

Recommandations techniques

*Opérations d'échantillonnage en milieu marin
dans le cadre des programmes de surveillance DCE
(matrices : eau, sédiment et biote)*

Contexte de programmation et de réalisation

Ce guide a été réalisé dans le cadre du programme d'activité AQUAREF pour l'année 2015, thème C «Améliorer les opérations d'échantillonnage» - Action C2a – Guide technique échantillonnage en milieu marin.

Auteurs

Isabelle AMOUROUX (IFREMER)
Didier CLAISSE (IFREMER)

Guide rédigé avec la contribution de

Christophe BRACH-PAPA (IFREMER)
Jean-François CHIFFOLEAU (IFREMER)
Anne GROUHEL (IFREMER)
Véronique LOISEAU (IFREMER)
Catherine MUNSCHY (IFREMER)
Céline TIXIER (IFREMER)

Contact principal

Isabelle AMOUROUX (isabelle.amouroux@ifremer.fr)

Référence du document

AQUAREF - Opérations d'échantillonnage en milieu marin dans le cadre des programmes de surveillance DCE (matrices : eau, sédiment et biote) - Recommandations techniques – Edition 2015

Droits d'usage

Accès public

Avec le soutien de



TABLE DES MATIÈRES

Préambule	4
Introduction.....	5
1 Préparation de la campagne d'échantillonnage.....	6
1.1 Échanges préleveur-laboratoire-commanditaire de l'étude	6
1.2 Lieux d'échantillonnage.....	6
1.3 Taille de l'échantillon.....	7
1.4 Paramètres complémentaires de suivi	7
1.5 Traçabilité documentaire des opérations d'échantillonnage.....	7
2 Prélèvement d'eau.....	8
2.1 Prélèvement destiné à la mesure des métaux	8
2.1.1 Préparation du matériel	8
2.1.1.1 Flaconnage.....	8
2.1.1.2 Matériel de prélèvement.....	8
2.1.1.3 Réactifs	8
2.1.2 Prélèvement	9
2.1.2.1 Prélèvement à la main, directement dans le flaconnage.....	9
2.1.2.2 Prélèvement à la bouteille.....	9
2.1.2.3 Prélèvement à la pompe	10
2.2 Prélèvement destiné à la mesure des contaminants organiques.....	11
2.2.1 Préparation du matériel	11
2.2.2 Prélèvement	11
2.3 Étiquetage des flacons.....	11
2.4 Conservation et transport de l'échantillon.....	12
3 Prélèvement de sédiment.....	12
3.1 Traitement du matériel et du flaconnage.....	12
3.2 Prélèvement.....	13
3.3 Conservation des échantillons et transport.....	14
4 Prélèvement de mollusques marins	15
4.1 Prélèvement.....	15
4.1.1 Espèces et échantillonnage	15
4.1.2 Stockage et pré-traitement	16
4.2 Épuration des coquillages.....	16
4.2.1 Entretien des bacs d'épuration.....	16
5 Documents de référence	17

Préambule

Ce guide regroupe les recommandations techniques d'AQUAREF pour la réalisation des opérations d'échantillonnage dans les programmes de surveillance chimique liés à la Directive Cadre sur l'Eau (DCE). Il peut également être utilisé dans d'autres contextes de surveillance ou de diagnostic des milieux.

Il s'adresse aux organismes d'échantillonnage ainsi qu'aux commanditaires de prestations d'échantillonnage qui pourront utiliser les recommandations techniques d'AQUAREF pour élaborer leurs cahiers des charges.

Il formule différentes recommandations en matière d'opérations d'échantillonnage, basées sur l'état de l'art disponible à la date de rédaction, dont les retours d'expériences et les résultats des études AQUAREF.

Pour les dispositions non indiquées dans ce document, AQUAREF recommande d'utiliser comme référence les normes et guides en vigueur.

Certaines données techniques concernant les substances intégrées récemment dans les programmes de surveillance (arrêté du 7 août 2015), ne sont pas disponibles ou consolidées. Pour ces substances, les recommandations d'AQUAREF dans le présent document sont basées sur les bonnes pratiques génériques et sont susceptibles d'évoluer.

Les codes SANDRE indiqués dans le présent document sont applicables à la date de publication, mais susceptibles d'évolution ultérieure. Il appartient à l'utilisateur de vérifier leur actualisation : <http://www.sandre.eaufrance.fr/Rechercher-une-donnee-d-un-jeu>.

Le présent guide n'a pas de valeur réglementaire. Son utilisation, intégrale ou partielle, est faite sous la seule et entière responsabilité de l'utilisateur.

Dans le cas d'une utilisation liée à une relation contractuelle entre un commanditaire et un prestataire, AQUAREF recommande que le prestataire apporte la preuve de la lecture de ce document et de tout autre document technique de référence attaché au programme de surveillance concerné (attestation de lecture par exemple).

Introduction

La présence des contaminants chimiques dans le milieu marin est le résultat du fond géochimique et des apports qui lui parviennent, par les fleuves, l'atmosphère, les rejets et ruissellement directs, etc. Ils s'y retrouvent après une dilution très importante, sous forme dissoute ou particulaire, à l'état de **traces** et **ultra-traces**, c'est à dire que leur concentration en phase dissoute, par exemple, est de l'ordre de la dizaine de ng.l⁻¹ voire inférieure.

La difficulté est donc de prélever et conditionner des échantillons marins indemnes de toute modification de la contamination initiale (contamination additionnelle ou disparition de composés volatils). Les sources de contamination peuvent être multiples, depuis les moyens de prélèvement eux-mêmes (navire, matériel, flaconnage) jusqu'aux poussières atmosphériques. Le prélèvement de matrices marines en vue de l'analyse chimique requiert donc la mise en œuvre de protocoles et de techniques spécifiques par des personnes formées à ce travail délicat. De plus, ces protocoles et précautions peuvent être différents selon que les échantillons sont destinés au dosage des métaux ou des contaminants organiques.

