

UFR Science & Techniques Côte Basque
Université de Pau et des Pays de l'Adour

**Licence Professionnelle Métiers de la Protection et de la Gestion Environnementale
Option Biologie appliquée aux écosystèmes exploités**

Mise en place d'un protocole standardisé de mesure du pH en milieu marin

Labatut Paul

Stage effectué du 01 Mars au 30 Juin 2017

**Effectué au L'Observatoire Océanologique de Banyuls sur Mer
Sous la direction scientifique de M. Renaud Vuillemin**



*« Le présent rapport constitue une exercice pédagogique qui ne peut en aucun cas engager
la responsabilité du Laboratoire d'accueil »*

Remerciements

Je remercie dans un premier temps Mr Vincent LAUDET, directeur de l'Observatoire Océanologique de Banyuls de m'avoir accueilli dans son Laboratoire.

Je tiens à remercier tout particulièrement Mr Renaud VUILLEMIN, ingénieur, responsable du service d'observation et coordinateur SOMLIT. Je me félicite de la bienveillance et du soutien qu'il a fait preuve à mon égard en rendant possible ce stage. Et je suis fier de la confiance qu'il a placée en moi, en me permettant d'intégrer le Service d'Observation au moyen d'un CDD.

Pour les expériences enrichissantes qu'elles m'ont fait vivre au sein du service d'observation, je tiens à remercier tout particulièrement et à témoigner ma reconnaissance aux personnes suivantes :

A Mr Eric MARIA technicien classe exceptionnelle du Service d'Observation pour m'avoir formidablement bien formé et intégré au sein du laboratoire. Il m'a appris les « ficelles du métier » qui à ce jour nous ont conduit à une formidable collaboration au sein de l'équipe, et font du travail quotidien une tâche aisée, efficace et dans la bonne humeur. Je tiens également à le remercier pour la confiance qu'il a su m'accorder dès les premières semaines de mon stage ainsi que le temps et le soutien qu'il m'a témoigné.

A Mr Laurent ZUDAIRE pour le temps passé à ma formation sur la rosette. Mais également pour le vif intérêt qu'il a su faire naître chez moi dans des domaines que jusqu'alors je n'affectionnais pas

Ainsi qu'à Mr Olivier CRISPI, Mme Jocelyne CAPAROS, Mr Gilles BŒUF, Mme Audrey GUENEUGUES, Mme Karine ESCOUBEYROU ainsi qu'aux nombreux membres du personnel et stagiaires présents pour leur aide dans les différentes manipulations effectuées en laboratoire. Mais aussi pour leurs réponses face à mes nombreuses questions.

A toute l'équipe des marins et plongeurs des moyens à la mer, pour leur aide et leur bonne humeur lors des sorties en mer.

A Océane LORENZO stagiaire de master 1 à l'Université de Perpignan Via Domitia, pour tout le travail effectué en amont ainsi qu'en binôme sur le présent sujet.

De manière générale à l'ensemble du personnel pour son accueil sympathique et sa coopération professionnelle.

Enfin, je tiens à remercier toute l'équipe pédagogique de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour ainsi que mon tuteur Mr Lalanne sans qui ce stage n'aurait pas été possible.

Sommaire

Remerciements	3
Glossaire	5
Introduction.....	7
Cadre du stage.....	7
Laboratoire ARAGO	7
Service d’Observation.....	8
SOMLIT	8
Le pH, un paramètre d’intérêt nécessitant un perfectionnement de sa méthode d’acquisition.	12
Matériel et méthodes.....	14
Méthode par potentiométrie	14
Méthode par spectrophotométrie UV visible	15
m-Crésol Purple et principe de l’analyse.....	16
Echantillonnage et conditionnement	18
Mesures	20
Création du fichier Excel de Calculs.....	21
Réalisation de la solution de m-Cresol Purple.....	22
Réalisation de la solution de dichlorure mercurique	23
Résultats & discussion.....	24
Résultats des lectures de la solution de m-crésol	24
Résultats des échantillons SOLA.....	25
Conclusion	28
Bibliographie.....	30
Abstract	31
Annexes	32
Méthode de calcul du pH (d’après O. Lorenzo).....	32
Résultats des lectures de mCP au spectrophotomètre	36
Résultats des lectures d’échantillons Sola	37

Glossaire

Les différentes unités & réseaux scientifiques :

LOMIC : Laboratoire d'Océanologie Microbiennes

Unité de Recherche étudiant Unité mixte de Recherche UPMC-CNRS au sein de l'OOB, étudie les interactions réciproques entre un milieu changeant et varié, l'océan, et les micro-organismes qui l'habitent Etudie les interactions réciproques entre un milieu changeant et varié, l'océan, et les micro-organismes qui l'habitent.

BIOM : Biologie Interactive des Organismes Marins

Unité de recherche ayant pour objectif d'étudier selon une approche évolutive les mécanismes de développement et d'adaptation des organismes.

LECOB : Laboratoire d'Ecogéochimie des environnements Benthique

Unité conjointe de l'Université Pierre et Marie Curie et du CNRS. Ce laboratoire est rattaché à l'Institut Écologie et Environnement du CNRS. Elle étudie les écosystèmes benthiques et leurs interfaces, du littoral aux abysses, au travers des réseaux d'interactions complexes entre les communautés d'organismes et les composantes réactives de leur environnement. L'objectif de nos recherches est de mieux comprendre les propriétés dynamiques de ces réseaux et les fonctions qu'ils assurent.

LBBM : Laboratoire de Biodiversité et Biotechnologie Marines

Unité de Recherche exploitant les atouts des écosystèmes marins pour élaborer des technologies basées sur ce système.

SOMLIT : Service d'Observation en Milieu Littoral

Réseau national intégrant 9 stations marines sur les différentes façades du littoral français

MOOSE: Mediterranean Ocean Observing System on Environment

Réseau national, le MOOSE a pour but le suivi des masses d'eau, de la circulation thermohaline et des flux de matière en Méditerranée Nord occidentale de par les Stations marines mais aussi de part des campagnes océanographiques. Il suit notamment les apports des fleuves, et les dépôts atmosphériques.

Les plateformes de l'Observatoire

- Service Moyens à la mer et Instrumentation : Unité s'occupant des sorties en mer, des plongées scientifiques mais également de l'entretien et de l'utilisation du navire océanographique et des instruments qui y sont associés.
- Service d'Observation : Plateforme de l'OOB assurant des prélèvements, échantillonnage et analyse routinière pour la recherche, l'enseignement ou l'observation.
- Cytométrie & Imagerie : Etudes des peuplements microbiens planctoniques marins ou dulçaquicoles (eau douce). Source d'études novatrices pour les modèles marins
- Bio2mar : Biodiversité-Biotechnologies Marines : Plateforme de l'OOB permettant la caractérisation de la biodiversité, l'isolement et la culture de microorganismes, la production de biomasse mais aussi des analyses structurales et chimiques

Vocabulaire de laboratoire relatif aux échantillons analysés :

CHN : Carbone – Hydrogène - Azote

MES : Matières en suspensions

COP & NOP : Carbone et Azote Organique Particulaire

PROFIL CDT : profil bathymétrique vertical obtenu à l'aide d'une sonde CTD (sonde mesurant

C : Conductivité / Salinité ; T : Température ; D : Depht : Profondeur d'immersion)

Cette sonde est capable de mesurer ces paramètres jusqu'à 500m de profondeur

mCP : méta-Crésol Purple, indicateur coloré utilisé pour dans la détermination du pH par spectrophotométrie

Introduction

Cadre du stage

Le stage effectué dans le cadre de la licence professionnelle BAEE eut lieu dans un contexte atypique. En effet, je ne disposais pas en arrivant de sujet de stage à proprement parler puisque mon rôle, convenu avec le maître de stage au préalable, était voué au remplacement d'un membre du personnel du Service d'Observation du laboratoire ARAGO de Banyuls-sur-Mer. Le choix de cette structure d'accueil fut évident pour moi. En plus de m'offrir un cadre stimulant avec une thématique que j'affectionne tout particulièrement, un poste de technicien au sein de ce service m'a été proposé. Ainsi donc dans ce présent document, je m'efforcerais de mettre en évidence une partie seulement du travail effectué.

En ce qui concerne le choix du paramètre étudié dans ce rapport, il ne fut pas pris par « défaut ». Bien que la chimie ne soit pas au cœur même de la formation suivie en LP BAEE, elle n'en reste pas moins essentielle dans le monde de la recherche biologique. Le potentiel hydrogène en est un facteur des plus importants. Au-delà de l'aspect chimique qui vous sera présenté, il faut donc voir ici le pH en tant que vecteur d'information pour la communauté scientifique. Pour ce travail, j'ai bénéficié de l'aide non négligeable de O. LORENZO qui, en stage jusque fin Mars, a entamé les processus d'analyse dans le cadre de son stage de master 1. Notamment pour la rédaction du fichier Excel ainsi que des formules et calculs qui y sont associées et présent en annexe.

On présentera donc la structure d'accueil dans son ensemble pour commencer puis nous nous intéresserons aux différentes activités du Service d'Observation.

Dans un second temps nous parlerons largement de la mise en place d'un nouveau protocole du pH. Puis des résultats qui y sont liés que nous finirons par discuter.

Laboratoire ARAGO

Le laboratoire océanologique de Banyuls-sur-Mer (Laboratoire Arago) a été fondé en 1881 par le zoologiste Henri de Lacaze-Duthiers au sein de la commune de Banyuls-sur-Mer, dans le département des Pyrénées Orientales. Il est une composante de l'Université Pierre et Marie-Curie, de l'INSU (Institut National des Sciences de l'Univers) et du CNRS (Centre National de la Recherche Scientifique), de ce fait, il a depuis sa création une vocation de recherche, de formation et d'enseignement. A ce titre, plusieurs centaines d'étudiants séjournent chaque année à l'Observatoire Océanologique de Banyuls pour des enseignements.

Les recherches menées au laboratoire et soutenues par quatre unités de recherche (cf. Glossaire, 5) sont quant à elles inscrites dans les domaines de la biologie marine pélagique et benthique (BIOM & LECOB), la microbiologie (LOMIC), la bio géochimie (LECOB), la biologie intégrative et les biotechnologies (LBBM). L'ensemble du Laboratoire et donc des différentes unités de recherche sont sous la tutelle du CNRS et de l'Université Pierre et Marie-Curie.

Grâce au biodiversarium, et notamment avec l'aquarium, il tend également à vulgariser l'univers scientifique de l'océanographie, de l'étude des écosystèmes et de la biodiversité

terrestre méditerranéenne. Les différentes unités de recherches peuvent d'ailleurs s'appuyer sur le secteur recherche de l'aquarium qui permet l'élevage d'espèces, ou la mise en place de milieu de développement par exemple.

Sa localisation historique au sein même du port de Banyuls-sur-Mer est un atout stratégique avec un accès facile pour les embarquements lors des missions en mer. En ce sens, l'Observatoire Océanologique de Banyuls (OOB) est équipé de deux navires à vocation océanographique, le NEREIS II et le RUFII II.



Figure 1 Navire Océanographique le NEREIS II (crédit photo : CNRS)

Ce navire est notamment utilisé lors des sorties en mer du Service d' Observation.

Service d'Observation

L'équipe du Service d'Observation du Laboratoire Arago de Banyuls sur Mer effectue des prélèvements le long d'une radiale d'observation rectiligne, composée des stations SOLA (Service Observation Laboratoire Arago pour le réseau SOMLIT), POLA (Plateau Observation Laboratoire Arago) et MOLA (Microbial Observatory Laboratoire Arago pour le point du programme MOOSE), pour l'étude de paramètres physico-chimiques et biologiques. Cette plateforme est également mise à la disposition des différentes unités de recherche et est intégré au réseau SOMLIT.

