

## UNE MÉTHODE DE SÉPARATION DES POLLENS APPLICABLE AUX SÉDIMENTS MINÉRAUX (\*)

par E. JUVIGNÉ (\*\*)

(2 fig. dans le texte)

### RÉSUMÉ

En séparant par lévigation la partie minérale d'un sédiment, contenant des pollens, en deux fractions inférieure et supérieure à 46 microns de diamètre, on concentre tous les pollens dans la fraction fine (< 46 microns), tandis que le culot de lévigation (fraction > 46 microns) est stérile et peut ainsi être éliminé dès le début de la préparation.

Ce procédé accroît le rendement des préparations polliniques utilisées et ce, d'autant plus que le sédiment est grossier.

La durée des agitations dans la liqueur dense est fortement réduite en substituant aux agitateurs habituellement utilisés, un mixer tournant à grande vitesse.

Enfin, la connaissance de la densité des pollens a permis de choisir judicieusement la liqueur dense utilisée pour séparer les fractions organiques et minérales.

### ABSTRACT

On separating, by elutriation, a sediment containing pollen into two size fractions (< 46 microns; > 46 microns), all the pollen is concentrated in the fine fraction. The fraction < 46 microns is sterile and can thus be eliminated. This procedure improves the yield of palynological preparations — increasingly so as the sediment treated becomes coarser.

The time necessary for stirring the heavy liquids is much reduced if the normal stirrer is replaced by a high-speed mixer.

Knowledge of the density of the pollen has enabled a careful choice to be made of the heavy liquids for separating the organic and mineral fractions.

### INTRODUCTION

Ce travail s'inscrit dans le cadre des efforts réalisés par divers auteurs et notamment B. Frenzel (1964) et B. Bastin (1971) pour extraire d'un sédiment un maximum de pollens en un temps aussi court que possible.

A notre sens, la méthode la plus rentable à ce jour est celle proposée par B. Bastin (1971); elle permet de préparer 4 échantillons en 1,5 jour. Nous l'avons utilisée comme base de nos recherches et nous avons pu profiter à de très nombreuses reprises des remarques et conseils de cet auteur.

Il résulte de cette collaboration la mise au point de la technique exposée ci-des-

(\*) Communication présentée le 3 avril 1973. Manuscrit déposé le 20 février 1973.

(\*\*) Université de Liège, Laboratoire de Géologie et de Géographie physique, place du Vingt-Août 7, B-4000 Liège.

sous qui permet de préparer 4 échantillons en moins d'une journée tout en récoltant un plus grand nombre de pollens à partir des sédiments grossiers.

Cette note comprend trois parties. Dans la première, nous exposons une façon d'accroître la récolte pollinique. Dans la deuxième, nous justifions l'adaptation des temps de certaines manipulations. Pour terminer, nous exposons la méthode telle que nous la préconisons.

Nous remercions vivement le Professeur Mullenders et ses collaborateurs (A. Munaut, B. Bastin, F. Damblon, G. Woilart) ainsi que les Professeurs P. Macar et A. Pissart. Tous nous ont très aimablement fait profiter de leur haute compétence chaque fois que des difficultés se sont présentées à nous.

## I. ACCROISSEMENT DE LA RÉCOLTE POLLINIQUE

### 1. Séparation du sédiment par lévigation.

Cette technique est couramment appliquée en sédimentologie (F. Verger, 1963). Elle consiste à soumettre un sédiment à l'action d'un courant d'eau ascensionnel dont on règle la vitesse pour qu'il fractionne le sédiment en deux parties.

L'appareil qui permet cette opération est un élutriateur (figure 1). Grâce à la pince d'Hofman, on peut régler le débit de l'eau dans le tube élutriateur. Le piézomètre gradué permet de contrôler l'intensité du débit et conséquemment, la vitesse de l'eau dans la partie cylindrique du tube élutriateur.

