

**Tools for the EcoNum lab (Ecologie Numérique des Milieux  
Aquatiques) at UMONS**

## **The 'econum' R package**

Ph. Grosjean <Philippe.Grosjean@umons.ac.be>

March 11, 2012



# 1 Introduction

The **econum** R package is a collection of R functions used at the EcoNum lab to perform various tasks and calculations. It contains routines for (note that much of these function still need to be added!):

- ▷ Interface many scientific devices like ph-meters, titrators, scales, CO<sub>2</sub>-recorder, IKS computers, etc.,
- ▷ Controlling the proprietary chemostat, including display and diagnostic graphs,
- ▷ Pilot the automatic titrators for the alkalinity and calcium titrations,
- ▷ Calculate concentrations and stats on measurements done using a spectrophotometer,
- ▷ Perform various calculations and conversions related to ecophysiological studies of aquatic invertebrates,
- ▷ And much more...

## 1.1 Installation of the econum R package

Get R (at least 2.10.0) and install it. Then, get either the source (for Linux and Mac OS X) of the **econum** package ('econum\_x.y-z.tar.gz'), or the Windows binaries ('econum\_x.y-z.zip') from 'EN-Dolphin'. Install them inside R (see R online help and manuals to learn how to do that). You need administrative rights on the machine to do this install.

Under Windows (95 -> XP), if you intend to pilot the parallel interface card, you must also copy 'inpout32.dll' and 'lpttcl.dll' from '/bin' subdirectory of the **econum** package to 'c:\Windows\system32' (or whatever directory where system dlls are installed).



## 2 General instructions for working in the lab

This chapter covers general instructions that are supposed to be known for working in the lab, but that are always good to check. It covers general actions to do good laboratory work. TODO: continue this and cover good practices in the laboratory topic.

- ▷ General behavior in the lab and security issues: no food, no drink, correct clothes, always keep working area clean and in order, work under the “hotte”, know basic security issues (where is the extintor? what to do in case of ..., etc.)
- ▷ The water: various water qualities and the importance of using the right water quality.
- ▷ Cleaning equipment and glassware.
- ▷ Logging all activities in a logbook.
- ▷ What else?

### 2.1 Marine chemistry: basic knowledges on concentration in seawater

By J. Leblud and Ph. Grosjean, 2008.

Rappels très généraux de chimie : atome, élément chimique, molécule, ion. Mesure de la quantité de ces constituants: la mole, et la masse correspondante : la masse molaire. Dissolution d'un soluté dans un solvant et mesure de la concentration d'un soluté dans le solvant: la molarité, la molalité et la molinité. Avantages et inconvénients de ces différentes mesures en chimie de l'eau de mer. Réalisation de solutions de molarité connue en pratique.

#### 2.1.1 Rappel de Chimie générale

##### 2.1.1.1 Atome

Un atome est constitué de protons (chargés positivement), de neutrons (électriquement neutres) et d'électrons (chargés négativement). Les protons et les neutrons forment les nucléons qui composent le noyau de l'atome autour duquel les électrons gravitent.

### 2.1.1.2 Élément chimique

Chaque atome possède un nombre fixe de protons (correspondant au **numéro atomique**) qui définit un **élément chimique** indiqué par un symbole (ex: H pour l'hydrogène qui contient 1 proton, O pour l'oxygène qui contient 8 protons, ...). Les différents éléments chimiques sont classés dans le **tableau périodique des éléments**.

### 2.1.1.3 Isotope

Pour un même élément chimique, le nombre de neutrons peut différer entre les atomes. Chaque atome correspond alors à un **isotope** particulier contenant un nombre donné de neutrons. Cet isotope est noté par un exposant devant le symbole de l'élément indiquant le nombre de nucléons dans son noyau. Par exemple,  $^{16}\text{O}$  est l'isotope 16 de l'oxygène. Comme l'élément oxygène contient toujours 8 protons, cela signifie que cet isotope contient aussi 8 neutrons.

### 2.1.1.4 Molécule

Une **molécule** est constituée d'un ensemble d'atomes. C'est le constituant de base de toute **substance chimique**. La composition d'une molécule s'inscrit en rassemblant la liste des atomes constitutifs (éventuellement suivis de leur nombre en indices si plusieurs atomes du même élément sont présents dans la molécule). Par exemple, une molécule d'eau possède 2 atomes d'hydrogène et un atome d'oxygène, et s'écrit donc  $\text{H}_2\text{O}$ . Le sulfure d'hydrogène s'écrit  $\text{H}_2\text{S}$ .

Chaque molécule a des propriétés physiques et chimiques particulières. L'eau  $\text{H}_2\text{O}$  est un liquide à température de  $20^\circ\text{C}$  et à pression de 1 atm et est la molécule la plus abondante dans les organismes vivants, alors que le sulfure d'hydrogène  $\text{H}_2\text{S}$  est un gaz à même température et pression et est extrêmement toxique pour les êtres vivants.

### 2.1.1.5 Mole

La quantité de molécules ou d'atomes s'exprime en **mole** (unité du Système International dont le symbole est **mol**). Une mole est strictement définie comme le nombre d'éléments constitutifs (atomes, molécules, ions, électrons) correspondant au nombre d'atomes dans 12g de  $^{12}\text{C}$  (nombre d'Avogadro valant environ  $6.022 \cdot 10^{23}$ ).

*Remarque :* un millièème de mole est une millimole (symbole mmol), un millionième de mole est une micromole (symbole  $\mu\text{mol}$ ), et un milliardième de mole est une nanomole (nmol).