SOMLIT

Les études systématiques de paramètres physico-chimiques et biologiques sont apparues au sein des stations océanographiques de manière très hétérogène. Chacune d'elles possédant ses identités scientifiques, ses spécificités et ses propres protocoles. Dans le but de rendre une information cohérente et standardisée à la communauté scientifique, le SOMLIT (Service d'Observation en Milieux Littoral) voit le jour en 1995. Depuis sa création le SOMLIT a évolué

et c'est maintenant treize stations marines de l'hexagone qui sont fédérées autour de ce projet commun et font parties intégrante de ce réseau. Ces stations labellisées se doivent ensuite de remplir un cahier des charges strict et sont également soumises à une charte qualité exigeante.

Dès le départ, les objectifs du SOMLIT furent d'examiner les changements des systèmes côtiers sur le long terme et de quantifier les influences de la variabilité climatique d'une part et anthropogénique d'autre part sur ces systèmes. Le SOMLIT a pour but premier de fournir des informations précises qui seront par la suite exploitées par la communauté scientifique. Afin d'avoir toujours une précision de grande qualité, une rédaction de chaque opération de prélèvement et d'analyse est réalisée au préalable et au niveau national de façon très stricte. Afin de s'assurer de la qualité des échantillonnages et analyses, une intercomparaison regroupant les membres des treize stations actives du SOMLIT est organisée chaque année.

La liste des paramètres à étudier de manière permanente par les stations SOMLIT est la suivante :

- Oxygène dissous
- pH
- Azote ammoniacal
- Nitrate, Nitrite, Phosphate, Silicates (sels nutritifs)
- MES (Matière En Suspension)
- Carbone Organique Particulaire (COD) et Azote Organique Particulaire (NOD) (CHN)
 - Isotopes stable du carbone
 - Chlorophylle a et Phéopigments
 - Pico-nano eucaryotes (en cytométrie)
 - Profil CTD (Pression, Salinité, Température)

Pour chacun de ces paramètres, un protocole a été défini au niveau national. Celui-ci doit être rigoureusement respecté et est révisé chaque année. C'est d'ailleurs dans le cadre de cette révision que le protocole du pH s'est vu changé en 2017.

Prélèvements

En mer, les prélèvements se déroulent sur un navire, où le manque d'espace et la houle accentuent la difficulté d'échantillonnage. Le travail est donc beaucoup plus contraignant que sur terre, en effet, l'instabilité du bateau, les conditions météorologiques, ainsi que les équipements souvent rudimentaires ne font pas des prélèvements en mer une chose aisée. Les conditions de prélèvement sont donc rarement idéales en regard des impératifs de procédure liés aux paramètres à analyser. C'est pourquoi une grande rigueur est nécessaire lors de ces missions. Avant le départ en mer, il est donc essentiel de préparer sa sortie afin d'optimiser le temps entre les échantillonnages.

Le service d'observation du SOMLIT travaille en collaboration avec le Service des Moyens à la Mer mettant à disposition les infrastructures nécessaires au bon déroulement des opérations. Une équipe de plongeurs, un parc d'instrumentation et deux embarcations liées à une équipe de marins: le Rufi II (7,35m) et le Néréis II (14m) (Figure 1 Navire Océanographique le NEREIS II (crédit photo : CNRS)) intègrent ce service. C'est avec ce dernier que tous les prélèvements d'eaux sont effectués pour le SOMLIT.



Figure 2 Echantillonnage à bord du NEREIS II crédit photo: G DANJON

Voici donc la liste du matériel embarqué lors des sorties :

- La sonde CTD permettant d'effectuer des profils de température, de salinité et de pression. Ici, il sera surtout question de regarder si les piles nécessaires au fonctionnement de la sonde sont en état.
- Les bouteilles Niskin pour les prélèvements d'eau de mer.
- Des flacons en verre pour stocker les échantillons avec lesquels seront mesurés le taux d'oxygène dissous ainsi que le pH.
- Des bouteilles opaques (afin d'éviter la prolifération de phyto-nano plancton notamment) de différentes contenances étiquetées en fonction du paramètre à étudier.
- Une caisse contenant les réactifs pour l'oxygène et l'ammonium.
- Une glacière pour une meilleure conservation des échantillons d'oxygène, de NH_4 , de production primaire et de pH

Une rosette est également disponible au laboratoire. Sa mise en place durant mon stage m'a donnée l'occasion d'être formé à son utilisation et subséquemment d'en devenir la personne référente pour la manipulation, mais aussi l'acquisition des données en temps réel ainsi que de l'extraction de ces données

Le travail en mer consiste à effectuer des mesures in situ (sonde CTD) ainsi que des prélèvements qui permettront après échantillonnage l'analyse nombreux paramètres (en laboratoire). C'est pourquoi, afin de maintenir l'intégrité de l'eau récoltée, des prétraitements sont nécessaire. De plus, il existe un certain ordre à respecter lors de l'échantillonnage, certains paramètres étant plus vulnérables que d'autres au contact du milieu extérieur. A titre d'exemple, l'oxygène dissous est le premier à être échantillonné. En effet, une fois retiré de sa profondeur l'échantillon d'eau en contact avec l'air peut être très rapidement modifié.

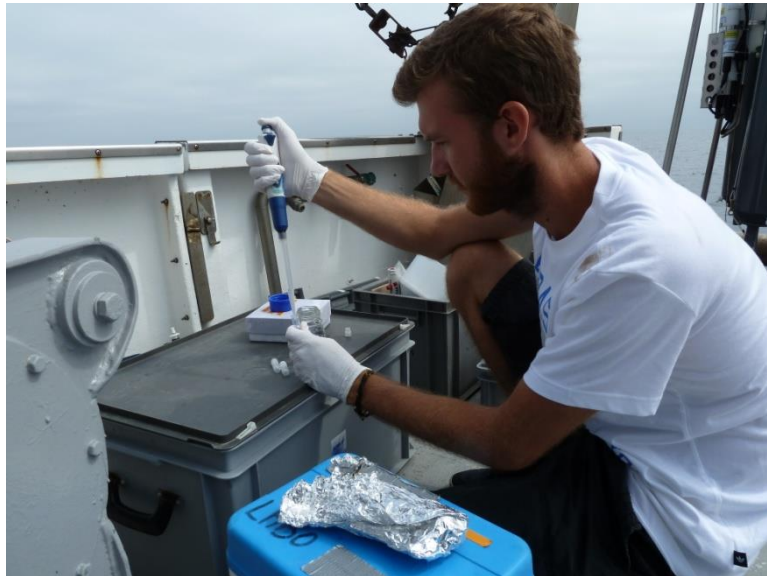


Figure 3 préparation des échantillons de cytométrie en flux (crédit photo : C Danjon)

Les paramètres du dissous sont les premiers que l'on échantillonne grâce aux bouteilles Niskin. On retrouve : L'oxygène, le pH, l'ammonium ...etc. Seulement ensuite sont effectués les échantillons destinés à l'étude du particulaire. C'est-à-dire la chlorophylle a ainsi que la matière en suspension. Chacun de ces paramètres est étudié à différentes profondeurs pour une station donnée à une fréquence hebdomadaire (ou mensuelle selon la station). Les échantillons sont prélevés sous forme de répliques afin d'obtenir une plus grande précision des résultats. Ils sont ensuite analysés et traités. Enfin, les résultats obtenus rejoignent la base de données.

Sites de prélèvements

Le SOMLIT étudiant les littoraux français, chaque station dispose de plusieurs sites d'études caractéristiques. Dans notre cas, c'est 3 points le long du gradient Côte-Large de Banyuls sur mer qui fait l'objet d'un suivi régulier. Leur localisation (décrite sur la figure ci-dessous) est spécifique, du bord du littoral passant par un intermédiaire puis au large au-dessus de la fosse de Lacaze-Duthier, cela permet de soulever des comportements distincts pour chaque paramètre et chaque site. Ainsi cette répartition est donc un bon moyen de tracer l'évolution de ces paramètres au fur et à mesure que l'on s'éloigne de la cote.

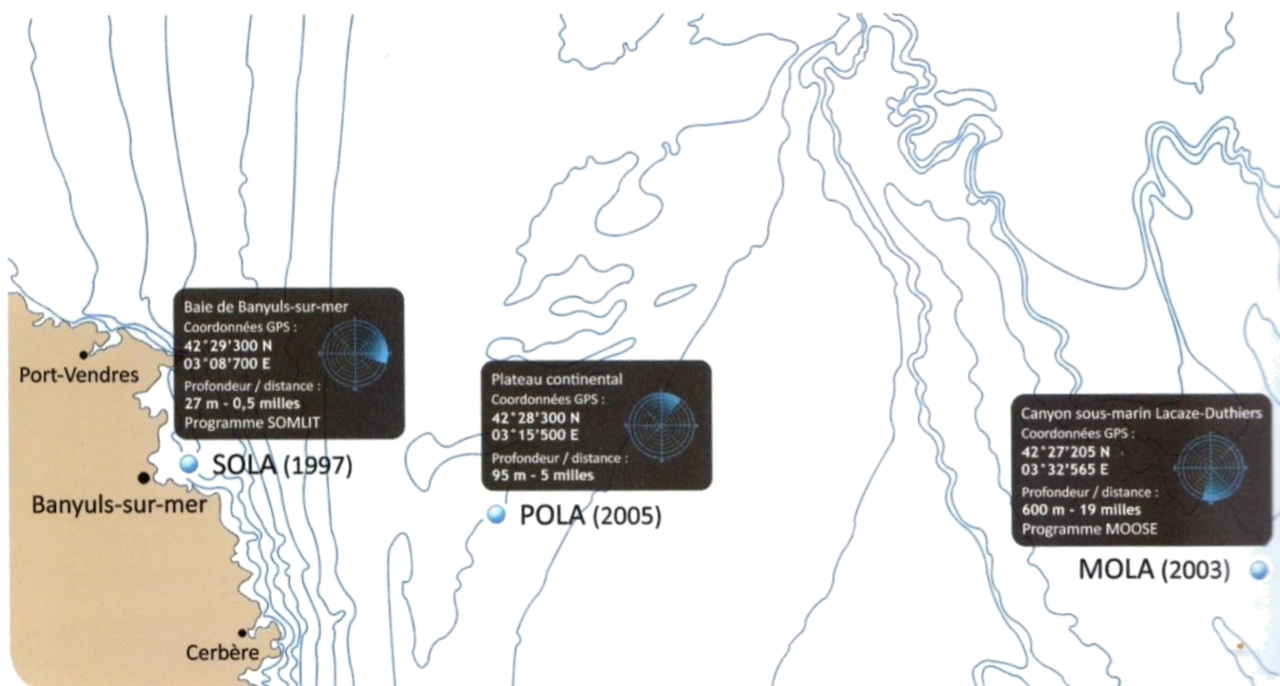


Figure 5 Carte topographique de la côte Vermeille (crédit : Site SOMLIT)

Analyses

Ce présent rapport traite dans sa partie majeure de l'analyse du pH. Le protocole (SOMLIT) qui vous sera décrit, et cependant bien représentatif du travail en laboratoire effectué pour les analyses d'autres paramètres. En effet tous les échantillons, à l'exception de ceux destinés à la cytométrie en flux, au CHN, et aux sels nutritifs sont analysés par nos soins.

Les procédés diffèrent cependant ce qui induit une très bonne diversité de travaux en laboratoire. On retrouvera des filtrations, des dosages, des extractions de pigment, ou la préparation de réactifs mais également des mesures en tous genres au moyen de fluorimètres, spectrophotomètre, pHmètre. L'ensemble des analyses permettent de mettre en œuvre un panel de savoir faire

Le pH, un paramètre d'intérêt nécessitant un perfectionnement de sa méthode d'acquisition.

Le pH a de tout temps été l'un des principaux paramètres étudiés par le SOMLIT. En effet, depuis l'avènement de l'ère industrielle, il a été unanimement reconnu que le progrès industriel a directement impacté le taux de CO₂ rejeté dans l'atmosphère. Et implicitement les océans, car, on le sait, ils sont les premiers absorbeurs de dioxyde de carbone atmosphérique. En effet près d'un tiers du CO₂ serait accepté par les océans [1]. Ces derniers jouent donc un rôle primordial dans le contrôle climatique de notre planète.

