

Océan.

# SUR LA DETERMINATION COLORIMETRIQUE DU PHOSPHATE

par

**Henri ROTSCI**

Maître de recherches à l'O.R.S.T.O.M.  
Océanographe à l'Institut Français d'Océanie

## Introduction

Dans la méthode de détermination du phosphore minéral dissous dans l'eau de mer universellement adoptée et qui consiste à réduire par l'action d'un agent réducteur très puissant le complexe phosphomolybdique formé en milieu sulfurique, plusieurs inconnues subsistent contraignant l'opérateur à contrôler soigneusement les conditions dans lesquelles se déroulent les analyses et à observer un mode opératoire rigoureusement fixé.

En fait, c'est le mécanisme même de formation du complexe réduit, coloré en bleu, qui est fort mal connu; il s'ensuit que les avis diffèrent à la fois sur les meilleures conditions de sa formation et sur sa stabilité; donc finalement sur les possibilités d'emploi de la méthode et sur sa précision.

Nous allons passer rapidement en revue les techniques les plus couramment utilisées ou du moins celles qui ont fait l'objet d'études approfondies quant à la "capabilité" de la méthode.

L'effet de la concentration en acide dépend étroitement de la concentration en molybdate d'ammonium; c'est ainsi qu'à des acidités faibles, il faut opérer avec de basses concentrations de molybdate d'ammonium et que de fortes concentrations de celui-ci sont nécessaires lorsque l'acidité est élevée; dans le cas contraire, le développement d'une coloration bleue en l'absence totale de phosphate peut se produire d'une manière inexplicée.

Le développement de la couleur est d'autant plus rapide et celle-ci est d'autant plus stable que la concentration du paramolybdate est élevée; pour l'eau de mer, la concentration idéale semble être de l'ordre de 0,025 à 0,050 %. Dans ces conditions, le pH du milieu doit être voisin de 1,0. Par exemple STRICKLAND (1957)\*

\* Voir la bibliographie en fin d'article

O. R. S. T. O. M.

Collection de Référence

no 11585

qui forme le complexe phosphomolybdique dans une solution à 0,025 % de paramolybdate, recommande une solution sulfurique à 0,14 N; BARNES (1959) qui a passé en revue les différentes techniques utilisées jusqu'à présent, choisit une concentration de paramolybdate de 0,05 % et une solution sulfurique à 0,28 N; HARVEY (1955) dont les études sur la chimie et la fertilité de l'eau de mer font autorité choisit des valeurs similaires, respectivement 0,045 % et 0,25 N; WOOSTER et RAKESTRAW (1951) qui ont adapté la technique à la recherche en mer ont travaillé à 0,025 % et 0,14 N.

Cependant, le facteur le plus important quant à l'intensité de la coloration formée et à sa stabilité est sans conteste la concentration en réducteur. BARNES signale que pour une concentration donnée en phosphate, l'intensité du maximum de couleur croît rapidement en fonction de la quantité des ions stanneux jusqu'à ce qu'il y ait environ 12 fois plus de chlorure réducteur que de phosphate. Mais, de trop grandes concentrations de celui-là entraînent l'apparition de teintes vertes rendant la méthode inutilisable lorsque l'on travaille avec un colorimètre visuel, mais qui sont sans importance, comme WOOSTER et RAKESTRAW l'ont montré, lorsque l'on utilise un spectrophotomètre à 700 millimicrons.

Ces derniers indiquent également que la concentration maximale d'étain que l'on peut utiliser est 2,1 mg  $\text{Sn}^{++}$  par 100 cc; au-delà de cette valeur, les témoins à l'eau distillée développent une turbidité qui empêche la détermination de la coloration due aux seuls réactifs; dans ces conditions et d'après ces auteurs, la couleur atteint son maximum de développement 10 minutes après l'addition des réactifs et reste stable pendant 20 minutes; il est admis, dans la mesure de l'extinction, une tolérance de 2 % par rapport à l'extinction maximale. L'augmentation de la concentration en réducteur augmente la sensibilité de la méthode.

Néanmoins, bien que la définition des conditions opératoires maximales soit relativement aisée, la diversité des colorimètres utilisés, l'interférence possible de la coloration verte qui apparaît en présence d'une trop grande quantité de réducteur, la turbidité éventuelle des témoins, la grande variabilité de la méthode en fonction du mode opératoire font que les avis divergent encore considérablement quant à la meilleure technique.

HARVEY travaillant sur un absorptiomètre à filtre rouge Ilford 608 ou avec un spectrophotomètre à 700 millimicrons utilise une concentration de 0,6 mg d'étain dans 100 cc de solution acidifiée à 0,25 N et où la concentration de molybdate est 0,045 %. A 23°C la couleur est stable entre 5 et 14 minutes après addition du réducteur.

STRICKLAND qui opère avec des concentrations moitiées d'acide sulfomolybdique et doubles de réducteur donne le même intervalle de stabilité à 23°C. BARNES enfin qui travaille dans le même milieu que HARVEY mais avec 0,9 mg d'étain pour 100 cc d'eau de mer signale qu'à 20°C la coloration est stable entre 7 et 12 minutes après addition des réactifs.

Donc, contrairement à WOOSTER et RAKESTRAW qui ont trouvé que la coloration bleue, même aux concentrations de phosphate les plus élevées, était stable au moins pendant 15 minutes et atteignait son développement maximal 10 minutes après l'addition des réactifs, les trois auteurs ci-dessus, utilisant moins de réducteur, pensent que la coloration apparaît et diminue plus rapidement. KING et AUSTIN (1957) rapportent qu'en utilisant comme réducteur le sulfate d'hydrazine, l'apparition du complexe coloré est beaucoup plus lente mais que ce dernier est très stable pendant au moins 7 jours.

