Université Larbi Ben M'hidi -Oum El Bouaghi

Faculté des sciences exactes et sciences de la nature et de la vie

Département sciences de la nature et de la vie

|  |
| --- |
| **TP N° 4 Dosage de l'azote ammoniacalMéthode au réactif de Nessler** |
|  **Evaluer la concentration des ions NH4+dans l'eau.** |

**1-Origine de l'ammonium :**

Activités humaines : L'ammonium provient de la décomposition des protéines et / ou de l'urée par les bactéries.
Rejets agricoles, lisiers en particulier

Les rejets industriels particuliers.

**Norme :  0.5 mg/L.**

**2-Effets sur la santé :**

Les ions NH4+ sont toxiques pour plusieurs espèces aquatiques, les poissons en particuliers. En milieu oxygéné, l'ammonium est oxydé en nitrites puis en nitrates, ce qui diminue le % de saturation de l'eau en dioxygène.

**3-Principe de la mesure**

Il s'agit d'une méthode spectro- photométrique : le réactif de Nessler réagit avec les ions NH4+ en présence de KOH ou de NaOH ; il se forme un composé brun - orangé.
La concentration en ions est calculée à partir de la  mesure de l'absorbance à 420 nm effectuée avec un spectrophotomètre.

**4-Liste du matériel nécessaire**

**4.1. Matériel**

- Bouteille pour prélèvement et éventuellement système de perche pour prélever dans le courant.
- Fioles jaugées de 50mL et 1L.
- Pipettes de 5, 10 et 25mL.
- Agitateurs.
- Bechers.
- Spectrophotomètre (mesure à 420nm) + cuves (10mm de parcours optique).

**4.2. Réactifs**

Pour toutes les préparations et manipulations, utiliser de l'eau récemment déminéralisée.

**4.2.1. Réactif de Nessler.
4.2.2. Tartrate double de potassium et de sodium**.

Préparer 250mL de solution comme suit :
Dissoudre 125g de tartrate double de potassium et de sodium (C4H4O6KNa, 4H2O) dans 250mL d'eau chaude. Après refroidissement, ajouter 12,5mL de réactif de Nessler ; laisser reposer deux jours environ, puis filtrer.
A conserver ensuite au réfrigérateur.
Remarque : à la rigueur, on peut se passer de ce réactif ; d'après nos essais, cela modifie assez peu les résultats obtenus.

**4.2.3. Solution étalon d'azote ammoniacal**à 10mg de NH4+ par litre.

Dissoudre 29,7mg de chlorure d'ammonium dans de l'eau ; compléter à 100mL en fiole jaugée. La solution obtenue est ensuite diluée au dixième. A conserver au réfrigérateur.

**4.3.Protocole**

**4.3.1. Prélèvement**

Remplir complètement le flacon de prélèvement et fermer. Si possible, effectuer le transport à basse température (environ 5°C) dans une glacière. Le dosage en laboratoire doit intervenir rapidement (l'échantillon peut se conserver 24h au réfrigérateur). L'échantillon prélevé doit être limpide.

**4.3.2.Mode opératoire**

**4.3.2.1. Réaliser une courbe d'étalonnage** :
Dans une série de fioles jaugées de 50mL, introduire les quantités de solution étalon d'azote ammoniacal suivantes, ce qui donne les quantités de NH4+indiquées dans le tableau :

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Quantité de solution étalon (en mL) | 0 | 1 | 2 | 5 | 10 | 15 | 20 | 25 |
| Quantité de NH4+ (en mg / L) | 0 | 0.2 | 0.4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |

Compléter à 50mL avec de l'eau et ajouter (éventuellement) 2mL de la solution de tartrate puis mélanger.
Ajouter 2mL de réactif de Nessler puis mélanger à nouveau.
Attendre 10min et effectuer les mesures au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 420nm (ne pas oublier au préalable d'avoir réglé l'appareil au zéro d'absorbance par rapport à l'eau). Bien respecter un même délai entre l'apport de réactif et la mesure pour chacune des dilutions réalisées.
Construire la courbe d'étalonnage.

**4.3.3. Dosage**

Prendre 50mL de l'eau prélevée, ajouter (éventuellement) 2mL de la solution de tartrate puis mélanger. Ajouter 2mL de réactif de Nessler puis mélanger à nouveau. Attendre 10mn et effectuer les mesures au spectrophotomètre à la longueur d'onde de 420nm. Là encore, bien respecter le même délai entre l'apport de réactif et la mesure que lors des essais sur la gamme étalon ; il faut aussi que les liquides (solutions étalon et prélèvement) soient à la même température.

Déduire le résultat de l'utilisation de la courbe d'étalonnage construite. Si le résultat est en dehors de la gamme d'étalonnage, recommencer le dosage en diluant l'échantillon prélevé.