Toute manipulation est délicate et requiert un maximum d'attention afin d'éviter toute fausse manœuvre compromettant le résultat final (contact entre le flaconnage et des surfaces ou une atmosphère contaminée, chute à terre d'un bouchon, non-fermeture d'un sac, mauvais rinçage, etc.).

Compte tenu des difficultés de collecte d'échantillons valides pour des analyses de traces dans l'eau et de la faible représentativité spatiale et temporelle de ceux-ci, les programmes de surveillance portent souvent sur des matrices dites "intégratrices", organismes et sédiment, qui concentrent les contaminants tout en intégrant sur plusieurs mois (organismes) ou années (sédiment) les variations rapides des masses d'eau. On comprend alors que les prélèvements et analyses de ces matrices seront un peu moins problématiques que pour l'eau. Elles ne permettent cependant pas d'appréhender les substances purement hydrophiles.

Pour disposer de résultats fiables, représentatifs des niveaux de contamination en milieu marin trois aspects complémentaires sont à considérer :

- la stratégie de surveillance, (quelle substance surveille-t-on, quel point de suivi, quelle matrice (sédiment, eau, biote), quelle fréquence, à quelle période, quels paramètres complémentaires ...) ;
- le prélèvement en milieu marin ;
- la technique analytique.

Le présent document s'intéresse aux prélèvements en milieu marin. Il précise les éléments généraux ou transversaux applicables aux différentes matrices d'origine marine et précise les modalités techniques de réalisation des prélèvements pour chacune des matrices considérées : eau, sédiment, et biote (mollusque) en vue d'analyse des contaminants chimiques souvent présents à l'état de traces.

Ce document a ainsi pour objet d'effectuer des recommandations pour la mise en œuvre opérationnelle de la surveillance chimique en vue de répondre aux exigences de la DCE (Directive Cadre sur l'Eau), de la DCSMM (Directive Cadre Stratégie pour le Milieu Marin) ou des conventions internationales (OSPAR ...) ; mais il peut être utile également dans le cadre de tout autre usage visant à connaître les niveaux de contamination en milieu marin (suivi d'un rejet en milieu marin (industriel, agricole, etc.), prélèvement pour analyse en milieu portuaire...).

1 Préparation de la campagne d'échantillonnage

1.1 Échanges préleveur-laboratoire-commanditaire de l'étude

La préparation de la campagne d'échantillonnage doit permettre d'assurer que l'ensemble de la chaîne d'acquisition des données permette d'atteindre les objectifs visés.

Le préleveur doit disposer suffisamment en amont de la campagne des informations relatives aux lieux de surveillance (parfois également appelés stations, points de prélèvement ou points de suivi) où les prélèvements seront effectués, et aux conditions d'échantillonnage (périodes prévisionnelles, conditions de marée,...). Outre les aspects logistiques qui ne seront pas abordés ici, la planification des tournées de prélèvement, faite par le préleveur devra tenir compte, en fonction de la matrice considérée, de l'accès aux points de suivi : coefficient de marée, heure de basse mer et de pleine mer et des conditions de sécurité d'accès aux points.

AQUAREF recommande que la fourniture des éléments nécessitant un traitement spécifique cités ci-dessous soit assurée par le laboratoire en charge des analyses :

- matrice d'eau et/ou sédiments : flacons (nature et volume adaptés) ;
- matrice biote : jerricans traités, bacs d'épuration en plastique blanc ;
- matrice sédiment : flacons ;
- consignes de conditionnement ;
- délais préconisés par le laboratoire (entre l'échantillonnage et la réception au laboratoire) ;
- conditions de chaîne du froid.

Des consignes spécifiques au maniement, au remplissage, au conditionnement, au transport et à l'identification des flacons doivent également être fournies par le laboratoire d'analyses afin de faciliter l'utilisation des flacons.

Le préleveur s'assure de disposer de l'ensemble de l'équipement et des flaconnages nécessaires à la bonne réalisation des prélèvements avant de partir en prélèvement. Il complète les éléments en fournissant le consommable courant (ex : sacs de prélèvements en polyéthylène, gants, glacières, blocs réfrigérés ; éléments d'identification des échantillons (étiquettes, consignes éventuelles)).

1.2 Lieux d'échantillonnage

Lors de sa mission, le préleveur réalise le prélèvement au lieu exact prévu à cet effet (utilisation d'un GPS pour s'assurer du positionnement géographique, exploitation des photos ou informations mises à disposition,...), il relève les coordonnées du point d'échantillonnage avec une précision au 1/10 de minute (projection Lambert 93 ou GPS WGS 84) et les reporte dans la fiche de prélèvement.

Sauf cas de force majeure, l'échantillonnage doit être réalisé au même lieu et dans les mêmes conditions d'échantillonnage (période, coefficient de marée, phase de cycle de marée, profondeur).

Toute modification, même mineure, du point d'échantillonnage doit être discutée en amont avec le gestionnaire et dans tous les cas mentionnée et documentée dans la fiche terrain de prélèvement.

Le préleveur doit systématiquement informer de tout élément sur le lieu d'échantillonnage qui serait susceptible d'impacter les résultats d'analyses (pollutions visibles,...).

1.3 Taille de l'échantillon

Le prélèvement sera fait conformément aux demandes du laboratoire ou du commanditaire de l'étude ; qui spécifie la taille (volume, quantités) des échantillons attendus.

La « taille » de l'échantillon est définie en fonction de critères de représentativité (nombre minimum d'individus pour un échantillon de biote) et pour permettre d'atteindre les limites de quantification souhaitées. A titre d'exemple, un échantillon d'un litre d'eau peut être suffisant pour permettre de suivre les tendances des niveaux de HAP dans certains secteurs contaminés (ports), mais ne sera pas suffisant pour les programmes de suivi au large en milieu marin. En l'absence de précisions de la part du commanditaire de l'étude, la taille de l'échantillon doit être précisée par le laboratoire, et adaptée pour permettre d'atteindre les limites de quantification (LQ) visées.

