

LA DETERMINATION DE L'OXYGENE DISSOUS PAR LA METHODE DE WINKLER :
 UNE EVALUATION STATISTIQUE DE DIFFERENTES SOURCES D'ERREURS *

par

Henri ROTSCI

Maître de Recherches à l'O.R.S.T.O.M.

Océanographe à l'Institut Français d'Océanie

La méthode de Winkler, d'utilisation générale dans la détermination de l'oxygène dissous, tant dans les eaux douces ou saumâtres que dans les eaux de mer, est encore considérée actuellement comme la méthode la plus précise, tout au moins en ce qui concerne des teneurs en oxygène supérieures à 0,1 mg-at/l ou 1,12 ml/l. Pour ce qui est des eaux très pauvres, la détermination colorimétrique de l'iode libéré peut améliorer la sensibilité, mais ceci n'est, dans l'état actuel de la technique, valable que pour de très faibles teneurs.

La méthode de Winkler a subi, au cours des temps, des modifications de détail, par exemple le remplacement de l'indicateur de fin de réaction, l'empois d'amidon, dans le dosage de l'hyposulfite par le iodate, par des méthodes électro-chimiques, mais jusqu'à présent aucune méthode n'a donné des résultats supérieurs à ceux de la titration ordinaire conduite en présence d'empois d'amidon, lorsque les conditions d'éclairage et d'agitation sont les meilleures qu'il soit possible d'utiliser.

Cependant, lorsque l'on passe du stade de l'échantillonnage dans une bouteille à renversement plus ou moins corrodée, à celui de la titration de la solution d'iode libéré, différentes causes d'erreurs interfèrent et peuvent réduire considérablement la précision de la méthode envisagée sous son angle purement analytique, c'est-à-dire au niveau du dosage titrimétrique de l'iode.

Parmi ces sources d'erreurs, les principales sont :

1) influence de la corrosion interne de la bouteille à renversement sur la teneur en oxygène dissous qui peut être également modifiée dans des proportions non négligeables par le métabolisme des bactéries fixées sur les zones corrodées,

2) efficacité du transfert, sans modification de la teneur de l'eau, de l'échantillon à analyser de la bouteille à renversement au flacon d'analyse.

* Manuscrit reçu le 14 février 1963.

3) titrimétrie de l'iode libéré en quantités équivalentes à la concentration de l'oxygène dissous.

Au cours des stations d'intercalibration entre le H.M.A.S. "Gascoyne" et l'"Orsom III" du 25 janvier 1962 et entre le R.V. "Spencer F. Baird" et l'"Orsom III" du 4 juin de la même année, à dix milles au large de la Nouvelle-Calédonie, et sensiblement au même endroit, des différences significatives ont été observées entre les résultats des trois navires. La question qui s'est donc posée est celle de l'analyse des différentes sources possibles d'erreurs afin de déterminer la part attribuable statistiquement parlant aux techniques elles-mêmes.

Des expériences systématiques ont alors été entreprises à l'Institut Français d'Océanie, dans l'intention de préciser, autant que faire se peut, l'influence des différents facteurs énoncés ci-dessus dans la précision des analyses de l'oxygène dissous, au niveau statistique 95 %. Il est bien entendu qu'il ne s'agit pas de précision absolue, étant admis qu'il n'y a aucune erreur systématique dans l'exécution de l'analyse, mais seulement de précision relative déterminée par les erreurs de hasard intervenant à chaque stade de la manipulation.

Technique utilisée

Bien que les méthodes de travail à l'Institut Français d'Océanie soient sensiblement les mêmes que celles utilisées à la Scripps Institution of Oceanography et à la Division des Pêches du C.S.I.R.O. australien, il ne semble pas inutile de préciser quelques détails méthodologiques afin de bien situer les différents aspects du travail.

Tous les échantillons à analyser sont collectés dans des bouteilles de verre Pyrex blanc de 275 ml environ de capacité, bouchées émeri avec des bouchons interchangeables. Ils sont transférés au moyen d'une canule de polyvinyle transparent, ce qui permet de s'assurer que tout l'air qu'elle contenait est éliminé avant d'entreprendre le remplissage des flacons.

