, Cyclostomata Selachii. In Fauna d'Italia. Bologna, Edizioni Calderini, vol. 2:308 p.
1963
- _____, Echinodermata. In Fauna d'Italia. Bologna, Edizioni Calderini, vol. 6:424 p.
1965
- Tregouboff, G. et M. Rose, Manuel de planctonologie méditerranéenne. Paris, Centre national de la Recherche scientifique, vols. 1 et 2
1957
- Trotter, W.J. et S.J.V. Young, Limitation on the use of Antimony pentachloride for perchlorination of polychlorinated biphenyls. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 58:446-8
1975
- Ure, A.M., The determination of mercury by non-flame atomic absorption and fluorescence spectrometry: a review. Anal.Chim.Acta, 76:1-26
1975
- Ure, A.M. et C.A. Shand, The determination of mercury in soils and related materials by cold-vapour atomic absorption spectrometry. Anal.Chim.Acta, 72:63-77
1974
- U.S. Department of Health and Education, Food and Drug Administration, Pesticide analytical manual. (PAM, 1975), Washington, D.C., Government Printing Office
1975
- Uthe, J.F., F.A.J. Armstrong et M.P. Stainton, Mercury determination in fish samples by wet digestion and flameless atomic absorption spectrophotometry. J.Fish.Res. Board Can., 27:805-11
1970
- Uthe, J. et al., Comparison of wet ashing and dry ashing for the determination of arsenic in marine organisms, using methylated arsenicals for standard. J.Assoc.Off.Anal.Chem., 57:1363-5
1974
- Van Raaphorst, J.G., A.W. Van Weers et H.M. Haremaker, Loss of zinc and cobalt during dry ashing of biological material. Analyst, 99:523-7
1974
- Vijan, P.N. et G.R. Wood, An automated submicrogram determination of arsenic in atmospheric particulate matter by flameless atomic absorption spectrophotometry. At.Absorpt. Newsl., 13:33-7
1974
- Vinogradov, A.P., The elementary chemical composition of marine organisms. Mem.Sears Found. Mar.Res., (2):648 p.
1953
- Westöö, G., Methodology for mercury and methylmercury for food contamination monitoring. Working paper for FAO/WHO expert consultation to identify the food contaminants to be monitored and to recommend sampling plans and methodology. Rome, 7-11 October 1974. Rome, FAO-ESN/MON/74/17
1974
- Westöö, G. et K. Norén, Determination of organochlorine pesticides and polychlorinated biphenyls in animal foods. Acta Chem.Scand., 24:1639-44
1970
- Windom, H.L., Spectrophotometric analysis. In Marine pollution monitoring, E.D. Goldberg (Ed.). Washington, D.C., NOAA, pp. 118-52
1972
- Windom, H. et al., Arsenic, cadmium, copper, mercury and zinc in some species of North Atlantic finfish. J.Fish.Res.Board Can., 30:275-9
1973

Wolber, D.R. et R.E. Bosshart, Inexpensive absorption cell for use in the determination of
1972 mercury by the flameless atomic absorption technique. Anal.Chem., 44:1546

Yanagisawa, M., M. Suzuki et T. Takeuchi, Cationic interferences in the atomic absorption
1970 spectrometry of chromium. Anal.Chim.Acta, 52:386-9

Ancn., Hg-analyser. Anal.Chem., 44:97A-101A(3)
1972

Annexe A

Préparation des pinces en plastique

On a déterminé que le méthylmétacrylate de 4 mm d'épaisseur est très utile car son élasticité est satisfaisante. Lorsqu'on emploie du matériel plus épais ou moins épais, les bandes dont on fait les pinces doivent être coupées plus large ou plus étroite, respectivement. La façon la plus simple de chauffer la matière plastique et de la courber consiste à utiliser un appareil à souffler l'air chaud, employé pour former les matières plastiques. Un four à sécher chauffé à 135-140°C peut aussi être employé; il est cependant plus difficile de fabriquer des pinces en suivant ce procédé étant donné que la matière plastique se déforme facilement.

