

Version : 2020

Date de création : 19 octobre 2016

Date de dernière modification : 21 novembre 2019

## Mesure du pH par spectrophotométrie

Rédigé par :

Thierry Cariou  
Samir Alliouane  
Léo Mahieu  
Thibaut Wagener

Visé par :

Nicole Garcia, responsable  
qualité national  
Le : 31 Janvier 2020



## **I- Introduction :**

Depuis le début de l'ère industrielle, les émissions anthropiques de dioxyde de carbone ( $\text{CO}_2$ ) n'ont cessé d'augmenter. Le réchauffement climatique est en partie limité par l'absorption du  $\text{CO}_2$  par les océans. Cette absorption entraîne une baisse du potentiel hydrogène (pH) de l'eau de mer, qui est passé de 8,2 à 8,1 depuis 1750 (Caldeira K. et Wickett M.E., 2003).

La mesure du pH donne des informations sur des processus d'équilibre dans les solutions (solubilité de certains minéraux en solution), peut contrôler les concentrations et la disponibilité des nutriments (ou métaux) dans les eaux naturelles. Le pH contrôle donc une très large variété de processus. C'est une « variable maîtresse » pour les processus physiques et biologiques se déroulant dans les Océans. [Bates, 1982; Millero, 1986; Clayton et al., 1995].

Le pH de l'eau de mer est donc un paramètre essentiel dont le suivi est d'une importance capitale. La mesure du pH de l'eau de mer est un défi car la méthode classique de mesure, par électrochimie, peut être faussée par la force ionique de l'eau de mer, impliquant une incertitude sur la mesure de  $\pm 0,02$  unité de pH. Une méthode par spectrophotométrie UV-visible a été proposée par R. H. Byrne en 1988, nécessitant l'usage du méta-crésol purple, indicateur coloré dont la couleur change dans la plage de pH de l'eau de mer (7.4-8.4) et correspond à sa détermination avec une incertitude de  $\pm 0,003$  unité de pH. Cette méthode, permet aussi bien des études environnementales que thermodynamiques.

Les tests ont été validés dans les gammes de salinité et température suivantes :  $20 \leq S \leq 40$  et  $0^\circ\text{C} \leq T \leq 35^\circ\text{C}$ .

Elle a été complétée et améliorée au cours du temps (Liu et al, 2011, Douglas et Byrne, 2017) permettant de fournir avec une grande précision des valeurs de pH dans les eaux marines, dans l'échelle « total scale, pH<sub>T</sub> ».

## **II - Précautions particulières**

Le temps de préparation est à prendre en compte. La solution de méta-crésol purple nécessite 2 jours de préparation. La solution de m-cresol purple doit être protégée de la lumière et stockée hermétiquement. Le spectrophotomètre UV-visible (Perkin Elmer Lambda 11 dans notre exemple) et la verrerie utilisée ne doivent pas être contaminés : le port des gants, de la blouse et de lunettes est recommandé.

Les cellules doivent être nettoyées à la fin de chaque semaine d'utilisation par des rinçages à l'acide chlorhydrique à 0,5 M, puis à la soude à 0,5 M, puis abondamment rincé à l'eau ultra-pure.

## **III - Matériel et appareillage utilisé**

- Une micropipette réglée à 50  $\mu\text{L}$
- Des cônes stériles pour pipette
- Une solution de méta-crésol purple purifiée
- Un tuyau en silicone avec les embouts adaptés au remplissage des cellules
- Des cellules cylindriques de mesure Hellma de référence 120-100-20
- La cellule de mesure de chemin optique de 0,5 mm, Hellma réf. 121-0.50-40
- Micro seringue (type CPG)

- Une balance de précision
- Une fiole et un flacon de 50 mL
- Des bouteilles de prélèvement contenant l'eau de mer à analyser
- Du papier pour essuyer les cellules
- Un bain cryostat à circulation (justesse +/- 0.1 °C à 25 °C)
- Un thermomètre de précision étalonné (+/- 0.05 °C)
- Un spectrophotomètre avec porte-cuve de 10 cm (cuve cylindrique)
- Flacons verre Schott 500 mL à col rodé (pour prélèvements et analyses différées)