Les réactifs utilisés pour la fixation de l'oxygène ont la composition suivante ; chlorure de manganèse: 400 g de chlorure de manganèse tétrahydraté pur pour analyses dans 1 litre d'eau distillée, soit 111 g Mn^{++} /l; potasse iodurée: 700 g de potasse pure pour analyses dans 500 ml d'eau distillée bouillie auxquels on ajoute 150 g d'iodure de potassium pur pour analyses, dissous dans 250 ml d'eau distillée bouillie, la solution étant diluée à 1 litre.

L'acide utilisé pour la libération de l'iode est de l'acide sulfurique concentré pur pour analyses. La solution d'hyposulfite N/100 est préparée à partir d'ampoules Fixanal, de même que la solution titrée d'iodate de potassium.

Le chlorure de manganèse et la potasse iodurée dont il est ajouté 1 ml, sont délivrés par une burette automatique à bande photophore graduée au 1/10; l'acide sulfurique est ajouté avec une pipette droite à piston.

Les analyses sont faites sur 100 ml mesurés avec une pipette automatique du modèle de la pipette de Knudsen, faite par Scientific Glass Apparatus. L'hyposulfite est délivré par une burette droite de 10 ml graduée au 1/50, faite par Kimble Glass Co., qualité Exax, vérifiée individuellement.

L'iodate de potassium N/100 est mesuré avec une pipette étalon de 10 ml.

Toutes les analyses sont faites dans un erlenmeyer de 250 ml, avec agitation magnétique et éclairage par tube néon type lumière du jour; l'indicateur est l'empois d'amidon.

Analyse critique de la titrimétrie

Deux séries d'expériences différentes ont été entreprises :

1) au laboratoire, l'analyse d'un échantillon de plusieurs dizaines de litres, sous-échantillonné en cent flacons, le contenu de chacun étant analysé deux fois,

2) en mer, la collecte de douze échantillons à douze profondeurs différentes, chaque échantillon étant divisé en trois sous-échantillons dont chacun fut analysé deux fois au laboratoire à terre. Cette expérience fut répétée quatre fois, trois fois sous la forme d'une double station et une fois en une station simple.

Toutes les analyses traitées par paires ont donné une variance de paire, le groupement de ces variances donnant une évaluation de la variance de la méthode elle-même.

Les résultats de ces études, rassemblés tableau I, montrent que dans de bonnes conditions analytiques, éclairage et agitation constants, lorsque la technique titrimétrique est utilisée par un opérateur ayant une grande pratique, l'écart-type des lectures de volume d'hyposulfite délivré est toujours compris entre 0,01 et 0,02 ml, correspondant à un écart-type de la méthode titrimétrique inférieur à 0,01 ml/l O_2 .

Au niveau de probabilité 95 %, la précision de la titrimétrie est donc meilleure que $\pm 0,02$ ml/l O_2 , la précision d'une mesure, moyenne de n déterminations étant meilleure que $\pm 0,02/n^{1/2}$ ml/l O_2 .

TABLEAU I
Ecart-type de la titrimétrie

Nature du travail	Date	Nombre de paires	σ des variances groupées par paires ml $S_2O_3Na_2$	σ des variances groupées par paires ml/l O_2
Station profonde	17/7/62	61	0,0164	0,009
Station profonde	30/7/62	64	0,0125	0,007
Station profonde	3/8/62	72	0,0127	0,007
Station profonde	10/8/62	36	0,0154	0,009
Etalonnage de la méthode Winkler	16/8/62	100	0,0106	0,006

Cette précision est meilleure que celle indiquée par STRICKLAND, pour l'ensemble de la méthode et qui est égale à $\pm 0,003/n^{1/2}$ mg at-1, c'est-à-dire $\pm 0,03$ ml/l O_2 .

Il faut remarquer en outre la constance des écarts-type rencontrés au cours de ces manipulations portant sur un nombre très variable d'échantillons.

Influence du transfert de l'échantillon

Les cinq échantillonnages utilisés pour la détermination de la variance de la titrimétrie peuvent également être utilisés pour l'évaluation de la variance totale de la méthode de Winkler.

En effet, l'analyse d'un échantillon sous-échantillonné en cent flacons permet, par le groupement des résultats des deux cents analyses, une évaluation de la variance globale de la méthode.

