

1. Les éléments majeurs

TP 01 : Dosage du titre alcalimétrique et titre alcalimétrique complet (TA & TAC)

- **Principe de la méthode**

Ces mesures sont basées sur la neutralisation d'un certain volume d'eau par un acide minéral, en présence d'un indicateur coloré.

- **Les réactifs**

Solution d'acide Sulfurique H_2SO_4 à 0.02 N.

Solution alcoolique de Phénophtaléine à 0.5 %.

Solution de méthylorange à 0.5%.

- **Mode opératoire**

***Détermination du TA :**

Tout d'abord, on introduit 100 ml d'eau à analyser (un échantillon) dans un erlenmeyer ; Puis on ajoute 1 à 2 gouttes de Phénophtaléine .L'échantillon doit se coloré en rose, dans le cas contraire le TA est nul, chose produite généralement pour les eaux naturelles dont le pH est inférieur à 8.3 ;

$TA = V_{H_2SO_4} \times N_{H_2SO_4} \times 0.1$ (en méq/L).

*** Détermination du TAC :**

On utilise l'échantillon précédent, et on lui ajoute le méthylorange afin de déterminer le TAC et on titre l'échantillon avec de l'acide sulfurique jusqu'au virage du jaune orange (à pH = 4.3).

Soit V le volume d'acide verser au cours du 2^{ème} dosage

Et V° est le volume de la prise d'essai = 100 ml

$$TAC = (V_{Sulfurique} - 0.5) * N_{sulfurique} * V^{\circ} / 1000 \text{ (en méq/L).}$$

TP 02 : Dosage du calcium et magnésium (Ca^{2+}) et (Mg^{2+})

Les réactifs

- EDTA Na_2 ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
- NaOH à 2N.
- Murexide (puparate d'ammonium).

• Mode opératoire

- Prélever 50 ml de solution à doser.
- Ajouter 3 ml de NaOH à 2N (si l'échantillon est acidifié avec 2 ml de HNO_3 , ajouter 6 ml).
- Ajouter la murexide (quelques grains), on obtient une couleur rose bonbon.
- Titrer l'EDTA à N/50 jusqu'à passage à une couleur violet pourpre soit V cette mesure.

• Expression des résultats

Pour une prise d'essais de 50 ml :

$$[\text{Ca}^{2+}] \text{ méq/l} = 0,02 * V * 1000 * 5/50$$

V : volume de l'EDTA titré.

1. Dosage de Mg^{2+}

- On a effectuée le dosage de ($\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$)
- les concentrations de Mg^{2+} sont calculées par la formule suivante :

$$[\text{Mg}^{2+}] \text{ méq/l} = [\text{Mg}^{2+} + \text{Ca}^{2+}] - [\text{Ca}^{2+}].$$

Dosage de $\text{Ca}^{2+} + \text{Mg}^{2+}$

• Les réactifs

- EDTA Na_2 ($\text{C}_{10}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_8\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$).
- Tampon ammoniacal.
- Noir Eriochrome T (NET).

• Mode opératoire

- Prélever 50 ml de solution à doser.
- Faire chauffer à 60°C .
- Ajouter le tampon ammoniacal : 5 ml.
- Ajouter Noir d'Eriochrome (quelque grain).
- Titrer avec l'EDTA à N/50 jusqu'à obtention d'une couleur bleu cobalt. Soit V cette mesure.

• Expression des résultats

Pour une prise d'essais de 50 ml

$$[\text{Mg}^{2+} + \text{Ca}^{2+}] \text{ méq/l} = 0,02 * V * 1000 * 5/50$$

V : volume de l'EDTA titré.

TP 03 : Dosage du Potassium (K^+) et du Sodium (Na^+)**Par spectrophotométrie d'émission de flamme****A) Dosage du Potassium (K^+)****Réactifs****Etablissement de la courbe d'étalonnage**

Solution mère à 1 g/l : dissoudre 0.477 g de Chlorure de potassium pur déshydraté dans 500 ml d'eau distillée.

Solution fille : à partir de la Solution mère à 1 g/l préparer 4 à 5 dilutions

2 mg/l prélever 2 ml

4 mg/l prélever 4 ml

6 mg/l prélever 6 ml

8 mg/l prélever 8 ml

10 mg/l prélever 10 ml

Mesures

Faire passer les dilutions au spectrophotomètre à flamme et noter les valeurs de Readout et tracer la courbe d'étalonnage. La courbe doit être une droite passant par l'origine. Faire passer ensuite les échantillons et noter les valeurs de Readout en la projetant sur le graphe et on détermine la concentration du potassium. Si la concentration en potassium dépasse 10 mg/l. Procéder à la dilution de l'échantillon.

B) Dosage du Sodium (Na^+)**Réactifs****Etablissement de la courbe d'étalonnage**

Solution mère à 1 g/l : dissoudre 0.634 g de Chlorure de sodium pur déshydraté dans 500 ml d'eau distillée.

Solution fille : à partir de la Solution mère à 1 g/l préparer 4 à 5 dilutions

2 mg/l prélever 2 ml

4 mg/l prélever 4 ml

6 mg/l prélever 6 ml

8 mg/l prélever 8 ml

10 mg/l prélever 10 ml

Mesures

Faire passer les dilutions au spectrophotomètre à flamme et noter les valeurs de Readout et tracer la courbe d'étalonnage. La courbe doit être une droite passant par l'origine.

Faire passer ensuite les échantillons et noter les valeurs de Readout en la projetant sur le graphe et on détermine la concentration du potassium. Si la concentration en potassium dépasse 10 mg/l. Procéder à la dilution de l'échantillon.

Remarque :

- Prélever les échantillons dans des flacons en verre borosilicaté.
- Effectuer le dosage le plus rapidement possible.
- En cas de présence de M.E.S, filtrer les échantillons.

TP 04 : Dosage des chlorures (Cl⁻)**Méthode de Mohr****• Principe de la méthode**

Les chlorures sont dosés en milieu neutre par une solution titrée de nitrate d'argent en présence de chromate de potassium. La fin de la réaction est indiquée par l'apparition de la teinte rouge caractéristique du chromate d'argent.

Réactifs

- Acide nitrique pur.
- Carbonate de calcium pur.
- Solution de chromate de potassium à 10 %.
- Solution de nitrate d'argent 0,1 N.

• Mode opératoire

- Introduire 100 ml d'eau à analyser, préalablement filtrée, dans une fiole conique de 250 ml. Ajouter 2 à 3 gouttes d'acide nitrique pur puis une pincée de carbonate de chaux et
- Ajouter 3 gouttes de solution de chromate de potassium à 10 %.
- Verser alors au moyen d'une burette la solution de nitrate d'argent jusqu'à apparition d'une teinte rougeâtre, qui doit persister 1 à 3 minutes.

Soit V le nombre de millilitres de nitrate d'argent 0,1 N utilisés.

• Expression des résultats

Pour une prise d'essai de 100 ml :

$V \times 10 \times 3,55$ donne la teneur en chlorures, exprimée en milligrammes de Cl⁻ par litre d'eau.

$V \times 10 \times 5,85$ donne la teneur en chlorures exprimée en milligrammes de NaCl par litre d'eau.

Remarques

- Dans le cas d'eaux très peu minéralisées, opérer par la technique de Charpentier-Volhard (teneur en chlorures inférieure à 30 mg/l).
- Dans le cas d'eaux contenant des sulfures, des thiosulfates ou des matières organiques en quantité importante, utiliser la technique de Charpentier-Volhard. On peut aussi détruire ces composés en ajoutant goutte à goutte une solution de permanganate de potassium environ 0,1 N jusqu'à coloration persistante, puis décolorer par une goutte d'eau oxygénée à 3 %.
- Dans le cas d'eaux alcalines à la phénol phtaléine ajouter de l'acide nitrique au 1/10 jusqu'à décoloration de la phénolphtaléine en évitant d'ajouter un excès d'acide. Pratiquer alors le dosage comme l'indique

TP 05 : Dosage des sulfates (SO_4^{2-})

Principe de la méthode

Les sulfates sont précipités en milieu chlorhydrique à l'état de sulfate de baryum. le précipité ainsi obtenu est stabilisé à l'aide d'une solution de Tween 20 ou de polyvinyl-pyrrolidone. les suspensions homogènes sont mesurées au spectrophotomètre

Réactifs: * **Solution d'acide chlorhydrique au 1/10:**

***Solution de tween 20 à 25 %**

* **Solution de chlorure de baryum stabilisées:**

1. chlorure de baryum BaCl_2 , 2 H_2O 10 g
2. solution de tween 20 à 25 %20 ml
3. eau distilléqsp 100ml

• **Solution étalon de sulfate de sodium à 150mg / l de SO_4^{2-} :**

1. sulfate de sodium.....0.221 g
2. eau permutée.....qsp 1000 ml

Établissement de la courbe d'étalonnage:

Dans une série de tubes numérotés, introduire successivement :

Numéro de tube	T	1	2	3	4	5	6
Solution étalon (ml)	0	1	3	5	7	9	10
Eau permutée (ml)	50	49	47	45	43	41	40
Acide chlorhydrique (ml)	1	1	1	1	1	1	1
Solution de chlorure de baryum stabilisé (ml)	5	5	5	5	5	5	-
Correspond en mg/l de SO_4^{2-}	0	3	9	15	21	27	30

Agiter 2 à 3 fois énergiquement , après 15 min de repos , agiter à nouveau et faire la lecture au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 650 nm , construire la courbe d'étalonnage.

Mode opératoire : Dans des tubes, introduire successivement :

- Eau à analyser50 ml
- Acide chlorhydrique1 ml
- Solution stabilisée de tween 20 + chlorure de baryum.....5 ml

Préparer dans les mêmes conditions un tube témoin en remplaçant l'eau à analyser par l'eau distillée

Agiter énergiquement et laisser reposer 15 min

Agiter à nouveau

Faire la lecture au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 650nm

Tenir compte de la valeur lue pour le témoin, se reporter à la courbe d'étalonnage.

Expression des résultats:

Pour un prise d'essai de 39 ml , la courbe donne directement la teneur en sulfates exprimée en milligrammes de sulfates par litre.

