

DOSAGES DU CARBONE ET DE L'AZOTE ORGANIQUES DANS LES SEDIMENTS MARINS

par Jeanne-Marie OTTMANN

La matière organique dans les sédiments marins a une importance capitale tant au point de vue biologique (conditionnement de la vie des animaux et végétaux vivants dans la pellicule superficielle), que de l'évolution ultérieure du sédiment (litogénèse). Cette étude de la matière organique si intéressante du point de vue océanographique et sédimentologique demande à être faite sur le sédiment frais, ou peu de temps après sa récolte, d'où la nécessité de méthodes assez simples permettant des dosages précis et rapides si possible. C'est dans cet esprit que j'ai mis au point les dosages du carbone et de l'azote organiques. En effet, le rapport C/N est intéressant à étudier : supposé relativement constant dans les sédiments marins profonds, et voisin de 11 selon P. TRASK, il varie, par contre beaucoup dans les sédiments littoraux et notamment en fonction du climat.

Nous envisagerons le problème dans l'ordre suivant :

- A — Préparation des échantillons
- B — Dosage du carbone organique
- C — Dosage de l'azote organique

A — PREPARATION DES ECHANTILLONS

I — INTRODUCTION

Les vases se présentent sous la forme d'un mélange homogène se composant d'une fraction grossière (coquilles, sables) et d'une fraction fine (silts et argiles). Du point de vue chimique on distingue deux parties :

- une "inerte," stable avec les minéraux (quartz, feldspaths minéraux lourds), les argiles et le calcaire sous ses diverses

formes détritiques, organiques et physico-chimiques.
 — l'autre "active", susceptible d'une évolution dans le temps et en profondeur, avec : les sulfures, le fer sous forme de divers complexes, la matière organique et les sels nutritifs conditionnant l'activité biologique (bactéries notamment).

Ceci dit, voyons sur quelle fraction il est préférable de travailler :

1) *Sédiment brut* (sec évidemment)

Par suite de la très petite quantité de sédiment étudié (0,5 à 3 g), il est déconseillé d'utiliser le sédiment brut sans une parfaite homogénéisation du sédiment avant la prise d'essai. Cette homogénéisation, dans la pratique s'avère difficile à obtenir, et dans ces conditions il vaut mieux abandonner cette méthode que de faire des dosages dont les résultats sur plusieurs prélèvements d'un même échantillon ne seraient pas comparables.

2) *Fraction grossière* (après passage au tamis de 40 à 50 microns)
 Deux cas se présentent :

- La fraction est essentiellement détritique et minérale, dans ce cas les dosages C et N sont sans intérêt.
- La fraction est essentiellement un sable organogène et riche en matière organique. Si on prend soin d'homogénéiser, on peut faire les dosages envisagés et les comparer entre eux.

3) *Fraction fine*

Cette dernière étant la plus homogène et contenant la matière organique la plus décomposée (absence de fibres ou de restes organogènes macroscopiques), c'est essentiellement sur elle qu'il faut travailler. Dans cette note, il sera toujours sous-entendu qu'il s'agit seulement de la fraction fine des sédiments.

II — TAMISAGE DU SEDIMENT

Lavage sous l'eau sur un tamis de 0,040 à 0,050mm selon le tamis utilisé. On a généralement le choix entre :

ouverture	France N. F. X. 11-501	USA Série Tyler
0,043 mm	17	325
0,050 mm	18	270

Recueillir la partie fine, la laisser décanter, siphoner et la faire sécher à l'étuve entre 70 et 80°.

III — PREPARATION PRELIMINAIRE DE LA FRACTION ETUDIEE

1) *Elimination des éléments oxydables*

Le dosage du carbone s'effectuant par oxydation, il faut au préalable préparer la fraction étudiée en éliminant tous les éléments oxydables : halogénures et sulfures.

a) *Elimination des halogénures*

Tous les halogénures contenus dans la vase sont solubles, donc il suffit de laver la fraction fine dans beaucoup d'eau. Après avoir siphonné cette première eau après décantation, relaver à l'eau distillée, laisser sédimenter et recommencer cette opération autant de fois qu'il sera nécessaire jusqu'à ce que l'eau de lavage ne contienne plus d'ions Cl⁻; le vérifier à l'aide d'une solution de NO₃Ag.

b) *Elimination des sulfures*

Les sulfures existent dans le sédiment frais, mais ils sont très facilement oxydables au contact de l'air et se transforment en sulfates si on les laisse sécher très lentement. Ces conditions se trouvent remplies par le séchage à l'étuve entre 70 et 80°, qui succède au lavage comme il a été dit précédemment. Dans ce cas l'élimination des sulfures n'entraîne aucune manipulation supplémentaire. Un dosage de sulfure sur des sédiments ainsi séchés, donne au maximum 0,05% de S, quantité négligeable ne gênant pratiquement pas le dosage du carbone.