Donc, quel que soit le poids de la substance considérée, 1 mole de cette substance contient toujours le même nombre d'items. Par contre, son poids varie, qui est mesuré par la **masse atomique** ou **moléculaire** exprimée en  $\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$ .

### 2.1.1.6 Masse atomique

La masse atomique est le poids moyen des isotopes d'un atome donné, considérant leur abondance relative rencontrée dans "la nature".

*Exemple* : l'hydrogène se rencontre sous forme de trois isotopes différents :

- ▷  $1\text{H} = 1 \text{ proton} \rightarrow 1 \text{ mole} \approx 1 \text{ g}$  abondance :  $>99\%$
- ▷  $2\text{H} = 1 \text{ proton et } 1 \text{ neutron} \rightarrow 1 \text{ mole} \approx 2 \text{ g}$ , abondance :  $<1\%$  (deutérium)
- ▷  $3\text{H} = 1 \text{ proton et } 2 \text{ neutrons} \rightarrow 1 \text{ mole} \approx 3 \text{ g}$ , abondance :  $<1\%$  (tritium)

La masse atomique est donc la moyenne du poids atomique de chaque isotope, pondérée par leur abondance (telle que rencontrée habituellement dans la nature). Pour l'hydrogène, la masse atomique est de  $1.008 \text{ g.mol}^{-1}$ .

*Remarque* : certains isotopes sont radioactifs, c'est-à-dire qu'ils sont instables et libèrent des particules élémentaires en se décomposant.

### 2.1.1.7 Masse moléculaire, masse molaire

De même, pour une molécule, sa masse moléculaire peut être obtenue par l'addition des masses atomiques de chaque atome formant la molécule étudiée.

*Exemple* : une mole d'eau  $\text{H}_2\text{O}$  pèse  $2 \cdot 1 + 1 \cdot 16 \approx 18 \text{ g.mol}^{-1}$  (le calcul précis donne  $18.0153 \text{ g.mol}^{-1}$ ).

Ainsi, en pratique, ayant pesé une quantité de substance donnée, le nombre de moles est calculé en divisant le poids (en g) par la masse moléculaire de la substance. De manière générale, on parle de masse molaire (MM) pour tout type de substance.

### 2.1.1.8 Ionisation

Une molécule peut perdre ou gagner un ou plusieurs électrons. Donc ce cas, elle sera chargée négativement, plus d'électrons que de protons, ou positivement, et s'appelle **ion** (les **cations** sont des ions chargés positivement et les **anions** sont chargés négativement). La charge est indiquée par des symboles + ou - inscrit en exposant après le(s) symbole(s) des constituants.

*Exemple* :  $\text{H}^+$  est un cation d'hydrogène ayant perdu son unique électron (on parle aussi couramment de "proton" dans ce cas particulier, bien qu'il s'agisse d'un abus de langage puisqu'il s'agit bien ici d'un ion).

*Remarque* : les électrons, contrairement aux protons et aux neutrons, ont une masse négligeable. Donc, ils ne sont pas pris en compte dans le calcul des masses moléculaires.

### 2.1.1.9 Dissolution

Une molécule (le **soluté**) peut se dissoudre dans l'eau ou d'autres **solvants** (ex :  $\text{NaCl}$  = **soluté** dans  $\text{H}_2\text{O}$  = **solvant**). Cette molécule se **dissocie** alors dans le solvant en ions :

## 2 General instructions for working in the lab



L'ion  $\text{Na}^+$  a perdu un électron qui a été récupéré par l'ion  $\text{Cl}^-$ . A noter que l'expression précédente est une **réaction chimique**.

L'eau elle-même est dissociée en très petite fraction, en ions hydrogène ( $\text{H}^+$ ) et hydroxyde ( $\text{OH}^-$ ) :



Dans le cas où une dissociation en ions est très partielle, cette réaction (dynamique et à double sens) est définie par une constante de dissociation qui caractérise la quantité de la molécule qui est dissociée sous forme d'ions. Pour l'eau, sa constante de dissociation est définie comme (voir aussi pH) :

$$K_w = [\text{H}^+] \cdot [\text{OH}^-]$$

### 2.1.1.10 Sel

Une molécule présente sous forme solide (cristallisée) qui se dissout dans l'eau et s'y dissociée est appelée **sel**. Un sel peut éventuellement cristalliser en emprisonnant des molécules d'eau dans sa structure cristalline. Il sera dit alors **hydraté (anhydre** dans le cas contraire). Ceci est indiqué par une formule du type:  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ . Dans cet exemple, la cristallisation du chlorure de magnésium  $\text{MgCl}_2$  s'est faite en emprisonnant 6 molécules d'eau par molécule de chlorure de magnésium qui est alors dit hexahydraté.

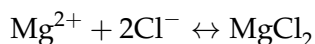
Il faut naturellement prendre ces molécules d'eau en compte dans le calcul de la masse molaire du sel hydraté.

Par exemple, la masse molaire de  $\text{MgCl}_2$  est de  $95.3 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ , alors que la masse molaire de  $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  est de  $203.3 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ .

### 2.1.1.11 Concentration

Il s'agit de la mesure de la quantité d'un **soluté** par quantité de **solvant**. Plusieurs unités différentes sont utilisées pour caractériser une concentration chimique, mais les plus utiles en chimie expriment le soluté sous forme de moles. En fait, les nombres de moles sont liées au nombre de molécules ou ions qui réagissent dans une réaction chimique. On parle de la **stoechiométrie** de la réaction.

