

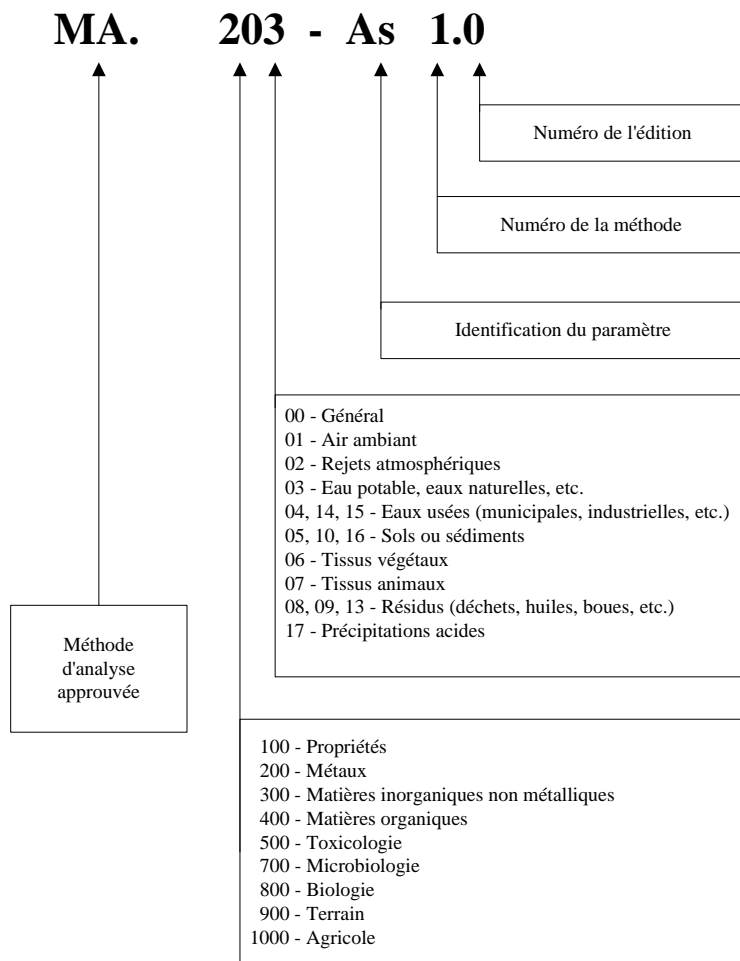
Méthode d'analyse



MA. 300 – NTPT 2.0

Détermination de l'azote total Kjeldahl et du phosphore total :
digestion acide – méthode colorimétrique automatisée

Exemple de numérotation :



La première édition d'une méthode est marquée de l'indice « 0 ». De façon usuelle, après quatre révisions successives, l'indice est augmenté de 1. Il peut également être élevé si une révision entraîne des modifications en profondeur de la méthode. La date de révision est suivie d'un chiffre qui indique le numéro de la révision en cours.

Ce document doit être cité de la façon suivante :

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC.
Détermination de l'azote total Kjeldahl et du phosphore total : digestion acide – méthode colorimétrique automatisée, MA. 300 – NTPT 2.0, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2011, 15 p.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec
2700, rue Einstein, bureau E.2.220
Québec (Québec) G1P 3W8

Téléphone : 418 643-1301
Télécopieur : 418 528-1091
Courriel : ceaeq@mddep.gouv.qc.ca

© Gouvernement du Québec, 2011

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
1. DOMAINE D'APPLICATION	5
2. PRINCIPE ET THÉORIE	6
3. INTERFÉRENCE	6
4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION	6
5. APPAREILLAGE	7
6. RÉACTIFS ET ÉTALONS	7
7. PROTOCOLE D'ANALYSE	10
7.1. Préparation de l'échantillon	10
7.2. Dosage	11
7.3. Préparation spéciale de la verrerie	11
8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS	12
9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ	12
10. BIBLIOGRAPHIE	13
Figure 1 – Schéma de l'analyseur du phosphore total	14
Figure 2 – Schéma de l'analyseur de l'azote total Kjeldahl	15

INTRODUCTION

Le phosphore total est l'ensemble du phosphore présent dans un échantillon sous forme de phosphates ou de composé organophosphorés. La présence du phosphore dans les effluents industriels provient surtout des détergents, des engrais et de la décomposition de la matière organique.

