

## Ammonium dans les eaux salines : dosage fluorimétrique par flux continu segmenté (SFA)

### Références de la méthode

<b>La méthode qui suit est dérivée de la publication suivante</b>	A. Aminot, R. Kérouel 2007. Dosage automatique des nutriments dans les eaux marines : méthodes en flux continu. Editions Ifremer, méthodes d'analyse en milieu marin, 188 p.
<b>Norme dont est tirée la méthode</b>	Néant
<b>Niveau de validation selon Norman</b>	Niveau 1
<b>Code SANDRE de la méthode (suivant niveau de validation)</b>	764

### Généralités

<b>Nom de la famille de substances</b>	Nutriment
<b>Nom des substances individuelles</b>	Ammonium (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> )
<b>Code SANDRE des substances individuelles</b>	1335
<b>Matrice analysée</b>	Eaux salines
<b>Acronyme</b>	SFA
<b>Principe de la méthode</b>	La méthode repose sur la réaction de l'ammonium avec l'orthophtaldialdéhyde (OPA) en présence d'un réducteur soufré en milieu légèrement basique. L'analyse fluorimétrique est réalisée à une longueur d'onde d'excitation de 365 nm et à une longueur d'onde d'émission de 425 nm à l'aide d'un auto analyseur en flux continu équipé d'un fluorimètre.
<b>Domaine d'application</b>	Domaine faible : 0,05 à 4,00 µmol/L Domaine intermédiaire : 2,00 à 10,00 µmol/L Domaine fort : 4,00 à 25,00 µmol/L
<b>Paramètres à déterminer en parallèle à l'analyse</b>	Il est nécessaire de mesurer la salinité de l'échantillon pour déterminer l'interférence provoquée par « l'effet de sel ». La présence de sel peut en effet modifier les conditions de réaction et/ou modifier les caractéristiques d'adsorption du composé analysé ou de son produit de réaction sur les parois du circuit analytique.
<b>Précautions particulières à respecter lors de la mise en œuvre de la méthode</b>	Les échantillons sont manipulés avec des gants. L'air ambiant du laboratoire doit être exempt de toute pollution atmosphérique.

**AVERTISSEMENT :** Il convient que l'utilisateur de cette méthode connaisse bien les pratiques courantes de laboratoire. Cette méthode n'a pas pour but de traiter tous les problèmes de sécurité qui sont, le cas échéant, liés à son utilisation. Il incombe à l'utilisateur d'établir des pratiques appropriées en matière d'hygiène et de sécurité et de s'assurer de la conformité à la réglementation nationale en vigueur. Certains des solvants utilisés dans le mode opératoire sont toxiques et dangereux. Les manipuler avec précaution.

Il est absolument essentiel que les essais conduits conformément à cette méthode soient exécutés par du personnel ayant reçu une formation adéquate.

## Protocole analytique

### Prétraitement

<b>Fraction analysée</b>	Fraction dissoute
<b>Conditionnement et conservation des échantillons</b> - Protocole  - Nature du contenant de stockage  - Lavage du contenant :  - Résultats de l'étude de stabilité (durée de stabilité, température,...)	<p>Lors de l'échantillonnage sur le terrain, pré-filtration de préférence à 10 µm sur une membrane en nylon rincée à l'eau déminéralisée. Le remplissage doit être inférieur au ¾ du volume total du flacon. Congélation à - 25°C pendant quelques mois.</p> <p>Flacons en polyéthylène haute densité (HDPE) de 30 à 100 mL.</p> <p>Lavage à l'acide dilué (HCl 1%). Rinçage à l'eau déminéralisée suivi de 3 rinçages avec l'échantillon lors du prélèvement.</p> <p>L'échantillon doit être congelé au plus tôt après le prélèvement (max 10 h). Stable plusieurs mois en cas de congélation à - 25°C, flacon maintenu debout.</p>
<b>Filtration</b> - Type de filtre et méthode de nettoyage  - Type de support de filtration :	<p>Membrane filtrante nylon de porosité 10 µm (filtration terrain).</p> <p>Néant</p>
<b>Pré-traitement des échantillons liquide ou solide</b>	Centrifugation après décongélation de l'échantillon à température ambiante ou au réfrigérateur (flacon debout).