Par exemple, la précipitation du chlorure de magnésium fait intervenir 2 molécules (moles) de chlorure  $\text{Cl}^-$  par molécule (mole) de magnésium  $\text{Mg}^{2+}$  pour former une molécule (mole) de sel  $\text{MgCl}_2$  :



Comme l'ion  $\text{Mg}^{2+}$  a une masse molaire de  $24.3 \text{ g}$ , et l'ion chlorure  $\text{Cl}^-$  a une masse molaire de  $35.5 \text{ g}$ , la réaction fera intervenir 2 fois  $35.5 \text{ g}$ , soit  $71.0 \text{ g}$  de chlorure



pour 24.3 g de magnésium. Le tout formera, donc, 95.3 g de chlorure de magnésium. Nous voyons clairement que l'expression des quantités présentes en solution et/ou intervenant dans une réaction chimique sous forme de leurs masses est malaisé à manipuler car la stoechiométrie de la réaction n'y apparaît pas clairement.

Par contre, la même réaction exprimée en moles est nettement plus claire : 2 moles de chlorures réagissent en effet avec 1 mole de magnésium pour former 1 mole de chlorure de magnésium.

### 2.1.1.12 Concentration molaire

Trois unités principales nous intéressent préférentiellement en chimie marine :

- ▷ La **molarité** (M) qui exprime le nombre de moles de soluté par litre de solution ( $\text{mol.L}^{-1}$ )
- ▷ La **molalité** (m) exprime le nombre de moles de soluté par kilo de solvant ( $\text{mole.kg-H}_2\text{O}^{-1}$ )
- ▷ La **molinité** est une mesure moins connue qui exprime le nombre de moles de soluté par kilo de solution ( $\text{mole.kg-soln}^{-1}$ )

Les chimistes utilisent souvent la molarité. En effet, c'est la mesure la plus proche de la façon dont une solution est préparée: un poids de sel (facile à convertir en nombres de moles) est ajouté dans un matras jaugé, et le solvant est ajouté au trait, donnant ainsi une mesure du volume de la solution. Au final, la concentration est donc naturellement exprimée en molarité.

Cependant, les liquides se dilatant et se contractant avec la température, la molarité est dépendante de celle-ci. Cela pose problème lorsque le liquide est amené à changer de température, comme cela se passe dans la mer. La pression a également un effet sur le volume du liquide, même si cet effet est plus limité. Pour être tout à fait précis, il faudrait préciser à quelle température (et quelle pression) la molarité est déterminée.

La molalité est préférée pour son indépendance à la température et à la pression. Pour la solution d'un seul sel dans de l'eau pure, la molalité est facile à déterminer en pesant la solution, connaissant le poids de sel (ou son nombre de moles, puisque la conversion en poids est facile à faire) dans la solution, et en pesant cette solution.

En eau de mer, ce calcul est plus difficile, car la détermination du poids de l'eau à partir de la pesée d'eau de mer nécessite également la connaissance du poids des nombreux ions qui constituent cette eau de mer. C'est pour cette raison que les chimistes marins tendent à préférer la molinité comme mesure de concentration dans l'eau de mer.

*Remarque* : si la densité d'un liquide tend à diminuer avec l'augmentation de température (le liquide se dilate), l'eau a un comportement particulier car en dessous de 4°C, elle se contracte à nouveau. Cela rend encore plus difficile le travail en terme de molarité, et le calcul de la densité de l'eau fait appel à des équations complexes qui calculent la densité de l'eau en fonction de sa température, salinité et pression. Pour l'eau de mer, cette équation s'appelle l'**équation d'état de l'eau de mer**.

## 2 General instructions for working in the lab

### 2.1.1.13 Concentration massique

Différentes unités de concentration massique existent :

- ▷  $\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} = \text{‰}$
- ▷  $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1} = \text{ppm}$ , “parts par million”
- ▷  $\mu\text{g} \cdot \text{kg}^{-1} = \text{ppb}$ , “parts par billion”
- ▷  $\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$
- ▷ etc.

Il vaut mieux convertir ces unités en concentration molaire, ou en molinité.

### 2.1.1.14 Conversion entre unités

- ▷ **Convertir des grammes en moles** : Soit  $x$ , la masse du sel étudié et  $MM_x$ , sa masse molaire. La quantité de ce sel en moles,  $y$ , sera égale à :

$$y(\text{mol}) = x(\text{g}) / MM_x(\text{g} \cdot \text{mol}^{-1})$$

- ▷ **Convertir des moles en grammes** : Soit  $x$ , le nombre de moles d'un sel à peser et  $MM_x$ , sa masse molaire. La quantité de ce sel en grammes,  $y$ , sera égale à :

$$y(\text{g}) = x(\text{mol}) \cdot MM_x(\text{g} \cdot \text{mol}^{-1})$$

- ▷ **Calcul d'une molarité** :

$$C(\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}) = N(\text{mol}) / V(\text{L})$$

Avec :  $C$  = concentration en molalité ,  $N$  = Nombre de moles et  $V$  = Volume.

