

Version : 2022

Date de création : 19 octobre 2016

Date de dernière modification : 18 Mai 2021

Mesure du pH par spectrophotométrie

Rédigé par :

Thierry Cariou

Samir Alliouane

Léo Mahieu

Thibaut Wagener

Véronique Lagadec

Evolutions/corrections:

Peggy Rimmelin

Visé par :

Nicole Garcia, responsable
qualité national

Le : 31 janvier 2022



I- Introduction :

Depuis le début de l'ère industrielle, les émissions anthropiques de dioxyde de carbone (CO_2) n'ont cessé d'augmenter. Le réchauffement climatique est en partie limité par l'absorption du 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 pourpre de m-crésol ou m-Cresol Purple en anglais (mCP), 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 $0^\circ C \leq T \leq 35^\circ C$.

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_T ».

II - Précautions particulières

Le temps de préparation est à prendre en compte. La solution de mCP nécessite 2 jours de préparation. La solution de mCP 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 μL
- Des cônes stériles pour pipette
- Une solution de mCP 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 (optionnel)
- 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)
- A noter qu'il existe depuis peu des mini-sondes de température adaptables aux cuves de 10cm qui permettent d'avoir la température de l'eau de mer dans la cuve de mesure (Temperature Probes ref Agilent : 10040800).
- Flacons verre à col rodé 500 ml ou flacons verre Schott 500 ml (pour prélèvements et analyses différées).

IV - Produits chimiques et réactifs utilisés

- mCP 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, 0, 5 mol/L et/ou 1 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 cad à saturation (à partir de cristaux, Merck 1.04419.0050). ATTENTION Produit dangereux (voir protocole « Empoisonnement eau mer avec HgCl₂ »).

V - Préparation du matériel

La température des échantillons doit être connue précisément pour être intégrée aux calculs. Pour contrôler la 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 réglée en température à l'aide du bain à circulation, allumez les deux en même temps.

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 250 ou 500 ml (à ras bord avec le moins d'air possible dans les bouteilles). 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 au plus tard 2H après le prélèvement (3h peuvent être tolérées exceptionnellement). 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.

- ✓ Analyses différées de plusieurs jours¹: échantillonner dans des flacons en verre de 500 ml (col rodé ou Schott) puis piégeage des échantillons au chlorure mercurique à saturation. Dans ces conditions, retirer à l'aide d'une pipette l'eau du goulot pour atteindre 0.5cm sous le goulot puis injecter 100µl de la solution de chlorure mercurique. Le bouchon rôdé est légèrement graissé à l'aide de graisse Apiezon L (ou autre graisse sans silicone et inerte aux gaz et acides, e.g. Graisse de laboratoire sans silicone Glisseal HV, 10x moins chère) . Les bouchons col rodé sont assurés par un élastique.

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 pincer le tuyau pour déloger les bulles d'air puis remplir la cellule en prenant garde à ne pas avoir un débit trop fort ou turbulent.
- Laisser déborder de 1.5l (à vérifier avec un bécher gradué) en inclinant la cellule de telle manière à chasser les éventuelles bulles d'air.
- Après débordement, boucher l'extrémité ouverte de la cellule à l'aide d'un des bouchons blancs 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 se fera plus tard au cours de l'analyse.

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 et à ce qu'il soit positionné à 2 cm au-dessus du fond de la bouteille. Ne pas mettre le tuyau sur le fond pour éviter d'aspirer des particules qui s'y seraient déposées. 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.

¹ : Certains pays ont des réglementations différentes concernant la dangerosité du mercure dissous dans l'eau et définissent un seuil à ne pas dépasser de mercure pur (Hg) de 0.001% massique. Si les échantillons d'eau de mer empoisonnés sont susceptibles de voyager hors de France, il est conseillé d'ajouter dans les échantillons de 500 ml seulement 93 µl de solution saturée en dichlorure de mercure HgCl₂ pour atteindre une concentration finale massique de mercure pur (Hg) de 0.0009951%.

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.