Le courant d'eau agite le sédiment contenu dans le tube et sépare les plus gros grains qui descendent à la base du tube, tandis que les plus fins sont soulevés et entraînés dans la centrifugeuse par le tuyau de vidange.

Le tambour de la centrifugeuse est garni d'un filtre en papier qui retient notamment tous les éléments de la taille des pollens.

### 2. Action du courant d'eau ascensionnel sur les particules solides.

Dans ce chapitre, nous voulons comparer le comportement des membranes de pollen (corps creux) et des grains de quartz (corps pleins) lorsqu'ils sont soumis à l'action du courant d'eau dans un tube élutriateur.

Nous cherchons ainsi à déterminer la classe granulométrique minérale qui est entraînée par un courant d'eau capable de soulever tous les pollens.

Dans le tube élutriateur toutes les particules solides sont soumises à l'action de trois forces :

- d'une part, leur poids qui s'exerce vers le bas, nous l'appellerons  $F_1$ .
- d'autre part, deux forces qui agissent vers le haut, à savoir la poussée d'Archimède ( $F_2$ ), et la force due à la poussée de l'eau sur la particule (loi de Stokes)  $F'_2$ . Les intensités respectives de ces deux dernières forces doivent être cumulées puisqu'elles ont même direction et même sens.

Dans ces conditions, nous pouvons écrire qu'une particule solide sera soulevée par le courant si :

$$F_2 + F'_2 > F_1 \quad (1)$$

Si l'on applique la formule (1) à un pollen fossile on obtient l'expression suivante :

$$V_m m_0 g + 3\pi\eta d_p \Delta v > V_m m_p g \quad (2) \quad \text{où}$$

$V_m$  : volume réel de la membrane du pollen en  $\text{cm}^3$ .

$m_0$  : masse spécifique de l'eau utilisée dans l'élutriateur (en  $\text{gr}/\text{cm}^3$ ).

$g$  : l'accélération de la pesanteur  $\text{cm}/\text{sec}^2$ .

$\pi$  :  $\frac{22}{7}$

$\eta$  : la viscosité de l'eau en  $\text{gr}/\text{cm. sec}$ .