2) *Homogénéisation*

Au cours de la décantation et du séchage, il se produit une sélection des grains en fonction de leur granulométrie. Il est donc nécessaire que la fraction fine soit bien homogénéisée par trituration dans un mortier.

3) *Dessication*

Si celle-ci n'a pratiquement pas d'importance dans un endroit ayant un degré hydrométrique moyen et relativement constant, au contraire dans un pays atteignant 80 à 90% d'humidité, comme c'est le cas ici, il faut faire très attention et prendre des précautions, car les argiles peuvent absorber des quantités d'eau importantes et variables. Tout d'abord laisser le sédiment broyé environ 24 heures dans une étuve entre 70 et 80°. Ne pas dépasser 80° pour ne pas abimer la matière organique. Puis laisser refroidir dans un dessiccateur et ne sortir le sédiment qu'au moment de la pesée, agir très rapidement.

B - DOSAGE DU CARBONE ORGANIQUE

I - INTRODUCTION

Le caractère chimique fondamental du carbone est sa combustion dans l'oxygène qui donne le gaz carbonique CO₂. Ce même corps est formé avec divers oxydants, par voie sèche ou par voie humide.

Par voie sèche, avec l'analyse élémentaire (méthode de Liebig), la combustion est faite en tube ouvert ou fermé en présence d'oxygène. Le CO₂ est absorbé par de la potasse pesée avant et après la combustion.

Par voie humide, on utilise diverses solutions oxydantes. L'opération est alors plus rapide, mais on risque une combustion incomplète du carbone. La méthode par voie humide le plus communément utilisé par les organiciens est le dosage du carbone par l'appareil de Fresenius-Classen. On oxyde le carbone présent dans la matière organique par du mélange sulfo-chromique. Le gaz carbonique obtenu est entraîné par un courant d'air comprimé et absorbé par la potasse. Mais cette méthode présente de nombreux inconvénients : appareillage encombrant qui doit être parfaitement étanche et où les fuites sont à craindre, enfin une prise d'essai importante. (8 à 10 g). De plus, un dosage par cette méthode demande 3 heures de manipulation avec une attention continuelle.

Le dosage préconisé dans ce travail sur les sédiments est celui utilisé par les agronomes. Il est simple et rapide, c'est le dosage par la méthode d'Anne.

1) Principe

Le dosage est effectué à l'aide d'une quantité connue d'un corps oxydant : solution de bichromate de potassium en milieu sulfurique. Le pouvoir oxydant de cette solution est déterminée :

- par étalonnage de la solution à l'aide d'un sel de Mohr
- par détermination ensuite du pouvoir oxydant restant, après action de la dite solution sur une quantité connue de sédiment.

La différence entre ces deux dosages permet de déduire le pourcentage de carbone.

La méthode d'Anne est très largement utilisée par les agronomes, mais pour des échantillons de terre qui ne contiennent pas plus de 10% de calcaire, ce qui n'est pas le cas dans la majorité des sédiments marins. Aussi pour les vases calcaires, j'ai été amenée à modifier la méthode d'Anne de la façon suivante : si l'échantillon contient plus de 10% de calcaire, il faut tout d'abord le décarbonater avant de l'attaquer par le mélange oxydant. Il faudra donc modifier l'ordre prévu, verser d'abord H₂SO₄ puis K₂Cr₂O₇, et non K₂Cr₂O₇ puis H₂SO₄ comme le fait P. Anne. Le fait de verser H₂SO₄ en premier

décalcifie naturellement l'échantillon, mais on abîme la matière organique, sans toutefois modifier son réducteur, ce qui est important dans cette méthode.

