

CROISIÈRES "MATIÈRES ORGANIQUES" : PROTEINES, HYDRATES DE CARBONE, LIPIDES PARTICULAIRES ET AMINES PRIMAIRES DISSOUTES

Ch. VAN BEVEREN

La matière organique présente dans l'eau de mer est communément divisée en fraction particulaire et dissoute. La taille de ces deux fractions obtenues par filtration dépend de la porosité du filtre utilisé. L'analyse chimique de la matière organique particulaire exige l'emploi de filtres inertes vis à vis des réactifs employés ce qui porte le choix sur des filtres en fibres de verre GF/C qui arrêtent les particules de taille supérieure à 1µ.

A) Matières organiques particulières

Elles comprennent des organismes vivants (phytoplancton, bactéries et parfois microzooplancton) et des matières détritiques biogènes et terrigènes s'il s'agit d'eaux côtières.

Paramètres mesurés :

Protéines, hydrates de carbone, lipides : paramètres caractéristiques du stock total de matières organiques.

Chl.a et phaeo.a : paramètres caractéristiques du phytoplancton

Processus expérimental :

L'eau de mer prélevée est filtrée sur filtre GF/C prétraité (2 h à 500°C et conservés stérilement) à raison d'un filtre par métabolite mesuré. La quantité filtrée varie de 0.5 à 2 l selon le milieu prélevé. Chaque filtre est conservé au deep-freezer séparément dans des boîtes millipore jusqu'au moment de l'analyse.

Afin d'éviter toute contamination, les filtres sont manipulés à l'aide de pinces millipore. De même la vaisselle utilisée lors de la filtration et ensuite lors de l'analyse est rincée avec HCl 10% et H₂O distillée.

a) Chl.a et phaeo.a

Extraction à l'acétone 90% et mesure spectrophotométrique au maximum d'absorption de la chl.a (λ 663 nm) avant et après acidification (HCl 1N) (Lorenzen 1967)

b) Protéines

Mesure des protéines au réactif de Folin-Cociliateu (Hewitt 1958)

c) Carbohydrates totaux

Adaptation de la méthode de Dubois et alii (1956)

d) Lipides

Extraction des lipides au chloroforme suivie d'une carbonisation à H_2SO_4 concentré. Mesure spectrophotométrique du carbone (March and Weinstein 1966)

Résultats : tableau I

Part du phytoplancton dans le stock total de matières organiques
particulaires :

Il n'existe à l'heure actuelle aucun moyen mécanique de séparation des différentes composantes de la matière organique particulaire. La part du phytoplancton peut être estimée à l'aide de régressions linéaires des mesures du stock total (protéines, hydrates de carbone et lipides) en fonction de la chlorophylle (mesure du phytoplancton seul). Le coefficient angulaire des droites de régression calculées caractérise le phytoplancton. Ces coefficients caractéristiques de chaque période de croissance du phytoplancton ont été calculés précédemment dans la zone 1 Sud et la zone 2 de la baie Sud de la mer du Nord.

Les coefficients caractéristiques de la zone 1 Sud ont été utilisés pour estimer le phytoplancton à Ostende, de la zone 2 pour la Manche.

Résultats : tableau II

B) Matières organiques dissoutes : amines primaires

L'étude du cycle de la matière organique nécessite la connaissance du stock d'azote organique dissous disponible pour les hétérotrophes. La majorité des composés organiques azotés dissous est issue de la dégradation des protéines (\rightarrow polypeptides \rightarrow ac. aminés) ou excrétés directement dans le milieu par les organismes sous forme d'ac. aminés et d'urée. Une partie de ces composés peut se complexer avec des résidus organiques (ac. humiques) ou avec des ions métalliques, ils sont donc peu accessibles aux hétérotrophes.

La mesure des ac. aminés libres, directement assimilables par les

hétérotrophes est techniquement ardue car elle nécessite le désalage et la concentration de plusieurs litres d'eau de mer pour chaque échantillon. Par contre la mesure des amines primaires (protéines, peptides et ac. aminés) à l'aide de la fluorescamine, réactif formant avec les amines primaires des dérivés hautement fluorescents, est rapide, sensible et spécifique (la mesure n'est pas influencée par la présence d'autres formes de l'azote ou de toute autre forme organique). De plus cette méthode a l'avantage de pouvoir être réalisée directement sur un bateau.