Enfin, il règne encore quelque désaccord en ce qui concerne la longueur d'onde d'extinction maximale, certains la situant à 700 millimicrons, d'autres à 705, et la précision relative ou absolue de la méthode.

En effet, WOOSTER et RAKESTRAW s'appuyant sur les études de AYRES (1949) concluent sur des bases uniquement théoriques qu'en travaillant à 700 m $\mu$  avec des cuves de 10 cm, l'erreur analytique relative est de 2,8 % pour une erreur photométrique de 1 % dans l'échelle des concentrations de 1,0 à 3,5  $\mu$ at-g/l où la précision est la meilleure. Pour des concentrations inférieures et pour la même erreur photométrique, l'erreur relative analytique devient 4,7 %. Cependant, l'erreur photométrique pouvant être réduite considérablement au-dessous de 1 %, l'erreur analytique relative devient inférieure à 1 % quelle que soit la concentration en phosphate; pratiquement, pour ces auteurs, l'existence d'autres sources d'erreurs, échantillonnage, relation entre l'extinction et la concentration, témoin, réduisent la précision à une valeur de l'ordre de 5 % bien que la précision des mesures soient de l'ordre de 2 %.

BARNES donne, pour des analyses faites en laboratoire, une précision de  $\pm 5$  %, ce chiffre représentant ce qu'il appelle le coefficient de variation égal à  $\frac{s}{c} \times 100$ , s étant l'écart type d'une série de mesures et c la concentration; cela signifie entre autre que l'écart type est directement proportionnel à la concentration.

STRICKLAND qui pense que la méthode est applicable pour des teneurs comprises entre 0,08 et 5  $\mu$ at-g/l, les plus basses concentrations détectables étant égales à 0,08  $\mu$ at-g/l, donne comme précision au niveau de probabilité de 0,05, respectivement  $\pm \frac{0,11}{\sqrt{n}}$   $\mu$ at-g/l pour des teneurs de l'ordre de 3  $\mu$ at-g/l et  $\pm \frac{0,055}{\sqrt{n}}$   $\mu$ at-g/l pour des teneurs 10 fois plus faibles, n étant le nombre de mesures. L'écart type de 0,027  $\mu$ at-g/l pour les plus faibles teneurs et 0,055  $\mu$ at-g/l pour les teneurs élevées est donc, ici aussi, proportionnel à la concentration.

En 1956, 1958 et 1959, au cours des croisières de l'ORSOM III, navire de recherche de l'Institut Français d'Océanie, l'analyse des échantillons d'eau de mer récoltés jusqu'à 1 000 m de profondeur fut systématiquement entreprise à bord, en vue de déterminer la concentration de phosphate. L'on eut ainsi l'occasion d'étu-

dier en détail les possibilités de la méthode utilisée, qui est celle de WOOSTER et RAKESTRAW et de définir aussi exactement que possible les conditions de développement de la couleur et la durée de stabilité de cette dernière lorsque l'on suit fidèlement le mode opératoire décrit par ces auteurs. Il fut également possible d'étudier les limites statistiques de cette technique analytique et il ne semble pas totalement dépourvu d'intérêt de présenter succinctement les conclusions atteintes pouvant confirmer ou infirmer certaines des opinions admises jusqu'à présent.

#### Description de la technique de WOOSTER et RAKESTRAW

Cette technique est bien connue (ROTSCHI 1954); aussi suffira-t-il de n'en donner qu'une description rapide telle qu'elle est utilisée à bord de l'ORSOM III.

Les mesures sont faites en double sur deux échantillons de 100 cc, en général deux heures après l'arrivée sur le pont afin de permettre la mise en équilibre thermique avec l'air ambiant, les échantillons étant conservés en flacons de polyéthylène. Généralement on analyse en double à chaque station douze échantillons plus les témoins à l'eau distillée. Les analyses sont faites des concentrations les plus fortes aux plus faibles, c'est-à-dire des échantillons les plus profonds à ceux de surface, les témoins étant mesurés en dernier,

Les échantillons ayant atteint l'équilibre thermique avec l'air ambiant sont classés en deux séries et les témoins sont associés aux eaux superficielles. Après avoir noté la température du premier échantillon le plus profond et l'heure, on ajoute avec une burette automatique de 10 cc graduée au 1/20, 1 cc d'acide sulfomolybdique et on agite; puis avec une burette automatique de 5 cc graduée au 1/50 on ajoute 0,2 cc de la solution de chlorure stanneux, on agite et on laisse reposer. Les onze autres échantillons de la série profonde sont traités de la même manière, leur température étant notée tous les quatre flacons; puis on note l'heure de la fin de l'addition.

Une quinzaine de minutes après le début de l'addition des réactifs, on mesure l'extinction des échantillons par rapport à l'eau distillée, au spectrophoto-colorimètre Beckman modèle DU, à 700 m $\mu$ , le colimateur étant réglé à 0,035 mm, avec une cuve de 10 cm. Les échantillons sont mesurés dans l'ordre dans lequel ils ont été traités. L'heure du début et de la fin de la mesure qui ne doit pas durer plus de quinze minutes pour la série profonde et vingt minutes pour la série superficielle est notée.

Avant et après chaque croisière, une série de droites d'étalonnage est tracée. Il s'agit en effet de déterminer la valeur du coefficient par lequel l'extinction d'une solution doit être multipliée pour donner sa concentration en phosphate, et de vérifier la bonne qualité des réactifs, tout au long de la croisière. Des solutions à concentrations connues sont donc préparées en ajoutant à de l'eau de mer de surface des quantités connues et croissantes de phosphate; elles sont ensuite traitées comme précédemment, l'augmentation de l'extinction en fonction de la concentration donnant le coefficient recherché.

