

DOSAGE DES DIFFERENTES FORMES DU PHOSPHORE

DANS L'EAU DE MER\*

par

B. PITON et B. VOITURIEZ

Océanographes physiciens au Centre ORSTOM de Nouméa

R é s u m é

On discute les résultats de déterminations de phosphore organique en solution et en particules faites sur des eaux tropicales par la méthode au persulfate de potassium. Quelques données sur la teneur du lagon de Nouvelle-Calédonie ainsi que sur la composition de quelques organismes du plancton sont présentées.

A b s t r a c t

The results of the determination of organic phosphorus both dissolved and in particles, by the potassium persulfate method are discussed. Some data on the composition of the water of the lagoon of New Caledonia and of some planktonic organisms are presented.

INTRODUCTION

La plus grande partie du phosphore contenu dans les organismes marins est sous forme de composés organiques ; la décomposition de ces organismes libère des molécules organiques qui se dissolvent dans l'eau de mer et dont l'hydrolyse ou l'oxydation entraînent la formation d'ions phosphoriques (REDFIELD et al. 1964)<sup>\*\*\*</sup>. Le cycle du phosphore dans l'eau de mer intéresse donc essentiellement le phosphore contenu dans les particules vivantes ou mortes, le phosphore lié à des molécules organiques dissoutes et le phosphore sous forme de phosphate minéral dissous. L'étude de ces formes du phosphore dans une masse d'eau de mer a permis à divers auteurs soit de mesurer la productivité de l'eau à partir de variations observées à plus ou moins long terme (REDFIELD et al.-1937, KETCHUM et CORWIN-1965), soit d'éclairer les processus de minéralisation des composés du phosphore dans l'océan (ARMSTRONG et HARVEY-1950, MC GILL-1964). De plus, il est possible de caractériser une masse d'eau par la somme de ces formes qui représentent le phosphore total contenu dans

\* Manuscrit reçu le 14 décembre 1967.

\*\* Voir la bibliographie in fine.

ORSTOM  
Collection de Référence  
n° /2396

19 OCT. 1968

l'eau et qui est une propriété conservative (MC GILL-1964, ROCHFORD-1958). Enfin, la concentration des diverses formes de phosphore organique permet une évaluation approximative de la quantité de matière organique totale, dissoute ou sous forme de particules, sans qu'il soit nécessaire de mettre en oeuvre du matériel analytique coûteux et des méthodes laborieuses.

#### MODE OPERATOIRE

STRICKLAND et PARSONS (1965), dans leur énoncé de toutes les formes du phosphore que l'on peut rencontrer, rappellent que dans l'état actuel des techniques, et pour simplifier le travail à la mer, on peut se contenter d'un compromis dans les analyses à effectuer pour atteindre de façon satisfaisante les diverses formes du phosphore.

Pour une eau de mer du large, on appelle phosphore minéral dissous,  $PO_4-P$ , celui qui est complexé par la solution sulfomolybdique dans une eau de mer non filtrée et qui inclut le phosphate et la fraction du phosphore organique hydrolysée en milieu acide ; le phosphore organique dissous, Pod, est la différence entre le phosphore total d'une eau de mer filtrée, et le phosphore minéral dissous ; le phosphore en particules, Pp, est obtenu soit directement par oxydation de la matière organique retenue sur filtre Millipore  $0,45\mu$ , soit indirectement par différence entre le phosphore total d'une eau de mer non filtrée Pt et le phosphore total de la même eau de mer filtrée.

Dans un échantillon d'eau de mer non filtrée, on a donc :

$$Pt = PO_4-P + Pod + Pp.$$

Pour évaluer toutes les formes du phosphore dans un échantillon d'eau de mer du large, on doit donc doser le phosphore minéral dissous dans l'eau non filtrée, le phosphore total dans l'eau non filtrée et soit le phosphore total dans l'eau filtrée, soit le phosphore contenu dans les particules retenues par un filtre après passage d'une quantité connue d'eau.