### Analyse

<b>Volume ou masse de la prise d'essai (mL ou mg selon la phase analysée)</b>	< 5 mL pour chaque prise d'essai
<b>Dérivation</b>	Néant
<b>Extraction</b>	Néant
<b>Purification</b>	Néant
<b>Conservation de l'extrait</b>	Sans objet
<b>Minéralisation</b>	Néant
<b>Volume ou masse finale avant analyse</b>	Sans objet

### Méthode analytique utilisée

Dosage fluorimétrique par flux continu segmenté.

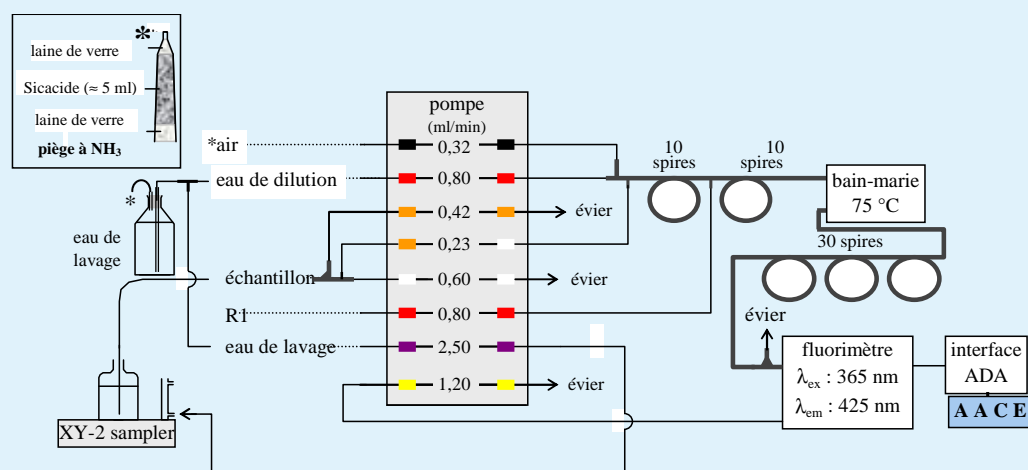
Détecteur : fluorimètre

- longueur d'onde d'excitation : 365 nm
- longueur d'onde d'émission : 425 nm
- Volume de cuve : 16  $\mu\text{L}$

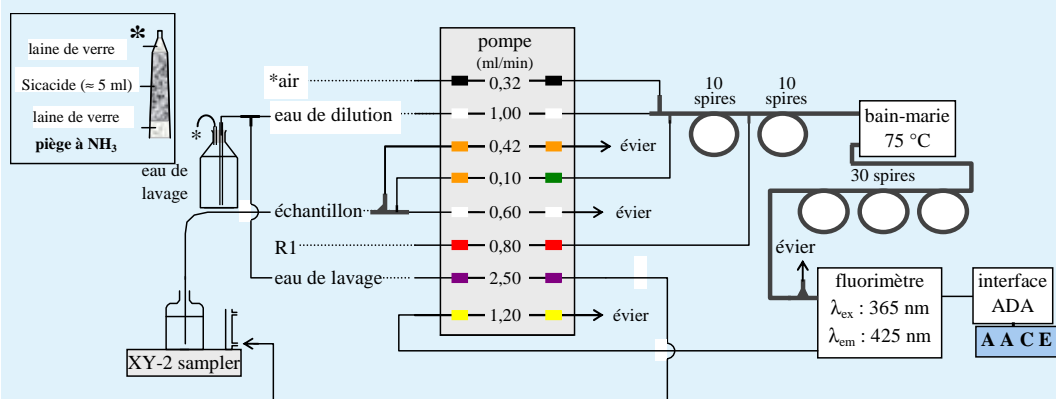
Fréquence analytique conseillée : 30 mesures. $\text{h}^{-1}$

Conditions réactionnelles du dosage :

Caractéristique	Conditions réactionnelles
Borate	34 mmol/L
OPA	2,6 mmol/L
Sulfite	55 $\mu\text{mol/L}$
pH	9 – 9,2
Température de réaction	75°C
Temps de réaction	3 min 40s



Manifold pour les mesures de  $\text{NH}_4^+$  des domaines faible et intermédiaire



