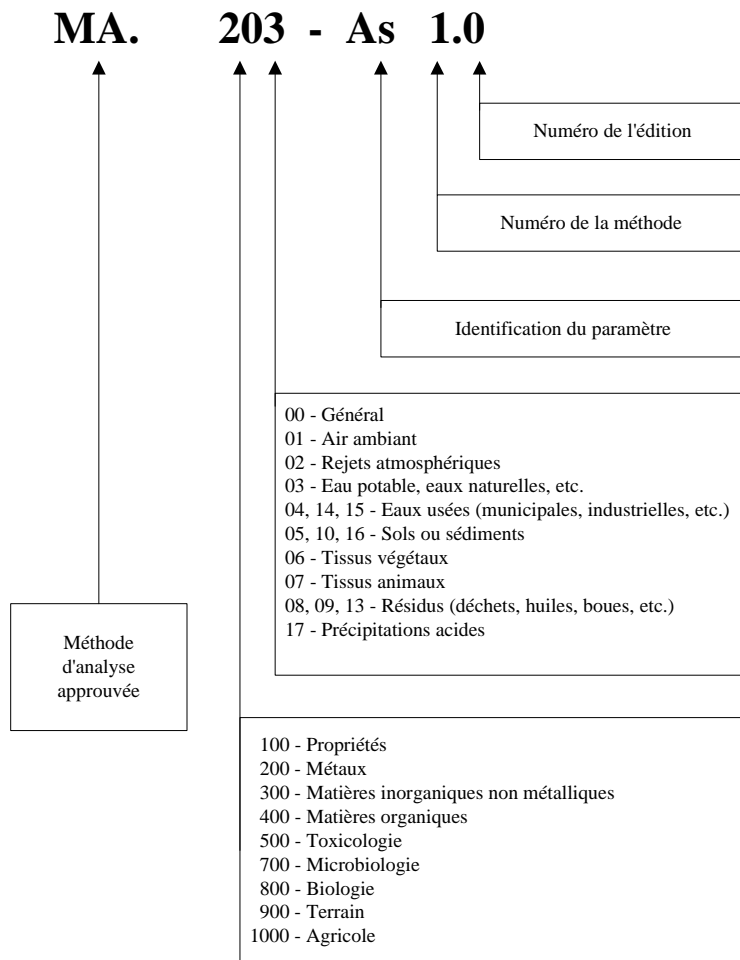


MA. 300 – NTPT 1.1
Édition : 2006-10-31
Révision : 2008-12-09 (1)

Méthode d'analyse

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 1.1, Rév. 1, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, 2008, 16 p.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
1. DOMAINE D'APPLICATION	5
2. PRINCIPE ET THÉORIE	5
3. INTERFÉRENCE	6
4. PRÉLÈVEMENT ET CONSERVATION	6
5. APPAREILLAGE	6
6. RÉACTIFS ET ÉTALONS	6
7. PROTOCOLE D'ANALYSE	11
7.1. Préparation de l'échantillon	11
7.2. Dosage	12
7.3. Préparation spéciale de la verrerie	12
8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS	12
9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ	13
10. BIBLIOGRAPHIE	13
Figure 1 – Schéma de l'analyseur du phosphore total	15
Figure 2 – Schéma de l'analyseur de l'azote total Kjeldahl	16

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 débris 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 « Digestion and sample preparation for the analysis of total Kjeldahl and/or total phosphorus in water samples using the technicon BD-40 block digester » et « Individual/simultaneous determination of nitrogen and/or phosphorus BD acid digests » de Technicon Industrial systems.

1. DOMAINE D'APPLICATION

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

Pour les liquides, le domaine d'application se situe entre 0,30 et 10 mg/l pour l'azote et entre 0,05 et 10 mg/l pour le phosphore. Pour les solides, le domaine d'application se situe entre 100 et 1250 mg/kg pour l'azote et entre 200 et 1250 mg/kg pour le phosphore. Des concentrations plus élevées peuvent être rapportées en appliquant des dilutions appropriées aux échantillons avant le dosage ou en digérant des quantités moindres d'échantillons.

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

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

Pour les échantillons liquides, acidifier l'échantillon à $\text{pH} < 2$ 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. Nitroferrocyanure de sodium (CAS n° 13755-38-9)
- 6.15. Acide ascorbique (L+) (CAS n° 50-81-7)
- 6.16. Aerosol-22 (CAS n° 38916-42-6)
- 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.

Dissoudre 8,0 g de HgO (cf. 6.3) dans 40 ml d'eau et 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 80 ml de H₂SO₄ (cf. 6.1) dans environ 1 800 ml d'eau, laisser refroidir et compléter à 2 000 ml avec de l'eau.

