

Analyse des orthophosphates

1 - OBJECTIF

Ce mode opératoire a pour but la description de l'analyse des orthophosphates (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

4.3- PRODUITS CHIMIQUES ET CONSOMMABLES SPECIFIQUES

- Acide sulfurique concentré 98% H_2SO_4 ;
- Molybdate d'ammonium $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$;
- Acide ascorbique $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$;
- Potassium hydrogénophosphate KH_2PO_4 ;
- Tartrate de potassium et d'antimoine (émétique) $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6, 1/2 \text{H}_2\text{O}$;
- Tubes Falcon 50mL stériles

4.4- PREPARATION DES SOLUTIONS ET ETALONS

Acide sulfurique 5 N (2.5mol/L)

Acide sulfurique 98%	140 mL
Eau ultra-pure	compléter à 1000 mL

Verser lentement l'acide dans l'eau

Note :

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

Solution émétique

Tartrate de potassium et d'antimoine 2,743 g
Eau ultra-pure compléter à 1000 mL

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

Solution de molybdate d'ammonium

Molybdate d'ammonium 20 g
Eau ultra-pure compléter à 500 mL

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 500 mL
Solution de molybdate d'ammonium 150 mL
Solution émétique 50 mL
Eau ultra-pure compléter à 1000 mL

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.

- **Solutions étalons**

Solution de Phosphate 100 mgP/L

Potassium hydrogénophosphate KH_2PO_4 0,4394 g
Eau ultra-pure compléter à 1000ml

Conservation : 1 an

Solution de Phosphate 1 mgP/L

Solution étalon mère à 100 mgP/L 10 ml
Eau ultra-pure compléter à 1000 ml

Conservation : 1 mois

- **Gamme étalonnage**

Préparer dans des ballons jaugés de 100 mL.

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

Conservation : 1 semaine

4.5- 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.

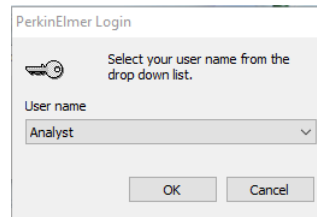
Désignation	Volume d'échantillons	Réactif P ORTHO avec réducteur
Eau ultra-pure (blanc)	40 mL	8 mL
STD 0.01 mgP/L de PO ₄ ³⁻	40 mL	8 mL
STD 0.05 mgP/L de PO ₄ ³⁻	40 mL	8 mL
STD 0.10 mgP/L de PO ₄ ³⁻	40 mL	8 mL
STD 0.20 mgP/L de PO ₄ ³⁻	40 mL	8 mL
STD 0.30 mgP/L de PO ₄ ³⁻	40 mL	8 mL
STD 0.40 mgP/L de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

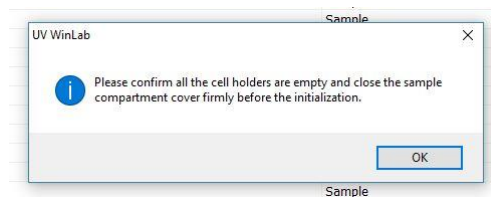
4.6- MESURE

- Allumer le spectrophotomètre UV-VIS Perkin 30 min avant analyse.
- Allumer l'ordinateur : ID : Administrator PW : administrator

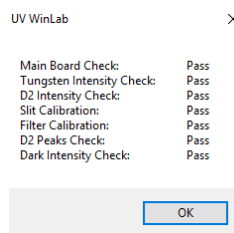
- Ouvrir le programme : *PerkinElmer UV Winlab*
- La fenêtre PerkinElmer Login s'ouvre, cliquer sur « OK »



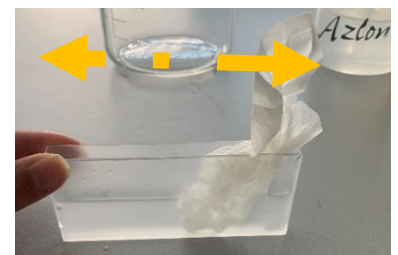
- Assurez-vous qu'aucune cuve se trouve dans l'instrument, autrement les retirer.
- Double- clic sur la méthode « Phosphate 0.0005 - 0.05 mg/L »
- Initialisation de l'instrument : patienter jusqu'à ce que la boîte de dialogue s'ouvre. Commencer l'initialisation en cliquant sur « OK ».