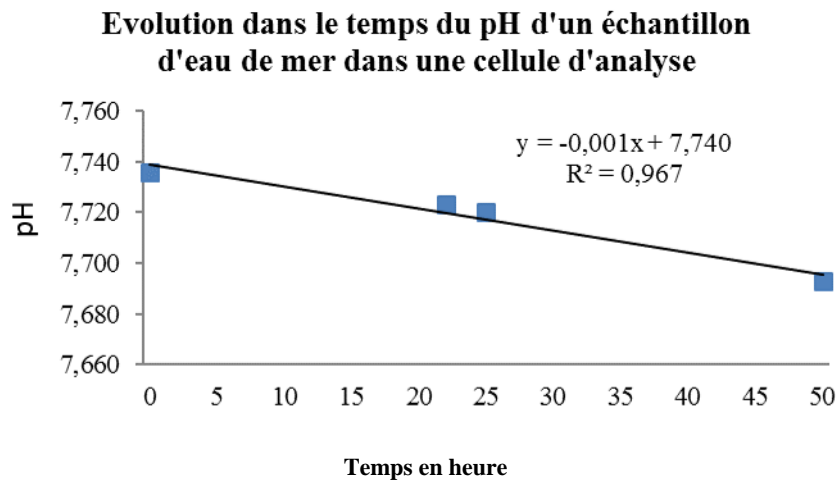


Figure 1 : Evaluation de la stabilité dans le temps des échantillons

Le pH de l'échantillon a diminué de 0,001 unité de pH par heure. On en conclut que les échantillons doivent être analysés au maximum 2H après prélèvement (3H tolérées exceptionnellement) 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.

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 mCP ($M = 382,43 \text{ g/mol}$) doit avoir **une concentration de 2 mmol/L** (38,243 mg /50ml) et un **ratio d'absorbance de 1,6** ou un **pH_{NBS} de 7,9**.

La solution de mCP doit perturber le moins possible l'échantillon lorsque on l'ajoute. On part du principe qu'en moyenne le pH des échantillons d'eau de mer mesurés est de l'ordre de 7,9. Pour minimiser cette perturbation, deux approches pour la préparation du mCP sont possibles :

1. La solution de mCP est ajustée à pH 7,9 en mesurant le pH par potentiométrie (pH_{NBS}) après avoir étalonné l'électrode avec des standards.
2. La solution de mCP est ajustée à un « ratio » d'absorbance de 1,6. Le "ratio" du mCP d'une eau de mer de pH de 7,9, à une salinité de 35 et à une température de 25°C est d'environ 1,6.

Les deux approches ont le même but et sont détaillées ci-dessous. Même si elles ne conduisent pas à obtenir des solutions de mCP rigoureusement identiques (une solution de mCP dans de l'eau ultra-pure

à un ratio de 1,6 n'aura pas un pH de 7,9), au regard de la très faible perturbation du pH engendrée par l'ajout de mCP quel que soit la méthode utilisée, les deux restent valables.

1. Préparation avec contrôle du pH_{NBS} :

- Mettre la quantité exacte de poudre dans un bécher pouvant contenir 50 ml de solution.
- Ajouter 50 ml d'eau milliQ et commencer l'agitation avec un aimant
- Plonger une sonde pH pour contrôler le pH en temps réel. A ce stade initial, le pH doit être acide (aux alentours de pH 5-6).
- Ajuster volontairement le pH de la solution au-dessus du pH final visé par incréments de 10-30 μ l de soude 1 M. Le pH visé final étant de 7.9, nous ajustons volontairement à pH 8.1.
- Après chaque incrément, laisser quelques dizaines de secondes au mélange et au pH pour se stabiliser. Au début, vous pouvez ajouter des incréments de 30 μ l pour plus de rapidité. Réduisez le volume des incréments à 10 μ l lorsque le pH de 8.1 est presque atteint.
- Une fois le pH de 8.1 atteint, laisser le pH s'équilibrer toute la nuit par agitation en laissant le bécher ouvert à l'air. Vous pouvez couvrir grossièrement le bécher avec du papier aluminium pour éviter que des poussières s'y introduisent mais laisser des trous pour l'équilibrage avec l'air.
- Le lendemain matin, vérifier le pH. Il devrait avoir baissé durant la nuit avec l'équilibrage au-dessous de pH 7.9. Réajuster finalement le pH à 7.9 avec une très petite quantité de soude par incréments de 10 μ l ou moins (éjecter la moitié du volume en dosant votre doigt). Ayant équilibré toute la nuit, le colorant est stable et une petite quantité de soude agit beaucoup plus que la veille.
- Le colorant est prêt. Stocker-le dans un flacon scellé avec du Parafilm à l'abri de la lumière.