6.22. Solution de digestion

Note : Préparer cette solution sous la hotte.

Dissoudre 133 g de K₂SO₄ (cf. 6.4) 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/NaCl

Dissoudre 6,3 g de NaCl (cf. 6.8) dans environ 800 ml d'eau, ajouter 20 ml de H₂SO₄ (cf. 6.1). Laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

6.25. Solution de travail acide/NaCl de travail

Prélever 200 ml de la solution mère acide/NaCl (cf. 6.24) et ajouter 1,4 ml d'aérosol-22 (cf. 6.16).

Cette solution se conserve 48 heures.

6.26. Solution d'hydroxyde de sodium 20 % (P/V)

Dissoudre 200 g de NaOH (cf. 6.2) dans environ 700 ml d'eau. Laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

6.27. Réactif molybdate

Dissoudre 5,5 g de molybdate d'ammonium (cf. 6.7) et 0,125 g de tartro-antimoniato de potassium (cf. 6.9) dans environ 400 ml et compléter à 500 ml avec de l'eau.

Conserver dans une bouteille ambrée.

6.28. Solution d'acide ascorbique

Dissoudre 15,4 g d'acide ascorbique (L+) (cf. 6.15) 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.

6.29. Solution de tartrate de potassium et de sodium

Dissoudre 50 g de tartrate de potassium et de sodium (*cf.* 6.11) dans environ 200 ml d'eau. Laisser refroidir et compléter à 250 ml avec de l'eau.

Cette solution doit être préparée à chaque utilisation.

6.30. Solution mère de tampon phosphate

Dissoudre 67 g de $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$ ou 35 g de Na_2HPO_4 anhydre (*cf.* 6.12) dans environ 150 ml d'eau. Ajouter 10 g de NaOH (*cf.* 6.2) et compléter à 500 ml avec de l'eau.

Cette solution doit être préparée à chaque utilisation.

6.31. Solution tampon de travail

Note – L'ordre de l'ajout des réactifs est important.

À 200 ml de la solution concentrée de tampon phosphate (*cf.* 6.30), ajouter 250 ml de la solution de tartrate de potassium et de sodium (*cf.* 6.29) et bien mélanger. Ajouter 135 ml de la solution d'hydroxyde de sodium 20 % (P/V) (*cf.* 6.26) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau. Ajouter 2,0 ml de Brij-35[®] (*cf.* 6.17).

Conserver à 4 °C.

6.32. Solution de salicylate de sodium et de nitroferricyanure de sodium

Dissoudre 175 g de salicylate de sodium (*cf.* 6.13) et 0,35 g de nitroferricyanure de sodium (*cf.* 6.14) broyé dans environ 800 ml d'eau et compléter à 1 000 ml avec de l'eau et filtrer. La solution doit être conservée dans une bouteille opaque.

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

6.33. Solution d'hypochlorite de sodium 10 % (V/V)

Diluer 10 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.

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

Dissoudre 4,717 g de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (*cf.* 6.6) préalablement séché à 105 °C dans environ 800 ml d'eau, ajouter 5 ml de H_2SO_4 9N (*cf.* 6.23) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Cette solution se conserve deux ans à 4° C.

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

Dissoudre 4,394 g de KH_2PO_4 (cf. 6.10) préalablement séché à 105 °C dans environ 800 ml d'eau, ajouter 1 ml de la solution de H_2SO_4 9 N (cf. 6.23) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Cette solution se conserve deux ans à 4 °C.

6.36. 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. 6.34) et 10 ml de la solution étalon de phosphore de 1 000 mg/l P (cf. 6.35) 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 H_2SO_4 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 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 DE L'ÉCHANTILLON

- Les tubes de digestion doivent être chauffés à 400 °C pendant un minimum de 2,5 heures afin de 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 afin de 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**

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);
H : pourcentage d'humidité (%).

9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ

Les termes utilisés dans cette section sont définis dans le document DR-12-SCA-01 et sont appliqués comme suit :

Pour les matériaux de référence et les matériaux de référence certifiés, les critères sont définis par le responsable désigné.

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.

Pour l'azote total, les résultats des duplicata et des répliqués ne doivent pas varier de plus de 0,8 mg/l N pour les liquides et de 300 mg/kg N pour les solides si la concentration d'azote total est inférieure à 8 mg/l N pour les liquides et 3 000 mg/kg N pour les solides et de 10 % si la concentration est supérieure à 8 mg/l N pour les liquides et 3 000 mg/kg N pour les solides.

