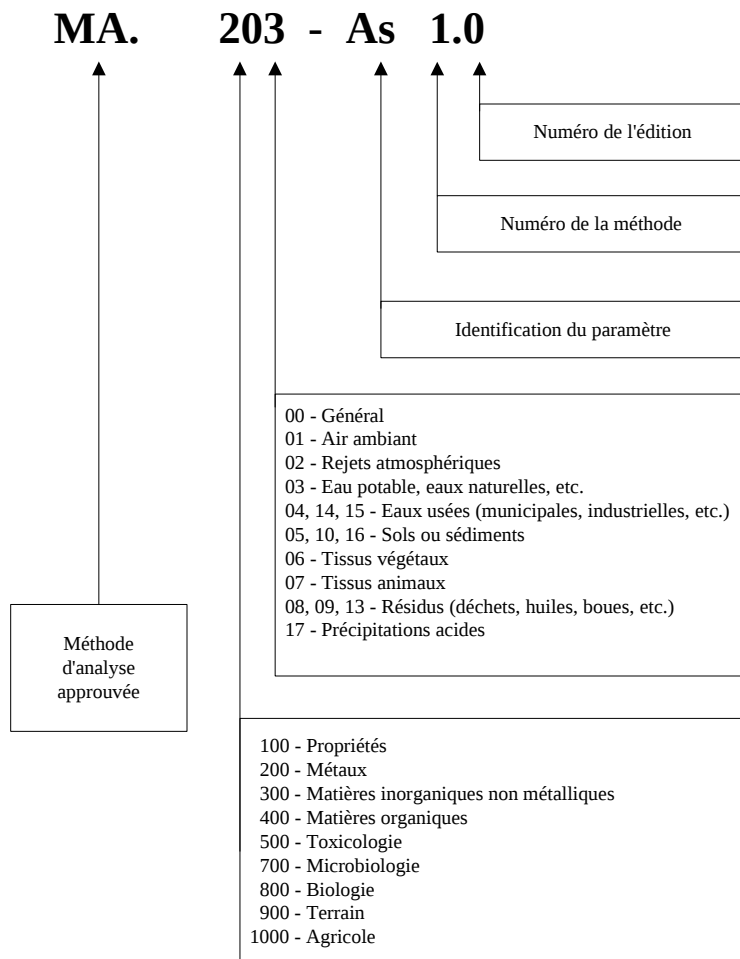


MA. 303 – P.bio 1.0
Édition : 2005-06-16

Méthode d'analyse

Détermination du phosphore biodisponible dans l'eau :
extraction à l'hydroxyde de sodium; dosage
colorimétrique avec molybdate d'ammonium

Exemple de numérotation :



La première édition d'une méthode est identifiée par l'indice « 0 ». De façon usuelle, après quatre révisions successives, l'indice est augmenté de 1. L'indice peut également être augmenté si une révision entraîne des modifications en profondeur. La date de révision d'une méthode est suivie d'un chiffre indiquant la révision en cours.

Ce document doit être cité de la façon suivante :

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC,
Détermination du phosphore biodisponible dans l'eau : extraction à l'hydroxyde de sodium; dosage colorimétrique avec molybdate d'ammonium, MA. 303 – P.bio 1.0,
Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2005,
12 p.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
1. DOMAINE D'APPLICATION	5
2. PRINCIPE ET THÉORIE	5
3. FIABILITÉ	5
3.1. Interférence	6
3.2. Limite de détection	6
3.3. Limite de quantification	6
3.4. Sensibilité	6
3.5. Fidélité	6
3.6. Justesse	6
3.7. Pourcentage de récupération	6
4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION	7
5. APPAREILLAGE	7
6. RÉACTIFS ET ÉTALONS	7
7. PROTOCOLE D'ANALYSE	9
7.1. Préparation du matériel	10
7.2. Extraction	10
7.3. Dosage	10
8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS	11
9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ	11
10. BIBLIOGRAPHIE	12

INTRODUCTION

Le phosphore dans les eaux se trouve principalement sous la forme de phosphates. Ces derniers sont classés en orthophosphates, en phosphates hydrolysables ou en phosphates organiques et ils peuvent être sous forme dissoute ou particulaire.