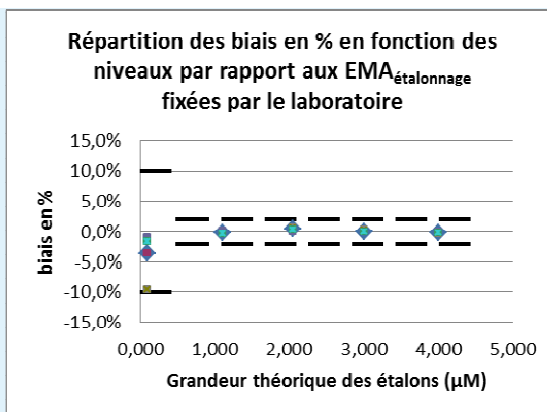
Manifold pour les mesures de  $\text{NH}_4^+$  du domaine fort

<b>Equipement <sup>1</sup> (modèles utilisés)</b>	Fluorimètre Jasco® FP-2020 équipé d'une interface ADA (Seal®) avec logiciel d'exploitation AACE Sampler XY2 (Seal®) Pompe AA3 (Seal®)
<b>Type d'étalonnage</b>	Interne à partir d' « eau de mer appauvrie » (eau de mer épuisée en nutriments après stockage de quelques mois au laboratoire dans un baril en polyéthylène à la lumière du jour)
<b>Modèle utilisé</b>	Linéaire
<b>Etalons / Traceurs utilisés</b>	Etalons de travail préparés par dilution dans de l'eau de mer appauvrie et validés par dilution d'étalons Certipur Merck (NIST)
<b>Domaine de concentration</b>	Domaine faible (« océanique ») : 0,05 ; 0,10 ; 1,10 ; 2,05 ; 3,00 ; 4,00 µmol/L Domaine intermédiaire (« côtier ») : 2,00 ; 4,00 ; 6,00 ; 8,00 ; 10,00 µmol/L Domaine fort (« estuarien ») : 4,00 ; 9,00 ; 15,00 ; 20,00 ; 25,00 µmol/L
<b>Méthode de calcul des résultats</b>	Régression linéaire

### Paramètres de validation de la méthode

<b>Norme utilisée</b>	NF T 90-210 : mai 2009
<b>Modèle utilisé</b>	Linéaire
<b>Domaine de validation</b>	Domaine faible (« océanique ») : 0,05 à 4,00 µmol/L Domaine intermédiaire (« côtier ») : 0,12 à 10,00 µmol/L Domaine fort (« estuarien ») : 0,30 à 25,00 µmol/L
<b>Matériaux de référence certifiés utilisés</b>	Dilution de Certipur Merck (NIST)
<b>Blancs analytiques (concentration ou résultat maximum acceptable)</b>	< LQ
<b>Limite de quantification (LQ)</b>	La LQ a été vérifiée selon la norme NF T90-210. Son exactitude est vérifiée pour chaque domaine par rapport à un écart maximal acceptable (EMA) de 60% de la LQ selon les critères de la norme NF T90-210.  Domaine faible (« océanique ») : LQ = 0,05 µmol/L avec un biais de -1.2%

<sup>1</sup> Les matériels cités ici constituent des exemples d'application satisfaisante. Ces mentions ne constituent pas une recommandation exclusive, ni un engagement quelconque de la part du rédacteur ou d'AQUAREF



Les LQ des domaines intermédiaire (« côtier ») et fort (« estuarien ») sont respectivement de 0,12 µmol/L (biais de - 5.0 %) et de 0,30 µmol/L (biais de 2.0 %). Dans la pratique, les échantillons de faible concentration sont analysés avec la gamme d'étalonnage du domaine faible.

**Spécificité de la méthode**

Interférent possible : salinité, pollution atmosphérique du blanc de la ligne de base

**Incertitudes (%) sur les résultats**

Méthode d'évaluation : NF T 90-220, approche découlant du GUM  
Facteur d'élargissement : k = 2

**- par niveau de concentration**

Niveau (µmol/L)	Incertitude-type composée relative (%)
1,10	0,5 %
4,00	0,7 %
10,00	0,5 %
25,00	0,4 %

**Contact**

**Auteur**

Anne Daniel

**Institut**

IFREMER

**Adresse mail**

anne.daniel@ifremer.fr