Cependant, ce processus a de grosses répercussions en termes d'hydrodynamisme mais aussi au sein de nombreux cycles biologique et biogéochimique (comme notamment la pompe des carbonates ou cycle des carbonates). Le potentiel hydrogène joue un rôle d'indicateur des processus d'équilibre au sein des océans. En effet, la solubilité des minéraux, le degré d'oxydation de certains éléments, la disponibilité en nutriments et donc les processus biologiques sont très dépendants de ce facteur physicochimique.

Le CO₂ accumulé dans les océans est principalement responsable de leur acidification. Grâce à une modélisation informatique, on a pu définir une diminution du pH de l'ordre de 0,1 [3] depuis 1750 en surface. L'équilibre fragile du cycle biogéochimique des carbonates s'en trouve fortement impacté par exemple.

Les conséquences sont désastreuses en termes de perte de biodiversité notamment via le blanchissement des récifs coralliens. Les récifs coralliens vivent en réalité en symbiose avec un bon nombre de micro organismes photosynthétiques dont ils sont les hôtes (les Zooxanthelles). C'est de ces organismes que les coraux obtiennent leurs couleurs si particulières. Ils leur fournissent également via la photosynthèse le dioxygène mais également certain molécules (glycérol, glucose, acides aminés...) nécessaire à leur croissance. Le réchauffement des océans couplés à une baisse significative du pH ces dernières années accentuent les épisodes périodiques de blanchiment des barrières de corail [4]. Le stress causé par ce changement de milieu entraîne la fuite des Zooxanthelles sans laquelle le corail perd sa couleur (il blanchit) et ne peut vivre.

Etant donné que les récifs coralliens abritent plus d'un tiers de toutes les espèces marines connues à ce jour, [5] pour une surface représentant seulement 0,08 à 0,16% de la surface des océans, l'intérêt de l'étude de ce paramètre n'est plus à démontrer. Du fait de l'origine anthropique de la source de dénaturation du milieu, le suivi du pH est une nouvelle fois au centre des thématiques du SOMLIT.

Cependant, la limite de détection de la méthode par potentiométrie utilisé actuellement au SOMLIT ne permet pas de capter les infimes variations du potentiel hydrogène, ayant lieux au sein des océans. La mesure électrochimique se base sur les échanges ioniques entre le milieu et des électrodes amenant à une quantification des éléments présents dans ce même milieu. Le problème rencontré est alors l'incertitude de mesure. Elle peut atteindre $\pm 0,02$ d'unité de pH ce qui est problématique du fait que les variations de ce paramètre sont de nature très sensibles. On l'a mentionné plus haut, la variation du pH à échelle globale et sur le long terme est de 0,1 depuis l'ère industrielle. Avec les effets néfastes qui sont lié à cette variation semble-t-il infime, il paraît logique d'en affiner l'analyse.

Matériel et méthodes

Ayant cette volonté d'affiner ces résultats, le SOMLIT propose alors à ses stations un nouveau protocole permettant de déterminer le pH par spectrophotométrie. On s'intéressera tout d'abord aux lacunes de la méthode par potentiomètre avant de s'intéresser à la mise en place de ce nouveau protocole.

Méthode par potentiométrie

La potentiométrie (ou électrochimie) se voit originellement développée de par la nécessité de mesurer le pH dans divers milieux mais permet aussi l'étude de nombreux éléments ioniques présents dans une solution. Son principe de fonctionnement se base sur la différence de potentiel entre deux électrodes au préalable étalonnées par des solutions tampons. On distingue alors l'électrode de référence (de potentiel constant) et l'électrode de travail (potentiel variant en fonction de l'échantillon) toutes deux en verre. Les ions présents en solution, pour le pH les H^+ , permettent de faire circuler le « le courant » entre les deux électrodes et donc en fonction des solutions étalons de pH donné, de déterminer celui de l'échantillon. Cette méthode est tirée de la publication « Potentiométrie – Mesure du pH ou d'une concentration » de Gerard DURAND [5].



Figure 6 pHmètre utilisé pour les mesures par potentiométrie

Cette méthode est donc une méthode simple d'utilisation et facilement applicable sur le terrain, cependant des études ayant utilisé cette méthode montrent qu'elle présente des points faibles d'importances comme le soulève la publication sur « Mesure du pH de l'eau de mer : un défi d'actualité » [1].

Grâce à cette publication mais également aux résultats publiés par l'IUPAC en 1988 [6] le biais majeur viendrait des électrodes, notamment de leur constitution en verre et la nécessité d'étalonnage qu'elles requièrent pour chaque mesure. Ainsi, il y a donc une contribution mineure des potentiels de jonctions de liquides résiduels issus de la non spécificité des électrodes. En effet, ce potentiel créé au niveau de la jonction électrolytique entre l'électrode de référence interne et la solution à mesurer dépend du pH de l'électrode mais aussi de la composition exacte de la solution à mesurer, ce qui est en soi, impossible à déterminer « exactement ». On nous dit aussi que cette jonction est d'autant plus influencée que le milieu est alcalins. Le milieu marin en étant l'exemple type.

Il a donc été chiffré selon A. K. COVINGTON en 1988 [6] que ces problèmes d'électrodes introduisent des erreurs dites systématiques de l'ordre de 0,1 pour le pH.

Or, on a observé à Hawaï sur la station ALOHA que la variation de pH au cours d'une journée pouvait varier de 0,02 d'unité. Ces résultats ont été obtenus en effectuant des études à long terme mais également sur des périodes temporelles ponctuelles demandant des relevés fréquents. Ce travail [7] a donc mis en évidence le fait que la gamme d'incertitude est supérieure à la finesse des résultats. Ceci affecte considérablement la chaîne de traçabilité et la qualité des valeurs de la labellisation nationale à laquelle doit répondre le SOMLIT. Une méthode alternative commence dès lors de ce mettre en place.

Méthode par spectrophotométrie UV visible

Ainsi le choix de la méthode de mesure se fait selon des critères pertinents tel que le nombre d'échantillons à effectuer (si plusieurs au cours d'une journée, la méthode se doit d'être particulièrement sensible pour constater les variations si faibles soient elles), ou encore des conditions de mesures (de terrain ou de laboratoire). Il y a également un facteur limite qu'est l'instrumentation, la gamme d'incertitude par rapport à l'échantillon lui-même et surtout la nature de l'étude, si cette dernière doit répondre à des exigences de qualités spécifiques. Comme on l'a dit plus haut dans le contexte d'un travail pour le SOMLIT de manière hebdomadaire, avec une précision que l'on veut accroître, la méthode par spectrophotométrie se devait d'être essayé de me manière routinière.

Pour commencer, en 1985 avec «Spectrophotometric determination of seawater pH using phenol red» [8] une première méthode de lecture du pH par spectrophotométrie voit le jour. Pauffiné au cour du temps, le phénol rouge disparaît au profit du m-crésol purple, un indicateur coloré. Sa première apparition dans une publication à lieux en 1899 avec « Hight precision multiwavelength pH determinations in seawater using cresol red » [9].

Dans sa méthode, l'emploi d'un indicateur coloré, le méta-crésol purple, de déterminer le pH en milieu marin à $\pm 0,003$ d'incertitude. Cet indicateur coloré sensible au pH est présent sous trois formes constituant des couples acido-basiques. Le virage visible en spectrophotométrie se situe entre un pH de 7,4 et 8,4 pour des longueurs d'onde allant de 434 à 730. Aujourd'hui, à l'aide de l'avancée des technologies et volonté des chercheurs, cette méthode s'est vue complétée et améliorée récemment par Liu et al. en 2011 [10]. Dès lors la méthode est relativement au point et c'est elle qui est la véritable clef de voute du nouveaux protocole SOMLIT.

Nous allons dans cette partie voir le protocole SOMLIT [11], et son application et adaptation au problème du laboratoire de Banyuls-sur-Mer.

m-Crésol Purple et principe de l'analyse

Le principe de cette méthode de détermination repose sur l'emploi d'un indicateur coloré : le méta-crésol purple.

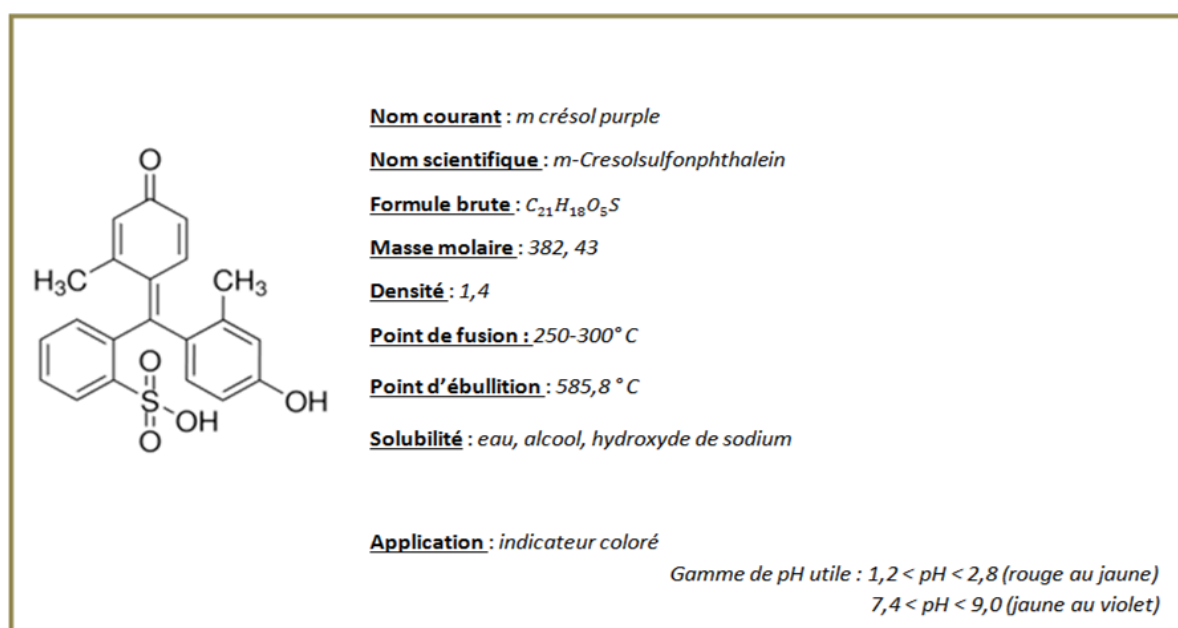
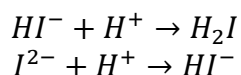


Figure 7 Fiche indicative du m-Crésol Purple (source : Protocole SOMLIT t. CARIU)

Il est de la famille des sulfonephtaléine. Ce sont des composés organiques colorés pour la plupart très sensible au pH, c'est pour cela qu'ils sont utilisés en tant qu'indicateur du pH. Parmi eux on retrouve par exemple le Rouge de Phénol ou encore le Vert de Bromocresol.