L'extinction d'un échantillon inconnu est égale à la différence entre l'extinction mesurée et celle du témoin déterminée à partir de la moyenne des témoins de toute une croisière exécutée avec les mêmes réactifs.

La solution sulfomolybdique est préparée en diluant avec 600 cc d'acide sulfurique 50% c'est-à-dire 18 N, 200 cc d'une solution à 10 % de paramolybdate d'ammonium; on obtient ainsi une solution 14 N contenant 25 g/l de paramolybdate. Cette solution est conservée dans le réservoir noirci d'une burette à zéro automatique; 1 cc de cette solution dilué dans 100 cc donne un milieu acidifié à 0,14 N dans lequel la teneur en molybdate est 0,025 %. Sa stabilité est indéfinie.

La solution de chlorure stanneux est préparée en attaquant par 22 cc d'acide chlorhydrique concentré 2,1 g d'étain en pastilles et en diluant à 200 cc avec de l'eau distillée. Cette solution acide est approximativement 1 N; 0,2 cc contient 2,1 mg d'étain stanneux. La solution est conservée en présence de quelques granulés d'étain sous couche d'huile de paraffine dans le réservoir d'une burette à zéro automatique. Ainsi préservée, la durée de sa conservation est très grande, un mois au minimum tout au moins en ce qui concerne son pouvoir réducteur vis à vis du complexe phosphomolybdique, car une vieille solution donne la même droite d'étalonnage, mais elle développe avec les témoins à l'eau distillée une turbidité probablement due à la présence d'étain stannique.

C'est selon cette technique qu'ont été faites toutes les expériences sur le développement, la stabilité de la couleur et la précision statistique qui vont être décrites.

#### DEVELOPPEMENT ET STABILITE DE LA COULEUR

Les expériences poursuivies à des températures voisines de 25°C ont porté sur trois concentrations différentes, l'extinction étant lue de minute en minute après agitation, et la solution en cuve étant conservée à l'obscurité entre les mesures.

Dans tout ce qui suit, il est admis, comme WOOSTER et RAKESTRAW l'ont fait, une tolérance de 2 % dans la définition de la plus grande extinction.

Aux concentrations les plus basses, de l'ordre de 0,3 - 0,4  $\mu\text{at-g/l}$ , correspondant à de l'eau de mer superficielle et donnant une extinction non corrigée de l'ordre de  $200 \cdot 10^{-3}$ , figure 1 (Pl. II), la stabilité de la couleur est très grande. C'est ainsi qu'à 25°C, courbe a, où l'extinction maximale est  $190 \cdot 10^{-3}$ , à 2 % près de cette valeur la couleur est stable de 20 à 90 minutes après l'addition des réactifs; à 26°C, courbe b, où l'extinction la plus élevée est  $205 \cdot 10^{-3}$ , avec la même tolérance l'intervalle de stabilité est 21 à 92 minutes; à 28°C où le maximum est à  $230 \cdot 10^{-3}$ , courbe c, la couleur la plus intense apparaît 28 minutes après la préparation. Il ne semble donc pas que la température ait une action sur la stabilité de cette dernière, tout au moins aux températures que l'on rencontre dans un laboratoire tropical, mais seulement peut-être sur sa vitesse d'apparition.

