

Réunion des points focaux du MED POL

Vidéoconférence, 27-28 mai et 6-7 octobre 2021

**Point 12 de l'ordre du jour : Harmonisation et normalisation de la surveillance du cluster IMAP Pollution**

- a) **Directives / protocoles de suivi pour les indicateurs communs IMAP 13, 14, 17, 18, 20 et 23**
- b) **Directives / protocoles de surveillance pour l'assurance qualité analytique et la communication des données de surveillance pour les indicateurs communs IMAP 13, 14, 17, 18 et 20**
- c) **Directives / protocoles de surveillance pour les microplastiques flottants**

**Directives/Protocoles de contrôle concernant la détermination des paramètres hydro-chimiques**

Pour des raisons environnementales et économiques, le tirage du présent document a été restreint. Les participants sont priés d'apporter leur copie à la réunion et de ne pas demander de copies supplémentaires.

## Table des matières

1.	Introduction	1
2.	Note technique sur la mesure de l'oxygène dissous	1
2.1.	Protocole de préparation des échantillons et l'analyse de l'oxygène dissous dans l'eau de mer par la méthode de Winkler	2
3.	Note technique sur la mesure du pH	8
3.1.	Protocole de préparation des échantillons et d'analyse du pH par une méthode potentiométrique	9
3.2.	Protocole de préparation des échantillons et l'analyse du pH par méthode spectrophotométrique	10

### Annexes

- Annexe I : Dickson et al., 2007. SOP6a: Determination of the pH of sea water using a glass / reference electrode cell
- Annexe II : Dickson et al., 2007. SOP6b: Determination of the pH of sea water using the indicator dye m-cresol purple
- Annexe III : Références

## Note du Secrétariat

Conformément au programme de travail 2020-2021 adopté par la COP21, le programme MED POL a préparé les lignes directrices de surveillance relatives aux indicateurs communs 13, 14, 17 et 20 de l'IMAP en vue de leur examen lors de la réunion intégrée des groupes de correspondance sur la surveillance de l'approche écosystémique (CORMON) (décembre 2020), tandis que les lignes directrices de surveillance pour l'indicateur commun 18 ainsi que les lignes directrices de surveillance relatives à l'assurance qualité et à la communication des données sont en cours de finalisation en vue de leur examen lors de la réunion du CORMON sur la surveillance de la pollution prévue en avril 2021.

Ces directives de surveillance présentent des manuels cohérents pour guider le personnel technique des laboratoires compétents IMAP des Parties contractantes pour la mise en œuvre des pratiques de surveillance normalisées et harmonisées liées à un indicateur commun IMAP spécifique (c'est-à-dire l'échantillonnage, la conservation et le transport des échantillons, la préparation et l'analyse des échantillons, ainsi que l'assurance qualité et la communication des données de surveillance). Pour la première fois, ces lignes directrices présentent un résumé des meilleures pratiques connues disponibles et utilisées dans la surveillance du milieu marin, en exposant des pratiques analytiques globales intégrées qui pourront être appliquées afin de garantir la représentativité et l'exactitude des résultats analytiques nécessaires à la production de données de surveillance de qualité assurée.

Les lignes directrices/protocoles de surveillance s'appuient sur les connaissances et les pratiques acquises au cours des 40 années de mise en œuvre de la surveillance du MED POL et sur des publications récentes, mettant en évidence les pratiques actuelles des laboratoires maritimes des Parties contractantes ainsi que d'autres pratiques issues des conventions sur les mers régionales et de l'Union européenne. Une analyse approfondie des pratiques actuellement disponibles du PNUE/PAM, du PNUE et de l'AIEA ainsi que d'HELCOM, d'OSPAR et du Centre commun de recherche de la Commission européenne a été entreprise afin de contribuer à une approche novatrice pour la préparation des lignes directrices/protocoles de surveillance de l'IMAP.

Afin de soutenir les efforts nationaux, les présentes lignes directrices de surveillance pour la détermination des paramètres chimiques hydrographiques fournissent les deux notes techniques suivantes : a) Note technique sur la mesure de l'oxygène dissous, comprenant le protocole de préparation des échantillons et l'analyse de l'oxygène dissous dans l'eau de mer par la méthode Winkler ; et b) Note technique sur la mesure du pH, comprenant les deux protocoles suivants : i) Protocole de préparation des échantillons et d'analyse du pH par une méthode potentiométrique ; et ii) Protocole de préparation des échantillons et d'analyse du pH par une méthode spectrophotométrique.

Les lignes directrices/protocoles de surveillance pour les indicateurs communs 13 et 14 de l'IMAP, y compris celui relatif à la détermination des paramètres chimiques hydrographiques, constituent une base solide pour la mise à jour régulière des pratiques de surveillance en vue d'une mise en œuvre réussie de l'IMAP.

Conformément aux conclusions et recommandations des réunions intégrées des groupes de correspondance sur la mise en œuvre de l'approche écosystémique de l'IMAP (CORMON) (vidéoconférence, 1-3 décembre 2020), et en particulier au paragraphe 22, la Réunion des CORMON a demandé au Secrétariat de modifier les Lignes directrices/Protocoles de surveillance en abordant les propositions techniques convenues qui ont été décrites dans le rapport de la Réunion et de soumettre l'ensemble de ces documents à la réunion des points focaux du MED POL. Les réunions intégrées des CORMON n'ayant pas demandé de modifications supplémentaires de ces Lignes directrices/Protocoles de surveillance, ceux-ci sont soumis à l'examen de la présente Réunion des points focaux du MED POL tels qu'ils ont été examinés et approuvés par les réunions intégrées des CORMON.

## Liste des abréviations / acronymes

<b>DBO</b>	Demande biologique en oxygène
<b>BEE</b>	Bon état écologique
<b>BODC</b>	Centre britannique de données océanographiques
<b>CAS</b>	Le numéro de registre CAS est un identifiant numérique unique attribué par le Chemical Abstracts Service (CAS)
<b>CI</b>	Indicateur commun
<b>CdP</b>	Conférence des parties
<b>CI</b>	Indicateur commun
<b>CORMON</b>	Groupe de correspondance sur la surveillance
<b>EcAp</b>	Approche écosystémique
<b>HELCOM</b>	Commission pour la protection du milieu marin dans la zone de la mer Baltique – Commission d’Helsinki
<b>LD</b>	Limite de détection
<b>IMAP</b>	Programme de surveillance et d’évaluation intégrées de la mer et des côtes méditerranéennes et les critères d’évaluation connexes
<b>INFO/RAC</b>	Centre d’information et de communication de la Convention de Barcelone
<b>IPTS-68</b>	Échelle internationale pratique des températures de 1968
<b>IRM</b>	Matériel de référence interne
<b>ISO</b>	Organisation internationale de normalisation
<b>ITS-90</b>	Échelle internationale de température de 1990
<b>IUPAC</b>	Union internationale de la chimie pure et appliquée
<b>MEDPOL</b>	Programme coordonné de surveillance continue et de recherche en matière de pollution dans la Méditerranée
<b>MSFD</b>	Directive-cadre Stratégie pour le milieu marin
<b>NBS</b>	Bureau national des normes
<b>OE</b>	Objectif écologique
<b>OSPAR</b>	Convention for the Protection of the Marine Environment for the North-East Atlantic
<b>PAM</b>	Plan d’action pour la Méditerranée
<b>SCOR</b>	Comité scientifique pour les recherches océaniques
<b>SI</b>	Système international d’unités (SI, abrégé du Système international (d’unités) français)
<b>SYKE</b>	Institut environnemental finlandais (Suomen Ympäristökeskus)
<b>UNESCO</b>	Organisation des Nations Unies pour l’éducation, la science et la culture
<b>USAC</b>	Unit Standard Atmospheric Concentration

## 1. Introduction

1. Les présentes lignes directrices de surveillance pour la détermination des paramètres chimiques hydrographiques décrivent les paramètres chimiques de base que sont l'oxygène dissous et le pH. L'oxygène dissous (OD) est un composant essentiel qui détermine la qualité de l'eau et la trophodynamique d'un système aquatique. D'autre part, le pH est aujourd'hui important principalement en raison du processus d'acidification : lorsque le CO<sub>2</sub> est absorbé par l'eau de mer, une série de réactions chimiques se produisent, entraînant une augmentation de la concentration en ions hydrogène (pH). Ce processus a des implications de grande envergure pour l'océan et les espèces qui y vivent.

2. Les protocoles de l'IMAP élaborés dans le cadre des présentes lignes directrices de surveillance pour la détermination des paramètres chimiques hydrographiques fournissent des conseils détaillés sur l'équipement nécessaire, les réactifs chimiques, les procédures analytiques ainsi que les méthodologies appropriées pour la mesure des principaux paramètres chimiques hydrographiques, les calculs, la transformation des données si nécessaire, et identifient les points faibles. Ils comprennent également des observations importantes et une description des problèmes éventuels. Toutefois, ces protocoles sont conçus pour être non pas des manuels de formation analytique, mais des lignes directrices pour les laboratoires méditerranéens, qu'il convient de tester et de modifier en conséquence, si nécessaire, afin d'en valider les résultats finaux.

3. Les présentes lignes directrices de surveillance s'appuient sur les fiches d'orientation relatives aux indicateurs communs 13 et 14 du Programme intégré de surveillance et d'évaluation (IMAP) du PNUE/PAM (PNUE/PAM, 2019)<sup>1</sup>, sur les protocoles normalisés (PNUE/PAM, 2019a)<sup>2</sup> et sur les systèmes d'assurance qualité des données (PNUE/PAM, 2019b)<sup>3</sup>, afin de permettre la comparabilité des données et la mise en place de systèmes d'évaluation régionaux. Elles tiennent également compte des techniques d'échantillonnage et d'analyse auparavant utilisées pour la stratégie de surveillance de l'eutrophisation du MED POL (PNUE/PAM/MED POL, 2005)<sup>4</sup>, tout en fournissant des procédures détaillées qui sont pertinentes pour la mise en œuvre de l'IMAP. Les détails des protocoles relatifs aux paramètres chimiques hydrographiques permettent de répondre aux besoins des mesures tant dans les zones off-shore que dans les zones côtières étroites.

