

Développement de la mesure du B/Ca au LSCE

Introduction

Dans le but de développer l'analyse du B/Ca au LSCE, j'ai choisi de démarrer sur la base de deux protocoles publiés pour les foraminifères : (1) le protocole d'analyse des éléments traces dans les coquilles de foraminifères à l'aide d'un ICP-MS établi par Yu et al. (2005), et (2) le protocole de nettoyage des foraminifères pour l'analyse des éléments traces de la calcite proposé par Barker et al. (2003). Ces protocoles décrivent d'une part les étapes de nettoyages nécessaires pour « dépolluer » les échantillons des contaminants qui peuvent s'y intégrer durant la sédimentation ou après dépôt, et d'autre part l'influence de certains paramètres chimiques (échantillons) ou physiques (instrumentation) influant sur la mesure du B/Ca. J'ai également pris en compte les travaux analytiques déjà en place au LSCE concernant l'analyse par ICP-QMS des éléments traces (incluant le B/Ca) pour les spéléothèmes ou les coraux (Douville et al., 2010 ; Bourdin et al., 2011 ; Hathorne et al., *in prep.*). La première partie de cette thèse (~12 mois) a donc consisté à implémenter ces protocoles au LSCE puis à effectuer un certain nombre d'expériences pour les tester et, le cas échéant, les améliorer.

Dans ce chapitre, nous allons nous attacher à détailler plus particulièrement:

1/ comment se réalise l'analyse des éléments traces des tests de foraminifères, et plus particulièrement pour le bore, en terme de difficultés d'analyse, de principe de mesure et de configuration de l'appareil servant à la mesure;

2/ les adaptations faites au protocole d'analyse pour mieux contraindre le B/Ca, en terme de gestion des blancs, des solutions de calibration, des standards et de traitement des données, dans le but d'atteindre une meilleure reproductibilité.

3/les techniques employées pour la préparation des échantillons de foraminifères, avec leur lavage et l'influence de chacune des étapes qui le compose;

4/ nous terminerons par discuter les données de l'intercomparaison en cours avec le Godwin Laboratory (Cambridge) – le laboratoire qui a initié la mesure du B/Ca sur les coquilles de foraminifères.

1. L'analyse du B/Ca sur spectromètre de masse ICP-QMS

1.1. Le B/Ca des foraminifères : de la difficulté de l'analyse

La mesure du bore présente plusieurs difficultés qu'il est essentiel de prendre en compte pour optimiser son analyse. Avant tout, le bore est un élément présent dans de nombreux matériaux, en plus ou moins grande concentration. Il est notamment présent dans les verres borosilicatés, qui sont extensivement employés en laboratoire pour leurs propriétés de résistance chimique et thermique. Cette particularité d'omniprésence du bore dans la plupart des matériaux oblige à la plus grande circonspection quant à la matière dont est composé le matériel servant à la mesure du B/Ca. Ainsi, afin d'éviter toute contamination due au matériel, pour la mesure du B/Ca dans les foraminifères nous avons choisi d'utiliser, tant pour le nettoyage que pour la mesure, des matériaux inertes vis-à-vis du bore, tels que les plastiques Téflon® PFA et FEP, ou le quartz en remplacement du verre (chambre de nébulisation de l'ICP-QMS).

Du point de vue solutions, et notamment les solutions commerciales servant aux nettoyages ou utilisées pour préparer des solutions de calibration, le bore pose également problème. C'est en effet un élément relativement difficile à éliminer et les solutions commerciales, notamment la soude (NaOH), peuvent contenir des traces non négligeables de bore, d'autant plus qu'un grand nombre de ces solutions sont commercialisées dans des bouteilles en borosilicates. Nous avons donc utilisé essentiellement des réactifs concentrés de haute pureté, dilués dans de l'eau ultrapure (résistivité de 18.2 M Ω .m) obtenue à l'aide d'un purificateur Elga® Maxima avec de l'eau préalablement permutée sur une colonne Aquadem® PF210. Nous avons également limité la concentration des solutions pouvant présenter un risque du fait de la suspicion de présence de bore en quantité non négligeable dans ces solutions (voir section 3.2).

Le bore est également un élément que l'on pourrait qualifier de « collant », c'est à dire ayant une très forte propension à adhérer aux parois. Il présente donc des propriétés d'effets mémoires élevées. Cette particularité se produit essentiellement dans les milieux neutres ou peu acides, le bore risquant ensuite d'être relargué et donc de contaminer les échantillons. Ainsi, pour éviter toute contamination, il est nécessaire d'adapter les concentrations des solutions servant à dissoudre l'échantillon lors du nettoyage (voir 3.2), mais également celles des solutions servant à rincer l'appareil de mesure. En effet, il apparaît plus efficace d'utiliser comme solution de rinçage un acide de haute pureté plus acide que la solution contenant l'échantillon afin de désorber plus de bore (voir section suivante). La facilité d'adsorption du bore pose également un autre problème au niveau de la mesure sur ICPMS: plus de temps est nécessaire pour stabiliser le signal en bore d'un échantillon, ce qui signifie une consommation importante de solution et donc une perte d'échantillon. De même, plus de temps est nécessaire pour le rinçage, afin de désorber le bore s'étant déposé sur les parois (capillaires, nébuliseur, chambre).

1.2. Principes de mesure et préparation de l'ICP-MS

En raison de la faible concentration des éléments traces dans la calcite des foraminifères, leur analyse requiert des appareils sensibles et précis capables de mesurer de quelques ng.L^{-1} à quelques $\mu\text{g.L}^{-1}$. L'appareil adapté pour ce type de mesure est le spectromètre de masse, et plus précisément les spectromètres à torche à plasma (Inductively Coupled Plasma - Mass Spectrometer). Ces ICP-MS fonctionnent sur un principe simple: l'échantillon en solution est transformé en aérosol par un nébuliseur, puis transporté jusqu'à la source. La source est une torche à plasma, le plasma étant un gaz (l'argon) ionisé dont la température avoisine les 6000 à 8000 °K. Dans ce plasma, la matrice est vaporisée et les éléments traces sont atomisés ou ionisés. Dans le cas d'un ICP-MS à quadrupole (ICP-QMS), les différents éléments chimiques composant l'échantillon sont alors séparés selon leur rapport masse/charge (m/z) avant d'être comptés par un détecteur de type Multiplicateur d'électrons à dynodes discrètes: (Figure 16), tandis que dans un appareil de spectrométrie d'émission lumineuse à source plasma (ICP- AES pour Atomic Emission Spectroscopy) on détecte l'émission lumineuse produite par la désexcitation des éléments. Ces deux types d'appareil sont complémentaires: 1) l'ICP-AES présente une très bonne précision ($\sim 0.2-0.5\%$) par exemple pour les métaux de transition ou les alcalino-terreux (ex : Mg/Ca) mais les limites de détection sont limitées à quelques ppb; 2) l'ICP-QMS se caractérise par une gamme dynamique linéaire de plus de huit ordres de grandeur lui permettant de travailler aussi bien sur les éléments majeurs que sur les éléments traces. Les limites de détection atteintes sont inférieures au ppt pour de nombreux éléments du tableau périodique et les niveaux de précisions sont de l'ordre du % à quelques ‰. Les interférences spectrales limitent l'utilisation de l'ICP-QMS pour la quantification précise des éléments situés entre 40 et 80 u.m.a (métaux de transition l'ICP-QMS), mais ces dernières années le développement des « cellules collisions - réactions » a permis de remédier à cet inconvénient majeur.

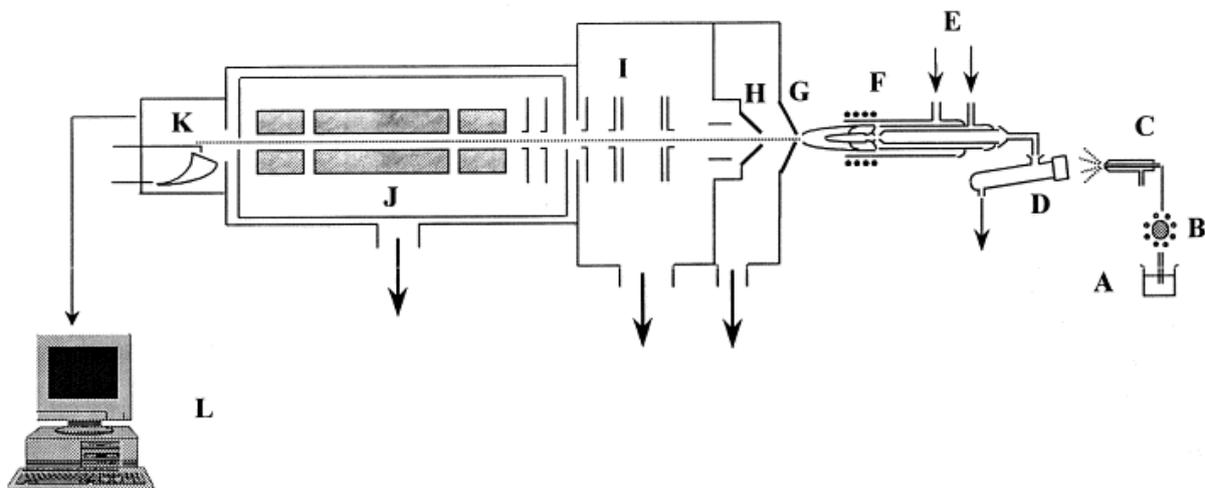


Figure 16 : Fonctionnement d'un spectromètre de masse à source plasma ICP-QMS. A-D : introduction de l'échantillon (respectivement tube, pompe péristaltique, nébuliseur, chambre) ; E : torche à plasma ; F : bobine ; G et H : cônes (sampler et skimmer, respectivement) ; I : lentilles ; J : quadrupole et K : détecteur

La spectrophotométrie d'émission atomique (ICP-AES) est une technique utilisée couramment pour la mesure du Mg/Ca des tests de foraminifères (e.g. Elderfield and Ganssen, 2000 ; de Villiers et al., 2002 ; Anand et al., 2003), mais la mesure précise du rapport B/Ca requiert une grande sensibilité, laquelle est obtenue sur ICP-QMS. Cette mesure présente deux difficultés majeures: l'effet de la matrice calcium qui nécessite de faire un compromis entre concentration en bore et précision de la mesure (Yu et al., 2005), et l'effet mémoire du bore de par son adsorption sur les parois.

Yu et al. (2005) ont montré que la matrice calcium, c'est à dire la concentration en Ca de l'échantillon après dissolution, avait une forte influence sur la précision de la mesure d'éléments traces légers comme Li et Mg, ou plus lourds comme Zn ou U. Pour contrer cet effet de matrice, il est donc nécessaire que tous les échantillons, ainsi que les solutions de calibration et les standards, possèdent la même matrice calcium lors de la mesure d'éléments traces. Le niveau de présence à 100 ppm de calcium a été retenu pour tenir compte de l'effet de matrice car cela permet d'obtenir une bonne reproductibilité sur l'ensemble des éléments majeurs et traces sans dérive majeure liée par exemple à l'encrassement des cônes par des dépôts de Ca, tout en assurant des niveaux de concentration suffisant pour leur détection (Yu et al., 2005). Ainsi, chaque échantillon doit être mesuré deux fois : (i) une première fois pour déterminer le niveau initial de la concentration en Ca, et (ii) une seconde fois pour la mesure finale, précise du B/Ca et du Mg/Ca, une fois que la concentration en [Ca] a été ramenée autour de 100ppm par dilution de la solution initiale. Nous utilisons un ICP- AES Varian® Vista pour la mesure de la concentration initiale en Ca. L'usage de l'ICP-AES permet ainsi de disposer des concentrations en Ca des échantillons et de les diluer à 100 ppm avant même la fin des calibrations sur ICP-QMS. Un faible volume de la solution contenant l'échantillon dissous est dilué arbitrairement (~1/5) puis mesuré sur ICP-AES afin de déterminer sa concentration en calcium. La concentration de l'échantillon en calcium est alors ajustée à 100 ppm par dilution avant de mesurer les éléments traces sur ICP-QMS.