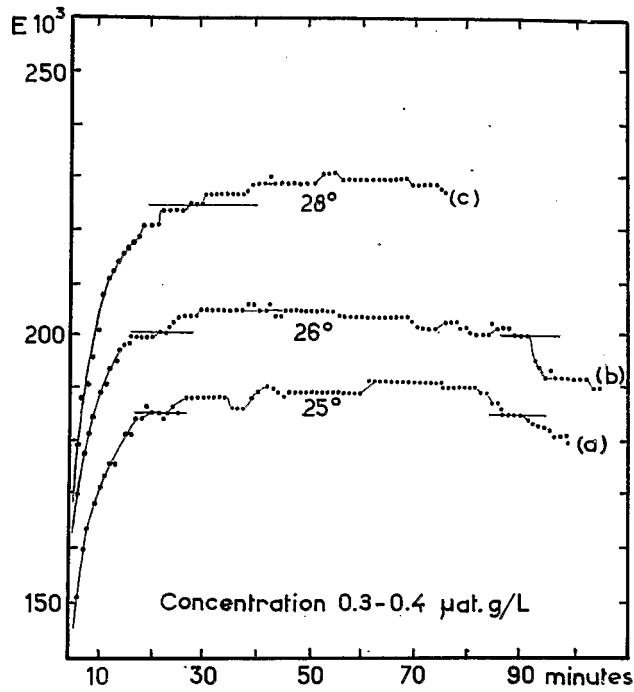


Figure 1

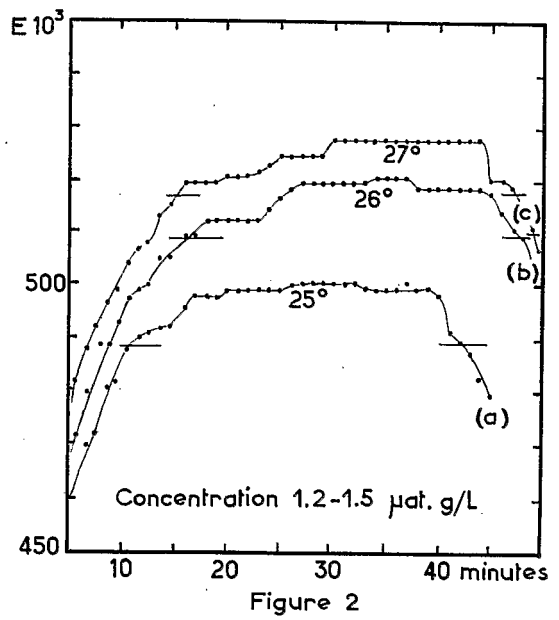


Figure 2

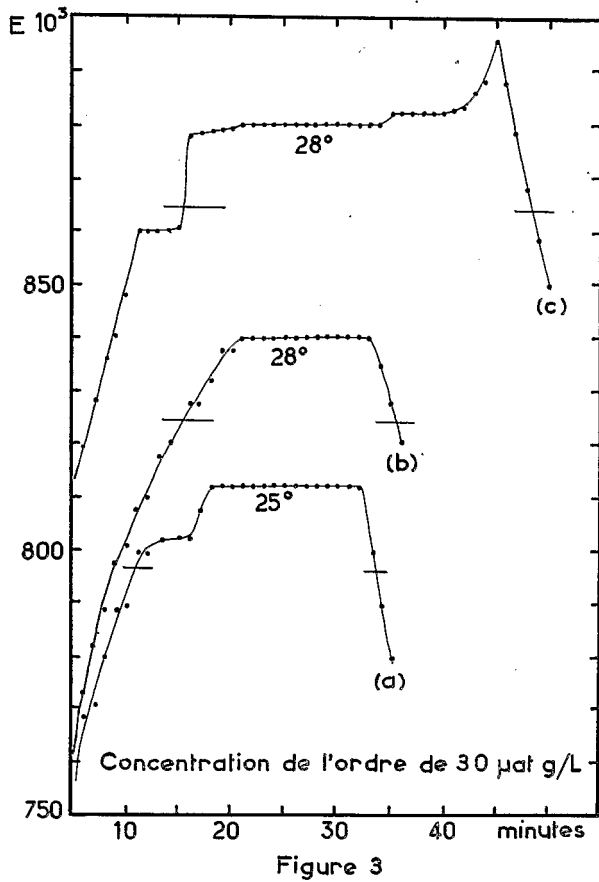


Figure 3

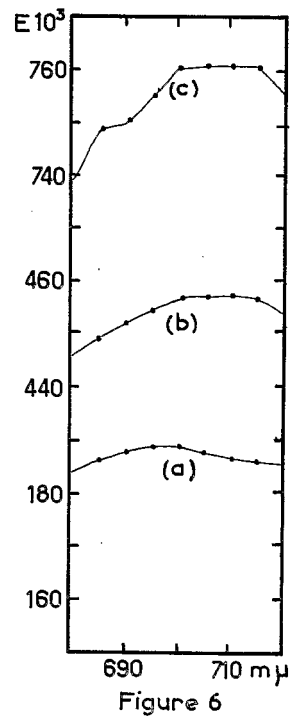


Figure 6

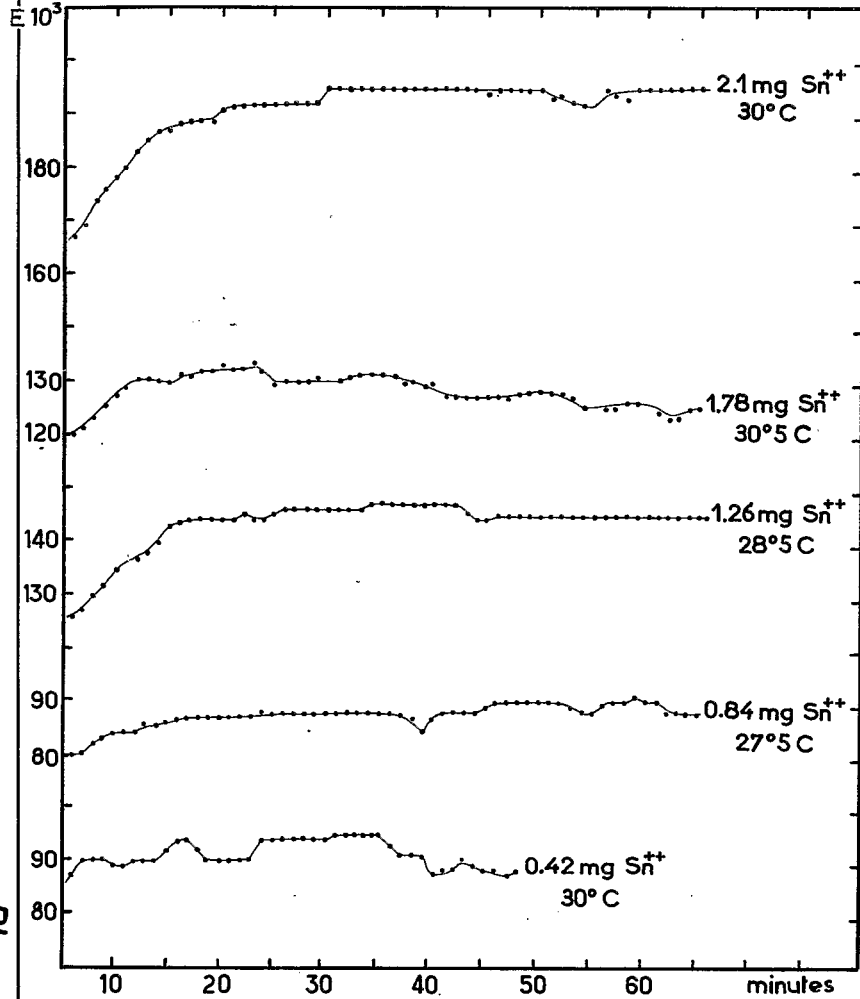


Figure 4

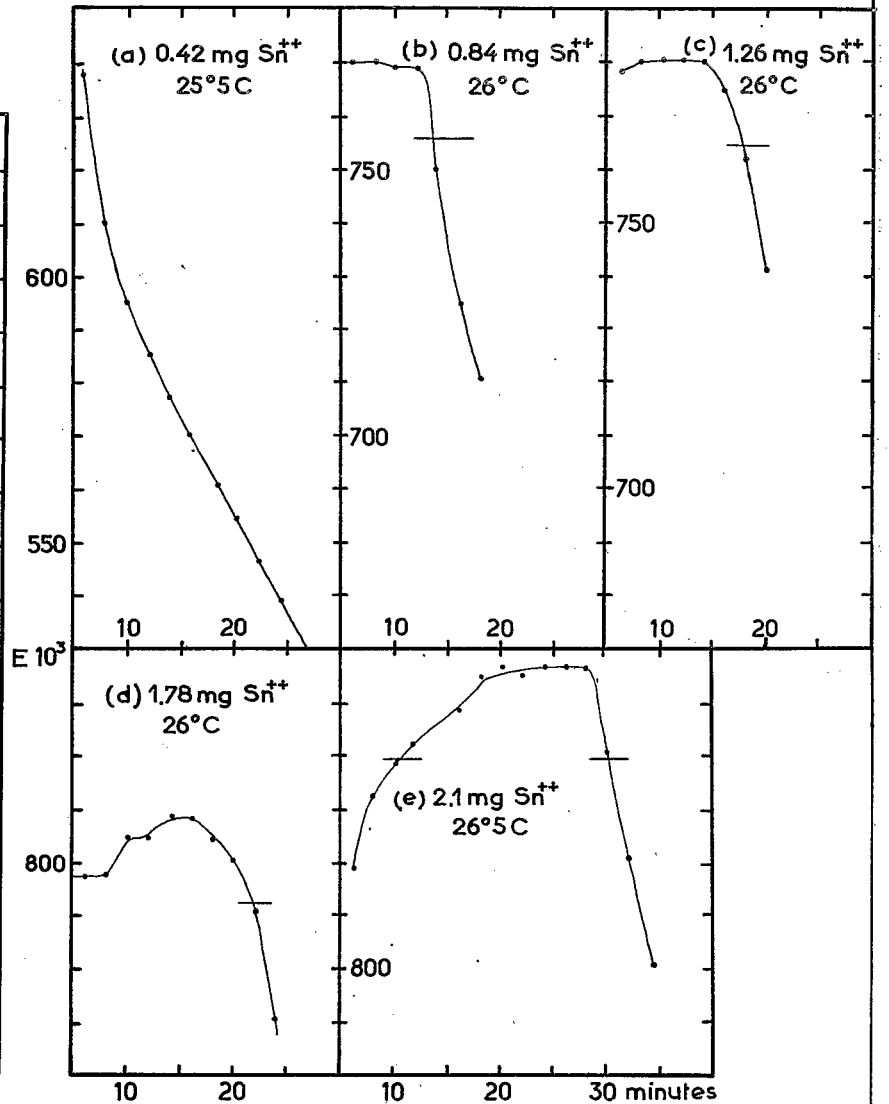


Figure 5

Pour les concentrations de l'ordre de 1,2 à 1,5  $\mu\text{at-g/l}$ , correspondant à de l'eau de mer superficielle à laquelle on ajoute 1,2  $\mu\text{at-g/l}$  de phosphate et donnant une extinction non corrigée de l'ordre de  $500.10^{-3}$ , la durée de stabilité de la couleur est déjà moins grande, figure 2 (Pl.I). A  $25^{\circ}\text{C}$ , courbe a, l'on atteint le maximum de couleur de 12 à 42 minutes après addition des réactifs; à  $26^{\circ}\text{C}$ , courbe b, on a un résultat sensiblement identique puisque la couleur est stable entre 16 et 46 minutes après la préparation des solutions; à  $27^{\circ}\text{C}$ , courbe c, l'on retrouve la même stabilité de la couleur entre 16 et 47 minutes. En ce qui concerne l'effet de la température, l'on rencontre à ce niveau de concentration les mêmes conclusions que dans le paragraphe précédent, à savoir que la température semble être sans effet sur la longueur du palier d'extinction maximale, mais qu'elle peut agir sur la vitesse avec laquelle la couleur se développe.

Aux fortes concentrations, de l'ordre de 3,0  $\mu\text{at-g/l}$ , correspondant à de l'eau de mer superficielle à laquelle on a ajouté 2,5  $\mu\text{at-g/l}$  de phosphate, et qui donnent des extinctions voisines de  $850.10^{-3}$ , la stabilité de la couleur est encore moins grande, figure 3 (Pl.I). A  $25^{\circ}\text{C}$ , courbe a, l'extinction est stable 23 minutes, de 11 à 34 minutes après la préparation des solutions; à  $28^{\circ}\text{C}$ , courbe b, l'intervalle de stabilité est 15-36 minutes; une autre solution, courbe c, a donné à la même température un intervalle de stabilité de 15 à 43 minutes. Donc, pour les deux courbes (a et b) l'on peut conclure que la coloration maximale s'est formée plus rapidement qu'aux concentrations plus basses, mais qu'elle disparaît également plus rapidement. La température semble aussi jouer un rôle non pas inhibiteur, mais seulement retardateur.