4. Dans les sous-chapitres « Symbole, unités et précision » à la fin de chaque protocole, le symbole et l'unité suggérés par le Système international d'unités (SI) de tous les paramètres qui y sont décrits sont présentés. L'exactitude, la précision et, si possible, la limite de détection (LD) attendues sont également présentées. Un identificateur de méthode est également présenté tel qu'il est fourni dans la bibliothèque P01 du Vocabulaire d'utilisation des paramètres du British Oceanographic Data Centre (BODC), respectivement inclus dans les dictionnaires de données et les modèles de données pour l'eutrophisation intégrés au système d'information pilote de l'IMAP.

5. Le diagramme ci-dessous indique la catégorie des présentes lignes directrices de surveillance relatives à la détermination des paramètres chimiques hydrographiques dans la structure de toutes les lignes directrices de surveillance élaborées pour les indicateurs communs 13, 14, 17, 18 et 20 de l'IMAP.

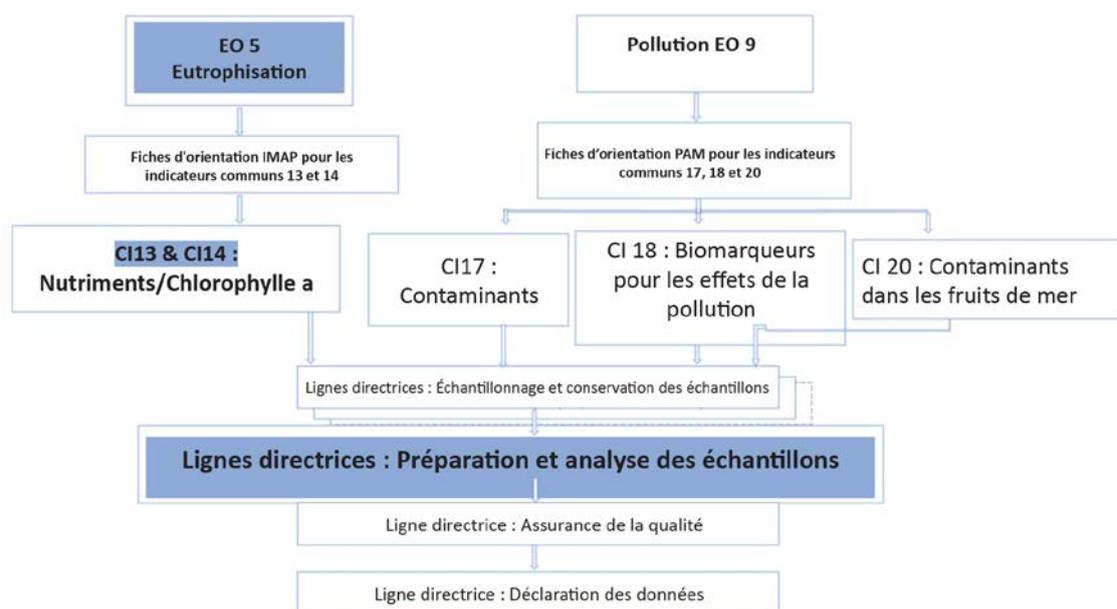
---

<sup>1</sup> (UNEP/MAP, 2019), UNEP/MED WG.467/5. IMAP Guidance Factsheets: Update for Common Indicators 13, 14, 17, 18, 20 and 21: New proposal for candidate indicators 26 and 27.

<sup>2</sup> (UNEP/MAP, 2019a), UNEP/MED WG.463/6. Monitoring Protocols for IMAP Common Indicators related to pollution.

<sup>3</sup> (UNEP/MAP, 2019b), UNEP/MED WG.467/10. Schemes for Quality Assurance and Control of Data related to Pollution

<sup>4</sup> UNEP/MAP/MED POL, 2005. Sampling and Analysis Techniques for the Eutrophication Monitoring Strategy of MED POL. MAP Technical Reports Series No. 163. UNEP/MAP, Athens, 46 pp.



**Organigramme : Lignes directrices pour la surveillance des objectifs écologiques 5 et 9 de l'IMAP**

## 2. Note technique sur la mesure de l'oxygène dissous

6. La concentration d'oxygène dissous (OD) présent dans l'eau de mer dépend de facteurs physico-chimiques, qui déterminent la solubilité du gaz, et d'activités biologiques (photosynthèse et respiration). En connaissant la température et la salinité de l'eau, il est possible de déterminer la concentration de l'oxygène dissous théorique ne tenant pas compte des processus de production et de consommation organiques. Le déséquilibre positif (sur-saturation) ou négatif (sous-saturation) entre la concentration d'oxygène obtenue expérimentalement et la concentration théorique est souvent utilisé comme estimation des processus prévalent dans la colonne d'eau, c'est-à-dire la prévalence de la production d'oxygène par les processus de photosynthèse, ou de la consommation par les processus de minéralisation des débris organiques. À partir d'une détermination précise de la concentration en OD, il est donc possible d'estimer la production et la respiration nettes de la communauté planctonique.

7. Dans le cadre de la présente note technique, les directives de surveillance pour la détermination des paramètres chimiques hydrographiques élaborent le protocole de préparation des échantillons et d'analyse de l'oxygène dissous dans l'eau de mer par la méthode Winkler.

### 2.1. Protocole de préparation des échantillons et l'analyse de l'oxygène dissous dans l'eau de mer par la méthode de Winkler

8. Il s'agit d'un procédé de titrage pour la détermination de l'OD, basé sur la méthode développée par Winkler en 1888 (Winkler 1888)<sup>5</sup>. Elle a subi plusieurs modifications pour englober les interférences, et la méthode de base pour la détermination de la concentration en oxygène est aujourd'hui celle élaborée par Grasshoff (1983)<sup>6</sup>. Il s'agit d'un titrage iodométrique, dans lequel la quantité d'oxygène dans l'échantillon est déterminée indirectement par l'intermédiaire de l'iode. Il s'agit de la procédure titrimétrique la plus précise et la plus fiable pour l'analyse de l'OD.

9. *En bref* : On ajoute une solution de manganèse divalent puis un agent alcalin fort à un échantillon d'eau dans une bouteille à bouchon de verre. Tout OD présent dans l'échantillon oxyde rapidement une quantité équivalente du précipité d'hydroxyde de manganèse divalent dispersé en

<sup>5</sup> Winkler, L.W., 1888. Die Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffes. Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft, 21: 2843–2855.

<sup>6</sup> Grasshoff, K., 1983. Determination of oxygen. In: Grasshoff, K., Ehrhardt M., Kremling K. (eds), Methods of Seawater Analysis, Verlag Chemie, Weinheim: 61-72.

hydroxydes. L'échantillon est ensuite acidifié avec du  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . En présence d'ions iodure dans une solution acide, le manganèse oxydé revient à l'état divalent, avec une libération d'iode équivalente à la teneur initiale en OD. L'iode est ensuite titré avec du thiosulfate de sodium et de l'amidon comme indicateur. Pour l'analyse d'échantillons de terrain, il est préférable de procéder à l'analyse de l'OD sur place, car cela réduit les risques d'altération de l'échantillon, par équilibrage atmosphérique, de changements de température et de perte de gaz.

a. Préparation des échantillons

a1. Équipement

10. L'équipement pour la préparation d'échantillons d'oxygène dissous dans l'eau de mer par la méthode Winkler comprend :

- i) Tube en plastique transparent (par exemple Tygon) à raccorder aux robinets des bouteilles de prélèvement ;
- ii) Bouteilles en pyrex de 60 à 90 ml, type BOD, avec bec de flûte moulu ou bouchon tronconique arrondi. Chaque bouteille doit avoir été pré-calibrée pour son volume bouchon fermé avec une précision de  $\pm 0,1$  ml ;
- iii) Verrerie de laboratoire ;
- iv) Distributeur, micropipettes automatiques ou seringues en polyéthylène avec des encoches tous les 0,5 ml ;
- v) Récipient isolé, à l'abri de la lumière ;
- vi) Flacons jaugés de 100 ml ;
- vii) 6 bouteilles pour la détermination du blanc de réactif. Ces bouteilles doivent être choisies parmi celles dont le volume utilisé pour le prélèvement d'oxygène est connu, de préférence de manière à ce qu'elles soient deux par deux de volume égal ( $\pm 0,1$  ml), et avec une différence de volume entre une paire et la suivante de  $1 \pm 0,1$  ml.

a.2. Produits chimiques

11. Les réactifs et produits chimiques suivants sont nécessaires :

- i) chlorure de manganèse [ $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ] ou sulfate de manganèse [ $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ] ;
- ii) hydroxyde de sodium [ $\text{NaOH}$ ] ou hydroxyde de potassium [ $\text{KOH}$ ] ;
- iii) iodure de potassium [ $\text{KI}$ ].

a.3. Préparation des réactifs

*Solution de  $\text{Mn}_2^+$  (R1)*

12. 40 g de  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  ou 35 g de  $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$  sont dissous dans 80 ml d'eau de qualité réactif et ajustés au volume dans un flacon de 100 ml. Le réactif, s'il est conservé dans une bouteille fermée et s'il n'est pas contaminé par inadvertance par du R2 contenant de l'iodure, est indéfiniment stable.

*Solution alcaline de l'ion I (R2)*

13. 20 g d'hydroxyde de sodium ou 30 g d'hydroxyde de potassium sont dissous dans 40 ml d'eau de qualité réactif. 60 g d'iodure de potassium sont dissous dans 40 ml d'eau de qualité réactif. Les deux solutions sont progressivement mélangées dans un flacon et ajustées à un volume final de 100 ml avec  $\text{H}_2\text{O}$ . La solution doit ensuite être conservée dans une bouteille en plastique foncée et bien fermée. Si elle n'est pas contaminée par le R1 ou par des agents réducteurs ou oxydants, elle est indéfiniment stable.

a.4. Procédure

14. Le sous-échantillonnage de l'OD de la bouteille de type Niskin, ou similaire, doit être effectué rapidement car le gaz dissous a tendance à s'équilibrer avec l'atmosphère. Ce processus est encore accéléré par la différence de température existant entre l'échantillon et l'environnement.

15. Pour le sous-échantillonnage, on connecte le tube en plastique transparent à la bouteille Niskin, éventuellement d'un diamètre ne dépassant pas 5 mm et d'une longueur pouvant facilement atteindre le fond des bouteilles DBO pour le prélèvement de l'échantillon.

16. Les bouteilles, préalablement nettoyées des résidus des échantillonnages et analyses précédents, sont rincées avec l'eau de l'échantillon à analyser. Pour éviter la formation d'une couche d'oxygène sursaturée le long des parois, il convient de ne pas agiter les bouteilles trop vigoureusement.