Néanmoins, les relativement hautes valeurs de calcium posent un autre problème : l'encrassement progressif des cônes (figure 12, G et H) par dépôt de calcium, générant ainsi une perte de sensibilité lors de la mesure. Afin d'éviter une dérive excessive de l'ICP-QMS due à cet encrassement progressif, nous avons procédé à un conditionnement des cônes (Yu et al., 2005 ; Bourdin et al., 2011): préalablement à l'analyse, une solution à 100 ppm de calcium (issue du standard de calcite inorganique BAM) est introduite dans l'ICP-QMS pendant plusieurs heures (2 à 3). Cet encrassement volontaire permet de déposer un film de Ca relativement uniforme sur les cônes, prévenant ainsi toute dérive excessive par la suite. Les figures 10 et 11 montrent l'évolution des signaux du calcium et du lithium au cours de l'encrassement : le calcium montre au départ une perte de signal, puis le signal augmente ensuite au fur et à mesure de l'augmentation de saturation des cônes par le calcium avant que sa valeur ne se stabilise (figure 17). Dans le cas du lithium, présent en faible quantité dans le standard BAM, on observe une très forte décroissance au début de la phase d'encrassement et une stabilisation progressive du signal lorsque la durée d'encrassement augmente (Figure 18). Ainsi, malgré une perte de sensibilité sur certains éléments (notamment les légers), l'encrassement permet d'améliorer grandement la stabilité du signal, avec des dérives machine inférieures à 10% lors d'une session de mesure (une journée). Cet encrassement permet donc d'améliorer la reproductibilité des mesures.

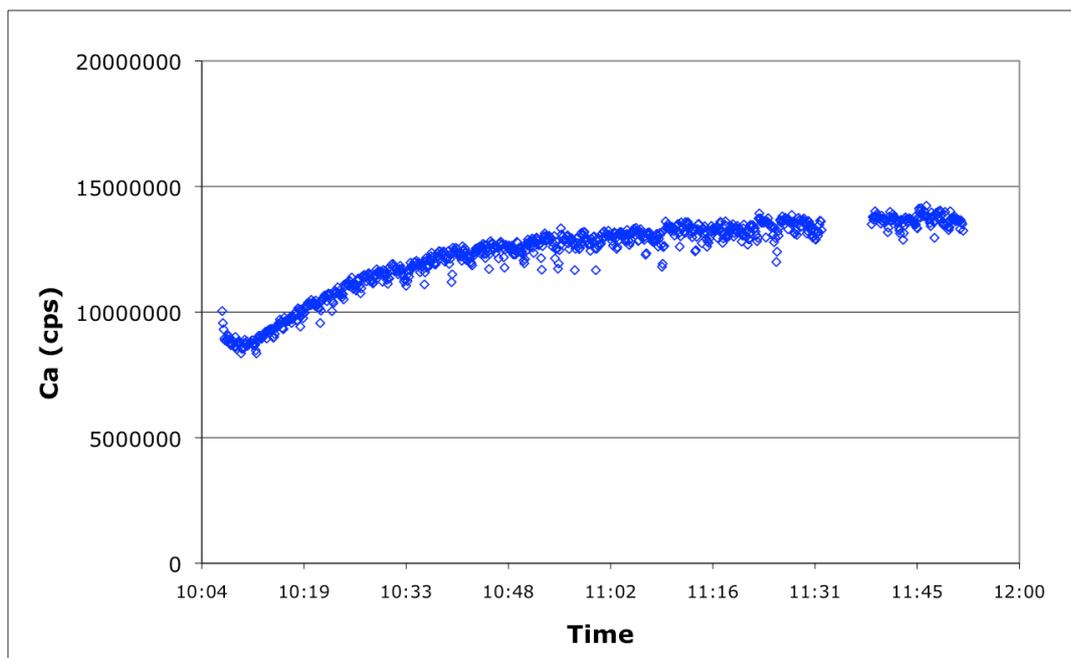


Figure 17 : Evolution du signal de calcium (en coup par seconde, cps) au cours d'une phase d'encrassage des cônes. De 11h31 à 11h38, les données ne sont pas présentées car aberrantes, à la suite d'un désamorçage de l'appareil de mesure.

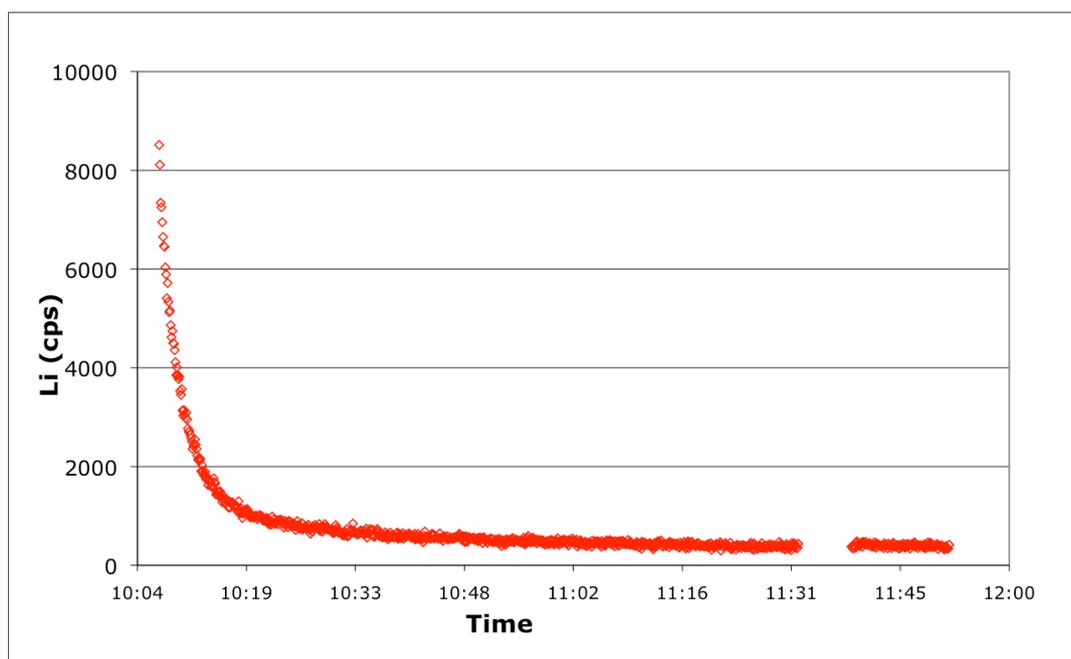


Figure 18 : Evolution du signal de lithium au cours de la phase d'encrassage (cps). De 11h31 à 11h38, les données ne sont pas présentées car aberrantes, à la suite d'un désamorçage de l'appareil de mesure.

Les effets mémoire liés au bore pose également problème lors de la mesure, sa forte propension à adhérer aux parois pouvant générer un biais. L'analyse des éléments traces sur ICP-QMS se produit comme suit : le voltage appliqué dans le quadrupole (figure 12, J) varie continuellement, séparant ainsi les ions par leur rapport m/z , qui sont donc comptés les uns après les autres. Chaque balayage (sweep) de l'ensemble de la

gamme m/z est reproduit plusieurs dizaines de fois (en moyenne 60 fois) pour obtenir une réplique (run), et plusieurs répliques (de 5 à 20) sont effectuées pour obtenir la mesure finale de chaque élément. Or, dans le cas du bore, les premières expériences ont montré une sous-estimation systématique du bore lors des 3 à 4 premiers runs, allant de -10% à -5% de la valeur moyenne finale. Cet écart sur les premiers runs, les suivants montrant des valeurs stables, est l'illustration de l'effet mémoire du bore : lors de la prise (uptake) d'échantillon, le bore se dépose d'abord sur les parois des capillaires, du nébuliseur et de la chambre, diminuant ainsi la concentration dans le nébulisat mesuré par le spectromètre de masse. Tandis que la solution continue d'être injectée dans la machine, on atteint progressivement une saturation pour le bore adsorbé sur les parois et la concentration en bore du nébulisat envoyé dans la torche plasma se stabilise (Table 1). Pour contrer cet effet mémoire, nous avons choisi d'allonger artificiellement le temps d'uptake sur l'appareil de mesure, ce qui permet de ne mesurer le bore qu'au moment où sa concentration est stable. Néanmoins, nous avons dû limiter cet allongement à une durée suffisamment courte pour ne pas risquer de perdre trop de solution d'échantillon, et afin de conserver un nombre de runs suffisant pour obtenir une bonne statistique de comptage et une bonne reproductibilité entre échantillons. Les premiers runs de chaque échantillon sont donc systématiquement vérifiés, et les runs présentant des valeurs faibles par rapport à l'ensemble de la mesure sont alors exclus (Table 1).

Run	7Li	10B	11B	24Mg	48Ca	
1	1098.05	4064.71	20555.65	1.25E+06	1.22E+07	
2	1198.06	4286.79	20923.81	1.23E+06	1.22E+07	
3	1114.05	4296.79	21732.79	1.24E+06	1.22E+07	
4	1208.06	4206.76	21407.19	1.23E+06	1.22E+07	
5	1094.05	4442.85	21715.26	1.23E+06	1.22E+07	
6	1114.05	4270.78	22551.85	1.24E+06	1.21E+07	
7	1170.06	4442.85	22121.02	1.23E+06	1.21E+07	
8	1040.05	4570.90	22479.21	1.23E+06	1.22E+07	
9	1074.05	4322.80	21973.24	1.23E+06	1.21E+07	
10	1096.05	4414.84	21965.73	1.23E+06	1.22E+07	
With all runs	Mean	1120.65	4332.01	21742.57	1.24E+06	1.22E+07
	S.D.	54.42	142.50	635.63	6.64E+03	6.21E+04
	%RSD	4.86	3.29	2.92	0.54	0.51
First runs excluded	Mean	1120.65	4410.84	21993.29	1.24E+06	1.22E+07
	S.D.	54.42	104.93	388.08	6.64E+03	6.21E+04
	%RSD	4.86	2.38	1.76	0.54	0.51

Table 1 : Illustration de l'effet mémoire du bore dans l'ICP-QMS lors d'une mesure d'un standard JcP-1. L'exclusion des premiers runs (en jaune), qui possèdent des valeurs plus faibles que les suivants, permet d'augmenter la reproductibilité de la mesure (% de déviation standard relative, en rouge). Cette table montre également que parmi les éléments présentés, seul le bore possède cet effet mémoire, ainsi qu'un comportement différents des deux isotopes du bore. En raison de sa plus grande abondance (qui implique un plus grand nombre de coup sur cette masse), c'est l'isotope ¹¹B qui a été retenu pour la mesure du B/Ca.

L'effet mémoire ne joue pas uniquement sur les échantillons mais également sur les blancs. La figure 15 illustre l'évolution de la teneur en bore au cours de la phase de rinçage qui suit chaque échantillon : les concentrations en bore sont tout d'abord élevées, puis diminuent brusquement suite à l'ajout de l'acide de rinçage. Cet acide de rinçage, HNO_3 0,5N, est cinq fois plus concentré que celui des échantillons et des blancs (0,1N) afin de permettre de désorber plus de bore. La figure 19 montre cet effet : après la brusque diminution du niveau de bore, on observe une légère augmentation puis une diminution très progressive du bore. Ce comportement s'explique par la désorption progressive du bore des parois sous l'effet de l'acide de rinçage. Ainsi nous avons également augmenté légèrement la durée du rinçage par rapport à nos premières mesures, le passant de 40 secondes à 50 secondes. Cependant, cet allongement du temps de rinçage s'est révélé insuffisant dans les cas particuliers de solutions plus concentrées en bore, notamment le standard JcP-1 : son rapport B/Ca atteint $\sim 460 \mu\text{mol/mol}$, soit $\sim 11.7 \text{ppb}$ de bore en solution, comparativement aux moyennes de $\sim 120 \mu\text{mol/mol}$ ($\sim 3.2 \text{ppb}$) et $\sim 90 \mu\text{mol/mol}$ ($\sim 2.2 \text{ppb}$) pour les espèces planctoniques *G. ruber* et *G. sacculifer*, respectivement, et une moyenne de $\sim 200 \mu\text{mol/mol}$ (5.2ppb) pour l'espèce de foraminifères benthiques *C. wuellerstorfi*. Les blancs suivant ces standards montrent systématiquement des teneurs en bore plus élevées. Ainsi, lors du passage de ce standard international JcP-1, nous avons donc choisi d'intercaler un blanc supplémentaire (voir section 2.1).