Matériel:

- feuilles de résine acrylique (méthylmétacrylate) de 4 mm d'épaisseur (marques déposées: Perspex, Plexiglas, Lucite, etc.)
- un tube de plastique de 40 mm de diamètre

Equipement:

- un appareil à souffler de l'air chaud (300 à 350°C) pour matières plastiques) (par exemple: Karl Leister, Suisse, W 1850, 400 tpm)
- ou un four à sécher, porté à 135-140°C
- un tube en plastique de 40 mm de diamètre

Méthode: avec un appareil à souffler de l'air chaud

1. Découper avec une scie électrique ou à main des bandes d'environ 10 mm de largeur et 250 mm de longueur.
2. Chauffer un morceau d'environ 60 mm de long au milieu de la bande de sorte qu'il plie facilement et le recourber soigneusement autour du tube de plastique, de façon que les deux extrémités se touchent. Refroidir le plastique à l'eau froide.
3. Aiguiser l'extrémité avec une lime et rendre l'intérieur de la pince rugueuse de façon qu'elle agrippe bien.
4. Laver soigneusement avec des détergents et rincer à l'eau distillée
: avec une étuve
1. Placer les bandes de plastique sur un morceau de bois propre dans une étuve (135-140°C) jusqu'à ce que le plastique soit devenu mou.
2. Prendre la bande de plastique à l'extrémité avec une pince en laissant pendre l'autre extrémité de manière à ne pas plier le plastique.
3. L'enrouler autour du tube de plastique sans que les extrémités de la pince se touchent et refroidir les extrémités immédiatement en les trempant dans un bœcher d'eau froide propre en évitant que les extrémités de la pince se recourbent.
4. Recourber maintenant les extrémités de la pince jusqu'à ce qu'elles se rejoignent.
5. Préparer les pointes comme précédemment.

Annexe B

Longueurs d'ondes recommandées, gammes d'opération optimales
et sensibilités typiques (Parker, 1972)*