17. On laisse l'échantillon s'écouler dans la bouteille, en vérifiant que le tube de remplissage ne contient pas de bulles d'air et en évitant que des bulles d'air ne se forment dans l'échantillon. Le tube de prélèvement doit toucher le fond de la bouteille, qui doit être remplie lentement en faisant déborder une quantité d'eau égale à au moins la moitié de son volume total.

18. Le tube est retiré lentement de la bouteille, en laissant toujours couler l'eau, de sorte que la bouteille reste toujours pleine à ras bord. Avant d'ajouter les réactifs, il convient de vérifier qu'aucune bulle d'air n'est emprisonnée dans la bouteille, sinon la bouteille doit être vidée et l'opération de remplissage répétée.

19. Pour des bouteilles DBO d'environ 100 ml, on ajoute 0,5 ml de R1 et 0,5 ml de R2 en succession rapide, à l'aide de deux distributeurs automatiques ou de deux seringues normales équipées d'une aiguille longue et étroite afin d'injecter les réactifs au moins sous la surface libre de l'échantillon, de préférence au fond de la bouteille. Si des bouteilles DBO d'un volume autre que 100 ml environ sont utilisées, des volumes proportionnels de R1 et R2 sont ajoutés.

20. Le bouchon est soigneusement inséré, en évitant la formation de bulles d'air entre le bouchon et le liquide et en laissant l'excès d'eau s'échapper. On agite ensuite la bouteille, correctement bouchée, en la retournant plusieurs fois pendant au moins 30 secondes.

21. Les bouteilles sont placées dans un endroit sombre à une température similaire à celle du prélèvement. Une fois le précipité déposé pour 2/3 du volume, les bouteilles sont de nouveau agitées. Pour limiter davantage la possibilité d'échange de gaz avec l'environnement, il est suggéré de maintenir le bouchon fermement pressé sur le col de la bouteille, en utilisant par exemple des élastiques, du ruban adhésif, etc.

#### Échantillonnage pour la détermination du blanc de réactif

22. Les bouteilles présélectionnées pour les blancs sont prélevées dans la même bouteille de prélèvement, de préférence pas dans celle correspondant au niveau de la surface.

23. Une dose de chaque réactif est ajoutée à la paire de bouteilles de plus faible volume, deux doses au volume supérieur à 1 ml et trois doses au volume supérieur à 2 ml. Cette opération doit être effectuée au moins une fois au cours d'une journée de prélèvement.

#### a.5. Stockage des échantillons

24. Les échantillons fixés doivent être stockés dans l'obscurité et à une température aussi proche que possible de celle de l'échantillonnage, et analysés le jour même de l'échantillonnage.

25. Théoriquement, les échantillons fixés pourraient être conservés plus longtemps s'il n'y avait pas de diffusion gazeuse à travers les bouchons de liège, ce qui se produit malheureusement, bien qu'à des degrés différents, dans toutes les bouteilles. Afin de réduire ce phénomène, il est courant de garder les bouteilles, bien fermées, complètement immergées dans de l'eau à la même température d'origine que l'échantillon.

#### b. Procédure analytique

##### b.1. Équipement du laboratoire

26. L'équipement pour l'analyse de l'oxygène dissous dans l'eau de mer par la méthode Winkler comprend :

- i) des flacons jaugés de classe A de 1 l
- ii) une micro-burette en verre ou à piston de 1 ml ou 5 ml
- iii) 5 bouteilles en pyrex du même type que celles utilisées pour le prélèvement
- iv) une micropipette de précision de 0,500 ml ; une micropipette de 0,200 ml
- v) une lampe fluorescente avec écran opaque ou diffuseur
- vi) un agitateur magnétique à froid
- vii) des agitateurs magnétiques
- viii) 2 distributeurs automatiques ou micropipettes ou seringues en polyéthylène avec des encoches tous les 0,5 ml (pour les réactifs de l'oxygène)
- ix) un distributeur de 1 ml (pour l'acide sulfurique concentré).

27. Au lieu de la micro burette, on peut utiliser :

- i) un titreur potentiométrique ;
- ii) une électrode redox combinée au platine, semi-micro.

### b.2. Produits chimiques

28. Les réactifs et produits chimiques suivants sont nécessaires :

- i) Thiosulfate de sodium [ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ] ;
- ii) Iodate de potassium [ $\text{KIO}_3$ ], si possible ultra-pur ;
- iii) Chlorure de sodium [ $\text{NaCl}$ ] ;
- iv) Chloroforme [ $\text{CHCl}_3$ ] ou azoture de sodium [ $\text{NaN}_3$ ] ;
- v) Amidon soluble ;
- vi) Acide sulfurique concentré, de qualité analytique [ $\text{H}_2\text{SO}_4$ ].

### b.3. Préparation des réactifs

*Solution de thiosulfate  $\sim 0,1 \text{ mol L}^{-1}$  (ou  $\sim 0,1 \text{ M}$ )*

29. 24,82 g de  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  sont dissous dans 800 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  de qualité réactif dans un flacon jaugé de 1 l et ajustés au trait de jauge. Quelques gouttes de chloroforme ou d'azoture de sodium sont ajoutées comme stabilisateur.

30. La solution doit être conservée dans un flacon en verre foncé. Comme le thiosulfate est impliqué dans de nombreuses réactions d'oxydoréduction, la solution est relativement instable et doit donc être normalisée par rapport à la solution d'iodate de potassium avant et après utilisation. Il est possible d'utiliser des flacons commerciaux pré-stabilisés de solution de thiosulfate de titre connu.

*Solution étalon de  $\text{KIO}_3$   $0,01667 \text{ mol L}^{-1}$  (ou  $0,01667 \text{ M}$ )*

31. On sèche environ 5 g d'iodate dans un four à  $110^\circ\text{C}$  pendant au moins une heure que l'on refroidit ensuite dans le séchoir, ou bien on prélève directement dans une solution mère qui a été séchée et stockée à froid dans un séchoir en présence d'un déshydrateur puissant. On pèse avec précision 3,567 g que l'on dissout quantitativement dans 800 ml d'eau de qualité réactif dans un flacon jaugé de 1 l (classe A). On ajuste la solution au volume à une température voisine de celle de l'étalonnage du flacon (généralement  $20\text{-}25^\circ\text{C}$ ). On peut également trouver des flacons standard iodés dans le commerce.

32. La solution doit ensuite être stockée dans des bouteilles en verre foncé à bouchon étanche, conservées à l'abri du soleil et ouvertes le moins longtemps possible et uniquement pour le prélèvement d'échantillons. Dans ces conditions, on peut considérer que la solution standard est stable pendant au moins un an.

*Solution d'amidon colloïdal stabilisée (soudure à l'amidon)*

33. On prépare une solution saturée de chlorure de sodium en dissolvant environ 350 g de cette substance dans 1 l d'eau distillée dans un bécher. On dissout à chaud 10 g d'amidon soluble dans la solution saturée de chlorure de sodium.

La solution doit être conservée dans une bouteille sombre et peut être utilisée jusqu'à ce qu'elle devienne trouble et qu'elle floccule.

#### b.4. Préparation de solutions étalons

34. On remplit 5 bouteilles DBO aux 3/4 du volume au moins d'eau de mer ou d'eau distillée et on rajoute successivement 0,5 ml d'acide sulfurique concentré, 0,5 ml de R2 et 0,5 ml de réactif R1 dans chacune d'entre elles en utilisant les mêmes distributeurs que ceux utilisés pour « fixer » les échantillons. Il est préférable d'effectuer ces opérations sous agitation continue en attendant le mélange complet de chaque réactif avant d'ajouter le suivant. Les bouteilles peuvent ensuite être bouchées et stockées dans l'obscurité jusqu'à ce que la solution étalon d'iodate soit ajoutée ;

35. On ajoute exactement 10,00 ml de solution étalon de  $\text{KIO}_3$  à chaque bouteille à l'aide d'une pipette automatique ;

36. La bouteille est agitée quelques secondes et placée dans l'obscurité pendant environ 1 minute pour permettre à la réaction de dismutation de l'iodate d'avoir lieu en produisant de l'iode moléculaire. Les étalons sont ensuite titrés avec la solution de thiosulfate comme indiqué ci-dessous pour les échantillons.

#### b.5. Analyse des échantillons

##### *Dissolution du précipité*

37. On note le numéro de la bouteille et son volume ;

38. On retire délicatement le bouchon de la bouteille contenant le précipité que l'on place sur l'agitateur magnétique éteint ;

39. On plonge rapidement un agitateur magnétique dans la bouteille en essayant de soulever le moins de précipité possible, on rajoute 0,5 ml d'acide sulfurique concentré à l'aide d'un distributeur puis on démarre l'agitateur en ajustant sa vitesse afin d'éviter la formation de tourbillons et de turbulences ;

40. Lorsque la dissolution du précipité est complète (la solution prend alors une couleur jaunâtre claire en raison de la présence d'iode), on effectue sans attendre le titrage avec du thiosulfate de sodium.

##### *Titration*

41. On plonge la pointe de la burette contenant la solution de thiosulfate dans le flacon contenant l'échantillon ou l'étalon ;

42. On délivre la solution de thiosulfate, rapidement, d'abord puis plus lentement lorsque la couleur jaune de l'échantillon s'éclaircit. Il est important d'arrêter de délivrer la solution avant la disparition totale de la couleur jaune.

43. Lorsque la solution est presque incolore, on allume la lampe et on ajoute environ 0,2 ml de solution d'amidon (une couleur violette intense apparaît). On peut alors délivrer à nouveau le thiosulfate lentement jusqu'à ce que la couleur bleue disparaisse presque complètement.

44. Au bout de quelques secondes, lorsqu'on observe le flacon en transparence contre une lumière fluorescente diffuse, une légère coloration dispersée comme un nuage apparaît dans la bouteille. Le titrage se déroule très lentement jusqu'à la disparition complète de la couleur, point final (EP) du titrage. On note le volume de thiosulfate ajouté.

45. Si un titre automatique avec électrode combinée redox/platine est utilisé, le programme de titrage doit montrer une diminution du débit du titrant près de l'EP qui correspondra au point d'inflexion de la courbe de titrage.

c. Calculs

c.1. Normalisation du thiosulfate ( $C_{tio}$ )

46. Les étalons de  $KIO_3$  préparés sont titrés avec la solution de thiosulfate ~ 0,1 M (voir « Préparation des réactifs »).