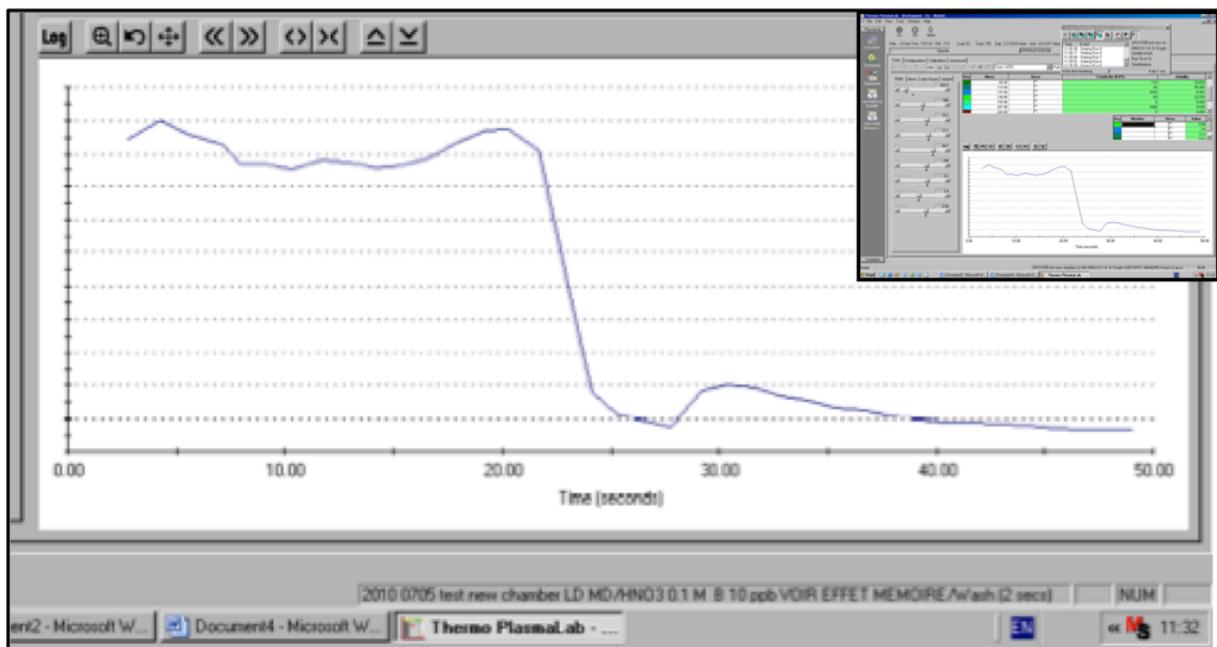


Figure 19 : Capture d'écran du logiciel Thermo Plasmalab pendant le rinçage d'une solution à 10 ppb de bore mesurée pendant 10 runs. La courbe montre l'évolution de la concentration en bore (approximativement 10000 cps par unité verticale, soit environ 7000 cps en fin de rinçage) en fonction du temps de rinçage (seconde).

1.3. Configuration finale de l'ICP-QMS et limite de détection

51

La table 2 montre l'ensemble des paramètres optimisés pour la mesure du B/Ca des foraminifères planctoniques par ICP-QMS. Ces paramètres prennent en compte à la fois le matériel utilisé, mais également les débits moyens de gaz observés, notamment pour l'introduction de l'échantillon par effet venturi, le flux d'argon dans le nébuliseur entraînant l'aspiration l'échantillon. Un nombre accru de position dans le passeur automatique (48 positions contre 24 dans la configuration précédent le développement du B/Ca sur foraminifères) permet d'éviter une surcharge d'opérations dans ce compartiment (changement de tubes d'échantillons, mise en place des blancs,...) qui peuvent entraîner une contamination par contact avec la sonde de prélèvement ou par simple échange atmosphérique (poussières, vapeurs,...). Le diamètre interne des capillaires permet d'ajouter une contrainte supplémentaire sur le débit du nébuliseur, et donc sur la prise d'échantillon.

Instrument and introduction settings		Description/value	
Spectrometer		Thermo Electron X-Series ^{II}	
RF Power		1340 W	
Scan mode		Peak jumping	
Detection mode		Pulse counting	
Gas flow rate			
Plasma		13 L/min	
Auxiliary		0.8 L/min	
Nebulizer		0.91 L/min	
Autosampler		Cetac ASX-110, 48 positions	
Capillary		Teflon, internal diameter 0.2mm	
Nebulizer		PFA No-Break Nebuliser, EP 2050-4250	
Spray chamber		ESI, quartz mini-cyclonic with internal baffle	
Uptake mode		Venturi effect (no peristaltic pump)	
Uptake rate		50 µL/min	
Uptake time		35 s	
Washout time		50 s	
Signal acquisition parameters			
Isotope	Dwell Time (ms/amu)	Typical count rate (cps/ppb)	RSD (%)
⁷ Li	10	11000	2.0
¹¹ B	10	4500	2.5
²³ Na	5	24000	1.5
²⁴ Mg	8	16000	<1.0
²⁷ Al	8	24000	3.0
⁴⁸ Ca	8	110	1.5
⁵⁵ Mn	10	64000	1.5
⁶⁸ Zn	8	6000	1.0
⁸⁷ Sr	8	7300	1.0
¹¹¹ Cd	8	10	1.5
¹³⁷ Ba	5	8700	2.5
²³⁸ U	20	55000	3.5

Table 2 : paramétrage de l'ICP-QMS et paramètres d'acquisition de données. La RSD est donné sur le taux moyen de comptage par élément.

Le temps de comptage est également une donnée essentielle dans le cas d'échantillons peu volumineux : en effet, dans ce cas, moins de solution est disponible pour l'analyse sur ICP-QMS. Or plus un élément nécessite de temps de comptage et plus il y a d'éléments à analyser, moins il y a de solution disponible pour la mesure du B/Ca seul (moins de runs possibles). Ainsi, il est possible, préalablement à l'analyse, de retirer certains éléments à analyser, et notamment ceux à temps de comptage long, ce qui permet de réduire le temps de comptage par run et donc de se concentrer sur les éléments les plus importants (Li, B, Mg, Ca), tout en conservant un nombre de runs similaires entre plusieurs échantillons/sessions. De même, il est possible d'adapter uniquement le nombre de runs dans le cas où seuls quelques échantillons présentent un faible volume, dans le cas par exemple d'une perte importante d'échantillon au cours du lavage, détectée par la mesure du calcium sur ICP-AES.

A chaque session de mesure, la performance de l'ICP-QMS est optimisée en suivant l'évolution du nombre de coups enregistrés au passage d'une solution multiélémentaire à 1 ppb (Li, In, Ce, Ba, U...). La sensibilité moyenne est de 50 000 coups par seconde (cps) sur le ^7Li , 200 000 cps sur ^{115}In et 300 000 cps sur ^{238}U , ces éléments permettant d'optimiser la performance en concentrant l'analyse sur les éléments légers, moyens ou lourds, respectivement, ou pour trouver le meilleur compromis possible entre ces masses. L'analyse des rapports CeO/Ce et Ba²⁺/Ba en début de session permet également d'optimiser la mesure en évitant la formation d'oxydes (de masse différente) et d'ions doublement chargés (de charge différente), qui peuvent générer des interférences. Ces rapports doivent être inférieurs à 3% avant le début de l'analyse.

Nous avons calculé les différentes caractéristiques permettant de vérifier la qualité de l'analyse : limite de détection, reproductibilité des standards basée sur l'analyse répétée de Jct-1, et reproductibilité des échantillons. La limite de détection (LD) pour le B/Ca est calculée ici après 15 mesures de plusieurs répliques d'une solution de blanc. Elle est calculée selon :

$$LD = \frac{3 \times \sigma}{S} \quad (1)$$

avec σ écart type des mesures de blanc et S sensibilité de la mesure du bore. La limite de détection du bore est de 0,1 ppb, ce qui correspond à une valeur de B/Ca de $\sim 4 \mu\text{mol/mol}$ pour une matrice en calcium de 100 ppm.

2. Mesure du B/Ca : blancs, calibration, standards et traitement de données

Dans la partie précédente nous avons montré le principe général de fonctionnement d'un ICP-QMS pour la mesure des éléments traces contenus dans la calcite des foraminifères, ainsi que les réglages optimaux retenus au LSCE, pour contrer la difficulté d'analyse du bore. Dans cette partie nous allons développer les améliorations apportées en terme de matériel mais aussi et surtout de stratégie de mesure pour affiner encore la mesure du B/Ca. Nous verrons tout d'abord comment sont gérés les blancs de mesures, puis nous verrons les différentes stratégies de calibration utilisée (concentration vs. ratio) et de standards utilisées pour obtenir la meilleure reproductibilité possible. Enfin, nous verrons comment les données issues du spectromètre sont traitées afin d'obtenir des données valides au niveau international.

2.1. Blancs de mesure

Le blanc correspond au nombre de coups par seconde enregistré par le spectromètre de masse sur la masse d'un élément pour une solution pure ne contenant, à priori, aucune trace de cet élément. La mesure du blanc donne donc de précieuses indications sur la qualité des solutions et du matériel utilisés, mais aussi sur le « bruit de fond machine ». Ainsi, moins l'on enregistre de coups dans une solution, plus celle-ci est « propre », et dans le cas de l'analyse sur spectromètre un blanc plus faible signifie un meilleur rapport signal/bruit, et donc une meilleure qualité de mesure.

Au cours de l'analyse du B/Ca, une bonne prise en compte des blancs est essentielle à l'obtention de mesures de qualité. Contrairement à la méthode développée par Yu et al. (2005) où un seul blanc est mesuré en début de session, nous avons choisi d'intercaler un blanc entre chaque échantillon et chaque standard afin d'évaluer l'impact des blancs sur les mesures ainsi que leur évolution au cours du temps. Cette prudence a permis de mettre en évidence la contamination existante après le standard JCp-1 dont la teneur en B est de l'ordre de 50 ppm, qui aurait pu affecter de manières importantes nos mesures en raison de la relative faible concentration en bore de nos échantillons vis-à-vis du JCp-1 (2 à 6 ppb en solution pour les foraminifères contre 12 ppb pour JCt-1), et de l'effet mémoire engendré. De même, cet ajout de blanc permet de minimiser l'effet de la dérive sur les échantillons, et d'éviter tout biais en donnant trop de poids à une valeur unique en début d'analyse, qui peut facilement être sous- ou sur-évaluée.

Au début de la mise en route de la mesure du B/Ca, nous utilisons sensiblement le même matériel que celui utilisé précédemment au laboratoire pour la mesure du rapport Mg/Ca et d'autres éléments traces de la calcite des foraminifères. Néanmoins, nous avons très rapidement adapté le matériel utilisé à la mesure du B/Ca. Les changements principaux sont les suivants : (1) utilisation exclusive de matières

plastiques type PFA ou FEP pour les micro-tubes ; (2) utilisation de pointes de micro-pipettes incolores (le colorant pouvant contenir du bore) ; (3) utilisation d'un nébuliseur en Téflon dans l'ICP-MS au lieu d'un nébuliseur en verre, (4) utilisation d'une chambre de nébulisation minicyclonique en quartz et d'une torche à plasma en quartz. L'utilisation d'une chambre minicyclonique a montrée une forte réduction du niveau de blanc par rapport à la chambre à bille d'impact régulièrement utilisée au LSCE, limitant de plus l'effet mémoire du B. De la même manière, la présence d'un cloisonnement intérieur permet d'homogénéiser de manière plus efficace l'aérosol, et de bien séparer le flux sortant vers l'ICP-QMS du flux interne à la chambre, ce qui amène à une réduction significative du niveau de blanc (figure 20).