D'autre part, dans les stations profondes, le groupement des six analyses faites deux par deux sur le même échantillon divisé en trois sous-échantillons donne une autre évaluation de la variance d'une sous-population. Le groupement des variances de toutes les sous-populations d'une même station, donne une mesure de la variance globale de la méthode.

Les résultats de ces études sont groupés tableau II.

TABLEAU II

Ecart-type de la méthode de Winkler pratiquée sur un nombre suffisamment grand de sous-échantillons d'un même échantillon

Nature du travail	Date	Nombre d'échantillons	σ des variances groupées par échantillonnage ml $S_2O_3Na_2$	σ des variances groupées par échantillonnage ml/l O_2
Station profonde	17/7/62	22	0,0583	0,033
Station profonde	30/7/62	22	0,0921	0,052
Station profonde	3/8/62	24	0,1076	0,061
Station profonde	16/8/62	12	0,0284	0,016
Etalonnage de la méthode Winkler	16/8/62	1 100 sous-échantillons	0,0127	0,007

La première remarque que l'on peut formuler est que les écarts-type de la méthode de Winkler considérée dans son ensemble et non plus comme une titrimétrie seulement, sont beaucoup plus élevés. Cela est vrai même en ce qui concerne l'analyse des cent sous-échantillons identiques préparés au laboratoire, la différence entre l'écart-type de la titrimétrie, 0,006 ml/l O_2 et celle de la méthode de Winkler 0,007 ml/l O_2 étant significative au niveau 95%. Le siphonnage au laboratoire, dans de la verrerie soigneusement rincée à l'eau distillée et séchée, introduit donc une source d'erreur qui, au niveau de probabilité 95 %, multiplie l'imprécision par un facteur 1,2.

Pour ce qui est des prélèvements faits en mer, dans de mauvaises conditions de stabilité, par des opérateurs différents, on constate que l'écart-type de la méthode pratiquée de manière routinière peut varier de 0,016 ml/l O_2 à 0,061/ml O_2 . Les raisons de ces grandes différences sont à rechercher dans la propreté² plus ou moins grande de la canule toujours graisseuse à la suite de la manipulation des bouteilles à renversement, dans la difficulté de contrôler l'écoulement du liquide et d'éviter tout mouvement tourbillonnaire au cours du remplissage du flacon, mais aussi dans le rinçage du flacon par l'eau à analyser. Il reste en effet toujours un peu d'eau de rinçage dont la teneur en oxygène a été modifiée au cours de l'agitation. Ce dernier facteur est mis en évidence par la comparaison de la variance groupée par échantillonnage de l'étalonnage de la méthode de Winkler du 16/8/62 au cours duquel les flacons d'analyse furent remplis sans rinçage préalable, et des variances de plusieurs mesures de la teneur superficielle de l'eau du lagon, mesures faites sur douze flacons remplis par siphonnage et après rinçage à partir d'un bac rempli d'eau superficielle.

Les variances exprimées en ml $S_2O_3Na_2$ trouvées au cours de ces études sont les suivantes :

Nature du travail	Date	Nombre d'échantillons	Variances
Etalonnage de la méthode de Winkler	16/8/62	200	$1,63 \cdot 10^{-4}$
eau superficielle	21/8/62	12	$5,00 \cdot 10^{-4}$
eau superficielle	22/8/62	12	$3,36 \cdot 10^{-4}$

Les variances trouvées les 21/8/62 et 22/8/62 sont significativement différentes de celles rencontrées le 16/8/62. La première l'est au niveau 99 %, l'autre au niveau 95%.

Le rinçage préalable du flacon introduit donc une source évidente de dispersion des résultats et il est souhaitable de supprimer cette opération superflue.

Une autre source d'erreur est introduite par l'utilisation, dans la collecte de l'échantillon à analyser, d'un stade intermédiaire, la bouteille à renversement. Cela apparaît de manière évidente dans les données du tableau II qui, groupées en un seul échantillonnage, conduisent à un écart-type de la méthode de 0,047 ml O_2 , c'est-à-dire sept fois supérieur à celui de la méthode

de Winkler pratiquée sur des eaux directement siphonnées, et trois fois supérieur à celui avancé par STRICKLAND qui signale à juste titre qu'il s'agit d'une précision maximale correspondant au travail exécuté dans les meilleures conditions dans un laboratoire à terre et qu'en mer l'écart-type est au moins doublé.

