



# ENSEIGNEMENT

## LES TRAVAUX PRATIQUES

# Qualité de l'eau : dosage des nitrites et nitrates

Jean Renaudin

**Summary** Determination of nitrite and nitrate content in water

The determination of nitrite and nitrate content in water is usually performed by flow analysis according to the international standard ISO 13395. In order to avoid the use of expensive apparatus, this method was adapted to the conventional material encountered in our school laboratories.

**Mots-clés** Environnement, qualité de l'eau, analyse, spectrophotométrie, normes internationales.

**Key-words** Environment, water quality, analysis, spectrophotometry, international standards.

**D**e nos jours, l'évaluation de la qualité des eaux nécessite l'utilisation de référentiels reconnus et validés par tous les partenaires concernés. C'est pourquoi les méthodes d'analyse sont aujourd'hui codifiées et retranscrites à tous les niveaux : international (normes ISO), européen (normes EN) et français (normes NF). Ainsi, l'AFNOR diffuse un recueil de normes régulièrement mis à jour concernant l'ensemble des méthodes d'analyse des eaux [1].

Ce domaine de l'analyse des eaux étant devenu primordial, afin de mieux préparer nos étudiants, nous y consacrons sept séances de travaux pratiques en 1<sup>ère</sup> année de chimie à l'IUT du Mans. Chaque séance, d'une durée de 4 heures, est l'occasion de mettre en pratique une ou deux normes NF en adaptant le protocole aux différentes contraintes techniques et financières rencontrées dans nos laboratoires d'enseignement.

Ainsi, les normes ISO 6777 [2] et surtout ISO 13395 [3], qui concernent le dosage des nitrites et des nitrates, ont été adaptées afin d'éviter l'achat d'un appareil d'analyse en flux, certes très efficace pour de grandes séries d'échantillons, mais un peu trop « presse-bouton » pour un étudiant et surtout très onéreux à l'achat comme à l'utilisation. Un simple spectrophotomètre peut suffire pour les quelques échantillons que les étudiants auront à doser au cours d'une séance. Par contre, ces méthodes étant très sensibles, l'obtention de bons résultats requiert un travail très méticuleux de la part des étudiants.

### Liste des produits et matériels

Les tarifs indicatifs sont valables pour des réactifs de « qualité analytique reconnue » selon l'expression employée dans les normes AFNOR.

- acide phosphorique  $H_3PO_4$  (**corrosif**), 200 F le litre
- amino-4 benzène sulfonamide (ou sulfanilamide), 600 F les 100 g

- cadmium en granules (**toxique**), 700 F les 25 g
- dichlorure de N-naphtyl-1 éthylène diamine (**irritant**), 300 F les 5 g
- nitrite de sodium  $NaNO_2$  (**toxique**), 250 F le kg
- nitrate de potassium  $KNO_3$ , 200 F le kg
- sulfate de cuivre (**nocif**), 250 F le kg
- bandelettes d'analyse semi-quantitative pour les tests préliminaires :
  - nitrites : gamme 2 à 80  $mg.L^{-1}$ , 150 F les 100
  - nitrates : gamme 10 à 500  $mg.L^{-1}$ , 200 F les 100
- spectrophotomètre dans le domaine visible équipé de cuves de 10 mm d'épaisseur
- colonne de verre pour chromatographie préparative (longueur : 30 cm)
- béchers de 100 mL, 200 mL et 400 mL
- éprouvettes de 10 mL, 50 mL et 100 mL
- fioles jaugées de 100 mL, 200 mL et 1 L
- pipettes graduées de 2 mL, 5 mL et 10 mL
- micropipette de 1 mL
- balance de précision au mg (ou mieux à 0,1 mg)

### Sujet de la séance (document fourni aux étudiants)

#### Risques liés aux nitrites et nitrates

##### Où les trouve-t-on ?

Habituellement, les eaux naturelles contiennent très peu de nitrites  $NO_2^-$  car ils sont progressivement oxydés en nitrates  $NO_3^-$  ; par contre, les concentrations en nitrates deviennent préoccupantes dans certaines régions du fait de la mauvaise gestion des engrais et de l'épandage des lisiers.

Les nitrites sont aussi utilisés dans les charcuteries comme additifs et conservateurs.

En fait, ce sont le plus souvent les **légumes** qui apportent la plus grande part des nitrates dans notre alimentation. Ceci résulte du phénomène d'accumulation : l'arrosage avec de l'eau chargée en nitrates lié à une mauvaise assimilation de la plante peut faire monter la teneur à **plusieurs grammes de  $NO_3^-$  par kg** [4].

