

E-II-6V1 : DÉTERMINATION DE L'AZOTE NITREUX PAR ANALYSE EN FLUX ET DETECTION SPECTROMETRIQUE

1. Objet

La présente méthode de référence spécifie une méthode de détermination de l'azote nitreux dans l'eau par analyse avec injection de flux (FIA) et détection spectrométrique.

2. Domaine d'application

La méthode s'applique à tous types d'eau (eau souterraine, eau potable, eau de surface et eaux usées), dont la concentration en nitrites est comprise entre 0.01 mg/l et 1 mg/l, pour des échantillons non dilués.

3. Interférences

Les matières particulières présentes dans l'échantillon peuvent entraîner une obstruction des tubes de circulation et perturber le mesurage photométrique. Les grosses particules (> 0.1 mm) peuvent être éliminées par filtration sur la membrane, les petites particules peuvent être convenablement éliminées par dialyse.

Pour éliminer une matrice organique interférente (composés avec une masse moléculaire élevée), l'échantillon peut être dialysé si besoin est par un procédé en ligne. Il est également possible de filtrer l'échantillon sur du charbon actif, à condition que des changements de la concentration en masse de nitrite ou de nitrate soient exclus.

L'auto-absorption de l'échantillon peut être compensée en mesurant, en plus du signal de l'échantillon, le signal de l'échantillon sans ajout de réactifs. Dans ce cas, la différence entre les deux réponses est utilisée pour l'évaluation.

Avant d'effectuer le mesurage, diluer les échantillons présentant une concentration totale en sel de plus de 30 g/l.

Les concentrations d'agents de surface supérieures à 10 mg/l peuvent entraîner des interférences pendant la détermination. Cette interférence peut être évitée par une dialyse de l'échantillon, si besoin est par procédé en ligne.

4. Principe

Avec l'analyse avec injection de flux (FIA), l'échantillon est introduit à l'aide d'une valve d'injection dans une solution tampon à écoulement continu (courant vecteur).

Avec l'analyseur avec flux continu (CFA), il est continuellement mélangé à cette solution tampon.

Ensuite, une solution de réactif d'acide chlorhydrique (ou phosphorique) à écoulement également continu est introduite. Le nitrite produit une réaction de diazotation du sulfanilamide, en milieu acide, en un sel de diazonium, qui est ensuite transformé en un colorant rouge par



couplage avec le dichlorure de *N*-(naphtyl-1) éthylènediamine. L'absorbance du colorant rouge formé est mesurée entre 520 et 560 nm.

5. Conditionnement et conservation de l'échantillon

Prélever l'échantillon dans une bouteille en polyéthylène ou en verre. Conserver les échantillons à l'obscurité à 4 °C et effectuer l'analyse de préférence dans les 24 h suivant le prélèvement. Si l'échantillon doit être conservé avant l'analyse, ajouter 6 ml de chloroforme par litre d'échantillon et stocker à l'obscurité entre 2 et 5 °C. L'analyse doit s'effectuer dans les 7 jours.

6. Appareillages et matériels utilisés

6.1. Dispositif d'analyse avec injection de flux (FIA), comprenant généralement les composants suivants :

- Réservoirs à réactifs
- Pompe à faible pulsation
- Si nécessaire, tubes de pompage appropriés
- Injecteur d'échantillon de volume d'injection de 10 à 300 µl
- Tubes de circulation et bobines de mélange de 0.5 à 0.8 mm de diamètre intérieur, avec des raccords de tubes et pièces en T en matière plastique chimiquement inerte
- Si nécessaire, cellule de dialyse avec, par exemple, une membrane à cellulose afin de prédiluer l'échantillon ou d'éliminer les composés interférents
- Détecteur photométrique à flux, domaine de longueurs d'onde de 520 à 560 nm
- Unité enregistreuse (par exemple traceur, intégrateur ou imprimante). Généralement, les signaux de hauteur de pic sont évalués
- Si nécessaire, un échantillonneur automatique