Les différents cas de figure sont précisés pour chaque catégorie de matrice dans les chapitres 2, 3 et 4.

1.4 Paramètres complémentaires de suivi

En amont de l'échantillonnage et pour adapter celui-ci, la stratégie de surveillance peut définir des paramètres complémentaires nécessaires à acquérir pour permettre d'assurer la qualité des résultats de recherche de contaminants, l'interprétation ou la comparaison des résultats entre eux. Il peut s'agir notamment de mesures *in situ* (et impliquer donc du matériel et des procédures d'acquisition des données), ou la collecte d'échantillons complémentaires (ce qui peut nécessiter également des équipements et du matériel supplémentaires).

Les paramètres physico-chimiques d'une masse d'eau (température, salinité, turbidité, oxygène dissous) sont des paramètres « explicatifs » classiques qui accompagnent les échantillons d'eau afin de caractériser les conditions du milieu au moment du prélèvement. Ils peuvent être utiles à l'interprétation des résultats sur les contaminants chimiques, aussi doivent-ils être mesurés sur site lors de chaque échantillonnage d'eau. Pour ces mesures in-situ, les préleveurs doivent disposer de matériel adapté (précision sur le domaine de mesure), vérifié, étalonné et raccordé aux étalons nationaux. La mise en œuvre est précisée notamment dans un DVD : Technique de prélèvement hydrologique (Aquaref, 2009).

1.5 Traçabilité documentaire des opérations d'échantillonnage

Une fiche de prélèvement terrain est à compléter lors de la mission. Celle-ci comporte au minimum les éléments suivants :

- identification précise et unique du lieu de prélèvement (nom, coordonnées GPS (GPS WGS 84 ou Lambert 93) ;
- nature du programme d'échantillonnage (ex : DCE) ;
- identification du préleveur ;
- date, ou date et heure pour les échantillons d'eau ;
- méthode de prélèvement
- niveau de prélèvement / immersion / profondeur : (ex : surface -1m) ;
- résultats des mesures *in situ* ;
- observations éventuelles utiles pour l'interprétation des résultats.

2 Prélèvement d'eau

Les protocoles et précautions diffèrent selon que les échantillons sont destinés **au dosage des métaux** ou des **contaminants organiques**. Le traitement du flaconnage est un maillon important de la chaîne d'acquisition des données ; ce traitement est du ressort du laboratoire.

2.1 Prélèvement destiné à la mesure des métaux

Les préleveurs devant manipuler le flaconnage doivent porter systématiquement des **gants nitrile (non poudré)**. Le matériel, en contact avec l'échantillon, doit être exempt de métaux. Suivant le contaminant recherché, le flaconnage est en **polyéthylène, polypropylène ou Téflon**.

Pour le dosage du **mercure**, les échantillons doivent être conditionnés uniquement dans des flacons en **Téflon PFA ou FEP** (sauf pour des concentrations supérieures à 5 ng.l^{-1} , pour lesquelles il est possible d'utiliser du verre ou du quartz).

Pour le dosage du **TBT**, les échantillons doivent, quant à eux, être conditionnés dans des flacons en **polycarbonate**.

2.1.1 Préparation du matériel

2.1.1.1 Flaconnage

Le flaconnage destiné aux analyses **du mercure** et des **autres métaux** est préparé par le laboratoire. Les préleveurs reçoivent les flaconnages conservés dans un double sac en polyéthylène. Pour information, les traitements réalisés en amont sur ces flacons sont les suivants :

- Flacons "métaux" : traitement à l'acide nitrique (HNO_3 30%). Les flacons sont ensuite remplis de HNO_3 1°/oo et conservés dans un double sac en polyéthylène.
- Flacons "mercure" : traitement à l'acide nitrique (HNO_3 10%). Les flacons sont ensuite remplis de HCl à 0,5% et conservés dans un double sac en polyéthylène.

Le préleveur veille à maintenir les flacons ainsi conditionnés jusqu'à la réalisation du prélèvement.

2.1.1.2 Matériel de prélèvement

Le préleveur est responsable de la préparation de son matériel de prélèvement.

Le matériel de prélèvement (bouteille, pompe et tuyaux) est en général de grande taille et ne peut être immergé dans des bacs d'acide. Les bouteilles Niskin ou Go-Flo sont remplies d'acide HNO_3 dilué à 10 % pendant 1 à 2 semaines, puis rincées à l'eau fraîchement désionisée. Dans le système complet de pompage, faire circuler de l'eau acidulée (10% acide HCl) pendant plusieurs jours, puis rincer longuement à l'eau fraîchement désionisée. Ces matériels sont conservés humides dans un sac de plastique épais (ne risquant pas d'être déchiré).

2.1.1.3 Réactifs

Les réactifs utilisés pour le nettoyage du matériel sont de qualité type "**pour – analyse**". Les réactifs utilisés pour le conditionnement des flacons et l'acidification des échantillons sont de qualité type "Suprapur".

2.1.2 Prélèvement

Suivant le type d'eau à échantillonner (estuaire, milieu côtier, mer du large), la logistique (embarcation et équipement de prélèvement) requise n'est pas la même. Dans tous les cas, l'objectif est de ne pas modifier la contamination initiale de l'eau à échantillonner, pour cela on prendra soin d'éviter toute contamination qui pourrait être induite par la logistique (i) le prélèvement sera fait en dehors de la zone potentiellement impactée par le bateau ou le matériel de prélèvement, (ii) pendant le prélèvement on évitera de contaminer l'eau par contact avec les parois internes du système de prélèvement ou avec l'atmosphère (contaminée par la présence du navire), (iii) après le prélèvement par le contenant au cours de la phase de stockage pré-analytique.