47. Le titre molaire  $C_{tio}$  de la solution de thiosulfate est :

$$c_{tio} = 6 * (V_{KIO_3} * c_{KIO_3}) / V_{tio}$$

où

$c_{tio}$  = concentration molaire exacte (M) de la solution de  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$

$V_{KIO_3}$  = volume en ml de l'étalon de  $KIO_3$  injecté (voir « Préparation des solutions étalons »)

$c_{KIO_3}$  = concentration molaire (0,01667 M) de l'étalon de  $KIO_3$  utilisé

$V_{tio}$  = volume en ml de thiosulfate nécessaire pour titrer l'étalon

48. La moyenne et l'écart type de  $V_{tio}$  dans les réplicats doivent être calculés et toute valeur qui diffère de plus de deux écarts types de la moyenne doit être rejetée. La moyenne et l'écart-type de  $V_{tio}$  qui seront utilisés dans le calcul de  $c_{tio}$  doivent être recalculés avec les nouvelles valeurs.

c.2. Détermination du blanc de réactif

49. Les 3 paires de bouteilles dédiées à la détermination du blanc doivent être titrées et le volume de thiosulfate utilisé doit être noté. La concentration d'OD (voir « Calcul de la concentration d'oxygène dissous ») doit être calculée comme si le blanc ( $c_{bl}$ ) était égal à zéro. La pente de la ligne de corrélation entre les concentrations d'OD ainsi obtenues et le volume de R1 + R2 ajouté correspond à

50. Une méthode plus simple consisterait à calculer la différence entre les valeurs moyennes de chaque paire de bouteilles et la suivante, mais étant donné la grande variabilité des différences, cette méthode ne doit être considérée que comme une alternative. Cette procédure permet de déterminer le blanc de réactif, et non celui de l'échantillon, c'est-à-dire la présence dans l'échantillon de substances chimiques interférentes (par exemple l'iodate) capables de produire de l'iode élémentaire dans la solution acidifiée. Si le niveau de précision souhaité l'exige, le blanc doit également être mesuré pour chaque échantillon, selon la procédure proposée par Tijssen et van Bennekom (1989)<sup>7</sup>.

c.3. Calcul de la concentration micro-molaire (M ou  $\mu mol L^{-1}$ ) d'oxygène dissous

51. L'équation suivante s'applique au calcul de la concentration micro-molaire (M ou  $\mu mol L^{-1}$ ) de l'oxygène dissous :

$$c(O_2)/\mu mol L^{-1} = [(c_{tio} \cdot V_{tio}) / (4 \cdot (Y-y)) \cdot 10^6] - c_{bl}$$

où :

$c_{tio}$  = concentration molaire exacte de la solution de  $Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$ , d'après la procédure de normalisation

$V_{tio}$  = volume en ml de thiosulfate nécessaire pour titrer l'échantillon inconnu

$c_{bl}$  = blanc de réactif (voir détermination du blanc de réactif)

<sup>7</sup> Tijssen S.B., Van Bennekom A.J., 1989. High precision determination of dissolved oxygen. ICES C.M. 1989/c:6, Annex C: 11-12.

$Y$  = volume en ml du flacon de DBO spécifique utilisé pour chaque échantillon

$y$  = volume total, en ml, des réactifs R1 + R2 ajoutés à chaque flacon d'échantillon (dans le cas indiqué, 1 ml)

#### c.4. Transformations :

52. La transformation des unités doit suivre le schéma prévu ci-dessous :

Unité A	Unité B	Facteur de transformation
mg/L	mL/L	0.7
mL/L	mg/L	1.429
µmol/L	mL/L	11.196
mL/L	µmol/L	0.0893
mg/L	µmol/L	0.06251
µmol/L	mg/L	15.997

#### d. Oxygène dissous exprimé en pourcentage de la valeur de saturation

53. Le calcul du pourcentage de la valeur de saturation ne peut être effectué qu'en connaissant la valeur de la solubilité de l'oxygène dans l'échantillon d'eau de mer qui a été analysé. On sait que la solubilité d'un gaz dans un liquide dépend non seulement des propriétés du solvant (composition et température), mais aussi de la pression partielle exercée sur la solution par le gaz en question (loi de Henry). La valeur de solubilité correspond donc à la quantité d'oxygène qui se dissoudrait dans l'eau dans des conditions d'équilibre entre la couche superficielle de la mer et l'atmosphère au-dessus.

54. Pour le déterminer, on se réfère à un échantillon en équilibre thermodynamique avec un mélange gazeux de composition égale à l'atmosphère standard, à la pression d'une atmosphère standard (fraction molaire d'oxygène = 0,20946) et saturé de vapeur d'eau. Selon que la concentration en oxygène est liée à l'unité de masse ou de volume du solvant, on obtient deux valeurs de concentration, appelées USAC (acronyme de « Unit Standard Atmospheric Concentration »). Ces valeurs sont représentées par les symboles  $C_0^i$  et  $C_0^*$  selon la symbologie introduite par Benson et Krause (1980<sup>8</sup>, 1984<sup>9</sup>). Ces quantités ont récemment été recalculées sur la base d'une procédure plus rigoureuse introduite par les auteurs eux-mêmes et recommandée par la suite par l'UNESCO (Millero, 1986)<sup>10</sup> pour remplacer les valeurs contenues dans les tables océanographiques de l'UNESCO (1973)<sup>11</sup> qui étaient basées sur les algorithmes de Weiss (1970)<sup>12</sup>.

55. L'équation est le produit d'interpolations numériques de données obtenues à partir d'équations qui calculent plus rigoureusement les quantités nécessaires. En outre, il convient de noter que l'équation est basée sur l'échelle pratique des températures de 1968 (IPTS-68) et que, par conséquent, si des valeurs mesurées sur la base de l'échelle ITS-90 sont utilisées, les conversions appropriées doivent être appliquées.

#### d.1. Calculs

56. L'équation suivante s'applique pour le calcul de l'oxygène dissous exprimé en pourcentage de la valeur de saturation :

<sup>8</sup> Benson B.B., Krause D. Jr., 1980. The concentration and isotopic fractionation of gases in freshwater in equilibrium with atmosphere. *Limnol. Oceanogr.*, 25: 662-671.

<sup>9</sup> Benson B.B., D. Krause, Jr., 1984. The concentration and isotopic fractionation of oxygen dissolved in freshwater and seawater in equilibrium with atmosphere. *Limnol. Oceanogr.*, 29: 620-632.

<sup>10</sup> Millero F.J., 1986. Solubility of oxygen in seawater. *UNESCO Technical Papers in Marine Science*, 50: 13- 17.

<sup>11</sup> UNESCO. 1973. *International oceanographic tables*, Vol. 2. NIO-UNESCO, Paris.

<sup>12</sup> Weiss, R.F., 1970. The solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater. *Deep-Sea Research*, 17: 721-735.

$$\varphi(O_2/O_2') = 100 \cdot c(O_2)/C_0$$

où

$$\ln C_0 = a_0 + a_1/T + a_2/T^2 + a_3/T^3 + a_4/T^4 - S \cdot (b_0 + b_1/T + b_2/T^2)$$

57. Dans l'équation,  $C_0$  correspond à la concentration de l'OD théorique  $C_0^i$  et  $C_0^*$  rapportées par unité de volume. Les constantes à insérer dans l'équation sont :

$$\begin{aligned} a_0 &= -135.90205 \\ a_1 &= 1.575701 \cdot 10^5 \\ a_2 &= -6.642308 \cdot 10^7 \\ a_3 &= 1.243800 \cdot 10^{10} \\ a_4 &= -8.621949 \cdot 10^{11} \\ b_0 &= 0.017674 \\ b_1 &= -10.754 \\ b_2 &= 2140.7 \end{aligned}$$

*e. Observations importantes*

58. Lors de la fixation des échantillons, le contact entre les réactifs R1 et R2 doit être évité.

59. Lors d'un titrage manuel, il faut utiliser le même critère pour identifier le PE de titrage à la fois pour les étalons et les échantillons. Il convient dans l'idéal d'éviter de changer d'opérateur.

60. Le titrage doit être effectué rapidement, en ne diminuant le flux de thiosulfate qu'à proximité de l'EP de titrage, afin de minimiser les erreurs dues à la photo-oxydation de l'iodure et à la réduction de l'iode par l'amidon.

*f. Problèmes éventuels*

61. Un problème fréquent est la formation de bulles dans la bouteille contenant l'échantillon ; pour éviter ce phénomène, les bouteilles doivent être lavées avec des détergents et rincées abondamment.

62. Parfois, une bulle d'air se forme sous le bouchon de la bouteille contenant l'échantillon déjà fixé ; dans ce cas, l'existence éventuelle d'une erreur due à l'excès, même non quantifiable, de la quantité d'oxygène dissous doit être prise en compte et notée.

*g. Symbole, unités et précision*

63. Pour les paramètres décrits dans le présent protocole, les symboles et unités suggérés par le Système international d'unités (SI), ainsi que la précision attendue, et les identificateurs de méthode tels que fournis dans la bibliothèque P01 du Vocabulaire d'utilisation des paramètres du BODC sont fournis comme suit :

**Concentration de l'oxygène dissous**

**Symbole :**  $c(O_2)$  **Unité**  $\mu\text{mol L}^{-1}$

**Précision :** 0,1

**Identificateur de méthode :** SDN:P01::DOXYWITX Concentration d'oxygène {O2 CAS 7782-44-7} par unité de volume de la masse d'eau [phase particulière dissoute et réactive] par titrage de Winkler

**Saturation en oxygène dissous**

**Symbole :**  $\varphi(O_2/O_2')$  **Unité :** % (en pourcentage)

**Précision :** 0,1

**Identificateur de méthode :** SDN:P01::OXYSBW01 Saturation en oxygène {O<sub>2</sub> CAS 7782-44-7} dans la masse d'eau [phase particulaire dissoute et réactive] par titrage de Winkler et calcul de la concentration à partir de l'algorithme de Benson et Krause

### 3. Note technique sur la mesure du pH

64. L'acidification des océans étant une préoccupation croissante, la surveillance du pH est nécessaire pour étudier l'acidification et ses effets sur le système tampon carbonate. Comme de nombreux processus biologiques importants sont susceptibles d'être affectés par des changements rapides du pH, il est important d'inclure une détermination précise du pH parmi les paramètres de surveillance.

