

# Analyse des orthophosphates

## 1 - OBJECTIF

Ce mode opératoire a pour but la description de l'analyse des orthophosphates ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) par colorimétrie dans des eaux de lac et de rivières.

## 2 - CHAMP D'APPLICATION

Analyse des orthophosphates dans une gamme de 0 à 0,5 mgP/L

## 3 – SECURITÉ

Porter une blouse, des gants, lunette et travailler sous hotte lors la manipulation des acides.

## 4 - DEMARCHE

### 4.1- PRINCIPE

D'après Murphy et Riley, le molybdate d'ammonium et le tartrate double de potassium et d'antimoine réagissent en milieu acide avec les orthophosphates pour donner un complexe antimoine-phosphore-molybdate. Ce complexe est réduit par l'acide ascorbique en un composé fortement coloré en bleu dont le maximum d'absorption est à 882 nm.

### 4.2- MATERIEL

- Spectrophotomètre UV-vis
- 2 cuves QS 10 cm
- tubes Falcon 50mL stériles

### 4.3- PRODUITS CHIMIQUES

acide sulfurique 98%	$\text{H}_2\text{SO}_4$	Si. Aldrich :1.1208.1000
acide ascorbique	$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$	Si. Aldrich : A7506
molybdate d'ammonium	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	Si. Aldrich : A7302
potassium hydrogenophosphate	$\text{KH}_2\text{PO}_4$	Si. Aldrich : 795488
tartrate de potassium et antimoine (émétique)	$\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2 \text{H}_2\text{O}$	Si. Aldrich :244791

**Note :**

Adapter les volumes des solutions selon la quantité d'échantillons à analyser !!

#### 4.4- PREPARATION DES SOLUTIONS ET ETALONS

##### ● Acide sulfurique 5 N (2.5mol/L)

Acide sulfurique 98% (H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )		140mL
Eau désionisée (Milli-Q)	q.s.p	1000mL

Verser lentement l'acide dans l'eau

##### ● Solution émétique

Tartrate de potassium et d'antimoine		2.743g
Eau désionisée (Milli-Q)	q.s.p	1000mL

Conservation : Stocker 2 mois en flacon de verre opaque à 4 °C

##### ● Solution de molybdate d'ammonium

Molybdate ammonium		20g
Milli-Q water	q.s.p	500mL

Conservation : Stocker 2 mois en flacon polyéthylène ou bouteille opaque à 4 °C

##### ● Réactif colorimétrique P ORTHO sans réducteur (acide ascorbique)

Acide sulfurique 2.5 mol/L		500mL
Solution de molybdate d'ammonium		150mL
Solution émétique		50mL
Eau désionisée (Milli-Q)	q.s.p	1000mL

Conservation : Stocker en flacon de verre à 4 °C

##### ● Réactif colorimétrique P ORTHO avec réducteur (acide ascorbique)

**!! A préparer au moment de l'emploi !!**

Dans une éprouvette réservée à cet usage, prélever la quantité nécessaire du réactif colorimétrique P ORTHO sans réducteur et lui ajouter le réducteur (acide ascorbique) à raison de 0,53g pour 100 mL

Agiter jusqu'à dissolution de l'acide ascorbique.

Conservation : 24h.

##### ● Standard Phosphate 100 mgP/L

Potassium hydrogenophosphate (KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> )		0.4394g
Eau désionisée (Milli-Q)	q.s.p	1000mL

Conservation : 1 an

##### ● Standard Phosphate 1 mgP/L

Standard Phosphate 100mgP/L		10mL
Eau désionisée (Milli-Q)	q.s.p	1000mL

Conservation : 1 mois

#### 4.5- GAMME D'ETALONNAGE

Préparer dans des ballons jaugés de 100 mL.

Désignation	Solution phosphate 1 mgP/L	Compléter à l'eau MilliQ
STD 0.01 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	1mL	100mL
STD 0.05 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	5mL	
STD 0.10 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	10mL	
STD 0.20 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	20mL	
STD 0.30 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	30mL	
STD 0.40 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	40mL	
STD 0.50 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	50mL	

Conservation : 1 semaine

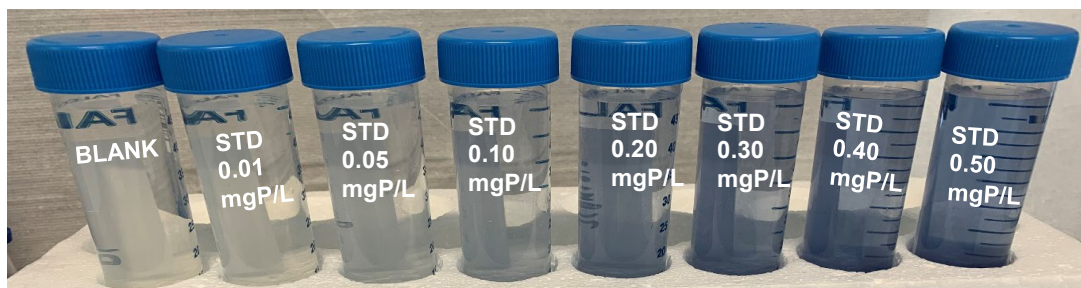
#### 4.6- INSTRUCTIONS

- La veille de l'analyse : sortir les échantillons et les mettre à décongeler. Les échantillons doivent avoir été filtré sur filtre seringue PES 0.22µm. Préparer les différentes solutions ainsi que les standards.
- Le jour de l'analyse : préparer le réactif P ORTHO sans et avec réducteur et préparer les échantillons pour l'analyse.