#### IV - Produits chimiques et réactifs utilisés

- m-crésol purple purifié (Société  <http://fluidion.com/fr>).
- Solutions de HCl à env. 0,1 mol/L et 0, 5 mol/L (à partir de HCl fumant, Merck 1.00317.1000)
- Solutions de NaOH à env. 0,1 mol/L et 0, 5 mol/L (à partir de cristaux, Merck 1.06498.1000)
- Solution de chlorure mercurique (pour conservation des échantillons sur le long terme) 7.4 g/100 ml (à partir de cristaux, Merck 1.04419.0050)

#### V - Préparation du matériel

**La température des échantillons doit être fixée à 25,0°C.** Pour fixer cette température, il faut penser à allumer le bain cryostat environ 1 heure avant les analyses afin d'avoir des températures stables. Le spectrophotomètre doit également être allumé en avance afin d'obtenir un signal stable de la lampe. Si la chambre de mesure est régulée en température à l'aide du bain à circulation, allumez les deux en même temps.

Le m-crésol purple (mCP) doit être contrôlé pour être dans les conditions optimales de ratio entre ces 2 formes  $I^{2-}$  et  $HI^-$ , voir § VIII.

#### VI - Prélèvement et conditionnement

Suivant les conditions de mer, on pourra choisir entre plusieurs options pour l'échantillonnage :

- ✓ Temps calme et facilités à bord du navire : le prélèvement dans les cellules cylindriques peut se faire directement à bord.
- ✓ Conditions de mer délicates pour remplir les cellules cylindriques : échantillonner dans des flacons Schott en verre, de 500 mL. Le remplissage des flacons se fait de la même manière que la mesure de l'oxygène dissous suivant Winkler. La mesure du pH se fera le plus rapidement possible au labo. Il faudra soutirer l'eau des flacons Schott pour remplir les cellules cylindriques en prenant les mêmes précautions que pour le prélèvement à partir des bouteilles Niskin.
- ✓ Analyse différée de plusieurs jours : piégeage des échantillons au chlorure mercurique cf annexe 3. Dans ces conditions, il faut laisser un léger espace sous le bouchon rôdé afin d'injecter 300  $\mu$ L de la solution de chlorure mercurique dans les flacons de 500 mL. Le bouchon rôdé est légèrement graissé à l'aide de graisse Apiezon L.

Remplissage des cellules à partir des Niskin :

- Placer le tuyau en silicone (le même que pour l'oxygène dissous) sur le robinet de la Niskin.
- Connecter le tuyau sur l'une des entrées de la cellule.
- Ouvrir le robinet et remplir la cellule en prenant garde à ne pas avoir un débit trop fort ou turbulent.
- Laisser déborder la cellule en l'inclinant de telle manière à chasser les éventuelles bulles d'air.
- Après quelques secondes, boucher l'extrémité ouverte de la cellule à l'aide d'un des bouchons en téflon, puis enlever délicatement le tuyau de la première extrémité qui peut être rebouchée en évitant de bloquer de l'air à l'intérieur de la cellule.
- Placer la cellule dans un support adapté (mousse préformée), à l'abri de la lumière, dans une glacière par exemple. L'ajout de mCP peut se faire une fois de retour au laboratoire.

Remplissage des cellules à partir des flacons Schott :

- Surélever le flacon par rapport à la cellule.
- Plonger un tuyau en silicone dans le flacon en prenant garde à ce qu'il ne remonte pas dans l'air. Ce tuyau possédera une mollette de réglage de débit afin de réguler celui-ci.
- Connecter le tuyau à l'une des extrémités de la cellule.
- Placer une seringue adaptée avec une connexion silicone à l'autre extrémité de la cellule et créer une dépression qui va conduire le liquide dans le tuyau et la cellule. Une fois amorcé, retirer la seringue et remplir la cellule comme à partir de la Niskin, en évitant les bulles d'air dans le tuyau et la cellule.

**VII - Conservation et stockage**

Une fois l'échantillonnage effectué, placer les échantillons (cellules ou flacons Schott) à l'abri de la lumière dans un support leur évitant tout choc. Il faut également s'assurer de l'étanchéité des échantillons. Une fois au laboratoire, placer les cellules au bain thermostaté à 25.0 °C, avant analyse.

La conservation des échantillons sans ajout de chlorure mercurique montre une évolution des valeurs de pH. Le conditionnement et l'analyse des échantillons nécessitent un temps conséquent (de 40 minutes à 1 heure). Le mCP est un indicateur coloré, et peut donc être sujet à la photo-dégradation. Pour évaluer le laps de temps permettant l'analyse des échantillons après injection du mCP, un échantillon conditionné a été conservé pendant deux jours.