### Exemples de conversion

- ▷ Soit 0.1 L de solution à 1M, la **quantité de molécules** présente sera égale à :

$$N = C \cdot V = 1\text{mol} \cdot \text{L}^{-1} \times 0.1\text{L} = 0.1\text{mol}$$

- ▷ Soit 2 moles d'un sel dissoutes dans 0.25 L de solution, la concentration exprimée en molarité sera égale à :

$$C = N / V = 2\text{mol} / 0.25\text{L} = 0.5\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$$

- ▷ Préparation d'une solution  $2 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  (= 2 M). Il faudra ajouter 2 moles de sel pour chaque litre préparé. Si la MM du sel est de  $10 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$ ,  $2 \text{ mol} \cdot 10 \text{ g}$  par litre d'eau = 20 g à peser.
- ▷ Si la quantité à préparer est 0,5 L,  $20 \text{ g} \cdot 0,5 \text{ L} = 10 \text{ g}$  à peser

TODO De molarité à molinité : (1 - 0.001005 \*S)

### 2.1.1.15 Calcul et conversion de concentrations dans seacarb

Philippe propose une version améliorée, appelée **seacarb2**. Création d'un objet " **swconc** " dans R. 1.2 mol/kg-soln  $\text{Ca}^{++}$  dans une eau de mer (S, t, p) 1.2 : mesure, mol/kg-soln  $\text{Ca}^{++}$  : métadonnées, (S, t, p) : propriétés de l'eau de mer, salinité, température en °C et pression (0 bar en surface)

### 2.1.1.16 Préparation d'une solution de sel à molarité connue

[un peu trop de texte, et je verrais plutôt des indications à l'aide de pictogrammes, un peu comme les protocoles Merck... mais il ne faut pas non plus perdre trop de temps sur ce genre de documents!]

[points importants qui n'ont pas été évoqués: la qualité de l'eau utilisée pour faire la solution, et le lavage de la verrerie]

La préparation d'une solution à molarité connue est une étape cruciale pour la bonne réalisation d'une expérience. Il faut donc être très attentif à chacune des étapes.

Qualité des sels définie par leur pureté, en fonction de l'usage (technique, pur, très pur, pour analyse, normatom, ..). Cette pureté reflète la quantité de contaminants présents à l'état de traces dans le sel purifié. Selon l'usage, il faudra donc vérifier ce que le sel convient. Par exemple, ne pas utiliser un sel contenant trop de nitrates pour réaliser une solution tampon si cette dernière servira ensuite à effectuer un dosage des nitrates en trace !

La pesée : la concentration à préparer est donnée en moles par litre de solution (molarité). La balance pèse en grammes. La première étape consiste donc à convertir notre concentration dans la bonne unité (voir plus haut). La balance doit être disposée à plat : un niveau à bulle est présent sur celle-ci pour le vérifier. Il faut toujours vérifier la calibration de la balance, pour ne pas induire d'erreurs de mesure (se renseigner auprès d'un "habitué" du laboratoire). Les sels vont être pesés dans une nacelle, il est donc impératif de tarer la balance avec la nacelle avant la pesée. On ajoute ensuite la bonne quantité de sel dans cette nacelle, **proprement et sans en mettre à côté, cela va de soi**. On ne remet jamais du sel prélevé dans son pot pour éviter toute contamination. Faire bien attention aux chiffres significatifs : si une balance pèse au mg près, il ne faut pas arrondir la pesée au dixième de g !

Verser le sel dans un matras jaugé : une fois la bonne quantité de sel pesée, elle peut être placée dans un matras jaugé. Un matras permet de mesurer précisément un volume à l'aide d'un trait sur celui-ci. La température de la solution doit donc être proche de la température d'utilisation du matras (25°C dans la plupart des cas, spécifiée sur le matras; attention au dégagement de chaleur lorsque certains sels se dissolvent dans le solvant!). Le sel est placé dans le matras. Dans la plupart des cas, il reste des cristaux sur la nacelle, qui peuvent être placés, eux aussi, dans le matras à l'aide d'un jet à la pissette d'eau distillée. Après s'être assuré que TOUT le sel pesé est dans le matras, de l'eau distillée peut être ajoutée jusqu'à approcher le trait. On attend ensuite que le sel se dissolve entièrement, et que les bulles qui apparaissent éventuellement sur les parois du matras s'évacuent. On peut ensuite mettre au trait

## 2 General instructions for working in the lab

précautionneusement : la surface de la solution formant un ménisque, c'est la base de celui-ci qui doit être alignée sur le trait.

Le matras jaugé est un outil de mesure et non de stockage, il conviendra donc de stocker la nouvelle solution dans un récipient approprié, en y indiquant la date de fabrication, si possible, une date de péremption, la concentration obtenue, l'auteur, etc. La solution sera stockée sous hotte si elle est toxique, au frigo si elle est instable à plus haute température.

Si la concentration à préparer est faible (cf. faible masse de sel à peser), on préférera faire une solution mère de concentration plus forte, et diluer celle-ci ensuite. Cette étape intermédiaire permet de ne pas faire d'erreurs de mesure liées à la limite de précision de la balance. Pour effectuer la dilution, on prélèvera une partie de la solution mère avec une pipette jaugée.

Utilisation d'une pipette jaugée : si la pesée des sels de la solution est très importante, le prélèvement de la bonne quantité de celle-ci l'est tout autant. L'instrument de précision approprié est la pipette jaugée. Mesurant un volume, la température de la solution doit aussi être adéquate (25°C dans la plupart des cas, spécifiée sur la pipette). On pipette la solution jusqu'à arriver au-dessus du trait de volume (utiliser une poire spéciale si la solution est toxique ou corrosive!). Ensuite, à l'aide du doigt, on laisse s'écouler le trop de solution, jusqu'à arriver au trait, pipette maintenue en position verticale, et pointe de la pipette reposant en biais sur une paroi en verre. La surface de la solution formant un ménisque, c'est la base de celui-ci qui sera alignée sur le trait. On peut ensuite laisser écouler la solution dans un récipient. Le bout des pipettes jaugées est étudié de telle manière que le bon volume de liquide s'écoule si l'extrémité de la pipette est disposée contre la paroi du récipient, à 45°. Des tests avec eau distillée et pesée peuvent être rapidement effectués pour vérifier que l'utilisation de ces pipettes est bien comprise (ne pas hésiter à demander à un collègue expérimenté).