Spray chamber	Impact bead PFA chamber	Cinnabar minicyclonic	Quartz minicyclonic with internal baffle
Blank (0.1N HNO ₃) level (cps)	9000	6500	2500



Figure 20 : Nombre moyen de coups par seconde dans une solution de HNO₃ 0.1N (soit le blanc) en fonction de la chambre de nébulisation utilisée, toutes autres conditions égales. Les illustrations montrent la forme, et donc le fonctionnement, de ces différentes chambres de nébulisation (la photo de chambre à bille d'impact montrée ici est celle d'une chambre en verre borosilicaté, afin de pouvoir montrer la bille d'impact).

De même, nous avons constaté que les solutions d'acide servant au leaching, à la dissolution des échantillons et l'analyse sur spectromètre (HNO₃ 0,1N, issus d'acide HNO₃ 65% de qualité Normatom) présentaient des concentrations en bore bien plus élevées si elles étaient conservées plusieurs semaines, même si leur conservation se fait dans des bouteilles en FEP. Ainsi, nous avons choisi d'utiliser les solutions les plus fraîches possible dans l'ensemble du lavage et de l'analyse.

Ces adaptations apportées au cours de l'année 2010 en terme de matériel et de gestion des solutions ont fortement impacté les valeurs de blanc enregistrées durant les analyses. La figure 21 montre l'évolution de la valeur moyenne des blancs d'acide HNO₃ 0,1N, qui est l'acide utilisé lors de la dissolution et de l'analyse, ainsi que la dispersion de ces blancs au cours des années 2010 à 2012. Comme le montre la figure 21, les niveaux de blancs obtenus au cours de l'année 2010 montrent une haute valeur moyenne ainsi qu'une grande dispersion, ce qui implique une moindre qualité dans le processus de nettoyage comme dans l'analyse. Relativement aux échantillons mesurés durant cette période, ces blancs conduisent à un rapport signal sur bruit de l'ordre de 3, ce qui est faible et peut entraver la bonne reconstruction de variations du B/Ca. Au contraire, suite aux modifications apportées au protocoles de nettoyage et d'analyse, à compter de fin 2010 on observe de bien meilleures valeurs de blanc, aujourd'hui de l'ordre de 800 à 1000 cps, avec également une moindre dispersion. Ainsi, cela se traduit par un bien meilleur rapport signal sur bruit, de l'ordre de 12, et donc une meilleure qualité de mesure.

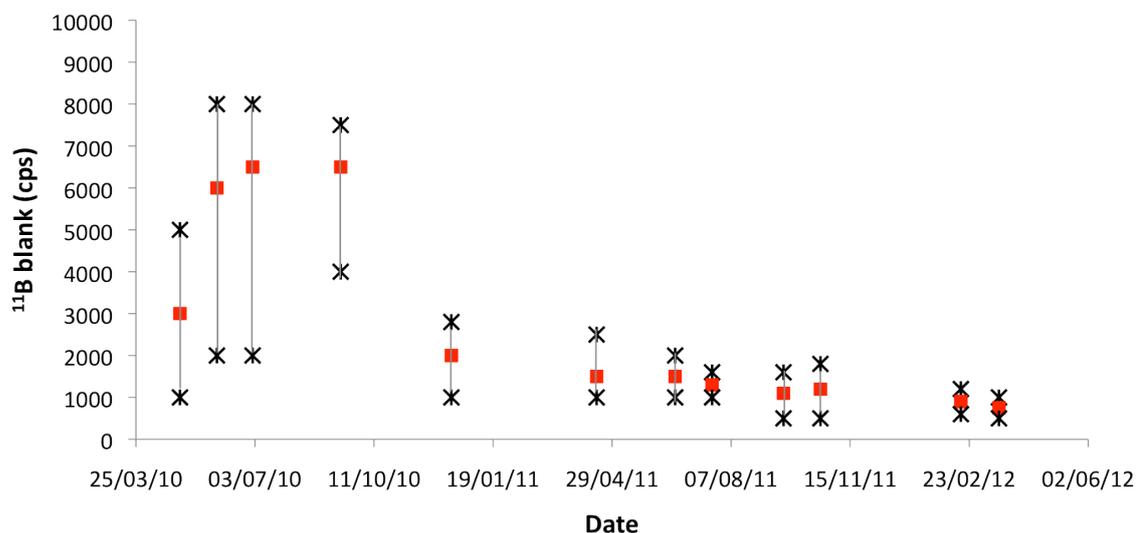


Figure 21 : Evolution des blancs d'acide HNO₃ 0,1N au cours des années 2010/2012, en nombre de coups par seconde sur la masse du ¹¹B. Les carrés rouges représentent la valeur moyenne des blancs par session de mesure, les croix noires sont les valeurs maximales et minimales rencontrées lors d'une séance d'analyse. Les jours et mois ont été modifiés pour plus de lisibilité (années inchangées).

La mesure du blanc est aussi essentielle pour contrôler la qualité du matériel employé, principalement les micro-tubes. Ces derniers sont, avant utilisation, lavés par batch de ~200 tubes pendant 24h dans un bain d'acide HNO₃ 10%, puis rincés plusieurs fois à l'eau ultrapure et ensuite séchés et conservés fermés dans des sachets scellés. Néanmoins, nous avons constaté qu'un bain d'acide de lavage trop ancien, un mauvais rinçage à l'eau ultrapure, voire un trempage trop long de nos micro-tubes pouvaient conduire à de plus hautes valeurs de B/Ca lors de l'analyse des blancs. Pour éviter tout biais potentiellement lié à ces phénomènes, les tubes sont systématiquement testés avant usage : de 5 à 10 tubes d'un batch sont remplis d'acide HNO₃ 0,1N et placés en tant que blancs lors d'une série d'analyses, à des positions aléatoires sur le rack d'échantillons. Le niveau de coup par seconde mesuré pour ces tubes est ensuite comparé au niveau moyen de blanc constaté lors des précédentes mesures et également mesuré simultanément dans un batch préalablement testé. Si le nombre de coup mesuré excède de plus de 50% celle du batch préalablement testé, le batch de 200 micro-tubes tout entier est rejeté.

2.2. Calibration en ratios, préparation de standards, reproductibilité

L'ICP-QMS du LSCE était déjà utilisé pour la mesure du B/Ca et autres éléments traces présents dans l'aragonite des coraux et dans certains spéléothèmes (Douville et al., 2010 ; Bourdin et al., 2011 ; Hathorne et al., in prep.). Néanmoins, l'analyse du B/Ca dans les foraminifères requiert un développement spécifique en raison de la faiblesse de matériel carbonaté disponible (par exemple les foraminifères benthiques) et des concentrations en bore généralement plus faibles dans les foraminifères : le B/Ca varie de 300 à 800 $\mu\text{mol/mol}$ dans l'espèce de corail *Porites* (Allison et al., 2010), ce qui représente de 1.5 fois (benthiques) à 10 fois (planctoniques) le rapport B/Ca des foraminifères. Ainsi, (comme nous avons dû changer de chambre de nébulisation) nous avons dû adapter les solutions de calibration utilisées précédemment pour la mesure du B/Ca.

Dans le cas des mesures du B/Ca sur les coraux et les spéléothèmes, les solutions de calibration étaient établies à partir de trois solutions mères : une solution multi-élémentaire (Li, Mg, Sr, Zn, Na, Mn, etc...), une solution contenant les terres rares dont l'uranium, et une solution mono-élémentaire de bore. Ces solutions de calibration étaient préparées le jour de la session de mesure par dilutions volumétriques successives, afin d'atteindre des concentrations variant entre 1 ppt et 1 ppm (facteur de dilution 10 entre chaque concentration) - sauf dans le cas du bore dont la concentration maximale était limitée à 10 ppb pour éviter un trop fort effet mémoire. Dans chacune de ces solutions, la matrice calcium à 100 ppm était assurée par l'ajout préalable d'une solution mono-élémentaire de calcium, afin d'éviter tout biais lié à la matrice. De plus, une calibration spécifique de la concentration calcium, préparée à l'aide d'une solution mono-élémentaire pour des concentrations comprises entre 80 et 120 ppm, était effectuée afin d'ajouter une plus grande contrainte sur la concentration en calcium et donc de certifier la concentration de la matrice à 100 ppm de Ca. Ainsi, dans ce type d'approche, la concentration de chaque élément analysé est-elle déterminée indépendamment de celle du calcium, en convertissant les intensités obtenues par l'ICP-MS (coups par seconde) en concentration, grâce aux droites de calibration obtenues en passant les solutions de calibration, en début de séance. La concentration en bore, [B], et celle en calcium, [Ca], sont ensuite utilisées pour déterminer le rapport B/Ca.

Mais pour les très faibles concentrations en éléments traces (dont le bore), typiques de la calcite des foraminifères, De Villiers et al. (2002) ont montré qu'il était possible d'augmenter sensiblement la précision de la mesure en utilisant une méthode de calibration directement en ratio. Cette calibration consiste en un jeu de solutions dont la matrice est constante (ex. 100 ppm de Ca) et dont seules les concentrations des éléments que l'on souhaite mesurer varient, avec une gamme de variation la plus proche possible de celles que l'on rencontre dans les échantillons (table 3). Ainsi, en début de séance, les solutions d'étalonnage servent-elles à calibrer directement les ratios élémentaires ; le ratio B/Ca est ainsi calibré en calculant, à partir des solutions d'étalonnage, la régression linéaire entre les rapports d'intensité mesurés par l'ICP-MS (-> nombre de coups B / nombre de coups Ca) et les rapports élémentaires (B/Ca) dans les solutions d'étalonnage.

Concentration calibration

	7Li (ppb)	11B (ppb)	24Mg (ppb)	55Mn (ppb)	68Zn (ppb)	87Sr (ppb)	111Cd (ppb)	137Ba (ppb)	238U (ppb)
std0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
std1 1ppt	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001	0.001
std2 10ppt	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
std3 100ppt	0.101	0.1	0.1	0.1	0.1	0.1	0.101	0.101	0.1
std4 1ppb	1.007	1	1.002	1.002	1.002	1	1.009	1.01	1
std5 10ppb	10.07	10	10.02	10.02	10.02	10	10.09	10.1	10
std6 100ppb	100.7	X	100.2	100.2	100.2	100	100.9	101.1	X
std7 1ppm	1007	X	1002	1002	1002	1000	1009	1010	X

Ratio calibration

	⁷ Li/ ⁴⁸ Ca (μmol/mol)	¹¹ B/ ⁴⁸ Ca (μmol/mol)	²⁴ Mg/ ⁴⁸ Ca (mmol/mol)
Std0 ratio	0.00	0.00	0.00
Std1 ratio	1.00	10.00	0.20
Std2 ratio	2.00	20.00	0.50
Std3 ratio	4.00	39.99	1.00
Std4 ratio	12.00	79.98	2.00
Std5 ratio	24.00	160.01	4.00
Std6 ratio	40.00	280.03	8.00

Calcium calibration

	48Ca (ppm)
Ca 70 mono Ca	70
Ca 80 mono Ca	80
Ca 90 mono Ca	90
Ca 100 mono Ca	100
Ca 110 mono Ca	110

Table 3 : Valeurs des concentrations élémentaires (haut), des ratios X/Ca (bas, gauche) et des concentrations en calcium (bas, droite) des 3 sets de solutions de calibration utilisés pour la mesure du B/Ca sur ICP-QMS. Seuls quelques éléments sont représentés pour la calibration en concentration. Les croix représentent les concentrations non utilisées pour B et U en raison de leur effet mémoire. Les concentrations sont calculées en fonction des dilutions subies par les solutions mères. Les ratios sont calculés à partir du poids des solutions mères de Li, B, Mg et Ca.