2. Les nutriments

2.1. L'azote

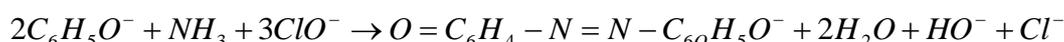
TP 06 : Dosage de l'azote ammoniacal

Principe de la méthode:

La méthode décrite mesure la totalité de l'azote ammoniacal soit $N-NH_3 + N-NH_4^+$

Symbolisée par $N-NH_3^+$, il s'agit de la méthode de Koroleff (1969) qui est simple et qui offre une bonne précision ainsi qu'une bonne sensibilité :

C'est une application à l'eau de mer de la réaction de Berthelot ainsi schématisée :



Dans un premier temps, l'ammoniac forme une monochloramine avec l'hypochlorite en milieu légèrement basique, cette dernière réagit avec le phénol en présence d'une excès d'hypochlorite pour former le bleu d'indophénol absorbant à 630 nm. La réaction est accélérée par le nitroprussiate ou plus exactement un dérivé formé en milieu basique (Patton et Crouch 1977)

Grasshoff et Jahannsen (1972) ont réussi à remplacer l'hypochlorite par un autre donneur de chlore : l'acide dichloroisocyanurique (1,3-dichloro-1,3,5-triazine 2,4,6(1H,3H,5H) trione sous forme de son sel de potassium

La précipitation des ions alcalinoterreux de l'eau de mer, au pH élevé de la réaction est évitée par complexation à l'aide de citrate de sodium (Solorzand, 1969)

Réactifs :

Réactif 1 : Solution de phénol –Nitroprussiate

Pour 1 L de réactif : dissoudre 35 g de phénol et 400 mg de nitroprussiate de sodium ($Na_2Fe(CN)_5 \cdot NO \cdot 2H_2O$) dans de l'eau déminéralisé ou fraîchement distillée et compléter à 1000 ml.

Ce réactif doit être conservé au réfrigérateur et à l'abri de la lumière : il ne se sable que quelques semaines et doit renouvelé s'il prend une teinte verdâtre.

Réactif 2 : Solution Alcaline d'hypochlorite

Pour un litre de réactif :

- Dissoudre 280g de citrate trisodique pour analyse ($Na_2 C_6H_5O_7, 2 H_2O$)
- 22g de soude dans environ 800 ml d'eau déminéralisé ou fraîchement distillé
- ajouter alors un volume de solution d'hypochlorite de sodium correspondant à 1,4 g de chlore, soit : 44 ml d'une solution à 10 degrés chlorométrique ou 40 ml d'une solution normale (le titre de ces solutions doit être contrôlé périodiquement.
- compléter à 1000 ml.

On peut remplacer l'hypochlorite par du dichloroisocyanurate de potassium $C_3Cl_2KN_3O_3$, il faut alors en ajouter 5 g par litre de réactif.

Ce réactif est utilisable dans toute la gamme de salinité, mais de préférence au dessus de 5 ‰ ; lorsque l'on n'analyse que des eaux de salinité inférieure à 5 ‰, la quantité de soude introduite dans le réactif doit être abaissée à 14 g. l⁻¹ au lieu de 22g. l⁻¹

Réactif 3 : Solution étalon primaire d'ammonium

Sécher pendant 1h à 110C° du sulfate d'ammonium de pureté analytique (NH₄)₂ SO₄⁻ et en dissoudre 0,661 g dans 1000ml d'eau distillée

1 ml contient 10 μ mol de N-NH₄⁺

Cette solution est stable indéfiniment au réfrigérateur.

Réactif 4 : Solution étalon secondaire d'ammonium

Diluer 20 fois la solution étalon primaire avec de l'eau déminéralisé de bonne qualité ou de l'eau fraîchement distillée. Ajouter du chloroforme à raison de 1 ml. l⁻¹

1 ml contient 0,5 μmol.l⁻¹ de NH₄⁺

Cette solution est stable environ 1 semaine au réfrigérateur, mais pour plus de sécurité la préparer avant usage.

Mode opératoire : Le processus général :

- Prendre 100 ± 5 ml d'échantillon directement dans le flacon à réaction
- Ajouter 3.0 ml du réactif 1
- Boucher et agiter pour bien homogénéiser
- Ajouter sans attendre 3.0 ml du réactif 2
- Boucher et agiter à nouveau
- Placer immédiatement à l'abri de la lumière pendant 6 à 8 h (ou mieux pendant une nuit à température ambiante)
- Mesurer l'absorbance à 630 nm, par rapport à l'eau distillée en cuves de 10 cm de trajet optique, ou en cuves plus petites (au dessus de 5 μmol.l⁻¹) la coloration reste stable pendant plusieurs jours à l'abri de la lumière.

Calcul expression des résultats : Soit :

- A_{tr} : l'absorbance mesurées pour l'échantillon traité.
- b_t : l'absorbance mesurée pour la turbidité.
- b_r : l'absorbance mesurée pour le blanc des réactifs.
- C_s : la correction de salinité déterminé d'après la courbe donnant sa variation en fonction de la salinité

L'absorbance nette corrigée est $A_c = C_s \times (A_{tr} - b_t - b_r)$

Cette valeur A_{tr} reportée sur la courbe d'étalonnage pour déduire la concentration de l'échantillon.

On peut également déterminer la pente P de la droite d'étalonnage en μmol. l⁻¹ par unité de d'absorbance, dans ce cas la concentration est :

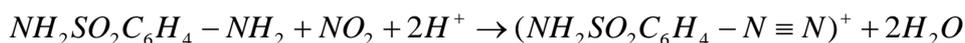
$$[NH_{3,4}](\mu mol.l^{-1}) = P \times A_c$$

On notera que P dépend de la longueur des cuves utilisées.

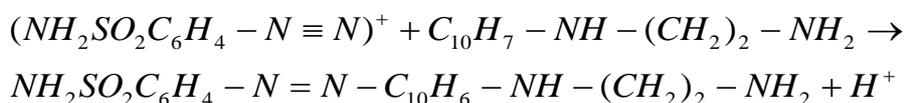
TP 07 : Dosage de l'azote nitreux (NO₂⁻)**Principe de la méthode :**

La méthode décrite, fondée sur la réaction de **Griss** et appliquée à l'eau de mer par **Bendschneider et Robinson (1952)**, est une plus sensibles et des plus spécifiques pour l'analyse des eaux naturelles.

Les ions nitrite forment un diazoïque avec le sulfanilamide en milieu acide (pH<2) selon la réaction :

**Sulfanilamide**

Puis le diazoïque avec le N- naphtyl-éthylènediamine pour former le colorant.



Ce colorant rose absorbe à la longueur d'onde de 543 nm.

Réactifs :**Réactif 1 : Solution de sulfanilamide**

Pour préparer 500 ml de réactif

Diluer 50 ml d'acide chlorhydrique concentré (d= 1.18) dans environ 300 ml d'eau distillée ou déminéralisé

Dissoudre 5 g de sulfanilamide dans cette solution et compléter à 500 ml

Cette solution est stable indéfiniment

Réactif 1 : Solution de N-naphtyl-éthylènediamine

Dans 500 ml d'eau distillée, dissoudre 0,5 g de dichlorohydrate de N-(1-naphtyl)-éthylènediamine.

Conserver cette solution au froid et à l'abri de la lumière, le renouveler tous les mois ou dès qu'il s'y développe une coloration brune

Solution étalon primaire de nitrite

Sécher à 110 C° pendant plusieurs heures du nitrite de sodium anhydre Na₂NO₂de pureté garantie, GRASSHOFF (1979) recommande de ne pas utiliser de produit trop ancien.

Dissoudre 0,345 g dans de l'eau, compléter à 1000 ml et ajouter 1 ml de chloroforme, transférer la solution dans un flacon en verre brun :

$$1 \text{ ml contient } 5 \mu\text{mol.l}^{-1} \text{ N-NO}_2^-$$

Conserver au froid et à l'abri de la lumière, cette solution est stable 1 à 2 mois

Solution étalon secondaire de nitrite

Diluer 100 fois la solution étalon primaire pour obtenir la solution secondaire :

$$1 \text{ ml contient } 0.05 \mu\text{mol.l}^{-1} \text{ N-NO}_2^-$$

Cette solution doit être préparée extemporanément : elle ne se conserve que quelques heures

Mode opératoire

Le processus général :

La température des échantillons doit être comprise entre 15 et 25 °C on procède comme suit :

- Rincer une éprouvette de 50 ml avec l'eau à analyser et y introduire 50 ± 1 ml de l'échantillon
- Ajouter 1.0 ml du réactif 1 en mélanger
- Laisser reposer 2 à 8 min
- Ajouter 1.0 ml du réactif 2 et mélanger à nouveau
- Attendre au moins 10 min pas plus de 2 heures
- Mesurer l'absorbance en cuve de 10 cm de trajet optique à la longueur d'onde de 543 nm, en prenant de l'eau distillée comme référence

Calcul expression des résultats :

Soit :

- A_{tr} : l'absorbance mesurées pour l'échantillon traité.
- b_t : l'absorbance mesurée pour la turbidité.
- b_r : l'absorbance mesurée pour le blanc des réactifs.

L'absorbance nette est : $A = A_{tr} + b_t + b_r$

Cette valeur A est reportée sur la courbe d'étalonnage pour en déduire la concentration de l'échantillon.

On peut également déterminer la pente P de la droite d'étalonnage en $\mu \text{ mol. l}^{-1}$ par unité d'absorbance, dans ce cas la concentration est :

$$[\text{N} - \text{NO}_2^-](\mu\text{mol.l}^{-1}) = P \times A$$

On notera que P dépend de la longueur des cuves utilisées

TP 08 : Dosage de l'azote nitrique (NO₃)**Principe de la méthode :**

La méthode retenue quasi universellement est celle qui est fondée sur le dosage des ions

NO₂⁻ obtenues par réduction quantitative (>95%) des ions NO₃⁻

On mesure donc en réalité la somme des concentrations des ions NO₂⁻ et NO₃⁻ par réduction de la concentration en nitrite, déterminé sans réaction, on obtient la concentration en nitrate.

Réactifs :**Réactif 1 : Solution de sulfanilamide**

Pour préparer 500 ml de réactif

Diluer 50 ml d'acide chlorhydrique concentré (d= 1.18) dans environ 300 ml d'eau distillée ou déminéralisé

Dissoudre 5 g de sulfanilamide dans cette solution et compléter à 500 ml

Cette solution est stable indéfiniment

Réactif 1 : Solution de N-naphtyl-éthylènediamine

Dans 500 ml d'eau distillée, dissoudre 0,5 g de dichlorohydrate de N-(1-naphtyl)-éthylènediamine.

Conserver cette solution au froid et à l'abri de la lumière, le renouveler tous les mois ou dès qu'il s'y développe une coloration brune

Solution étalon primaire de nitrite

Sécher à 110 C° pendant plusieurs heures du nitrite de sodium anhydre Na₂NO₂ de pureté garantie, GRASSHOFF (1979) recommande de ne pas utiliser de produit trop ancien.