Par la méthode Kjeldahl, l'azote ammoniacal et l'azote organique sont dosés simultanément. Ces deux formes d'azote sont présentes dans les détritiques organiques soumis aux processus biologiques naturels. La présence d'azote organique dans les effluents industriels provient des abattoirs, de certaines usines chimiques utilisant de l'azote organique dérivé des protéines animales et de la décomposition de la matière organique.

Le phosphore et l'azote total Kjeldahl peuvent être transformés en substances nutritives dans les eaux et c'est surtout pour ralentir l'eutrophisation des systèmes aquatiques que la teneur en phosphore et en azote est contrôlée.

Cette méthode est basée sur les méthodes *Total Kjeldahl Nitrogen in Acid Digests* et *Total phosphorus in Acid Digests* de Seal Analytical.

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode sert à déterminer l'azote total Kjeldahl et le phosphore total dans les échantillons solides et liquides.

Les limites de détection rapportées et les domaines d'application sont indiqués dans les tableaux suivants. Des concentrations plus élevées peuvent être rapportées en appliquant des dilutions appropriées aux échantillons avant le dosage.

Échantillons aqueux :

Anion	Limite de détection rapportée (mg/l)	Domaine d'application (mg/l)
Azote total Kjeldahl	0,30	0,30 à 10
Phosphore total	0,05	0,05 à 10

Échantillons solides :

Anion	Limite de détection rapportée (mg/kg)	Domaine d'application (mg/kg)
Azote total Kjeldahl	100	100 à 1 250
Phosphore total	200	200 à 1 250

2. PRINCIPE ET THÉORIE

La détermination du phosphore total et de l'azote total Kjeldahl s'effectue en deux étapes. La première étape est une digestion en milieu acide qui transforme tout le phosphore présent en orthophosphate et tous les composés organiques azotés en azote ammoniacal.

Dans la seconde étape, les ions orthophosphates et les ions ammonium sont dosés par un système automatisé. L'ion orthophosphate réagit avec l'ion molybdate et l'ion antimoine pour former un complexe phosphomolybdate. Ce dernier est réduit avec l'acide ascorbique en milieu acide pour provoquer l'apparition du bleu de molybdène, dont l'absorbance à 660 nm est proportionnelle à la concentration de l'ion orthophosphate.

Les ions ammonium réagissent avec du salicylate, du nitroferrocyanure et de l'hypochlorite de sodium pour former en milieu alcalin un complexe salicylate ammoniacal, dont l'absorbance à 660 nm est proportionnelle à la concentration d'azote ammoniacal.

3. INTERFÉRENCE

Azote total Kjeldahl

Les nitrates, à des concentrations supérieures à 10 mg/l N, peuvent causer une interférence négative. Des concentrations élevées en sels inorganiques et en matières organiques peuvent interférer négativement.

Phosphore total

Les arsénates réagissent avec le molybdate d'ammonium pour former un complexe bleu produisant ainsi une interférence positive. Le chrome hexavalent et les nitrites peuvent interférer négativement.

4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION

Les échantillons doivent être prélevés et conservés (en fonction de la matrice et du règlement) selon les recommandations décrites à la section *Guide d'échantillonnage à des fins d'analyse environnementale* du site Internet du CEAEQ.

Prélever un échantillon représentatif dans un contenant de plastique ou de verre.