TODO : protocole correct à utiliser pour préparer une solution de sel à molarité connue. Bien insister sur l'utilisation d'une balance, d'un matras, d'une pipette jaugée. Mise à température de la solution et dissolution complète du sel avant mise au trait, qualité d'eau et du sel.

Solution à très faible concentration: faire une solution mère et diluer 1 ou 2 fois.

Calcul de quantité de sel à ajouter, calcul d'erreur...

## 3 Laboratory protocols

This section covers the various protocols used at EcoNum lab. TODO...

### 3.1 Measuring the alkalinity in seawater

#### 3.1.1 Protocole de dosage précis

Ce protocole utilise une burette automatique. Une version rapide, mais moins précise est également utilisée au laboratoire pour un check up de l'alcalinité dans les mésocosmes lorsque la précision maximale n'est pas nécessaire (voire plus loin).

##### 3.1.1.1 Préparation de l'échantillon

Prélever au moins 15 mL d'échantillon pour chaque dosage. Filtrer immédiatement l'échantillon sur une membrane type Millipore de 0.22  $\mu\text{m}$  si l'on suspecte que des particules calcaires solides sont également présentes (conseillé dans tous les cas). L'échantillon doit être dosé dans les 24 h. Il peut être conservé au frigo à 4°C, mais ne peut pas être congelé.

Relever également le pH (au centième d'unité près), la température (au dixième d'unité près) et la salinité (au dixième d'unité près) pour calculer les concentrations en diverses espèces chimiques dans l'eau. La concentration en calcium dans l'eau doit également être déterminée avec précision pour pouvoir calculer l'oméga aragonite/-calcite de l'eau.

##### 3.1.1.2 Matériel et réactifs

Le dosage se fait à l'aide d'une burette automatique de type Schott Titronic T200 ou Titronic Automatic équipée d'un module de dosage de 20 mL, et d'un pH-mètre de type WTW 340i ou Consort P602 muni d'une sonde pH et d'une sonde de température (ou électrode combinant les deux), tous deux reliés à un PC sur lequel le logiciel de dosage fourni avec le package **econum** est installé. La burette automatique est identifiée comme unité '01' est est branchée sur le port Com1 avec les paramètres suivants : vitesse = 2400 bauds, aucune parité, 8 bits et 2 bits d'arrêt (autres paramètres pour la Titronic Automatic => homogénéiser!). Le pH-mètre est relié sur le port série Com2 ou Com3 avec les paramètres suivants : vitesse = 4800 bauds, aucune parité, 8 bits et 2 bits d'arrêt, détection de porteuse et protocole Xon/Xoff activés (vérifier paramètres pour le Consort P602). Le tout est complété d'un bras porte-électrode et

d'un agitateur magnétique surmonté d'une feuille de polystyrène expansé pour éviter de réchauffer la solution pendant le titrage.

La solution de titration est du HCl 0.0025 N préparée à partir de solution mère HCl 0.1 N (ampoule spéciale de solution titrée diluée dans 1L d'eau ultrapure). Cette solution mère est diluée ensuite à 0.0025 N en pipetant 25 mL de la solution mère dans un matras jaugé de 1000 mL. De l'eau ultrapure est ajoutée au trait. La solution mère se garde 6 mois dans un récipient hermétique, à 4°C et à l'obscurité. La solution diluée à 0.0025 N de HCl doit être utilisée dans les 3-4 semaines qui suivent sa préparation.

#### 3.1.1.3 Préparation de la burette

- ▷ Remplir la burette d'une solution 0.0025 N de HCl fraîchement préparée et homogénéiser la solution dans le piston. Vérifier qu'il ne subsiste aucune bulle d'air dans ce même piston. Rincer au moins 3 fois le piston de la burette automatique avec cette nouvelle solution titrante avant de l'utiliser.
- ▷ Etalonner l'électrode de pH avec des tampons NBS 6.87 et 4.01. Utiliser de préférence des tampons en ampoule à usage unique.
- ▷ Placer la pointe de la burette automatique, ainsi que les sondes dans le l'eau distillée. Lancer la procédure de préparation qui consiste à distribuer 0.1 mL de solution titrante, et ensuite, de mettre la burette à zéro.

#### 3.1.1.4 Dosage de l'alcalinité

- ▷ Etalonner un becher de 50 mL (au mg près). Y placer 10 mL de l'échantillon (qui doit être à température ambiante). Peser le tout et noter le poids au mg près de l'échantillon.
- ▷ Placer le becher et son échantillon sur l'agitateur magnétique. Ajouter une puce et régler l'agitation de manière plutôt forte pour qu'un léger vortex se forme à la surface afin de permettre un bon dégazage du CO<sub>2</sub> formé. Placer la sonde pH et la pointe de la burette de titration dans l'échantillon.
- ▷ Entrer les paramètres dans le programme (échantillon, auteur, préfiltration, poids d'échantillon, pH, température et salinité *in situ*, bore, calcium, etc.).
- ▷ Après stabilisation de la lecture du pH, lancer le dosage. La fin du dosage est signalée par le programme. S'il faut interrompre le tout à un moment quelconque, appuyez sur la touche Esc.
- ▷ Une fois le dosage effectué correctement, les données sont sauvegardées dans la base de donnée des dosages du laboratoire. [à faire, et également, une explication de la méthode à utiliser pour récupérer des données à partir de cette base !]