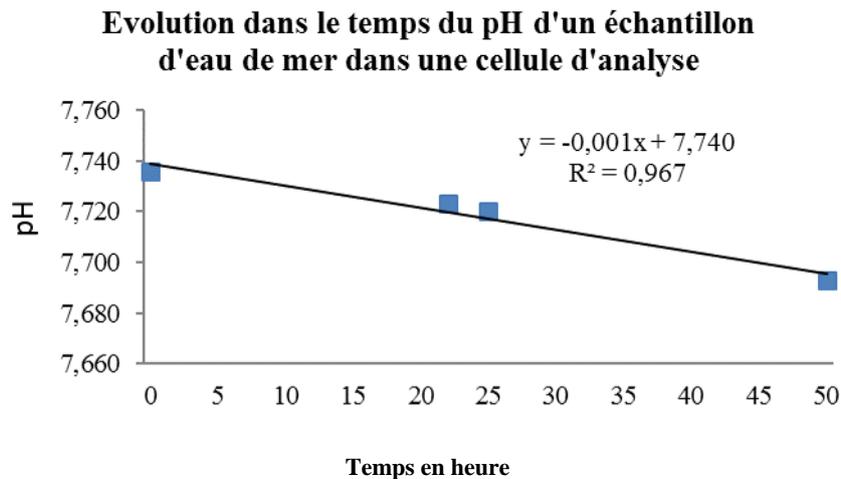


Figure 1. Evaluation de la stabilité dans le temps des échantillons

Le pH de l'échantillon a diminué de 0,001 unité de pH par heure. On en conclut que les échantillons doivent être analysés rapidement après prélèvement et ajout du mCP. Cependant une optimisation des conditions de conservation est envisageable, notamment en piégeant les prélèvements au chlorure mercurique et en les stockant à l'abri de la lumière. Voir annexe 3.

D'autres tests effectués à Marseille ont montré que des cellules conservées à 4°C, à l'abri de la lumière et sans ajout de mCP donnaient des valeurs stables pendant 3 jours. Ces résultats sont encore à confirmer car l'importance de l'activité biologique, dans la cellule, suivant la saison, joue bien sûr un rôle important.

### VIII - Préparation des réactifs

La solution de m-crésol ( $M = 382,43 \text{ g/mol}$ ) doit avoir une concentration de **2 mmol/L** et un **ratio d'absorbance de 1,6**. Pour l'ajuster, on utilise de la **soude et de l'acide chlorhydrique à 0,1 mol/L** à l'aide d'une micro-seringue. On réalise une solution de **50 mL**, nécessitant **38,243 mg** de produit.

- Remplir la moitié de la fiole d'eau ultra-pure. Dissoudre les 38,2 mg de m-crésol purple. La dissolution peut s'avérer difficile, il faut alors ajouter quelques gouttes de soude 0.1N pour la facilité. Ajuster au trait de jauge. Protéger la fiole de la lumière avec du papier d'aluminium, et laisser une heure.
- Contrôler le ratio de la solution avec la cellule de chemin optique de 0,5 mm. Si le ratio est inférieur à 1,6, ajouter de la soude à 0.1 N ; s'il est supérieur à 1,6, ajouter de l'acide chlorhydrique 0.1 N (une goutte pour 0,1). On tolère un écart de 0,05. Utiliser une micro-seringue type CPG. La valeur du ratio à 1.6 correspond à la mesure sur une eau de mer dont le pH serait de 7.9. Par expérience, une solution de m-crésol purple avec un ratio de 1.6 a un pH aux alentours de 8.47. Le mieux est tout de même de vérifier le ratio par spectrophotométrie.
- Laisser agiter une nuit fiole fermée et protégée de la lumière.

- Le lendemain matin, ajuster une nouvelle fois le ratio. Laisser agiter une heure, et le revérifier. Transvaser la solution dans le flacon dédié. Le sceller avec du Parafilm et le stocker à l'abri de la lumière.

Le ratio d'absorbance est le rapport  $A_{578}/A_{434}$ . Le blanc de cette lecture est fait dans l'eau ultra-pure.