| Elément | Longueur d'ondes nm | Gamme optimale ng/ml | Sensibilité typique ng/ml | Largeur de bande du spectre mm |
|---------|---------------------------|-------------------------|---------------------------------|--------------------------------------|
| As | 193,7 | 50000 - 200000 | 780 | 1,0 |
| | 197,2 | 60000 - 250000 | 1200 | 1,0 |
| Cd | 228,8 | 500 - 2000 | 11 | 0,5 |
| | 326,1 | 250000 - 1000000 | 4600 | 1,0 |
| Cr | 357,9 | 2000 - 8000 | 55 | 0,2 |
| | 425,4 | 10000 - 40000 | 170 | 0,2 |
| | 428,9 | 25000 - 100000 | 410 | 0,2 |
| | 520,8 | 650000 - 2600000 | 11000 | 0,1 |
| | 520,4 | 1500000 - 6000000 | 28000 | 0,1 |
| Cu | 324,7 | 2000 - 8000 | 40 | 0,2 |
| | 327,4 | 6000 - 24000 | 140 | 0,2 |
| | 217,9 | 15000 - 60000 | 330 | 0,2 |
| | 218,2 | 10000 - 80000 | 440 | 0,2 |
| | 222,6 | 70000 - 280000 | 1500 | 0,1 |
| | 249,2 | 200000 - 800000 | 4900 | 0,5 |
| | 244,2 | 500000 - 2000000 | 11200 | 1,0 |
| Hg | 253,7 | 100000 - 400000 | 2200 | 0,2 |
| Mn | 279,5 | 1000 - 4000 | 24 | 0,2 |
| | 403,1 | 15000 - 60000 | 300 | 0,2 |
| | 321,7 | 3500000 - 14000000 | 65000 | 0,1 |
| Ni | 232,0 | 3000 - 12000 | 66 | 0,2 |
| | 341,5 | 15000 - 60000 | 340 | 0,2 |
| | 352,4 | 15000 - 60000 | 340 | 0,2 |
| | 351,5 | 35000 - 140000 | 720 | 0,2 |
| | 362,5 | 2000000 - 8000000 | 36000 | 0,2 |
| Pb | 217,0 | 5000 - 20000 | 110 | 1,0 |
| | 383,3 | 10000 - 40000 | 230 | 0,2 |
| | 261,4 | 200000 - 800000 | 4000 | 0,2 |
| | 202,2 | 250000 - 1000000 | 5600 | 0,2 |
| | 205,3 | 2000000 - 8000000 | 38000 | 0,2 |
| Se | 196,0 | 20000 - 80000 | 480 | 1,0 |
| | 204,0 | 300000 - 1200000 | 6800 | 0,3 |
| Zn | 213,9 | 400 - 1600 | 9 | 0,2 |
| | 307,6 | 3500 - 14000 | 76000 | 0,5 |
| Ca | 422,7 | 1000 - 4000 | 21 | 0,2 |
| | 239,9 | 200000 - 800000 | 4200 | 0,1 |
| K | 766,5 | 500 - 2000 | 10 | 0,5 |
| | 769,9 | 1500 - 6000 | 30 | 0,5 |
| | 404,4 | 200000 - 800000 | 3700 | 0,1 |
| Mg | 285,2 | 100 - 400 | 3 | 0,5 |
| | 202,5 | 5000 - 20000 | 90 | 1,0 |
| Na | 589,0 | 150 - 600 | 3 | 0,3 |
| | 589,5 | 500 - 2000 | 8 | 0,3 |
| | 330,2) | 100000 - 400000 | 1600 | 0,3 |
| | 330,3) | | | |

* C.R. Parker (1972), Water analysis by atomic absorption spectroscopy (Analyse de l'eau par spectroscopie d'absorption atomique) Springvale, Vic. Australie, Varian Techtron, 78 p.

Annexe C

Homogénéisation des échantillons

L'emploi d'échantillons homogènes présente de nombreux avantages; cependant au cours de l'homogénéisation, le risque de contamination est grand. Il est difficile d'homogénéiser un organisme entier étant donné qu'il est pratiquement impossible de réaliser une distribution uniforme de tous les tissus de l'échantillon. Les tissus les plus résistants, notamment, comme la peau et les arêtes de poisson ou encore les coquilles internes des seiches ne peuvent être complètement amalgamés avec les autres tissus de façon à pouvoir en tirer des sous échantillons identiques. Aussi l'homogénéisation doit-elle être réservée aux tissus déjà homogènes (filets de poisson, parties molles des mollusques, tissu musculaire des crustacés, etc.).

Il faut homogénéiser les mêmes tissus de plusieurs spécimens (échantillons composites s'agissant notamment de petits organismes) pour obtenir un nombre suffisant de sous échantillons identiques en vue d'analyses multiples; l'homogénéisation permet une détermination très efficace de la valeur moyenne de la concentration d'une matière analysée présente dans plusieurs échantillons-spécimens, et une seule détermination suffit en théorie (cf. section 7.2).

Le gros inconvénient de l'homogénéisation des tissus provenant d'échantillons d'un seul spécimen ou la préparation d'échantillons composites de plusieurs spécimens réside dans le risque de contamination inhérent à l'utilisation de l'appareil à homogénéiser.

Homogénéisation aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés

La contamination des échantillons qu'on se propose d'homogénéiser en vue d'analyser les hydrocarbures chlorés qu'ils contiennent est plus facile à éviter que celle des échantillons destinés à l'analyse des métaux, étant donné qu'on trouve dans le commerce des appareils à homogénéiser entièrement fabriqués en acier inoxydable (mélangeur Warren, homogénéisateur Turrax, etc.). L'appareil de Warren, ou tout appareil analogue, est utilisé dans la procédure d'extraction aux fins d'analyse des hydrocarbures chlorés (cf. section 6.5.2). Ces appareils possèdent des mélangeurs de volumes différents, ce qui permet d'utiliser le même instrument pour homogénéiser les gros échantillons et extraire de petits sous échantillons.