La présence du phosphore dans les eaux naturelles vient principalement de l'utilisation des détergents et des fertilisants utilisés en agriculture. En général, le phosphore n'est pas toxique pour l'homme, les animaux ou les poissons. C'est surtout pour suivre l'évolution possible de l'eutrophisation des systèmes aquatiques que la teneur en phosphore est réglementée.

Le phosphore biodisponible se définit comme étant le phosphore facilement assimilable par les plantes, les algues ou les plantes aquatiques. Il est composé du phosphore dissous et de la partie du phosphore particulaire facilement assimilable par les plantes. Il est habituellement sous forme d'orthophosphate.

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode sert à déterminer le phosphore biodisponible dans l'eau potable, les eaux de surface et les eaux souterraines. La plage d'étalonnage est de 0 mg/l P à 0,2 mg/l P. Le domaine d'application peut être étendu en effectuant les dilutions appropriées.

2. PRINCIPE ET THÉORIE

Un échantillon d'eau est mis en présence de NaOH à une concentration finale de 0,1 N. Par la suite, l'échantillon est agité horizontalement de façon vigoureuse pendant 17 heures. Les phosphates faiblement liés aux particules ou sédiments se trouvent alors en solution.

Une centrifugation de l'échantillon permet de séparer les sédiments et le surnageant qui sera utilisé pour doser le phosphore biodisponible sur un autoanalyseur avec système colorimétrique. Les orthophosphates ainsi extraits réagissent avec le molybdate d'ammonium en milieu acide pour former l'acide phosphomolybdique, lequel est réduit par l'acide ascorbique en bleu de molybdène, dont l'absorbance à 660 nm est proportionnelle à la concentration de phosphore.

Le dosage du phosphore biodisponible par extraction au NaOH ne donne qu'une estimation de la concentration et non une valeur absolue.

3. FIABILITÉ

Les termes suivants sont définis dans le document DR-12-VMC, intitulé « Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie ».

3.1. INTERFÉRENCE

Des interférences peuvent être causées par des contaminants contenus dans les solvants, les réactifs et la verrerie. Tous les solvants, les réactifs et les appareils utilisés sont vérifiés par l'analyse d'un blanc de méthode qui subit les mêmes étapes qu'un échantillon réel.

3.2. LIMITE DE DÉTECTION

La limite de détection pour le phosphore biodisponible est de 0,014 mg/l P. Cette valeur a été arrondie à 0,02 mg/l P pour les applications courantes.

3.3. LIMITE DE QUANTIFICATION

La limite de quantification pour le phosphore biodisponible est de 0,047 mg/l P. Cette valeur a été arrondie à 0,05 mg/l P pour les applications courantes.

3.4. SENSIBILITÉ

La sensibilité, exprimée en unités de hauteur du pic par mg/l P est de 5,7.

3.5. FIDÉLITÉ

3.5.1. Répliquabilité

La répliquabilité d'une série de mesures ($n = 10$) est de $\pm 0,003$ mg/l P pour une valeur mesurée de 0,089 mg/l P.

3.5.2. Répétabilité

Aucune donnée statistique n'est disponible.

3.6. JUSTESSE

Lors d'essais, ($n = 10$, valeur attendue de 0,19 mg/l P) la justesse d'une série de mesures a été de 87 %.

3.7. POURCENTAGE DE RÉCUPÉRATION

Le taux de récupération obtenu pour une série de mesures ($n = 5$) est de 100 %.

4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION

Prélever un échantillon représentatif (125 ml) dans un contenant de plastique. Aucun agent de préservation n'est nécessaire. Conserver l'échantillon à environ 4 °C. L'analyse doit être effectuée le plus rapidement possible après le prélèvement. Le délai de conservation maximum est de 7 jours.