65. Le pH est défini de manière opérationnelle, et plusieurs échelles de pH sont utilisées dans la surveillance de l'environnement. L'échelle NBS (National Bureau of Standards) est adaptée aux eaux de faible force ionique et utilisée pour la surveillance des eaux douces. On utilise souvent une échelle de la concentration en ions hydrogène pour déterminer le pH des eaux océaniques.

66. Le pH est également utilisé dans la surveillance du milieu marin comme cofacteur dans les mesures de la production primaire.

67. Deux principes différents de mesure du pH sont disponibles : la détection potentiométrique et la détection spectrophotométrique. La détection potentiométrique a l'avantage d'être rapide et simple, et ne nécessite aucun équipement avancé ou coûteux. Les tampons utilisés pour l'étalonnage doivent idéalement avoir une force ionique correspondant à celle des échantillons, ce qui est difficile lorsqu'on surveille une zone présentant un gradient de salinité important. Plusieurs pH-mètres, électrodes et tampons sont disponibles dans le commerce.

68. La détection spectrophotométrique est plus exacte, a une plus grande précision, mais nécessite un équipement coûteux. Elle est couramment utilisée pour les mesures dans des conditions océaniques, mais plus rarement pour des mesures en eaux estuariennes. Les applications commerciales des méthodes spectrophotométriques n'étant pas très répandues, les utilisateurs doivent assembler des instruments et des logiciels pour le traitement des données. Les méthodes basées sur la détection spectrophotométrique ne sont donc pas encore recommandées à des fins de contrôle.

69. Par conséquent, dans le cadre de la présente note technique, les lignes directrices pour la surveillance de la détermination des paramètres chimiques hydrographiques élaborent les deux protocoles suivants : i) le protocole de préparation des échantillons et d'analyse du pH par une méthode potentiométrique ; et ii) le protocole de préparation des échantillons et d'analyse du pH par une méthode spectrophotométrique.

#### 3.1. Protocole de préparation des échantillons et d'analyse du pH par une méthode potentiométrique

70. Le pH est mesuré à l'aide d'une électrode combinée en verre. Il convient d'utiliser l'échelle de concentration en ions hydrogène. La température est mesurée et enregistrée à la fois pendant la mesure du pH et à la profondeur de l'échantillonnage.

71. Les sous-échantillons pour le pH doivent être prélevés le plus tôt possible dans les bouteilles de prélèvement (après les échantillons pour l'oxygène et le sulfure d'hydrogène, mais avant les échantillons pour les nutriments et la salinité) afin d'éviter les échanges gazeux entre l'eau et l'air. Les échantillons doivent être prélevés dans des bouteilles étanches au gaz. Les bouteilles doivent être rincées abondamment avec de l'eau d'échantillonnage avant d'être remplies. Les bouteilles sont remplies d'un flux laminaire d'eau d'échantillonnage, permettant à 2 ou 3 volumes de bouteilles de déborder avant le bouchage. Les bouteilles doivent être complètement remplies, sans laisser d'espace libre. Il faut prendre garde de ne pas piéger des bulles d'air en bouchant les bouteilles. Les échantillons doivent de préférence être analysés le plus rapidement possible, directement après le prélèvement.

72. La détermination du pH à l'aide d'une électrode en verre est décrite dans la norme ISO 10523<sup>13</sup>.
73. La température doit être surveillée et contrôlée pendant l'étalonnage de l'instrument et l'analyse, de préférence en utilisant un bain d'eau tempérée. Veillez à ce que la température des tampons et des échantillons soit constante ( $\pm 1^\circ\text{C}$ ) pendant le processus. Pour maintenir une température constante, il est recommandé de choisir une température de bain légèrement supérieure à la température ambiante (pour une température ambiante normale, on réglerà la température du bain à  $25^\circ\text{C}$ , dans un environnement plus frais, il faudra peut-être utiliser  $20^\circ\text{C}$ ). L'analyse du pH peut également être effectuée à  $+ 15^\circ\text{C}$  dans un bain de refroidissement dont il a été démontré qu'il donnait des résultats comparables.
74. Le pH-mètre doit être calibré quotidiennement lorsqu'il est utilisé. On suivra pour cela les instructions du fabricant pour un étalonnage en deux points (pH 7 et pH 9 sont recommandés). Des tampons NBS sont utilisés pour l'étalonnage. Il faut faire attention aux dates d'expiration des tampons.
75. L'électrode et la sonde de température doivent être rincées à l'eau déminéralisée et essuyées entre les tampons / échantillons.
76. Il faut laisser l'électrode s'équilibrer dans l'eau de l'échantillon pendant 15 minutes avant la première mesure. Il vaut mieux attendre que l'équilibre soit atteint pour chaque échantillon avant d'enregistrer une lecture.
77. Les mesures en cellule ouverte permettent l'échange de gaz entre l'échantillon et l'air pendant la durée des mesures. Les mesures en cellule fermée éliminent les interférences.
78. Les instructions du fabricant doivent être suivies pour la manipulation et le stockage des électrodes. Les électrodes peuvent nécessiter un nettoyage et un conditionnement lorsqu'elles sont exposées à des échantillons provenant d'une zone d'intense prolifération de plancton. Une eau anoxique contenant une forte concentration de sulfure d'hydrogène peut réduire la durée de vie des électrodes.
79. Une correction pour le pH *in situ* (Gieskes, 1969)<sup>14</sup> est parfois appliquée. Une meilleure option consiste à rendre compte du pH mesuré, de la température à partir de la mesure du pH et de la température *in situ*.
80. Les valeurs de pH provenant de la détection potentiométrique doivent être indiquées avec deux décimales. Il faut également indiquer la température enregistrée lors de la mesure et celle enregistrée à la profondeur d'échantillonnage.
81. Les informations sur l'échelle de pH utilisée doivent être incluses dans les métadonnées.
82. Un protocole analytique détaillé pour l'analyse du pH par une méthode potentiométrique (Dickson et al, 2007)<sup>15</sup> est présenté à l'Annexe I. (Guide des meilleures pratiques pour la mesure du CO<sub>2</sub> dans les océans, Ch : 4. Procédure opérationnelle standard recommandée, SOP6a : Détermination du pH de l'eau de mer à l'aide d'une cellule de verre/électrode de référence).

a. Contrôle qualité

83. Les laboratoires effectuant des analyses de pH doivent avoir mis en place un système de gestion de la qualité conforme à la norme ISO 17025<sup>16</sup>.
84. Données relatives aux échantillons pour l'estimation de l'incertitude de mesure (mesures répétées d'un échantillon, sous-échantillons multiples de différents échantillonneurs fermés à la même profondeur).

<sup>13</sup> ISO 10523: Water quality – Determination of pH.

<sup>14</sup> Gieskes, J. M., 1969. Effects of temperature on the pH of seawater. *Limnology and Oceanography* Vol 14 Issue 5, p 679-685.

<sup>15</sup> Dickson, A.G., Sabine, C.L. and Christian, J.R. (Eds.) 2007. Guide to Best Practices for Ocean CO<sub>2</sub> Measurements. PICES Special Publication 3, 191 pp.

<sup>16</sup> ISO 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.

85. Un matériau de référence interne doit être analysé quotidiennement.
86. Il est fortement recommandé que tous les laboratoires participent à des comparaisons inter-laboratoires et à des programmes d'essais d'aptitude, afin de fournir une vérification externe des performances des laboratoires. Des tests d'aptitude pour le pH des eaux environnementales sont fournis par exemple par SYKE. On trouvera d'autres programmes d'évaluation des compétences à l'adresse [www.eptis.bam.de](http://www.eptis.bam.de).
87. La validation de la méthode adoptée doit être effectuée sur la matrice et la gamme de concentration pertinentes, par exemple en participant régulièrement à des études comparatives ou à des programmes de tests d'aptitude.
88. L'incertitude de la mesure doit être estimée en utilisant la norme ISO 11352<sup>17</sup>.
89. L'estimation doit être basée sur la reproductibilité interne du laboratoire, le MRI et, si elles sont disponibles, les données des tests d'aptitude et du CRM.

*b. Symbole, unités et précision*

90. Pour le paramètre décrit dans ce protocole, le symbole et l'unité suggérés par le Système international d'unités (SI), ainsi que la précision attendue, et un identificateur de méthode tel que fourni dans le référentiel P01 du « Parameter Usage Vocabulary » du BODC sont donnés comme suit :

<b>Symbole :</b> <i>pH</i>	<b>Unité :</b>
<b>Précision :</b> ± 0,003	<b>Exactitude :</b> -
<b>Identificateur de méthode :</b> SDN:P01:: PHXXPR01	pH par volume unitaire de la masse d'eau par électrode de pH

### 3.2. Protocole de préparation des échantillons et l'analyse du pH par méthode spectrophotométrique

91. La méthode spectrophotométrique de mesure du pH de l'eau de mer a été proposée récemment. Elle consiste à mesurer l'absorption visible d'un indicateur coloré du pH ajouté à l'échantillon d'eau de mer. La mesure est précise, sensible et ne nécessite théoriquement aucun étalonnage (de lignes d'étalonnage), mais l'équipement est plus coûteux et la vitesse d'analyse plus faible qu'avec la méthode potentiométrique (Dickson 1993)<sup>18</sup>. Comme indiqué précédemment, cette méthode n'est donc pas encore recommandée à des fins de contrôle. Pour comparer les valeurs de pH obtenues par cette méthode avec les valeurs potentiométriques, il faut se référer à l'échelle de pH indiquant la concentration en ions hydrogène.

92. Un protocole analytique détaillé pour l'analyse du pH par la méthode spectrophotométrique recommandée par la communauté scientifique internationale (COI et SCOR), extrait de Dickson et al. 2007, est présenté à l'Annexe II. (Guide des meilleures pratiques pour la mesure du CO<sub>2</sub> dans les océans, Ch : 4. Procédure opérationnelle standard recommandée, SOP6b : Détermination du pH de l'eau de mer à l'aide du colorant indicateur *m-crésol* violet).

*a. Symbole, unités et précision*

93. Pour le paramètre décrit dans ce protocole, le symbole et l'unité suggérés par le Système international d'unités (SI), ainsi que la précision attendue, et un identificateur de méthode tel que fourni dans le référentiel P01 du « Parameter Usage Vocabulary » du BODC sont donnés comme suit :

**Symbole :** *pH*    **Unité :**

<sup>17</sup> ISO 11352: Water quality – Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data.