6.2. Dispositif d'analyse avec flux continu (CFA), comprenant généralement les composants suivants

- Échantillonneur automatique ou toute autre installation permettant un échantillonnage reproductible
- Réservoirs à réactifs
- Pompe à faible pulsation équipée de tubes appropriés en matière chimiquement inerte
- Manifold avec alimentation en bulles d'air à reproductibilité élevée. Si de l'air est utilisé pour la segmentation du flux, le flux doit être dégazé avant son entrée dans la colonne de cadmium.
- Si nécessaire, cellule de dialyse avec, par exemple, une membrane à cellulose afin de prédiluer l'échantillon ou d'éliminer les composés interférents
- Détecteur photométrique à flux, domaine de longueurs d'onde de 520 à 560 nm
- Unité enregistreuse (par exemple traceur, intégrateur ou imprimante). Généralement, les signaux de hauteur de pic sont évalués



6.3. Appareil de filtration sur membrane, avec membranes filtrantes, de porosité 0.45 μm

6.4. Matériel de laboratoire courant

7. Réactifs utilisés

Sauf indication contraire, utiliser uniquement des réactifs de qualité analytique reconnue.

7.1. Eau de qualité 1 (conformément à l'ISO 3696).

7.2. Acide phosphorique H_3PO_4 , $\rho = 1.71 \text{ g/ml}$

7.3. Sulfanilamide (amino-4 benzènesulfanilamide, $\text{C}_6\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2\text{S}$)

7.4. Dichlorure de *N*-(naphtyl-1) éthylènediamine [Dichlorure de *N*-(naphtyl-1) diamino-1,2 éthane, $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{Cl}_2$]

7.5. Nitrite de sodium NaNO_2 , séché par exemple à 150 °C jusqu'à masse constante

7.6. Imidazole ($\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$) pour synthèse ou **chlorure d'ammonium** (NH_4Cl) séché, par exemple, à 150 °C jusqu'à masse constante.

7.7. Acide chlorhydrique I HCl , concentré, $w = 37 \%$

7.8. Acide chlorhydrique II HCl ; $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$

7.9. Sulfate de cuivre I, solution $\rho(\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}) = 2.5 \text{ g/l}$; cette solution reste stable

7.10. Sulfate de cuivre II, solution $\rho(\text{CuSO}_4, 5\text{H}_2\text{O}) = 20 \text{ g/l}$; cette solution reste stable

7.11. Dodécyléther de polyéthylèneglycol [$\text{HO}-(\text{CH}_2\text{CH}_2-\text{O})_n-\text{C}_{12}\text{H}_{21}$], agent de surface, $\theta = 33 \text{ °C}$ à 41 °C , solution $w = 30 \%$; la solution reste stable environ 4 semaines

7.12. Solution mère d'imidazole, $c = 0.25 \text{ mol/l}$: dissoudre, dans un bécher de 1 litre, 17.0 g d'imidazole (7.6) dans environ 900 ml d'eau. Tout en agitant avec un agitateur magnétique, ajouter de l'acide chlorhydrique I (7.7) et ajuster le pH à 7.5 à l'aide d'une électrode pH. Transvaser dans une fiole jaugée de 1000 ml, et compléter au volume avec de l'eau. La solution reste stable 4 semaines si elle est conservée dans un flacon en verre brun à température ambiante.

7.13. Solution tampon : mélanger 100 ml de la solution mère d'imidazole (7.12) avec 100 μl de solution de sulfate de cuivre I (7.9). Préparer la solution juste avant l'emploi.

On peut également utiliser une solution tampon d'ammonium, par exemple : dissoudre 85 g de chlorure d'ammonium (NH_4Cl) dans l'eau, compléter à 1000 ml et d'ajuster le pH à 7.5 environ.

7.14. Solutions vecteur ou de dilution : Le tableau ci-dessous indique des exemples connus pour la préparation de ces solutions.



Tableau 1 : Exemples pour la préparation des solutions vecteur ou de dilution.