Dissoudre 0,345 g dans de l'eau, compléter à 1000 ml et ajouter 1 ml de chloroforme, transférer la solution dans un flacon en verre brun :

1 ml contient 5 μmol.l⁻¹ N-NO₂⁻

Conserver au froid et à l'abri de la lumière, cette solution est stable 1 à 2 mois

Solution étalon de nitrate

Dissoudre 0,506 g de nitrate de potassium anhydre dans 1 l d'eau distillée ajouter 1 ml de chloroforme *1 ml contient 5 μmol.l⁻¹ de N-NO₃⁻*

La solution est stable plusieurs mois si elle est conservée au froid et à l'abri de la lumière

Solution concentrée de chlorure d'ammonium

Préparer une solution à 250 g de chlorure d'ammonium NH₄Cl par litre d'eau distillée

Solution diluée de chlorure d'ammonium

Diluer 40 fois la solution précédente avec de l'eau distillée (25 ml pour 1 l de solution)

Solution de sulfate de cuivre Dans 500 ml d'eau distillée dissoudre 10 g de sulfate de cuivre penta hydraté ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$)

Mode opératoire Le processus général :

1.1. Analyse de la concentration totale nitrate+nitrite :

- Prendre 100 ± 2 ml d'échantillon, ajouter 2.0 ml de la solution concentrée de chlorure d'ammonium et mélanger correctement.
- Verser environ 5 ml de cette solution dans la colonne et les laisser écouler cette procédure diminue considérablement les risques d'interférences entre échantillons successifs.
- Verser alors le reste de l'échantillon
- Rejeter les 30 premiers millilitres
- Rincer une éprouvette graduée de 50 ml avec quelques millilitres de la solution sortant de la colonne et recueillir 50 ml de l'effluent.
- Ajouter aussitôt 1.0 ml de réactif 1 et mélanger
- Laisser reposer 2 à 8 min
- Ajouter 1.0 ml du réactif 2 mélanger
- Attendre au moins 10 min pas plus de 2 heures
- Mesurer l'absorbance en cuves de 1 cm à 543 nm par rapport à l'eau distillée.

Remarque : Le temps de passage sur colonne doit rester le même pour toute une série d'échantillon et d'étalons, Ce temps a été préalablement ajustée pour obtenir le rendement optimal. Si la concentration de l'échantillon est susceptible de dépasser $25 \mu\text{mol.l}^{-1}$ il est nécessaire d'effectuer une dilution, avant l'addition des réactifs pour que la concentration reste inférieure à cette valeur (voir dosage des ions nitrites)

1.2. analyse des ions de nitrites

Prendre 50 ± 1 ml d'échantillon, ajouter 1.0 ml de solution concentrée de NH_4Cl et mélanger, poursuivre le dosage comme sur 50 ml d'effluent de la colonne.

Calcul expression des résultats : Soit :

- A_{tr} : l'absorbance mesurées pour l'échantillon traité.
 - b_t : l'absorbance mesurée pour la turbidité.
 - b_r : l'absorbance mesurée pour le blanc des réactifs.
 - R : le rendement de réduction des ions nitrate en nitrite
 - r : la fraction des ions nitrite non réduits par la colonne
- L'absorbance nette de l'échantillon est :

$$A = A_{tr} + b_t + b_r$$

Cette valeur A est reportée sur la courbe d'étalonnage pour en déduire la concentration totale en nitrite après passage de l'échantillon sur la courbe soit C cette concentration.

Si $[\text{NO}_3^-]$ et $[\text{NO}_2^-]$ sont les concentrations respectives en micromoles par litre des ions

NO_3^- et NO_2^- dans l'échantillon à analyser, on a eu après le passage sur la colonne :

$$C = R \times [\text{NO}_3^-] + r \times [\text{NO}_2^-] \quad \text{D'où} \quad [\text{NO}_3^-] \mu\text{mol.l}^{-1} = C \times \frac{1}{R} - [\text{NO}_2^-] \times \frac{r}{R}$$

$[\text{NO}_3^-]$ est connue par la mesure directe sur l'échantillon non passer sur la colonne.

TP 09 : Dosage de l'azote organique dissous et de l'azote organique particulaire

Méthode de Raimbault&Slawyk (1991) et Pujo-Pay&Raimbault (1994)

I INTRODUCTION

L'étude du cycle biogéochimiques de l'azote et du phosphate repose sur la connaissance et la quantification des différentes formes de ces éléments. Il existe de nombreuses méthodes pour déterminer les formes organiques. Nous allons utiliser une méthode développée par Pujo-pay et Raimbault en 1994, méthode qui permet de doser simultanément l'azote et le phosphate, particulaire ($Tot-N_{part}$ □ $Org-N_{part}$ & $Tot-P_{part}$) ou total ($Tot-N$ & $Tot-P$). On peut ainsi en déduire l'azote et le phosphate total dissous ($Tot-N_{diss}$ & $Tot-P_{diss}$). Si par ailleurs on mesure les formes minérales dissoutes de l'azote et du phosphate, on peut en déduire la fraction organique dissoute ($Org-N_{diss}$ & $Org-P_{diss}$).

Principe de la méthode

Le principe du dosage est de minéraliser la matière organique par autoclavage en milieu oxydant, alcalin puis acide, et de doser les éléments minéraux formés. Dans les conditions expérimentales, toute la matière organique est transformée en nitrate pour l'azote et en orthophosphates pour le phosphate.

Reactifs**Réactif pour la minéralisation:**

Ajouter directement dans la dosipette de 250 ml placée sur la balance, 15 g de persulfate de potassium $K_2S_2O_8$ (Merck 5092), 7.5 g d'acide borique (Merck 165), 70 ml d'une solution d'hydroxyde de sodium NaOH à 60 g/l et 170 ml d'eau déionisée (milli-Q). Le réactif doit être stocké à l'abri de la lumière

Manipulation

Pour une question de temps de manipulation, nous nous intéressons uniquement à déterminer les différentes fractions de l'azote. Préparer vos échantillons à minéraliser puis votre gamme étalon pour le dosage des ions nitrate + nitrite. Quand l'autoclave est en route, passer votre gamme étalon au technicon.

Echantillonnage :

Les prélèvements sont effectués à la bouteille Niskin après les prélèvements pour l'analyse des gaz dissous. Pour obtenir une précision correcte, il doit être demandé aux précédents utilisateurs de ne surtout pas toucher l'embout de la bouteille Niskin avec leurs doigts (des gants sont généralement recommandés). En cas de contamination, nettoyer l'embout avec de l'acide chlorhydrique 10%.

Pour chaque prélèvement, rincer 3 fois le flacon avec l'eau de mer.

Mineralisation :

Réaliser les opérations suivantes en parallèle :

-Pour obtenir la concentration en azote total, prélever environ 40 ml d'eau de mer **directement** dans les flacons autoclavables et ajouter 5 ml de réactif (faire 3 réplicats).

-Pour obtenir le blanc réactif, préparer 1 flacon avec seulement 5 ml de réactif (faire 2 réplicats).

-Pour obtenir la concentration en azote particulaire, prélever 250 ml d'eau de mer dans le flacon en plastique prévu à cet effet et les filtrer sur filtre GF/F (Les filtres dans le dessiccateur ont été préalablement calcinés au four à 450°C pendant 4 h et nettoyés à l'acide chlorhydrique M). Placer ensuite le filtre dans un flacon autoclavable et ajouter 40 ml d'eau déionisée (milli-Q) et 5 ml de réactif (faire 3 réplicats).

-Pour obtenir le blanc Filtre, préparer un flacon avec 40 ml d'eau déionisée (milli-Q), 5 ml de réactif et 1 filtre (faire 2 réplicats).

Placer l'ensemble des flacons autoclavables, correctement fermés, dans l'autoclave. **VERIFIER QU'IL Y A DE L'EAU DANS L'AUTOCLAVE AVANT DE LE FAIRE FONCTIONNER.** Minéraliser pendant 30 minutes à 120°C (1 bar). Laisser refroidir les échantillons à température ambiante avant de procéder aux analyses.

Pour le blanc Réactif, ajouter 40 ml d'eau déionisée (milli-Q) avant d'effectuer l'analyse des sels nutritifs.

Analyse des sels nutritifs :

Le dosage de l'azote des ions nitrate + nitrite est réalisé à l'aide d'un autoanalyseur Technicon selon le protocole développé en V.

Résultats :

Déterminer les concentrations de vos échantillons :

-en nitrate (NO_3^-). On considère dans notre cas que la concentration en nitrite est négligeable devant la concentration en nitrate.

-en azote total :

$$\text{Tot-N} = (H_{\text{tot-N}} - H_{\text{effet de sel}} - H_{\text{blanc réactif}}) * F * (45/40)$$

avec H qui correspond à une hauteur de pic et F au facteur déterminé au paragraphe V

$$\begin{aligned} &\text{-en azote particulaire (prendre en considération le volume filtré) } \text{Tot-N}_{\text{part}} \\ &= (H_{\text{tot-Npart}} - H_{\text{blanc filtre}}) * F * (45/V_{\text{filtré}}) \end{aligned}$$

En déduire les concentrations organiques dissoutes. Exprimer vos résultats en μM et en $\mu\text{g.l}^{-1}$ de N.

N'oubliez pas de bien rincer vos flacons en fin de manipulation.

TP 10: Dosage de l'azote Total (Nt)**• Principe de la méthode**

Les composés azotés présents dans l'eau sont oxydés en nitrates dans un autoclave par une solution alcaline de persulfate. Les nitrates sont ensuite réduits en nitrites et dosés par l'une des méthodes décrites précédemment.

Matériel spécial

- Autoclave.
- Flacons stérilisables et bouchés de 50 ml.

Réactifs

- Solution de minéralisation:
- Persulfate de potassium 3g
- Hydroxyde de sodium 0,5 N 50 ml
- Eau permutée 100 ml
- Réactifs utilisés pour le dosage des nitrates (Sulfalinmide + NED)
- Établissement de la courbe d'étalonnage

Se reporter au dosage des nitrates.

• Mode opératoire

- Introduire dans un flacon stérilisable 10 ml d'échantillon
- 15 ml de solution de minéralisation.
- Boucher le flacon, le passer à l'autoclave à 120°C à la pression de 100 000 Pa pendant 45 min. Après refroidissement,
- Prélever 5 ml et les introduire dans une fiole jaugée de 200 mL.
- Ajouter 5 ml de solution tampon,
- Ajuster le volume à 200 ml.
- Effectuer le dosage des nitrates sur cette solution.

Expression des résultats

La teneur en azote total est exprimée en milligrammes de *N* par litre.

Remarque

- L'oxydation de l'azote peut aussi être obtenue par rayonnement ultraviolet.

1.1. Le phosphore

TP 11: Dosage du phosphore minéral dissous

Principe de la méthode :

La méthode de Murphy et Riley (1962) reste encore aujourd'hui une des plus rapides et plus simples pour le dosage des ions orthophosphate en eau de mer.

Les ions phosphate réagissent avec le molybdate d'ammonium en présence d'antimoine (III) pour former un complexe que l'on réduit par l'acide ascorbique ; cette forme réduite de coloration bleue. a un maximum d'absorption à 885 nm. Ce composé bleu contient le phosphore, le molybdène et l'antimoine dans les proportions atomiques.