L'avantage d'une telle méthode par rapport à celle que nous employons au LSCE précédemment est double : (1) pour chaque élément X considéré, il n'y a qu'une seule étape de calibration (directement le ratio X/Ca) au lieu de passer par la calibration indépendante de la concentration de X et de Ca. Cela limite la propagation des erreurs. Et, surtout, (2) les solutions « en ratio » sont beaucoup plus stables dans le temps. En effet, sous réserve de préparer des solutions suffisamment concentrées pour limiter les effets de l'adsorption sur les parois du flacon, l'évaporation des solutions agira sur les concentrations mais les ratios élémentaires demeureront constants au cours du temps. Il est ainsi possible, avec cette approche, de préparer de grandes quantités de solutions mères, concentrées, que l'on peut garder sur plusieurs mois, permettant ainsi une parfaite homogénéisation du protocole analytique. Ces solutions de calibrations, avec des concentrations élevées, sont diluées une seule fois le jour même de l'analyse, pour les ramener à une concentration de 100ppm de la matrice Ca. Afin d'atteindre un degré de justesse optimal, nous avons également choisi de préparer ces solutions-mères par pesées plutôt que par dilutions volumétriques.

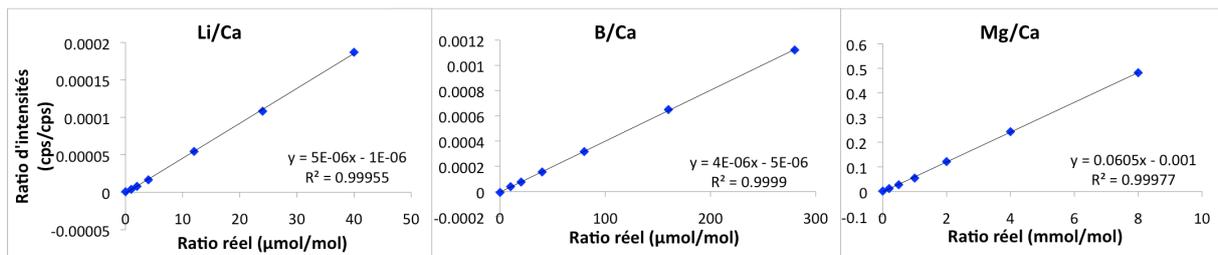


Figure 22 : Exemples de courbes de calibrations obtenues au cours d'une session de mesures à l'aide des solutions de calibration en ratio. Ratio « réel » indique le ratio élémentaire que nous avons calculé lors de la préparation par pesée des solutions d'étalonnage à partir de solutions élémentaires du commerce.

Le principal désavantage de cette méthode de calibration provient de la plus grande difficulté d'incorporer un grand nombre d'éléments dans ce type de calibration. Nous avons donc fabriqué un jeu de solutions de calibration contenant Li, B et Mg dans une matrice 1000 ppm Ca, avec des concentrations de B/Ca comprises entre 40 et 280 $\mu\text{mol/mol}$. Ces solutions servent de calibration secondaire pour préciser les ratios Li/Ca, B/Ca et Mg/Ca, les autres éléments étant calibrés via les deux premières calibrations. Typiquement, les pentes obtenues entre les intensités (cps) mesurées et les ratios réels des solutions de calibration sont supérieures à 0.999 (Figure 22).

Nous avons effectué des tests pour comparer les résultats obtenus à partir de la calibration « en concentrations » et de la calibration « en ratios ». Ces deux types de calibration montrent d'assez importantes répercussions sur les mesures de B/Ca. Cet effet s'illustre particulièrement sur les standards internationaux utilisés au cours de nos mesures. Plusieurs standards ont été utilisés: le standard de corail JCp-1, qui possède un haut niveau de B/Ca de l'ordre de 460 $\mu\text{mol/mol}$, et le standard de clam géant JCT-1, avec un rapport B/Ca de l'ordre de 190 $\mu\text{mol/mol}$. Ces standards ont deux utilisations différentes : le JCp-1, mesuré tous les 5 échantillons, sert d'indicateur de la dérive machine, c'est à dire à mesurer la perte de sensibilité sur les éléments mesurés ; tandis que le standard JCT-1, mesuré tout les 10 échantillons soit 4 à 6 fois par session, sert à calibrer nos mesures sur une valeur internationalement reconnue (voir section suivante). Comme le montre la figure 23, l'utilisation de la calibration « en ratios » que nous avons adopté au final pour la mesure du B/Ca permet d'obtenir une meilleure stabilité et une meilleure précision sur le standard JCT-1 ($\pm 3.4\%$ à 2σ) que la calibration « en concentrations » ($\pm 5.7\%$ à 2σ , à compter de fin), et avec une moindre dispersion des points entre les différentes sessions de mesures, ce qui montre l'intérêt de disposer d'un unique set de solutions mères en ratios pouvant servir pour toutes les sessions de mesures. Avec la calibration en ratio, la **reproductibilité** du standard JCT-1 (Figure 23), qui est un standard dont la concentration en B/Ca est comparable à celle de nos échantillons, a été évaluée à moins de 3,5 % dans le cas du B/Ca, avec une valeur moyenne de 197 $\mu\text{mol/mol}$.

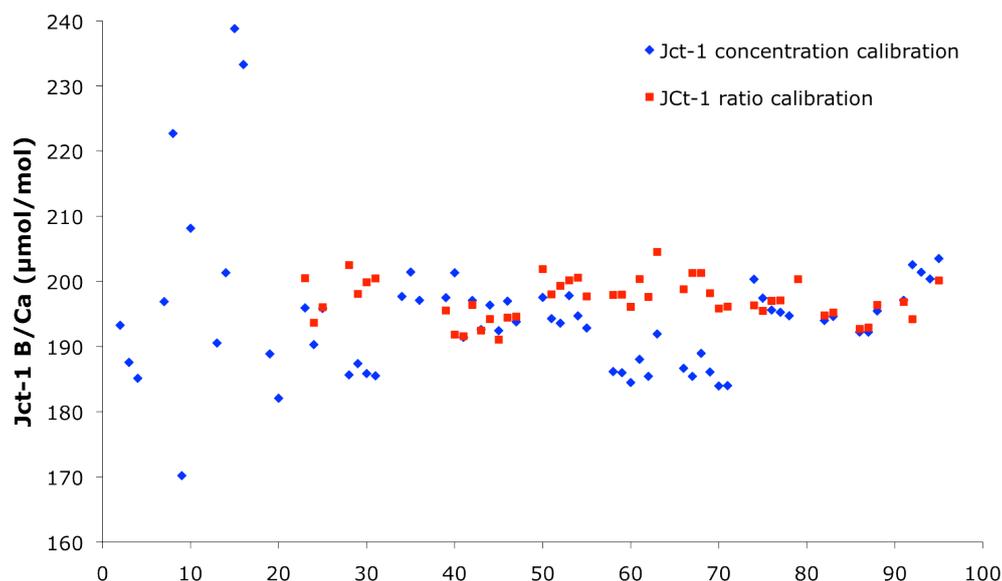


Figure 23 : Evolution du rapport B/Ca du standard Jct-1 en fonction du temps au cours la durée de la thèse (échelle horizontale arbitraire), et selon la méthode de calibration employée. Les premiers résultats obtenus (comprises entre 0 et 20 sur l'axe horizontal, et représentant la période de Novembre 2009 à fin 2010) montrent une grande dispersion due à l'imperfection des protocoles de nettoyage et d'analyse à cette période.

2.3. Traitement des données

Le traitement des données s'effectue en quatre étapes : (1) soustraction des blancs, (2) mise en ratios des échantillons, (3) calcul et correction de la dérive éventuelle lors de la séance, et enfin (4) correction globale des échantillons à l'aide du standard international Jct-1. Nous traiterons ici tout d'abord du cas de la calibration en concentration, qui permet d'analyser un plus grand nombre d'élément, et d'effectuer une surveillance au cours de la mesure car les concentrations sont données directement par le logiciel de pilotage de l'ICP-QMS, puis nous verrons la spécificité de la calibration en ratio qui permet d'obtenir une meilleure reproductibilité sur le bore, le lithium et le magnésium en particulier.

L'avantage de l'utilisation de blancs intercalés entre les échantillons est de permettre de calculer l'évolution des blancs au cours de la session d'analyse, et donc d'adapter ce niveau de blanc au moment de passage de l'échantillon. Diverses évolutions de blancs ont été observées en fonction de l'élément étudié : le blanc de lithium montre une décroissance de type exponentielle au cours de l'analyse, due à l'effet mémoire généré par sa forte concentration de 1 ppm dans l'un des standards (figure 24), tandis que le blanc de bore suit plutôt une évolution linéaire (figure 24) et que le blanc de magnésium varie peu, avec de plus des valeurs négligeables vis-à-vis des échantillons. Tandis que les petites variations entre blancs successifs peuvent représenter des variations ponctuelles (ex. niveau de pollution des micro-tubes contenant les blancs, effet mémoire lié à l'échantillon qui précède le blanc, etc.), l'évolution progressive

des blancs (ex. ~linéaire dans le cas du B/Ca) traduit une tendance propre à l'ensemble de la séance considérée. Pour corriger cette tendance, on calcule grâce à la régression une valeur « de correction de blanc » propre à chaque échantillon en fonction de sa position de passage. Il est à noter que le calcium possède quant à lui sa propre calibration sur ICP-QMS, réduite à une faible gamme de concentrations (80 à 120 ppm) afin de bien évaluer la matrice des échantillons, et en raison d'un blanc Ca systématiquement mauvais à cause de l'encrassement de l'appareil par le calcium.

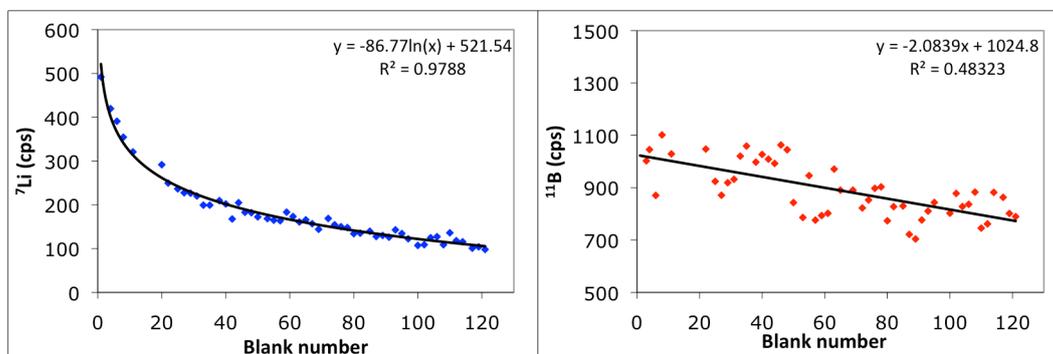


Figure 24 : Evolution du nombre de coup par seconde des blancs sur les éléments lithium et bore au cours d'une session de mesure. Le coefficient de corrélation, dans le cas du bore, est faible essentiellement en raison de la faible pente.

Une fois cette « correction de blancs » effectuée, on calcule le rapport de chaque élément par rapport au calcium en utilisant leur concentration (en ppt, ppb ou ppm) ainsi que leurs masses molaires. Il s'agit ensuite de calculer la dérive de l'appareil, c'est à dire les variations de sensibilité qu'il a pu enregistrer au cours du processus de mesure. Cette dérive est suivie par la mesure du standard JCp-1, placé tous les 5 échantillons (bracketing) : partant du principe que les ratios obtenus sur le premier standard JCp-1 sont corrects, ce qui est vérifié directement sur l'appareil par comparaison avec les valeurs publiées, on évalue la perte relative de signal sur chaque élément entre chaque JCp-1. Cette dérive est généralement de l'ordre de 10% entre le début et la fin de la session de mesure (table 4). Les échantillons sont ensuite corrigés de cette dérive par interpolation linéaire de la dérive entre deux standards JCp-1 successifs.