2.1.2.1 Prélèvement à la main, directement dans le flaconnage

Les prélèvements depuis une embarcation ou depuis un ponton (sur la berge d'un fleuve, dans un port, sur la côte) sont réalisés en sub-surface avec peu de matériel. Le prélèvement s'effectue directement avec le flacon destiné à l'analyse, évitant ainsi les manipulations intermédiaires. Les bras de l'agent préleveur sont protégés par des gants manchettes en polyéthylène, et le prélèvement s'effectue en plongeant le flacon sous la surface, le plus loin possible du support nautique ou du ponton. Une canne à prélèvement peut également être utilisée. Depuis une embarcation, on prélève "au vent" à l'avant du bateau, celui-ci étant orienté à contre-courant et moteur arrêté.

Lorsque le flacon de prélèvement a été conditionné rempli d'eau acidulée, il est vidé (dans un bidon prévu à cet effet) juste avant le prélèvement. Plonger le flacon sous la surface, puis l'ouvrir. Le prélèvement est toujours effectué à au-moins quelques dizaines de centimètres sous la surface (30 cm minimum si possible) pour ne pas échantillonner le film lipidique à l'interface eau-atmosphère, enrichi en contaminants atmosphériques et peu représentatif de la colonne d'eau sous-jacente. Le refermer sous la surface, le sortir de l'eau, l'agiter et le vider comme précédemment. Recommencer cette procédure de rinçage deux fois. Remplir le flacon complètement (sans bulle d'air), le refermer, puis l'emballer dès sa sortie de l'eau dans 2 sacs de polyéthylène (ou polypropylène) fermés individuellement. Conserver le flacon ainsi conditionné à l'obscurité et à faible température pour éviter la prolifération d'espèces indésirables, bactériennes ou planctoniques pouvant créer des réactions chimiques pouvant modifier la composition de l'échantillon.

2.1.2.2 Prélèvement à la bouteille

Il est effectué depuis un pont ou depuis une embarcation. Cette technique est la seule utilisable pour échantillonner à des profondeurs supérieures au domaine d'action des pompes (en général plus de 200 m).

Il existe plusieurs types de bouteille à prélèvement, parmi lesquelles les bouteilles **Go-Flo** (fig. 1). Ce sont des tubes en PVC dont la surface intérieure est recouverte de Téflon, et qui s'ouvrent aux deux extrémités. La bouteille Niskin n'est pas souhaitable pour la mesure de métaux-traces, car son système de fermeture comporte un élastique interne en caoutchouc, qui ne supporte pas le traitement acide nécessaire à sa décontamination. De plus, cette bouteille ne peut être envoyée qu'ouverte, avec risque de récupérer sur ses parois internes un peu de la couche lipidique de surface. La bouteille Go-Flo est idéale pour les prélèvements en profondeur. Son élastique de fermeture est externe. Tout l'intérieur est constitué de matière plastique et recouvert de Téflon. Elle est prévue pour être envoyée fermée et s'ouvrir à une profondeur de l'ordre de 10 m sous la pression de la colonne d'eau, à partir de laquelle elle est toujours remplie. Elle peut donc échantillonner à toutes profondeurs sans risquer de s'écraser sous la pression. Elle se ferme à la profondeur souhaitée par

l'intermédiaire d'un messenger (en acier INOX + Téflon) envoyé depuis la surface. Le câble support peut-être en Kevlar ou en acier INOX. Par contre, pour les prélèvements de surface, la bouteille Go-Flo a pour inconvénient d'être très haute (de 0,80 m à 1 m) et donc un prélèvement intègre une hauteur de colonne d'eau du même ordre, ce qui nuit à la résolution d'un profil vertical peu profond. Il existe des bouteilles de petit volume (de type **Merkos**, fig. 2), élaborées entièrement en Téflon. Elles sont envoyées vides et fermées, et ne s'ouvrent à l'extrémité supérieure qu'à la profondeur du prélèvement, par le déclenchement d'un messenger. Elles sont donc intéressantes pour les faibles profondeurs mais ne peuvent être utilisées pour les prélèvements profonds du fait de l'écrasement sous la pression.

Toutes les manipulations ont lieu avec des gants nitrile (non poudré). La bouteille à prélèvement et le messenger sont conservés dans des sacs de polyéthylène jusqu'au prélèvement. Sortir la bouteille de son sac pour la fixer au câble. Sortir le messenger de son sac, le fixer sur le câble. Eloigner ensuite le câble de la coque du bateau en retenant le messenger, puis filer le câble jusqu'à la profondeur désirée, et envoyer le messenger. Remonter alors la bouteille, désormais fermée. Décrocher la bouteille, récupérer le messenger et le conserver dans son sac jusqu'au prélèvement suivant. De la bouteille à prélèvement, soutirer l'eau, chaque flacon doit être rincé au moins trois fois avec l'eau prélevée, avant d'être complété pour constituer l'échantillon d'eau qui sera transmis pour analyse. Remettre la bouteille dans son sac en polyéthylène.



Figure 1 : Bouteille à prélèvement Go-Flo (General Oceanics, USA).



Figure 2 : Bouteille à prélèvement Merkos (Hydro-bios, Allemagne).



Figure 3 : Pompe à piston en téflon (Asti, France).

2.1.2.3 Prélèvement à la pompe

Ce type de prélèvement nécessite plus de matériel, mais permet le prélèvement de grands volumes et, surtout, une meilleure maîtrise de la contamination. Le système (pompe et tuyaux) est entièrement en Téflon. On utilise une pompe à piston en téflon pneumatique (type **ASTI**[®], fig. 3) actionnée par une pression de gaz extérieure à son corps. L'extrémité amont de la pompe est plongée sous la surface de l'eau. La plus grande attention doit être portée à l'aval de la pompe, pour éviter toute contamination excessive de l'échantillon, notamment l'atmosphère contaminée du navire. De grandes quantités d'eau peuvent être prélevées en un temps assez bref (une dizaine de litres en quelques minutes), suivant le débit de la pompe et la perte de charge dans les tuyaux.