Pour les échantillons liquides, acidifier l'échantillon à pH < 2 en ajoutant de l'acide sulfurique. Conserver à environ 4 °C. Le délai de conservation entre le prélèvement et l'analyse ne doit pas excéder 28 jours.

Pour les échantillons solides, aucun agent de préservation n'est nécessaire. Conserver à environ 4 °C. Le délai de conservation entre le prélèvement et l'analyse ne doit pas excéder 6 mois.

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Balance dont la sensibilité est de 0,1 mg
- 5.2. Bloc de digestion pour les échantillons.
- 5.3. Agitateur Vortex
- 5.4. Système automatisé pour le dosage de l'azote ammoniacal et des phosphates

6. RÉACTIFS ET ÉTALONS

Tous les réactifs commerciaux utilisés sont de qualité ACS, à moins d'indication contraire.

L'eau utilisée pour la préparation des réactifs et des étalons est de l'eau distillée ou déminéralisée.

À moins d'indication contraire, les solutions préparées peuvent être conservées indéfiniment à la température ambiante. Elles doivent cependant être refaites si un changement de couleur est noté ou s'il y a formation de précipité.

- 6.1. Acide sulfurique, H_2SO_4 (CAS n° 7664-93-9)
- 6.2. Hydroxyde de sodium, NaOH (CAS n° 1310-73-2)
- 6.3. Oxyde mercurique, HgO (CAS n° 21908-5-2)
- 6.4. Sulfate de potassium, K_2SO_4 (CAS n° 7778-80-5)
- 6.5. Hypochlorite de sodium, NaOCl , 4-6 %
- 6.6. Sulfate d'ammonium, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (CAS n° 7783-20-2)
- 6.7. Molybdate d'ammonium, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 12054-85-2)
- 6.8. Chlorure de sodium, NaCl (CAS n° 7647-14-5)
- 6.9. Tartro-antimoniate de potassium, $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 28300-74-5)
- 6.10. Phosphate de potassium monobasique, KH_2PO_4 (CAS n° 7778-77-0)
- 6.11. Tartrate de potassium et de sodium tétrahydraté (CAS n° 6381-59-5)
- 6.12. Phosphate dibasique de sodium, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 7782-85-6) ou phosphate dibasique de sodium anhydre, Na_2HPO_4 (CAS n° 7758-79-4)
- 6.13. Salicylate de sodium (CAS n° 54-21-7)
- 6.14. Nitroferriocyanure de sodium (CAS n° 13755-38-9)

- 6.15. Acide ascorbique (L+) (CAS n° 50-81-7)
- 6.16. Laurylsulfate de sodium, C₁₂H₂₅NaO₄S (CAS n° 151-21-3)
- 6.17. Brij-35[®] (marque déposée par Atlas Chemical Industries Inc.)
- 6.18. Émulsion antifoam A[®]
- 6.19. Pierres à ébullition
- 6.20. Solution de sulfate mercurique

Note – Préparer cette solution sous la hotte.

Peser précisément environ 8,0 g de HgO (cf. 6.3) et dissoudre dans 40 ml d'eau. Ajouter 10 ml d'acide sulfurique (cf. 6.1), laisser refroidir et compléter à 100 ml avec de l'eau.

- 6.21. Solution de lavage acide

Diluer 7,8 ml de H₂SO₄ (cf. 6.1) dans environ 900 ml d'eau, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

- 6.22. Solution de digestion

Note – Préparer cette solution sous la hotte.

Peser précisément environ 133 g de K₂SO₄ (cf. 6.4) et dissoudre dans une solution contenant 500 ml d'eau et 200 ml de H₂SO₄ (cf. 6.1). Agiter jusqu'à dissolution complète. Ajouter 25 ml de la solution de sulfate mercurique (cf. 6.20) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

- 6.23. Solution d'acide sulfurique 9 N

Diluer 250 ml de H₂SO₄ (cf. 6.1) dans environ 600 ml d'eau tout en agitant, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

- 6.24. Solution mère acide/sel

Peser précisément environ 5,0 g de NaCl (cf. 6.8) et dissoudre dans environ 700 ml d'eau. Ajouter 12 ml de H₂SO₄ (cf. 6.1), laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Peser précisément environ 2,0 g de laurylsulfate de sodium (cf. 6.16) et ajouter au contenu de la solution. Filtrer sur un papier Whatman si nécessaire.