Les poly phosphates et le phosphore organique ne sont pas dosée par cette méthode

Réactifs :

Réactif 1 : Solution de molybdate d'ammonium

Dissoudre 15 g de paramolybdate d'ammonium « pour analyse » $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ de préférence en poudre fine, dans 500 ml d'eau distillée ou déminéralisé.

En flacon de plastique et à l'abri de la lumière, cette solution est stable indéfiniment

Réactif 2 : Acide sulfurique

Ajouter petit à petit, avec précaution ,140 ml d'acide sulfurique (densité= 1,84) « pour analyse » dans 900 ml d'eau distillée .laisser refroidir et conserver en bouteilles de verre bien bouchée.

Réactif 3 : Solution d'acide ascorbique

Dissoudre 54 g d'acide ascorbique ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$) dans 500 ml d'eau distillée.

En flacon de plastique, cette solution se conserve plusieurs mois au congélateur : dégeler juste avant utilisation et recongeler aussitôt après .Au réfrigérateur, en flacon protégé de la lumière, on peut la conserver quelques semaines.

Réactif 4: Solution d'oxytartrate de potassium et d'antimoine

Dissoudre 0,34 g d'oxytartrate de potassium et 'antimoine (III) $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6$ dans 250 ml d'eau distillée en chauffant si nécessaire. Cette solution se conserve plusieurs mois au réfrigérateur.

Réactif 5 : mélange de réactif

Mélanger les réactifs ci-dessus dans les proportions suivantes :

- 100 ml de solution de molybdate d'ammonium
- 250 ml d'acide sulfurique $2,5 \text{ mol.l}^{-1}$
- 100 ml de solution d'acide ascorbique
- 50 ml de solution d'oxytartrate de potassium et d'antimoine.

Ce mélange réactif qui ne se conserve pas plus de 6 h doit être *préparé immédiatement avant chaque série d'analyses*. La quantité ainsi préparée permet l'analyse de 50 échantillons : ne pas conserver tout excès de réactif inutilisé après 6 h.

Noter que l'on peut préparer un mélange réactif plus stable si l'on n'y introduit pas l'acide ascorbique : sa conservation est alors de plusieurs mois. Toutefois le mélange complet doit être préparé au fur et à mesure des besoins en y ajoutant la solution d'acide ascorbique dans les proportions indiquées

Solution étalon primaire de phosphate

Sécher à 100 °C ou au dessiccateur, sur H₂SO₄ concentré du dihydrogénophosphate de potassium anhydre (KH₂PO₄) de qualité « pour analyse »

En dissoudre 0,6805 g dans 1 litre d'eau distillée et ajouter 1 ml de chloroforme :

1 ml contient 5 μ mol de PO³⁻₄

Cette solution est stable plusieurs mois au réfrigérateur.

Solution étalon secondaire de phosphate

Diluer 100 fois la solution étalon primaire : 10 ml complétés à 1000 ml avec de l'eau distillée .mettre dans un flacon brun avec 1 ml de chloroforme

1 ml contient 0,05 μmol.l⁻¹

Cette solution qui doit être placée au réfrigérateur se conserve vraisemblablement quelques semaines, mais pour plus de sécurité, la renouveler tous les 10 jours environ.

Mode opératoire

Le processus général :

La température des échantillons doit être comprise entre 15 et 30 °C

On procède comme suit :

- Préparer le mélange réactif
- Mesurer 100 ml d'échantillon
- Ajouter 10±0,5 ml du mélange réactif et homogénéiser aussitôt
- Attendre 5 min et mesurer l'absorbance à 885 nm en cuves de 10 cm de trajet optique par rapport à l'eau distillée.

Selon Riley et al (1972), l'absorbance resterait stable pendant plusieurs heures après formation de coloration. Koroleff (1976) conseille cependant d'effectuer la lecture moins d'une demi heure – et si possible juste 5 min – après l'addition des réactifs pour supprimer totalement le risque d'interférence de certains ions.

Calcul expression des résultats :

Soit :

- A_{tr} : l'absorbance mesurées pour l'échantillon traité.
- b_t : l'absorbance mesurée pour la turbidité.
- b_r : l'absorbance mesurée pour le blanc des réactifs.
- R : le rendement de réduction des ions nitrate en nitrite

- r : la fraction des ions nitrite non réduits par la colonne
- L'absorbance nette de l'échantillon est :

$$A = A_{rr} + b_i + b_r$$

Cette valeur A est reportée sur la courbe d'étalonnage pour en déduire la concentration de l'échantillon.

On peut également déterminer la pente P de la droite d'étalonnage en $\mu\text{mol. l}^{-1}$ par unité d'absorbance, dans ce cas, la concentration est :

$$[PO_4^{3-}] \mu\text{mol.l}^{-1} = P \times A$$

On notera que la pente P dépend de la longueur des cuves utilisées.

La conversion en d'autres unités que les micromoles par litre.

TP 12 : dosage de phosphore hydrosoluble : polyphosphate (P₂O₅)**Principe de la méthode**

les polyphosphates tels que le pyro-, méta- ou tripolyphosphate, sont transformés par hydrolyse, en milieu acide minéral concentré, en orthophosphates et dosés sous cette forme.

Cette méthode détermine la somme des polyphosphates et de l'orthophosphate contenus dans l'échantillon. la différence entre l'orthophosphate dosé avant et après hydrolyse donne la quantité de polyphosphates en équivalents de phosphates.

Réactifs

- Solution d'acide sulfurique à 20 % (V IV).
- Solution d'hydroxyde de sodium à 120 g / L.

• Mode opératoire

Prélever 100 ml d'eau limpide, ajouter 10 ml d'acide sulfurique et procéder à l'hydrolyse pendant 30 minutes à ébullition. Après refroidissement, amener à environ *pH* 2 avec la solution d'hydroxyde de sodium.

Ramener le volume à 100 ml avec de l'eau permutée.

Effectuer le dosage spectrophotométrique des phosphates en employant l'une des méthodes précédentes.

• Expression des résultats

Déterminer la quantité de phosphates sur un échantillon non traité, de l'eau à analyser. Puis retrancher cette quantité de la somme des phosphates polyphosphates trouvée après hydrolyse.

Les teneurs en polyphosphates s'expriment en mg / L d'ions orthophosphates PO₄³⁻ ou éventuellement en mg / L d'anhydride phosphorique.

1 mg ions PO₄³⁻ = 0,7475 mg d'anhydride phosphorique P₂O₅

Remarques

- Dans le cas où les teneurs en phosphates-polyphosphates sont supérieures à 10 mg/L en P₂O₅, diluer selon la nécessité au 1/2, 1/4, 1/10.
- Effectuer le dosage aussitôt après le prélèvement, les polyphosphates se détruisent au cours du temps et par la chaleur.
- L'hydrolyse peut aussi se pratiquer à l'autoclave durant 30 minutes à la pression de 1 à 1,4 kg/cm².
- Les polyphosphates provenant des agents de surface doivent être convertis en orthophosphates par traitement à l'hydrogénosulfate de sodium.

TP 13 : dosage de phosphore Total (P_t)**Principe de la méthode**

Dans les eaux résiduaires, le phosphore peut se rencontrer sous forme de sels minéraux (orthophosphates, polyphosphates) mais aussi sous forme de composés organiques. Ces différents composés sont soit solubilisés, soit fixés sur les matières en suspension. Ils pourront donc être dosés sur l'échantillon total et sur la phase soluble après séparation du phosphore insoluble par filtration sur membrane 0,45 µm.

D'une façon générale, l'analyse est à pratiquer de préférence le jour même du prélèvement. Si une différenciation des formes du phosphore est envisagée, effectuer la filtration immédiatement après avoir prélevé l'échantillon.

Toutefois, l'échantillon peut être conservé à 4°C après addition d'acide sulfurique (*q.sp. pH < 2*). Minéralisation au persulfate de sodium en matras

Réactifs

- Acide sulfurique (*d*; 1,84).
- Solution de persulfate de sodium à 500 g/L.
- Solution d'hydroxyde de sodium à 120 g/L.

• Mode opératoire

Introduire 50 ml d'échantillon (ou un volume déterminé en fonction de la teneur supposée en phosphore) dans un matras de Kjeldahl, ajouter 5 ml d'acide sulfurique et 5 ml de solution de persulfate de sodium. Porter à ébullition et concentrer jusqu'à émission de fumées blanches.

Maintenir l'ébullition pendant 90 minutes. Diluer le résidu avec de l'eau permutée,

Ramener à *pH* 2 environ avec la solution d'hydroxyde de sodium. Après

refroidissement à la température ambiante, filtrer si nécessaire et vérifier au pH-mètre que le *pH* est compris entre 1,5 et 2,5. Ajuster le volume à 200 ml avec de l'eau permutée. Préparer un témoin à partir d'eau permutée traitée, dans les mêmes conditions que l'échantillon.

Procéder au dosage selon l'une des méthodes décrites pour les ortho phosphates

dans les eaux naturelles. Tenir compte dans l'expression des résultants de la dilution.

1.2. Le silicium

TP 14 : Dosage du silicium dissous réactif

Principe de la méthode

L'analyse est effectuée selon la méthode de Mullin et Riley (1955) adaptée par Strickland et Parsons (1972)

Le dosage colorimétrique est fondé sur la formation du complexe silicomolybdique qui, après réduction, donne une coloration bleue intense.

L'acide orthosilicique a tendance à former des polymères dont seules les formes mono et dimères réagissent avec les ions molybdate dans les conditions du dosage. D'où l'expression silicium réactif plus appropriée. En fait dans l'eau de mer. L'acide orthosilicique n'est pas polymérisé. Par ailleurs dans l'eau douce la présence de polymères est controversée (Burton et al 1970, Riley et al 1972).

Dans les conditions de réaction, les silicates colloïdaux sont mesurés avec silicates dissous par cette méthode (Koroleff, 1976).

Réactifs :

Eau Distillée

Pour les analyses de silicium, on ne doit absolument pas stocker l'eau distillée en récipient de verre, mais en récipient de plastique.

L'eau distillée à l'aide d'un appareil en verre ou quartz contient en général du silicium en solution et ne peut donc pas être utilisée pour faire le blanc des réactifs : on doit utiliser de l'eau déminéralisée de bonne qualité ou de l'eau distillée à l'aide d'un appareil métallique.

Réactif 1 : réactif au molybdate

Pour 500 ml de réactif :

- Dissoudre 4.0 g de paramolybdate d'ammonium $(\text{NH}_4)_6 \text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ en poudre fine dans environ 300 ml d'eau distillée.
- Ajouter 12.0 ml d'acide chlorhydrique concentré ($d=1.18$), mélanger et compléter à 500 ml avec de l'eau.