### Conclusion

Il ressort des études précédentes que, dans le mode opératoire qui a été décrit et pour des températures voisines de  $25^{\circ}\text{C}$  :

1) la durée de stabilité de la couleur maximale est plus grande que les auteurs cités précédemment ne le considèrent généralement; cette différence est essentiellement due à la quantité de chlorure stanneux utilisé; elle est même supérieure à celle que trouvèrent WOOSTER et RAKESTRAW opérant selon cette technique; elle ne varie pas de  $25^{\circ}\text{C}$  à  $28^{\circ}\text{C}$ ;

2) elle est fonction de la concentration de phosphate; à des concentrations de l'ordre de 0,3 - 0,4  $\mu\text{at-g/l}$  la couleur est stable 70 minutes; pour des concentrations quatre fois plus grandes, la couleur la plus intense dure 30 minutes et vers 3,0  $\mu\text{at-g/l}$  elle n'est plus stable que pendant 20 minutes;

3) la couleur apparaît d'autant plus rapidement que la concentration est plus élevée. Vers 3,0  $\mu\text{at-g/l}$  la transmission minimale est atteinte de 11 à 15 minutes après la préparation; pour des concentrations de 1,2 à 1,5  $\mu\text{at-g/l}$ , il faut 12-17 minutes, alors que pour des concentrations de surface, de l'ordre de 0,3  $\mu\text{at-g/l}$  il faut à peu près 20 minutes; WOOSTER et RAKESTRAW avaient atteint les mêmes conclusions, mais sans les chiffrer;



4) il semble qu'une température assez élevée a sur le développement de la couleur une action inverse de celle qu'elle a aux températures plus basses. En effet, à 28°C le maximum de coloration a toujours été atteint plus lentement qu'à 25°C. Ce point cependant demande des éclaircissements supplémentaires.

#### INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN CHLORURE STANNEUX

Les figures 4 et 5 (Pl.II) résument les résultats des expériences faites avec une eau de mer de surface à faible concentration puis avec la même eau enrichie. Les échantillons mesurés ont été prélevés sur une solution stock non préservée, dans laquelle des activités bactériennes modifient la teneur en phosphate, ce qui explique partiellement les différences d'extinction obtenues, la variabilité de la méthode étant à l'origine de la plus grande partie des écarts observés, principalement à la concentration la plus basse.

Le fait le plus significatif que révèle la figure 4 (Pl.II), est l'influence, pour une eau de surface à faible teneur, de la concentration en chlorure stanneux sur le développement de la couleur et non sur sa stabilité.

En effet, pour des concentrations en chlorure stanneux égales à 0,42 et 0,84 mg Sn<sup>++</sup> dans 100 cc de solution, concentrations recommandées par HARVEY, la couleur très faible n'augmente qu'insensiblement avec le temps à partir de 5 minutes après l'addition des réactifs, bien que la coloration soit assez stable; l'extinction n'augmente pas plus de  $10 \cdot 10^{-3}$  entre le commencement des mesures et le maximum.

Lorsque la quantité de chlorure stanneux passe de 0,84 à 2,1 mg Sn<sup>++</sup>, non seulement le maximum d'extinction augmente, ce qui accroît la sensibilité de la méthode, mais le temps nécessaire pour atteindre ce maximum croît également; il est de l'ordre de 10 à 15 minutes pour des concentrations d'étain égales à 1,26 et 1,78 mg Sn<sup>++</sup> alors qu'il devient égal à 20 minutes pour la teneur de 2,1 mg. Par contre, il ne semble pas que la durée de la stabilité de la couleur soit affectée, du moins à ce niveau de teneur en phosphate.

Il est loin d'en être ainsi pour des concentrations élevées, figure 5 (Pl.II). En effet, lorsque la teneur est de l'ordre de 2,5-3,0  $\mu$ at-g/l, non seulement l'intensité de la couleur développée dépend de la quantité de chlorure stanneux, mais également le temps pendant lequel elle peut être considérée comme stable. La courbe a de la figure 5 (Pl.II) montre que 0,42 mg Sn<sup>++</sup> sont insuffisants pour développer et maintenir stable pendant une durée appréciable la couleur correspondant à cette quantité de phosphate.

Avec 0,84 mg Sn<sup>++</sup>, figure 5 (Pl.II), courbe b, on a une couleur stable jusqu'à 13 minutes après l'addition des réactifs; si l'on ajoute 1,26 mg Sn<sup>++</sup> la couleur qui se développe est un peu plus intense, figure 5 (Pl.II), courbe c,

et elle est stable jusqu'à 18 minutes; avec 1,78 mg  $\text{Sn}^{++}$  elle l'est jusqu'à 22 minutes et avec 2,1 mg  $\text{Sn}^{++}$  c'est entre 10 et 30 minutes après l'addition des réactifs que l'on trouve les meilleures conditions, courbes d et e.

En ce qui concerne l'effet de la concentration du chlorure stanneux sur le témoin en eau distillée, il apparaît qu'avec une solution fraîche de réducteur la turbidité liée à la présence d'étain oxydé ne se développe pas, même à une concentration dépassant largement la limite définie par WOOSTER et RAKESTRAW, comme le montre le tableau suivant donnant la variation de l'extinction, en fonction de la quantité d'étain ajoutée à 100 cc d'eau distillée acidifiée à l'acide sulfomolybdique.

Concentration mg $\text{Sn}^{++}$	0,42 0,63 0,84 1,05 1,26 1,47 1,68 1,89 2,10 2,31 2,52 2,73 2,94 3,15
Extinction $\times 10^3$ Témoin n° 1	035 045 054 053 067 071 064 068 086 095 112 136 143 165
Extinction $\times 10^3$ Témoin n° 2	038 044 058 052 071 073 062 072 084 103 116 136 142 168

### Conclusion

Il apparaît que dans un laboratoire tropical, où les températures de travail sont de l'ordre de 25°C, les plus hautes concentrations de chlorure stanneux sont préférables. D'une part, la couleur développée est plus intense et plus stable, d'autre part, une multiplication par cinq de la quantité de réducteur utilisé, de 0,42 mg  $\text{Sn}^{++}$  à 2,1 mg  $\text{Sn}^{++}$  par 100 cc, augmente l'extinction des solutions à mesurer quelle que soit la teneur en phosphate de  $100 \cdot 10^{-3}$  alors que celle du témoin ne croît que de  $40 \cdot 10^{-3}$ , ce qui élève d'autant la sensibilité. Enfin, des quantités inférieures à 1,0 mg  $\text{Sn}^{++}$  ne sont guère recommandables, la couleur formée disparaissant trop rapidement.