## 3.1.1.5 Calculs

[à remanier, et vérifier par rapport à la dernière version en date des équations]

Le point d'équivalence du titrage complet de l'alcalinité est calculé par régression linéaire sur 10 points de  $H^+$  en fonction de mL de HCl ajouté. Les  $H^+$  correspondent à  $(V + V_T) \cdot (10^{-Ph})$  où  $V$  est le volume de l'échantillon et  $V_T$  est le volume de solution titrante ajouté.

Le volume de l'échantillon  $V$  est calculé comme:  $P / (1 + (-0.15741 + 0.06793952 \cdot T - 0.00909529 \cdot T^2 + 0.0001001685 \cdot T^3 - 0.000001120083 \cdot T^4 + 0.000000006536332 \cdot T^5 + (0.824493 - 0.0040899 \cdot T + 0.000076438 \cdot T^2 - 0.00000082467 \cdot T^3 + 0.0000000053875 \cdot T^4) \cdot S + (-0.00572466 + 0.00010227 \cdot T - 0.0000016546 \cdot T^2) \cdot S^{3/2} + 0.00048314 \cdot S^2) / 1000)$

où  $P$  est le poids de l'échantillon en g,  $T$  est la température en °C et  $S$  est la salinité.

Connaissant l'équation de la droite de régression  $H^+ = a \cdot V_T + b$ , le volume titrant à l'équivalence,  $V_{eq}$  est calculé comme  $-b/a$ . En utilisant les constantes suivantes (à 1 atm) :

- ▷  $KH_2O$  (mol/kg) =  $10^{-(3441 / (273.15 + T_{in situ}) + 2.241 - 0.09415 \cdot S_{in situ}^{1/2})} \approx 2.41 \cdot 10^{-14}$ ,
- ▷  $K_0$  (mol/atm) :  $\exp(-60.2409 + 93.4517 \cdot (100 / (273.15 + T)) + 23.3585 \cdot \ln((273.15 + T) / 100) + S \cdot (0.023517 - 0.023656 \cdot ((273.15 + T) / 100) + 0.0047036 \cdot ((273.15 + T) / 100)^2)) \approx 3.72 \cdot 10^{-2}$ ,
- ▷  $K_1$  (mol/kg) :  $10^{-((19.894 - 840.39 / (273.15 + T) - 3.0189 \cdot \ln(273.15 + T)) \cdot S^{1/2} + 0.00679 \cdot S + 6320.81 / (273.15 + T) - 126.3405 + 19.568 \cdot \ln(273.15 + T))} \approx 1.13 \cdot 10^{-6}$ ,
- ▷  $K_2$  (mol/kg) :  $10^{-((17.176 - 690.59 / (273.15 + T) - 2.6719 \cdot \ln(273.15 + T)) \cdot S^{1/2} + 0.02169 \cdot S + 5143.69 / (273.15 + T) - 90.1833 + 14.613 \cdot \ln(273.15 + T))} \approx 7.81 \cdot 10^{-10}$ ,
- ▷  $KB$  (mol/kg) :  $\exp((0.5998 - 75.25 / (273.15 + T)) \cdot S^{1/2} - 0.01767 \cdot S + 148.0248 - 8966.9 / (273.15 + T) - 24.4344 \cdot \ln(273.15 + T)) \approx 1.87 \cdot 10^{-9}$ ,

on obtient :

- ▷  $\text{Gamma} = -0.15741 + 0.06793952 \cdot T - 0.00909529 \cdot T^2 + 0.0001001685 \cdot T^3 - 0.000001120083 \cdot T^4 + 0.000000006536332 \cdot T^5 + (0.824493 - 0.0040899 \cdot T + 0.000076438 \cdot T^2 - 0.00000082467 \cdot T^3 + 0.0000000053875 \cdot T^4) \cdot S + (-0.00572466 + 0.00010227 \cdot T - 0.0000016546 \cdot T^2) \cdot S^{3/2} + 0.00048314 \cdot S^2 = \text{environ } 24 \text{ kg/m}^3$ .
- ▷  $A_T$  (meq/kg) =  $V_{eq} \cdot \text{titre HCl} / P \cdot 1000$
- ▷  $A_C$  (meq/kg) =  $(A_T / 1000 - 0.000012 \cdot S \cdot KB / (H^+_{sws} + KB) - KH_2O / H^+_{sws} + H^+_{sws}) \cdot 1000$
- ▷  $\text{SumCO}_2 = [CO_2] + [HCO_3^-] + [CO_3^{2-}]$