	${}^7\text{Li}/{}^{48}\text{Ca}$	${}^{11}\text{B}/{}^{48}\text{Ca}$	${}^{23}\text{Na}/{}^{48}\text{Ca}$	${}^{24}\text{Mg}/{}^{48}\text{Ca}$	${}^{27}\text{Al}/{}^{48}\text{Ca}$	${}^{55}\text{Mn}/{}^{48}\text{Ca}$	${}^{86}\text{Sr}/{}^{48}\text{Ca}$	${}^{137}\text{Ba}/{}^{48}\text{Ca}$	${}^{238}\text{U}/{}^{48}\text{Ca}$
JCt-1 n°1	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00	100.00
JCt-1 n°2	99.75	98.60	98.80	98.90	98.30	98.04	100.63	100.68	100.56
JCt-1 n°3	100.72	97.66	99.88	99.80	99.96	96.21	98.84	99.33	98.05
JCt-1 n°4	96.79	94.51	96.73	97.24	97.02	98.66	99.44	99.47	98.38
JCt-1 n°5	93.43	91.27	94.60	95.01	95.30	95.89	99.34	97.56	98.25
JCt-1 n°6	93.56	89.78	93.00	94.76	94.31	96.96	99.14	98.24	97.06
JCt-1 n°7	93.48	89.85	93.94	94.06	101.32	111.35	99.41	100.09	97.49
JCt-1 n°8	87.13	88.31	93.24	93.70	96.21	96.40	99.74	98.33	96.84

Table 4 : Evolution de la dérive pour différents éléments au cours d'une session d'analyse. Les valeurs sont données en pourcentage par rapport au premier JCp-1 (100%). Comme on peut le constater, la dérive n'est pas la même pour tout les éléments, les éléments légers semblant la subir plus fortement.

Pour calculer les rapports Li/Ca, B/Ca et Mg/Ca à l'aide de la calibration en ratio, la procédure diffère peu : on soustrait les blancs aux intensités mesurées, puis on calcule les ratios d'intensités avant de les corriger de la dérive, y compris sur les mesures des solutions de calibration. On établit alors les droites de calibration pour chacun des trois rapports, ce qui permet de calculer les ratios des échantillons en $\mu\text{mol/mol}$ ou mmol/mol directement. Dans le but de valider nos mesures à l'aide d'un standard international, nous avons utilisé le standard Jct-1, dont les concentrations en éléments traces ont été publiées (Okai et al., 2004 ; Harthone et al., in prep.). Ce standard est analysé et traité de la même manière qu'un échantillon, entre 3 et 6 fois par session de mesures selon le nombre d'échantillons. On calcule alors le rapport entre la valeur publiée de B/Ca et la moyenne de celles obtenues lors de la session de mesure, ce rapport permettant ainsi de mettre nos échantillons sur la même échelle que la valeur de B/Ca publiée (Figure 25).

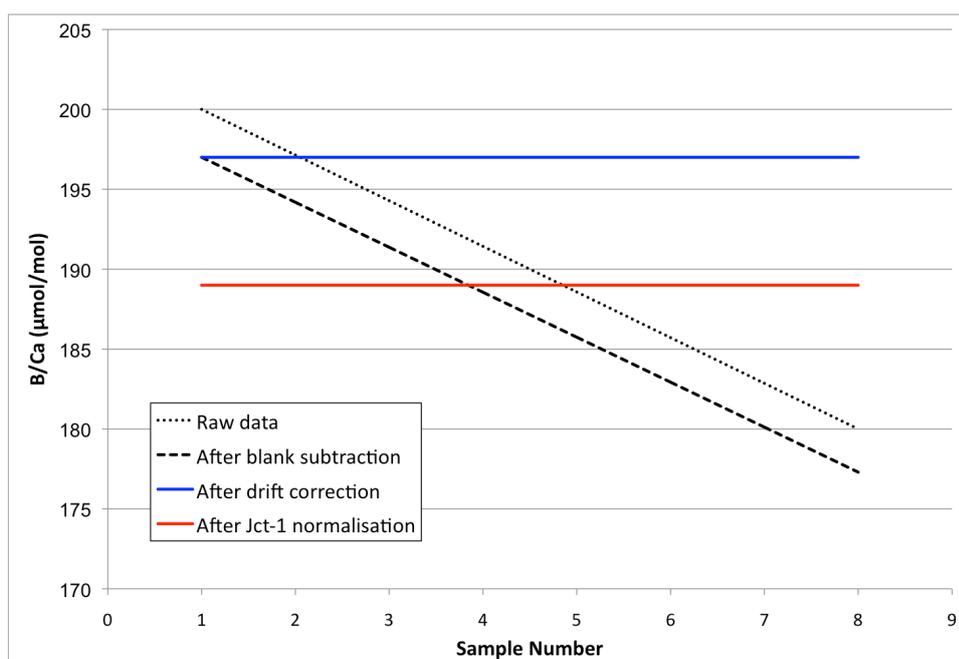


Figure 25 : Illustration de l'effet du traitement de données sur un échantillon fictif avec un B/Ca équivalent à celui du standard Jct-1, mesuré 9 fois au cours d'une session de mesure, en supposant une dérive constante jusqu'à -10% affectant blancs et échantillon. La soustraction du blanc aux données brutes (droite aux pointillés fins) diminue la valeur des données mesurées (droite pointillée), puis la correction de dérive avec le standard Jcp-1 permet de compenser la dérive machine pour obtenir des valeurs stables (droite bleue). Enfin, le standard Jct-1 permet de ramener les valeurs par rapport à la valeur de standard internationalement calibré (droite rouge).

3. Préparation des échantillons et intercomparaison avec le Godwyn Laboratory (Cambridge University)

Dans la partie précédente nous avons vu comment nous avons adapté la protocole de mesure d'éléments traces du LSCE afin de pouvoir l'adapter à la mesure des éléments traces des foraminifères, et plus particulièrement le rapport B/Ca. Néanmoins, l'analyse des éléments traces de la calcite de foraminifère ne peut se faire sans nettoyage préalable. Dans cette partie nous allons montrer comment nous avons adapté le protocole de nettoyage proposé par Barker et al. (2003) au LSCE, ainsi que les influences que peuvent avoir les différentes étapes de ce protocole sur le B/Ca. Nous terminerons par les données issues d'un début d'intercomparaison avec le laboratoire de Cambridge, qui fût le précurseur dans l'analyse et l'utilisation du B/Ca des foraminifères.

3.1. Protocole de nettoyage : description

Le protocole utilisé pour le nettoyage des échantillons est dérivé du protocole de nettoyage pour la mesure des éléments traces des foraminifères établi par Barker et al. (2003). Ce nettoyage s'effectue soit en salle blanche soit sous une hotte à flux laminaire en surpression pour éviter une contamination par les poussières en suspension dans l'air, à l'aide d'un matériel préalablement lavé par trempage dans de l'acide HNO₃ 10%, puis rincé à l'eau ultrapure et séché dans une étuve. Il comporte quatre grandes étapes. Ces étapes sont décrites brièvement ci-dessous, et le lecteur intéressé trouvera les descriptions détaillées (matériel, etc..) en Annexe 1.

- **1/ Piquage des foraminifères** : cette phase débute par le tamisage du sédiment à 150 µm avec de l'eau permutée, suivie d'un séchage à 50°C pendant 24h, puis du piquage des foraminifères dans une gamme de taille restreinte adaptée à l'espèce que l'on veut sélectionner (ex. typiquement 250-315 µm pour l'espèce planctonique *Globigerinoides ruber*). Il est crucial de bien définir l'espèce et la gamme de taille, car le rapport B/Ca varie d'une espèce à une autre, et peut également varier d'une gamme de taille à une autre (Ni et al., 2007 ; Yu et al., 2007). De même, le B/Ca peut varier fortement d'un morphotype de foraminifère à un autre (Rae et al., 2011), ce qui peut dans le cas des foraminifères benthiques devenir une forte contrainte de par leur relative rareté dans le sédiment. L'objectif du piquage est d'obtenir une masse suffisante de calcite pour atteindre la concentration de 100 ppm de calcium lors de l'analyse. Typiquement, il est préférable d'obtenir entre 300 et 400 µg de calcite, même s'il est possible de descendre jusqu'à des masses minimales de l'ordre de 150 µg. Suite au piquage, les tests de foraminifères sont délicatement serrés entre deux plaques de verre, sous loupe binoculaire, afin de fracturer et d'ouvrir leur loges, permettant ainsi un nettoyage plus performant. Lors du crushing, les plus grosses impuretés comme les grains de silice peuvent être retirés si ceux-ci sont visibles. Les morceaux de tests sont ensuite placés dans des micro-tubes Eppendorf de 500µl pour le lavage proprement dit.

- **2/ Retrait des argiles** : au cours de cette étape, on ajoute de l'eau ultrapure à l'échantillon, eau dont on retire une grande partie ensuite en ne laissant que peu de liquide surnageant. L'échantillon est alors placé dans un bain d'ultrasons afin de décoller les particules d'argiles de la calcite des foraminifères. L'échantillon est ensuite rapidement dilué par de l'eau. La différence de masse entre morceaux de calcite et argiles permet une différenciation par vitesse de sédimentation : la calcite sédimente rapidement, tandis que les argiles restent en suspension, ce qui permet de les extraire à l'échantillon en enlevant la majeure partie de l'eau surnageant dans l'échantillon à l'aide d'une micro-pipette. Cette étape est répétée 5 à 6 fois (selon la richesse initiale de l'échantillon en argiles) à l'aide d'eau ultrapure, puis on termine par 2 lavages à l'aide d'éthanol qui permet de détacher les argiles les plus récalcitrantes.

- **3/ Elimination de la matière organique et leaching**: après les argiles se pose le problème de l'élimination de la matière organique, originaire des foraminifères eux-mêmes et/ou déposée après sédimentation des tests sur le fond de l'océan. Cette matière organique est oxydée à chaud (100°C, dans un bain-marie) à l'aide d'une solution de H₂O₂, tamponnée par de la soude afin d'éviter un excès d'acidité qui pourrait dissoudre partiellement la calcite. Cette étape dure ~ 15mn (10 mn dans le bain-marie, entrecoupés, toutes les 2,5 mn, par une agitation des tubes pour permettre d'éliminer les bulles de CO₂ qui se sont formées et pourraient isoler l'échantillon de la solution oxydante). Cette étape d'oxydation est répétée plusieurs fois si nécessaire, jusqu'à totale disparition des bulles de CO₂ dégagées par l'oxydation de la matière organique, puis l'échantillon est rincé à l'eau puis transféré dans un nouveau microtube, un Trefflab PCR-Tube de 500 µL. Ce transfert dans un nouveau microtube a deux buts principaux: éviter une possible contamination due à l'étape d'oxydation qui peut endommager la structure des tubes en raison des hautes températures atteintes, mais aussi permettre de retirer de potentiels grains de silices qui n'aurait pas été vu lors du crushing (dans une coupelle avec de l'eau, sous binoculaire), et qui sont alors bien plus visibles de par leur coloration par rapport aux morceaux de calcite très blancs.