### INFLUENCE DE LA CONCENTRATION EN ACIDE SULFOMOLYBDIQUE

Il a été signalé que certains auteurs, en particulier BARNES et HARVEY, recommandent une concentration d'acide sulfurique et de molybdate d'ammonium double de celle qui a été utilisée au cours des expériences décrites ci-dessus. L'action de la teneur en molybdate et l'effet de l'acidité du milieu peuvent être résumés dans le tableau suivant :

Concentration $\mu\text{at-g/l}$	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5	Témoin
Extinction $\times 10^3$ 1 cc acide sulfo- molybdique	136	272	394	489	642	094
Extinction $\times 10^3$ 2 cc acide sulfo- molybdique	115	222	337	437	542	057

Il apparaît que l'acidité correspondant à 0,28 N et associée à une concentration de molybdaté égale à 0,05 % inhibe partiellement le développement de la couleur puisque les extinctions obtenues avec 2 cc d'acide sulfomolybdique sont 15 à 20 % moins élevées que celles qui sont développées avec 1 cc d'acide seulement.

En conclusion, l'on peut préciser que les conditions favorisant le mieux l'apparition du complexe bleu phosphomolybdique réduit sont une acidité 0,28 N, une concentration de molybdaté d'ammonium égale à 0,05 % et une teneur en réducteur de 2,1 mg  $\text{Sn}^{++}$  par 100 cc de solution à mesurer.

#### LONGUEUR D'ONDE MAXIMALE

La longueur d'onde donnant l'extinction maximale est encore l'objet d'incertitudes, car il semble qu'elle dépend des conditions dans lesquelles se forment le complexe phosphomolybdique puis le complexe réduit.

Quelques mesures ont été faites à 25°C sur une eau de mer de surface, puis sur la même eau enrichie avec 1,25  $\mu\text{at-g/l}$  et 2,5  $\mu\text{at-g/l}$  de phosphate, dans les conditions opératoires décrites ci-dessus. Les résultats apparaissent figure 6 (Pl.I).

Aux basses concentrations, figure 6 (Pl.I), courbe a, le maximum d'extinction apparaît entre 695 et 700  $\text{m}\mu$ ; par contre, il se rencontre entre 700 et 715  $\text{m}\mu$  pour des concentrations plus élevées, courbes b et c.

Il est donc parfaitement légitime de travailler à 700  $\text{m}\mu$ .

#### PRECISION DE LA METHODE

En vue d'étudier la précision statistique de la technique utilisée à l'Institut Français d'Océanie, 100 droites d'étalonnage ont été construites à partir de solutions étalons préparées en ajoutant à de l'eau de mer de surface, respectivement 0,5 - 1,0 - 1,5 - 2,0 - 2,5  $\mu\text{at-g/l}$  de phosphate; deux témoins

étaient mesurés en même temps, un témoin à l'eau de mer et un témoin à l'eau distillée; les solutions pour chaque droite d'étalonnage ont été préparées en double. L'extinction à chaque niveau est égale à la moyenne des deux mesures. Les températures de travail ont varié de 25°C à 31°C.

Dans une telle technique, on peut étudier deux types de précision statistique. D'une part, chaque solution étant traitée en double, la différence entre les 200 mesures d'un niveau de concentration prises paire par paire donne la fidélité de l'appareil associée à la précision photométrique. D'autre part, l'étude de la dispersion des 100 mesures moyennes d'un niveau de concentration donne la précision statistique globale de la méthode. On a donc étudié systématiquement la distribution, pour chaque niveau de concentration de la différence d'extinction des deux solutions d'un même échantillon et celle des extinctions moyennes mesurées pour chacun d'eux.

Le tableau suivant résume les résultats obtenus. L'on constate que, pour un échantillon de deux solutions traitées de la même manière, la différence entre les extinctions est distribuée normalement autour de zéro et que l'écart type  $\sigma_1$  de cette distribution est pratiquement le même pour tous les niveaux de concentration. En effet, pour les concentrations 0,5 - 1,0 - 1,5 - 2,0  $\mu\text{at-g/l}$  il varie de 9,4 à 10,2. Au niveau 2,5  $\mu\text{at-g/l}$ , il est légèrement plus fort, égal à 12. Il ressort de cela que quelle que soit l'extinction, la précision optique du spectrophotocolorimètre, dans la technique utilisée, n'est pas supérieure à  $20 \cdot 10^{-3}$  au niveau de probabilité 0,05 lorsqu'une seule solution est mesurée, alors qu'elle devient égale à  $14 \cdot 10^{-3}$ , avec deux solutions.

	eau surface	0,5 $\mu\text{at-g/l}$	1,0 $\mu\text{at-g/l}$	1,5 $\mu\text{at-g/l}$	2,0 $\mu\text{at-g/l}$	2,5 $\mu\text{at-g/l}$
Echelle d'ex- tinction $\times 10^3$	150-260 <sup>(1)</sup>	100-200 <sup>(2)</sup>	230-340 <sup>(2)</sup>	360-460 <sup>(2)</sup>	490-590 <sup>(2)</sup>	620-720 <sup>(2)</sup>
$\sigma_1 \times 10^3$ <sup>(3)</sup>	8,3	10,1	9,4	10,2	9,5	12
Moyenne $\times 10^3$ <sup>(4)</sup>		132	257	390	518	637
$\sigma_2 \times 10^3$ <sup>(5)</sup>		13	14	14	15	18

(1) Extinction non corrigée du témoin en eau distillée.

(2) Extinction corrigée du témoin en eau de mer superficielle.

(3) Ecart type de la distribution de fréquence de la différence entre les extinctions des deux solutions d'un même échantillon.