### 3 Laboratory protocols

- ▷  $B_T = 0.000012 \cdot S$
- ▷  $PCO_2 \text{ (atm)} = [CO_2] / K_0$
- ▷  $[CO_2] = [HCO_3^-] / K_1 \cdot H^+_{sws}$
- ▷  $[HCO_3^-] = AC / 1000 / (1 + 2 \cdot K_2 / H^+_{sws})$
- ▷  $[CO_3^{2-}] = [HCO_3^-] \cdot K_2 / H^+_{sws}$
- ▷  $[B(OH)_3] = B_T - [B(OH)_4^-]$
- ▷  $[B(OH)_4^-] = B_T \cdot KB / (KB + H^+_{sws})$
- ▷  $[H^+]_{sws} = (10^{-(pH_{nbs \text{ in situ}} + 0.076)}) \cdot (1 + 12 \cdot 0.0008066 \cdot S) \cdot (1000 - S) / 1000$
- ▷  $pH_{sws} = -\log((10^{-(pH_{nbs \text{ in situ}} + 0.076)}) \cdot (1 + 12 \cdot 0.0008066 \cdot S) \cdot (1000 - S) / 1000)$

*Exemple de valeurs:*

- ▷  $P = 61.36 \text{ g,}$
- ▷  $V_{eq} = 15.37 \text{ mL,}$
- ▷  $HCl = 0.01 \text{ N,}$
- ▷  $a = 0.00808,$
- ▷  $b = -0.12413,$
- ▷  $S = 32.90,$
- ▷  $\text{Gamma} = 24.223,$
- ▷  $T = 15.60^\circ\text{C,}$
- ▷  $pH_{nbs \text{ in situ}} = 7.71,$
- ▷  $A_T = 2.504 \text{ meq/kg,}$
- ▷  $A_C = 2.471 \text{ meq/kg,}$
- ▷  $\text{SumCO}_2 = 2.43 \cdot 10^{-3},$
- ▷  $B_T = 3.95 \cdot 10^{-4},$
- ▷  $PCO_2 = 1.14 \cdot 10^{-3} \text{ atm,}$
- ▷  $[CO_2] = 4.25 \cdot 10^{-5},$
- ▷  $[HCO_3^-] = 2.30 \cdot 10^{-3},$



- ▷  $[\text{CO}_3^{2-}] = 8.60 \cdot 10^{-5}$ ,
- ▷  $[\text{B(OH)}_3] = 3.62 \cdot 10^{-4}$ ,
- ▷  $[\text{B(OH)}_4^-] = 3.24 \cdot 10^{-5}$ ,
- ▷  $[\text{H}^+]_{\text{sws}} = 2.09 \cdot 10^{-8}$ ,
- ▷  $\text{pH}_{\text{sws}} = 7.68$

### 3.1.2 Protocole de dosage rapide

[TODO, baser ce protocole sur le test Salifert... mais avec pesée de l'échantillon et à la fin de la titration + étalonnage de la solution titrante pour plus de précision].

### 3.1.3 Références

[refs TODO!].

## 3.2 Measuring zooxanthellae with the FlowCAM

TODO: make the protocole here. The following part is just a transcript of instructions received from Fluid Imaging...

### 3.2.1 Operation of the FlowCAM using a 50 µm Flow cell

For processing samples within 15-20 min using a 20x objective and 50 µm flowcell:

1. Shorten the length of the tubing between the funnel and the flow cell as much as possible (~1cm).
2. If possible use a smaller funnel with a narrow base (less overall volume – one possible idea would be to cut the top end of a disposable plastic pipet that has a very narrow stem diameter).
3. Add the sample and set the pump to PRIME.
4. Once the sample has reached the flow cell, process the sample using autotrigger mode for the necessary period of time (~5-10 mins).
5. Once the run has finished, remove excess sample in the funnel with a pipet (disposable), add and rinse funnel with filtered seawater. Have the pump set to prime. Rinse funnel with filtered seawater and continue to remove fluid from the funnel while the pump is priming with a pipet – continue for 30 seconds until FSW has entered the 50 µm depth flow cell.

### *3 Laboratory protocols*

6. Remove the FSW from the funnel to the neck of the funnel. Add your next sample and prime the pump once again until the sample has entered the flow cell (monitor using setup and focus), then begin to run the next sample.
7. With a 5-10 min run using autotrigger, and these rinsing techniques the processing time of each sample should be approximately 15-20 minutes.

## 4 Computer control of scientific devices

At EcoNum, we use scientific devices connected to computers as much as possible. On one hand, it allows great flexibility in automatizing even complex tasks by writing computer programs to pilot the scientific devices, and in the other hand, it is fast and reliable to collect data from instruments directly into the computer as much as possible. When you take note of your measurements, then introduce them manually in the computer, you waste your time, but there is also a possibility to make mistakes when you copy the data.

First few sections deal with basic interfaces management (ph-meters, controller cards, scales, etc.), and following sections cover more elaborate implementations like the automatic titration procedures, and the chemostat.

### 4.1 The parallel interface card

The parallel interface card is very simple to pilot. It is plugged to the computer with a parallel cable and it allows to master eight channels (with relays) corresponding to the eight bits of a byte. Thus, sending one byte to the card through the parallel cable instructs to open (bit is 1) or close (bit is 0) respective channels. The **econum** package contains functions to pilot that card through a special LPT driver under Tcl/Tk. This driver is only working under Windows 95 -> XP. The card must be connected to usual LPT1, LPT2, or LPT3 parallel ports (no exotic parallel ports supported yet). Its use is very simple through the unique `para()` function. Basically, you specify a vector of eight logicals indicating the state of each channel you want, the parallel port where the card is connected<sup>1</sup>, and you change the state of the card instantly. Additionally, you can specify the argument `change = FALSE` and in this case, the function does not change the state of the eight channels but it reads the current state of the card. Here is an example:

```
> options(para.port = 1)      # If your card is connected to LPT1
> para(c(T,F,F,T,F,F,F,T))  # Channels 1, 4, 8 ON, the others OFF
> para(change = FALSE)       # Read current state
> para(c(F,F,F,F,F,F,F,F))  # All channels OFF
> para(change = FALSE)       # Make sure current state is changed
```

---

<sup>1</sup>It is much more convenient to use the `options(para.port = X)` instruction before using `para()`, where X is the parallel port 1, 2 or 3. So that, you set up the port once and you do not need to specify it again and again each time you call `para()` (see the example).