2. Préparation avec contrôle du ratio d'absorbance :

- Remplir la moitié de la fiole d'eau ultra-pure. Dissoudre les 38,2 mg de mCP. 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 (cuve Hellma réf. 121-0.50-40). 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. 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 révérifier. 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, 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 min. 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 µl 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 mCP 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 la cuve horizontalement.

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).

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, essuyer la cellule, placer-la dans la chambre du spectrophotomètre et effectuer une mesure de blanc aux 3 longueurs d'onde : 434 nm, 578 nm et 730 nm.

Ajouter le mCP dans la cellule et la remettre à thermaliser 10min. Il est important d'effectuer les mesures dans la cuve toujours dans le même sens dans la chambre de mesure et de respecter l'ordre d'analyse des cuves. Ensuite, une deuxième mesure aux 3 longueurs d'onde est effectuée avec le mCP. Il faut mesurer la température exacte dans la cellule de mesure soit en insérant une Pt100 dans la cellule, soit en notant la température donnée par la « temperature probe » d'Agilent. Il est important de noter la température « réelle » dans la cuve et de l'archiver en tant que métadonnée.

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.

Il est à noter que le pH est une variable qui dépend de la température. Une variation de 0.1 °C de l'échantillon provoque une variation de 0.002 unité de pH dans la mesure de l'échantillon. Ainsi comme indiqué précédemment, il est important de rapporter pour chaque mesure de pH la température associée à cette mesure. La résolution du système des carbonates permet de calculer le pH en fonction de la température. Ainsi, la fonction *pH_{insi}* disponible dans le package « Seacarb » sous R permet de convertir les mesures de pH à une même température si des données d'alcalinité totale sont disponibles. Les valeurs de pH peuvent être « normalisées » à une température de 25°C, pour obtenir une meilleure répétabilité et pouvoir comparer des mesures initialement différentes entre elles.

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 mesurée dans la cellule de mesure par une sonde de température après la mesure de l'échantillon dans le mCP.

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 :

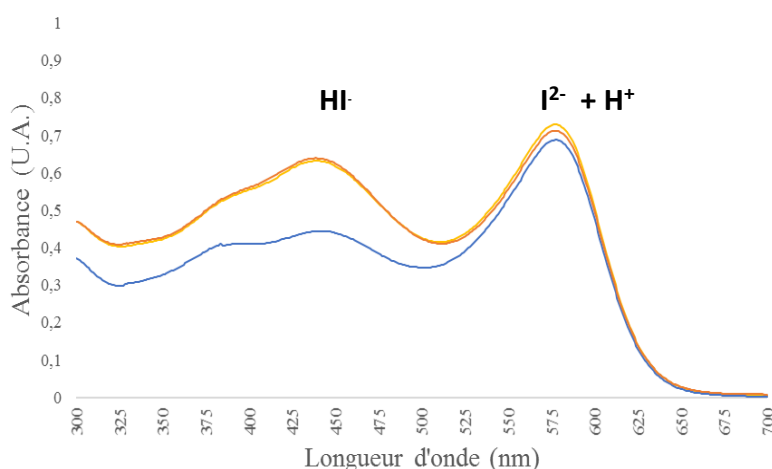
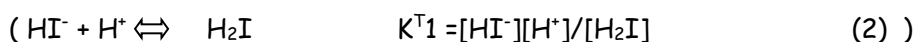
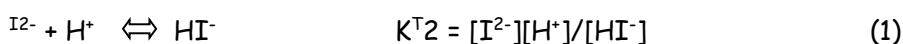


Figure 2 : Spectre du pourpre de m-crésol.



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 HI^- sur l'échelle totale de concentration de l'ion hydrogène. (Équation 1).