Présent sous trois formes H_2I , HI^- , et I^{2-} , (ou I représente l'indicateur coloré) le m-crésol purple, forme donc deux couples acido-basique :



Chacune de ces formes se caractérise par une absorption différente. Cependant, le virage nous intéressant, correspond à un pH de 7,4 à 9 qui lui est donné par le couple acido-basique $I^{2-} + H^+ \rightarrow HI^-$. On a donc un passage de la forme protonnée HI^- à la forme déprotonnée I^{2-} . On s'intéressera donc aux longueurs d'ondes spécifiques de ces deux formes essentiellement. Voici le spectre d'absorption du m-Cresol purple :

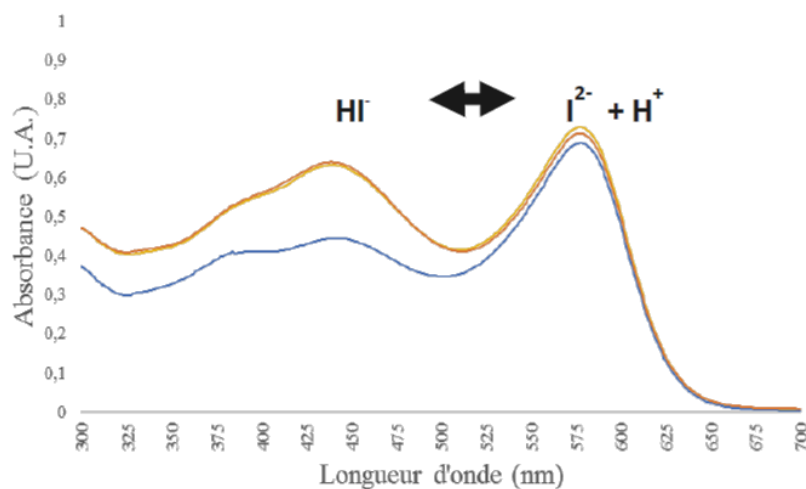
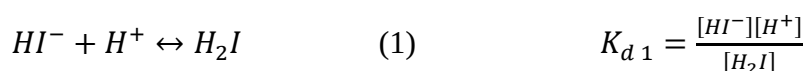


Figure 8 Spectre d'absorbance du m-Crésol Purple selon les trois formes (source : protocole SOMLIT, T. CARIOU)

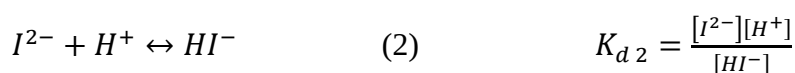
Chaque forme a donc une longueur d'onde qui lui est spécifique :

- 434 pour I^{2-}
- 578 pour HI^-
- 730 pour H_2I

Dès lors on peut écrire les équilibres chimiques de ces trois formes selon les deux constantes de dissociation K suivantes, avec :



Et :



Il est possible de prévoir les différents équilibres chimiques en fonction des constantes de dissociation K_t .

De récentes études faites sur les dernières publication mentionnées plus haut, au sujet de la détermination du pH dans l'eau de mer ont permis de déterminer une nouvelle équation principalement basée sur les mesures des contributions d'absorbance relatives des formes protonées ($[HI^-]$) et déprotonées ($[I^{2-}]$). C'est donc (2) qui nous servira surtout pour la suite. L'équation suivante est donc à considérer :

$$pH = -\log[H^+] = -\log\left(K_{d2} \frac{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)}}{\varepsilon_{HI^-(\lambda_1)}}\right) + \log\left(\frac{R - \frac{\varepsilon_{HI^-(\lambda_2)}}{\varepsilon_{HI^-(\lambda_1)}}}{1 - R \frac{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)}}{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)}}}\right)$$

Avec: $R = \frac{A_{578}}{A_{434}}$

K_{d2} : constante de dissociation du HI^-

$\frac{\varepsilon_{HI^-(\lambda_2)}}{\varepsilon_{HI^-(\lambda_1)}} ; \frac{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)}}{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)}} ; \frac{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)}}{\varepsilon_{HI^-(\lambda_1)}}$: le rapport des coefficients d'extinction molaires de chaque espèce aux deux longueurs d'ondes étudiées.

Il est à noter que pour la période mise en place du protocole et pour des raisons économiques, le mCP sera un produit non purifié mais relativement acceptable pour démarrer. En effet, en toute rigueur, le mCP utilisé est un produit ultra purifié (par HPLC) car la moindre impureté est susceptible de modifier les caractéristiques physico-chimiques de l'indicateur de pH pouvant fausser les mesures.

Echantillonnage et conditionnement

Comme dans toutes les études, la première étape, et qui plus est la plus importante du processus, est l'échantillonnage. C'est de ces échantillons, effectués sous forme de répliques, que découlent les résultats et interprétations sur le paramètre étudié. Il est donc essentiel au bon déroulement des analyses que le prélèvement suive à la lettre le protocole de manière stricte et rigoureuse.

En effet, la collecte et la préservation sont des éléments à prendre en compte en fonction de la fragilité du paramètre étudié. Le pH faisant partie de ces paramètres sensibles, son prélèvement, sa conservation et son stockage après prélèvement sont spécifiques. Voici la liste du matériel nécessaire :

- Bouteille Niskin
- Tuyaux de connexion en silicone
- Flacons Schotts borosilicatés autoclavés de 500 mL (chaque flacon permettant 5 répliques max.)
- Des cellules cylindriques de spectrophotométrie de 10
- 300 µL de la solution de chlorure mercurique selon si l'analyse est reportée dans la semaine

Mises à la profondeur souhaitée, ces bouteilles permettent de recueillir un important volume d'eau à chaque descente, fermées par un déclencheur mécanique coulissant le long du câble de tirage, ce dispositif est alors sécurisant pour des études à profondeurs déterminées et est un outil indispensable en océanographie.

Une fois remontée à bord, il existe plusieurs techniques de récupération selon ce que l'on veut en faire. En effet, il est possible d'ouvrir une des extrémités de la bouteille restituer un volume important instantanément ou via un petit robinet qui permet d'effectuer des manipulations demandant plus de sensibilité. C'est à l'aide de celui-ci que seront effectués les prélèvements.

Voici le déroulement de l'échantillonnage selon le document de T CRIOU [11].

- Dévisser l'évent d'arrivée d'air qui se trouve dans la partie supérieure de la Niskin.
- Adapter au robinet de la Niskin le tuyau en silicone (à laisser dans de l'eau propre entre 2 utilisations).
- Laisser ouvert le robinet de la Niskin durant tout l'échantillonnage (rinçages et remplissages).
- Purger le tuyau souple afin qu'il n'y reste aucune bulle.
- Réguler le flux d'eau par pincement du tuyau avec les doigts. Le réglage du débit doit être évolutif avec les différentes phases de remplissage : très faible au début jusqu'à ce que le tuyau soit immergé, puis un peu plus rapide sans turbulence, puis de nouveau faible lors de la sortie du tuyau silicone.
- Rincer au moins 2 fois le flacon de prélèvement avec le bouchon.
- Remplir le flacon en maintenant le tuyau au fond de la bouteille sans provoquer de turbulence.
- Laisser déborder 2 fois le volume du flacon.
- Retirer le tuyau lentement sans arrêter l'écoulement de l'eau du flacon. Le flacon doit être rempli à ras bord.
- Stocker le flacon à l'abri de la lumière, dans une glacière idéalement.

Une fois au laboratoire le remplissage des cellules à partir des flacons Schott et effectué :



Figure 9 Photographie légendée du remplissage des cellules

- Surélever le flacon par rapport à la cellule.
- Plonger un tuyau en silicone dans le flacon surélevé par rapport à la cellule, connecter le tuyau à l'une des extrémités de la cellule.
- Placer une seringue à l'aide d'un tuyau à l'autre extrémité de la cellule pour créer une dépression qui va conduire le liquide dans le tuyau et la cellule. Une fois amorcé, retirer la seringue et remplir la cellule en évitant les bulles d'air dans le tuyau et la cellule.
- Laisser déborder la cellule en l'inclinant de telle manière à chasser les éventuelles bulles d'air.

- Après quelques secondes, boucher l'extrémité ouverte de la cellule à l'aide d'un des bouchons puis enlever délicatement le tuyau de la première extrémité qui peut être rebouchée en évitant de bloquer de l'air à l'intérieur de la cellule.

NB : Il est également possible de remplir les cellules cylindriques directement depuis le robinet de la bouteille Niskin. Pour ce faire, fixer un tuyau au bout du robinet de la bouteille et fixer l'autre côté du tuyau sur un orifice de la cellule. Laisser déborder plusieurs fois et reboucher ensuite la cellule en commençant l'extrémité ouverte. Placer ensuite la cellule dans un endroit à l'abri de la lumière dans une glacière, jusqu'à l'arrivée au laboratoire.

La plus grande difficulté fut en réalité de réguler le débit, lors du remplissage de la cuve. Un certain doigté est en effet nécessaire afin d'éviter la formation de bulles. Au fur et à mesure des tests certaines cuves ont été abandonnées car fêlées, ou bien que leur adaptation sur le système d'aspiration par seringue était mauvais. Par la suite, l'expérience acquise dans la préparation a permis d'obtenir de bien meilleurs échantillons. En revanche le parti a été pris d'abandonner l'analyse de l'une des deux profondeurs par manque de moyen technique. Une analyse sur la même profondeur fut préférée, ce choix est justifié par l'intérêt d'obtenir des informations sur les écarts-types. La continuité de ces analyses est prévue afin d'obtenir une série sur le long terme. Cette étude permettra d'obtenir une vision sur le bon déroulement de l'analyse de façon routinière mais aussi d'observer des tendances au niveau de la justesse des résultats.

Une fois les cellules remplies, les placer dans un bain thermostaté à 25°C jusqu'au moment de l'analyse. Idéalement dans un sachet plastique afin de s'assurer d'une bonne étanchéité. Au laboratoire nous n'avons en revanche pas pu effectuer cette étape. Aucun bain thermostaté en état de marche n'était disponible. Pour pallier à ce problème, la pièce d'analyse où se déroulent les mesures fut maintenue à une température stable au moyen d'un climatiseur tout en limitant les entrées et sorties (variation de température liée à l'ouverture de la porte). Méthode relativement efficace au vu des résultats. Même s'il est vrai que les pièces sont généralement utilisées par toute la communauté scientifique et que le maintien de la température est hasardeux. On s'assurera donc de la bonne température de l'échantillon juste avant la lecture au moyen d'une sonde.

Mesures

Avant toute chose il est nécessaire de vérifier l'appareil de mesure en étalonnant celui-ci au moyen d'une solution TRIS. C'est une eau de mer tamponnée de pH et de salinité précisément et connue. Pour vérifier la justesse des mesures réalisées avec le spectrophotomètre UV-visible, on utilise des filtres-étalons. L'un permet d'étalonner l'appareil en longueur d'onde (oxyde d'holmium), l'autre en absorbance (verre gris). N'ayant aucun de ces étalons ces différentes lectures ne se sont pas déroulées.

Une fois que les échantillons ont atteint la température voulue, on réalise une lecture dite « blanc échantillon » au moyen du spectrophotomètre thermo régulé aux trois longueurs d'ondes voulues. Il est à noter que cette étape fut négligée et rapidement abandonnée. En effet, un auto zéro avec l'eau de mer de la profondeur étudiée fut effectué avant les mesures.

Puis on injecte 50 μ l de m-cresol purple dans les cellules sans introduire d'air au sein de celles-ci. Juste avant la lecture du spectrophotomètre, la température de l'échantillon est prise au moyen d'une sonde puisque celle-ci est nécessaire pour les calculs. Les valeurs ne seront de toutes manières très peu éloigné de 25°C pour le bon déroulement de l'analyse. Enfin, après avoir agité la cellule, la lecture de chaque échantillon peut être effectuée.



Figure 10 Thermomètre Dostman electronic (source: Dostman)

La réalisation de cette étape s'est avérée être beaucoup plus compliqué compte tenu du matériel qui était à notre disposition au sein du laboratoire. Le laboratoire ne possède pas de spectrophotomètre thermo régulé. Et ce problème n'a pu être résolu. Même si le temps de lecture est relativement court (45 secondes), il est vrai que l'échantillon au sein du spectrophotomètre voit sa température évoluer de manière infime mais non négligeable. Enfin comme l'appareil de mesure n'acceptait pas les cellules dans lesquelles les échantillons étaient réalisés, un dernier pipetage juste avant la lecture fut nécessaire afin de transvaser l'échantillon de la cellule à la cuve de lecture du spectrophotomètre. Ce délai de temps supplémentaire inévitable vient ainsi s'ajouter aux autres conditions défavorables d'analyse.

On peut dès lors imaginer que biais liés à la manipulation elle-même puissent exister puisque celle-ci n'est pas effectuée dans les conditions optimales. Il a été défini qu'une différence de 0,1°C de l'échantillon entraîne une variation de 0,002 unité de pH. On voit donc que les accommodations adoptées ne sont pas sans suite, et tendent à fausser les résultats.