# ENSEIGNEMENT

## LES TRAVAUX PRATIQUES

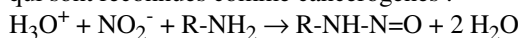


### Effets sur le métabolisme

A haute dose, les nitrates peuvent causer hypertension artérielle, hypothyroïdie... Mais le principal danger provient de leur **réduction en nitrites** dans notre tube digestif par action enzymatique. Les nitrites sont en effet doublement dangereux :

- ils peuvent transformer l'hémoglobine en méthémoglobine, ce qui empêche les globules rouges de transporter l'oxygène : c'est une sorte d'asphyxie à laquelle les nourrissons sont plus sensibles que les adultes.

- ils peuvent se combiner à des amines dans l'estomac (milieu acide) pour former des nitrosamines qui sont reconnues comme cancérigènes :



### Normes et recommandations

L'OMS recommande de ne pas ingérer plus de **3,65 mg de nitrates par kg et par jour**, soit une dose journalière admissible de 220 mg pour un adulte de 60 kg et environ dix fois moins pour un nouveau-né. Compte tenu des autres apports, les teneurs en nitrates dans l'eau de consommation courante ont donc été limitées par une directive européenne [5] :

- > 15 mg.L<sup>-1</sup> : interdit dans la préparation des aliments pour nourrissons,
- > 50 mg.L<sup>-1</sup> : eau déclarée **non potable**.

En ce qui concerne les nitrites, la limite admissible est fixée à 0,1 mg.L<sup>-1</sup>.

### Dosage des nitrites

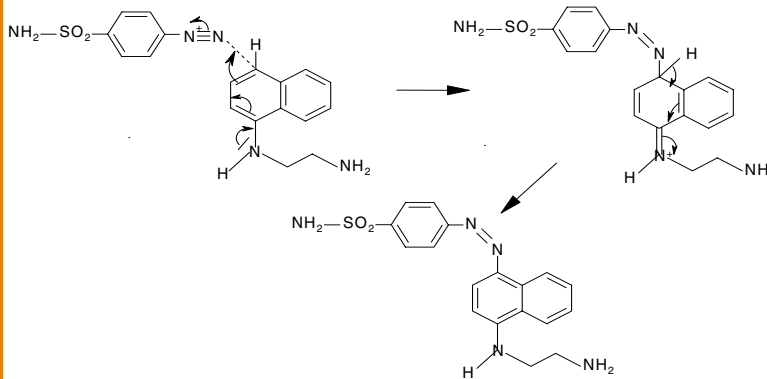
La méthode de dosage préconisée par la norme AFNOR est la **spectrométrie d'absorption moléculaire** : elle est applicable à des échantillons d'eau dont la concentration massique en nitrites NO<sub>2</sub><sup>-</sup> est inférieure à 1 mg.L<sup>-1</sup>, la limite de détection se situant vers 0,001 mg.L<sup>-1</sup>.

#### 1) Principe

Réaction de diazotation : en présence d'acide phosphorique (pH < 2), les ions NO<sub>2</sub><sup>-</sup> sont sous la forme d'acide nitreux HNO<sub>2</sub> qui réagit avec l'amino-4 benzène sulfonamide pour donner un sel de diazonium (*réaction 1*).

En présence de (naphtyl-1)éthylène diamine, le sel de diazonium forme un colorant azoïque de couleur

#### Réaction 2.



rose susceptible d'être dosé par spectrométrie [6] (*réaction 2*).

#### 2) Préparation des solutions de référence

Calculer la masse de nitrite de sodium NaNO<sub>2</sub> nécessaire pour préparer 1 L d'une solution à 100 mg.L<sup>-1</sup> en **nitrites**. Peser cette masse avec précision et la dissoudre dans une fiole jaugée de 1 L. La série de **solutions de référence** sera confectionnée dans six fioles jaugées de 100 mL, de la façon suivante :

Fiole n°	0	1	2	3	4	5
Introduire	0	0,1	0,2	0,4	0,6	1*

\*mL de la solution à 100 mg.L<sup>-1</sup> à l'aide d'une micropipette. En déduire la concentration massique en nitrites Ci=[NO<sub>2</sub><sup>-</sup>] pour chaque fiole. Dans chaque fiole, ajouter ensuite 1 mL de réactif de diazotation\*\*.