5. APPAREILLAGE

Les marques de commerce apparaissant ci-dessous ne sont mentionnées qu'à titre de renseignement.

- 5.1. Système d'analyse Technicon II (échantillonneur, pompe, système de réaction et colorimètre)
- 5.2. Agitateur horizontal de marque Shellab, modèle 1227
- 5.3. Centrifugeuse de marque Adams Dynac
- 5.4. Plaque d'agitation à barreau d'agitation magnétique
- 5.5. Tube en polypropylène de 45 ml
- 5.6. Tube en borosilicate
- 5.7. Pipettes
- 5.8. Ordinateur et logiciel de contrôle et d'analyse pour le Technicon II
- 5.9. Filtre pour système Technicon à 660 nm

6. RÉACTIFS ET ÉTALONS

L'eau utilisée pour la préparation des réactifs et des solutions étalons est de l'eau déionisée ultra-pure.

- 6.1. Solution d'hydroxyde de sodium 10 N, NaOH (CAS n° 1310-73-2)
- 6.2. Acide sulfurique, H₂SO₄ (CAS n° 7664-93-9)
- 6.3. Acétone, CH₃COCH₃ (CAS n° 67-64-1)
- 6.4. Acide ascorbique, C₆H₈O₆ (CAS n° 50-81-7)
- 6.5. Molybdate d'ammonium, (NH₄)₆Mo₇O₂₄•4H₂O (CAS n° 12054-85-2) ou (CAS n° 12027-67-7)
- 6.6. Tartrate d'antimoine et de potassium, C₈H₄K₂Sb₂O₁₂•3H₂O (CAS n° 28300-74-5)

6.7. Witconate 60 l, 25 % (V/V) (agent mouillant)

6.8. Solution étalon de phosphore de marque SCP Science, 1 000 mg/l P

6.9. Solution extractive de NaOH 0,11 N

Dans une fiole volumétrique de 1 litre, diluer 11,0 ml de NaOH 10 N (cf. 6.1) dans environ 800 ml d'eau. Compléter à 1 litre avec de l'eau. Cette solution se conserve jusqu'à épuisement.

6.10. Solution de NaOH 0,10 N (réactif n° 4)

Dans une fiole volumétrique de 1 litre, diluer 10,0 ml de la solution d'hydroxyde de sodium 10 N (NaOH) (cf. 6.1) et déposer dans une fiole volumétrique de 1 litre. Compléter avec de l'eau ultra-pure et bien agiter. Cette solution se conserve jusqu'à épuisement.

6.11. Solution étalon mère de phosphore, 10 mg/l P

Dans une fiole volumétrique de 100 ml, diluer 1,0 ml de la solution étalon de phosphore de marque SCP Science, 1 000 mg/l P (cf. 6.8) dans environ 80 ml d'eau. Compléter à 100 ml avec de l'eau. Cette solution se conserve durant 5 jours à température ambiante.

6.12. Solutions étalons filles de phosphore

Dans des fioles volumétriques de 100 ml, préparer les solutions étalons filles de phosphore suivantes dans environ 80 ml d'eau ultra-pure. Ajouter 1 000 µl d'hydroxyde de sodium 10 N (cf. 6.1) et compléter au volume final avec de l'eau selon le tableau qui suit.

Solution étalon fille	Volume de solution étalon mère de 10 mg/l P (cf. 6.11)	Volume final
0 mg/l P	0 µl	100 ml
0,0125 mg/l P	125 µl	100 ml
0,025 mg/l P	250 µl	100 ml
0,050 mg/l P	500 µl	100 ml
0,100 mg/l P	1 000 µl	100 ml
0,200 mg/l P	2 000 µl	100 ml

6.13. Solution de H₂SO₄ 4,9 N

Dans un cylindre gradué, mesurer 136,0 ml d'acide sulfurique concentré (H₂SO₄) (cf. 6.2). Verser délicatement l'acide dans une fiole de 1 litre préalablement remplie avec environ 600 ml d'eau ultra-pure. Agiter lentement et laisser refroidir. Une fois la solution refroidie, compléter au trait de jauge avec de l'eau ultra-pure. Agiter par inversion plusieurs fois. Cette solution se conserve jusqu'à épuisement.