2) Réactifs

a) *Indicateur de titrage* : diphenylamine sulfonate de baryum à 0,5% en solution aqueuse. Utiliser 4 ou 5 gouttes d'indicateur pour 100 cc de solution à titrer.

b) *Solution de sel de Mohr* O₂N: SO₄Fe, SO₄ (NH₄) 2,26H₂O. Peser très exactement 78,428 g de sel de Mohr pur, pour analyse; les dissoudre dans environ 500 cc d'eau distillée, ajouter 20 cc de H₂SO₄ concentré, ajuster à 1.000 cc et conserver en flacon brun.

c) *Solution oxydante de K₂Cr₂O₇* :

- Pour les sédiments riches en carbone, faire une solution à 8%. Dissoudre environ 80g de K₂Cr₂O₇ pur dans 1.000 cc d'eau distillée.

La solution a un pouvoir oxydant très stable dont l'étalonnage sera fait par le sel de Mohr.

- Pour les sédiments pauvres en carbone, solution à 2%. Dissoudre environ 20 g de K₂Cr₂O₇ dans 1.000 cc d'eau distillée.

3) Etalonnage du pouvoir oxydant de K₂Cr₂O₇

Il se fait par les sels ferreux.

II MODE OPÉRATOIRE

a) *Solution à 8%*

Mettre 10 cc de K₂Cr₂O₇ à 8% dans un ballon pouvant être adapté à un réfrigérant ascendant d'environ 1 m de long, au moyen d'un rodage normalisé. Ajouter 15 cc de H₂SO₄ concentré et des billes de verre pour régulariser l'ébullition. Cette ébullition devant se faire toujours à la même température, la concentration en H₂SO₄ dans le liquide doit être constante. P. Anne a choisi le rapport :

$$\frac{\text{volume de H}_2\text{SO}_4}{\text{Volume de la solution à titrer}} = \frac{15}{10} = \frac{3}{2}$$

Faire bouillir 5 minutes très exactement, puis laisser un peu refroidir à l'air et étendre la solution à 200 cc; en prendre une partie aliquote à l'aide d'une pipette, par exemple 50 cc, ajouter 2 cc d'acide phosphorique afin de complexer les oxydes de fer et rendre le virage de la solution à titrer plus sensible. La quantité d'acide phosphorique à ajouter doit être telle que nous ayons le rapport :

$$\frac{\text{volume H}_2\text{SO}_4 \text{ concentré dans la prise aliquote}}{\text{volume acide phosphorique}} = \frac{2}{1}$$

Ajouter ensuite quelques gouttes de l'indicateur, puis effectuer le dosage avec la solution de sel de Mohr 0,2N. La solution vire du violet au vert, à la goutte près.

b) *Solution à 2%*

Le dosage dans ce cas se fait sur la totalité de la prise d'essai. Mettre 10 cc de K₂Cr₂O₇ à 2% dans le ballon, ajouter 15 cc de H₂SO₄ concentré et des billes de verre, faire bouillir 5 minutes très exactement, laisser refroidir à l'air et ajouter 7,5 cc d'acide phosphorique dans la totalité de la solution, quelques gouttes de l'indicateur et faire le dosage par le sel de Mohr 0,2N.

4) *Dosage du carbone dans le sédiment*

Suivant que la prise d'essai contiendra plus ou moins de carbone, on utilisera la solution de K₂Cr₂O₇ à 8% ou 2%. En général dans les sédiments marins, un sédiment gris foncé ou noir contient plus de carbone qu'un sédiment gris clair et surtout beige. Mais pour doser une série, il faut nécessairement faire des tâtonnements pour les premiers échantillons : faire varier la prise d'essai, utiliser les 2 concentrations de K₂Cr₂O₇ et une quantité plus ou moins importante de solution oxydante.

a) *Prise d'essai contenant entre 8 et 30mg de carbone*

Avec une vase contenant du calcaire, il faut manipuler de la façon suivante :

Peser dans un ballon de saponification bien sec, une prise d'essai de 0,5 à 3 g de sédiment sec. Décarbonater l'échantillon en ajoutant 15 cc de H₂SO₄ concentré pur. Attendre la fin de l'attaque en agitant de temps en temps. Quand le dégagement gazeux a cessé, ajouter 10 cc de K₂Cr₂O₇ à 8%, pour oxyder le carbone, et manipuler ensuite comme pour l'étalonnage de cette solution.

b) *Prise d'essai contenant entre 1,5 et 8 mg de carbone*

Manipuler comme ci-dessus, mais en prenant la solution de K₂Cr₂O₇ à 2%, et doser ensuite la solution comme pour son étalonnage.