Si, dans le cas d'une eau côtière, il faut tenir compte de la turbidité de l'eau, qui peut provoquer une extinction de l'ordre de  $30.10^{-4}/cm$ , dans les eaux du large en zone tropicale on peut généralement déterminer le phosphate directement sur l'échantillon d'eau de mer recueillie dans les bouteilles à prélèvements.

La méthode de détermination du phosphore minéral dissous est celle de MURPHY et RILEY (1962), adaptée par STRICKLAND et PARSONS (1965). A chaque échantillon de 50 ml d'eau de mer, on ajoute 5 ml d'un mélange de molybdate d'ammonium, d'acide sulfurique, d'acide ascorbique et de tartrate de potassium et d'antimoine. L'extinction est lue, en cuve de 10 cm, au spectrophotocolorimètre BECKMAN D.U. à 885 m $\mu$ . L'étalonnage est fait à partir d'une solution étalon de phosphate de potassium  $PO_4 H_2 K$ . Au niveau de probabilité 95 %, la précision atteinte sur la moyenne de deux analyses est égale à  $\pm 0,02$  mat-g/m $\bar{3}$ .

### Analyse du phosphore contenu dans les composés organiques

La détermination du phosphore organique est basée sur son oxydation sous forme de phosphate et son dosage ultérieur par la méthode ci-dessus ; l'agent oxydant de la matière organique est le persulfate de potassium, suivant la méthode décrite par MENZEL et CORWIN (1965).

A un échantillon d'eau de mer de 50 ml recueilli dans un erlenmeyer en borosilicate préalablement nettoyé à l'acide fluorhydrique à 1 %, on ajoute 8 ml de persulfate de potassium à 5 %. Cet échantillon est maintenu 45 minutes dans un autoclave à vapeur à 117°C sous une pression de 1,70 atmosphère environ ; pour empêcher toute pollution, on recouvre les erlenmeyers d'un petit becher lavé également à l'acide fluorhydrique à 1 %. Le volume des solutions n'est pas modifié sensiblement après le passage à l'autoclave et refroidissement ; on ajoute alors 5 ml du mélange réagissant utilisé dans le dosage de  $PO_4-P$ . La détermination de l'extinction se fait comme pour le phosphate minéral dissous. On traite exactement de la même façon l'eau de mer non filtrée et l'eau de mer filtrée. Au niveau 95 %, la précision sur la moyenne de deux mesures est de  $\pm 0,04$  mat-g/m<sup>3</sup>.

Le coefficient d'étalonnage est évalué en soustrayant au phosphore total d'une eau de mer filtrée enrichie par addition d'une quantité connue de solution étalon de phosphate de potassium, le phosphore total de la même eau filtrée non enrichie. Ce coefficient n'a en fait qu'une signification relative car il correspond à une quantité de phosphate minéral et non à une quantité connue de phosphore lié à un composé organique. Il correspond d'ailleurs à celui trouvé dans l'analyse du phosphore minéral dissous, compte tenu de la dilution de la solution par l'addition de 8 ml de solution de persulfate de potassium.

La connaissance exacte des diverses corrections à apporter aux lectures brutes d'extinction a une très grande importance dans ce type d'analyse où des concentrations souvent faibles sont déduites par différence. Les corrections à introduire sont dues aux réactifs, à la turbidité propre de l'échantillon d'eau de mer soumis à l'analyse et à la pollution au cours de la filtration.

Pour déterminer l'extinction due aux réactifs, on opère sur l'eau distillée comme avec l'eau de mer. L'extinction lue, déduite de la correction de cuve, correspond au témoin des réactifs. Cette extinction, inférieure à  $10 \cdot 10^{-4}$ /cm dans le dosage du phosphore minéral dissous, semble dépendre de la qualité du verre de l'erlenmeyer ; il est donc nécessaire de sélectionner les erlenmeyers utilisés pour l'analyse du phosphore total. Au cours de nos mesures, les extinctions des réactifs déterminées avec une série d'erlenmeyers préalablement sélectionnés furent voisines de  $40 \cdot 10^{-4}$ /cm. Une valeur aussi forte peut également provenir du persulfate de potassium.

La correction de turbidité est négligeable pour une eau de mer du large ; elle devient nulle après passage à l'autoclave, même dans une eau côtière turbide.