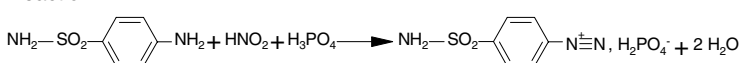
\*\*Préparation du réactif de diazotation : dans 200 mL H<sub>2</sub>O + 50 mL H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> concentré, dissoudre 5 g d'amino-4 benzène sulfonamide et 0,5 g de naphtyl-éthylène diamine puis compléter à 500 mL avec de l'eau déionisée (à conserver au réfrigérateur pendant au plus 1 mois).

Compléter au trait de jauge avec de l'eau déionisée et homogénéiser. Laisser reposer au moins 15 minutes pour que la coloration se développe complètement.

#### 3) Spectre d'absorption Absorbance = f(λ)

Le complexe rose formé au cours de la réaction possède un maximum d'absorption au voisinage de 537 nm. Nous allons le vérifier en traçant la courbe Absorbance = f(λ). Remplir une 1<sup>ère</sup> cuve avec la solution-témoin n° 0 et une 2<sup>e</sup> avec la solution-étalon n° 5, puis mesurer l'absorbance tous les 10 nm pour des longueurs d'onde λ comprises entre 450 et 600 nm en ajustant à chaque fois le zéro du spectrophotomètre avec la solution-témoin n° 0. Tracer le spectre d'absorption et vérifier la position du maximum (*figure 1*).

#### Réaction 1.





# ENSEIGNEMENT

## LES TRAVAUX PRATIQUES

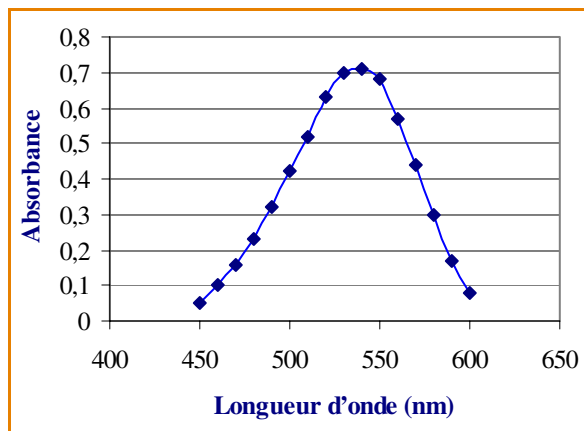


Figure 1

#### 4) Courbe d'étalonnage

##### Absorbance = f(Concentration)

Après avoir réglé le spectrophotomètre sur le maximum d'absorption du complexe, ajuster le zéro avec la solution-témoin n° 0. Remplir les autres cuves avec chacune des 5 solutions de référence et mesurer l'absorbance pour chacune d'elles.

On vérifiera la loi de Beer-Lambert  $A = \epsilon_i \cdot l \cdot C$  en utilisant le tableur pour tracer la droite d'étalonnage  $A = f(C)$  et obtenir l'équation de la droite (figure 2). Déterminer le coefficient d'extinction  $\epsilon_i$  spécifique aux ions nitrites connaissant le parcours optique  $l$  de la cuve.

#### 5) Échantillons à doser

Déterminer d'abord la teneur approximative à l'aide d'une bandelette. En déduire la dilution à opérer pour une fiole jaugée de 100 mL, puis le volume à prélever.

Transvaser le volume prélevé dans une fiole jaugée de 100 mL ; ajouter 1 mL de réactif de diazotation et ajuster au trait de jauge avec de l'eau désionisée puis homogénéiser.

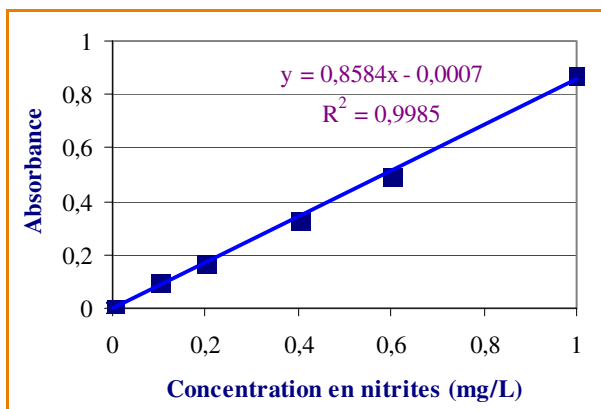
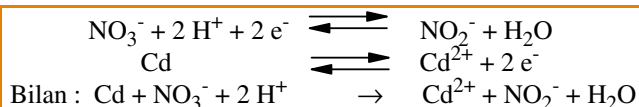


Figure 2

Laisser reposer 15 minutes puis passer au spectrophotomètre pour en déduire  $C(\text{NO}_2^-)$  par comparaison avec la droite d'étalonnage (ne pas oublier le facteur de dilution).