Utiliser des tubes Falcon de 50mL pour la préparation des mélanges de réaction.

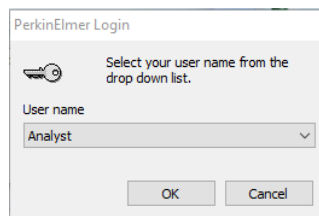
Désignation	Volume d'échantillons	Réactif P ORTHO avec réducteur
Eau ultra-pure (blanc)	40 mL	8 mL
STD 0.01 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	40 mL	8 mL
STD 0.05 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	40 mL	8 mL
STD 0.10 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	40 mL	8 mL
STD 0.20 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	40 mL	8 mL
STD 0.30 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	40 mL	8 mL
STD 0.40 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	40 mL	8 mL
STD 0.50 mgP/L de PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup>	40 mL	8 mL
Eaux prélevées	40mL	8 mL

Mélanger les tubes sur un agitateur de type vortex (2 fois par tube).  
Laisser reposer 15 min (30 min max) et faire la mesure.

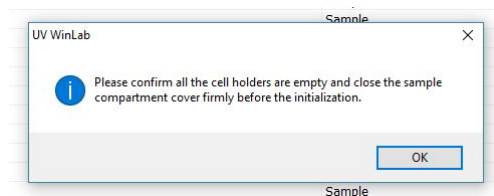


## 4.7- MESURE

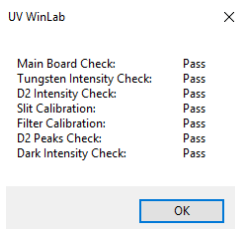
- Allumer le spectrophotomètre UV-VIS Perkin 30 min avant analyse.
- Allumer l'ordinateur : ID : Administrator PW : administrator
- Ouvrir le programme : *PerkinElmer UV Winlab*
- La fenêtre PerkinElmer Login s'ouvre, cliquer sur « OK »



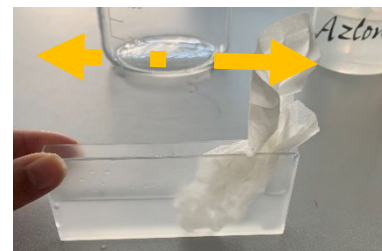
- Assurez-vous qu'aucune cuve se trouve dans l'instrument, autrement les retirer.
- Double- clic sur la méthode « Phosphate 0.0005 - 0.05 mg/L »
- Initialisation de l'instrument : patienter jusqu'à ce que la boîte de dialogue s'ouvre. Commencer l'initialisation en cliquant sur « OK ».



- L'initialisation terminée un rapport s'affiche : tous les tests doivent afficher « PASS ». Cliquez sur « OK ». Dans le cas contraire fermer le programme, laisser chauffer la lampe 30min et recommencer.



- Nettoyez de manière prudente la cuve :
  - a) Rincer la cuve à l'aide d'une pissette d'eau MilliQ.
  - b) Remplir la cuve avec la pissette d'éthanol 70%.
  - c) A l'aide d'un papier Kimtech nettoyer l'intérieur de la cuve ainsi que les bord (ne pas le faire à sec).
  - d) Rincer à nouveau la cuve à l'eau et laisser sécher.



- Indiquer le nombre d'échantillon ( y compris les standards & blancs) ((1) à analyser.

Saisir le nom de chaque échantillon (2) dans la table en commençant par la gamme de standard (!! les échantillons seront analysés selon l'ordre inscrit dans la liste !!)

Description	Type	Concentration Phosphate (mg/L-1)	Ordinate (A)
1) 0.0005 mg/L PO4	Standard	0.0005	
2) 0.001 mg/L PO4	Standard	0.0010	
3) 0.002 mg/L PO4	Standard	0.0020	
4) 0.005mg/L PO4	Standard	0.0050	
5) 0.01 mg/L PO4	Standard	0.0100	
6) 0.02 mg/L PO4	Standard	0.0200	
7) 0.05 mg/L PO4	Standard	0.0500	
8)	Sample		
9)	Sample		
10)	Sample		
11)	Sample		
12)	Sample		
13)	Sample		
14)	Sample		
15)	Sample		
16)	Sample		
17)	Sample		
18)	Sample		

- Remplir la cuve de 10 cm au 2/3 avec le blanc (eau ultra-pure + réactif)
- Placer une cuve dans support avant

- Cliquer sur « Autozero »



- La boîte de dialogue s'ouvre cliquer sur « OK » pour lancer l'autozero.

UV WinLab

Remove sample(s) and then press OK to perform a 100%T / 0A correction (Autozero)

OK Cancel


- Une fois l'autozéro effectué vider la cuve, rincer à l'eau MilliQ et remplir avec votre premier standard.



### Note :

Veillez ne pas jeter vos solutions, réactifs, standards, et échantillons contenant le réactif à l'évier mais dans un bidon de déchet !

- Insérer votre premier standard dans la machine.

- Lancer l'analyse  puis cliquer sur « OK » lorsque la boîte de dialogue s'ouvre.

UV WinLab

Place "STD1.Standard" in the instrument and press OK to begin data collection

OK Cancel

- Rincer la cuve avec de l'eau MilliQ entre chaque mesure d'échantillon.

- Enregistrer tous les résultats dans un dossier :  
File > Save > New task. Dans l'encadré inscrire le nom du projet et la date d'analyse.

- Les résultats seront enregistrés sous Documents > Data > CDOM\_scans .

- Une fois les analyses terminées, nettoyer les deux cuves comme expliqué initialement. Eteindre l'instrument et l'ordinateur. Ranger votre place de travail.