5) *Calculs*

Il faut connaître le rapport existant entre l'oxygène consommé et le carbone organique. En général on raisonne comme si la matière organique avait la formule d'un hydrate de carbone. Avec la formule (CHOH)_n, nous obtenons la correspondance suivante :

1 cc de sel de Mohr 0,2N = 0,60 mg de carbone

Or, si par la méthode d'Anne on obtient une oxydation du carbone très complète, par contre l'oxydation de la matière organique n'est pas toujours parfaite. Ainsi sur 32 échantillons P. Anne a effec-

tué le dosage du carbone par voie sèche et par sa méthode. En rapportant les résultats du carbone par voie sèche à 100, sa méthode donne des résultats variant de 92 à 105. Sur les 32 échantillons, 20 sont compris entre 95 et 100, la moyenne donne 97,6. Ces résultats ont conduit P. Anne à prendre le coefficient de 0,615 au lieu de 0,60. c'est cette valeur que nous utilisons.

1 cc de sel de Mohr 0,2N = 0,615 mg de C

Erreur: L'erreur absolue maximum sur ce dosage est d'environ $\pm 0,5$ mg de C.

C - *DOSAGE DE L'AZOTE ORGANIQUE*

Il est exécuté selon la méthode de Kjeldahl.

I - *PRINCIPE*

Les substances organiques azotées en présence de H₂SO₄ concentré bouillant et d'un catalyseur approprié se transforment en sulfate d'ammonium. Cette méthode s'applique également aux traces.

Dès que la matière organique a été entièrement décomposée, alcaliniser la solution et chauffer à ébullition, NH₃ se dégage en même temps que l'eau distillée et est recueilli soit dans une solution titrée d'acide, soit dans une solution d'acide borique, puis titré :

- pour la solution de H₂SO₄, l'excès d'acide est titré par une solution titrée de soude.
- pour la solution d'acide borique qui est un acide très faible, qui ne peut pratiquement pas être dosée par une base, il suffit de titrer directement par une solution titrée d'acide, le borate d'ammonium formé.

II - *REACTIFS*

1) *Indicateur de titrage*

C'est un indicateur mixte comprenant :

- 0,1 g de vert de bromocrésol
- 0,03 g de rouge de méthyle
- 100 cc d'alcool

Il faut utiliser 3 gouttes de cet indicateur pour 100 cc de solution.

2) *Solution d'acide borique*

Elle peut être entre 2 et 5%, mais doit être faite avec de l'eau distillée exempte d'azote.

3) *Solution de lessive de soude purifiée*

A défaut de lessive de soude, on peut faire une solution de soude 10N. Peser rapidement environ 400 g de OHNa pur, les dissoudre dans 1.000 cc d'eau distillée. Faire cette solution le plus vite possible pour que la soude ne se carbonate pas. Conserver dans un flacon brun fermé par un bouchon en caoutchouc.

4) *Solution d'acide sulfurique*

Elle sera plus ou moins faible suivant la teneur en azote des échantillons. En effet pour qu'un dosage soit considéré comme bon, il faut verser entre 10 et 25 cc de solution tritrée dans la solution à titrer.

En général, pour une teneur en N variant entre 0,2 et 0,3% avec une prise d'essai de 0,5 g, il faut une solution N/40 ou N./50 de H₂SO₄.

5) *Catalyseurs*

Celui utilisé dans ce travail est : mélange en parts égales de sulfate de cuivre pur en poudre et d'oxalate de potassium pur en poudre. On peut également utiliser 10 g de sulfate de potassium pur en poudre et 0,2 g de sélénium.