Méthode	Contenu de la solution vecteur	Contenu de la solution tampon
FIA	Eau	Eau, solution tampon (7.13) ou pas de solution
CFA	Pas nécessaire	Eau, solution tampon (7.13) ou pas de solution
Dans le cas de la technique CFA, si on n'utilise pas de solution tampon, l'agent de surface (7.11) doit être ajouté au réactif (7.16).		

Toutes les solutions contenant l'agent de surface (7.11) doivent être préparées juste avant l'emploi.

Les solutions pour FIA doivent être dégazées avant leur emploi, par exemple par filtration sur membrane (sous vide)

7.15. Solution tampon au sulfate de cuivre : Mélanger, dans un bécher de 50 ml, 20 ml de solution de sulfate de cuivre II (7.10) et 20 ml de solution mère d'imidazole (7.12). Préparer la solution juste avant l'emploi.

7.16. Réactif NED : Dissoudre dans une fiole jaugée de 500 ml, 5 g de sulfanilamide (7.3) et 0.5 g de dichlorure de *N*-(naphtyl-1) éthylènediamine (7.4) dans de l'eau, ajouter 50 ml d'acide phosphorique (7.2), et compléter au volume avec de l'eau. La solution reste stable au minimum une semaine si elle est conservée dans un flacon en verre brun. Pour la préparation de ce réactif, l'acide chlorhydrique (7.7 ou 7.8) peut également être utilisé à la place de l'acide phosphorique si des caractéristiques de performance équivalentes sont obtenues. Les solutions de sulfanilamide (7.3) et de dichlorure de *N*-(naphtyl-1) éthylènediamine (7.4) peuvent être préparées individuellement et dosées dans l'appareillage par des lignes différentes. La solution NED pour FIA doit être dégazée avant son emploi, par exemple par filtration sur membrane (sous vide).

Attention : le sulfanilamide et le réactif NED sont des produits toxiques. Le NED est reconnu comme irritant pour les yeux et la peau. Des précautions d'usage doivent donc être prises lors de leur manipulation.

7.17. Solution mère de nitrite, $\rho_N = 100 \text{ mg/l}$: dissoudre, dans une fiole jaugée de 1000 ml ; 492.6 mg de nitrite de sodium (7.5) dans de l'eau et compléter au volume avec de l'eau. Cette solution reste stable au minimum 2 semaines si elle est conservée dans un flacon fermé en verre à 4 °C.

7.18. Solution mère de nitrite, $\rho_N = 20 \text{ mg/l}$: Introduire, à l'aide d'une pipette, 20 ml de la solution mère (7.17) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au volume avec de l'eau. Préparer cette solution juste avant l'emploi.

7.19. Solution mère de nitrite, $\rho_N = 1 \text{ mg/l}$: Introduire, à l'aide d'une pipette, 1 ml de la solution mère (7.17) dans une fiole jaugée de 100 ml. Compléter au volume avec de l'eau. Préparer cette solution juste avant l'emploi.

7.20. Solutions d'étalonnage : les solutions d'étalonnage sont préparées en diluant les solutions correspondantes comme décrit en 7.18 et 7.19. Ces solutions peuvent être combinées à volonté en vue de la préparation de solutions d'étalonnage pour la détermination du nitrite. Il est conseillé de préparer au moins cinq solutions d'étalonnage par domaine de travail. Les domaines de travail suivants sont prévus :

- domaine de travail I : de 0.01 à 0.1 mg/l
- domaine de travail I : de 0.1 à 1 mg/l



Toutes les solutions d'étalonnage doivent être préparées juste avant mesurage.

8. Préparation de l'échantillon

Si l'échantillon contient des matières particulaires dont la granulométrie est supérieure à 0.1 mm, une filtration de l'échantillon est nécessaire (risque d'obstruction des tubes de circulation).

9. Mode opératoire

9.1. Préparation du mesurage

Assembler le dispositif en flux selon la méthode de détermination souhaitée.

Avant de procéder au mesurage, faire passer sans interruption pendant 10 minutes les réactifs à travers le dispositif en flux.

Le dispositif est prêt à fonctionner dès que la ligne de base n'indique plus de dérive. Il convient d'atteindre une relation signal/bruit satisfaisante.