Création du fichier Excel de Calculs

Afin de traiter les données d'absorbance obtenue, la réalisation d'un tel tableur était plus que nécessaire. Reprenant les travaux mentionner dans m-Crésol Purple et principe de l'analyse, le fichier Excel fut optimisé par O. LORENZO à partir d'un original de T. CARIOU. Il comprend donc l'ensemble détaillé des formules, mais également un comparatif avec les données obtenues par potentiométrie.

Réalisation de la solution de m-Cresol Purple

On souhaite pour ajout dans les cellules, obtenir une solution de m-cresol purple d'une concentration de 2mmol/L.

A la suite de la préparation de la solution, le ratio d'absorbance décrit comme le rapport $\frac{A_{578}}{A_{434}}$ est réalisé. Il doit être égal à $1,6 \pm 0,005$ afin de s'assurer d'avoir une solution d'un pH d'environ 7,9 qui ne viendra pas interférer avec la mesure de l'échantillon d'eau de mer lors de son ajout dans ces derniers. Même en l'ajoutant en quantité infime, au vu de la précision que demande l'analyse, il faut être certain de ne pas dénaturer l'échantillon. Puisque que cette solution ne se garde pas, nous avons pris le parti de réaliser de petits volumes et de refaire la solution toute les semaines (un jour avant l'échantillonnage). Ceci dans un souci d'économie et de précision.

Concentration voulue : 2mmol/L

Ratio d'absorbance : $A_{578}/A_{434} = 1,6$

Volume solution : 50mL

Masse molaire produit : 382,43 g/mol

$$C = \frac{n}{V} = \frac{m}{V \cdot M}$$

D'où :

$$m_{m-crésol} = C_{m-crésol} \times M_{m-crésol} \times V_{sol}$$

$$m_{m-crésol} = 0,002 \times 0,05 \times 382,43 = 0,038243g \text{ soit } 38,243mg$$

Pour réaliser cette solution on utilise une balance de précision, ainsi qu'une fiole de 50mL :

Remplir la moitié de la fiole d'eau Mili-Q. Peser 38,243 mg de produit et les dissoudre avant d'ajuster au trait de jauge, agiter. Protéger la fiole de la lumière avec du papier d'aluminium, et laisser une heure.

Pour tester le ratio et le pH de la solution de m-crésol Purple, on utilise un phmètre mais également le spectrophotomètre afin de calculer le ratio à partir des absorbances. La lecture au spectrophotomètre se réalise grâce à une cellule de chemin optique de 0,5mm. Afin de jouer sur le pH de la solution de MCP, on ajoutera au besoin quelques gouttes de NaOH ou d'HCl à 0,1N. Cependant n'ayant pas de cuve de chemin optique de 0,5mm, les lectures se sont effectuées au moyen d'une cuve au quartz de 1mm. Une influence de la cuve sur le résultat de cette lecture est certaine. Cependant, seulement les ratios sont observé, ainsi l'ordre de grandeur de l'absorbance ne fausse en aucun cas les valeurs.

- Si le ratio est inférieur à 1,6, ajouter de la soude à 0,1 mol/L
- Si le ratio est supérieur à 1,6, ajouter de l'acide chlorhydrique 0,1 mol/L.

On laisse agiter une nuit avec la fiole fermée et protégée de la lumière. Le lendemain matin, on ajuste une nouvelle fois le ratio. Puis on transvase la solution dans le flacon dédié qui sera scellé avec du Parafilm et stocké à l'abri de la lumière. L'indicateur coloré a tendance à évoluer au cours du temps. En effet, les échanges gazeux avec l'extérieur ont tendance à faire

évoluer le pH de la solution et donc, les rapports entre les 2 formes du m-crésol purple. Il est donc recommandé comme on l'a dit plus haut de refaire la solution le plus souvent possible.

Réalisation de la solution de dichlorure mercurique

L'élaboration d'un protocole et sa mise en place au sein des stations d'études demandent beaucoup d'effort d'adaptation des stations mais aussi du point de vu de l'optimisation du protocole pour alléger la routine de suivi SOMLIT. Ici, il sera mention de l'ajout d'une solution de chlorure mercurique dans le but de conserver les échantillons le temps d'effectuer les analyses en différé. La procédure de mesure de pH comprenant un grand nombre d'étape, il a donc été essentiel de trouver un moyen de préserver la dégradation des échantillons. L'ajout d'une solution de dichlorure mercurique joue le rôle d'agent de conservation permettant alors d'inhiber toute activité biologique, en stoppant toute vie microbienne, aucune respiration n'est alors possible et donc aucun échange gazeux pouvant influencer le pH ne se fait. De nombreux tests sur la durée de conservations ont finalement aboutit à une date de conservation limite fixée à 1 mois pour lequel le pH de l'échantillon reste relativement constant à $\pm 0,003$ unité de pH tandis que sans, le pH montre un tendance à la baisse de 0,001 unité de pH par heure. Ainsi donc pour plus de sécurité, il est donc préférable de conditionner les échantillons.

La quantité de solution nécessaire estimée pour nos volumes d'échantillons afin de les préserver à été déterminer pour 300 μ l par échantillon (de 500 mL) pour une concentration de 0,2715 mol/L.

Concentration voulue : 271,5mmol/L

Volume solution : 100mL

Masse molaire produit : 271,5 g/mol

$$C = \frac{n}{V} = \frac{m}{V \cdot M}$$

D'où :

$$m_{HgCl_2} = C_{HgCl_2} \times M_{HgCl_2} \times V_{sol}$$

$$m_{HgCl_2} = 0,2715 \times 0,1 \times 271,5 = 7,4g$$

Pour la réalisation de cette solution : Peser 7,4 g de Chlorure mercurique (II). Dans une fiole jaugée, dissoudre et compléter jusqu'au trait de jauge. Transvaser dans un flacon opaque celé de Parafilm. Cette solution se conserve indéfiniment à température constante à l'abri de la lumière.

Dès lors, les résultats des tests ont pu être obtenus et figurent dans un fichier Excel qui vous sera présenté plus tard. Nous allons maintenant présenter les résultats et discuter de leur précision.

Résultats & discussion

Avant de parler directement des résultats obtenus, il est nécessaire de préciser que tout ce processus entamé dès le début de mon stage s'inscrit dans une démarche commandée par le SOMLIT. Cependant les stations ont quelques années afin de tester ces procédés afin d'être opérationnel. Généralement le temps d'avoir l'ensemble du matériel adéquat, mais aussi d'améliorer le protocole. Lorsqu'un protocole est soumis à l'ensemble des stations, des adaptations sont effectuées afin de répondre aux contraintes du site d'étude. Ici, outre ces contraintes, c'est surtout comme on a pu le dire le manque de matériel qui fut problématique.

Durant cette phase de test, les données demandées par le SOMLIT continueront d'être acquises par potentiométrie. Ces données nous permettront de comparer les résultats obtenus au moyen de la spectrophotométrie.

Le tableau reprenant l'ensemble des résultats est directement issu de l'étude théorique du principe de l'analyse Méthode de calcul du pH (d'après O. Lorenzo) présent en annexe. Ont été ajoutés les paramètres physico-chimiques influençant la mesure, tel que la salinité, et la température de l'échantillon. La volonté de bien séparer les calculs a été prise.

ID	Type d'analyse	Température		Salinité	Biac	Absorbance			Correction sol de mCP			Calculs pour la formule de pH				Moyenne	Ecart typ.
		°C	K			434 nm	578 nm	730 nm	A'578/A'730	A'434/A'434-A'730	A'578/A'434	$-\log\left(\frac{E_{434}}{E_{578}}\right)$	$\frac{E_{578}}{E_{H^+}}$	$\frac{E_{730}}{E_{H^+}}$	$pH = -\log(H^+) = -\log\left(\frac{E_{578}}{E_{H^+}}\right) + \log\left(\frac{E_{730}}{E_{H^+}}\right)$		
x	Test tablier	25	298,15	35	-	0,6291	0,7288	0,005	0,7238	0,6241	1,1538	7,6481	0,0057	0,0568	7,740	7,728	0,008
x	Test tablier	25	298,15	35	-	0,629	0,709	0,0023	0,7067	0,6267	1,1277	7,6481	0,0057	0,0568	7,727		
x	Test tablier	25	298,15	35	-	0,6393	0,722	0,0089	0,7033	0,6214	1,1290	7,6481	0,0057	0,0568	7,724		
x	Test tablier	25	298,15	35	-	0,637	0,709	0,0048	0,7061	0,6322	1,1063	7,6481	0,0057	0,0568	7,722	7,737	0,009
SI70314 3m	Analyse test	24,8	297,95	37,95	-	0,6456	0,7314	0,0051	0,7263	0,6405	1,1340	7,6475	0,0057	0,0570	7,729		
SI70314 3m	Analyse test	24,8	297,95	37,95	-	0,6532	0,7423	0,0052	0,7371	0,6480	1,1575	7,6475	0,0057	0,0570	7,730		
SI70314 3m	Analyse test	24,8	297,95	37,95	-	0,6369	0,7316	0,0051	0,7305	0,6338	1,1534	7,6475	0,0057	0,0570	7,733		
SI70314 3m	Analyse test	24,8	297,95	37,95	-	0,6341	0,7298	0,0043	0,7255	0,6298	1,1520	7,6475	0,0057	0,0570	7,736		
SI70314 3m	Analyse test	24,8	297,95	37,95	-	0,6297	0,7416	0,0047	0,7429	0,6280	1,1886	7,6475	0,0057	0,0570	7,751		
SI70314 24m	Analyse test	24,8	297,95	38,18	-	0,6554	0,7461	0,0054	0,7410	0,6600	1,1232	7,6473	0,0057	0,0571	7,724		
SI70314 24m	Analyse test	24,8	297,95	38,18	-	0,6578	0,7439	0,0056	0,7442	0,6552	1,1411	7,6473	0,0057	0,0571	7,732		
SI70314 24m	Analyse test	24,8	297,95	38,18	-	0,6701	0,7542	0,0053	0,7489	0,6648	1,1265	7,6473	0,0057	0,0571	7,726		
SI70314 24m	Analyse test	24,8	297,95	38,18	-	0,6674	0,7643	0,005	0,7593	0,6624	1,1463	7,6473	0,0057	0,0571	7,734		
SI70314 24m	Analyse test	24,8	297,95	38,18	-	0,6532	0,7495	0,0058	0,7437	0,6415	1,1496	7,6473	0,0057	0,0571	7,735	7,738	0,005

Figure 11 Tableau de calculs pour le pH via les données d'absorbances des échantillons

Au vu de la complexité des formules, on voit toute de suite l'intérêt d'un tel tableur allégeant considérablement le travail de traitement à long terme.

Résultats des lectures de la solution de m-crésol

Rappelons que ces lectures permettent essentiellement d'obtenir une solution de m-crésol relativement neutre en termes de pH pour l'ajout dans les échantillons.

Comme on peut le voir (cf : 308,15

Résultats des lectures de mCP au spectrophotomètre) les résultats ne sont clairement pas au niveau de la précision demandée. La conclusion a été tirée que l'influence du mCP non purifié est à la base des mauvais résultats. Une comparaison avec une solution au mCP purifié n'est cependant pas possible. En outre l'impossibilité d'atteindre le ratio demandé de 1,6 peut être expliquée. L'influence de la cuve dont le chemin optique est de 1 cm au lieu de 0,5 mm a comme effet d'augmenter de manière significative les valeurs d'absorbance jusqu'à atteindre une valeur plafond. Ainsi on peut le voir, pour l'une d'entre elles (à la longueur d'onde 578), les valeurs d'absorbance ont atteint le plafond pour une valeur située autour de 3. Ainsi, même si le bon ratio est obtenu, il ne peut être lu. La lecture au moyen du spectrophotomètre pour la solution de mCP ne permet pas d'en définir le ratio.