<sup>18</sup> Dickson, A.G., 1993. The measurement of sea water pH. Mar. Chem., 44: 131-142.

**Précision :** 0,001

**Exactitude :**  $\pm 0,005$

**Identificateur de méthode :** SDN:P01:: **PHXXSP01** pH par volume unitaire de la masse d'eau par spectrophotométrie

**Annex I:**

**Dickson, A.G., Sabine, C.L. and Christian, J.R. (Eds.), 2007. Ch: 4. Recommended standard operating procedure, SOP6a: Determination of the pH of sea water using a glass/reference electrode cell. In: Guide to best practices for ocean CO<sub>2</sub> measurements. PICES Special Publication 3, 7 pp.**

# SOP 6a

## Determination of the pH of sea water using a glass /reference electrode cell

### 1. Scope and field of application

This procedure describes a method for the potentiometric determination of the pH of sea water on the total hydrogen ion concentration pH scale. The total hydrogen ion concentration,  $[H^+]$ , is expressed as moles per kilogram of sea water.

### 2. Definition

The total hydrogen ion concentration of sea water includes the contribution of the medium ion sulfate and is defined as

$$\begin{aligned}
 [H^+] &= [H^+]_F(1 + S_T / K_S) \\
 &\approx [H^+]_F + [HSO_4^-]
 \end{aligned}
 \tag{1}$$

where  $[H^+]_F$  is the *free* concentration of hydrogen ion in sea water,  $S_T$  is the total sulfate concentration ( $[HSO_4^-] + [SO_4^{2-}]$ ) and  $K_S$  is the acid dissociation constant for  $HSO_4^-$ . The pH is then defined as the negative of the base 10 logarithm of the hydrogen ion concentration:

$$\text{pH} = -\log_{10} \frac{[H^+]}{\text{mol kg-soln}^{-1}}
 \tag{2}$$

### 3. Principle

Values of pH are determined experimentally from sequential measurements of the e.m.f. ( $E$ ) of the cell

reference electrode	concentrated KCl solution	test solution	glass $[H^+]$ electrode
---------------------	---------------------------	---------------	-------------------------

in a standard buffer (S) of known (defined) pH and in the sea water sample (X).



The operational pH is defined by the expression

$$\text{pH(X)} = \text{pH(S)} + \frac{E_s - E_x}{RT \ln 10 / F} \quad (3)$$

Residual liquid junction error is minimized by matching the composition of the standard buffer to the sea water sample, *i.e.*, by making the buffer up in synthetic sea water.

Values of pH(S) have been assigned to various standard buffers in synthetic sea water. These are based on careful laboratory measurements made using cells without liquid junction.

## **4. Apparatus**

### **4.1 pH cell**

A combination glass/reference electrode is typically the most convenient cell to use; however, measurement quality can often be improved by using separate glass and reference electrodes.

### **4.2 Voltmeter with high input impedance**

The e.m.f. of the glass/reference electrode cell can be measured with a pH meter or other voltmeter with a high input impedance ( $>10^{13} \Omega$ ). If a pH meter with a sensitivity of  $\pm 0.1$  mV is used to measure the e.m.f., the sensitivity in determining the pH is  $\pm 0.002$  pH units. The use of a  $5\frac{1}{2}$  digit voltmeter with a high input impedance<sup>1</sup> can improve the sensitivity to better than  $\pm 0.001$  pH units. (The accuracy of the measurement is dependent upon the reliability of the assignment of pH(S) values to the calibration buffers used.)

### **4.3 Closed measurement container**

It is necessary to measure the pH on a sample that has not had the opportunity to exchange CO<sub>2</sub> with the atmosphere so as to ensure reliable pH results.

### **4.4 Thermometer (accurate to $\pm 0.05^\circ\text{C}$ )**

The temperature should be known or controlled to within  $0.1^\circ\text{C}$  during the measurement.

---

<sup>1</sup> An external circuit based on a high input impedance operational amplifier (*e.g.*, an FET electrometer amplifier) configured as a voltage follower (unity gain amplifier) can be used to achieve this.

## 5. Reagents

### 5.1 Synthetic sea water

- Reagent grade NaCl (dried in an oven at 110°C),
- Reagent grade Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (dried in an oven at 110°C),
- Reagent grade KCl (dried in an oven at 110°C),
- Calibrated solution of reagent grade MgCl<sub>2</sub>,<sup>2</sup>
- Calibrated solution of reagent grade CaCl<sub>2</sub>,<sup>2</sup>
- Deionized water.

### 5.2 Buffer substances

- Calibrated solution of HCl prepared from redistilled reagent grade HCl. Its concentration should be known to within 0.1%<sup>3</sup>.
- 2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol (“TRIS”), crushed and dried in a desiccator at room temperature over phosphorus (V) oxide before use.
- 2-aminopyridine, recrystallized from a benzene–petroleum ether mixture, crushed and dried in a desiccator at room temperature over phosphorus (V) oxide before use.

## 6. Sampling

It is essential that the samples analyzed are collected, poisoned, and stored according to the procedures detailed in SOP 1. Care should be taken to avoid the exchange of CO<sub>2</sub> with the atmosphere both during sampling and during subsequent manipulation.

## 7. Procedure

### 7.1 Preparation of buffers in synthetic sea water

The compositions of a TRIS/HCl buffer and of a 2-aminopyridine/HCl buffer in synthetic sea water with a salinity of 35 are given in Table 1. This recipe is based on synthetic sea water (see Chapter 5, Table 4) in which 0.04 mol/kg-H<sub>2</sub>O of NaCl has been replaced with HCl, and contains a total of 0.08 mol/kg-H<sub>2</sub>O of the desired base. The simplest way to prepare this buffer accurately is first to weigh out the hydrochloric acid and then to scale the amounts of the other constituents to match the exact amount of HCl that was weighed out. Such buffers can be stored for a number of weeks, in a sealed, almost full, container.

---

<sup>2</sup> Solutions of MgCl<sub>2</sub> and CaCl<sub>2</sub> can be analyzed either by measuring the density of the stock solution, by titrating with a calibrated silver nitrate solution (*e.g.*, using K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> as an indicator) or by gravimetric precipitation of chloride.

<sup>3</sup> Solutions of HCl can be analyzed accurately by coulometric titration, by a careful titration against a standard base (*e.g.*, TRIS—NIST 723) or by gravimetric precipitation of chloride.

**Table 1** Composition of a buffer solution for pH in synthetic sea water of salinity 35 (weights based on 1000 g of H<sub>2</sub>O).

Constituent	Moles	Weight (g) <sup>a</sup>
NaCl	0.38762 <sup>b</sup>	22.6446
KCl	0.01058	0.7884
MgCl <sub>2</sub>	0.05474	–
CaCl <sub>2</sub>	0.01075	–
Na <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	0.02927	4.1563
HCl	0.04000	–
<i>One of:</i>		
2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol (TRIS)	0.08000	9.6837
2-aminopyridine	0.08000	7.5231
<i>Total weight of solution containing:</i>		
2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol (TRIS)	–	1044.09
2-aminopyridine	–	1041.93

<sup>a</sup> Weight in air at sea level (*i.e.*, not corrected to mass). If a weight is not given, the component is added as the appropriate amount of a calibrated solution.

<sup>b</sup>  $m(\text{NaCl}) = 0.42762 - 0.04 \text{ mol/kg-H}_2\text{O}$ , *i.e.*, replacing NaCl with HCl.

To compute the composition for a buffer with a salinity different from 35<sup>4</sup>, first compute the composition of the basic artificial sea water—containing no base or HCl and with the full amount of NaCl—corresponding to the new salinity,  $S$ :

$$m_s = m_{35} \times \frac{27.5695S}{1000 - 1.0019S}, \quad (4)$$

then adjust the  $m(\text{NaCl})$  down by 0.04 mol/kg-H<sub>2</sub>O and add 0.08 mol/kg-H<sub>2</sub>O of base.

## 7.2 Confirm response of pH cell<sup>5</sup>

Before a pH cell (a glass electrode/reference electrode pair) is used to measure pH, it should be tested to ensure that it is performing properly, *i.e.*, that it has an ideal Nernst response.

Bring both buffers (TRIS and 2-aminopyridine) to the same known temperature (*e.g.*, 25°C). Measure and record the e.m.f. of the pH cell in each buffer. The difference in the e.m.f. is used to check the response of the pH cell (see

<sup>4</sup> The magnitude of the error involved in using a salinity 35 buffer for most oceanic measurements (*i.e.*, in the salinity range 33–37) is probably less than 0.005 in pH. For a more complete discussion of this error see Whitfield *et al.* (1985) and Butler *et al.* (1985).

<sup>5</sup> Some investigators make use of the titration curve obtained from titrating a sodium chloride solution with HCl (see SOP 3) to confirm that the electrode pair has the theoretical response ( $RT/F$ ). However, the value of the slope and the value of  $E^\circ$  obtained by fitting experimental results in this fashion are highly correlated and thus not particularly reliable. It is better to verify the response of the electrode pair used with suitable buffers, as is done here.

section 8.1). If the response is not theoretical (within the experimental uncertainty), the electrodes should be rejected. E.m.f. readings obtained with a well-behaved pH cell should be stable with time (drift < 0.05 mV min<sup>-1</sup>)<sup>6</sup>.

### 7.3 Measurement of pH

Bring the TRIS buffer and the sea water samples to be measured to the same known temperature (*e.g.*, 25°C). The e.m.f. of the pH cell is then measured, first in the TRIS buffer ( $E_S$ ) and then in the sea water sample ( $E_X$ ). Care should be taken to minimize any exposure of the sea water samples to the atmosphere so as to limit loss or gain of CO<sub>2</sub>.