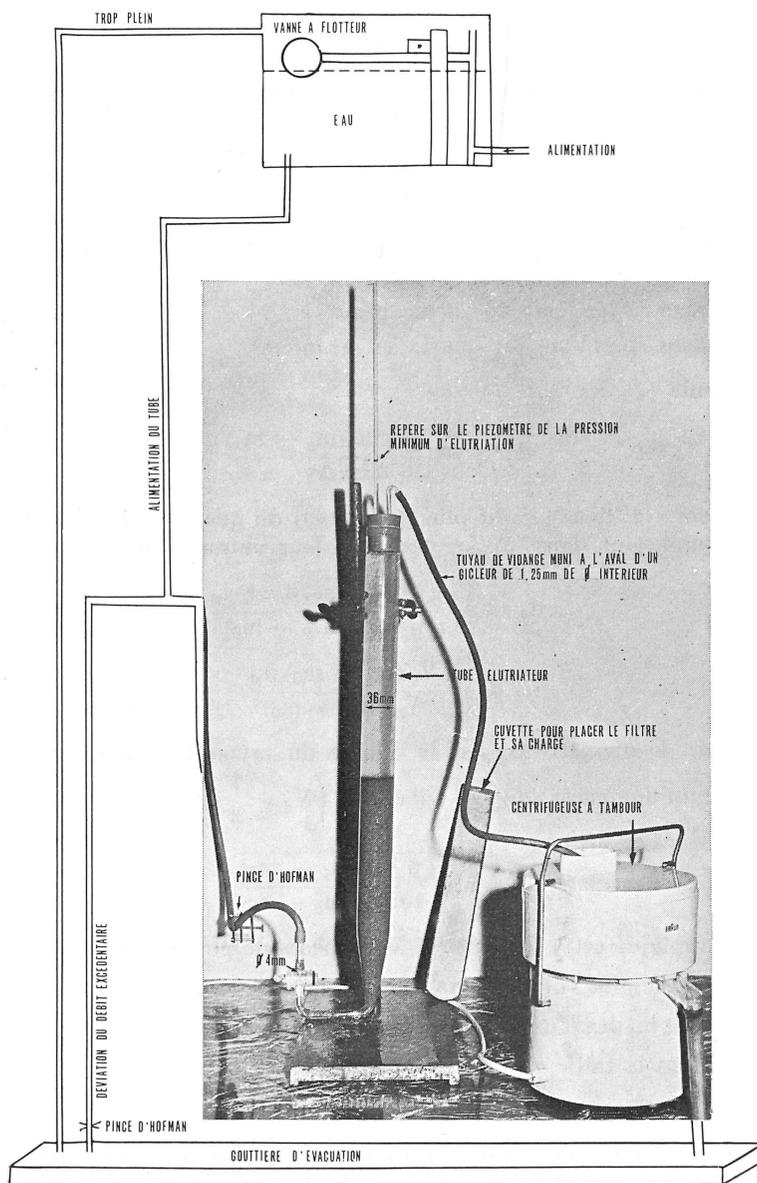


Fig. 1. — L'élutriateur et la centrifugeuse (voir note *in fine*).

$d_p$  : le diamètre (en cm) du pollen dont la forme doit être assimilée à une sphère.

$\Delta v$  : la différence entre la vitesse ascensionnelle du pollen et la vitesse du courant d'eau dans le tube élutriateur (en cm/sec).

$m_p$  : la masse spécifique (en gr.m/cm<sup>3</sup>) de la membrane du pollen.

De la formule 2, nous pouvons donc déduire la valeur de la vitesse du courant d'eau capable d'entraîner tous les pollens soit :

$$\Delta v > \frac{V_m g (m_p - m_0)}{3 \pi \eta d_p} \quad (3)$$

Nous pouvons maintenant rechercher le diamètre des grains de quartz qui seront entraînés dans le tube élutriateur par ce même courant d'eau.

La formule (1) appliquée aux grains de quartz s'écrit :

$$V_q m_0 g + 3 \pi \eta d_q \Delta v > V_q m_q g \quad (4)$$

Dans cette formule,  $m_0$ ,  $g$ ,  $\pi$ ,  $\eta$  et  $\Delta v$  ont déjà été définis (formule 2).

$V_q$  est le volume d'un grain de quartz en cm<sup>3</sup>

$d_q$  est le diamètre (en cm) du même grain

$m_q$  est la masse spécifique du quartz en gr.m/cm<sup>3</sup>

La formule (4) donne :

$$d_q > \frac{V_q \times g \times (m_q - m_0)}{3 \pi \eta \Delta v} \quad (5)$$

où  $d_q$  représente le diamètre du plus gros grain de quartz soulevé par le courant d'eau. En remplaçant dans (5)  $\Delta v$  par sa valeur obtenue en (3) on peut écrire :

$$d_q = \frac{V_q g (m_q - m_0) 3 \pi \eta d_p}{3 \pi \eta V_m g (m_p - m_0)}$$

$$d_q = \frac{V_q (m_q - m_0) d_p}{V_m (m_p - m_0)}$$

En remplaçant le diamètre  $d_q$  par le double du rayon  $2 r_q$  et en développant le volume du grain de quartz supposé sphérique ( $V_q = \frac{4}{3} \pi r_q^3$ ) on obtient :

$$r_q = \sqrt{\frac{6 V_m (m_p - m_0)}{4 \pi d_p (m_q - m_0)}} \quad (6)$$

Nous avons appliqué cette formule (6) à 3 espèces de pollens fossiles.

- Abies qui est le plus volumineux et le plus lourd.
- Urtica qui est un des plus petits et des plus légers.
- Carpinus dont la taille et le poids sont moyens.