6.14. Solution de molybdate d'ammonium (40 g/l)

Dans une fiole volumétrique de 500 ml, verser environ 300 ml d'eau ultra-pure et ajouter 20 g de molybdate d'ammonium (cf. 6.5). Agiter jusqu'à dissolution complète du sel et jauger à 500 ml avec de l'eau ultra-pure. Cette solution se conserve une semaine.

6.15. Solution de tartrate d'antimoine et de potassium (3,0 g/l)

Dans une fiole volumétrique de 200 ml, verser environ 100 ml d'eau ultra-pure et ajouter 0,60 g de tartrate d'antimoine et de potassium (cf. 6.6). Agiter jusqu'à dissolution complète du sel et jauger à 200 ml avec de l'eau ultra-pure. Cette solution se conserve une semaine.

6.16. Solution combinée de molybdate d'ammonium (réactif n° 1)

Dans une bouteille ambrée, ajouter 100 ml de la solution d'acide sulfurique 4,9 N (cf. 6.13), 40 ml de la solution de molybdate d'ammonium (40 g/l) (cf. 6.14) et 10 ml de la solution de tartrate d'antimoine et de potassium (3,0 g/l) (cf. 6.15). Bien agiter. Au besoin, il est possible de doubler les volumes afin d'augmenter la quantité de réactif disponible. Cette solution se conserve durant 24 heures.

6.17. Solution d'acide ascorbique (réactif n° 2)

Dans une fiole volumétrique de 500 ml, verser environ 300 ml d'eau ultra-pure et ajouter 8,8 g d'acide ascorbique (cf. 6.4). Agiter jusqu'à dissolution complète du sel. Ajouter 25 ml d'acétone (cf. 6.3) et compléter à la jauge avec de l'eau ultra-pure. Déposer 5 gouttes d'agent mouillant Witconate 60 l, 25 % V/V (cf. 6.7) et agiter. Cette solution se conserve durant 24 heures.

6.18. Solution combinée de travail pour le canal de référence (réactif n° 3)

Dans une bouteille ambrée, ajouter 100 ml de la solution d'acide sulfurique 4,9 N (cf. 6.13), 40 ml d'eau ultra-pure et 10 ml de la solution de tartrate d'antimoine et de potassium (cf. 6.15). Bien agiter. Au besoin, il est possible de doubler les volumes afin d'augmenter la quantité de réactif disponible. Cette solution se conserve durant 24 heures.

7. PROTOCOLE D'ANALYSE

Pour toute série d'échantillons, les recommandations des « Lignes directrices concernant l'application des contrôles de la qualité en chimie », DR-12-SCA-01, sont suivies afin de s'assurer d'une fréquence d'insertion adéquate en ce qui concerne les éléments de contrôle et d'assurance de la qualité (blanc, matériaux de référence, duplicata, etc.). Tous ces éléments d'assurance et de contrôle de la qualité suivent les mêmes étapes du protocole analytique que les échantillons.

7.1. PRÉPARATION DU MATÉRIEL

Aucune préparation spéciale n'est requise pour cette analyse. Le matériel utilisé pour les solutions étalons est rincé à l'eau ultra-pure et réutilisé pour une nouvelle solution de même concentration. Le matériel utilisé pour le dosage des échantillons est jeté après chaque usage.