En ce qui concerne la filtration sur filtre Millipore  $0,45\mu$ , des expériences récentes indiquent que cette manipulation pollue le filtrat. Une eau distillée filtrée à travers des filtres Millipore préalablement rincés avec soin donne une extinction des réactifs de l'ordre de  $15.10^{-4}/\text{cm}$ , supérieure à celle d'une eau distillée n'ayant jamais été en contact avec ces filtres. La pollution provient sans doute du filtre lui-même et non de la manipulation, car des filtres brûlés puis solubilisés comme dans l'analyse du phosphore total donnent une quantité de phosphate de l'ordre de  $0,4 \mu\text{at-g}$  par filtre.

Il faut noter que le dosage du phosphate contenu dans une eau de mer non filtrée et de celui contenu dans la même eau de mer filtrée, conduit souvent à des différences d'extinction inférieures à  $15.10^{-4}/\text{cm}$ . Ceci est sans doute dû à ce que, dans le second cas, la pollution du filtrat par les filtres Millipore, est partiellement compensée, dans l'analyse de l'eau de mer non filtrée, par le passage en solution en milieu acide d'une faible fraction du phosphore organique en particule, cette fraction étant hydrolysée, complexée par le molybdate et analysée comme du phosphate.

Il faut donc tenir compte de la pollution par filtration dans le calcul du phosphore total contenu dans l'eau de mer filtrée. La valeur de la correction est déterminée lors du dosage du phosphate minéral dissous dans une eau distillée non filtrée et filtrée.

#### Dosage direct du phosphore contenu dans les particules

Pratiquement, on admet que tout le phosphore contenu dans les particules est sous forme de composés organiques ; on suppose aussi que toutes les particules sont retenues par les filtres de  $0,45\mu$ .

On recueille sur filtre Millipore, rincé à l'eau distillée auparavant, les particules contenues dans une quantité connue d'eau de mer ; cette quantité, 1-5 l est fonction de la richesse de l'eau en particules. Après rinçage à l'eau distillée, on recueille ces filtres dans des erlenmeyers que l'on met à sécher sur bain de sable ou à l'étuve à  $50-60^{\circ}\text{C}$ . En mer, il vaut mieux stocker proprement les filtres dans une étuve pour les reprendre ensuite au laboratoire à terre. On place les erlenmeyers dans un four à mouffle et on calcine les filtres à  $450-500^{\circ}\text{C}$ . Après refroidissement, on ajoute 15 ml d'eau distillée et 8 ml de persulfate de potassium, et on passe les échantillons à l'autoclave à vapeur comme pour la détermination du phosphore total. Après refroidissement, on filtre sur filtre ordinaire sans cendres, on rince à l'eau distillée et on dilue à 58 ml. On analyse ensuite le phosphore minéral dissous ainsi libéré. La turbidité d'un tel échantillon est nulle.

En traitant de la même manière un filtre rincé à l'eau distillée on obtient une correction de filtre et de réactif que l'on retranche de la lecture donnée par les particules retenues sur le filtre. L'extinction nette ainsi obtenue est divisée par le multiple de 50 ml donnant le volume d'eau filtrée ; multipliée ensuite par le coefficient d'étalonnage correspondant au dosage du phosphore total, elle donne la concentration du phosphore en particules en mat-g/m<sup>3</sup>. Au niveau 95 %, la moyenne de 2 mesures donne une précision de  $\pm 0,05$  mat-g/m<sup>3</sup>.

### Problème particulier des mers tropicales

Il existe donc deux méthodes permettant de mesurer le phosphore en particules, la méthode directe ou la méthode indirecte par différence entre l'eau non filtrée et l'eau filtrée. La correspondance entre les deux est bonne dans une eau riche en particules comme une eau côtière ou de lagon ; dans une eau pélagique tropicale par contre, il semble que le problème soit un peu plus délicat.