#### a. Calcul de $V_m$

Dans la pratique nous avons déterminé  $V_m$  en mesurant l'épaisseur des membranes au microscope et en appliquant alors les formules de calcul de volume appropriées à la forme de chaque pollen choisi à titre d'exemple.

Pour *Urtica* et *Carpinus*, nous avons utilisé la formule  $\left(\frac{4}{3}\pi r_g^3 - r_p^3\right)$  où  $r_g$  et  $r_p$  sont respectivement les rayons extérieurs et intérieurs de la membrane de forme sphérique. Les résultats sont  $15.10^{-9}$  cm<sup>3</sup> pour *Carpinus* et  $27.10^{-11}$  cm<sup>3</sup> pour *Urtica*.

Pour *Abies*, nous avons appliqué séparément au corps et aux deux ballonets la formule de l'ellipsoïde  $\left[\frac{4}{3}\pi(abc - xyz)\right]$  dans laquelle  $abc$  sont les rayons extérieurs des membranes et  $xyz$  les rayons intérieurs. Nous avons ainsi trouvé  $26.10^{-8}$  cm<sup>3</sup>.

*b. Valeur de  $m_p$*

Pour  $m_p$  nous avons adopté la masse spécifique la plus élevée connue pour une membrane de pollen, soit 2,2 (Juvigné, 1973).

*c. Valeur de  $d_p$*

Nous avons attribué à  $d_p$  les valeurs suivantes :

Pour *Urtica* : 10 microns qui est le diamètre de ce pollen sphérique.

Pour *Carpinus* : 50 microns, diamètre de la sphère.

Pour *Abies* : 150 microns qui représentent le diamètre d'une sphère circonscrite au pollen réel.

Dans ces conditions, nous obtenons les résultats suivants pour les trois pollens étudiés :

- *Abies* :  $rq_1 = 22,7$  microns
- *Carpinus* :  $rq_2 = 9,4$  microns
- *Urtica* :  $rq_3 = 2,9$  microns

Nous avons procédé à une vérification expérimentale de ce résultat dans un appareil à lévigation du type Dietrich (voir Verger, 1963) conçu pour séparer les sédiments selon les diamètres suivants :  $< 10$  microns, 10 à 50 microns et  $> 50$  microns. Nous avons ainsi fractionné un sable riche en pollens. Les fractions  $< 10$  et 10 à 50 microns contenaient ensemble tous les pollens, la fraction  $> 50$  microns était parfaitement stérile.

En conclusion, il existe une valeur de la vitesse du courant d'eau telle que celui-ci entraîne certainement tous les pollens d'un sédiment en compagnie des grains de quartz dont le diamètre est inférieur à 46 microns.

Étant donné la capacité limitée des tubes de centrifugeuses utilisés dans la préparation des sédiments, l'intérêt de mettre tous les pollens d'un échantillon en présence de la moindre quantité possible de matière minérale est évident.

Considérons maintenant les courbes granulométriques d'une argile, un loess et un sable (fig. 2). Nous remarquons qu'une lévigation à 46 microns est sans intérêt pour l'argile puisque tout le sédiment serait entraîné par le courant d'eau. Par contre,

la concentration en pollens deviendra d'autant plus grande que la fraction minérale de plus de 46 microns est importante dans le sédiment.

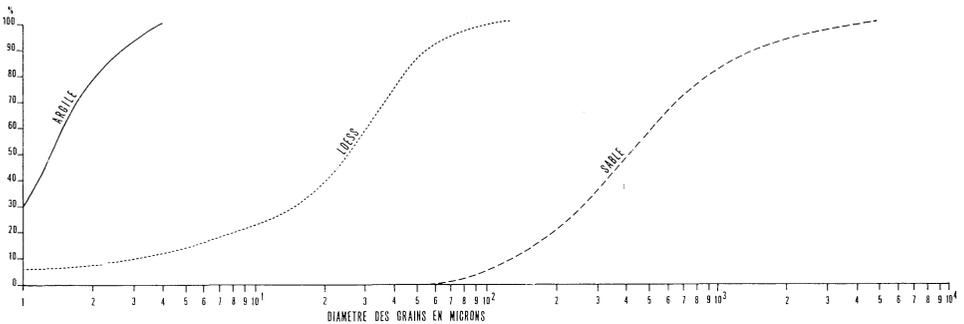


Fig. 2. — Courbes granulométriques d'une argile, un loess et un sable typiques.