La cellule de mesure de chemin optique de 0,5 mm, Hellma réf. 121-0.50-40 étant très fine, il faut ajouter délicatement la solution à l'aide d'une micropipette. Entre chaque mesure, il est aussi nécessaire de parfaitement laver la cellule à l'eau ultra-pure et si possible de la sécher à l'aide d'air comprimé par exemple. Cela empêche du liquide de rester dans l'espace très étroit entre les parois de la cellule.

L'ajustement de ce ratio à 1.6 permet d'avoir une solution de mCP correspondant à une mesure dans une eau de mer de pH d'environ 7.9 qui ne viendra pas biaiser la mesure de l'échantillon d'eau de mer lors de son ajout.

### **IX - Préparation des échantillons**

Une fois l'échantillon placé dans la cellule cylindre, la mettre dans le bain thermalisé à 25°C pendant 30'. A noter que l'ajout du mCP est réalisé après thermalisation de l'échantillon dans la cellule. Le blanc d'échantillon se fait donc sur cette même cellule.

L'injection des 50  $\mu$ l de mCP se fait par l'une des ouvertures de la cellule en prenant soin de ne pas introduire de l'air. La pointe du cône doit être immergée lors de l'injection. Afin de bien répartir le crésol dans la cellule, on peut aspirer et réinjecter le liquide plusieurs fois. Reboucher rapidement la cellule à l'aide du bouchon en téflon et secouer énergiquement.

### **X - Préparation de l'appareil et étalonnage**

#### **Spectrophotomètre :**

Pour vérifier la justesse des mesures réalisées avec le spectrophotomètre UV-visible, on utilise des filtres-étalons. L'un permet d'étalonner l'appareil en longueur d'onde (oxyde d'holmium, Hellma 666-F1), l'autre en absorbance (verre gris, Hellma 666-F2). Voir annexe 1.

#### **Thermorégulation de la chambre de mesure :**

L'idéal est de réguler la chambre de lecture du spectrophotomètre à l'aide du bain cryostat à circulation servant à thermaliser également les cellules cylindriques. La température du cryostat peut être vérifiée à l'aide d'une sonde de température électronique +/- 0.05 °C. Pour notre test, nous avons utilisé une sonde sea-bird SBE56 +/- 0.001 °C. S'il y a un offset par rapport à la température de consigne, il suffit ensuite d'ajuster celle-ci par rapport à la référence.

L'eau à 25,0 °C du bain à circulation est envoyée dans le porte-cellule situé dans la chambre de lecture du spectrophotomètre. Des tests de mesure de température à l'intérieur de cette chambre de lecture ont donné des valeurs de température ambiante de 25.0 °C à proximité de la cellule. D'autres tests de mesure de température, à l'aide d'une pt100 ont donné des valeurs de 24.99°C dans le liquide,

à l'intérieur de la cellule située dans la chambre de lecture du spectrophotomètre. Ces tests et résultats dépendent bien sûr des équipements utilisés.

### **XI - Mesure**

Une fois les échantillons thermalisés à 25.0 °C pendant environ 30 minutes, procéder à la lecture des absorbances sur le spectrophotomètre.

La lecture se fait à 3 longueurs d'onde : 434 nm, 578 nm et 730 nm. Un blanc de lecture est effectué au préalable sur l'échantillon d'eau de mer prélevé, mais sans ajout de mCP. Ce blanc est effectué avant toute mesure d'échantillon. Il est préférable de faire le blanc de mesure sur l'échantillon d'eau de mer qui va être ensuite mesuré dans la même cellule.

Après la lecture des 3 longueurs d'onde pour chaque échantillon, enregistrez et notez-les sur vos supports SOMLIT habituels.

Les spectrophotomètres possédant une chambre thermo-régulée à 25.0 °C permettent de maintenir la température de l'échantillon à 25.0°C sans qu'il y ait de fluctuations de celle-ci lors de la lecture. Si vous ne possédez pas de spectrophotomètre thermo-régulé, garder à l'esprit que la mesure est possible à condition de la réaliser sans perdre de temps. Pensez à vous organiser pour avoir le bain thermo-régulé où se trouvent les cellules à proximité de votre spectrophotomètre. Le passage du bain thermo-régulé à la lecture des échantillons peut ainsi être très rapide, n'altérant que modestement les conditions optimales de mesure.