### Dosage des nitrates

La méthode dérive directement de la précédente en ajoutant une étape préliminaire qui consiste à réduire les ions  $\text{NO}_3^-$  en nitrites  $\text{NO}_2^-$  par des granules de cadmium cuivré :



La réduction se fait dans une colonne à chromatographie au fond de laquelle sont placés un tampon de laine de verre puis environ 25 g de cadmium. Afin d'activer le cadmium, faire passer environ 20 mL d'acide chlorhydrique à  $1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  : la surface des granules doit être brillante. Laver à l'eau pour éliminer l'acide puis faire passer une solution de sulfate de cuivre à  $20 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$  : la surface des granules se teint alors en noir. Rincer soigneusement à l'eau.

#### Remarques :

- Cette colonne de cadmium doit toujours être conservée à l'abri de l'air en maintenant le niveau de la solution restante au-dessus des grains.
- **Ne pas mélanger** la verrerie destinée au dosage des **nitrites** avec celle destinée au dosage des **nitrates** !

#### 1) Réduction des nitrates en nitrites

Préparer 500 mL d'une **solution-mère** à  $200 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  de **nitrates** à partir de nitrate de potassium  $\text{KNO}_3$ . Par une première dilution, préparer ensuite 100 mL de **solution-fille** à  $20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ .

Verser environ 60 mL de cette **solution-fille** dans la colonne réductrice et laisser la solution s'écouler lentement : le débit ne devra jamais dépasser **1 goutte par seconde** car la réaction de réduction est **très lente**. Éliminer les 30 premiers  $\text{cm}^3$  et récupérer les 30  $\text{cm}^3$  suivants : on obtient une **solution-réduite** contenant maintenant des ions nitrites que l'on peut doser par spectrométrie comme précédemment.

#### 2) Préparation des solutions de référence

La série sera confectionnée dans six fioles jaugées de 100 mL, de la façon suivante :

Fiole n°    0 - 1 - 2 - 3 - 4 - 5  
Introduire 0 - 1 - 2 - 3 - 5 - 7\*

\*mL de la **solution-réduite** en utilisant une pipette graduée ou une burette.

# ENSEIGNEMENT LES TRAVAUX PRATIQUES

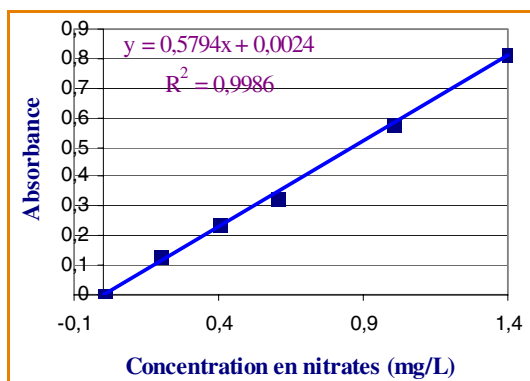


Figure 3

En déduire la concentration massique en nitrates  $\text{Ca}=[\text{NO}_3^-]$  pour chaque fiole.

Dans chaque fiole, ajouter ensuite 1 mL de réactif de diazotation. Compléter au trait de jauge avec de l'eau désionisée et homogénéiser. Laisser reposer au moins 15 minutes pour que la coloration se développe complètement.

### 3) Courbe d'étalonnage

#### Absorbance = f(Concentration)

Comme pour les nitrites, mesurer l'absorbance de chaque solution de référence et tracer la droite d'étalonnage à l'aide d'un tableur (figure 3).

Déterminer le coefficient d'extinction  $\epsilon_a$  spécifique aux ions nitrates.

### 4) Échantillons à doser

On procède de la même façon que pour les nitrites. Déterminer d'abord la teneur approximative à l'aide d'une bandelette. En déduire la dilution à opérer pour une fiole jaugée de 100 mL, puis le volume V à prélever.

Faire passer environ 60 mL d'échantillon à doser sur la colonne pour réduire les nitrates ; comme précédemment, éliminer les 30 premiers  $\text{cm}^3$  et récupérer les 30  $\text{cm}^3$  suivants.

Selon le facteur de dilution, verser le volume V de solution réduite dans une fiole jaugée de 100 mL ; ajouter ensuite 1 mL de réactif de diazotation et ajuster au trait de jauge avec de l'eau désionisée, puis homogénéiser. Laisser reposer 15 minutes et effectuer la mesure au spectrophotomètre dans les mêmes conditions que pour les solutions de référence. En déduire la teneur en nitrates par comparaison avec la droite d'étalonnage (ne pas oublier le facteur de dilution).