Boyle and Keigwin (1985) ont également proposé d'ajouter une étape réductrice supplémentaire pour l'analyse d'éléments traces comme le cadmium ou le barium, afin d'éliminer les encroûtements d'oxydes qui peuvent être présents à la surface de la calcite. Néanmoins, cette étape induit une dissolution partielle de la calcite de par les réactifs employés (mélange hydrazine/acide citrique tamponné par de l'ammoniac), et peut donc générer un biais sur la mesure d'autres éléments traces comme le magnésium (Brown and Elderfield, 1996 ; Rosenthal et al., 2000) ou le bore (voir chapitre III de cette thèse). Nous avons donc décidé de ne pas intégrer cette phase réductrice dans notre protocole de nettoyage, tout en contrôlant le niveau de Mn/Ca, un indicateur des encroûtements calcitiques, sur chaque échantillon. La dernière étape du lavage consiste en un lessivage de surface de la calcite (leaching) par un acide faiblement concentré, HNO₃ 0,001N. Ce trempage des tests dans un acide très dilué permet d'une part de nettoyer les possibles contaminants introduits lors des étapes précédentes, mais provoque également une légère dissolution partielle de la surface de la calcite qui permet de retirer les potentiels dépôts de calcite secondaire, riches en magnésium et donc plus sensibles à la dissolution, formés par diagenèse dans le sédiment (Rosenthal et al., 2000 ; Hover et al., 2001 ; Boussetta et al., 2011). Ce leaching ne dure que trente secondes à une minute, maximum. Les échantillons sont ensuite rincés plusieurs fois à l'eau ultrapure pour stopper la dissolution partielle induite par l'acide, puis conservés dans un volume

minimum d'eau pure (typiquement 5 à 10 μL), ce qui permet de limiter le risque de réactions chimiques et permet ainsi de pouvoir conserver l'échantillon longtemps, pour le cas où les analyses ne sont pas programmées directement après la phase de nettoyage.

- **4/ Dissolution de l'échantillon** : la dissolution de l'échantillon est la dernière étape avant l'analyse sur spectromètre de masse. Cette étape doit être effectuée le jour même de l'analyse, afin d'éviter toute contamination pendant le stockage lié par exemple au relargage progressif d'éléments par le microtube au contact de l'acide de dissolution. L'échantillon est dissous dans un volume prédéfini d'acide HNO_3 0,1N. On utilise 350 μL d'acide pour les échantillons de taille « standard » (soit environ 300-400 μg de calcite), mais on utilise seulement 250 μL d'acide pour les échantillons plus petits (150-200 μg), afin d'assurer une concentration suffisante en éléments dissous. Dès lors que toute la calcite est dissoute et que les émissions de CO_2 ont cessé, l'échantillon est centrifugé pendant 2 mn à 10000 tours/mn, puis 300 μL (230 μL pour les petits échantillons) de la solution sont rapidement transférés dans un tube propre, en laissant donc 20 ou 50 μL de solution dans l'ancien tube, qui peuvent contenir le matériel non carbonaté (et non-désiré) ne s'étant pas dissous avec la calcite des foraminifères.

3.2. Influence des différentes étapes de lavage

Barker et al. (2003) ont conduit une étude détaillée pour contraindre les effets de chacune des étapes de lavage sur le rapport Mg/Ca de la calcite. En revanche, la méthode n'avait pas été testée pour la mesure du B/Ca. Nous nous sommes donc intéressés à deux problèmes bien spécifiques concernant l'application de cette méthode de nettoyage pour le B/Ca: 1/ la possibilité que la soude utilisée pendant l'oxydation de la matière organique (pour tamponner la solution d' H_2O_2) contienne du bore et contamine notre échantillon ; et 2/ l'effet que produirait une contamination par une solution polluée en bore sur la mesure finale du B/Ca (nous avons pour cela choisi de tester l'effet d'une contamination de la solution d'acide servant pour le leaching final).

3.2.1. Impact de l'étape oxydative (avec soude).

Le bore est très difficile à isoler dans les solutions basiques. Ainsi, la soude utilisée pour tamponner l' H_2O_2 et l'acidité due au dégagement de CO_2 lors de l'oxydation de la matière organique, contient du bore en concentration non négligeable. Initialement, le protocole de nettoyage développé par Barker et al (2003) pour la mesure du Mg/Ca préconisait l'utilisation d'une solution de H_2O_2 à 30% tamponnée dans de la soude à 0,1N. Pour limiter au maximum le risque de pollution, nous avons limité la concentration en soude à 2.10^{-3} M, ce qui est un niveau suffisant pour contrer la variation de pH lié au dégagement de CO_2 (voir Annexe 2 pour la préparation des solutions de nettoyage). Néanmoins, nous avons souhaité connaître l'influence que cette phase pouvait avoir sur le rapport B/Ca. Nous avons utilisé deux sommets de carottes dans lesquels nous avons piqué l'espèce *G. ruber* blanc, stricto sensu, en quantité suffisante pour effectuer 10 sous-échantillons par sommet de carotte. Cinq de ces échantillons ont subi l'ensemble du processus de

nettoyage, alors que pour les cinq autres l'étape oxydative n'a pas été effectuée. Les résultats de la figure 6 montrent deux choses importantes : 1/ que l'étape oxydative qui permet d'éliminer la matière organique n'a qu'une faible influence sur la concentration en B/Ca, avec des valeurs indiscernables au vu de l'écart type mesuré entre les différentes répliques lavées selon les deux méthodes, et ce dans les deux sommets de carotte et 2/ que l'utilisation de soude très peu concentrée (2.10^{-3} M) pour tamponner la solution d' H_2O_2 , ne conduit pas à une augmentation du B/Ca.

Nos résultats montrent que l'étape d'oxydation de la matière organique ne semble pas nécessaire pour la mesure du B/Ca. Cependant, cette étape est en revanche cruciale pour la bonne mesure du Mg/Ca des tests de foraminifères. En effet, la matière organique issue des organismes photosynthétiques (tels que les coccolites, qui peuvent remplir les tests de foraminifères dans les sédiments, ou les algues symbiontes qui peuvent vivre dans le cytoplasme de certains foraminifères) contient de grandes quantités de Mg, pouvant biaiser la mesure du Mg/Ca dans la calcite des foraminifères. Or, comme nous le verrons plus loin, la détermination de la température de calcification est importante pour la correction du K_D d'incorporation du B dans les tests de foraminifères planctoniques. Cette mesure de calcification est possible via l'utilisation du thermomètre Mg/Ca. Ainsi, pour tous nos échantillons, les mesures de B/Ca sont-elles systématiquement couplées à des mesures du rapport Mg/Ca. C'est pourquoi, en dépit de l'absence d'effet direct sur la mesure du B/Ca (figure 26), nous avons maintenu la phase oxydative à l' H_2O_2 pour le protocole de nettoyage des foraminifères.

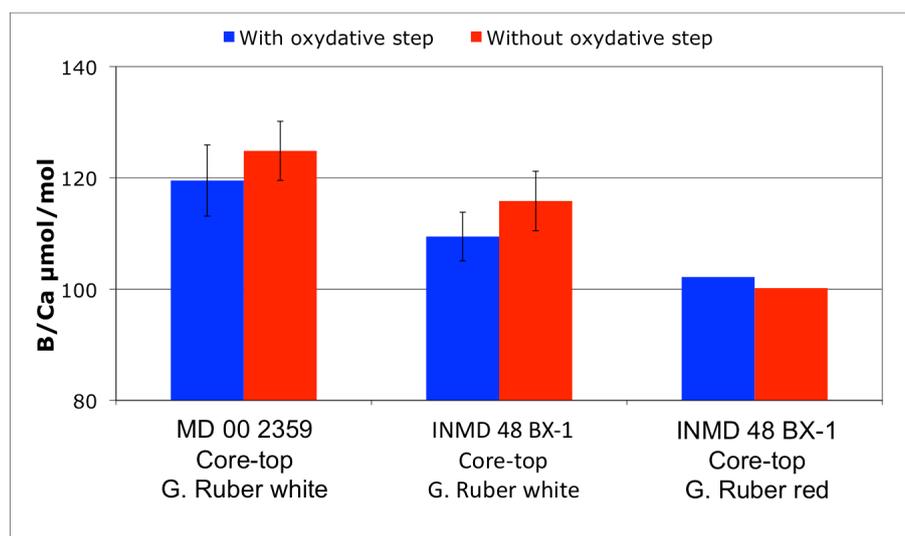


Figure 26 : A gauche et au centre, moyennes des rapports B/Ca mesurés sur l'espèce *G. ruber* (white) dans deux sommets de carotte provenant de l'océan Atlantique (INMD 48 BX-1) et de l'océan Indien (MD 00 2359). A droite, B/Ca mesuré sur l'espèce *G. ruber* (red) dans le sommet de carotte INMD 48 BX-1. Les barres représentent la valeur moyenne sur 5 répliques, les barres d'erreurs représentent l'écart type entre ces 5 répliques. En bleu, avec étape oxydative, en rouge, sans étape oxydative.

Au cours de cette évaluation de l'influence de la phase oxydative, nous avons également étudié l'influence de l'espèce de foraminifère en mesurant également pour l'un des sommets de carotte le B/Ca de l'espèce *G. ruber* rouge, cette espèce présentant en effet un rapport Mg/Ca qui évolue sensiblement différemment

de l'espèce *G. ruber* blanc (Anand et al., 2003). L'analyse du B/Ca de cette espèce montre en effet une différence significative avec celui de l'espèce *G. ruber*, de l'ordre de 8 à 10 $\mu\text{mol/mol}$. Ce résultat permet de souligner l'importance du piquage d'un seul et même morphotype afin d'éviter tout biais de ce type lors de reconstruction paléoclimatiques.

3.2.2. Impact d'une solution de nettoyage contaminée sur la mesure finale du B/Ca.

Pour évaluer l'impact d'une contamination introduite accidentellement au cours de la phase de nettoyage par l'utilisation d'une solution contaminée, nous avons choisi d'introduire volontairement une pollution dans les dernières phases du nettoyage, c'est à dire soit le lavage à l'eau intercalé entre la phase oxydative (H_2O_2) et le leaching final, soit le leaching lui-même. Nous avons testé l'influence de cette pollution volontaire sur des tubes vides représentant le blanc de lavage, ainsi que sur une poudre d'un cristal de calcite extrêmement pure, le Spath d'Islande, qui ne contient pas de bore. Les échantillons ont été soumis à 2 types de pollution de concentrations différentes (1 ppb et 10 ppb de bore), à deux étapes différentes (avant et pendant le leaching) et en laissant ou non 10 à 20 μL de liquide dans le fond du tube, tel que cela est réalisé dans un nettoyage réel (pour éviter l'aspiration des fragments de foraminifères lors du micro-pipetage des solutions de nettoyage) (Figure 27). A la suite des pollutions, le nettoyage est poursuivi avec des solutions propres en bore.

Eau polluée à 1 ppb de bore Leaching propre Eau propre			Leaching pollué à 1 ppb de bore Eau propre			Eau polluée à 10 ppb de bore Leaching propre Eau propre			Leaching pollué à 10 ppb de bore Eau propre			
0	1	2'	3	4	5'	6	7	8'	9	10	11'	Tubes vides
A	B	C'	D	E	F'	G	H	I'	J	K	L'	Tubes avec cristal de calcite Spath

Figure 27 : Schéma explicatif du test de pollution volontaire. Les cas marqués avec un « ' » indiquent les tubes d'où tout le liquide a été retiré, tandis que pour les autres cas de l'ordre de 10 à 20 μL de solution ont été laissés dans le fond des micro-tubes (comme cela est généralement fait dans la phase de nettoyage réelle des foraminifères, pour éviter que les fragments ne soient pipetés avec la solution, à la fin des étapes de nettoyage).

Dans le cas des tubes vides, le test de pollution volontaire a permis de mettre en évidence qu'il n'existe pas de différence notable entre les niveaux de bore mesurés dans ces tubes et celui mesuré dans des tubes issus du même batch non-soumis à une pollution volontaire, avec une valeur de blanc de l'ordre de 4000 cps dans les deux cas. De même, les résultats obtenus sur la poudre de cristal de Spath d'Islande (calcite pure) a montré des résultats similaires dans les différentes expériences, avec un niveau de bore ne dépassant pas les 5 $\mu\text{mol/mol}$ (Figure 28), à l'exception d'un échantillon (I') en raison de sa perte suite à une aspiration trop brutale, et donc de la perte de la matrice calcium (voir section 1.2 pour l'influence de la matrice). Ces valeurs de B/Ca sont de l'ordre de grandeur de la limite de détection calculée pour le

B/Ca (voir section 1.3), et peuvent donc être considérées comme négligeables par rapport (1) aux échantillons et (2) aux variations que l'on souhaite observer.