7.2. EXTRACTION

- Brasser vigoureusement la bouteille d'échantillon afin de mettre en suspension tout dépôt présent.
- Ajouter un barreau magnétique et faire agiter durant 2 minutes à forte intensité.
- Prélever ensuite 3,0 ml de l'échantillon à la mi-hauteur de l'échantillon.
- Déposer la partie aliquote dans un tube en polypropylène d'une capacité de 45 ml muni d'un bouchon.
- À l'aide d'une pipette, ajouter 27,0 ml de solution de NaOH 0,11 N (cf. 6.9).
- Refermer et bien agiter.
- Inclure un blanc en utilisant 3,0 ml d'eau ultra-pure de même que des duplicata, contrôles et ajouts nécessaires et procéder de la même façon que pour les échantillons.
- Fermer tous les échantillons de façon étanche.
- Placer les tubes en position couchée dans l'agitateur horizontal. Bien fixer et agiter à forte intensité (160 impulsions par minute) durant 17 heures.
- Une fois l'extraction terminée, retirer les tubes et centrifuger durant 10 minutes à 10 000 tours par minute afin de sédimenter les matières en suspension.
- Après la centrifugation, transférer le surnageant avec une pipette de verre dans un tube en borosilicate.
- Les échantillons sont maintenant extraits et prêts à être analysés.

7.3. DOSAGE

- Le dosage est effectué sur système Technicon (pompe et colorimètre) contrôlé par un ordinateur. La lecture est effectuée à 660 nm à l'aide d'un filtre.
- Installer le système (cam) de 20 1 : 1 (20 échantillons à l'heure comportant 90 secondes de lavage et 90 secondes d'échantillonnage).

- Démarrer l'aspiration des réactifs dans les tubes appropriés selon l'ordre suivant :
 - solution de travail de molybdate d'ammonium (cf. 6.16);
 - solution de travail du canal de référence (cf. 6.18);
 - solution de NaOH 0,10 N (cf. 6.10);
- Après 10 minutes, aspirer le dernier réactif, soit la solution de travail d'acide ascorbique (cf. 6.17).
- Lorsque la ligne de base est stabilisée, démarrer l'analyse des échantillons.
- Débuter la séquence d'analyse par une courbe de calibration (cf. 6.12) et terminer avec le standard de 0,2 mg/l P afin de déterminer la stabilité du système.

8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS

Les résultats sont obtenus directement du micro-ordinateur à l'aide du logiciel d'analyse et sont exprimés en mg/l P par une régression linéaire. La hauteur des pics obtenue des étalons est directement comparée à celle des échantillons pour calculer la concentration de ces derniers. Le résultat obtenu doit être multiplié par 10 en raison de la dilution effectuée lors de l'extraction. Au besoin, réintégrer les données à l'aide du logiciel. Le cas échéant, multiplier par le facteur de dilution supplémentaire.

9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ

Les critères d'acceptabilité sont appliqués comme suit :

Élément de contrôle	Critère d'acceptabilité
Matériaux de référence	La valeur obtenue doit être à l'intérieur de la valeur définie par le fournisseur.
Duplicata et replica	Les valeurs obtenues ne doivent pas différer de plus de 10 % de la valeur moyenne de la concentration analysée.
Blanc	La valeur du blanc ne doit pas dépasser la limite de détection.
Ajouts dosés	Le pourcentage de récupération lorsque des ajouts dosés sont faits doit être entre 80 % et 120 %.
Courbe d'étalonnage	La courbe d'étalonnage est considérée comme étant linéaire et est acceptée si son coefficient de corrélation (r) est supérieur 0,995.

Le chimiste peut valider les résultats des analyses à partir de l'ensemble des données du contrôle de la qualité même s'il y a dépassement des critères.

10. BIBLIOGRAPHIE

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, Lignes directrices concernant l'application des contrôles de la qualité en chimie, DR-12-SCA-01, Ministère de l'Environnement du Québec, Édition courante.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie, DR-12-VMC, Ministère de l'Environnement du Québec, Édition courante.

INSTITUT DE RECHERCHE ET DE DÉVELOPPEMENT EN AGROENVIRONNEMENT (IRDA), Détermination du phosphore biodisponible, Institut de recherche et de développement en agroenvironnement, AS-405, 2003.