# 5 Annexes

## 5.1 A couple of recommendations

- ▷ Be consistent with the spelling of your name in all your scientific literature. In particular, decide if you indicate initial al middle name(s) or not, consistently (J. Doe *versus* J.F. Doe). Changing this from paper to paper makes it difficult to follow your work and you will be listed under different authors in the online databases.
- ▷ Choose a scientific journal *before* you write your paper. Make sure to read which topics the journal covers and to write your paper accordingly. Read carefully author's instructions and follow them from the beginning.
- ▷ Always check copyright policies of the journals you submit paper, and later on, when you want to send reprints (possibly in PDF format) or publish them on Web sites. It is not always possible to do so. Sometimes, you can only publish the summary, but not the full paper. If you want to diffuse a work largely and easily (a white paper whose goal would be to be accessible by everybody, for instance), choose a publisher that allows you to freely publish it on the Web.
- ▷ Make sure all your scientific literature (from the most confidential internal note or report to published books) has page numbers, correct and complete references, author names, date, and possibly, version, ISBN, or copyright information if required.
- ▷ Usual rules for page numbering is to number *every* page (even blank ones) and start at one for the recto of first printed page in arabic numerals. Table of contents and index may be numbered separately, possibly in roman numerals to avoid confusion. When you decide how to number your pages, consider if your work will be delivered as a PDF. In this case, it is much better to decide to number all pages in a single sequence with arabic numerals, starting at one from the title page. That way, page numbering will be the same as the page number displayed in, say, Adobe Acrobat Reader or GostView. The L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X styles "article" and "report" do this by default, but not the "book" style, for instance.
- ▷ To distribute your work online, always prefer Adobe's Portable Document Format (PDF). Even for presentations, like those produced with Microsoft Powerpoint, do prefer PDF for distribution, but take care that complex transitions and animations are lost (it is always better to avoid them, when possible, in presentations)!

- ▷ When converting your document to PDF, always keep in mind the following points: (1) will your vector drawings be converted into raster images, and if so, how would they look like on screen and printed? (2) What resolution for images shall you choose? The optimal one is different for documents to be viewed on screen or to be printed. If you need both, consider something like 150 dpi, which is often a good compromise, but test the PDF to get an idea of the result, both on screen and after printing it on a good laser and a good inkjet printers. (3) The *shrink to fit* function in Adobe Acrobat Reader is nice for printing non-ISO paper size, and in particular to cope with little difference between standard A4 format and North American Letter format. (4) PDF uses built-in compression. Documents are often smaller than in their original format (especially if you embed large images in them), after choosing a reasonable resolution of course (see point 2). You don't need to zip, or compress the PDF with another mean, and the gain would be marginal. (5) Make sure your PDF converter creates a readable table of contents, and can manage hyperlinks (URLs, but also internal cross-references, links to titles in the document from the table of content, and links to corresponding pages in the index. Not all PDF converters take this into account, especially those using a virtual printer driver. OpenOffice converter does a good job, as well as Adobe Acrobat Distiller for Microsoft Office documents, and L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X when using the **hyperref** package. (6) Always check if the fonts you use are available and look for the possibility to embed most exotic fonts in your document (display the PDF on a machine that does not have that font installed). (7) Some old PDF converters, like Ghostscript < 6.5 lack support for Type1 fonts and transform exotic fonts into ugly raster representations. Take care of this and consider a different converter if you notice an obvious degradation of the font in the final PDF document. (8) Does your PDF converter and reader manage to get good-looking anti-aliased images, especially for your vector drawings? Not all couples of converters/readers do this. If you have a reader that does not anti-alias text and images, try to find one that does it: it dramatically increases the readability of your document, especially on low-resolution screens. (9) Look at metadata (title, author, keywords, etc.) embedded in your PDF document. Are these correct and up-to-date? If not, look in the documentation of your PDF converter to determine how you can change this (but it usually takes the data from the *properties* defined for the initial document. (10) Use appropriate format for all your pictures. A vector graphic format (SVG, WMF/EMF, PDF, ...) is better for diagrams and graphs. A raster format should be used for the others. There are two types of raster formats: those who compress data without loss of information (GIF, PNG, ...) that are most suitable for screenshots or any images containing text and large areas of uniform colors with sharp edges, and those with lossy compression (typically JPEG) that do an excellent job with maximum compression for photos that have to be viewed unmodified by humans. Even for photos, do not use JPEG if the image must be modified, or some measurements need to be done on them using an image analysis software. Check the number of colors or gray levels the format can handle. In particular, avoid GIF format if

you need more than 256 different colors in your image. Take care that many distillers use a JPEG compression for *all* images in your document. There is a little script [here](#) that deactivates JPEG compression for selected images in the process of creating a PDF.

- ▷ You can test your PDF converter/distiller and reader with the [testflow](#) document if you use T<sub>E</sub>X. That document contains a series of commands and features that are known to cause problems in the production of a PDF version of your L<sup>A</sup>T<sub>E</sub>X work.
- ▷ Always think at your production chain and consider solutions that are *traceable* and *reproducible*. Here are a couple of recommendations.