- 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.

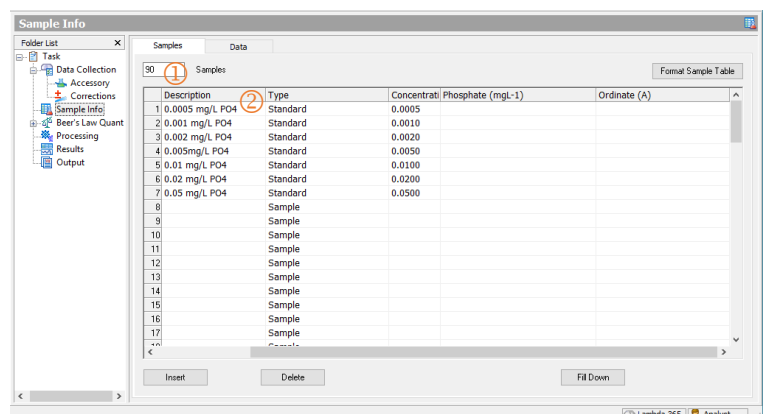


- Nettoyez de manière prudente les cuves :
 - a) Rincer la cuve à l'aide d'une pissette d'eau ultra-pure.
 - b) Remplir la cuve avec la pissette d'éthanol 70%.
 - c) A l'aide d'un papier Kimtech nettoyer l'intérieur de la cuve ainsi que les bord (ne pas le faire à sec).
 - d) Rincer à nouveau la cuve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



- Indiquer le nombre d'échantillon (①) à analyser en prenant en compte les standards et blancs dans la Sample Info.

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 !!)

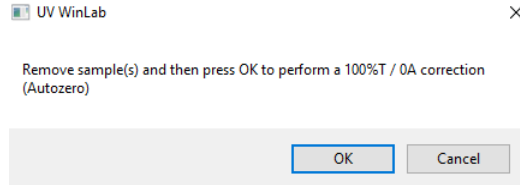


- Remplir les 2 cuves de 10 cm au 2/3 avec le blanc (eau ultra-pure + réactif)
- Placer une cuve dans chaque support

- Cliquer sur « Autozero »



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



- Une fois l'autozéro effectué vider uniquement la cuve située sur la partie avant. Rincer la cuve à l'eau ultra-pure et remplir avec votre premier standard.



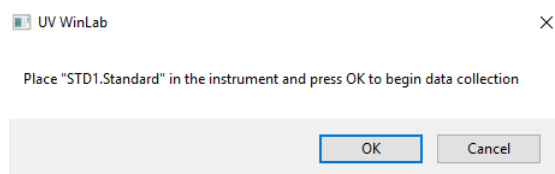
Note :
 Veuillez ne pas jeter vos solutions, réactifs, standards, et échantillons contenant le réactif à l'évier mais dans un bidon de déchet !

- Insérer votre premier standard dans la machine.

- Lancer l'analyse

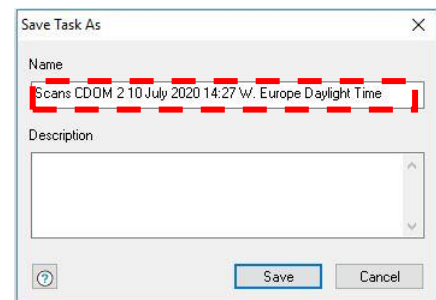


- puis cliquer sur « OK » lorsque la boîte de dialogue s'ouvre.



- Rincer la cuve avec de l'eau ultra-pure 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.