### 5) Comparaison des coefficients d'extinction

On vérifiera enfin que la colonne réductrice a gardé son efficacité. En effet, si la réduction des nitrates

$\text{NO}_3^-$  en nitrites  $\text{NO}_2^-$  est totale, le rapport  $\epsilon_r/\epsilon_a$  (coefficients d'extinction mesurés sur les droites d'étalonnage) doit être égal au rapport des masses molaires soit 62/46 : comparer les 2 rapports et en déduire le rendement de la colonne réductrice.

**Remarque :** pour éviter d'activer les granules de cadmium à chaque séance, on peut ajouter dans la colonne une solution de chlorure d'ammonium à  $80 \text{ g.L}^{-1}$  pour conserver le cadmium en milieu légèrement acide.

## Compléments

### Applications

Ces dosages s'appliquent à une grande variété d'échantillons. On peut ainsi doser les nitrates dans les eaux naturelles (eaux minérales, eaux de rivières...) ; par contre, les nitrites étant le plus souvent absents de ces eaux, nous fournissons à nos étudiants une solution-test préparée à partir de nitrite de sodium.

En ajoutant une étape préliminaire d'extraction à l'eau, on peut aussi envisager de doser les nitrites dans la charcuterie, ou les nitrates dans les engrais ou les légumes. Cependant, le temps de manipulation peut se trouver considérablement rallongé et, dans certains cas, les extraits peuvent présenter une coloration gênante.

Un sujet intéressant pour des projets tutorés peut aussi consister à faire des prélèvements hebdomadaires dans un cours d'eau pour étudier les variations de pollution tout au long de l'année.

### Traitement des rejets

Les nitrites en solution peuvent être oxydés rapidement par une solution diluée d'eau oxygénée ou d'eau de Javel.

Pour éviter de rejeter le cadmium dans l'environnement, il convient de précipiter les ions  $\text{Cd}^{2+}$  sous la forme d'hydroxyde ou mieux sous forme de sulfure [7]. Les effluents seront donc traités en milieu légèrement basique avec du sulfure de sodium  $\text{Na}_2\text{S}$  ou d'ammonium  $(\text{NH}_4)_2\text{S}$  avant décantation et filtration.

### Extensions

D'autres substances tout aussi indésirables que les nitrites et nitrates peuvent être dosées en appliquant les normes AFNOR avec le même type de spectrophotomètre : à l'IUT du Mans, une deuxième séance de TP est consacrée au dosage de l'azote ammoniacal – méthode à l'indophénol (norme NF T 90-015) [8] et à celui des sulfates par néphélométrie (norme NF T 90-040) [9], ces deux



# ENSEIGNEMENT

## LES TRAVAUX PRATIQUES

protocoles étant applicables directement sans adaptation particulière.

### Références

- [1] *La qualité de l'eau*, 3<sup>e</sup> édition du recueil de normes en 4 tomes, **1999**. [AFNOR, Tour Europe, 92049 Paris la Défense Cedex (<http://www.afnor.fr>)].
- [2] Norme ISO 6777 (mai **1993**) : dosage des nitrites, *La qualité de l'eau*, tome 3, p. 147.
- [3] Norme ISO 13395 (octobre **1996**) : 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, *La qualité de l'eau*, tome 3, p. 121.
- [4] « Trop de nitrates dans nos assiettes », *Que choisir*, juin **1992**.
- [5] Directive européenne du 15 juillet **1980** transcrite en France par le décret 89-3 du 3 janvier 1989.
- [6] Brown E., *Traité de chimie organique*, Éd. Ellipses, **1999** p. 356.

- [7] Picot A., Grenouillet P., *La sécurité en laboratoire de chimie et biochimie*, Éd. Lavoisier, **1992**, p. 248.
- [8] Norme NF T 90-015 (août **1975**) : dosage de l'azote ammoniacal, *La qualité de l'eau*, tome 3, p. 157.
- [9] Norme NF T 90-040 (septembre **1986**) : dosage des ions sulfates – méthode néphélométrique, *La qualité de l'eau*, tome 3, p. 31.



**Jean Renaudin**

est maître de conférences au Département chimie de l'IUT du Mans\*.

\* Université du Maine, 72085 Le Mans Cedex 9.  
E-mail : renaudin@univ-lemans.fr