Cette solution se conserve à température ambiante aussi longtemps que la solution reste claire.

- 6.25. Réactif molybdate

Peser précisément environ 3,1 g de molybdate d'ammonium (cf. 6.7) et 0,085 g de tartro-antimoniate de potassium (cf. 6.9) et dissoudre dans environ 400 ml. Compléter à 500 ml avec de l'eau. Filtrer si nécessaire.

Conserver dans une bouteille ambrée.

6.26. Solution d'acide ascorbique

Peser précisément environ 1,5 g d'acide ascorbique (L+) (cf. 6.15) et dissoudre dans environ 80 ml d'eau. Agiter et compléter à 100 ml avec de l'eau. Filtrer si nécessaire.

Cette solution se conserve 7 jours à 4 °C dans une bouteille ambrée.

6.27. Solution tampon de travail

Peser précisément environ 26,8 g de phosphate dibasique de sodium hydraté ou 14,2 g de phosphate dibasique de sodium anhydre (cf. 6.12), 32,0 g d'hydroxyde de sodium (cf. 6.2) et 50,0 g de tartrate de potassium et de sodium (cf. 6.11) dans environ 600 ml d'eau et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Ajouter 2,0 ml de Brij-35[®] (cf. 6.17).

Cette solution se conserve une semaine à température ambiante.

6.28. Solution de salicylate de sodium et de nitroferrocyanure de sodium

Peser précisément environ 40 g de salicylate de sodium (cf. 6.13) et 1,0 g de nitroferrocyanure de sodium (cf. 6.14) broyé et dissoudre dans environ 800 ml d'eau. Compléter à 1 000 ml avec de l'eau et filtrer. Filtrer si nécessaire.

Cette solution se conserve pendant un mois dans une bouteille ambrée.

6.29. Solution d'hypochlorite de sodium 4 % (V/V)

Diluer 4 ml de NaOCl (cf. 6.5) dans environ 80 ml d'eau et compléter à 100 ml avec de l'eau.

Cette solution se conserve pendant 8 heures.

6.30. Solution étalon d'azote de 1 000 mg/l N

Peser précisément environ 4,717 g de (NH₄)₂SO₄ (cf. 6.6) préalablement séché à 105 °C et dissoudre dans environ 800 ml d'eau. Ajouter 5 ml de H₂SO₄ 9N (cf. 6.23) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Cette solution se conserve deux ans à 4 °C.

6.31. Solution étalon de phosphore de 1 000 mg/l P

Peser précisément environ 4,394 g de KH₂PO₄ (cf. 6.10) préalablement séché à 105 °C et dissoudre dans environ 800 ml d'eau. Ajouter 1 ml de la solution de H₂SO₄ 9 N (cf. 6.23) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Cette solution se conserve deux ans à 4 °C.

6.32. Solutions étalons d'azote et de phosphore

À l'aide de dilutions, préparer une série de solutions étalons ayant les concentrations suivantes.

Étalon	Concentration d'azote (mg/l N)	Concentration de phosphore (mg/l P)
1	10	10
2	7	7
3	4	4
4	2	2
5	0,5	0,5
6	0,0	0,0

Un exemple pour la préparation de ces solutions étalons suit.

Solution étalon combinée d'azote et de phosphore de 100 mg/l

Dans une fiole jaugée de 100 ml, introduire à l'aide d'une pipette 10 ml de la solution étalon d'azote de 1 000 mg/l N (cf. 6.30) et 10 ml de la solution étalon de phosphore de 1 000 mg/l P (cf. 6.31) dans environ 70 ml d'eau. Ajouter 0,5 ml d'acide sulfurique 9 N (cf. 6.23) et compléter au trait de jauge avec de l'eau.