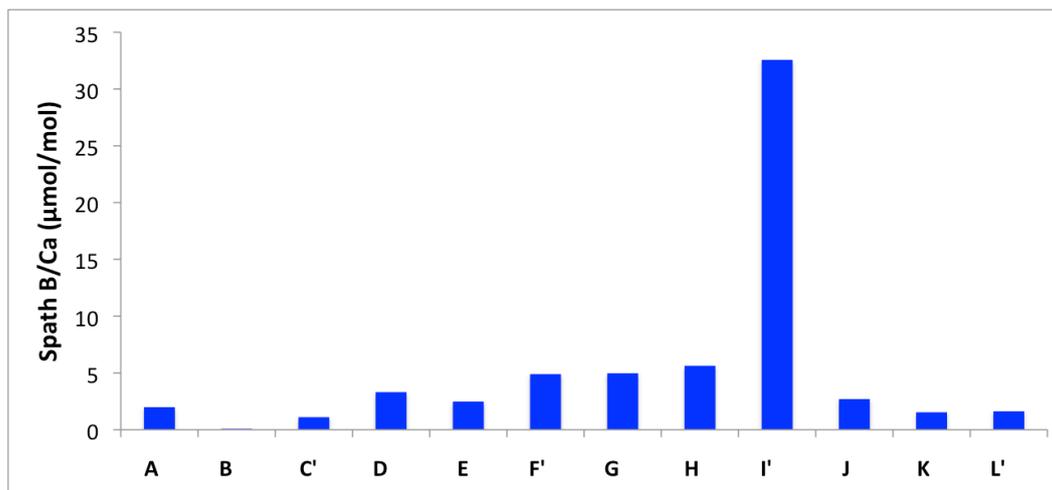


Figure 28 : Rapport B/Ca mesuré après le test de pollution volontaire sur la poudre du cristal de spath.

Nos tests montrent donc que, sous réserve que le nettoyage final à l'eau ultra-pure soit parfaitement exempt de toute pollution au bore, la contamination des micro-tubes et/ou de la calcite liée à l'utilisation d'une solution de nettoyage polluée au bore (tout au moins dans la limite maximale de 10 ppb de bore testée ici) ne conduit pas à une erreur significative sur la mesure finale du B/Ca. Il semble donc que l'adsorption accidentelle de bore sur les parois des micro-tubes et/ou sur la poudre de calcite reste donc minime pendant les quelques secondes des phases de nettoyage, lorsque la pollution au bore ne dépasse pas 10ppb (des pollutions plus sévères étant très improbables). Ceci nous permet donc d'avoir une bonne confiance dans le protocole de nettoyage, sous réserve, comme nous l'avons dit plus haut, que l'eau ultra-pure utilisée dans le rinçage terminal soit, bien sûr, contienne des niveaux de bore en dessous du seuil de détection.

3.3. Intercomparaison avec le Godwin Laboratory de Cambridge

Le Godwin Laboratory de Cambridge est le premier laboratoire où a été mesuré puis utilisé le rapport B/Ca des foraminifères en tant que proxy du cycle du carbone de l'océan (Yu et al., 2005, 2007 ; Yu and Eldefield, 2007). Nous avons choisi d'effectuer une inter-calibration entre notre laboratoire et le Godwin Laboratory, projet qui est toujours actuellement en cours. Cette intercomparaison est menée en mesurant des répliques de plusieurs échantillons de foraminifères planctoniques et benthiques dans chacun des deux laboratoires, ainsi que des solutions de calibration des laboratoires respectifs et les standards J Cp-1 et J Ct-1.

Plusieurs similitudes et différences dans le protocole d'analyse du B/Ca existent entre le LSCE et le Godwin Laboratory. Elles sont résumées dans la table suivante (table 5).

Similitudes	
Nettoyage des échantillons Analyse sur ICP-AES Varian Vista aux deux laboratoires Préparation de l'ICP-QMS (conditionnement) Analyse des échantillons dans une matrice Ca 100 ppm	
Différences	
LSCE	Godwin Laboratory
Spectromètre ICP-QMS	
Thermo X-series ^{II} Meilleure sensibilité	Perkin Elmer Elan DRC II Meilleure stabilité
Stratégie de gestion des blancs	
1 blanc entre chaque échantillon	1 seul blanc en début de session
Calibrations	
En concentration ET en ratios	En ratio uniquement
Standards	
Standards internationaux JcP-1 et JcT-1 Bracketing des échantillons	Solutions de calibration en tant que standard Pas de standard international

Table 5 : Différences majeures existant entre le LSCE et le Godwyn Laboratory pour l'analyse du B/Ca.

Les premiers résultats du travail d'inter-comparaison (table 6) ont montré un offset systématique de l'ordre de +5 $\mu\text{mol/mol}$ ($\sim 6\%$) au LSCE, sur un set de foraminifères planctoniques *G. sacculifer*, mesuré dans des sommets de carottes issus de la Sierra Leone Rise (voir chapitre III pour plus de détails). De même, la mesure d'une réplique de l'espèce de foraminifère planctonique *G. ruber* issue d'un sable à foraminifères a mis en évidence un offset équivalent, de $\sim 4\%$. Par contre, la mesure de répliques de quelques échantillons de foraminifères benthiques de l'espèce *C. wuellerstorfi* des mêmes sommets de carottes a montré une très bonne cohérence entre les deux sets de données, avec un décalage moyen de $\sim 1\%$ qui est inférieur à la reproductibilité moyenne, et donc non significatif.

Nous avons cherché des explications à cet offset systématique des foraminifères planctoniques. L'analyse de nos solutions de calibration à Cambridge a donné des valeurs de B/Ca inférieures d'environ $3\mu\text{mol/mol}$ à celles calculées suite à leur préparation gravimétrique. Ceci peut être dû à la différence existante entre les deux appareils de mesure utilisés, qui n'ont pas les mêmes propriétés en terme de sensibilité et de stabilité, et permet d'expliquer une partie de l'offset observé, même si les raisons de cette différence sont encore à éclaircir.

Planctonic foraminifers	LSCE B/Ca ($\mu\text{mol/mol}$)		Cambridge B/Ca ($\mu\text{mol/mol}$)		Difference (LSCE-Cambridge)	Difference in %
G. sacculifer						
Station A	86.6	n=5	84.4	n=3	2.2	2.5
Station B	87.0	n=6	82.7	n=3	4.3	4.9
Station C	83.1	n=6	78.0	n=3	5.1	6.1
Station D	84.2	n=6	78.5	n=3	5.7	6.8
Station E	81.3	n=6	75.5	n=3	5.8	7.2
Station F	79.2	n=5	71.9	n=3	7.2	9.1
Station G	75.8	n=2	70.5	n=2	5.4	7.1
				Mean	5.1	6.2
G. ruber						
Mixed sample	119.19	n=3	114.1	n=1	5.1	4.3
Benthic foraminifers						
C. wuellerstorfi						
Station B	222.8	n=1	222.0	n=1	0.8	0.3
Station E	198.2	n=1	196.6	n=1	1.5	0.8
Mixed sample	212.8	n=2	216.9	n=1	-4.1	-1.9
				Mean	2.1	1.0

Table 6 : Mesures de B/Ca de plusieurs échantillons effectuées en répliques aux Laboratoires de Cambridge et au LSCE. Ces mesures mettent en évidence dans le cas des foraminifères planctoniques un offset entre les jeux de données, qui n'est pas enregistré par les répliques de foraminifères benthiques.

Dans un but de comparaison internationale des données, celles analysées au LSCE sont rapportées à la valeur publiée du standard JCT-1. Néanmoins, dans le cas des mesures de répliques effectuées à Cambridge, le standard JCT-1 n'a pas été mesuré en même temps que les échantillons, compliquant ainsi la comparaison de données. Les premières mesures de JCT-1 sur ICP-QMS à Cambridge donnaient une valeur de B/Ca 195 $\mu\text{mol/mol}$. De plus amples mesures dans ce laboratoire, effectuée sur un spectromètre de masse Thermo Element II (ICP-MS à secteur magnétique) ont donné une seconde valeur de B/Ca de 190 $\mu\text{mol/mol}$, plus proche de la valeur de 189 $\mu\text{mol/mol}$ récemment donnée par le LSCE dans le cadre d'un exercice international d'inter-comparaison (Hathorne et al., in prep.). Néanmoins, la difficulté de comparaison des jeux de données résulte de la simultanéité ou non des mesures de standard avec les échantillons. Ainsi, la compréhension de l'origine de cet offset nécessitera la poursuite des opérations d'inter-calibration avec le laboratoire de Cambridge, et également avec les autres laboratoires qui commencent à utiliser le B/Ca des foraminifères en tant que traceur de l'environnement.

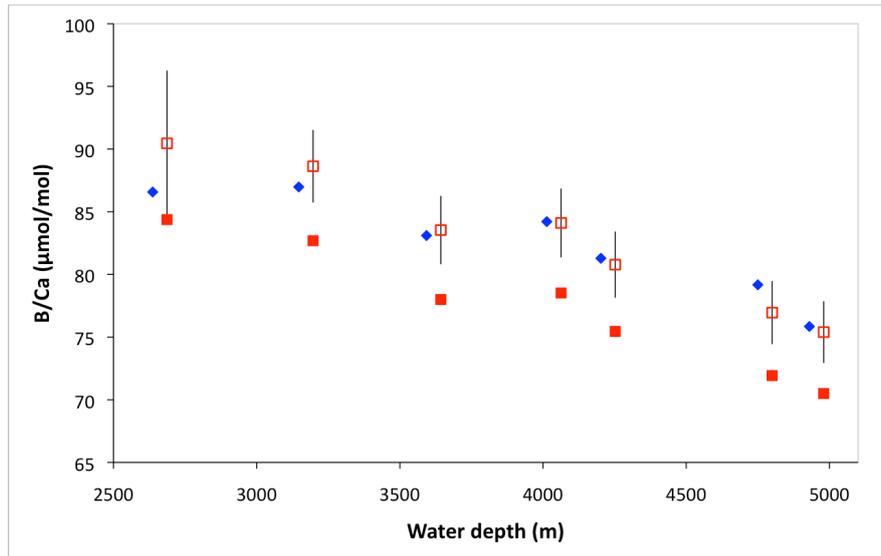


Figure 29 : Valeurs de B/Ca mesuré pour l'espèce *G. sacculifer* sur un transect de profondeur de la Sierra Leone Rise (voir Chapitre III pour détails), en fonction de la profondeur. En bleu, les valeurs mesurées au LSCE, en rouge plein les valeurs mesurées à Cambridge, en rouge ouvert les mesures de Cambridge corrigée de l'offset enregistré par Allen et al., 2012 ($B/Ca_{Rutgers} = 1.085 \times B/Ca_{Cambridge} - 1.09$). Les barres d'erreur, reportées uniquement sur les données de Cambridge corrigées, correspondent à l'erreur maximale entre l'écart type des répliques et une erreur analytique de 3.5%.

Une étude récente faite par Allen et al., 2012 met encore plus en évidence la nécessité de ce type d'intercalibration. Allen et ses co-auteurs ont effectués des culture de foraminifères planctoniques (*G. ruber* et *G. sacculifer*) sous des conditions contrôlées. Dans un but de comparaison avec des sommets de carottes, ils ont choisi d'analyser quelques répliques au laboratoire de Bristol, qui est l'un des laboratoires à mesurer le B/Ca. Ce laboratoire est intercalibré avec le Godwin Laboratory de Cambridge (Rae et al., 2011), or une intercalibration entre ce dernier et le Rutgers Laboratory a donné le même type d'offset que celui observé entre le LSCE et Cambridge. Allen et al., 2012 ont donc corrigé leurs données de cet offset pour comparer leur résultats de culture à ceux de sommet de carottes mesurés à Bristol. Comme le montre la figure 29, la correction des données de *G. Sacculifer* de Sierra Leone Rise mesurée à Cambridge permet d'obtenir des valeurs bien plus proches entre ce laboratoire et le LSCE.