(4) Moyenne de la distribution des extinctions moyennes de chaque échantillon.

(5) Ecart type de cette distribution.

D'autre part, les extinctions moyennées à chaque niveau ont une distribution normale autour d'une moyenne générale donnée dans le tableau 1, l'écart type de chaque distribution étant égal à  $\sigma_2$ . Pour des concentrations de 0,5 à 2,0  $\mu\text{at-g}/\ell$ ,  $\sigma_2$  est pratiquement constant et égal à 14; pour la concentration la plus élevée, il est légèrement supérieur.

Il s'ensuit donc que quelle que soit l'extinction, au niveau de probabilité 0,05, deux solutions ne peuvent pas être considérées comme différentes à moins que leurs extinctions diffèrent par plus de  $30 \cdot 10^{-3}$ .

Avec les réactifs utilisés, cela correspond à une erreur identique pour toutes les concentrations. L'écart type de la distribution de ces dernières autour de la moyenne est égal à 0,06  $\mu\text{at-g}/\ell$ , la précision quelle que soit leur valeur étant égale à  $\pm \frac{0,12}{\sqrt{2}}$  ou  $\pm 0,08 \mu\text{at-g}/\ell$  puisque la mesure est faite en double.

### Conclusion

Nous avons retrouvé dans l'essentiel les conclusions de STRICKLAND quant à la précision de la méthode.

D'une part et bien que les extinctions soient lues à  $1 \cdot 10^{-3}$  près entre 0 et  $200 \cdot 10^{-3}$ , à  $2 \cdot 10^{-3}$  près entre  $200 \cdot 10^{-3}$  et  $400 \cdot 10^{-3}$  et  $5 \cdot 10^{-3}$  au-dessus de  $400 \cdot 10^{-3}$ , une différence d'extinction entre les deux solutions d'un même échantillon de moins de  $20 \cdot 10^{-3}$  n'a aucune signification statistique.

D'autre part, au niveau de probabilité 0,05, la précision de la méthode est  $\pm 0,08 \mu\text{at-g}/\ell$  lorsque la détermination est faite en double, et quelle que soit la teneur en phosphate.

Enfin, la limite de détection de la méthode est voisine de 0,10  $\mu\text{at-g}/\ell$ .

### CONCLUSION : MODE OPERATOIRE RECOMMANDE

Dans les limites de précisions définies ci-dessus, la méthode de WOOSTER et RAKESTRAW décrite précédemment est parfaitement satisfaisante quant au développement et à la stabilité de la couleur, cette dernière étant en général beaucoup plus stable qu'il ne l'est admis et donnant une extinction maximale à 700 m $\mu$ . Cependant certaines précautions particulières doivent être prises.

Lorsque l'on opère sur une colonne d'eau de plusieurs centaines de mètres d'épaisseur et que les concentrations mesurées varient entre 0 et 2,0  $\mu\text{at-g}/\ell$ , comme la couleur des solutions les moins concentrées est beaucoup plus stable et se forme plus lentement que celle des eaux plus riches, l'analyse doit commencer par celles-ci et se terminer sur celles-la.

S'il existe quelque incertitude quant à la concentration la plus élevée et compte tenu de la stabilité de la couleur observée aux températures voisines de 25°C et même pour les teneurs très élevées, la mesure de l'extinction ne doit pas être entreprise moins de 20 minutes après l'addition des réactifs. Pour des extinctions de l'ordre de  $600 \cdot 10^{-3}$  elle doit être terminée au bout de 10 minutes; pour des extinctions inférieures l'intervalle de mesure est égale ou supérieure à 30 minutes.

Sauf pour les teneurs les plus élevées, supérieures à 1,0  $\mu\text{at-g/l}$  et lorsque la différence entre la température à laquelle on a tracé la droite d'éta-lonnage et celle des mesures est trop grande et dépasse 5°C, il n'y a pas lieu de tenir compte de la correction de température puisque l'effet de cette dernière correspond à une augmentation de l'extinction de 1,2 % par 1°C (Mc GILL, CORWIN, KETCHUM 1959).

La précision de la méthode au niveau de probabilité de 0,05 est indé-pendante de la concentration et égale à  $\pm 0,08 \mu\text{at-g/l}$  lorsque la détermination est faite en double.

Cette technique ne convient donc pas à l'étude des faibles changements de concentration dont la couche euphotique est le siège et il apparaît que pour une étude biochimique de cette zone, une méthode plus précise doit être mise au point.

Les conclusions rencontrées ici rejoignent celles de BARNES et de STRICKLAND.

#### BIBLIOGRAPHIE

- AYRES G.H. 1949 - Evaluation of Accuracy in photometric analysis.  
Anal. Chem. 21.
- BARNES H. 1959 - Apparatus and methods of Oceanography.  
George Allen and Unwin Ltd.
- HARVEY H.W. 1955 - The chemistry and fertility of sea waters.  
Cambridge University Press.

- KING J.E., AUSTIN T.S. 1957 - Preliminary report on Expedition Eastropic.  
U.S. Fish and Wildlife Serv. Spec. Sci. Rep. Fish, 201.
- Mc GILL D.A., CORWIN N., KETCHUM B.H. 1959 - The temperature correction of  
oceanic inorganic phosphorus analyses.  
Deep-Sea Res. 6, 1.
- ROTSCHI H. 1954 - Méthodes chimiques d'analyses en mer.  
Trav. C.R.E.O. 1, 8.
- STRICKLAND J.D.H. 1957 - Standard methods of sea water analyses, vol.1.  
Fish. Res. Board of Canada, Joint Com. Ocean.  
Pac. Ocean. Group. July 31, 1957.
- WOOSTER W.S., RAKESTRAW N.W. 1951 - The estimation of dissolved phosphate in  
sea water.  
Jour. Mar. Res. X, 1.