Des échanges avec d'autres stations SOMLIT ont donc permis de connaître le réel pH de la solution de mCP lorsque le ratio est de 1,6. Etrangement celui-ci serait de 8,45. Or le protocole fait référence à un pH de 7,9. L'ajustement de la solution de mCP s'est donc effectué via le pHmètre, avec ajout de soude ou d'acide dès le 07/06. Une amélioration sera observée, mais il faudrait encore une fois un peu plus de recul afin de déterminer, l'influence effective du pH du m-crésol sur l'échantillon.

Une question s'impose alors, pourquoi ne pas adapter le pH au pH théorique retrouvé sur la station. Sur le point SOLA une base de données solide sur le pH existe depuis la création du service d'observation en 1997. On sait donc que la valeur ne descend jamais en deçà de 8,0. Alors que la station de Roscoff d'où provient le protocole à effectivement un point d'échantillonnage où le pH fait office de 7,9 unités en moyenne.

Des discussions sont entamées afin de déterminer s'il est possible de prendre le parti de se rapprocher d'un pH de 8,1, ou de l'adapter à la valeur de pH de l'échantillon obtenu par potentiométrie. Adaptant ainsi le protocole aux conditions de la station mais aussi à la saisonnalité, on espère un bien meilleur résultat.

Pour ce qui est de la solution de dichlorure mercurique, elle fut réalisée mais non utilisée puisque les lectures d'échantillons se déroulaient le plus tôt possible après les prélèvements.

Résultats des échantillons SOLA

Les résultats présentés en annexes (cf : Figure 15 Tableau récapitulatifs des lectures faite sur la solution de MCP

Résultats des lectures d'échantillons Sola) ont été réalisé dès le début de la mise en place de la manipulation. De ces premiers résultats on en conclut que la technique reste encore à améliorer mais donne des résultats cohérents entre eux et plutôt satisfaisants lorsqu'on considère les dernier résultats. Ceux-ci ont bénéficiés d'une meilleure technique d'échantillonnage mais aussi des perfections liées au mcp.

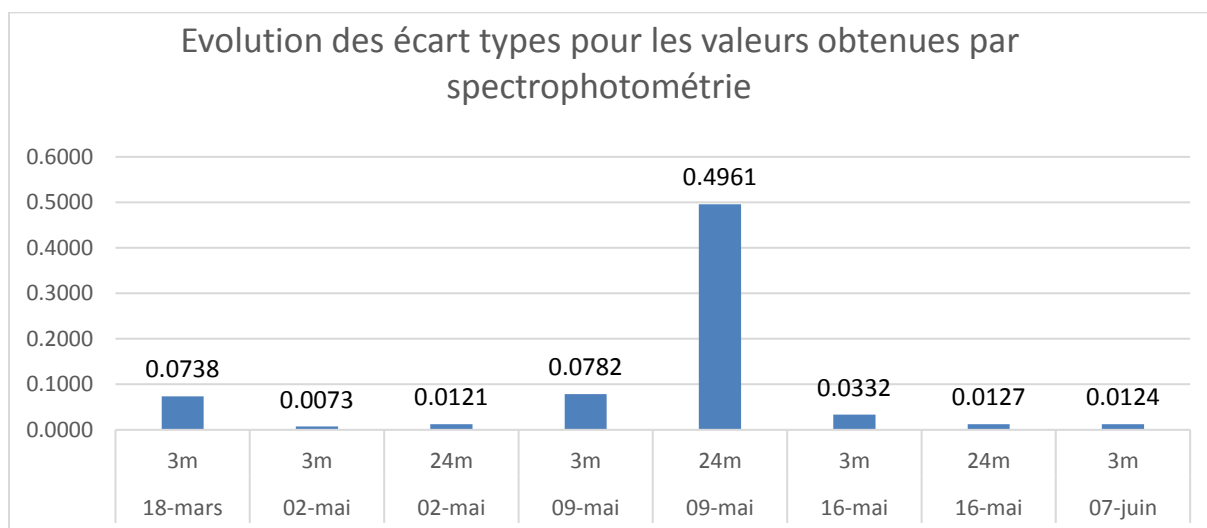


Figure 12 Histogramme des écarts types des valeurs obtenues par spectrophotométrie

Les écarts types semblent se stabiliser autour de 0,01 surtout après abandons des cellules non fonctionnelles. Ceci donne donc une information quant à la qualité des données et de leurs précision. Il est notamment intéressant de comparer ces écarts types avec le graphique représentant les écarts de valeurs entre les méthodes potentiométrique et spectrophotométrique.

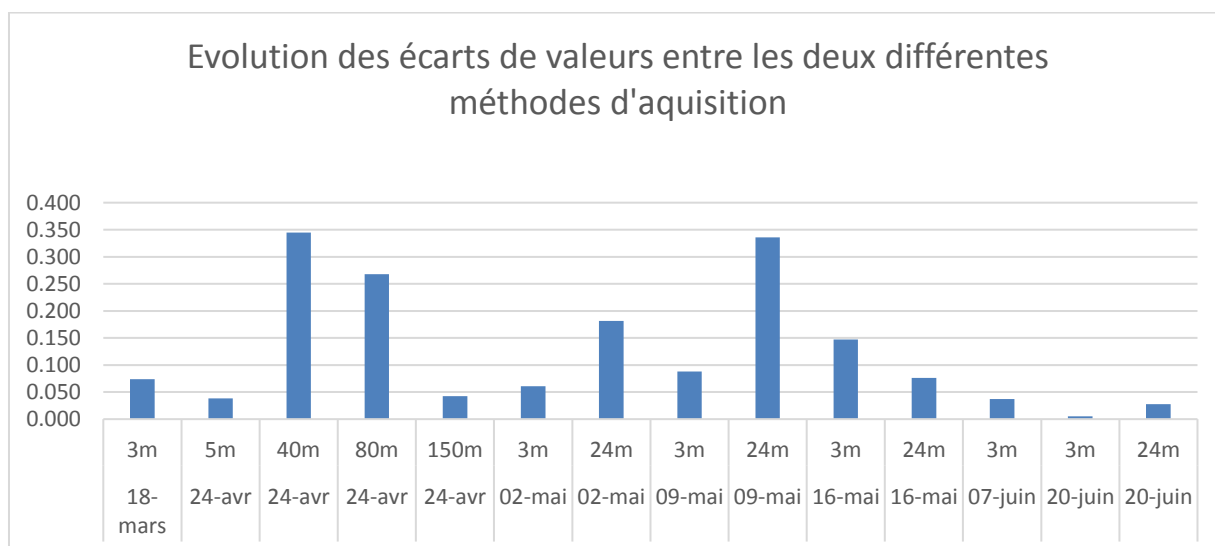


Figure 13 Histogramme des différences entre les deux méthodes d'acquisition

Les données reflètent bien une augmentation de la précision sur les dernières sessions d'analyse. D'ailleurs il est intéressant de d'observer les valeurs pour lesquelles les différences sont élevées. Celles-ci correspondent à des lectures avec des solutions de mCP dont le pH était respectivement de 8,39 et de 8,64 pour les dates du 24/04 et du 09/05. Ces valeurs de pH situées de part et d'autre de la valeur conseillé de 8,45 semblent avoir un impact sur les valeurs. Cependant, il faut garder à l'esprit que si la comparaison avec la méthode potentiométrique est la seule que nous ayons, ce n'est sûrement pas la meilleure puisque en théorie cette technique est moins précise. Le fait que les écarts s'amointrissent sur les dernières analyses, indique néanmoins qu'à l'heure actuelle, la méthode la plus fiable reste encore la potentiométrie.

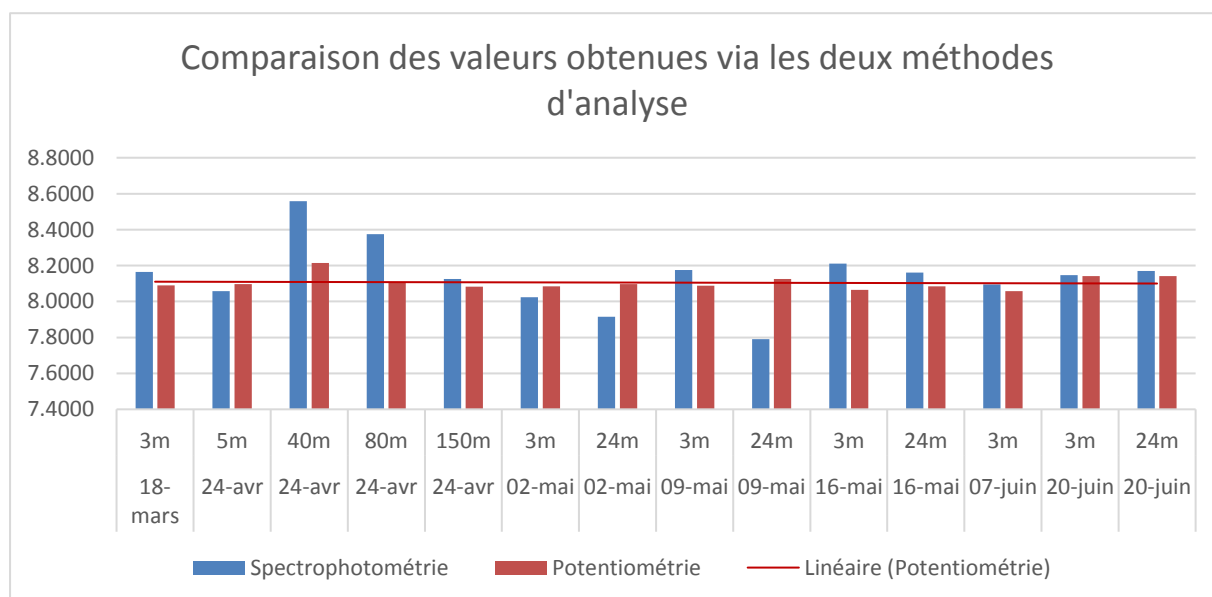


Figure 14 Histogramme des valeurs issues des deux méthodes d'analyses

Comme nous le montre le graphique suivant la moyenne des valeurs issue des analyses potentiométrique est relativement stable. Un contraste évident est constaté avec les valeurs issues de la spectrophotométrie confirmant donc l'hypothèse précédemment émise.

Il reste donc à poursuivre la phase de test tout en se dotant du matériel adéquat afin de déterminer l'influence des erreurs liées au mCP, mais également aux instruments utilisés.

Conclusion

La mise en place de ce protocole, loin d'être évident, fut un réel défi. Celui-ci a partiellement été relevé, les prélèvements et analyses ont bien pu être mis en place. En revanche au regard de la qualité des mesures, la méthode potentiométrique ne peut être abandonnée. A l'heure où sont écrites ces lignes, la méthode spectrophotométrique pêche quant à l'irrégularité de ces résultats. Une fiabilité insuffisante au vu des contraintes strictes en termes de qualité et précision exigé par la charte du label SOMLIT. Les causes ont pu être appréhendées et définies.

Premièrement, le manque de matériel a contraint bon nombre d'exigences prescrites par le protocole. Une longue phase d'adaptation fut nécessaire afin de résoudre ces difficultés. Tant bien que mal, on a vu que des adaptations étaient possibles qui de plus produisaient des résultats cohérents mais perfectibles. A titre d'exemple, certaines exigences liées à la température de l'échantillon ont pu être palliées.

De plus cette étude a permis de dégager certaines lacunes dudit protocole notamment en ce qui concerne la solution de mCP et son pH (différence entre le ratio, la valeur attendue de pH, et celui de l'échantillon). Un problème qu'il sera intéressant de soulever lors des rencontres SOMLIT à venir. Mais pour ce faire, une étude plus poussée sera nécessaire afin de déterminer l'influence réelle de ce paramètre dans le calcul final du pH. De plus la méthode spectrophotométrique deviendra vite coûteuse du fait de l'utilisation du mCP purifié qui reste très onéreux. Ainsi, la discussion peut être entamée dans le sens comptable et budgétaire de cette analyse.