Cette solution conservée en flacon de polyéthylène et à l'abri de la lumière reste stable plusieurs mois, malgré le dépôt qui se forme à la longue sur la paroi (*)

(*) : Le dépôt qui se forme à la longue sur les parois du flacon peut être éliminé avant le renouvellement du réactif, par une solution basique.

Solution de métol –sulfite

Dans 500 ml d'eau distillée

- Dissoudre 6 g de sulfite de sodium anhydre, Na_2SO_3
- Ajouter 10 g de métol (sulfate de p-méthylaminophénol, $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_6\text{S}$ la dissolution peut être lente.

- Filtrer la solution sur papier filtre ordinaire et conserver rapidement et doit être renouvelée toutes les deux à trois semaines ou si elle prend une couleur sombre.

Solution saturée d'acide oxalique

Agiter 50 g d'acide oxalique « pour analyse », $C_2H_2O_4$, $2H_2O$ avec 500 ml d'eau distillée, laisser décanter et prendre le surnageant.

Cette solution est stable indéfiniment.

Solution d'acide sulfurique à 50% en volumes

Ajouter avec précaution et en mélangeant au fur et à mesure, 250 ml d'acide sulfurique concentrée ($d= 1.84$) de qualité « pour analyse » à 250ml d'eau distillée.

Réactif 2 : Réducteur

Ce réactif réducteur est obtenu en mélangeant successivement les réactifs ci-dessus dans l'ordre et les proportions suivantes :

- 100 ml de solution de métol- sulfite
- 60 ml de solution d'acide oxalique
- 60 ml d'acide sulfurique à 50 %
- compléter avec de l'eau distillée pour obtenir 300 ml de solution

Cette solution doit être préparée juste avant utilisation et ne se conserve pas.

Solution étalon de silicium

Deux sources de silicium peuvent être utilisées pour préparer les étalons : le quartz et l'hexafluorosilicate de sodium Xa_2SiF_6

Ce dernier composé est considéré comme pouvant introduire une erreur de 5% par Riley et al (1972), pour leur part Strickland et Parsons (1972) et koroleff (1976) tiennent compte de l'impureté de ce produit et en pèsent 1 à 2 % de plus, au cours de la dernière inter calibration du CIEM, Grasshoff (1977) indique que les deux types d'étalons donnent des résultats similaires. A la précision analytique près, on trouve d'ailleurs actuellement de Na_2SiF_6 dont la pureté est supérieure à 99 %

Etalon à base de quartz

On utilisera du quartz SiO_2 très pur en cristaux barres ou tubes broyés qui aura été chauffé à $1000^\circ C$ pendant une heure puis refroidir au dessiccateur

Pour préparer un litre de solution :

- Peser 0.3003 g de quartz dans un creuset de platine
- Ajouter 1.5 g de Na_2CO_3 anhydre « pour analyse » et mélanger avec une spatule métallique
- Faire fondre le mélange et le maintenir à $1000^\circ C$ quelques minutes pour qu'il devienne clair
- Laisser refroidir et dissoudre le résidu à l'aide d'eau distillée chaude pour le transférer, sans perte, dans une fiole jaugée en plastique de 1000 ml puis ajuster au trait de jauge :

1 ml contient $5 \mu mol.l^{-1}$

Cette solution se conserve plusieurs mois en flacon de plastique.

Etalon à base d'hexafluorosilicate

Sécher l'hexafluorosilicate à 105 °C pendant 1 heure

Pour un litre de solution :

- Peser 0.9403 g d'hexafluorosilicate de sodium « pour analyse » : si le produit est impur, augmenter la quantité pesée en calculant la masse nécessaire compte tenu de la pureté indiquée par le fabricant.
- Transférer le produit dans un bécher en plastique avec environ 300 ml d'eau distillée et écraser les agrégats pour accélérer la dissolution puis laisser sous agitation magnétique, La dissolution complète peut prendre jusqu'à 30 min selon la taille des agrégats.
- Transférer en fiole jaugée en plastique de 1000 ml en rinçant plusieurs fois le bécher et ajuster au trait de jauge :

$$1 \text{ ml contient } 5 \mu\text{mol.l}^{-1}$$

Cette solution est considérée comme stable indéfiniment si l'on évite l'évaporation.

Mode opératoire**Processus général :**

Les échantillons de salinité inférieure à 27 PSU doivent décongelées plusieurs heures avant l'analyse, la température des échantillons doit être comprise 18 et 25 °C.

- Introduire dans une éprouvette en polyéthylène de 50 ml, 10 ml de réactif 1
- Ajouter à la pipette 25.0 ml d'échantillon, boucher et mélanger.
- Attendre au minimum 10 min jamais plus de 30 min et noter ce temps à 1,2 min près afin d'opérer toujours la façon identique pour tous les échantillons et les étalons.
- Ajouter rapidement le réactif 2 fraîchement préparé pour compléter à 50 ml et mélanger aussitôt
- Attendre 2 à 3 h et mesurer l'absorbance A_{tr} en cuves de 1 cm par rapport à l'eau distillée à 810 nm : au dessous de 12 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ on peut utiliser des cuves de 10 cm pour une mesure précise.

Remarque :

- Il est préférable d'ajouter l'échantillon dans le réactif 1 plutôt que l'inverse, cela empêche la formation possible de formes isomères indésirables du complexe silicomolybdique.
- Le temps requis pour la formation complète de complexe bleu varie suivant la quantité de silicium présent
*au dessous de 50 $\mu\text{mol.l}^{-1}$ 1 h suffit.

*au dessus de 50 $\mu\text{mol.l}^{-1}$, ce temps croit avec la concentration et il est préférable d'attendre 3 h.
- Dans les 12 à 24 h qui suivent, une légère augmentation de 1 à 2 % de l'absorbance peut être observée, mais on considèrera de façon générale que la coloration est stable entre 3 et 9 h après l'additions des réactifs.

Calcul expression des résultats :

Soit :

- A_{tr} : l'absorbance mesurées pour l'échantillon traité.

- b_t : l'absorbance mesurée pour la turbidité.
 - b_r : l'absorbance mesurée pour le blanc des réactifs.
 - R : le rendement de réduction des ions nitrate en nitrite
 - r : la fraction des ions nitrite non réduits par la colonne
- L'absorbance nette non corrigée est :

$$A = A_{rr} + b_t + b_r$$

Etalonnage et mesure en milieu de salinités identiques

L'absorbance nette A est reportée sur la courbe d'étalonnage pour en déduire la concentration en silicium de l'échantillon.

On peut également déterminer la pente P de la droite d'étalonnage en $\mu\text{mol.l}^{-1}$ par unité d'absorbance, dans ce cas la concentration est :

$$[\text{Si}]\mu\text{mol.l}^{-1} = P \times A$$

Etalonnage en eau distillée ; mesure en milieux de salinités différentes

En milieu de salinité S_x l'absorbance nette corrigée, A_c est donnée par la relation :

$$A_c = A \times (1 + C_s \times S_x)$$

La valeur A_c doit être reportée sur la courbe d'étalonnage pour en déduire la concentration en silicium de l'échantillon

On peut également connaissant la pente P de la courbe d'étalonnage en eau distillée, calculer la concentration selon :

$$[\text{Si}]\mu\text{mol.l}^{-1} = P \times A_c$$

TP 15 : Dosage de la silice (SiO₂)**Méthode gravimétrique (Rodier)****Principe de la méthode**

La silice est insolubilisée à l'état partiellement déshydraté en présence d'acide chlorhydrique. Une calcination complète la déshydratation. Par action de d'acide fluorhydrique, la silice est volatilisée sous forme d'acide fluosilicique. Après une nouvelle calcination, la perte de poids correspond à la quantité de silice pure contenue dans l'eau.

• Réactifs

- Acide chlorhydrique pur (d= 1.19)
- Solution d'acide chlorhydrique au 1/20
- Acide fluorhydrique (d= 1.14)
- Solution d'acide sulfurique au 1/2

• Mode opératoire :

- Acidifier 1 à 2 litres d'eau par environ 10 ml d'HCl
- Evaporer à sec au bain marie,de préférence dans une capsule de platine ou à défaut dans une capsule en porcelaine émaillée exempte de silice ou sans influence sur la silice contenue dans le liquide.
- Maintenir le résidu à l'étuve pendant une heure à 105-110 °C.
- Imbiber la masse avec 5 ml d'HCl, recouvrir d'un verre de montre et laisser au repos 5 minutes.
- Reprendre par 50 ml d'eau chaude.
- Chauffer à douce ébullition pendant 1 minute environ.
- Laisser reposer, filtrer, laver avec de l'eau distillée chaude jusqu'à élimination complète des chlorures.
- Evaporer à sec le filtrat dans la même capsule que précédemment.
- Placer à l'étuve à 110 °C
- Reprendre, filtrer, laver comme indiqué ci-dessus en utilisant un second filtre.
- Sécher et calciner à 1200 °C les deux filtres dans un creuset de platine, jusqu'à poids constant.
- La pureté de la silice est vérifiée par évaporation avec 10 ml d'acide fluorhydrique et 2 gouttes d'acide sulfurique au 1/2
- Calciner de nouveau à 1200 °C jusqu'à poids constant.

• Expression des résultats :

Soit ;

P₁ : le poids en grammes du creuset avec la silice

P_2 : le poids en grammes du creuset après traitement fluorhydrique

V : le volume en millilitres de la prise d'essai

La teneur en silice exprimée en gramme par litre d'eau est donnée par l'expression

$$[\text{SiO}_2] (\text{mg/l}) = \frac{P_1 - P_2}{V} * 100$$

2. La matière organique

TP 16 : Dosage de la matière organique

Principe de ma méthode :

Les matières organiques contenues dans l'eau seront oxydées à chaud par un excès de permanganate de potassium. L'excès de KMnO_4 sera ensuite réduit par un excès d'ions ferreux, et l'excès de ces derniers ions sera titré par une solution de KMnO_4 .

Matériels et réactifs :

1- Matériels :

- Burette de 25ml graduée au 1/20 ;
- Plaque chauffante ;
- Erlenmeyer de 250ml à col rodé.

2- Réactifs :

- Solution de KMnO_4 de normalité N/80 ;
- Solution de sel de Mohr ($\text{FeSO}_4 (\text{NH}_4)_2\text{SO}_4 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) à 25g/l ;
- Solution d'acide sulfurique ($d = 1,83$) dilué au 1/2.