2.2 Prélèvement destiné à la mesure des contaminants organiques

2.2.1 Préparation du matériel

Tout le matériel de prélèvement, de traitement et de manipulation est en Téflon, en acier inoxydable ou en verre.

Le nettoyage du matériel est effectué en utilisant de l'eau et du détergent, puis en rinçant abondamment avec de l'eau de qualité type MilliQ-UV, des alcools ou d'autres solvants organiques.

Après traitement approprié par le laboratoire, le flaconnage en verre (passé au four à 450°C) est conservé enveloppé dans du papier aluminium, passé également au four à 450°C. Il est conservé ainsi jusqu'au prélèvement.

Des gants nitrile (non poudré) sont utilisés par le préleveur pour toutes les manipulations, afin d'éviter le contact direct avec le matériel utilisé.

Le matériel de prélèvement, de la responsabilité du préleveur inclut : une pompe et des tuyaux de prélèvement en Téflon (ASTI, France), une bouteille d'air comprimé, un manomètre, des tuyaux pour la connexion manomètre/pompe. La pompe et les tuyaux en Téflon sont nettoyés en faisant circuler successivement de l'eau Milli-Ro, une solution d'acide chlorhydrique (10 %), de l'eau type MilliQ-UV, de l'alcool (méthanol, éthanol) et encore une fois de l'eau type MilliQ-UV.

2.2.2 Prélèvement

L'équipement utilisé pour le prélèvement d'échantillons d'eau de mer pour les analyses des contaminants organiques doit être constitué de matériaux appropriés et doit permettre la collecte de grands volumes. Selon les besoins, l'échantillonnage peut être réalisé par pompage ou à l'aide d'une bouteille à prélèvement en inox. **Les échantillons sont collectés dans des récipients en inox ou dans des bonbonnes en verre d'environ 25 litres.**

Le **volume d'eau** à prélever sera défini en fonction de la limite de détection ou de quantification recherchée pour chaque substance ou groupe de substances. Le volume de l'échantillon varie en fonction du domaine marin étudié, des contaminants recherchés et de la technique analytique utilisée. Les volumes d'eau extraits pour les analyses des contaminants dissous varient entre environ 15 litres (domaine estuarien amont) et plus de 200 litres (domaine marin au large). Le mode opératoire est adapté pour mener à bien la filtration et l'extraction de ces grands volumes d'eau.

Les prélèvements de sub-surface, et jusqu'à une profondeur d'environ 140 m, sont effectués par pompage au moyen de pompes en Téflon fonctionnant à l'air comprimé. Pour bien équilibrer le système avec l'eau de l'échantillon, le pompage est effectué pendant une dizaine de minutes avant le prélèvement effectif. Les récipients sont ensuite abondamment rincés (au moins 3 fois) avec l'échantillon avant de commencer le prélèvement proprement dit. Pendant les étapes de rinçage du système et pendant le prélèvement des échantillons de sub-surface, le tuyau est tenu éloigné de la coque du bateau.

2.3 Étiquetage des flacons

L'étiquetage doit être réalisé à l'aide d'une étiquette stable et ineffaçable. Les feutres et les marqueurs contenant des solvants sont à proscrire afin d'éviter toute contamination de l'échantillon.

L'étiquetage doit assurer la traçabilité précise de l'échantillon.

Les informations principales à mentionner sont :

- la station concernée ou un code permettant d'identifier la station,
- la date et l'heure d'échantillonnage.

2.4 Conservation et transport de l'échantillon

Les flacons doivent être transférés rapidement au laboratoire, ils doivent être maintenus à l'obscurité et transportés au frais, dans une enceinte ayant la capacité de maintenir une température de transport des échantillons de $5^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$. La température interne de l'enceinte peut être contrôlée et enregistrée durant le transport, *a minima* elle doit être contrôlée et enregistrée à l'arrivée au laboratoire.

La prise en charge des échantillons par le laboratoire d'analyses, incluant les premières étapes analytiques permettant de limiter ou arrêter l'évolution du paramètre considéré (filtration, et/ou stabilisation et/ou extraction,...) doit intervenir au plus tard le lendemain de l'opération d'échantillonnage. Une tolérance d'un jour supplémentaire peut toutefois être acceptée si l'analyse de paramètres particulièrement sensibles (exemple : composés organiques volatils) n'est pas demandée.

3 Prélèvement de sédiment

La capacité des sédiments à adsorber les contaminants présents dans le milieu dépend de certaines caractéristiques dont les principales sont la finesse des particules (exprimée par la granulométrie), la teneur en carbone organique, en carbonates, en aluminium, etc. Aussi, les échantillons à collecter sont composés en priorité des sédiments fins (vase ou vase sableuse). Suivant la stratégie définie, il pourra être demandé de prélever sur chaque façade maritime quelques échantillons à granulométrie grossière (sable) à des fins de comparaison des résultats.

En matière de surveillance, l'échantillonnage concerne la couche sédimentaire superficielle, **généralement le premier centimètre**. Il convient d'utiliser un engin de prélèvement qui préserve la structure sédimentaire, sans mélanger les couches. Il existe de nombreux matériels répondant à cette exigence, en particulier les carottiers-boîtes ou tubes. L'usage de bennes (par exemple de type Schipek) est à proscrire car ce matériel mélange irrémédiablement les couches sédimentaires. Selon le contexte du prélèvement, en particulier la profondeur, différents engins pourront être utilisés. Par contre, le flaconnage et le matériel de sous-échantillonnage sera toujours le même.

3.1 Traitement du matériel et du flaconnage

Le matériel est traité et conditionné de façon appropriée par le laboratoire. Le préleveur veille à la bonne utilisation de celui-ci qui est spécifique aux objectifs analytiques (tableau ci-dessous).

Type de matériel	Objectif analytique	Conditionnement
Piluliers en polystyrène cristal	Métaux	Mise en sacs polyéthylène.
Spatules en polyéthylène ou Téflon		Les spatules sont rangées individuellement en sac polyéthylène.
Autres piluliers en polystyrène cristal	Granulométrie	Les piluliers sont neufs et ne servent qu'une fois. Pour éviter les confusions sur le terrain, les bouchons de ces piluliers sont d'une couleur différente de ceux des métaux.