Les risques de contamination sont particulièrement provoqués par les huiles lubrifiantes et les difficultés du nettoyage de l'appareil. Il n'est pas possible de nettoyer toutes les parties du mélangeur entrant en contact avec l'échantillon par décontamination thermique à 450°C. Aussi faut-il nettoyer soigneusement avec des détergents puis rincer à fond. Il est recommandé de faire des essais "à blanc" avec le solvant concentré servant au nettoyage.

Les homogénéisateurs avec cylindres vibratoires, dans lesquels on emploie du sable de quartz propre extrait aux solvants (passé au four pendant 24 h à 450°C) en même temps que l'échantillon, peuvent remplacer les mélangeurs. On pourrait également utiliser, dans la mesure où on en dispose, les moules employés pour fractionner des échantillons géologiques et qui comprennent des cylindres animés d'un mouvement excentrique très rapide, construits en acier inoxydable ou carbures métalliques. Ces moules sont cependant infiniment plus coûteux que les mélangeurs sus-mentionnés.

Homogénéisation aux fins d'analyse des métaux

Il est beaucoup plus difficile d'éviter la contamination par les métaux lorsqu'on homogénéise des échantillons biologiques destinés à l'analyse des métaux; l'appareillage ou la méthode employés sont fonction de l'élément à analyser.

On peut employer des mélangeurs et homogénéisateurs en acier inoxydable, comme ceux dont on se sert pour l'analyse des hydrocarbures chlorés lorsqu'on travaille sur des éléments qui ne sont pas des constituants de l'acier inoxydable mais peuvent y être contenus sous

forme d'impuretés possibles (Hg, As, Se, etc.). Cependant, on n'est certain de pouvoir employer un mélangeur donné qu'après essai à blanc. Etant donné qu'il n'est pas toujours facile de prévoir quels échantillons d'éléments on aura à analyser ultérieurement, il est judicieux de n'homogénéiser l'échantillon avec un appareil en acier inoxydable qu'immédiatement avant l'analyse proprement dite, afin de permettre à l'analyste de choisir l'appareil le plus approprié en l'occurrence. Cela suppose que les échantillons composites devront être surgelés et entreposés après préparation des échantillons (cf. section 5) sans être immédiatement homogénéisés.

Une façon extrêmement facile mais un peu laborieuse de préparer des échantillons composites, notamment à partir de filets de poisson et de muscles de queues de crevette, consiste à couper les échantillons avec un couteau en plastique propre et une pince en plastique sur une surface en verre également propre (plat en Pyrex, par exemple) en petits morceaux de taille à peu près égale, après préparation de l'échantillon (cf. section 5) et à mélanger soigneusement les morceaux dans un récipient en plastique (propre) de manière à assurer une distribution aléatoire des morceaux dans l'échantillon. On peut alors préparer des sous-échantillons de dimensions appropriées, puis les conserver surgelés.

On peut envisager d'utiliser des homogénéisateurs en Teflon et en verre de Pyrex pour les tissus très mous. On peut également homogénéiser des échantillons surgelés dans un mortier d'agate, avec un pilon. On peut ajouter du sable de quartz propre pendant l'opération d'homogénéisation. Il s'agit cependant là aussi d'une technique assez laborieuse. On ne saurait recommander la digestion des échantillons composites dans de grands récipients en Teflon puis l'entreposage de la solution obtenue, étant donné que l'acide fort employé pour provoquer la digestion attaque la superficie du récipient, contaminant ainsi l'échantillon.

M-45

ISBN 92-5-200053-4