Une variation de 0.1 °C de l'échantillon provoque une variation de 0.002 unité de pH dans la mesure de l'échantillon.

### **Contrôle de la qualité des mesures :**

#### **Test de répétabilité :**

Des tests de répétabilité et de fidélité sont conseillés. Pour cela, échantillonner 5 cellules + 1 blanc de lecture sur une même bouteille Niskin et déterminer la moyenne et l'écart type obtenus sur cette série de mesure. L'écart-type ne doit pas dépasser +/- 0.003 unité de pH.

#### **Test de justesse et d'exactitude :**

Le laboratoire d'A. Dickson (Scripps Institute of Oceanography, University of South California, San Diego) commercialise une eau de mer synthétique tamponnée à l'aide de 2-amino-2-hydroxy-méthyl-1,3-propanediol (TRIS). Cette solution est fournie pour une salinité de 35 et la formule théorique pour déterminer le pH de cette solution est la suivante :

$$\text{pH} = (11911,08 - 18,2499*S - 0,039336*S^2)/(T) + (-366,27059 + 0,53993607*S + 0,00016329*S^2) + (64,52243 - 0,084041*S)*\ln(T) - 0,11149858*(T)$$

Avec T en ° K.

La valeur théorique du pH de cette solution est de 8.0935 à 25.0°C. La vérification de l'exactitude des mesures peut donc être réalisée à l'aide de ces solutions.

## XII - Calcul

### 1. Théorie :

La détermination du pH de l'eau de mer par spectrophotométrie nécessite l'emploi d'un indicateur coloré changeant de couleur en fonction du pH. L'indicateur utilisé doit avoir deux longueurs d'onde spécifiques d'absorption dans la gamme de pH des échantillons. Les sulfonephtaléines sont très largement employées pour les dosages acide-base. Toutes les sulfonephtaléines existent sous trois formes :  $H_2I$ ,  $HI^-$ , et  $I^{2-}$ , où I représente l'indicateur coloré (Clayton and Byrne, 1993). Chaque forme a une absorption spécifique. On peut écrire les équilibres chimiques de ces trois formes selon les deux constantes de formation K suivantes, avec [X] la concentration de l'entité chimique X :

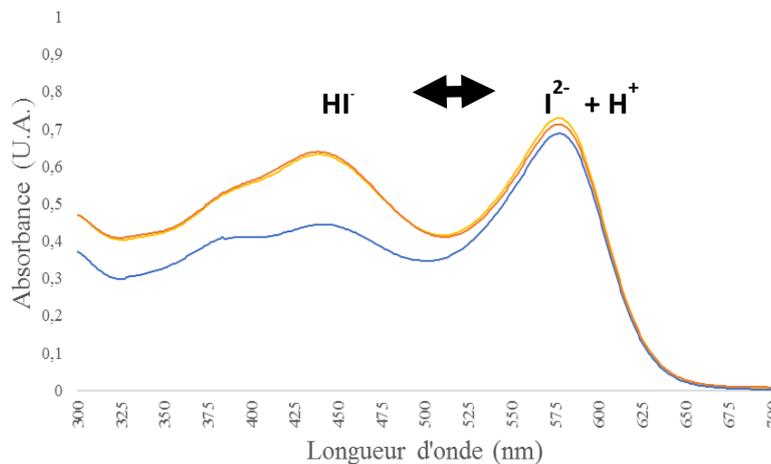
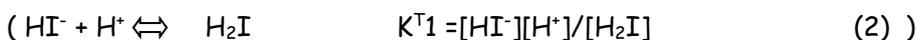
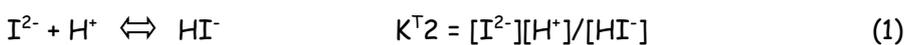


Fig. 2 Spectre du m-crésol purple



En reprenant les travaux, notamment de Clayton et al (1993), les spécialistes de la détermination du pH dans l'eau de mer ont déterminé une nouvelle équation basée sur les mesures des contributions d'absorbance relatives des formes protonées ( $[HI^-]$ ) et déprotonées ( $[I^{2-}]$ ). Les dernières recherches sur cette méthode de détermination du pH ont amené à reconsidérer cette équation (Liu et al 2011). La justesse de ces valeurs est admise et vérifiée par des mesures de tampon de pH dans de l'eau de mer synthétique présenté dans la sous-partie « contrôle des mesures de pH ».

$$pH = -\log[H^+] = -\log\left(K^T_2 \frac{\epsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}{\epsilon_{HI^-}(\lambda_1)}\right) + \log\left(\frac{R - \frac{\epsilon_{HI^-}(\lambda_2)}{\epsilon_{HI^-}(\lambda_1)}}{1 - R \frac{\epsilon_{I^{2-}}(\lambda_1)}{\epsilon_{I^{2-}}(\lambda_2)}}\right) \quad (3) \quad (12)$$

Où  $K_2^T$  est la constante de dissociation de  $\text{HI}^-$  sur l'échelle totale de concentration de l'ion hydrogène. (Équation 1).