Cette solution se conserve six mois à 4 °C.

Solutions étalons combinées d'azote et de phosphore de 0, 0,5, 2,0, 4,0, 7,0 et 10 mg/l

Dans une série de fioles jaugées de 100 ml, introduire à l'aide de pipettes 0, 0,5, 2, 4, 7 et 10 ml de la solution étalon combinée de phosphore de 100 mg/l P et d'azote de 100 mg/l N dans environ 40 ml d'eau. Ajouter 0,50 ml de la solution de H₂SO₄ 9 N (cf. 6.23) et compléter au trait de jauge avec de l'eau.

Ces solutions se conservent six mois à 4 °C.

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 pour 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 DE L'ÉCHANTILLON

- Les tubes de digestion doivent être chauffés à 400 °C pendant un minimum de 2,5 heures pour les décontaminer.
- La solution témoin et les solutions étalons doivent être préparées de la même façon que les échantillons.

- Ajouter quelques pierres à ébullition (cf. 6.19) dans les tubes de digestion.
- Ajouter 2 gouttes d'émulsion antifoam A[®] (cf. 6.18).
- Pour les liquides, homogénéiser l'échantillon en l'agitant et introduire 25 ml d'échantillon.
- Pour les solides, homogénéiser l'échantillon non séché avec une spatule afin d'avoir un échantillon représentatif et utiliser un poids équivalent à 0,2 g d'échantillon solide exprimé sur base sèche et ajouter 25 ml d'eau à pH < 2 avec H₂SO₄ 9 N. Pour les boues d'usines d'épuration, peser une quantité moindre d'échantillon.

Note – Déterminer le pourcentage d'humidité sur une autre portion de l'échantillon.

Note – Préparer une série de tubes en utilisant 25 ml d'eau avec les réactifs. Ces solutions serviront d'eau de dilution pour les échantillons trop concentrés.

- Ajouter 10 ml de la solution de digestion (cf. 6.22).
- Mélanger à l'aide d'un agitateur Vortex.
- Digérer les échantillons en les chauffant à 150 °C pendant une heure de façon à faire évaporer l'eau. Dans un deuxième temps, ils sont chauffés à une température minimale de 380 °C pendant une heure pour digérer la matière organique.
- Après la digestion, enlever les tubes et les laisser refroidir dans la hotte (environ 10 minutes). Ajouter environ 30 ml d'eau et agiter immédiatement à l'agitateur Vortex pour dissoudre les sels résiduels. Si nécessaire, remettre les tubes dans le bloc de digestion afin d'aider la dissolution des sels. Compléter à 75 ml avec de l'eau. Boucher le tube et mélanger plusieurs fois par inversion.
- Laisser reposer quelques heures.

7.2. DOSAGE

Le dosage des phosphates est fait en utilisant un analyseur colorimétrique automatisé. La couleur produite lors de la réduction du complexe formé en présence d'orthophosphates, d'ions molybdates et d'ions antimoniates est mesurée à 660 nm. La figure 1 représente le schéma de l'analyseur.

Le dosage de l'azote total est fait en utilisant un analyseur colorimétrique automatisé. La couleur produite lors de la réaction entre l'azote ammoniacal, le salicylate, le nitroferrocyanure et l'hypochlorite est mesurée à 660 nm. La figure 2 représente le schéma de l'analyseur.

7.3. PRÉPARATION SPÉCIALE DE LA VERRERIE

Aucun soin autre que le lavage et le séchage de la verrerie n'est nécessaire pour la détermination du phosphore total et de l'azote total Kjeldahl. Cependant, décontaminer les tubes de digestion à 400 °C pendant 2,5 heures après le lavage.