Le rapport R est le ratio des absorbances du mCP 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 I^{2-} et 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). Je ne comprends pas pss78.

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.

$$A(434, \text{ind}) = A(434, \text{ind})_{\text{avec crésol}} - A(434, \text{ind})_{\text{blanc}}$$

$$A(578, \text{ind}) = A(578, \text{ind})_{\text{avec crésol}} - A(578, \text{ind})_{\text{blanc}}$$

$$A(730, \text{ind}) = A(730, \text{ind})_{\text{avec crésol}} - A(730, \text{ind})_{\text{blanc}}$$

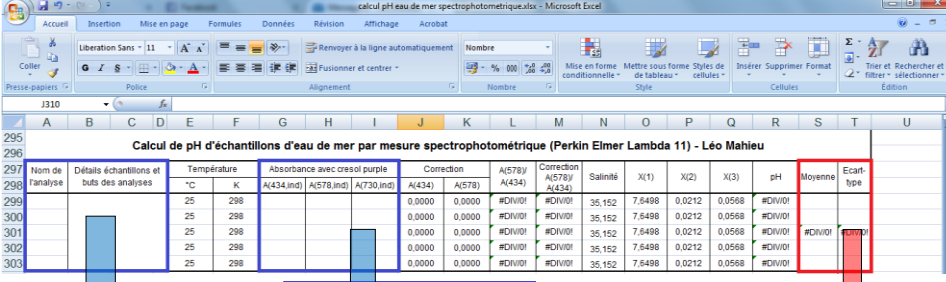
$$A(434) = A(434, \text{ind}) - A(730, \text{ind})$$

$$A(578) = A(578, \text{ind}) - A(730, \text{ind})$$

Et $A(434, \text{ind})_{\text{blanc}}$, $A(578, \text{ind})_{\text{blanc}}$ et $A(730, \text{ind})_{\text{blanc}}$ sont mesurées avant l'ajout de méta-crésol (blanc de mesure) et $A(434, \text{ind})_{\text{avec crésol}}$, $A(578, \text{ind})_{\text{avec crésol}}$ et $A(730, \text{ind})_{\text{avec crésol}}$ sont mesurées après l'ajout de méta-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 $R = A(578) / A(434)$.



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)								
		25	298				0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,6498	0,0212	0,0568	#DIV/0!	
		25	298				0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,6498	0,0212	0,0568	#DIV/0!	
		25	298				0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,6498	0,0212	0,0568	#DIV/0!	
		25	298				0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,6498	0,0212	0,0568	#DIV/0!	
		25	298				0,0000	0,0000	#DIV/0!	#DIV/0!	35,152	7,6498	0,0212	0,0568	#DIV/0!	

Absorbance avec cresol purple		
A(434,ind)	A(578,ind)	A(730,ind)

pH	Moyenne	Ecart-type
#DIV/0!		
#DIV/0!		
#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
#DIV/0!		
#DIV/0!		

3. Influence de l'ajout de mCP :

Des tests pour déterminer l'influence de l'ajout du mCP 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.

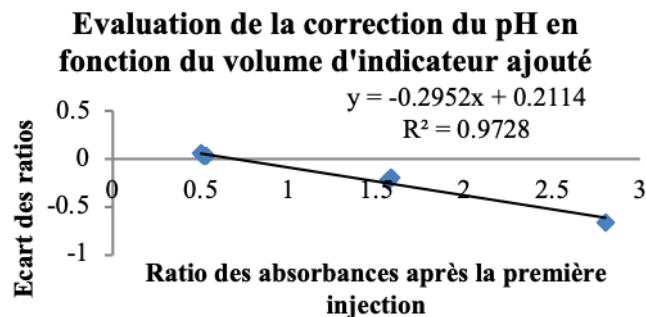


Figure 3 : Evaluation de la correction du pH en fonction du volume d'indicateur

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 lavées 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 déionisée.

Le colorant mCP :

L'indicateur coloré a tendance à évoluer au cours du temps. Les échanges de CO_2 atmosphérique font évoluer le pH de la solution et donc les rapports entre les 2 formes du mCP. 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 μ L) voir S 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 solides

Les échantillons contenant du chlorure mercurique 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).