Le rapport R est le ratio des absorbances du m-purple cresol aux longueurs d'onde 578 et 434 nm,  $R = A_{578}/A_{434}$ .

$\frac{\epsilon_{\text{I}^{2-}}(\lambda_1)}{\epsilon_{\text{I}^{2-}}(\lambda_2)}$ ,  $\frac{\epsilon_{\text{HI}^-}(\lambda_2)}{\epsilon_{\text{HI}^-}(\lambda_1)}$  et  $\frac{\epsilon_{\text{I}^{2-}}(\lambda_2)}{\epsilon_{\text{HI}^-}(\lambda_1)}$  sont les rapports des absorptions molaires de  $\text{I}^{2-}$  et  $\text{HI}^-$  aux 2 différentes longueurs d'onde.

Les valeurs utilisées dans le calcul du pH sont les suivantes :

$$-\log\left(K_2^T \frac{\epsilon_{\text{I}^{2-}}(\lambda_2)}{\epsilon_{\text{HI}^-}(\lambda_1)}\right) = a + \frac{b}{T} + c \ln(T) - dT$$

avec:

$$a = -246,64209 + 0,315971*S + (2,8855 \cdot 10^{-4}) * S^2$$

$$b = 7229,23864 - 7,098137*S - 0,057034*S^2$$

$$c = 44,493382 - 0,052711*S$$

$$d = 0,0781344$$

S = la salinité (PSS 78).

Les rapports des coefficients d'extinction molaires sont calculés de la manière suivante :

$$\frac{\epsilon_{\text{HI}^-}(\lambda_2)}{\epsilon_{\text{HI}^-}(\lambda_1)} = -0,007762 + 4,5174 \cdot 10^{-5}T$$

$$\frac{\epsilon_{\text{I}^{2-}}(\lambda_1)}{\epsilon_{\text{I}^{2-}}(\lambda_2)} = -0,020813 + 2,60262 \cdot 10^{-4}T + 1,0436 \cdot 10^{-4}(S - 35)$$

Avec T la température en Kelvin et S la salinité.

## 2. Pratique :

Entrer vos valeurs d'absorbances, salinité et température de mesure ( $T=25.0$  °C) dans votre tableur excel.

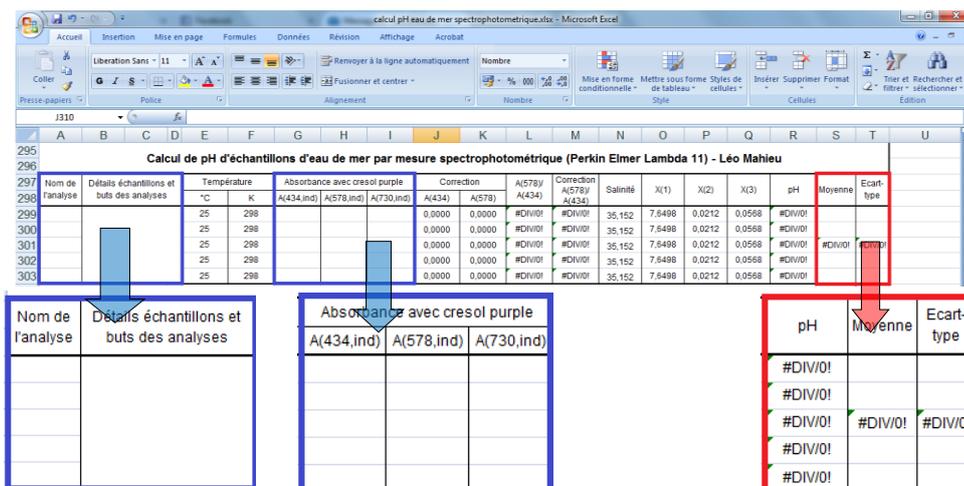
$$A'_{578} = A_{578} - A_{730}$$

$$A'_{434} = A_{434} - A_{730}$$

$A_{434}$ ,  $A_{578}$  et  $A_{730}$  sont mesurées après avoir fait le blanc de mesure dans une cuve contenant de l'eau de mer sans crésol (voir § XI- Mesure).