8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS

Les courbes d'étalonnages (courbes linéaires) sont tracées à partir des mesures de hauteur des pics et des concentrations des solutions étalons.

Pour les échantillons liquides, les résultats sont exprimés en mg/l N pour l'azote total et en mg/l P pour le phosphore total, selon l'équation suivante :

$$C = A \times F$$

où

C : concentration de l'azote total ou du phosphore total dans l'échantillon (mg/l N ou mg/l P);

A : concentration de l'azote ou du phosphore total dosée (mg/l N ou mg/l P);

F : facteur de dilution.

Pour les échantillons solides, les résultats sont exprimés en mg/kg N pour l'azote total et en mg/kg P pour le phosphore total, selon l'équation suivante :

$$C = \frac{A \times F \times 25}{B}$$

où

C : concentration de l'azote total ou du phosphore total dans l'échantillon (mg/kg N ou mg/kg P);

A : concentration de l'azote ou du phosphore total dosée (mg/l N ou mg/l P);

F : facteur de dilution, si nécessaire;

25 : volume d'eau ajoutée à l'échantillon solide avant la digestion;

B : poids de l'échantillon solide sur base sèche (g) déterminé selon l'équation suivante.

$$B = D \times \frac{(100 - H)}{100}$$

où

B : poids de l'échantillon solide sur base sèche (g);

D : poids de l'échantillon humide (g);

$\frac{100}{100 - H}$: facteur de conversion permettant d'exprimer le résultat sur base sèche en tenant compte du pourcentage d'humidité H (%) de l'échantillon.

9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ

Les critères d'acceptabilité sont définis dans le document DR-12-SCA-01 et sont appliqués comme suit :

- La courbe d'étalonnage est considérée comme acceptable si le facteur de corrélation est supérieur à 0,995.

- Le blanc de méthode analytique ne doit pas avoir une concentration supérieure à 0,5 mg/l N pour l'azote total et de 0,2 mg/l P pour le phosphore total.
- Les résultats obtenus pour l'analyse de duplicatas ou de répliqués ne doivent pas différer de plus de 10 % entre eux lorsqu'ils sont supérieurs à au moins dix fois la limite de détection.
- En ce qui concerne les matériaux de référence et les matériaux de référence certifiés, les résultats doivent se situer dans l'intervalle défini par le responsable désigné.
- Les ajouts dosés doivent permettre un recouvrement 70 % et 130 % pour les liquides et 50 % et 150 % pour les solides.
- Les résultats des étalons de vérification ne doivent pas varier de plus de 15 %.

10. BIBLIOGRAPHIE

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION AND WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, *Standard Methods for the Examination of water and wastewater*, 21st Edition, 2005.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Guide d'échantillonnage à des fins d'analyse environnementale*, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec. <http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/documents/publications/echantillonnage.htm>

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Lignes directrices concernant les travaux analytiques en chimie*, DR-12-SCA-01, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante. [http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/DR12SCA01_lignes_dir_chimie.pdf]

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC. *Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie*, DR-12-VMC, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante. [http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/PALA/DR12VMC_protocole_val_chimie.pdf]

McNEELY, R.N., V.P. NEIMANIS et L. DWYER, *Références sur la qualité des eaux : guide des paramètres de la qualité des eaux*, Québec, Direction générale des eaux intérieures, Direction de la qualité des eaux, Environnement Canada, Ottawa, 100 p., 1980.

SEAL ANALYTICAL, *Total Kjeldahl Nitrogen in Acid Digests*, Method No. G-188-97, Rev. 6, 2008.

SEAL ANALYTICAL, *Total Phosphorus in Acid Digests*, Method No. G-189-97, Rev. 3, 2008.