Mode opératoire :

Dans un erlenmeyer de 250ml à col rodé, porter à ébullition sur la plaque chauffante 100 ml d'eau à analyser additionnée de 10ml d'acide sulfurique ;

Ajouter 50ml de KMnO_4 et maintenir à ébullition pendant 10min exactement ;

Refroidir rapidement et ajouter progressivement au mélange 10ml de sel de Mohr ;

Ajouter ensuite quelques gouttes (3) d'acide phosphorique ;

Dosage de la matière organique

(En milieu acide à chaud)

Titrer ensuite l'excès des ions ferreux par le permanganate de potassium N/80 ; jusqu'à apparition d'une coloration rose - violette persistante ;

Noter le volume V de KMnO_4 versé ;

Refaire le même dosage cette fois-ci avec 100ml d'eau distillée (exempte de matières organiques) comme eau à analyser ;

Noter le volume V' de KMnO_4 .

IV- RESULTATS ET DISCUSSION :

- Etablir les principales réactions d'oxydations mises en jeu au cours de ce dosage ;
- Etablir le schéma réactionnel du dosage ;
- Quel est le rôle de l'acide phosphorique ?
- Quel est le rôle du sel de Mohr ?
- Pourquoi opère-t-on à chaud ?
- Expliquer pourquoi doit-on faire un dosage à blanc avec de l'eau distillée ?
- Déterminer la quantité en mg/l d'oxygène consommé par les matières organiques contenues dans l'eau à analyser, sachant que 1ml de KMnO_4 N/80 correspond à 0,1mg d'oxygène nécessaire à l'oxydation de matières organiques.
- Interpréter vos résultats sachant que la valeur maximale admissible est de 20mg /l.
- Se conformer aux recommandations pour la rédaction du rapport

TP 17 : Mesure des matières en suspension**Principe de la méthode**

La méthode consiste à filtrer l'eau sur membrane filtrante afin de retenir toutes les particules de taille supérieure à 0.5 à 1 μm , la membrane est séchée et pesée avant et après la filtration. La différence de poids permet de connaître la masse sèche totale de matières en suspension dans le volume filtré correspondant.

BANSE et al (1963) ont décrit un protocole rigoureux pour l'eau de mer avec filtration sur membrane d'ester de cellulose, la norme française T90-105 Afnor (1975), qui s'applique à l'eau douce, recommande les disques filtrants en fibre de verre. Ces derniers employés également par HOBSON (1967) pour l'eau de la mer, seront donc conseillés.

Appareillage

1. **Une pompe de filtration** : la filtration peut être effectuée sous vide ou sous pression (1 à 2 bar). Les dispositifs sous pression ne sont généralement applicables qu'à l'eau douce car ils ne permettent pas, pour l'eau de mer, le rinçage de la couronne du filtre chargée de sels.
2. **Filtres** : on peut utiliser toute une membrane filtrante susceptible de retenir toutes les particules de taille supérieure à 0,5 à 1 μm .

La fibre de verre non hygroscopique s'avère particulièrement intéressante pour l'analyse des MES.

On peut citer les principaux filtres en fibre de verre utilisable dont tous les cas : Whatman GF C et GF F, REEVE ANGEL 984 h. Pour l'analyse des eaux relativement chargées en MES.

3. Réactif:

Pour le lavage des membranes après filtration des eaux riches en phytoplancton, on utilise une solution isotonique à l'eau de mer : Dissoudre 68 g de formiate d'ammonium HCOONH_4 « pour analyse » par litre d'eau distillée.

Mode opératoire :**1. Préparation des filtres**

On procède de la façon suivante :

- Mettre les filtres de fibre de verre au four à 450 à 500 °C pendant 1 h environ : ce traitement conseillé renforce la rigidité et la solidité des membranes. ne pas dépasser 500 °C.
- Placer chaque filtre sur le support filtre sans mettre l'entonnoir et laver abondamment toute sa surface à l'eau distillée (50 à 70 ml d'eau par membrane) sous un très léger vide.
- Déposer les filtres dans leurs boîtes et les placer à l'étuve à 70 °C pendant 2 h ou à 105 °C pendant 1 h.
- Laisser refroidir qu dessiccateur.
- Numéroter les filtres (sur le pourtour) ou les boîtes à filtres (sur le fond et le couvercle) de façon indélébile.

- Peser chaque filtre. Le cas échéant avec sa nacelle en aluminium de préférence à la précision de 0.01mg. Une précision de 0.1 mg suffit si les quantités de MES habituellement déposées sur le filtre sont supérieures à 5 mg soit P_1 ce poids.
- Remplacer aussitôt chaque filtre dans sa boîte, à l'abri de la poussière.

2. Filtration

- Homogénéiser l'échantillon, une violente agitation est nécessaire si les échantillons ont été conservés un certain temps.
- Mesurer aussitôt le volume à filtrer : pour être représentatif, il doit être supérieur à 100 ml, dans le cas d'eaux fortement chargées en MES (estuariens), la filtration est accélérée si on laisse décanter l'échantillon et que l'on filtre tout d'abord le surnageant.
- Placer un filtre et le centrer dans le dispositif de filtration.
- Verser l'échantillon sur le filtre et appliquer le vide ; sans créer une dépression supérieure à 2,3 bars, puis filtrer progressivement tout le volume mesuré.
- Supprimer l'aspiration dès que le filtre est à sec et verser alors 5 à 10 ml d'eau distillée ou de solution de formiate d'ammonium sur le filtre et aspirer à nouveau, recommencer une seconde fois cette opération de rinçage.
- Effectuer si nécessaire deux rinçages du filtre avec du chloroforme lorsque l'eau contient des quantités d'hydrocarbures non négligeables.
- Retirer l'entonnoir de filtration et sous aspiration, rincer avec le plus grand soin la couronne vierge du filtre à l'aide d'une pissette d'eau distillée ou de formiate d'ammonium (10-15 ml).
- Supprimer l'aspiration et remettre chaque filtre dans sa boîte numérotée.
- Mettre les boîtes au frais et à l'abri de la lumière ou les sécher immédiatement.

3. Séchage et pesée des filtres

- Mettre les boîtes contenant les filtres, sans le couvercle, à l'étude à 70 °C pendant 2 h ou à 105 pendant 1 h, l'étuve doit être exempte de poussière.
- Laisser refroidir au dessiccateur et n'en sortir les filtres que juste avant la pesée.
- Peser chaque filtre, le cas échéant, dans sa nacelle en aluminium à la précision requise : 0.01 mg ou 0.1 mg selon que la masse déposée sur le filtre est inférieure ou supérieure à 5 mg soit P_2 ce poids.

Remarque :

Température de séchage des filtres

Habituellement les protocoles d'analyses (AFNOR, 1972 ; APHA, 1980) prévoient de sécher les filtres à 105 °C, cependant un chauffage à 70°C est suffisant pour assurer un séchage parfait et ne présente pas les inconvénients suivant :

- Filtres en esters de cellulose rendus cassant à température plus élevée.
- Risque de perte de matériel biologique.

Durée de séchage des filtres :

La durée de séchage fixée à 1 h à 105 °C ou de 2 h à 70°C est tout à fait suffisante, En effet, Strickland et Parsons (1972) considèrent qu'à 70 °C, 1h suffit pour le séchage, cependant, en cas de rinçage au formiate d'ammonium, il est conseillé d'accroître la durée jusqu'à 2 h pour assurer l'élimination totale de ce composé.

Calculs, expression des résultats :

Soit :

- P_1 : poids du filtre avant filtration (mg)
- P_2 : poids du filtre après filtration (mg)
- V : volume filtré (l)

La concentration des MES est donnée par l'expression :

$$[MES]mg.l^{-1} = \frac{P_2 - P_1}{V}$$

TP 18: Dosage du Carbone Organique Particulaire (COP)**Principe de la méthode :**

La méthode suivante, mise au point par JOHNSON (1949) et décrite en détail après modification par Strickland et Parsons (1968), permet d'évaluer la matière organique particulaire dans l'eau de mer sous la forme d'équivalents en carbone.

La matière organique recueillie sur un filtre en fibres de verre est oxydée par le mélange sulfochromique. L'oxydant en excès est dosé en retour par une solution de Fe (II). Cette méthode est applicable à bord des navires, la simplicité peut la faire préférer aux méthodes plus précises basées sur la combustion de la matière organique dans l'oxygène suivie d'un dosage du CO₂ (analyse infrarouge, analyseur CHN) mais nécessitant un matériel plus sophistiqué.

L'étalonnage est réalisé à partir de solution du glucose. On obtient donc des équivalents en carbone de glucose.

Appareillage :

Le matériel suivant est nécessaire :

- Une rampe de filtration adaptée à l'utilisation des filtres Whatman GF C de 4,7 cm de diamètre.
- Une pompe ou une trompe à vide munie d'un manomètre
- Un four à moufle
- Un bain de sable et un thermomètre (0 à 200 °C)
- Une série d'erlenmeyers que l'on couvre avec des cristallisoirs de petite taille.

Tout le matériel en verre est impérativement nettoyé au mélange sulfochromique, lavé à l'eau puis rincé à l'eau distillée avant le début des analyses.

Réactifs**Solution de sulfate de sodium**

Dissoudre 45 g de Na₂SO₄ « pour analyse » dans un litre d'eau distillée.

Acide phosphorique « pour analyse »**Mélange oxydant**

Dissoudre 4,84 g de bichromate de potassium K₂Cr₂O₇ dans 200 ml d'eau distillée, ajouter peu à peu cette solution à 500 ml d'acide sulfurique concentrée. « Pour analyse » refroidir et porter le volume à 1000 ml avec l'acide sulfurique concentré.

Solution de Fe (II) 0,1 normale

Dissoudre 39,21 g de sulfate double de fer et d'ammonium (sel de Mohr) dans ½ litre d'eau distillée, ajouter 20 ml d'acide sulfurique et compléter à 1000 ml avec l'eau distillée.

Indicateur coloré : ferroïne

Dissoudre 1,485 g de monohydrate d'orthophénanthroline $C_{12}H_8N_2 \cdot H_2O$ dans 100 ml d'une solution de sulfate ferreux $0,025 \text{ mol.l}^{-1}$ (0,695 g de sulfate ferreux dans 100 ml d'eau) on obtient la ferroïne $(C_{12}H_6N_2) FeSO_4$.

Solution de glucose

Dissoudre 7,5 g de glucose dans l'eau distillée et compléter à 100 ml cette solution se dégrade rapidement et peut être stabilisée par quelques cristaux de chlorure mercurique (à manipuler avec précaution).

Mode opératoire**Filtration :**

La filtration est effectuée sur filtres Whatman GF C 4,7 cm de diamètre, grillés au préalable au four afin d'éliminer au maximum toutes traces organiques.

Pour ce traitement, les filtres disposés un par un sur une feuille d'aluminium, sont maintenus à 450 – 500 °C pendant 30 min , on évitera de dépasser 500 °C afin de ne pas modifier leur capacité de rétention.