## 8. Calculation and expression of results

### 8.1 Calculation of response of pH cell

The defined pH values of the two buffers recommended for use in this procedure are:

*2-amino-2-hydroxy-1,3-propanediol (TRIS)*

$$\begin{aligned} \text{pH}(S) = & (11911.08 - 18.2499S - 0.039336S^2) \frac{1}{T/K} \\ & - 366.27059 + 0.53993607S + 0.00016329S^2 \\ & + (64.52243 - 0.084041S) \ln(T/K) - 0.11149858(T/K). \end{aligned} \quad (5)$$

*2-aminopyridine (AMP)*

$$\begin{aligned} \text{pH}(S) = & (111.35 + 5.44875S) \frac{1}{T/K} + 41.6775 - 0.015683S \\ & - 6.20815 \ln(T/K) - \log_{10}(1 - 0.00106S). \end{aligned} \quad (6)$$

The electrode response,  $s$ , can then be calculated:

$$s = \frac{E_{\text{AMP}} - E_{\text{TRIS}}}{\text{pH}(S)_{\text{TRIS}} - \text{pH}(S)_{\text{AMP}}} \quad (7)$$

and compared with the ideal Nernst value:  $RT \ln 10 / F$ . If it is more than about 0.3% different, the pH cell should be replaced.

### 8.2 Calculation of pH

Values of pH are calculated from the expression

$$\text{pH}(X) = \text{pH}(S) + \frac{E_S - E_X}{RT \ln 10 / F} \quad (8)$$

<sup>6</sup>This is an upper limit to the acceptable level of drift. An ideal level is as much as an order of magnitude lower, *e.g.*,  $< 0.3 \text{ mV h}^{-1}$ .

where  $\text{pH}(S)$ , the pH of TRIS buffer (Table 1) on the total hydrogen ion scale (expressed in  $\text{mol kg-soln}^{-1}$ ) is given by equation (5).

### 8.3 Example calculation

Input data:

$$\begin{aligned} t &= 25^\circ\text{C} \text{ (i.e., } T = 298.15 \text{ K)}, \\ S &= 35, \\ E_{\text{TRIS}} &= -0.0724 \text{ V}, \\ E_{\text{AMP}} &= 0.0049 \text{ V}, \\ E_{\text{X}} &= -0.0670 \text{ V}. \end{aligned}$$

Hence

$$\begin{aligned} \text{pH}(S)_{\text{TRIS}} &= 8.0936, \\ \text{pH}(S)_{\text{AMP}} &= 6.7866, \\ RT \ln 10/F &= 0.05916 \text{ V /pH unit}. \end{aligned}$$

Thus

$$s = \frac{0.0049 - (-0.0724)}{8.0936 - 6.7866} = 0.05914 \text{ V / pH unit}$$

and, using equation (8),

$$\text{pH}(X) = 8.0936 + \frac{-0.0724 - (-0.0670)}{0.05916} = 8.0023 .$$

## 9. Quality assurance

### 9.1 For general principles of analytical quality control see Chapter 3

### 9.2 Specific applications of analytical quality control

#### 9.2.1 Ideality of pH cell behavior

The measured electrode response,  $s$ , should be compared with ideal Nernst behavior on a regular basis (see section 7.2). If the value is more than 0.3% from theoretical, try cleaning the glass electrode of surface deposits and measuring again. If the discrepancy persists, the electrode should be replaced.

The value of  $E_S$  in TRIS buffer, when measured at a constant temperature (e.g.,  $25^\circ\text{C}$ ), should remain stable to within a few mV. A sudden change in  $E_S$  is indicative of potential problems. Similarly, the e.m.f. of a well-behaved pH cell immersed in a thermostated buffer should be stable (drift  $< 0.05 \text{ mV min}^{-1}$ ).

### 9.2.2 Precision

A precision of 0.003 pH units (1 SD) is possible with care. Plot the results of duplicate analyses on a range control chart (SOP 22).

### 9.2.3 Bias

The bias of potentiometric pH measurements depends on the care with which the buffer was prepared, especially with regard to the ratio between the TRIS and the HCl, and on the accuracy with which the values of pH(S) were originally assigned. This latter value has been estimated as being within 0.004 pH units.

## 10. Bibliography

- Bates, R.G. and Erickson, W.P. 1986. Thermodynamics of the dissociation of 2-aminopyridinium ion in synthetic seawater and a standard for pH in marine systems. *J. Soltn. Chem.* **15**: 891–901.
- Butler, R.A., Covington, A.K. and Whitfield, M. 1985. The determination of pH in estuarine waters. II: Practical considerations. *Oceanol. Acta* **8**: 433–439.
- DelValls, T.A. and Dickson, A.G. 1998. The pH of buffers based on 2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol ('tris') in synthetic sea water. *Deep-Sea Res.* **45**: 1541–1554.
- Dickson, A.G. 1993. pH buffers for sea water media based on the total hydrogen ion concentration scale. *Deep-Sea Res.* **40**: 107–118.
- Dickson, A.G. 1993. The measurement of sea water pH. *Mar. Chem.* **44**: 131–142.
- Millero, F.J., Zhang, J.-Z., Fiol, S., Sotolongo, S., Roy, R.N., Lee, K. and Mane, S. 1993. The use of buffers to measure the pH of sea water. *Mar. Chem.* **44**: 143–152.
- Nemzer, B.V. and Dickson, A.G. 2004. The stability and reproducibility of Tris buffers in synthetic seawater. *Mar. Chem.* **96**: 237–242.
- Ramette, R.W., Culberson, C.H. and Bates, R.G. 1977. Acid-base properties of tris(hydroxymethyl)aminomethane (tris) buffers in seawater from 5 to 40°C. *Anal. Chem.* **49**: 867–870.
- Whitfield, M., Butler, R.A. and Covington, A.K. 1985. The determination of pH in estuarine waters. I. Definition of pH scales and the selection of buffers. *Oceanol. Acta* **8**: 423–432.

**Annex II:**

**Dickson, A.G., Sabine, C.L. and Christian, J.R. (Eds.), 2007. Ch: 4. Recommended standard operating procedure, SOP6b: Determination of the pH of sea water using the indicator dye m-cresol purple. In: Guide to best practices for ocean CO<sub>2</sub> measurements. PICES Special Publication 3, 7 pp.**

# SOP 6b

## Determination of the pH of sea water using the indicator dye *m*-cresol purple

### 1. Scope and field of application

This procedure describes a method for the spectrophotometric determination of the pH of sea water on the total hydrogen ion concentration pH scale. The total hydrogen ion concentration,  $[H^+]$ , is expressed as moles per kilogram of sea water.

### 2. Definition

The total hydrogen ion concentration of sea water includes the contribution of the medium ion sulfate and is defined as

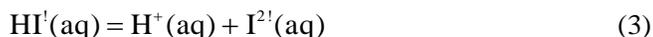
$$[H^+] = [H^+]_F(1 + S_T / K_S) \quad (1)$$

where  $[H^+]_F$  is the *free* concentration of hydrogen ion in sea water,  $S_T$  is the total sulfate concentration ( $[HSO_4^-] + [SO_4^{2-}]$ ) and  $K_S$  is the acid dissociation constant for  $HSO_4^-$ . The pH is then defined as the negative of the base 10 logarithm of the hydrogen ion concentration:

$$pH = -\log_{10} \frac{[H^+]}{\text{mol kg-sol}^{-1}} \quad (2)$$

### 3. Principle

The values of pH are determined by adding an indicator dye to sea water. For the sulfonephthalein indicators such as *m*-cresol purple, the reaction of interest at sea water pH is the second dissociation



where I represents the indicator dye, which is present at a low level in a sea water sample. The total hydrogen ion concentration of the sample can then be determined:

$$\text{pH} = \text{p}K(\text{HI}^1) + \log \frac{[\text{I}^{2-}]}{[\text{HI}^1]} \quad (4)$$

The principle of this approach uses the fact that the different forms of the indicator have substantially different absorption spectra. Thus the information contained in the composite spectrum can be used to estimate  $[\text{I}^{2-}]/[\text{HI}^1]$ .

At an individual wavelength,  $\lambda$ , the measured absorbance in a cell with a path length,  $l$ , is given by the Beer–Lambert law as

$$\frac{A_\lambda}{l} = \epsilon_\lambda(\text{HI}^1)[\text{HI}^1] + \epsilon_\lambda(\text{I}^{2-})[\text{I}^{2-}] + B_\lambda + e \quad (5)$$

where  $B_\lambda$  corresponds to the background absorbance of the sample and  $e$  is an error term due to instrumental noise. Provided that the values of the extinction coefficients:  $\epsilon_\lambda(\text{HI}^1)$  and  $\epsilon_\lambda(\text{I}^{2-})$  have been measured as a function of wavelength, absorbance measurements made at two or more wavelengths can be used to estimate the ratio  $[\text{I}^{2-}]/[\text{HI}^1]$ .

In the case that only two wavelengths are used, and provided that the background can be eliminated effectively by a subtractive procedure, (5) can be rearranged to give (assuming no instrumental error)

$$\frac{[\text{I}^{2-}]}{[\text{HI}^1]} = \frac{A_1/A_2 - \epsilon_1(\text{HI}^1)/\epsilon_2(\text{HI}^1)}{\epsilon_1(\text{I}^{2-})/\epsilon_2(\text{HI}^1) - (A_1/A_2) \epsilon_2(\text{I}^{2-})/\epsilon_2(\text{HI}^1)} \quad (6)$$

where the numbers 1 and 2 refer to the wavelengths chosen. For the best sensitivity, the wavelengths corresponding to the absorbance maxima of the base ( $\text{I}^{2-}$ ) and acid ( $\text{HI}^1$ ) forms, respectively, are used. The various terms  $\epsilon$  are the extinction coefficients of the specified species at wavelengths 1 and 2, respectively.

## 4. Apparatus

### 4.1 Flexible drawing tube

Approximately 40 cm long, sized to fit snugly over cell port. Silicone rubber is suitable for this (see Footnote 1 in SOP 1).

### 4.2 Spectrophotometric cells

These should be made of optical glass with a 10 cm path-length, two ports and polytetrafluoroethylene (Teflon<sup>®</sup>) stoppers. A sufficient number of cells are needed to collect all the samples that will be analyzed from a particular cast (see section 6).

### 4.3 Micropipette

A micropipette is used to add the dye to the cell. It should be of  $\sim 0.1 \text{ cm}^3$  capacity with a narrow Teflon<sup>®</sup> tube attached to act as a nozzle.

### 4.4 High-quality spectrophotometer

For work of the highest sensitivity and precision, a double-beam spectrophotometer is desirable. However, good results can be obtained with a high-quality single-beam instrument.

### 4.5 Temperature-control system for spectrophotometer cell

Commercially manufactured, thermostated spectrophotometer compartments that can accommodate 10 cm cells are rarely available and one will probably have to be custom-made. The temperature should be regulated to within  $0.1^\circ\text{C}$ .