9.2. Contrôle de la valeur à blanc des réactifs

Atteindre la stabilisation de la ligne de base.

Au lieu de la solution tampon et du réactif, faire passer de l'eau pendant 2 minutes et enregistrer les modifications du signal de mesurage.

Si l'absorbance varie de plus de 0.015 pour 10 mm de trajet optique, l'eau utilisée ou le réactif peuvent être contaminés. Prendre des mesures appropriées pour éliminer ces interférences.

Ensuite, faire passer de nouveau les réactifs.

9.3. Etalonnage

Etablir le domaine de travail et préparer les solutions d'étalonnage pour le domaine choisi. Procéder à un étalonnage par domaine de travail.

Etalonner par injection séquentielle des solutions d'étalonnage et de la solution à blanc.

Avant de commencer l'étalonnage, régler les instruments à zéro, si nécessaire selon les instructions du constructeur.

Déterminer les valeurs mesurées correspondant aux solutions d'étalonnage utilisées.

Les conditions d'essai pour l'étalonnage et le mesurage d'échantillons sont identiques. L'amplitude du signal de mesurage est proportionnelle à la concentration en masse de nitrite (N). Etablir la courbe d'étalonnage pour la série de mesurages obtenue.



L'équation générale suivante est appliquée :

$$y = b * \rho_n + a$$

où

y est la valeur mesurée, en unités correspondant à l'appareil (par exemple hauteur de pic en millimètres ou en millivolts)

b est la pente de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil litres par milligramme

ρ_N est la concentration en masse de nitrite, en milligrammes par litre

a est l'ordonnée à l'origine de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil.

9.4. Mesurage de l'échantillon

Analyser les échantillons éventuellement prétraités de la même manière que les solutions d'étalonnage avec le dispositif en flux.

Si la concentration en masse de l'échantillon dépasse le domaine de validité du domaine de travail choisi, diluer l'échantillon ou l'analyser dans un autre domaine de travail.

Après chaque série d'échantillons, mais au plus tard après 10 à 20 mesurages, contrôler la validité de la fonction d'étalonnage du domaine de travail, en utilisant une solution d'étalonnage dans le premier et dans le dernier tiers du domaine de travail.

10. Calcul

Déterminer la concentration en masse du composé à analyser dans la solution de mesurage à partir de la valeur mesurée obtenue selon 9.4, par la fonction d'étalonnage.

Pour l'évaluation, utiliser la fonction d'étalonnage appropriée. Ne pas extrapoler celle-ci au-delà du domaine de travail choisi.

Calculer ρ_N selon l'équation :

$$\rho_n = \frac{y - a}{b}$$

où

ρ_N est la concentration en masse de nitrite dans l'échantillon, en milligrammes par litre

y est la valeur mesurée, en unités correspondant à l'appareil (par exemple hauteur de pic en millimètres ou en millivolts)

b est la pente de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil litres par milligramme

a est l'ordonnée à l'origine de la fonction d'étalonnage, en unités correspondant à l'appareil.



Consigner les résultats avec deux chiffres significatifs au plus.

11. Rapport d'essai

Le rapport doit contenir au minimum :

- Une référence à la présente méthode de la Région wallonne ;
- L'identification complète de l'échantillon ;
- La spécification de la méthode utilisée (FIA ou CFA) ;
- Les précisions relatives au traitement préalable auquel l'échantillon a éventuellement été soumis ;
- Une description du type d'appareillage utilisé ou des conditions de flux ;
- Les résultats du dosage conformément au point 10 ;
- La fidélité et la justesse des résultats, si disponibles ;
- Les détails opératoires non prévus dans la présente méthode, ainsi que tout facteur ayant pu affecter les résultats.

12. Références

NBN EN ISO 13395 : 1996 – Qualité de l'eau – Détermination de l'azote nitreux et de l'azote nitrique et de la somme des deux par analyse en flux (CFA et FIA) et détection spectrométrique

ISO 3696 :1987 – Eau pour laboratoire à usage analytique – Spécification et méthodes d'essai