En effet, d'après la relation quantitative de STRICKLAND (1960)  $\text{mg P} = (0,75 \pm 0,2) \text{ mg chl } a$ , une eau superficielle tropicale contenant environ 0,1 mg/m<sup>3</sup> de chlorophylle a contient approximativement 0,003 mat-g/m<sup>3</sup> de phosphore en particules lié à des composés organiques renfermant de la chlorophylle ; cette évaluation est minérale ; cependant, même avec le rapport moyen observé par KETCHUM et CORWIN (1965)  $\text{P mat-g/m}^3/\text{chl } a$  égal pour une eau tropicale à  $50 \cdot 10^{-3}$ , c'est une teneur de 0,005 mat-g/m<sup>3</sup> en phosphore en particules qui correspondrait à une concentration de 0,1 mg/m<sup>3</sup> de chlorophylle. Ces deux valeurs sont nettement inférieures à la précision de la méthode indirecte de détermination du phosphore en particules. De plus, avec la méthode directe il faudrait filtrer 20 litres d'eau de mer superficielle tropicale pour obtenir des quantités mesurables sous forme de concentrations de l'ordre de 0,1 mat-g/m<sup>3</sup> de phosphore.

Par conséquent, l'analyse des différentes formes de phosphore dans une eau tropicale ne peut guère que donner le phosphore total contenu dans l'eau de mer non filtrée et le phosphore minéral dissous ; par différence on aura le phosphore organique total, correspondant en gros au phosphore organique dissous. D'après KETCHUM et al. (1955), cette différence ne serait significative que si elle est supérieure à 10 % du phosphore total. Quant à l'analyse du phosphore en particules par la méthode directe, on ne peut envisager de la faire dans les mers tropicales qu'aux niveaux d'accumulation de chlorophylle, en filtrant 5 à 10 litres d'eau de mer.

### RESULTATS NUMERIQUES

Différents essais ont porté sur l'eau du lagon de Nouvelle-Calédonie et sur quelques espèces du zooplancton.

En ce qui concerne l'eau du lagon de Nouméa, l'analyse complète de la même eau à deux jours d'intervalle a révélé une augmentation considérable de la teneur en phosphore total correspondant, puisque la concentration du  $PO_4-P$  n'a pas varié, à une augmentation de la concentration des formes organiques du phosphore. La concordance entre les déterminations directes et indirectes du phosphore total (tableau 1) indique sans équivoque que les différences observées sont réelles. Elles sont dues essentiellement aux conditions météorologiques ayant prévalu au cours de l'échantillonnage. Pour la première série, l'échantillonnage a été fait par beau temps, le lagon étant extrêmement calme ; pour la deuxième série, l'eau était fortement agitée et la teneur en suspension a imposé l'introduction d'une correction de turbidité. Certaines formes de phosphore organique étant utilisables dans la photosynthèse, il apparaît donc qu'en eau peu profonde l'agitation due au vent peut être un facteur non négligeable d'enrichissement.

TABLEAU 1 : Différentes formes du phosphore dans l'eau du lagon de Nouvelle-Calédonie (en mat-g/m<sup>3</sup>).

	$PO_4-P$	Pt	Pod	Pp	
				indirecte	directe
1ère série	0,16	0,32	0,08	0,08	0,12
2ème série	0,18	0,82	0,26	0,38	0,30

En ce qui concerne le zooplancton, il peut être intéressant de connaître la quantité de phosphore contenu par les organismes ; le rapport P/poids sec peut en effet caractériser l'état d'une population, sa richesse relative ou sa carence en phosphore. Enfin, la connaissance de la quantité de phosphore contenu dans le zooplancton est une étape dans la connaissance de la constitution chimique du zooplancton à laquelle viendra s'ajouter celle de l'azote et du carbone.