### 3. *Étalonnage de l'éluviateur* (revoir fig. 1)

La vitesse du courant capable de soulever et d'entraîner tous les grains de quartz de diamètre inférieur à 46 microns — et conséquemment l'ensemble des pollens — peut être déterminée sur les abaques publiées par F. Verger (1963) soit 0,15 cm/sec (pour une température de l'eau de 5°).

Dans le tube éluviateur, tel que nous le proposons, cette vitesse correspond à un débit de 1,1 cm<sup>3</sup>/sec et à une pression que l'on doit enregistrer sur le piézomètre par trait repère.

Toutefois, dans la pratique, un tel débit peut être insuffisant pour agiter le sédiment et en dégager les particules à entraîner. C'est notamment le cas lorsque le tube éluviateur est fortement chargé.

Lors des manipulations, on devra donc veiller à satisfaire ensemble deux exigences pour effectuer une lévigation parfaite :

- 1° Assurer un débit au moins égal à celui correspondant à la graduation repère du piézomètre.
- 2° Veiller à ce que le sédiment soit entièrement agité.

*Remarque :* Les caractéristiques géométriques de l'appareillage que nous proposons à la fig. 1 peuvent être modifiées. Toutefois elles ont été établies en fonction de la vitesse de filtrage de la centrifugeuse à tambour. Une centrifugeuse plus efficace que la nôtre permettrait d'augmenter avantageusement le débit de lévigation et partant d'élargir le tube en verre de façon à pouvoir traiter d'avantage de sédiment.

## II. AGITATION DANS LA LIQUEUR DENSE

### 1. *Choix de la liqueur dense.*

Rappelons encore que la valeur de densité la plus élevée connue pour des pollens fossiles est 2,2 (Juvigné, 1973). D'autre part, la densité de la plupart des particules minérales est supérieure à 2,64. On pourrait donc admettre que toutes les liqueurs

dont la densité est comprise entre 2,2 et 2,64 peuvent servir pour effectuer la séparation.

Cependant en choisissant dans la gamme des densités élevées on favorise l'action de la poussée d'Archimède qui fait se dégager les pollens de la masse minérale. Toutefois, la décantation des particules minérales s'en trouve ralentie et, pour éliminer les grains qui n'auraient pas atteint le culot, on doit alors allonger le temps de centrifugation ou renforcer l'attaque à l'acide fluorhydrique qui suit la séparation.

## 2. *Technique et méthode d'agitation.*

Rappelons d'abord que B. Frenzel (1964) et B. Bastin (1971) proposent respectivement  $6 \times 2$  h et  $3 \times 1$  h d'agitation magnétique ou mécanique.

Pour notre part, nous préconisons un mixer tournant à grande vitesse et dont la cuve, par son relief, favorise l'agitation des suspensions.

Avec un mixer Soiltest avec cuves à barettes, nous avons établi expérimentalement qu'après 3 mixages de 5' (suivis chacun d'une centrifugation) le culot devient pratiquement stérile. Nous attirons l'attention sur l'inefficacité d'un seul mixage de 15'. En effet, nous croyons comprendre que lors de la centrifugation de la suspension mixée, les pollens qui se trouvent dans la partie inférieure du tube ne réussissent pas à effectuer un mouvement ascensionnel dans la « pluie » très dense des particules minérales qui se précipitent au fond du tube.