Enfin, installer un tel protocole au sein de la routine de prélèvements et d'analyses hebdomadaire effectués au sein du service a été accompli. Cependant ce travail chronophage peut soulever quelques problèmes notamment lors des semaines où les sorties Mola sont effectuées. Le temps d'analyse s'en trouve donc restreint et à ce jour, les lectures aux spectrophotomètres ne sont pas réalisées. Un spectrophotomètre adéquat permettrait de gagner un maximum de précision et de temps.

On peut également conclure que la mise en place de cette méthode loin d'être plus précise que la précédente à l'heure actuelle, tendrait à s'améliorer avec un maximum de paramètres corrigés. Et en ce sens le travail ne fait que commencer, puisqu'à terme, le remplacement de la méthode potentiométrique est prévu. Une étude comparative plus poussée serait également nécessaire, afin d'affiner l'analyse. On pourrait par exemple étudier l'influence du temps d'attente entre le prélèvement et l'analyse. Il serait aussi judicieux de pousser plus loin l'étude sur la température des échantillons et de poursuivre l'étude comparative avec la méthode potentiométrique via une série sur le long terme. L'achat d'un matériel adéquat qui est prévu permettra sûrement de réduire significativement les écart-types entre les valeurs des duplicats mais aussi la différence entre les deux méthodes d'acquisition.

En dehors de la mise en place de l'analyse du pH par spectrophotométrie, ce stage m'a surtout permis d'acquérir bon nombre de connaissances et de compétences, et ce, dans de nombreux domaines.

Bien au-delà du travail de chimie en laboratoire, qui vous a été présenté dans ce document, de nombreuses activités liées au travail en mer ainsi qu'aux saisies de données ont été opérées de manière quotidienne. On peut rajouter à titre d'exemple, qu'un apprentissage de l'identification et du comptage du phytoplancton a été entrepris. Ceci afin d'intégrer ce nouveau paramètre au Service d'Observation. Dans le même esprit de formation, l'accent a été mis sur

« instrumentation » qui a abouti à la mise en œuvre de la rosette mais également à l'acquisition des données qui y sont liées.

Ce stage m'a donc permis de développer une certaine autonomie quant au travail en laboratoire et en mer. Pour terminer, j'ai le bonheur et la chance d'avoir obtenu un CDD au sein de ce même service qui permettra de m'épanouir dans ce milieu.

Bibliographie

Publications :

- [1] Daniëla STOICA, Mounir BEN-ACHOUR, Petra SPITZER, Paola FISICARO et Sophie VASLIN-REIMANN, « Mesure du pH de l'eau de mer : un défi d'actualité », *Revue Française de métrologie* n°34, Volume 2014-2
- [2] Abed EL RAHMAN HASSOUN, « Analyse et modélisation de l'acidification en mer méditerranée », *Océan, Atmosphère*, Université de Perpignan Via Domitia, 2014
- [3] CALDEIRA, K et WICKETT M.E., « Oceanography : Anthropogenic carbon and ocean pH », *Nature*, 435, 2003, 365 – 365
- [4] RUFIN-SOLER, C. et J. LABOREL, « Le phénomène du blanchiment et ses conséquences sur les récifs maldiviens », *Annales de géographies*, vol. 653, no. 1, 2007
- [5] Gérard DURAND, « Potentiométrie Mesure du pH ou d'une concentration », *Techniques de l'ingénieur Méthodes électrochimiques*, p2116, 2010
- [6] A.K. COVINGTON et M. WHITFIELD, « Recommendation for the determination of pH in sea water and estuarine waters », IUPAC, 1985
- [7] JE DORE, R LUKAS, DW SADLER, MJ CHURCH et DM KARL, « Physical and biogeochemical modulation of ocean acidification in the central North Pacific », *PNAS*, 2009 Jul 28, 106(30)
- [8] G ROBERT-BALDO, M MORRIS, et R. H. BYRNE « Spectrophotometric determination of seawater pH using phenol red », *Anal. Chem*, 1985, 57, 2567-2567
- [9] R. H. BYRNE, J. A. BRELAND, « High precision multiwavelength pH determinations in seawater using cresol red », *Deep-sea Res. Part A*, 1989, 36, 806-810
- [10] X. LIU, C. MARK, et R. H. BYRNE, « Purification and characterization of meta-cresol Purple for spectrophotometric seawater pH measurements », *Environn. Sci. Technol.*, 2011, 45(11), 4862-4868

Documents :

- [11] T. CARIOU « Mesure du pH par spectrophotométrie », Protocole du SOMLIT, 2016

Web :

- [4] Denis ALLEMAND, « Les coraux et le changement climatique », Centre scientifique de Monaco, www.ocean-climate.org
- [12] Site du SOMLIT, <http://somalit.epoc.u-bordeaux1.fr>
- [13] Site de l'Observatoire Océanologique de Banyuls-sur-Mer, <http://www.php.obs-banyuls.fr/>

Abstract

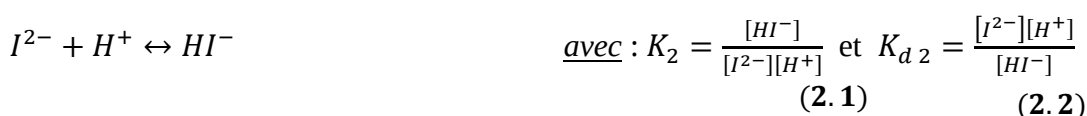
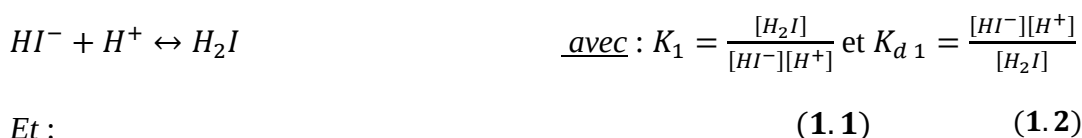
Ce présent document traite de la mise en place d'un protocole au sein de l'Observatoire Océanologique de Banyuls-sur-Mer qui fut ma structure d'accueil pour ce stage de fin d'étude. Au sein du Service d'Observation labellisé SOMLIT, une refonte des analyse liées au potentiel hydrogène est en cour. Celle-ci demande donc d'entamer une phase de test avec une méthode d'analyse du pH par spectrophotométrie. Le principe est liée à l'absorbance d'un indicateur coloré, le m-Crésol Purple. Celui-ci est présent sous plusieurs formes acido basique dont chacune d'entre elles possèdent une absorbance qui lui est propre. Ainsi, un ratio effectué sur des absorbance aux longueurs d'ondes bien défini permet d'obtenir une valeur de pH. Cette méthode est bien plus précise que l'analyse potentiométrique effectué de manière routinière au sein des stations SOMLIT. La mise en place de ce protocole a donc été effectuée s'en est suivi une longue phase d'adaptation au contexte du laboratoire. Les premier résultats bien que cohérent pêchent cependant d'un certain manque de précision, ce qui emmène à des interrogations à propos de certains paramètres.

Mot clefs : potentiel Hydrogène, spectrophotométrie, m-Crésol Purple, SOMLIT,

Annexes

Méthode de calcul du pH (d'après O. Lorenzo)

Il est possible de prévoir les différents équilibres chimiques en fonction des constantes de formation K_f et de dissociation K_d (ici deux puisque nous avons 3 formes) ainsi que de la concentration en produit. Pour le m-crésol pur :



On cherche à établir la loi de Beer Lambert comme : $A = l \sum (\epsilon_i [X]_i)$

Avec : l : la longueur de la cuve

ϵ : le coefficient d'extinction molaire de l'espèce i

$[X]$: la concentration de l'espèce i

Le mCP existant sous trois formes on a donc : $I_{total} = I^{2-} + HI^- + H_2I$

Ainsi de (1.1) on peut exprimer les espèces suivantes $[H_2I] = K_1 [HI^-][H^+]$ (a)

(2.2) $[HI^-] = K_2 [I^{2-}][H^+]$ (b)

En remplaçant (b) dans (a) on obtient :

$$\begin{aligned} [H_2I] &= K_1 [H^+] (K_2 [I^{2-}][H^+]) \\ &= K_1 K_2 [I^{2-}][H^+]^2 \end{aligned}$$

On a donc :

$$[I_{total}] = [I^{2-}] (1 + K_2 [H^+] + K_1 K_2 [H^+]^2)$$

On peut donc reprendre la loi de Beer Lambert telle que :

$$A = l [I^{2-}] (\epsilon_{I^{2-}} + \epsilon_{HI^-} K_2 [H^+] + \epsilon_{H_2I} K_1 K_2 [H^+]^2)$$

En posant :

$$a = \frac{A}{l[I_{total}]} = \frac{l[I^{2-}](\varepsilon_{I^{2-}} + \varepsilon_{HI^-} K_2[H^+] + \varepsilon_{H_2I} K_1 K_2 [H^+]^2)}{l[I^{2-}](1 + K_2[H^+] + K_1 K_2 [H^+]^2)}$$

On obtient : $a = \frac{\varepsilon_{I^{2-}} + \varepsilon_{HI^-} K_2[H^+] + \varepsilon_{H_2I} K_1 K_2 [H^+]^2}{1 + K_2[H^+] + K_1 K_2 [H^+]^2}$

$$\Leftrightarrow a = \frac{\varepsilon_{I^{2-}} + K_2[H^+](\varepsilon_{HI^-} + \varepsilon_{H_2I} K_1 [H^+])}{1 + K_2[H^+](1 + K_1[H^+])} \quad (c)$$

Selon le pH de la solution une forme est plus prédominante que l'autre, à pH faible (donc acide) l'espèce la plus basique, I^{2-} est minoritaire donc K_2 est négligeable, on peut réécrire l'équation (c) comme :

$$a = \frac{\varepsilon_{HI^-} + \varepsilon_{H_2I} K_1 [H^+]}{1 + K_1 [H^+]}$$

A l'inverse, à pH élevé (donc basique) l'espèce la plus acide, H_2I devient minoritaire et donc K_1 devient à son tour négligeable donnant une nouvelle formule :

$$a = \frac{\varepsilon_{I^{2-}} + \varepsilon_{HI^-} K_2 [H^+]}{1 + K_2 [H^+]}$$

Or étant donné le sujet d'étude, les échantillons d'eau de mer se situent dans une gamme de pH allant de 7,4 à 8,4, on peut considérer le milieu comme basique, ainsi, l'équation précédemment trouvée est tout à fait en adéquation.