Type de matériel	Objectif analytique	Conditionnement
Piluliers en polystyrène cristal 40 ml	Densité % H ₂ O	Tarage au 1/10ème de milligramme, par le préleveur. Ils doivent être tarés SANS les bouchons, étiquette collée. La tare doit être inscrite sur l'étiquette.
Bocaux en verre Spatules inox Feuilles d'aluminium	Contaminants organiques Carbonates Carbone organique	Les bocaux sont transmis calcinés, fermés avec une feuille d'aluminium calcinée. Ils sont fournis au préleveur, emballés dans du papier aluminium. Les couvercles des bocaux, sont transmis emballés dans du papier aluminium non calciné. Les spatules calcinées sont transmises dans une feuille d'aluminium calcinée, individuellement.

3.2 Prélèvement

Sur **zone découvrante**, les prélèvements pourront être faits à marée basse, à pied sur l'estran et directement avec les spatules.

Par des **fonds inférieurs à 3 mètres**, une **benne de type Ekman** (qui est en fait un carottier boîte) peut être utilisée avec son manche et une embarcation légère (fig. 4). Dans ce cas, le moteur devra être arrêté lors des opérations de prélèvement et de conditionnement. De plus, la proximité des nourrices de carburant ou autre source de contamination oblige à prendre certaines précautions : entre chaque utilisation la benne devra être enfilée dans un grand sac en polyéthylène ; les flacons également maintenus dans les sacs en polyéthylène, sont conservés dans un bac muni d'un couvercle fermé.

Par **fonds de plus de 3 mètres**, il est nécessaire d'utiliser un navire hauturier capable de mettre à l'eau un **carottier-boîte** (par exemple de type Reineck, fig. 5). Les machines ne pouvant être stoppées sur station, prendre soin à ce que les échappements ne soient pas rabattus sur les lieux de travail.

Le port des gants en nitrile (non poudré) est obligatoire lors des opérations de manipulation des échantillons. Ne pas manipuler la benne ou le carottier avec les gants qui serviront à manipuler le flaconnage. Les gants doivent être changés pour chaque prélèvement.



Figure 4 : Prélèvement du premier centimètre superficiel d'une carotte obtenue à l'aide d'une benne de type Ekman sur embarcation légère.



Figure 5 : Mise à l'eau d'un carottier-boîte de type Micro-Reineck sur navire hauturier.

Dans tous les cas le prélèvement est effectué dans la couche superficielle du sédiment, **approximativement le premier centimètre**. On choisira de préférence du sédiment fin (plus de 20% de particules < 63 µm) contenant une fraction organique ou argileuse significative. Le sédiment destiné à la mesure de la granulométrie et de la teneur en eau doit être prélevé dans la partie la plus périphérique de la carotte, qui a été en contact avec les parois de la boîte. Le matériel destiné à l'analyse des métaux doit être prélevé dans la partie centrale. Enfin, la partie intermédiaire doit être prélevée pour l'analyse des contaminants organiques (figure 6).

Carotte vue du dessus

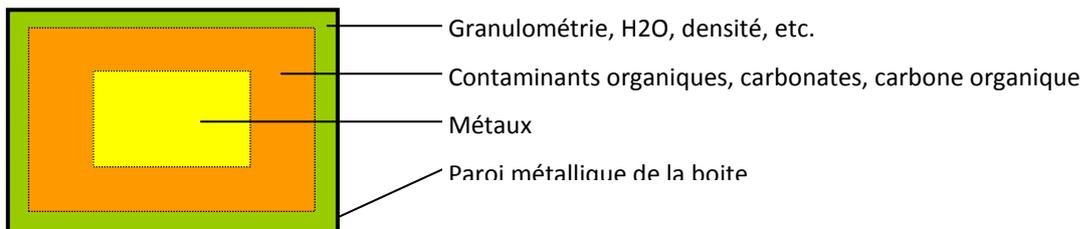


Figure 6 : localisation des sous échantillonnages dans la carotte pour les différents paramètres

Pour les **contaminants organiques**, la couche superficielle est prélevée à l'aide d'une **spatule en acier inoxydable calcinée**. L'échantillon est conditionné en **bocaux de verre calcinés** (§ 3.1.). Après chaque prélèvement, la spatule est rincée avec du méthanol et enveloppée dans une feuille d'aluminium calcinée.

Pour les **métaux**, la couche superficielle est prélevée à l'aide d'une **spatule en polyéthylène, polypropylène, ou Téflon** (fig. 6), et conditionnée dans un **pilulier en polystyrène cristal traité** (§ 3.1.). Le pilulier est emballé individuellement dans un sac polyéthylène fermé par un lien ou un nœud. Après chaque prélèvement, la spatule est rincée avec de l'eau milli-Q et rangée individuellement dans un sachet en polyéthylène neuf. Les spatules ne doivent jamais être manipulées sans gant.

3.3 Conservation des échantillons et transport

Le transport initial des échantillons de sédiments du point de prélèvement au local du préleveur ou de l'analyste, s'effectue dans une enceinte ayant la capacité de maintenir une température de 5±3°C.

Les piluliers et bocaux destinés à l'analyse des métaux et contaminants organiques sont congelés à -20°C dans les meilleurs délais en attendant l'analyse.

Les autres piluliers destinés aux mesures de granulométrie, H₂O, éventuellement densité sont conservés au réfrigérateur jusqu'à l'analyse. Le transport s'effectue en caisse isotherme avec des blocs de froid qui ne doivent jamais être en contact direct avec les piluliers. Ils ne doivent jamais être congelés car cela pourrait induire des modifications de granulométrie.