D'autres expériences conduisent aux mêmes conclusions; l'analyse de la même eau superficielle prélevée d'une part directement par siphonnage dans les flacons d'analyse, d'autre part, par l'intermédiaire des bouteilles à renversement conduit à des écarts-type significativement différents au niveau 95%, la dispersion de la seconde technique étant plus grande que celle de la première. Mais ceci peut être dû autant à la contamination de la bouteille à renversement par la graisse de rinçage, qu'à la corrosion interne de la bouteille.

Influence de la corrosion

Le rôle de la corrosion sur la modification de la teneur en oxygène dissous a été signalé à plusieurs reprises. Il apparaît clairement dans les résultats des expériences entreprises à l'Institut Français d'Océanie, au cours desquelles des échantillons d'eau superficielle ou subsuperficielle ont séjourné dans des bouteilles Mécaboliier fortement corrodées intérieurement, la durée du séjour variant de une demi-heure à deux heures, les bouteilles Mécaboliier étant soit pleines, soit partiellement vides.

En ce qui concerne le séjour en bouteilles Mécaboliier pleines, les résultats des expériences sont résumés dans le tableau III.

TABLEAU III

Mesure de la consommation de l'oxygène en bouteilles Mécaboliier oxydées

Numéro de l'échantillonnage	Nature de l'eau	Nombre d'échantillons	Teneur mesurée	Ecart type
17	eau témoin	3	5,16	0,011
18	séjour d'une heure en Mécaboliier	3	5,15	0,007
12	eau témoin	6	5,13	0,010
13	séjour 1 h 20 en Mécaboliier	5	5,06	0,021
19	eau témoin	6	5,11	0,007
20	séjour 2 h en Mécaboliier	5	5,03	0,03

Il apparaît qu'un séjour d'une heure en bouteille Mécabolier pleine n'apporte aucun changement notable dans la teneur en oxygène de l'eau, les écarts-type n'étant pas significativement différents, compte tenu du nombre de degrés de liberté de chacun des deux échantillonnages. Cependant, nous avons pu noter, en une occasion, une différence de teneur de $0,07 \text{ ml/l O}_2$ d'une bouteille Mécabolier neuve par rapport à une palanquée de 10 autres bouteilles toutes fortement corrodées.

Par contre, les échantillonnages 12 et 13 d'une part, 19 et 20 d'autre part, indiquent clairement une consommation d'oxygène de l'ordre de $0,04 \text{ ml/l/h}$. Cette consommation varie évidemment d'une bouteille à l'autre comme l'indiquent les écarts-type qui sont significativement différents au niveau 95 %, ces taux de consommation variant considérablement d'une bouteille à l'autre. C'est ainsi que dans l'échantillonnage 13 une bouteille contient $0,10 \text{ ml/l}$ de moins que la moyenne des cinq autres, et que dans l'échantillonnage 20, une autre bouteille contient $0,17 \text{ ml/l}$ de moins que la moyenne des cinq autres.

En résumé, la modification de la teneur en oxygène de l'eau de mer en contact avec les taches de corrosion à l'intérieur d'une bouteille à renversement, est essentiellement fonction de l'état de la surface métallique; cependant, quel que soit le degré de corrosion de cette surface, la concentration de l'oxygène est certainement modifiée au bout d'une heure vingt de séjour de l'eau dans la bouteille, l'activité bactérienne pouvant se faire ressentir dans des délais beaucoup plus courts. Il est donc pratiquement exclu de pouvoir mesurer la concentration en oxygène par très grandes profondeurs si les bouteilles à renversement utilisées ne sont pas plastifiées intérieurement; cela vient en confirmation des expériences de COOPER.

Dans une bouteille partiellement vidée, le taux de modification de la teneur en oxygène varie beaucoup selon l'état de la surface de contact. Une eau saturée séjournant dans une bouteille au $1/4$ vide peut perdre entre $0,08 \text{ ml/l/h}$ et $0,20 \text{ ml/l/h}$, la consommation d'oxygène apparaissant immédiatement.