Lors de la filtration, le mode opératoire suivant est mis en œuvre

- Equiper le dispositif de filtration d'un filtre traité comme indiquée précédemment, opérer avec des pinces métalliques propres et à l'abri des particules atmosphériques (poussières, fumées...)
- Filtrer l'eau de mer sous pression réduite : ne pas descendre en dessous de 0,5 bar , ce qui risque de rompre les particules et notamment les cellules phytoplanctoniques.
- Laisser le filtre venir à sec.
- Revenir la pression atmosphérique.
- Mesurer 2 ml de la solution de sulfate de sodium, puis aspirer à nouveau pour assécher le filtre.
- Recommencer le lavage au sulfate de sodium une deuxième fois.

Les lavages au sulfate de sodium sont effectués rapidement pour ne pas modifier l'équilibre cellulaire.

Dosage des échantillons**Oxydation des filtres**

- Placer une série des filtres dans des erlenmeyers de 100 ml.
- Appliquer les filtres avec une tige de verre propre, au fond des erlenmeyers.
- Ajouter 2 ml d'acide phosphorique
- Couvrir avec les cristallisoirs.
- Mettre au bain de sable à 100-110°C pendant 30 min.
- Ajouter 10 ml de mélange sulfochromique et couvrir à nouveau
- Remettre au bain de sable pendant 30 à 60 min.

Dosage

- Refroidir l'erlenmeyer
- Ajouter 50 ml d'eau distillée et 2 gouttes de ferroïne
- Titrer avec la solution de Fe (II)

Soit V_1 le volume versé en millilitres

Détermination du blanc

Traiter une série de trois filtres vierges exactement de la même façon que ci –dessus.

Soit V_0 le volume de solution de Fe (II) versé, moyenne des trois déterminations

Étalonnage de la solution titrante de Fe(II)

On vérifie le titre de la solution de Fe (II) à l'aide d'une solution de glucose. A partir de la solution mère de glucose on prépare une solution diluée (1 ml de solution mère ajustée à 100 ml) dont 1 ml contient 300 μg de carbone. Cette solution ne se conserve pas plus d'un jour.

- Prendre 5 ml de la solution secondaire, soit 1500 μg de C dans un erlenmeyer de 100 ml et les oxyder comme les filtres, puis titrer Soit V'_1 (ml) le volume de solution de Fe(II) correspondant.
- Titrer également 10 ml de mélange sulfochromique par la solution de sulfate ferreux Soit V'_0 (ml) le volume versé.

Le facteur d'étalonnage F est obtenu :

$$F = \frac{1500}{(V'_0 - V'_1)}$$

Théoriquement : 1 ml de solution de Fe (II) 0,1 normale correspond à 300 μg de carbone, soit $F= 300$.

Calculs expression et résultats

Soit :

- V_f : Volume d'eau filtré
- V_0 : Volume du titrant versé pour le blanc
- V_1 : Volume du titrant versé pour l'échantillon
- F : facteur d'étalonnage

La concentration en carbone organique particulaire se calcule comme suit :

$$[COP](\mu\text{g}.l^{-1}) = \frac{F(V_0 - V_1)}{V_f}$$

Remarque :

L'étalonnage étant réalisé à partir d'une solution de glucose. On obtient les teneurs en particules sous la forme d'équivalents en carbone de glucose. Les résultats se rapprochent d'autant plus de la réalité que la matière organique particulaire à une composition plus proche de celle des glucides. La composition moyenne du plancton et des détritux divers qui forment le particulaires est telle que les valeurs déterminées par cette méthode ne s'éloignent que de 10 à 20 % des valeurs vraies.

TP 19 : Dosage de la chlorophylle a**Principe de la méthode:**

Après une filtration de certain volume d'eau de mer (eau à analyser) pour concentrer le matériel particulaire, le filtre est immergé dans un solvant qui assure l'extraction des pigments, puis on mesure l'absorbance de l'extrait des pigments à une ou plusieurs longueurs d'ondes avant et après acidification si on recherche que les formes dégradées.

Compte tenue des variantes quant à la première phase, filtration et extraction et deux méthodes spectrophotométriques disponibles, il ne parait pas inutile, avant de décrire en détail la méthode complète retenue, d'explicitier rapidement les critères du choix effectué.

Réactifs**1. Solvants d'extractions**

L'acétone à 90 % est utilisée dans la méthode de LORENZEN (méthode recommandé) et le méthanol est utilisé dans la méthode de LORENZEN modifié.

1.1.Acétone à 90%:

Dans une fiole jaugée de 500 ml, introduire à la pipette 50 ml d'eau distillé et compléter au trait jaune avec l'acétone déshydratée.

1.2.Méthanol : utilisé du méthanol de très bonne qualité analytique.**2. Solution d'acide chlorhydrique 0.3 mol .l⁻¹**

Diluée 40 fois de l'acide chlorhydrique concentrée (d=1.18) dans l'eau distillé soit 2.5 ml d'acide pour 100 ml de solution.

Mode opératoire :**1. Filtration:**

- Placer une membrane sur le support et y déposer 1 à 2 ml de suspension de carbonate de Mg.
- Appliquer le vide et filtrer l'échantillon en prenant soin de l'agiter pour bien récupérer toutes les particules ; pour éviter le risque d'éclatement des cellules.
- Rincer le cas échéant la tulipe du support filtre avec un peu d'eau de mer fraîchement filtrée pour rassembler toutes les particules sur le filtre.
- Laisser fluer l'air quelques instants pour éliminer l'eau de filtre.
- Mettre le filtre dans des tubes prévue à cet usage et si possible commencer l'extraction.

2. Extraction des pigments :

- le filtre et l'extrait pigmentaire ne doivent jamais rester à la lumière: a cet effet il est bon d'envelopper les tubes dans une feuille d'aluminium.
- Introduire le filtre dans un tube à centrifuger et ajouter 10 ml du solvant d'extraction (acétone 90% ou méthanol selon la méthode utilisée)
- Déchiqueter le filtre à l'aide d'une baguette ou d'un tube de verre à embout coupant. Boucher et agiter pour disperser les fibres.
- Laisser l'extraction se poursuivre soit une vingtaine d'heures au réfrigérateur dans l'acétone à 90% soit 1 heures à une température ambiante dans le méthanol.
- Laisser revenir à température ambiante : si nécessaire, ajuster exactement le volume, boucher et agiter.
- Centrifuger 1 min, retirer les tubes de la centrifugeuse et faire tomber les fibres de verre, qui adhèrent à la paroi au dessus de la surface du solvant.par un léger mouvement d'agitation.

- Centrifuger à nouveau 5 à 10 min à 3000 à 4000 tours par min; les tubes doivent rester bouchés pour éviter l'évaporation.

Mesure d'absorbance:

Longueur d'ondes:

Selon la méthode utilisée, les mesures des absorbances doivent se faire aux longueurs d'ondes suivantes:

- Méthode de LORENZEN (acétone ou méthanol): 665 et 750
- Détermination des blancs:

Deux blancs entrent en jeu dans les mesures dans les mesures spectrophotométriques de la chlorophylle: le blanc des cuves et le blancs de turbidité à 750 nm à la quelles les pigments n'absorbent pas: on obtient les blancs brut Ab_{750} et Ab_{750} ce blanc doit être inférieur à 0.005 unité d'absorbance par centimètre de trajet optique.

Les filtres de fibre de verre bien centrifugé ne créent aucune turbidité. Les membranes d'esters de cellulose donnent des absorbance mesurables dans l'acétone à 90%.

Méthode de LORENZEN: (Acétone à 90 %):

- Transférer le surnageant de centrifugation dans la cuve du spectrophotomètre, on évite l'entraînement de fibres de verre en aspirant lentement l'extrait à l'aide par exemple d'une seringue de verre.
- Mettre les cuves en place et s'assurer de son positionnement correct.
- Mesurer les absorbances brutes des extraits non acidifiés aux longueurs d'ondes de 665 et 750 nm soit Ab^{sa}_{665} et Ab^{sa}_{750} , la mesure à 750 nm doit rester inférieure à 0.005 par centimètre de trajet optique.
- Acidifier par addition de 10 μ l d'acide chlorhydrique 0.3 mol. l^{-1} par millilitre d'extrait (soit une goutte pour environ 5 ml) directement dans la cuve et attendre 2 à 3 min.
- Mesurer les absorbances brutes des extraits acidifiés à 665 et 750 nm. soit Ab^{ac}_{665} et Ab^{ac}_{750} .

Méthode de LORENZEN: (Méthanol):

- Procéder comme la méthode précédente y compris les mesures des absorbances avant acidification puis au lieu d'acidifier dans la cuve, opérer comme suit.
- Transférer la totalité de l'extrait de la cuve dans un petit bécher
- Acidifier par
- Neutraliser par addition de 25 mg de carbonate de Mg en poudre par millilitre d'extrait et agiter lentement pendant 10 min.
- Centrifuger ou filtrer, l'extrait pour éliminer l'excès de $MgCO_3$.
- Transférer à nouveau l'extrait dans la cuve de mesure et positionner la cuve dans le spectrophotomètre.
- Mesurer les absorbances à 665 et 750 nm soit Ab^a_{665} et Ab^a_{750}

Calcul et expression:

1. Méthode de LORENZEN:

Les absorbances brutes à 665 nm et les blancs de turbidité à 750 nm doivent être corrigées en soustrayant les blancs des cuves puis obtient les absorbances nettes en soustrayant les absorbances corrigées mesurées à 750 des absorbances corrigées à 665 c'est-à-dire :

- **Avant acidification:**

$$A_{665}^{na} = (Ab_{665}^{na} - B_{665}^c) - (Ab_{750}^{na} - b_{750}^c)$$

- **Après acidification:**

$$A_{665}^a = (A_{665}^b - B_{665}^c) - (A_{750}^b - b_{750}^c)$$

Les autres données:

V : volume d'eau filtré (litre).

v : volume de solvant d'extraction (millilitre)

L : longueur du trajet optique de la cuve de mesure (centimètre).

Les concentrations de chlorophylle a et phéopigments a se calcul d'après la relation:

$$[\text{Chlorophylle } a](\text{mg. m}^{-3}) = \frac{26.7 * [(A_{665}^{na}) - (A_{665}^a)] * v}{V * L}$$

$$[\text{Phéopigments } a](\text{mg. m}^{-3}) = \frac{26.7 * [1.7 * (A_{665}^a) - (A_{665}^{na})] * v}{V * L}$$

2. Méthode de LORENZEN Modifié:

Déterminer les absorbances nettes à 665 nm avant et après acidification comme la méthode précédente.

Les autres données sont également identiques, seuls le changent les coefficients numériques des relations qui deviennent.

$$[\text{Chlorophylle } a](\text{mg. m}^{-3}) = \frac{40.1 * [(A_{665}^{na}) - (A_{665}^a)] * v}{V * L}$$

$$[\text{Phéopigments } a](\text{mg. m}^{-3}) = \frac{40.1 * [1.5 * (A_{665}^a) - (A_{665}^{na})] * v}{V * L}$$

TP 20 : Mesure de la matière en suspension (MES) +résidus secs (RS)

La méthode consiste à filtrer l'eau de l'échantillon sur membrane filtrante afin de retenir toutes les particules de taille supérieure à 0.5-1 µm. le papier filtre est séché et pesée avant et après filtration.