4 Prélèvement de mollusques marins

4.1 Prélèvement

4.1.1 Espèces et échantillonnage

Les espèces modèles recommandées par les conventions internationales (OSPAR...) sont les moules (*Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*) en premier choix et les huîtres (*Crassostrea gigas*) en second choix. Le protocole est applicable également aux autres bivalves (palourdes, coques, etc.). D'autres protocoles (espèces, période d'échantillonnage, traitement des échantillons) sont à appliquer à des fins sanitaires.

L'échantillonnage aura lieu à la fin de l'automne ou au début de l'hiver, alors que les moules sont dans un état physiologique plus stable, et en tout état de cause avant la période de frai.

Pour un point de prélèvement donné, **les coquillages sont chaque fois collectés au même endroit**, à un niveau moyen entre ceux des hautes et des basses mers pour la façade Manche-Atlantique, au même niveau bathymétrique pour la Méditerranée et les Antilles. **Cette position dans la zone intertidale (ou ce niveau bathymétrique) ne doit pas varier pendant la durée du programme de surveillance.**

Pour chaque point les coquillages échantillonnés doivent correspondre à la classe d'âge adulte. Pour les moules, la taille doit être comprise entre 35 et 65 mm (âge : 1-2 ans) ; les huîtres doivent avoir entre 2 et 3 ans (être dans leur 3ème année). Les individus prélevés doivent constituer un lot homogène en taille et reproductible d'un prélèvement à l'autre. Cela implique que la longueur des individus recueillis doit être autant que possible, constante d'année en année à chacun des points échantillonnés (cela peut néanmoins varier entre les points considérés), ou doit se situer dans une fourchette très étroite : par ex 5 mm max.

Dans les zones où il n'existe pas de populations naturelles adéquates, des moules en cage pourront être utilisées (protocole non décrit ici).

Le nombre d'individus collectés dépend des contaminants à mesurer et de la quantité de chair fournie par les mollusques. Dans tous les cas, **pour être représentatif, un échantillon doit comprendre un minimum de 60 moules (*Mytilus edulis*, *Mytilus galloprovincialis*) ou 10 huîtres (+10%)**. Afin de limiter la variabilité naturelle, OSPAR recommande que l'échantillon soit constitué d'un nombre suffisamment élevé d'individus pour qu'il puisse être divisé en au moins 3 groupes égaux, chacun des groupes étant composé d'au moins 20 animaux (moules en particulier), et d'une quantité de tissu mou qui soit suffisante pour toutes les analyses¹.

Afin de garantir la représentativité des teneurs analysées dans les coquillages, il faut impérativement **s'assurer que les coquillages ont au moins six mois de présence sur le site**. Pour l'échantillon, ne seront prélevés que des individus dont les coquilles ne sont pas salies ni percées. Dans le cas de la pêche aux moules par bateau, une drague à moules de type commercial pourra être utilisée.

Les moules sont détachées de leur support une à une, en prenant soin de ne pas arracher le byssus car ceci compromettrait leur survie lors du transport et de l'épuration. Les coquillages sont rincés extérieurement à l'eau de mer sur les lieux du prélèvement. Au cours de la collecte, on veillera à ce que les animaux ne soient pas immergés dans le fond du récipient utilisé (sac en plastique, bac, portoir, etc.). Les moules sont transportées dans des récipients propres.

¹ Commission OSPAR, Lignes directrices JAMP de la surveillance des contaminants dans le milieu vivant. Ref. N° :1999-2, révision 2012.

4.1.2 Stockage et pré-traitement

Le délai entre le prélèvement et l'épuration doit être le plus court possible. La congélation dégradant les tissus mous, les échantillons seront conservés au frais. Le transport des bivalves vivants se fait en caisse isotherme, à une température comprise entre 5 et 10°C, de préférence inférieure à 10°C (compatibles pour les métaux et les contaminants organiques). Si on utilise des accumulateurs de froid, ceux-ci ne doivent pas être en contact direct avec les mollusques et le froid à l'intérieur de la glacière ne doit pas être excessif afin de ne pas provoquer la mort des bivalves. En règle générale, les chocs thermiques doivent être évités entre le prélèvement et la fin de l'épuration.

4.2 Épuration des coquillages

Les moules doivent être épurées avant conditionnement de l'échantillon (écoquillage et congélation) et analyses. Cela permet d'éliminer les particules non assimilées présentes notamment dans la cavité du manteau, particules susceptibles de contaminer l'échantillon de chair. Ce point est particulièrement important dans le cas de moules pêchées dans les eaux très turbides ou sur fond vaseux /argileux. Les conditions de la dépuración devront être consignées, en particulier concernant la durée de la dépuración.

Les coquillages vivants sont épurés dès le retour de prélèvement. Pour cela, ils sont placés pendant 18 à 26 heures dans de l'eau de mer provenant de la même zone que les coquillages et préalablement décantée. Il faut donc prévoir de **collecter dans un jerrican environ 20 litres d'eau de mer pour la dépuración des coquillages**. Le jerrican est préalablement traité conformément aux consignes du § 4.5 et réservé à cet usage. Il doit être rincé avec un peu d'eau de mer avant le prélèvement d'eau. La couche d'eau recouvrant les coquillages au début de la phase d'épuration doit être d'au moins 10 cm afin de permettre l'épuration en particulier pour faciliter la respiration des coquillages pendant toute l'opération. Les individus doivent être isolés du fond du récipient utilisé par une grille ou un portoir non métalliques, le récipient étant laissé largement ouvert pour l'oxygénation de l'eau. Il est recommandé de ne pas utiliser de système de bullage pouvant introduire des contaminants dans l'eau. Cette opération peut être réalisée dans une claire ou un bassin de professionnel, ou dans des bacs dédiés **exclusivement** à cet usage, en plastique non coloré, et traités initialement par le laboratoire de manière à éliminer les agents de fabrication et de démoulage. Les récipients servant à la manipulation de l'eau d'épuration sont traités de la même façon par le laboratoire et doivent être strictement réservés à cet usage (par exemple des jerricans en plastique).