III — DOSAGE DE L'AZOTE DANS UN SEDIMENT

1) *Attaque*

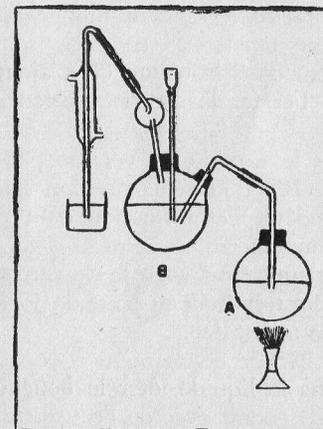
Prendre très exactement de 0,5 à 3,5 g de sédiment broyé et sec. Les mettre dans un matras de Kjeldahl en pyrex de 100 cc, ajouter une petite quantité de catalyseur, puis lentement 20 cc de H₂SO₄ concentré. Agiter, quand l'effervescence a cessé, chauffer avec précaution pendant 5 à 15 minutes en inclinant légèrement le matras, lorsque l'ébullition commence, ainsi que le dégagement de vapeurs, placer un petit entonnoir sur l'ouverture du matras. Avoir une flamme suffisante pour obtenir une ébullition régulière, mais veiller à ce que les vapeurs ne s'échappent pas. Laisser bouillir dans la*hotte jusqu'à ce que le liquide du matras devienne vert clair à chaud, blanchâtre à froid et que le sédiment soit blanc ou très légèrement grisâtre. Cette opération peut être longue dans le cas de certains sédiments. Elle peut durer jusqu'à 24 et même 30 heures, en général il faut compter au minimum 6 heures.

2) *Centrifugation*

Laisser refroidir le liquide, verser le contenu du matras dans un flacon de centrifugeuse, bien rincer le matras à l'eau distillée et ajouter l'eau de lavage à la solution. Centrifuger environ 4 minutes à 2.000 tours-minute. Recueillir le filtrat dans une fiole jaugée de 100 cc. Remettre de l'eau distillée dans le flacon contenant le précipité, bien agiter et recentrifuger. Faire ceci jusqu'à ce que le liquide obtenu soit bien incolore, en principe 3 fois. Ajouter chaque fois les eaux de lavage au filtrat et compléter ensuite à 100 cc avec de l'eau distillée. C'est sur cette solution que se fera le titrage.

3) *Distillation et acidimétrie*

a) *Appareil.* Il est constitué du matériel suivant:



- un ballon pyrex de 500 cc (A) pour la production de vapeur d'eau (utiliser de préférence de l'eau distillée). Ajouter dans ce ballon des billes de verre et de fins tubes de verre pour régulariser l'ébullition.
- un ballon pyrex de 250 cc (B) à deux ouvertures pour la distillation de la solution de sulfate d'ammonium. Une des ouvertures comprendra un tube en verre pour faire barboter la vapeur d'eau dans le liquide et un entonnoir à robinet pour verser la soude. L'autre ouverture sera reliée au réfrigérant par l'intermédiaire d'une boule de Kjeldahl.
- un réfrigérant ordinaire
- un bécher de 250 cc, forme haute de préférence.

Par suite de la saturation en eau de l'atmosphère et de la tempé-

rature élevée sous notre latitude, nous avons été amené à modifier l'appareil initial pour le rendre le plus compact possible, afin d'éviter les condensations prématurées, d'où la nécessité d'avoir une distance très petite :

- entre la source de vapeur d'eau et la solution à distiller
- pour le mélange ammoniac et eau distillée, qui se condensera ainsi dans le réfrigérant et non avant.

b) *Dosage*

Il doit être conduit de la manière suivante :

- Tout d'abord ne pas mettre en communication les différentes parties de l'appareil.
- Mettre environ 5 cc d'acide borique dans le bécher, plus 3 à 6 gouttes de l'indicateur. Placer le bécher sous l'extrémité du réfrigérant et ajouter de l'eau distillée exempte d'azote jusqu'à ce que l'extrémité du réfrigérant plonge bien dans le liquide.
- Prendre avec une pipette 25 cc de la solution à titrer. Les verser directement dans le ballon (B), ajouter quelques gouttes de l'indicateur. Fermer la communication entre le ballon (B) et le réfrigérant.
- Neutraliser alors le liquide en versant par l'entonnoir la solution de soude 10N jusqu'à réaction franchement alcaline (teinte jaune verdâtre) et formation d'un précipité. Fermer le robinet de l'entonnoir.
- Mettre en communication avec la vapeur d'eau.
- La distillation sera terminée au bout de 15 à 20 minutes d'ébullition du liquide à distiller.
- Baisser alors le bécher de manière à ce que le réfrigérant ne plonge plus dans le liquide, ôter le bouchon du réfrigérant et bien rincer le réfrigérant avec de l'eau distillée exempte d'azote.
- Doser le borate d'ammonium par une solution d'acide sulfurique titrée. La solution virera du vert au rose.