On constate que dans cette équation, seules deux des espèces apparaissent, ayant chacune une longueur d'onde d'absorbance caractéristique $\lambda_1 = 434nm$ et $\lambda_2 = 578nm$, il est donc logique d'étudier cette expression pour chacune d'elle et d'en faire le rapport tel que :

$$R = \frac{a_{\lambda_2}}{a_{\lambda_1}} = \frac{\frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2) + \varepsilon_{HI^-}(\lambda_2) K_2 [H^+]}{1 + K_2 [H^+]}}{\frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_1) + \varepsilon_{HI^-}(\lambda_1) K_2 [H^+]}{1 + K_2 [H^+]}}$$

$$\Leftrightarrow R = \frac{a_{\lambda_2}}{a_{\lambda_1}} = \frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2) + \varepsilon_{HI^-}(\lambda_2) K_2 [H^+]}{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_1) + \varepsilon_{HI^-}(\lambda_1) K_2 [H^+]} \quad (d)$$

Puisque par définition le $pH = -\log[H^+]$, il nous faut donc retrouver l'expression équivalente à partir de (d)

$$R = \frac{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)} + \varepsilon_{HI^-(\lambda_2)} K_2 [H^+]}{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)} + \varepsilon_{HI^-(\lambda_1)} K_2 [H^+]}$$

$$R \cdot \varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)} + R \cdot \varepsilon_{HI^-(\lambda_1)} K_2 [H^+] = \varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)} + \varepsilon_{HI^-(\lambda_2)} K_2 [H^+]$$

$$\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)} + \varepsilon_{HI^-(\lambda_2)} K_2 [H^+] - R \cdot \varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)} - R \cdot \varepsilon_{HI^-(\lambda_1)} K_2 [H^+] = 0$$

En factorisant par $[H^+]$:

$$\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)} + [H^+] \left(\varepsilon_{HI^-(\lambda_2)} K_2 - R \cdot \varepsilon_{HI^-(\lambda_1)} K_2 \right) - R \cdot \varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)} = 0$$

$$[H^+] = \frac{1}{K_2} \times \frac{R \cdot \varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)} - \varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)}}{\left(\varepsilon_{HI^-(\lambda_2)} - R \cdot \varepsilon_{HI^-(\lambda_1)} \right)}$$

En divisant par $\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)}$:

$$[H^+] = \frac{1}{K_2} \times \frac{R - \frac{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)}}{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)}}}{\left(\frac{\varepsilon_{HI^-(\lambda_2)}}{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)}} - \frac{R \cdot \varepsilon_{HI^-(\lambda_1)}}{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)}} \right)}$$

En passant par le logarithme décimal t :

$$\log(H^+) = \log \left(\frac{1}{K_2} \times \frac{R - \frac{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_2)}}{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)}}}{\left(\frac{\varepsilon_{HI^-(\lambda_2)}}{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)}} - \frac{R \cdot \varepsilon_{HI^-(\lambda_1)}}{\varepsilon_{I^{2-}(\lambda_1)}} \right)} \right)$$

$$\Leftrightarrow \log(H^+) = \log\left(\frac{1}{K_2}\right) + \log\left(\frac{R - \frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_1)}}{\left(\frac{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_2)}{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_1)} - \frac{R \cdot \varepsilon_{HI^-}(\lambda_1)}{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_1)}\right)}\right)$$

En multipliant par -1 et en simplifiant les écritures on obtient finalement :

Avec : $K_{d2} = \frac{1}{K_2}$

$$\log(a \times b) = \log(a) + \log(b)$$

$$\log\left(\frac{a}{b}\right) = \log(a) - \log(b)$$

$$\log\left(\frac{1}{a}\right) = -\log(a):$$

$$-\log[H^+] = -\log\left(K_{d2} \frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_1)}\right) + \log\left(\frac{R - \frac{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_2)}{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_1)}}{1 - R \frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_1)}}\right)$$

Soit :

$$pH = -\log[H^+] = -\log\left(K_{d2} \frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_1)}\right) + \log\left(\frac{R - \frac{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_2)}{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_1)}}{1 - R \frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_1)}}\right)$$

Avec : $R = \frac{A_{578}}{A_{434}}$ pour m-crésol purple

K_{d2} : constante de dissociation du HI^-

$\frac{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_2)}{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_1)} ; \frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_1)} ; \frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_1)}$: le rapport des coefficients d'extinction molaires de chaque espèce aux deux longueurs d'ondes étudiées.

Ainsi, en découle une fonction pour le calcul de pH se basant sur cette équation telle que :

$$-\log\left(K_{d2} \frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_1)}\right) = a + \frac{b}{T} + c \ln(T) - dT$$

Et :

$$\frac{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_2)}{\varepsilon_{HI^-}(\lambda_1)} = -0,007762 + 4,5174 \cdot 10^{-5}T$$

$$\frac{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\varepsilon_{I^{2-}}(\lambda_1)} = -0,020813 + 2,60262 \cdot 10^{-4}T + 1,0436 \cdot 10^{-4}(S - 35)$$

Avec :

$$a = -246,64209 + 0,315971S + 2,8855 \cdot 10 - 4S^2$$

$$b = 7229,23864 - 7,098137S$$

$$c = 44,493382 - 0,052711S$$

$$d = 0,0781344$$

$$S = \text{la salinité en PSS 78 comprise entre } 20 \leq S \leq 40$$

(Practical Salinity Scale 1978 : échelle de salinité recommandée par les organisations océanographiques)

T = la température en kelvin comprise entre $278,15 \leq T \leq 308,15$

Résultats des lectures de mCP au spectrophotomètre

	pH	Lecture fait le	A ₅₇₈	A ₄₃₄	A ₅₇₈ moyenne	A ₄₃₄ moyenne	Ratio A ₅₇₈ /A ₄₃₄ 5
		13/04/2017	0,4946	2,866	0,49588	2,85396	0,1738
			0,49716	2,84192			
		14/04/2017	0,3768	2,8757	0,37545	2,87695	0,1305
			0,3741	2,8782			
		18/04/2017	0,48697	3,0448	0,48697	3,03795	0,1603
			0,48697	3,0311			
	pH = 6,253	24/04/2017	0,42434	3,011174	0,42163	3,000859 45	0,1405
			0,41892	2,9905449			
	pH = 8,392	24/04/2017	2,956402	2,926758	2,94329 3	2,914158 5	1,0100
			2,930184	2,901559			
	pH = 8,419	02/05/2017	3,055567	2,986068	3,06251 25	2,986194	1,0255 571
			3,069458	2,98632			
		05/05/2017	0,381335	2,797457	0,38376 65	2,798084 5	0,1371 533
			0,386198	2,798712			
	pH= 8, 488	05/05/2017	2,89059	2,822723	2,89607 7	2,830962	1,0230 01
			2,901564	2,839201			
	pH=8,699	09/05/2017	2,91332	2,840914	2,91974 6	2,844665	1,0263 936
	pH=8,6433		2,926172	2,848416			
	pH=8,54	19/05/2017	3,102593	3,0215	3,09681 3	3,007988	1,0295 297
			3,091033	2,994476			
Ajustement de la solution de mCP avec le pH							
	pH=8,43	07/06/2017	2,920785	2,83454	2,93957 8	2,795045	1,0517 104
			2,958371	2,75555			
	pH=8,50	22/06/2017	2,986472	2,80658			1,0640 965

Figure 15 Tableau récapitulatifs des lectures faite sur la solution de MCP

Résultats des lectures d'échantillons Sola

Date	ID	Type d'analyse et commentaires	Température		Salinité	Absorbance			Correction sol de mCP				Calculs pour la formule du pH				Moyennecart type	pHpar potentiométrie	#potentiométriques spectro
			°C	K		434nm	578nm	720nm	A578-A5	A434-A43	A578/A4	34	$-\log\left(\frac{D_{434}}{t_{434}}\right)$	$\frac{E_{434}^*E_{578}}{E_{434}^*E_{720}}$	$\frac{E_{578}^*E_{720}}{E_{434}^*E_{720}}$	$pH = -\log(37) = -\log\left(\frac{E_{434}}{E_{578}}\right) + \log\left(\frac{E_{578}}{E_{720}}\right) + \log\left(\frac{E_{720}}{1-E_{720}}\right)$			
18-mars	ST0308 3m	Analyse test	22.8	296	37.6269	0.01956	0.04175	0.00069	0.044028	0.0085	2.2686		7.6738	0.0066	0.0665	8.077			0.074
18-mars	ST0308 3m	Analyse test	22.5	295.7	37.6269	0.007828	0.022982	0.00069	0.022233	0.0071	3.1227		7.6777	0.0066	0.0664	8.286			0.074
18-mars	ST0308 3m	Analyse test	22.7	296.3	37.6269	0.003888	0.034349	0.0014	0.032945	0.0023	2.6818		7.6751	0.0066	0.0665	8.174			0.074
18-mars	ST0308 3m	Analyse test	23.1	296.3	37.6269	0.005331	0.036332	0.00205	0.034281	0.0033	2.5814		7.6699	0.0066	0.0666	8.149			0.074
24-avr	MT0424 5m	Analyse test	24.2	297.4	37.363	0.007033	0.04426	-0.0038	0.0446042	0.0208	2.2701		7.6653	0.0067	0.0669	8.057			0.039
24-avr	MT0424 40m	Analyse test	24.7	297.9	38.001	0.00863	0.02334	0.00433	0.025012	0.0045	5.5586		7.6488	0.0067	0.0670	8.058			0.344
24-avr	MT0424 80m	Analyse test	25.4	298.6	38.2838	0.06219	0.05561	0.0037	0.058888	0.0025	4.1457		7.6396	0.0067	0.0672	8.374			0.268
24-avr	MT0424 150m	Analyse test	24.6	297.8	38.2503	0.004333	0.020884	-0.0052	0.023866	0.001	2.5545		7.6499	0.0067	0.0670	8.125			0.043
02-mai	ST0602 3m		21.3	294.5	37.9081	0.005003	0.065206	0.00265	0.062657	0.0234	13.336		7.6933	0.0065	0.0661	8.028			0.061
02-mai	ST0602 3m		21.2	294.4	37.9081	0.026262	0.058887	0.00309	0.055766	0.0295	1.8881		7.6946	0.0065	0.0661	8.08			0.084
02-mai	ST0602 24m		22.6	295.8	38.0035	0.046105	0.065692	0.0141	0.05551	0.0320	16.051		7.6761	0.0066	0.0665	7.923			0.182
02-mai	ST0602 24m		21.1	294.3	38.0035	0.051071	0.065667	0.01439	0.055181	0.0370	14.920		7.6968	0.0065	0.0661	7.906			
09-mai	ST0609 3m	température pièce 23°C	20.8	294	37.6224	0.01894	0.022727	0.00069	0.023204	0.012	2.3599		7.7000	0.0065	0.0660	8.231			0.088
09-mai	ST0609 3m		20.9	294.1	37.6224	0.08823	0.045316	-0.0018	0.044706	0.0204	2.3064		7.6987	0.0065	0.0660	8.121			
09-mai	ST0609 24m		21	294.2	37.6432	0.026042	0.064233	-0.001	0.065321	0.0271	2.4077		7.6974	0.0065	0.0660	8.141			0.336
09-mai	ST0609 24m	cellule fêlée	21.2	294.4	37.6432	0.004242	0.00806	-0.001	0.002905	0.0053	0.5439		7.6947	0.0065	0.0661	7.493			
16-mai	ST0616 3m	mesure faite 3 jour après	23	296.2	37.6269	0.025851	0.062069	0.00546	0.056598	0.0204	2.7736		7.6712	0.0066	0.0665	8.188			0.147
16-mai	ST0616 3m	mesure faite 3 jour après	23	296.2	37.6269	0.02875	0.079922	0.00413	0.074792	0.0246	3.0379		7.6712	0.0066	0.0665	8.235			
16-mai	ST0616 24m	mesure faite 3 jour après	23	296.2	37.6269	0.020718	0.068278	0.00052	0.065788	0.0208	2.6808		7.6712	0.0066	0.0665	8.170			0.076
16-mai	ST0616 24m	mesure faite 3 jour après	23	296.2	37.6269	0.020806	0.052676	0.00042	0.052238	0.0202	2.5886		7.6712	0.0066	0.0665	8.162			
07-jun	ST0607 3m	tendemain de la sortie	22.9	296.1	37.7839	0.020082	0.062895	-0.0068	0.058707	0.0259	2.2672		7.6724	0.0066	0.0665	8.086			0.027
07-jun	ST0607 3m		22.9	296.1	37.7839	0.06613	0.047309	-0.0068	0.053103	0.0226	2.3484		7.6724	0.0066	0.0665	8.104			0.027
07-jun	ST0607 24m	échantillon cassé			37.9812				0	0.0000									
07-jun	ST0607 24m	cellule fêlée (mesure impossible)			37.9812				0	0.0000									
20-jun	ST0620 3m	température pièce 25°C	24.9	298.1	37.9189	0.007313	0.046806	0.00089	0.045717	0.0170	2.6854		7.6462	0.0067	0.0671	8.147			0.005
20-jun	ST0620 24m	température pièce 25°C	24.9	298.1	38.1954	0.01877	0.034072	-0.0004	0.034499	0.0023	2.8036		7.6460	0.0067	0.0671	8.139			0.028

Figure 16 Tableau récapitulatif des travaux effectuées sur les échantillons