Pour le phosphore total, les résultats des duplicata et des répliqués ne doivent pas varier de plus de 0,1 mg/l P pour les liquides et de 500 mg/kg P pour les solides si la concentration de phosphore total est inférieure à 1,0 mg/l P pour les liquides et de 5 000 mg/kg P pour les solides et de 10 % si la concentration est supérieure à 1,0 mg/l P pour les liquides et de 5 000 mg/kg P pour les solides.

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, *Lignes directrices concernant l'application des contrôles de la qualité en chimie*, DR-12-SCA-01, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs du Québec, Édition courante, [\[http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/lignesdir_sca01.pdf\]](http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/lignesdir_sca01.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, [\[http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/dr12vmc.pdf\]](http://www.ceaeq.gouv.qc.ca/accreditation/dr12vmc.pdf)

ENVIRONNEMENT CANADA, *Références sur la qualité des eaux, Guide des paramètres de la qualité des eaux*, 1980.

TECHNICON INDUSTRIAL SYSTEMS, *Digestion and sample preparation for the analysis of total Kjeldahl nitrogen and/or total phosphorus in water samples using the technicon BD-40 block digester*, no 376-75W/B, 1977.

TECHNICON INDUSTRIAL SYSTEMS, *Individual/simultaneous determination of nitrogen and/or total phosphorus in BD acid digests*, no 329-74W/A, 1976.

TRAACS 800 METHOD, *Industrial Method No. 786-86T*, Bran + Lubbe, 1978.