$$R = A'_{578}/A'_{434}$$

Les termes dépendant de la salinité et la température sont aisément calculés à l'aide du tableur. Le calcul final ne dépend donc que des lectures des longueurs d'onde et du calcul du rapport  $R = A'_{578}/A'_{434}$



Calcul de pH d'échantillons d'eau de mer par mesure spectrophotométrique (Perkin Elmer Lambda 11) - Léo Mahieu															
Nom de l'analyse	Détails échantillons et buts des analyses	Température		Absorbance avec cresol purple			Correction		Salinité	X(1)	X(2)	X(3)	pH	Moyenne	Ecart-type
		°C	K	A(434,ind)	A(578,ind)	A(730,ind)	A(434)	A(578)							
297		25	298	0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,8498	0,0212	0,0568	#DIV/0!		
298		25	298	0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,8498	0,0212	0,0568	#DIV/0!		
299		25	298	0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,8498	0,0212	0,0568	#DIV/0!		
300		25	298	0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,8498	0,0212	0,0568	#DIV/0!		
301		25	298	0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,8498	0,0212	0,0568	#DIV/0!		
302		25	298	0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,8498	0,0212	0,0568	#DIV/0!		
303		25	298	0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,8498	0,0212	0,0568	#DIV/0!		

### 3. Influence de l'ajout de m-crésol purple :

Des tests pour déterminer l'influence de l'ajout du m-crésol purple sur la mesure du pH ont été réalisés.

L'ajout de l'indicateur coloré dans les échantillons peut influencer la valeur du pH. Même si cette influence est limitée par l'ajustement du pH de la solution, le pH de l'eau de mer varie et les deux concordent rarement. L'influence de cette différence est fonction du volume d'indicateur injecté. Pour corriger cette influence, une méthode consistant à mesurer le ratio des absorbances d'intérêts après deux injections de mCP est appliquée.

Elle consiste à mesurer le ratio après la première injection, puis après la seconde. La différence entre ces deux ratios, en fonction du ratio de la première injection, nous donne une droite dont les coefficients permettent de corriger le calcul de pH selon l'équation suivante :

$$R_{\text{corrigé}} = R_1 + (a + bR_1)V$$

Où a et b sont l'ordonnée à l'origine et le coefficient directeur de la droite, et V le volume de mCP ajouté (soit dans notre cas 50 µL). Les ratios sont mesurés pour trois prélèvements d'eau de mer dont le pH a été ajusté à 7,6 puis 8,1 et enfin 8,4 unités de pH. La figure 3 présente le résultat de ce test.

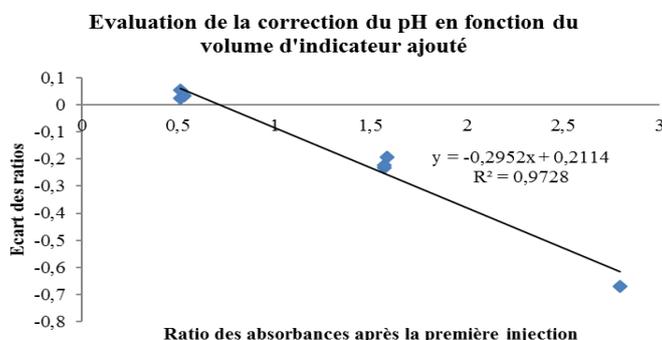


Figure 3. Evaluation de la correction du pH en fonction du volume d'indicateur

La correction du ratio des absorbances peut être appliquée à toutes les mesures de pH et suit l'équation suivante :

$$R_{\text{corrigé}} = R_1 + (0,2114 - 0,2952R_1) \cdot 0,05$$

Les tests effectués sur des échantillons de standards TRIS (Dickson) ont montré qu'en appliquant cette correction, nous risquons d'augmenter l'erreur sur le calcul final. Il est donc préférable d'éviter cette correction dans notre cas.