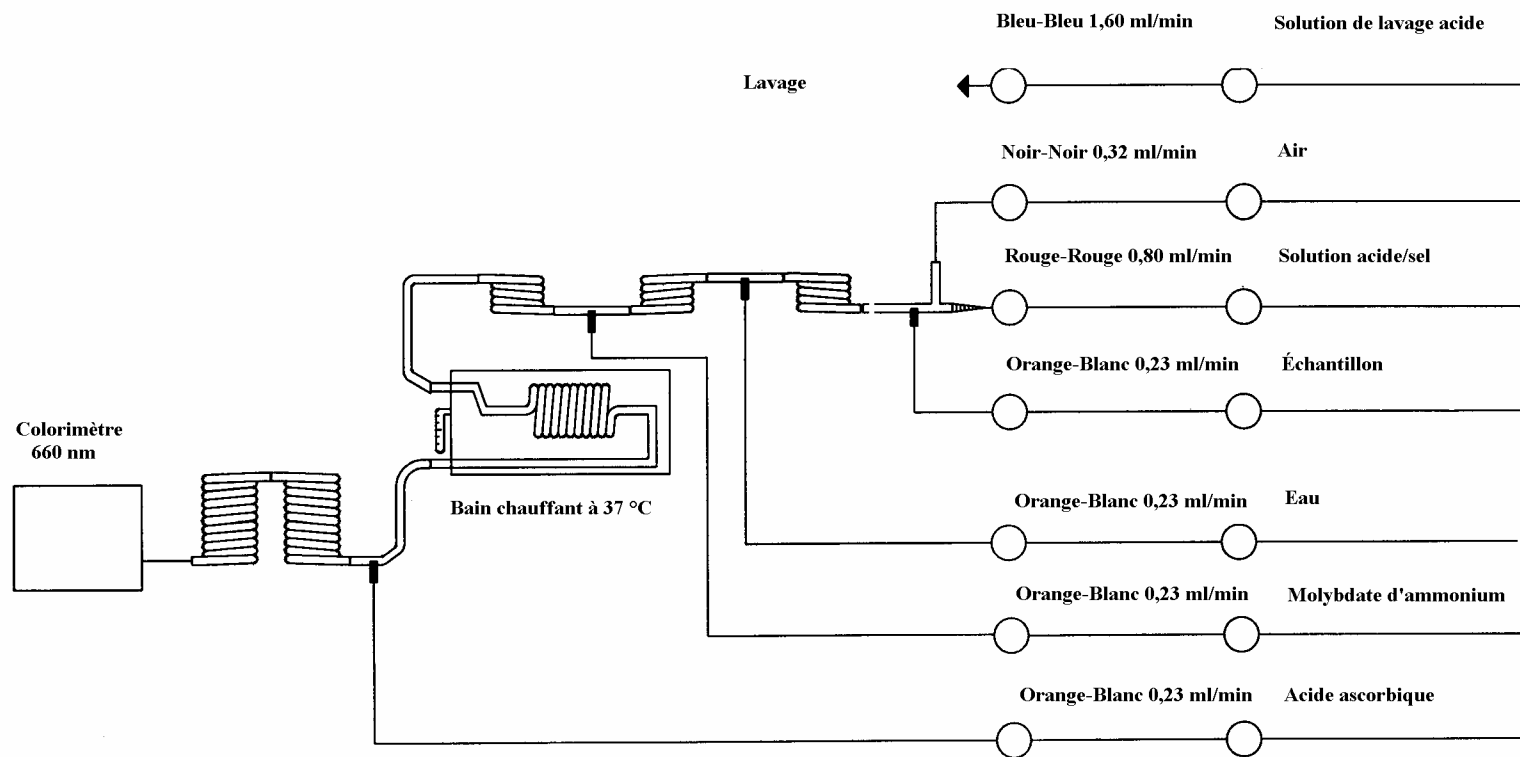


Figure 1 – Schéma de l'analyseur du phosphore total