Les bivalves sont ensuite transmis frais et vivants (non congelés) au laboratoire d'analyse dans un délai de 24 h. Le transport des bivalves se fait en caisse isotherme, à une température comprise entre 5 et 10°C, de préférence inférieure à 10°C (compatibles pour les métaux et les contaminants organiques).

4.2.1 Entretien des bacs d'épuration

Avant chaque utilisation les récipients servant à la manipulation de l'eau doivent être rincés une fois avec un peu d'eau de mer avant remplissage.

A la fin de la phase d'épuration, les bacs sont vidés, rincés sommairement si nécessaire avec un peu d'eau de mer. Ils doivent être égouttés rapidement et stockés fermés.

Ces récipients ne doivent **jamais être lavés avec un détergent ou tout autre produit**. L'eau de mer utilisée pour l'épuration suffit à en assurer la propreté, sans risque de contamination. Ces bacs ne doivent jamais être utilisés pour autre chose que l'épuration des coquillages. Entre deux utilisations ils doivent être gardés fermés.

Les récipients servant à la manipulation de l'eau d'épuration (i.e. jerricans) sont simplement égouttés et fermés jusqu'à la prochaine utilisation.

5 Documents de référence

Ce document révisé et complète le document Ifremer réalisé en 2007 :

Libellé	Accessible sous
Claisse D., 2007. Surveillance chimique : Guide de prélèvement d'échantillons marins pour l'analyse des contaminants chimiques. Ifremer, R. INT. DCN-BE/2007-05/Nantes, août 2007, 22 p.	non accessible : <i>document interne Ifremer</i>

Documents européens et les lignes directrices de la Convention OSPAR :

Libellé	Accessible sous
Document guide européen du groupe CMA (<i>Chemical Monitoring Activity</i>) : Guidance document n°19- Guidance on surface water chemical monitoring under the Water Framework Directive. Mai 2007	https://circabc.europa.eu/sd/a/e54e8583-faf5-478f-9b11-41fda9e9c564/Guidance%20No%2019%20
Commission OSPAR. Lignes directrices JAMP de la surveillance des contaminants dans le milieu vivant. Ref. N°: 1999-2, révision 2012. Commission OSPAR. JAMP Guidelines for monitoring of contaminants in Seawater. Agreement 2013-03, 19 p.	http://www.ospar.org/work-areas/hasec
Commission OSPAR. JAMP Guidelines for monitoring of contaminants in Seawater. Agreement 2013-03, 19 p.	http://www.ospar.org/work-areas/hasec
Commission OSPAR. Lignes directrices JAMP de la surveillance des contaminants dans les sédiments. Ref. N°: 2002-16, révision 2015, 112 p.	http://www.ospar.org/work-areas/hasec
Commission OSPAR, 2008. JAMP guidelines for monitoring contaminants in biota and sediments. ICES advice, book I, 35 p.	http://www.ospar.org/work-areas/hasec

- Fascicules méthodologiques Ifremer :

Libellé	Accessible sous
Chiffoleau J.F. <i>et al.</i> , 2002. Dosage de certains métaux traces dissous dans l'eau de mer par absorption atomique après extraction liquide-liquide. <i>Editions de l'Ifremer</i> . 39 p. ISBN 2-84433-104-1.	http://www.quae.com/fr/
Cossa D. <i>et al.</i> , 2003. Spéciation du mercure dissous dans les eaux marines. Dosage du mercure total, gazeux, réactif, mono et diméthylmercure. <i>Editions de l'Ifremer</i> . 27 p. ISBN 2-84433-125-4.	http://www.quae.com/fr
Munsch C. <i>et al.</i> , 2005. Analyse de contaminants organiques (PCB, OCP, HAP) dans les organismes marins <i>Editions de l'Ifremer</i> . 44p. ISBN 2-84433-144-0.	http://www.quae.com/fr
Tronczynski J. <i>et al.</i> , 2005. Analyse de contaminants organiques (PCB, OCP, HAP) dans les sédiments marins. <i>Editions de l'Ifremer</i> . 44p. ISBN : 2-84433-145-9.	http://www.quae.com/fr
Tronczynski J. <i>et al.</i> , 2005. Analyse de contaminants organiques (herbicides, PCB, OCP, HAP) dans les eaux estuariennes et marines côtières. <i>Editions de l'Ifremer</i> . 52 p. ISBN 2-84433-148-3.	http://www.quae.com/fr

Ce document est à compléter par les normes ou guides techniques suivants :

Libellé	Accessible sous
Anne Daniel, Stephane Lebat, Pierre Bodénes, 2009 : Technique de prélèvement hydrologique. DVD Aquaref.	http://envlit.ifremer.fr/surveillance/hydrologie/methodologie
NF EN ISO 5667-1 « Qualité de l'eau – Echantillonnage - Partie 1: Lignes directrices pour la conception des programmes et des techniques»	AFNOR
NF EN ISO 5667-3 « Qualité de l'eau – Echantillonnage - Partie 3 : Lignes directrices pour la conservation et la manipulation des échantillons d'eau »	AFNOR

ISO 5667-9 : 1992 (dernière révision en 2013) : Echantillonnage – Partie 9 : Guide général pour l'échantillonnage des eaux marines	AFNOR
ISO 5667-19 : 2004 Qualité de l'eau – échantillonnage – Partie 9 : guide général pour l'échantillonnage des eaux marines	AFNOR
ISO 5667-19 : 2004 Qualité de l'eau – échantillonnage – Partie 19 : lignes directrices pour l'échantillonnage des sédiments en milieu marin	AFNOR
ISO 14644-1 : 2009. Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Partie 1 : classification de la propreté de l'air	AFNOR
FD T90-523-1 : 2008. Qualité de l'eau. Guide de prélèvement pour le suivi de qualité des eaux dans l'environnement. Partie 1 : prélèvement d'eau superficielle	AFNOR

www.aquaref.fr