Pour analyser des organismes vivants, il est conseillé de travailler sur des matériaux frais n'ayant pas séjourné dans le formol ; en effet, il y a de fortes présomptions (LEGAND et GRANDPERRIN, Communication personnelle) pour penser qu'un animal séjournant dans le formol peut perdre jusqu'à 30 % de son poids sec. Les échantillons identifiés de zooplancton rincés à l'eau distillée sont donc stockés dans des vases à tarer à l'étuve, à 60°C. Les pesées sont effectuées à terre. On transvase ensuite le matériel à analyser dans des erlenmeyers que l'on place dans un four à moufle à 450-500°C. On opère ensuite comme pour la détermination du phosphore en particules. On ajoute une quantité de persulfate de potassium proportionnelle au poids sec, de l'ordre de 8 ml de

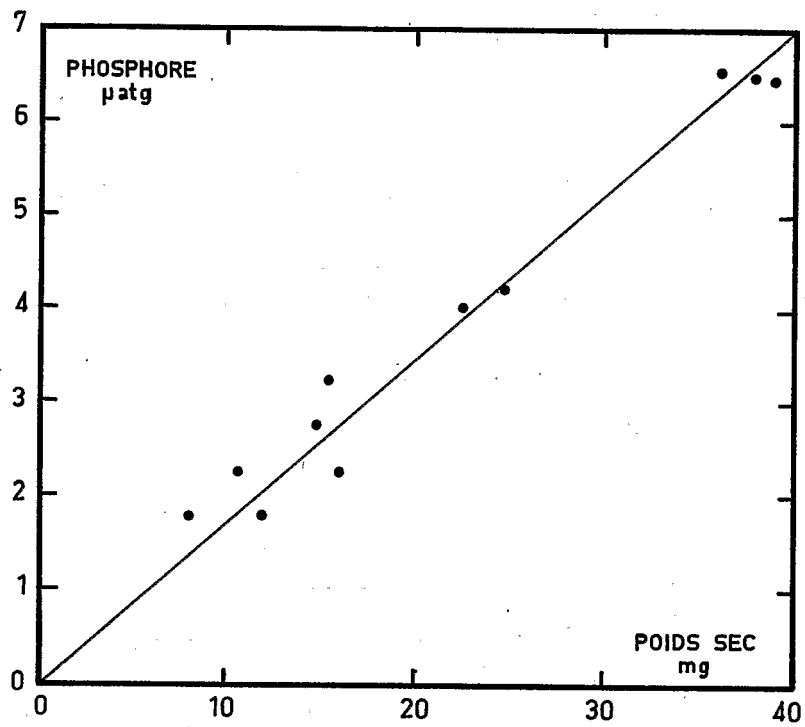


Fig. 1 : Teneur en phosphore d'Euphatsiacés

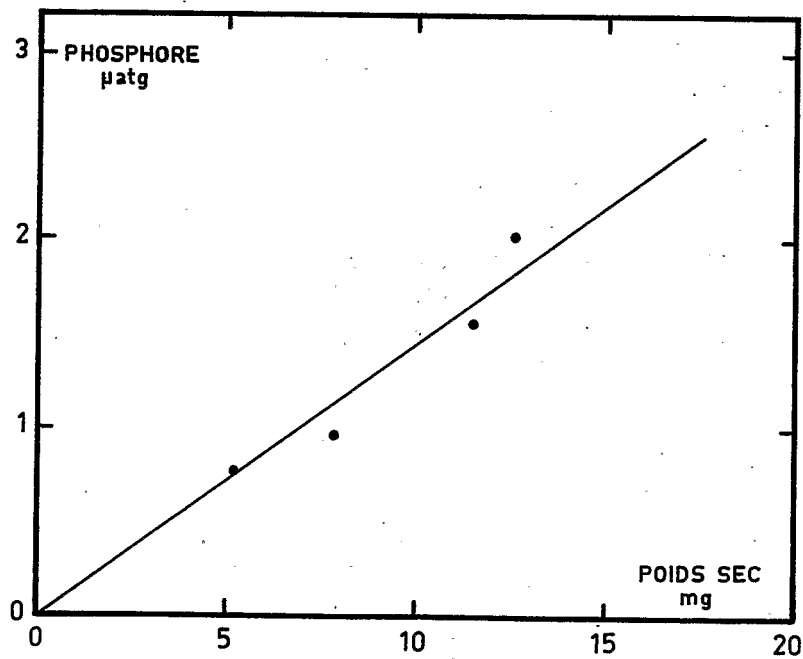


Fig. 2 : Teneur en phosphore de Chétognathes

solution à 5 % pour 10 mg de poids sec. Après passage à l'autoclave, il faut diluer de façon à obtenir une concentration en ion phosphate mesurable de l'ordre de 0,5 à 3  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . Cette dilution a le double avantage de supprimer pratiquement la turbidité et de donner un témoin des réactifs très faible et presque négligeable lorsque la dilution est supérieure à 20 fois.