Processus expérimental :

50 ml d'eau de mer filtrée sur filtres GF/C prétraités sont directement congelés à bord du bateau. Afin d'éviter toute contamination, l'appareil de filtration et toute la vaisselle utilisée pour le stockage et l'analyse de l'échantillon sont lavés dans HCl 10% et soigneusement rincés.

Réactifs : tampon borate 0.25 M pH9

solution de fluorescamine dans acétone (15mg/100ml)

solution aqueuse de Glycine (13.6µg/ml)

remarque : à concentration égale, les fluorescences relatives des différents ac. aminés sont différentes. Le choix de l'étalon s'est porté sur la glycine, un des ac. aminés les plus abondants des milieux marins.

Mode opératoire : 1 ml d'eau de mer filtrée (1 ml H₂O pour le blanc)

2ml de tampon borate

1ml de fluorescamine et agitation vigoureuse

2ml H₂O distillée

lecture instantanée au fluorimètre $\lambda_{excit.} = 390nm$

$\lambda_{émis.} = 475nm$.

Le background de chaque échantillon est mesuré en suivant le mode opératoire hors-mis l'addition de fluorescamine.

La concentration est déterminée pour chaque échantillon par la méthode des ajouts.

REFERENCES

Dubois, M., K.A. Gilles, S.K. Hamilton, P.A. Rebers & F. Smith
1956. Colorimetric method for determination of sugars and related
substances.

Anal. Chem. 28, 350-356

Hewitt, B.R., 1958

Spectrophotometric determination of protein in alkaline solution
Nature 182, 246

Lorenzen, C.J., 1967

Determination of chlorophyll and phaeopigments : spectrophoto-
metric equations.

Limnol. Oceanogr. 13, 202-204

Marsh, J.B. & Weinstein, 1966

A simple charring method for the determination of lipids.

J. Lip. Res. 7, 574-576

Tableau I : MATIERES ORGANIQUES PARTICULAIRES

Stations	Chl.a µg/l	Phaeo.a µg/l	Proteines µg/l	Hydrat. C µg/l	Lipides µg/l	en C µgC/l	en N µgN/l	C/N (poids)
1° Juillet 1977								
Ostende	12.02	9.48	2693	2167	341	1931	242	8
Hansweert	9.35	9.16	1432	843	170	894	129	6.9
Manche	0.23	0.11	313	285	33	232	28	8.3
2° Octobre 1977								
Ostende	2.60	1.32	525	229	144	357	47	7.6
Hansweert	3.03	1.45	350	349	135	346	31.5	11
Manche	0.44	0.33	171	67	90	145	15	9.4

Tableau II : PART DU PHYTOPLANCTON DANS LE STOCK TOTAL DE MATIERES ORGANIQUES PARTICULAIRES

	carbone $\mu\text{gC}/1$	azote $\mu\text{gN}/1$	C/N (poids)
1° Juillet 1977			
Ostende :			
phytoplancton	1326	149	8.9
bacterio-detritus	605	93	6.5
$\longrightarrow C_{\text{org}} = 69\% \text{ C-phyto.} + 31\% \text{ C-bacterio-detritus}$			
$N_{\text{prot.}} = 62\% \text{ N-phyto.} + 38\% \text{ N-bacterio-detritus}$			
Manche :			
phytoplancton	46	2.4	19
bacterio-detritus	186	26	7.2
$\longrightarrow C_{\text{org.}} = 20\% \text{ C-phyto.} + 80\% \text{ C-bacterio-detritus}$			
$N_{\text{prot.}} = 8\% \text{ N-phyto.} + 92\% \text{ N-bacterio-detritus}$			
2° Octobre 1977			
Ostende :			
phytoplancton	282	32	7.1
bacterio-detritus	76	15	8.7
$\longrightarrow C_{\text{org.}} = 79\% \text{ C-phyto.} + 21\% \text{ C-bacterio-detritus}$			
$N_{\text{prot.}} = 68\% \text{ N-phyto.} + 32\% \text{ N-bacterio-detritus}$			

Tableau III : AMINES PRIMAIRES

Stations	$\mu\text{g.Gly./l}$	$\mu\text{gN/l}$	$\mu\text{mole N/l}$
1° juillet 1977			
Ostende	85	16.15	1.1
Hansweert	165	31.35	2.2
Manche	255	48.45	3.4
2° octobre 1977			
Ostende	286	53	3.8
Hansweert	75	14	1
Manche	145	27	1.9