### III. DESCRIPTION DE LA MÉTHODE

Dans cette méthode, la plupart des opérations ont été préconisées par B. Bastin en 1971. Nous les avons reprises pour intégrer à leur place les amendements que nous proposons. Nous renvoyons à cet auteur pour la justification des diverses manipulations qui lui sont propres. Tous les temps de centrifugation sont standardisés à 5'.

1. Avant d'introduire le sédiment dans le tube élu triateur on doit préparer l'échantillon de façon telle que l'agitation du courant d'eau soit capable de dissocier les grains.

Pour les tufs (ciments calcaires, ferreux...) une attaque chimique est nécessaire. Pour les autres sédiments un simple malaxage manuel dans l'eau suffit.

2. Pour éliminer la fraction très grossière, tamiser à 600 microns environ.

*N.B.* Au total, le volume de sédiment et d'eau de malaxage et d'arrosage ne doit pas dépasser la capacité du tube élu triateur. Laisser reposer 1' pour permettre aux particules minérales  $> 40 \mu$  de décanter.

3. Verser la suspension dans un berlin.

Introduire le culot dans le tube élu triateur.

Verser à son tour la suspension dans le tube élu triateur.

Cette opération a pour raison de porter d'avance une part importante de la fraction fine à la partie supérieure du tube, donc prête à être entraînée dans la centrifugeuse à tambour.

4. Garnir le tambour de la centrifugeuse d'un filtre en papier. Le tambour et le filtre doivent être bien secs. Faire tourner la centrifugeuse. A ce moment, on peut éventuellement tapisser le filtre de  $\text{CaCO}_3$  pour diminuer sa perméabilité et faciliter la séparation du papier et de sa charge après filtrage. Ce tapissage est obtenu en vidant rapidement dans la centrifugeuse une suspension composée de 300 cc d'eau et 1 cc de  $\text{CaCO}_3$ .

Si la perméabilité du filtre devient insuffisante avant la fin de la lévigation, il suffit de le remplacer. La lévigation est terminée quand on a recueilli la quantité souhaitée de sédiment ou bien quand un col parfaitement limpide peut être observé au sommet du tube.

N.B. Pour faciliter la séparation du filtre et du sédiment, on peut aussi superposer au filtre en papier la grille souple fournie avec certaines centrifugeuses.

5. Sortir le filtre en papier de la centrifugeuse à tambour et recueillir sa charge.

a) Pour le filtre  $\text{CaCO}_3$  l'étendre dans une cuvette en plastique, sédiment contre le fond.

Arroser le filtre avec 50 cc d'HCl pur.

Enlever le filtre en papier.

b) Pour le filtre en papier sans  $\text{CaCO}_3$  nous conseillons l'acétolyse.

6. Verser le sédiment dans un tube de centrifugeuse 100 cc.

Rincer la cuvette.

Centrifuger à 4000 tours/minute.

Vider les liquides.

7. Ajouter  $\text{H}_2\text{O}$

Agiter

Centrifuger à 4000 t/min.

Vider

8. *Pour chaque échantillon*

Ajouter 150 cc de liqueur dense

Mixer 5' au Soiltest

Centrifuger 5' dans 2 tubes 100 cc

Vider sur filtre  $\text{CaCO}_3$  (M. Girard, 1969)

9. Répéter les opérations 8.

10. Recueillir le filtre et sa charge et plonger l'ensemble dans 10 cc d'HCl pour dissoudre le filtre  $\text{CaCO}_3$ . Retirer le papier.

Rincer l'entonnoir à HCl en recueillant le liquide

Centrifuger dans les tubes 50 cc à 4000 t/min.

Vider.

11. Ajouter 30 cc HF 40 %

Agiter

Faire bouillir 10' dans des godets en nickel

Centrifuger dans des tubes P.V.C. à 4000 t/min.

Vider.

12. Ajouter HCl

Agiter

Centrifuger à 4000 t/min.

Vider.

13. Ajouter H<sub>2</sub>O

Agiter

Centrifuger à 4000 t/min.

Vider.