Des analyses d'Euphausiacés et de Chétognathes indiquent une bonne corrélation entre la quantité de phosphore et le poids sec ; ce zooplancton analysé était conservé dans du formol depuis sa capture quelques mois auparavant.

### 1. Euphausiacés

Poids sec mg	8,2	11,9	10,6	16	14,8	15,4	22,5	24,6	36	37,8	38,8
Poids de phosphore $10^{-3}$ mg	56	56	70,4	70,4	86,4	100	122	131	203	200	200

### 2. Chétognathes

Poids sec mg	5,2	7,9	11,5	12,6
Poids de phosphore $10^{-3}$ mg	23,5	29	48,4	62,5

Le calcul des corrélations conduit dans les deux cas à un coefficient de régression extrêmement voisin de 1 correspondant à une teneur en phosphore par rapport au poids sec de 0,54 % pour les Euphausiacés et 0,45 % pour les Chétognathes (fig. 1 et 2).

### BIBLIOGRAPHIE

- ARMSTRONG (F.A.J.) and HARVEY (H.W.) - 1950 - The cycle of phosphorus in the waters of the English Channel. *J. Mar. Biol. Assoc. U.K.*, 29-1, p.145.
- KETCHUM (B.H.), CORWIN (N.) and KEEN (D.J.) - 1955 - The significance of organic phosphorus determinations in ocean waters. *Deep Sea Res.*, 2, 3, pp. 172-181.



- KETCHUM (B.H.) and CORWIN (N.) - 1965 - Cycle of phosphorus in the Gulf of Maine. *Limno. and Oceano.*, suppl. à 10, A.C. REDFIELD 75th Anniversary Vol., pp. R148-R161.
- MENZEL (D.W.) and CORWIN (N.) - 1965 - The measurements of total phosphorus in sea water based on the liberation of organically bound fractions by persulfate oxydation. *Limno. and Oceano.*, 10, 2, pp.280-282.
- MC GILL (D.A.) - 1964 - The distribution of phosphorus and oxygen in the Atlantic Ocean as observed during the I.G.Y. 1957-1958. Dans *Progress in oceanography-2*, Mary Sears Pergamon Press, pp.129-211.
- MC GILL (D.A.), CORWIN (N.) and KETCHUM (B.H.) - 1964 - Organic phosphorus in the deep water of the western north Atlantic. *Limno. and Oceano.*, 9, pp.27-34.
- MURPHY (J.) and RILEY (J.P.) - 1962 - A modified single solution Method for the determination of phosphate in natural waters. *Anal. Chim. Acta* 26, pp.31-36.
- REDFIELD (A.C.), SMITH (H.P.) and KETCHUM (B.) - 1937 - The cycle of organic phosphorus in the Gulf of Maine. *Biol. Bull. Woods Hole*, 73, pp.421-443.
- REDFIELD (A.C.), KETCHUM (B.H.) and RICHARDS (F.A.) - 1963 - The influence of organisms on the composition of sea water. Dans the *Sea 2*, M.N. HILL Interscience Publishers, pp.26-49.
- ROCHFORD (D.) - 1958 - Total phosphorus as a mean of identifying East Australian water masses, *Deep Sea Res.*, 5, 2, pp.81-110.
- STRICKLAND (J.D.H.) - 1960 - Measuring the production of marine phytoplankton. *Fish. Res. Board of Canada, Bull. N° 122*.
- STRICKLAND (J.D.H.) and AUSTIN (K.K.) - 1960 - On the forms, balance and cycle of phosphorus observed in the coastal and oceanic waters of the north-eastern Pacific. *Journ. Fish. Res. Board of Canada*, 17, 3, pp.337-345.
- STRICKLAND (J.D.H.) and PARSONS (T.R.) - 1965 - A manual of sea water analysis. *Fish. Res. Board of Canada, Bull. N°125*, pp.43-65.

551.464.6