Pratique de la titrimétrie en mer

Tous les facteurs examinés plus haut limitent donc la précision des mesures, l'amplitude des écarts autour de la moyenne étant multipliée par le facteur trois à quatre. Cependant, il se pourrait que la pratique de la titrimétrie en mer, lorsque le bateau roule, mette en évidence la difficulté de déterminer avec précision le point d'équivalence et qu'on rencontre là un facteur limitatif dépassant tous les autres en importance.

L'examen des résultats analytiques de la croisière "Epi" de l'"Orsom III" au cours de laquelle 384 analyses d'oxygène furent faites en double, dans des conditions de mer en général assez sévères, conduit à un écart-type de la titrimétrie de $0,038 \text{ ml S}_2 \text{ O}_3 \text{ Na}_2$ ou $0,021 \text{ ml/l O}_2$. Le dosage en mer est donc trois fois moins précis que le dosage en laboratoire.

Cependant, l'erreur introduite par cette manipulation est loin d'atteindre en importance celle de l'ensemble de la méthode. L'amélioration des conditions dans lesquelles est pratiqué le dosage de l'iode n'améliorera donc pas le rendement de la méthode de Winkler tant que ne seront pas éliminées les possibilités de contamination de toute sorte qui interfèrent dès la fermeture de la bouteille sur l'échantillon à analyser.

Résumé et conclusion

Au niveau statistique 95 %, la précision de la titration au laboratoire de l'iode libéré par la méthode de Winkler est de l'ordre de $\pm 0,016/n^{1/2}$ ml/l O_2 lorsque le dosage est la moyenne de n déterminations.

En mer, la titration donne une précision de l'ordre de $\pm 0,042/n^{1/2}$ ml/l O_2 .

La plus grande source d'imprécision est liée à l'utilisation de bouteilles à renversement et au transfert de l'échantillon à analyser de la bouteille à renversement au flacon d'analyse. L'écart-type de la méthode globale est compris entre 0,016 ml/l O_2 dans les meilleures conditions et 0,061 ml/l O_2 dans les conditions les plus adverses, l'écart-type moyen pour l'ensemble des expériences entreprises à l'Institut Français d'Océanie étant de 0,047 ml/l O_2 .

Enfin, en bouteille à renversement Mécaboliér corrodée intérieurement, le taux horaire de consommation chimique ou biologique de l'oxygène est de l'ordre de 0,04 ml/l.

Dans la mesure où l'intermédiaire d'une bouteille à renversement est indispensable pour la collecte d'échantillons à analyser, il y a donc intérêt :

- 1) à transférer l'échantillon dans un flacon sec sans rinçage préalable,
- 2) à n'utiliser que des bouteilles à renversement plastifiées intérieurement,
- 3) à faire la double analyse sur deux flacons différents de capacité voisine de 100 ml, et non sur un flacon de 250 ml comme c'est la pratique courante actuellement. En effet, dans le premier cas et compte tenu des données précédentes, la précision de la détermination au niveau 95 % est $\pm 0,047 \times 2$ ml/l O_2 , alors que dans le second cas elle devient $\pm 0,047 \times 2^{1/2}$ ml/l O_2 .

Dans ces conditions seulement, il est possible d'envisager une réduction des écarts statistiques et d'atteindre la précision plus ou moins idéale définie par STRICKLAND qui a été rencontrée au cours d'une des sorties de l'"Orsom III" exécutée dans des conditions de mer pratiquement idéales. Et c'est seulement à ce niveau de finesse qu'il devient nécessaire de raffiner

l'analyse titrimétrique et de la pratiquer dans de meilleures conditions que celles rencontrées au cours des croisières de l'"Orsom III".

Quoi qu'il en soit, et quelles qu'aient été les précautions prises, il est douteux que la méthode de Winkler puisse fournir une précision statistique supérieure à $\pm 0,016/n^{1/2}$ ml/l O_2 , ce qu'aucune méthode ne peut par ailleurs fournir.

BIBLIOGRAPHIE

- COOPER L. H. N. 1961 - Vertical and horizontal movements in the Oceans. Oceanography A.A.A.S. Pub.67, Washington.
- STRICKLAND J. D. H. 1960 - A manual of sea water analysis. Fish. Board Canada Bull. 125, Ottawa.