### **XIII - Entretien du matériel**

#### **Les cellules cylindriques :**

La verrerie et notamment les cellules de mesures cylindriques doivent être nettoyées régulièrement. On a observé la formation d'un voile blanc sur les parois de ces cellules après plusieurs temps d'utilisation. Le nettoyage le plus efficace est le suivant :

1. Si les cellules n'ont pas été soigneusement lavée lors de leur dernière utilisation, les remplir partiellement avec une solution de HCl à 0,5 M.
2. Agiter énergiquement avant de les vider, puis les remplir avec une solution de soude à 0,5 M.
3. Laisser agir 2 heures, puis agiter énergiquement avant de les rincer abondamment à l'eau ultra-pure

#### **Le m-crésol purple :**

L'indicateur coloré a tendance à évoluer au cours du temps. Les échanges du CO<sub>2</sub> atmosphérique font évoluer le pH de la solution et donc les rapports entre les 2 formes du m-crésol purple. Il est donc recommandé de vérifier le ratio des formes (qui doit être proche de 1.6) et de l'ajuster si nécessaire en ajoutant soit du HCl 0.1 N, soit de la soude NaOH 0.1 N à l'aide d'une micro-seringue (ex. seringue 5 µL) voir § VIII.

### **XIV - Conservation et entretien de l'appareillage**

Le spectrophotomètre doit être régulièrement contrôlé en utilisant des filtres références respectivement 666-F1 et 666-F2, voir annexe 1.

### **XV - Evacuation des essais et déchets**

Les échantillons contenant du chlorure mercurique : échantillons ou standards TRIS doivent être recueillis et regroupés dans des bidons adéquats en vue de leur retraitement.

## **XVI - Bibliographie**

Aminot A., Kérouel R., 2004. Hydrologie des systèmes marins ; paramètres et analyses

Bates R.G., 1973. Determinations of pH, theory and practice. Wiley, New York, 479p.

Byrne R.H., 1993. Spectrophotometric seawater pH measurements: total hydrogen ion concentration scale calibration of m-cresol purple and at-sea results. Deep-Sea Research, Vol. 40, No 10, pp 2215-2129.

Carter B.R. *et al*, 2013. An automated system for spectrophotometric seawater pH measurements. Limnol. Oceanogr.: Methods 11, 16-27.

Chen C.T.A., 1988. Seawater pH measurements: an at sea comparison of spectrophotometric and potentiometric methods. Deep-Sea Research, vol.35, No. 8, pp. 1405-1410.

Dickson A.G., 2009. Determination of pH of sea water using the indicator dye m-cresol purple. Sop 6b - spectrophotometric pH.

Douglas N.K., Byrne R.H., 2017. Spectrophotometric pH measurements from river to sea : calibration of mCP for  $0 < S < 40$  and  $278.15 < T < 308.15$ K. Marine Chemistry, 197, 64-69.

Easley R.A., 2012. Spectrophotometric calibration of pH electrodes in seawater using purified m-cresol purple. Environ. Sci. Technol., 2012, 46 (9), pp 5018-5024

Friis K., 2004. Spectrophotometric pH measurements in the ocean: requirements, design, and testing of an autonomous charge-coupled device detector system. Limnol. Oceanogr.: Methods 2, 126-136.

Lamandé N. Spectrophotometric method for the determination of the  $pH_T$  of sea water. EPJ Web of Conferences.

Liu X., Patsavas M.C and Byrne R.H., 2011. Purification and characterization of meta-cresol purple for spectrophotometric seawater pH measurements. Environ. Sci. Technol., 2011, 45 (11), pp 4862-4868.

Mahieu, L., 2016. Mesure du pH de l'eau de mer par spectrophotométrie. Stage de M1.

Marion G.M. *et al*, 2011. pH of seawater. Marine Chemistry, 126, 89-96.

Stoica D., 2013. Mesure du pH de l'eau de mer : un défi d'actualité. Revue française de métrologie n°34, volume 2014-2.

Sørensen S.P.L., 1902. Enzymstudien. II. Mitteilung über die Messung und die Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei Enzymatische Prozessen. Biochem. Z., 21 751-754.

Sørensen S.P.L., Linderstrøm-Lang K., 1924. On the determination and value of pH in electrometric determinations of hydrogen ion concentrations. C.R. Trav. Lab. Carlsberg, 15(6).