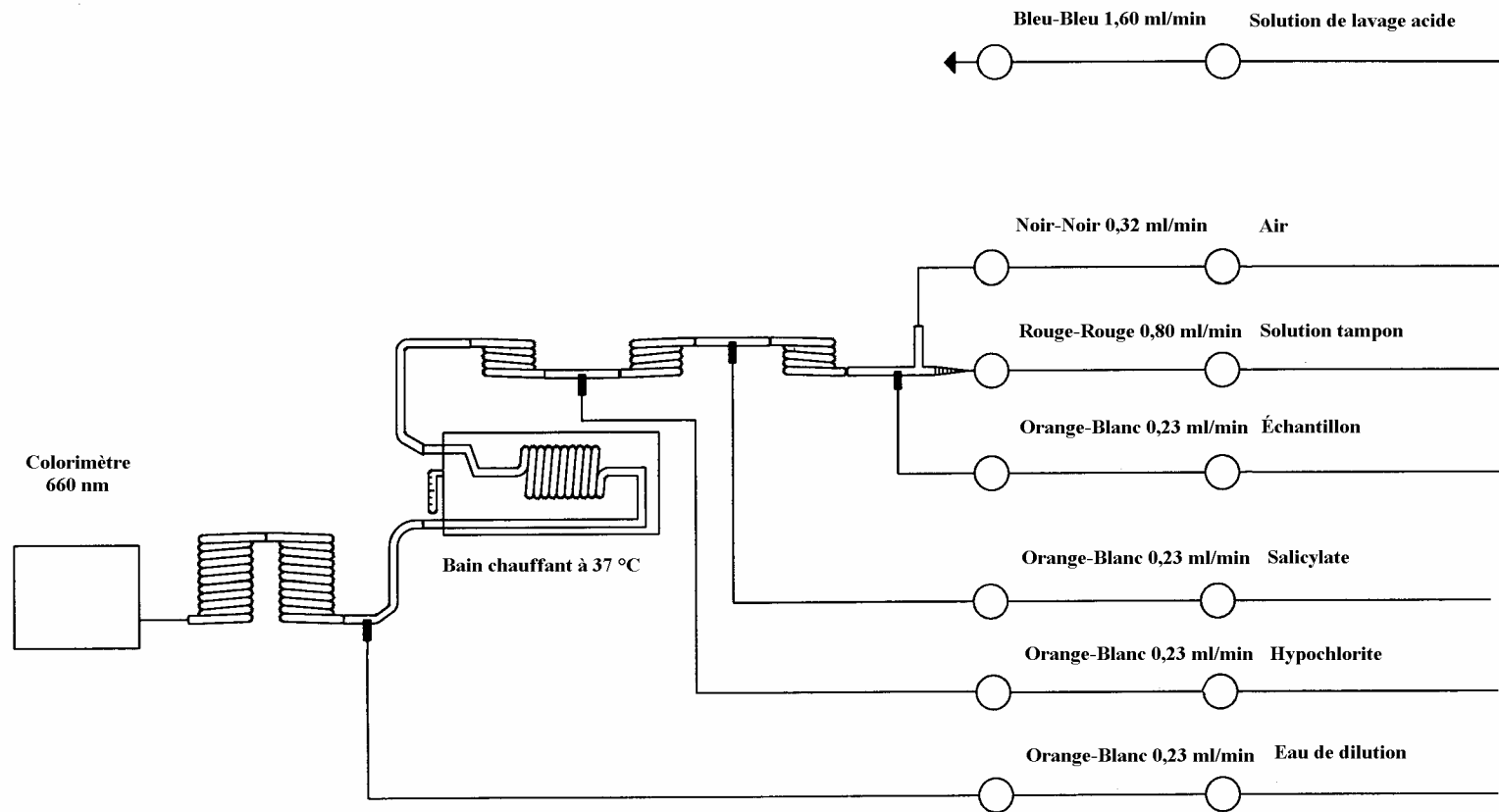


Figure 2 – Schéma de l'analyseur de l'azote total Kjeldahl