Remarque

L'eau distillée, H₂SO₄, la solution de soude peuvent contenir de l'azote, aussi est-il prudent de faire un dosage témoin pour s'en assurer, et s'ils contiennent de l'azote en connaître la teneur. Prendre 20 cc de H₂SO₄ concentré et compléter à 100 cc avec de l'eau distillée. Sur cette solution d'acide sulfurique, manipuler comme sur la solution de sulfate d'ammonium.

Au bout de 15 à 20 minutes de distillation, deux cas peuvent se présenter :

- 1.° la solution d'acide borique reste rouge, donc pas de dégagement d'ammoniaque.
- 2.° la solution d'acide borique est verte. Doser alors la teneur en

N, la déduire de la teneur en N du sédiment, et en tenir également compte pour le titrage de la solution H₂SO₄.

IV — TITRATION DE LA SOLUTION H₂SO₄

Pour titrer cette solution d'acide sulfurique, on utilise une solution contenant une quantité connue de sel de Mohr. En effet, ce sel a le gros avantage d'avoir une quantité d'azote faible pour un poids moléculaire élevé : 28 g d'azote pour 392 g de sel de Mohr.

Dosage

Peser très exactement entre 30 et 40 mg de sel de Mohr. Les faire dissoudre dans de l'eau distillée en présence de 20 cc de H₂SO₄. Chauffer légèrement, puis verser dans une fiole jaugée de 100 cc et compléter avec de l'eau distillée.

Manipuler avec cette solution exactement comme sur la solution de sulfate d'ammonium obtenue à partir du sédiment.

Calculs

Soit A g la prise d'essai de sel de Mohr. Sa teneur en N. sera :

$$\frac{28 \times A}{392}$$

Soit B le nombre de cc de H₂SO₄ à verser pour les A g de sel de Mohr. L'équivalence pour 1 cc de H₂SO₄ sera alors de :

$$1 \text{ cc de H}_2\text{SO}_4 = \frac{28 \times A}{392 \times B} N$$

E — CONCLUSIONS

Ces dosages de carbone et d'azote organiques ainsi réalisés, sont très commodes pour l'étude des sédiments. De plus, ils peuvent être aisément utilisés pour les recherches sur le fractionnement de la matière organique, si abondantes en pays tropicaux. Ces dosages permettent aussi l'établissement et la comparaison du rapport C/N dans les divers sédiments marins.

BIBLIOGRAPHIE

ANNE P. — 1945 — Dosage rapide du carbone organique des sols. Ann. Agro., XV.
 CHARLOT, G. et BEZIER D. — 1955 — Analyse quantitative minérale, 821 p. Masson et Cie, 3^e édition, Paris.

RICHARD OTTMANN, J. M. — 1955 — Recherches sur les méthodes de dosage du carbone organique dans les sédiments marins. Diplôme d'Etudes Supérieures, Paris.

TREADWELL F. P. — 1932 — Analyse quantitative — 1 vol. Dunod.

Abstract :

A METHOD OF DETERMINING ORGANIC CARBON AND NITROGEN IN MARINE SEDIMENTS.

This paper deals with method of determining organic carbon and nitrogen in marine sediments.

In order to obtain comparable results, preparation of samples is especially important on the following points :

1. The fine fraction (40 to 50 microns) of sediments should be employed for analysis of these elements.

2. The halogen sulphate should be removed before analysis.

The method of estimating organic carbon in this report is based principally on Ann's method, the classic method in soil science.

Organic carbon in sediments is estimated from oxidation by chromate of potassium.

Determination of organic nitrogen was made by the Kjeldahl method.

Resumo

DOSAGEM DO CARBONO E NITROGÊNIO ORGÂNICOS NOS SEDIMENTOS MARINHOS

Esse trabalho constitui em mais uma maneira de realizar dosagens de Carbono e Nitrogênio orgânicos, nos sedimentos. Insiste o autor sobre as precauções a serem tomadas quando da realização das mesmas, como também na preparação das amostras, a fim de se obter sempre resultados comparáveis. Assim, é recomendado trabalhar só na fração fina das amostras, depois de peneiradas sobre peneiras de 40 a 50 microns.

É indicada também a maneira de eliminar os halógenos e sulfatos indesejáveis.

Carbono — o método é derivado do método de Anne, clássico dos agrônomos, para a dosagem nos solos. A dosagem se realiza com a oxidação do Carbono com uma solução oxidante de bicromato de Potássio, sendo o Carbono obtido pela diferença antes e depois da oxidação. Nitrogênio — O dosagem é efetuada segundo o método de Kjeldahl.