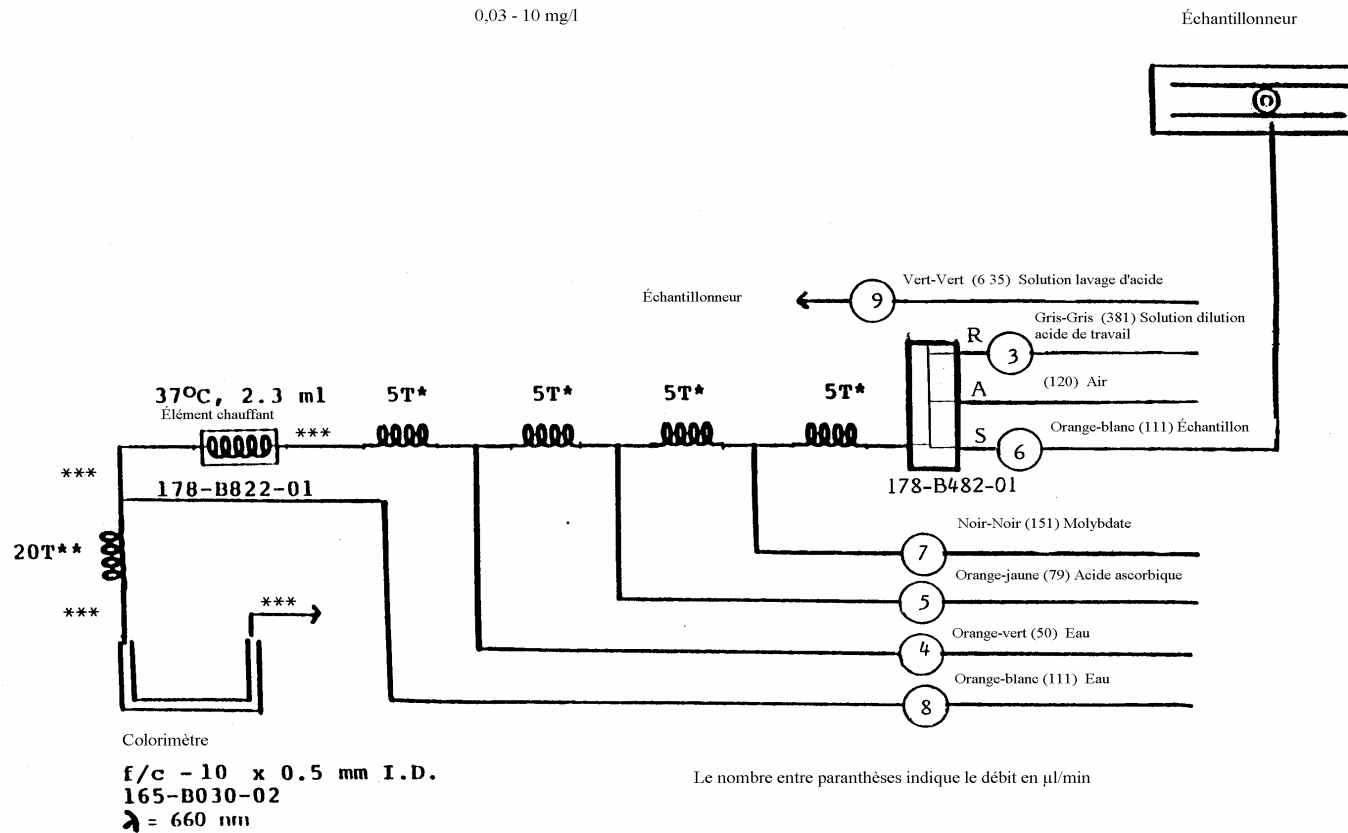


Figure 1 – Schéma de l'analyseur du phosphore total

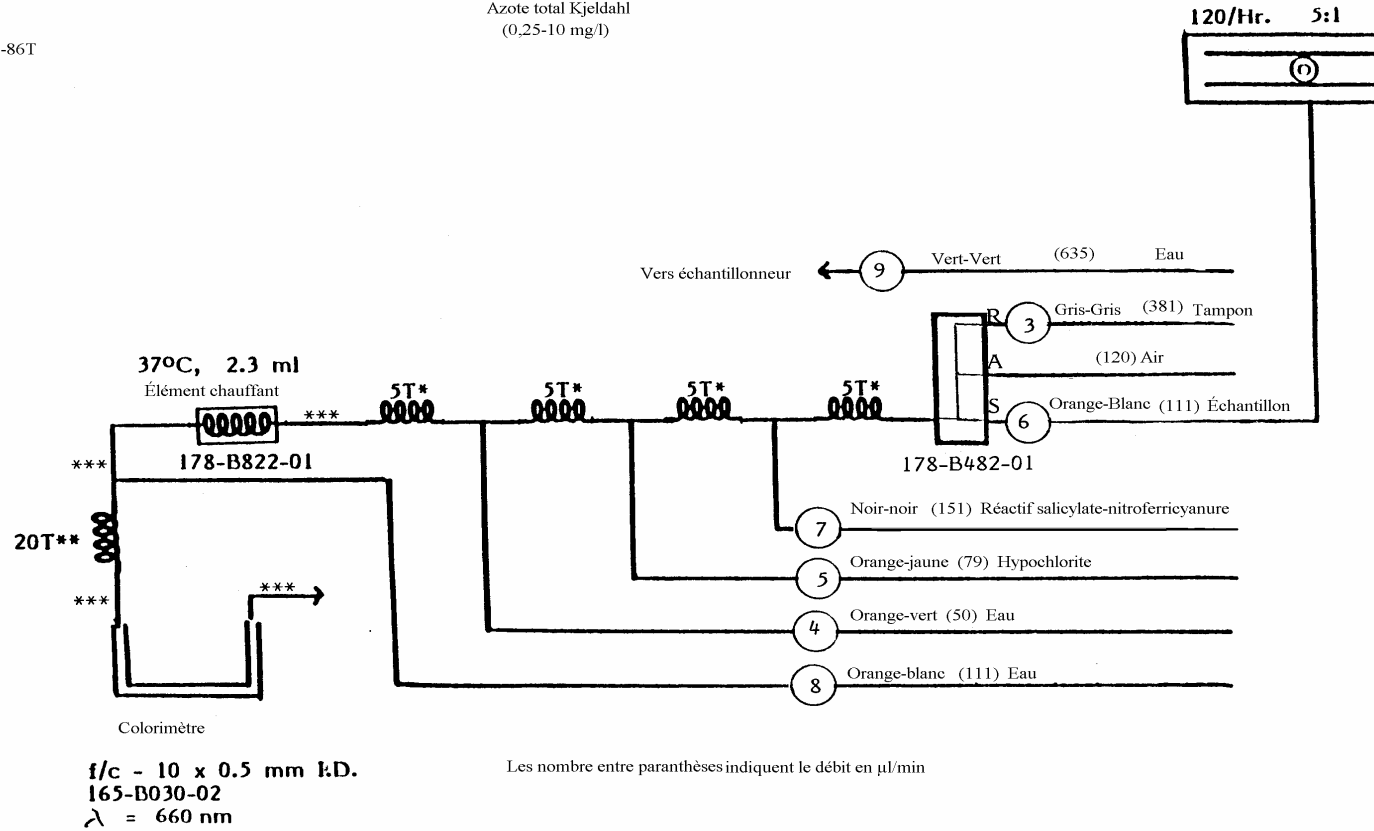


Figure 2 – Schéma de l'analyseur de l'azote total Kjeldahl