- **Mode opératoire**

- Peser les papiers filtre. soit P₁ cette mesure.
- Placer un filtre et le centrer dans le dispositif de filtration.
- Homogénéiser l'échantillon, une violente agitation est nécessaire si les échantillons ont été conservés un certain temps.
- Verser l'échantillon sur le filtre et appliquer le vide, sans créer une dépression supérieure à 2-3 bars. puis filtrer progressivement tout le volume mesuré.
- Supprimer l'aspiration dès que le filtre est à sec.
- Mettre les boites contenant les filtres, sans le couvercle, à l'étuve à 70°C pendant 2h ou à 105°C pendant 1h.l'étuve doit être exempte de poussières.
- Laisser refroidir au dessiccateur et n'en sortir les filtres que juste avant la pesée.
- peser les papiers filtres une deuxième fois, soit P₂ cette mesure.

- **Calculs expression des résultats**

Soit :

- P₁ : Poids du filtre avant filtration (mg).
- P₂ : Poids du filtre après filtration (mg).
- V : Volume filtré (l).

La concentration des MES est donnée par l'expression : $[\text{MES}] (\text{mg.l}^{-1}) = \frac{P_2 - P_1}{V} \cdot 1000$

3. Mesure du résidu sec

La méthode consiste est à évaporée une certaine quantité d'eau à analysée dans une capsule tarée. Le résidu desséché est ensuite pesé. La capsule est séchée et pesée avant et après filtration.

- **Mode opératoire**

- Peser la capsule. Soit P₁.
- Evaporation progressivement au bain de sable dans une capsule tarée 100 ml d'eau.
- Une fois toute l'eau évaporée, porter la capsule à l'étuve à l'étuve à 180°C pendant 4 heures et laisser refroidir 1/4 d'heure au dessiccateur.
- Peser immédiatement et rapidement. Soit P₂.

- **Calculs expression des résultats**

Soit :

- P₁ : Poids de la capsule avant filtration (mg).
- P₂ : Poids de la capsule après filtration (mg).
- V : Volume filtré (l).

La concentration des R sec est donnée par l'expression : $[\text{R sec}] (\text{mg.l}^{-1}) = \frac{P_2 - P_1}{V} \cdot 1000$

TP 21: dosage de la demande biochimique en oxygène (DBO₅)**Méthode par dilution**

La demande biochimique en oxygène (DBO₅) est définie comme la quantité d'oxygène consommée dans les conditions de l'essai, c'est-à-dire après incubation durant 5 jours, à 20°C et dans l'obscurité, par certaines matières présentes dans l'eau, principalement pour assurer leur dégradation par voie biologique. La mesure de la quantité d'oxygène consommée est suivie dans une solution ensemencée ou non.

Principe Mesure de l'oxygène consommé en cinq jours par un échantillon dilué avec une eau saturée en oxygène, ensemencée avec des germes, puis placé dans une enceinte thermostatée à 20 °C.

Matériel spécial

- Flacons en verre à bouchon rodé de 150 ou 250 ml.
- Enceinte thermostatée à 20°C ± 1°C.
- Matériel nécessaire au dosage de l'oxygène dissous

Réactifs**- Solution de phosphates**

- *Monohydrogénophosphate de sodium (Na₂HPO₄, 2 H₂O).....8.5 g
- *Dihydrogénophosphate de potassium (KH₂P0₄).....2.5 g
- *Eau permutée.....1000 ml

Bien homogénéiser la solution.

- Solution de sulfate de magnésium à 20 g / l

- *Sulfate de magnésium.....20 g

- Solution de chlorure de calcium à 25 g / l

- *Chlorure de calcium.....25 g

- Solution de chlorure de fer à 1,5 g / l

- *Chlorure de fer.....1.5 g

- Solution de chlorure d'ammonium à 2 g / l

- *Chlorure d'ammonium.....2 g

Préparation de l'eau de dilution

Si l'eau de dilution est préparée à partir d'eau permutée, mettre dans un récipient:

Solution de phosphates.....5 ml

Solution de sulfate de magnésium.....1 ml

Solution de chlorure de calcium.....1 ml

solution de chlorure de fer.....1 ml
 Solution de chlorure d'ammonium.....1 ml
 eau permutéeq.S.p. 1000 ml

Maintenir cette solution à 20 °C et l'aérer en prenant soin d'éviter toute contamination par des métaux, des matières organiques, oxydantes ou réductrices. Arrêter l'aération lorsque la solution contient 10 mg/ l d'oxygène dissous. Laisser reposer 12 heures, récipient débouché. Ajouter 5 ml d'eau d'ensemencement par litre de cette solution. Cette eau de dilution doit être utilisée dans les 24 heures.

Si l'eau de dilution est préparée à partir d'eau de rivière, la porter à 20 °C, ajouter les mêmes réactifs et la conserver à cette température.

Mode opératoire

Mettre un volume connu d'eau à analyser dans une fiole jaugée, compléter avec de l'eau de dilution. Homogénéiser. Vérifier que le *pH* est compris entre 6 et 8. Dans le cas contraire, préparer une nouvelle dilution en amenant le pH à une valeur voisine de 7 par addition d'acide sulfurique ou d'hydroxyde de sodium puis compléter au volume. Remplir complètement un flacon avec cette solution. Bien boucher sans bulles d'air.

Préparer également une série de dilutions successives telles que la consommation d'oxygène soit voisine de 50% de la teneur initiale.

Conserver les flacons à 20 °C ± 1°C et dans l'obscurité. Mesurer l'oxygène dissous subsistant au bout de 5 jours (120 heures). Pratiquer un essai témoin en dosant l'oxygène dissous dans l'eau de dilution (eau permutée ensemencée ou eau de rivière) et traiter deux fioles remplies de cette eau comme indiqué ci-dessus. Doser l'oxygène résiduel selon une des méthodes indiquées dans le chapitre 15.2 (méthode chimique ou potentiométrique). Au cours de cet essai témoin, la consommation d'oxygène doit se situer entre 0,5 et 1,5 g / L. Dans le cas contraire, l'ensemencement par l'eau de dilution n'est pas convenable et il est nécessaire d'en modifier la préparation .

Interprétation des résultats Soit:

D_0 =Teneur en oxygène (mg / l) de l'eau de dilution au début de l'essai.

D_5 =Teneur moyenne en oxygène (mg / l) de l'eau de dilution au bout de cinq jours d'incubation.

T_0 = Teneur en oxygène (mg/l) de l'une des dilutions de l'échantillon au début de l'essai.

T_5 = Teneur en oxygène (mg / l) de l'une des dilutions de l'échantillon au bout de cinq jours d'incubation.

F = Facteur de dilution tel que $0,4 T_0 \leq T_0 - T_5 \leq 0,6T_0$

La demande biochimique en oxygène exprimée en milligrammes d'oxygène par litre est égale à : $DBO_5 = F (T_0 - T_5) - (F - 1) (D_0 - D_5)$

Préciser éventuellement le traitement préalable effectué sur le prélèvement (décantation, filtration)

TP 22 : dosage de la demande chimique en oxygène (DCO)**Méthode ISO****Principe de la méthode:**

Dans des conditions définies, certaines matières contenues dans l'eau sont oxydées par un excès de dichromate de potassium en milieu acide et en présence de sulfate d'argent et de sulfate de mercure.

L'excès de dichromate de potassium est dosé par le sulfate de Fer et d'ammonium

Réactifs

- **Sulfate de mercure cristallisé** **0.5 g.**

- **Solution de sulfate de fer et d'ammonium 0.25 N.**

Sulfate de Fer et d' NH_4 98 g.

Acide sulfurique ($d=1.84$)20 ml.

Eau distillée 1000 ml.

Le titre de cette solution doit être vérifié tous les jours.

- **Solution de dichromate de potassium 0.25 N.**

Dichromate de potassium (séché deux heures à 110°C) 12.2588 g

Eau distillée 1000 ml.

- **Solution de Ferroine**

1.10 Phénanthroline..... 1.485 g.

Sulfate de Fer..... 0.695 g.

Eau distillée 100 ml.

- **Etalon à 500 mg/l DCO.**

Hydrogenophthalate de potassium ($\text{K HC}_8\text{H}_5\text{O}_4$) séché pendant 2 h à 105° .

Peser 0,4251 g séché \longrightarrow 1000 ml \longrightarrow 0,1062 g/250 ml.

Faire une dilution 5 ml/20

Vérification du titre de la solution de sulfate de fer et d'ammonium.

Dans un bécher mettre 10 ml de solution de dichromate de potassium 0.25 N et compléter à 150 ml par de l'eau distillée. Ajouter 30 ml d'acide mélangé ($\text{H}_2\text{SO}_4 + \text{H}_2\text{SO}_4$).

Laisser refroidir. Ajouter quelques gouttes de solution de Ferroine puis doser avec le sulfate de fer et d'ammonium.

$$T = \frac{\text{ml K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7 \times 0.25(\text{N})}{\text{ml Fe (NH}_4)_2 (\text{SO}_4)_2}$$

Mode opératoire

Prendre 20 ml d'échantillon débarrassé de matières décantables. Ajouter 10 ml de $K_2Cr_2O_7$ puis une pincée de $HgSO_4$ (0.55). Ajouter 30 ml d' H_2SO_4 avec Ag_2SO_4 .

Laisser refroidir dans un bain de glace ou à défaut dans de l'eau.

Ensuite chauffer pendant 2 heures à une température de $170^\circ C$.

Laisser refroidir puis compléter à 150 ml avec de l'eau distillée dans un bécher.

Doser avec le $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$ en utilisant la Ferroïne.

$$DCO = \left(\frac{V_B - V_E}{P.E} \right) * 8000 * T = 800 * T * (V_B - V_E)$$

Expression des résultats

V_E = Volume de sulfate de fer et d'ammonium nécessaire au dosage (ml).

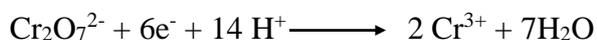
V_B = Volume de sulfate de fer et d'ammonium nécessaire à l'essai à blanc (ml).

T = Titre de la solution de sulfate de fer et d'ammonium.

P.E = Volume de la prise d'essai.

En solution acide $K_2Cr_2O_7$ exerce un effet oxydant.

La détermination est toujours effectuée avec un excédent en $K_2Cr_2O_7$, une partie du dichromate étant réduite en ions de chrome III.



L'excédent en ions de $K_2Cr_2O_7$ est retiré avec une $\$$ de Fe (II) en employant la Ferroïne comme indicateur d'oxydoréduction.