14. Monter dans le milieu d'observation.

#### IV. CONCLUSIONS ET RÉSULTATS

##### 1. *Les temps de manipulation*

La méthode que nous préconisons permet de préparer quatre échantillons en une journée. Ce temps représente un gain d'une demi-journée sur la méthode de B. Bastin (1971) et d'une journée et demi sur celle de B. Frenzel (1964). Il est valable pour tous les sédiments.

##### 2. *La densité de la liqueur de séparation*

Si l'on traite des sédiments d'âge pré-holocène, il est nécessaire d'utiliser une liqueur de séparation dont la densité est supérieure à 2,2 sous peine de ne pas récolter l'ensemble des pollens (E. Juvigné, 1973). Pour les sédiments d'âge holocène ou actuel une liqueur de densité 2 peut suffire.

##### 3. *Le rendement de la lévigation*

A titre expérimental, nous avons traité des loess, des limons sableux et des sables. Par lévigation, nous avons séparé chaque sédiment en deux fractions inférieures ou supérieures à 50  $\mu$ . Nous avons ensuite traité les 2 fractions de chacun par la méthode que nous décrivons. Dans chaque cas, les culots étaient stériles en pollens, tandis que la fraction granulométrique < 50  $\mu$  en contenait. Ceci signifie que nous avons bien isolé tous les pollens de chaque échantillon dans la fraction de < 50  $\mu$ .

Dans ces conditions, l'accroissement de la récolte pollinique par manipulation est fonction de la granulométrie de chaque sédiment.

Il est au minimum de l'ordre de 30 % pour les loess, mais peut atteindre des valeurs nettement plus élevées pour les sables grossiers. A titre d'exemple, nous

retiendrons un sable fluviatile très grossier et bien lavé, dont nous avons dû élutrier 1450 gr de moins de  $600 \mu$  pour obtenir 25 gr (\*) de matière  $< 50 \mu$  et contenant tous les pollens de l'échantillon.

Dans ce dernier cas, nous pouvons calculer très simplement que pour obtenir une semblable récolte par la méthode de B. Bastin — conçue pour les loess mais applicable aux sables — il faudrait réaliser 58 préparations (1450 divisé par 25) qui demanderaient donc 87 journées. La même comparaison montre que B. Frenzel n'atteindrait l'importance de notre récolte qu'après 145 jours de manipulation.

#### BIBLIOGRAPHIE

- BASTIN, B., 1971. — Recherches sur l'évolution du peuplement végétal en Belgique durant la glaciation du Würm. *Acta Geographica Lovaniensia*, Vol. 9.
- FRENZEL, B., 1964. — Zur Pollenanalyse von Lössen Untersuchungen der Lössprofile von Oberfellabrun und Stillfried (Niederösterreich). *Eiszeitalter und Gegenwart*, 15, 5-39.
- GIRARD, M. et RENAULT-MISKOWSKY, J., 1969. — Nouvelles techniques de préparation en palynologie appliquée à trois sédiments du Quaternaire final de l'Abri-Cornille (Istres-Bouches-du-Rhône). *Bull. de l'Ass. française pour l'étude du Quaternaire*, pp. 275-284.
- JUVIGNÉ, E., 1973. — Densité des exines de quelques espèces de pollens et spores fossiles. *Ann. Soc. Géol. de Belgique*, T. 96 (sous presse).
- VERGER, F., 1963. — Les techniques d'analyse granulométrique. Centre de documentation cartographique et géographique. *Mémoires et Documents*. Tome IX, Fasc. 1, Éd. du C.N.R.S., Paris.

Note concernant la figure 1.

Le tuyau de « déviation du débit excédentaire » et sa pince d'Hofman ne sont vraiment utiles que lorsque plusieurs élutriateurs sont alimentés par le même réservoir. Dans ce cas, la pince sert à modifier simultanément le débit dans tous les tubes.

(\*) Ces 25 gr représentent la quantité de sédiment qu'il est rationnel de traiter dans les tubes de centrifugeuse de 100 cc.