### 4.6 System to warm samples to measurement temperature

Although it is possible to warm up the cells containing samples in Ziploc<sup>®</sup> bags in a thermostat bath, this is inconvenient. It is much better to build a custom-made thermostated compartment that can hold approximately 12 cells at once without getting them wet.

### 4.7 Thermostat bath ( $\pm 0.05^\circ\text{C}$ )

A thermostat bath is used to regulate the temperature of the cell compartment and the temperature of the system described in section 4.6.

## 5. Reagents

### 5.1 Solution of *m*-cresol purple

A concentrated (at least  $2 \text{ mmol dm}^{-3}$ ) dye solution of known pH adjusted to be in the range  $7.9 \pm 0.1$  pH units—chosen to match pH measurements from an oceanic profile—is required; this implies that for *m*-cresol purple  $A_1/A_2 \approx 1.6$ .<sup>1</sup>

## 6. Sampling

Draw the sample—using the drawing tube—directly from the Niskin bottle (or other water sampler) into the optical cell. After flushing with several hundred  $\text{cm}^3$  of sea water—a flushing time of 15–20 seconds—seal the cell with the Teflon<sup>®</sup> caps ensuring that there is no headspace. Since the pH samples must be analyzed immediately, there is no long-term storage or preservation protocol. However, while awaiting analysis, store the samples in the dark at room temperature.

---

<sup>1</sup> The absorbance ratio of a concentrated dye solution can be measured using a cell with a short path length (0.5 mm).

## 7. Procedure

### 7.1 Warm sample cell to 25.0°C ( $\pm 0.1^\circ\text{C}$ )

This is done by placing a number of cells in a thermostated compartment (see section 4.6) for a few hours.

### 7.2 Measure absorbances for the cell + sea water

Clean and dry the exterior of the cell; place the cell in the thermostated sample compartment of the spectrophotometer. Measure and record the absorbances at three wavelengths: a non-absorbing wavelength (730 nm for *m*-cresol purple) and at the wavelengths corresponding to the absorption maxima of the base ( $\text{I}^{2-}$ ) and acid ( $\text{HI}^-$ ) forms of the dye respectively (578 and 434 nm).

### 7.3 Inject dye into cell

Remove one of the cell caps, add approximately  $0.05\text{--}0.1\text{ cm}^3$  of concentrated dye ( $\sim 2\text{ mmol dm}^{-3}$ ) to the sample, replace the cap and shake the cell to mix the sea water and dye. The amount of dye required is that which will produce absorbance values of between 0.4 and 1.0 at each of the two absorbance peaks.

### 7.4 Measure absorbances of cell + sea water + dye

Return the cell to the spectrophotometer and again measure the absorbances at the three wavelengths used in section 7.2. Cells should be positioned to maintain consistent alignment(s) between baseline and indicator absorbance measurements.

## 8. Calculation and expression of results

### 8.1 Correction of measured absorbances

At each of the three wavelengths, subtract the absorbances measured for the background measurement (without dye) from the corresponding absorbances measured for the system containing dye.

In addition, the absorbance measured at a non-absorbing wavelength is used to monitor and correct for any baseline shift due to error in repositioning the cell, instrumental shifts, *etc.*<sup>2</sup> This assumes that the magnitude of any observed baseline shift is identical across the visible spectrum. To do this, subtract the measured shift from the background-corrected absorbances at wavelengths 1 and 2 to obtain the final corrected absorbance value at each wavelength.

These final absorbance values, corrected for background absorbances *and* any observed baseline shifts, are used to calculate  $A_1/A_2$ , the absorbance ratio which describes the extent of protonation of the dye.

---

<sup>2</sup> The difference between the baseline absorbance (sea water only) and the absorbance of the sample + dye at 730 nm should be no greater than  $\pm 0.001$ ; if this value is exceeded, the cell should be removed and the optical windows cleaned before the absorbances are measured again.

## 8.2 Calculation of the pH of the sea water + dye

The pH of the sea water and dye in the cell is computed from

$$pH = pK_2 + \log_{10} \frac{A_1/A_2 \cdot \epsilon_1(HI^-) / \epsilon_2(HI^-)}{\epsilon_1(I^{2-}) / \epsilon_2(I^{2-})} \quad (7)$$

where  $pK_2$  is the acid dissociation constant for the species  $HI^-$  (expressed on the total hydrogen ion concentration scale in mol kg-soln<sup>-1</sup>), and  $A_1$  and  $A_2$  are the corrected absorbances measured at the wavelengths corresponding to the absorbance maxima of the base and acid forms, respectively. The various extinction coefficient terms  $\epsilon$  correspond to values measured for the specified species at wavelengths 1 and 2, respectively (Table 1).

**Table 1** Extinction coefficient ratios for *m*-cresol purple.

$\epsilon_1(HI^-) / \epsilon_2(HI^-)$	0.00691
$\epsilon_1(I^{2-}) / \epsilon_2(HI^-)$	2.2220
$\epsilon_2(I^{2-}) / \epsilon_2(HI^-)$	0.1331

$\lambda_1 = 578 \text{ nm}; \lambda_2 = 434 \text{ nm}.$

The equilibrium constant  $K_2$  is a function of salinity and temperature and has been determined by careful laboratory measurements<sup>3</sup>. For *m*-cresolpurple,

$$pK_2 = \frac{1245.69}{(T/K)} + 3.8275 + 0.00211(35 - S) \quad (8)$$

where  $293 \leq T/K \leq 303$  and  $30 \leq S \leq 37$ .

## 8.3 Correction for pH change resulting from addition of the dye

The addition of indicator dye to the sea water sample will perturb the pH (another acid-base system has been added!). Although care is taken to minimize this (by adjusting the dye solution pH), it is desirable to correct for the addition of dye to obtain the best pH measurements.

Although, in principle, the pH perturbation could be calculated from a knowledge of the equilibrium chemistry of the sample and the dye, it is simpler to evaluate the magnitude of the correction empirically. A pair of additions of dye is made to each of a series of sea water samples with different pHs, and the change in the measured ratio ( $A_1/A_2$ ) with the second addition of indicator solution is determined as a function of the measured value ( $A_1/A_2$ ) determined after the first addition of dye using a least-squares procedure (SOP23):

$$\frac{\Delta(A_1/A_2)}{V} = a + b(A_1/A_2) \quad (9)$$

<sup>3</sup> Although DelValls and Dickson (1998) have suggested that this  $pK_2$  may be in error because of an error in calibrating TRIS buffer, it seems that there may be a compensating error that largely mitigates the proposed correction. The  $pK_2$  given here is that from Clayton and Byrne (1993).

where  $V$  is the volume of dye added at each addition. The final, corrected, absorbance ratio is

$$(A_1/A_2)_{\text{corr}} = (A_1/A_2) \cdot V[a + b(A_1/A_2)]. \quad (10)$$

#### 8.4 Example calculation

$$\begin{aligned} t &= 25^\circ\text{C}, \\ S &= 35, \\ \text{p}K_2 &= 8.0056, \end{aligned}$$

and for indicator stock solution with  $A_1/A_2 = 1.6$ ,

$$\frac{1}{V} \cdot \frac{1}{(A_1/A_2)} = 0.125 \text{ " } 0.147 \left( \frac{A_1}{A_2} \right) \dots$$

*Measured absorbances:*

$$\begin{aligned} \text{Sea water:} \quad & A_{434} = 0.02433 ; \quad A_{578} = 0.01936 ; \quad A_{730} = 0.08365 \\ \text{Dye + sea water:} \quad & A_{434} = 0.45123 ; \quad A_{578} = 0.84574 ; \quad A_{730} = 0.08298 \end{aligned}$$

After addition of dye,

$$A_1/A_2 = \frac{0.84574 \cdot 0.01936 + (0.08298 \cdot 0.08365)}{0.45123 \cdot 0.02433 + (0.08298 \cdot 0.08365)} = 1.93430.$$

Corrected to zero dye addition ( $V = 0.08 \text{ cm}^3$ ),

$$\begin{aligned} (A_1/A_2)_{\text{corr}} &= 1.93430 \cdot 0.08 [0.125 + 0.147(1.93430)] \\ &= 1.94705 \end{aligned} \quad (11)$$

and thus

$$\text{pH} = 8.0056 + \log \left( \frac{1.94705 \cdot 0.00691}{2.2220 \cdot 1.94705 + 0.1331} \right) = 8.0005.$$

## 9. Quality assurance

### 9.1 For general principles of analytical quality control see Chapter 3

### 9.2 Specific applications of analytical quality control

#### 9.2.1 Spectrophotometer performance

The spectrophotometric performance of the instrument used can be confirmed using reference materials that are available from the U.S. National Institute for Standards and Technology (NIST). SRM 2034 is a holmium oxide solution in a sealed cuvette that allows the wavelength accuracy of the spectrophotometer to be determined; SRM 930d is a set of absorbance filters that allows the

absorbance measurement accuracy to be verified. Property control charts of these measurements should be maintained, and the spectrophotometer adjusted if it goes out of tolerance. (Nevertheless, the procedure detailed here is fairly insensitive to minor changes in spectrophotometer performance.)

A more important concern is that the spectrometer must have a high stability. This can be confirmed by making a series of repeated measurements on a system of constant absorbance (*e.g.*, SRM 930d or a thermostated buffer solution containing indicator dye) and computing the standard deviation at the wavelengths of interest.

### 9.2.2 Precision

A precision of better than 0.001 pH units (1 SD) is possible with care—particularly in regard to the sample handling. The results of duplicate analyses should be plotted on a range control chart (SOP 22).

### 9.2.3 Bias

The bias of spectrophotometric pH measurements depends on the accuracy with which the various extinction coefficient ratios were determined, and on the accuracy of the values assigned to the values of  $pK_2$ . A significant advantage of spectrophotometric measurements is that, if more accurate information becomes available for these parameters at a later time, the pH results obtained can be adjusted without any degradation in precision provided that the original data are retained. At present, the likely bias is estimated to be less than 0.005 pH units.

## 10. Bibliography

- Byrne, R.H. and Breland, J.A. 1989. High precision multiwavelength pH determinations in seawater using cresol red. *Deep-Sea Res.* **36**: 803–810.
- Byrne, R.H., Robert-Baldo, G., Thompson, S.W. and Chen, C.T.A. 1988. Seawater pH measurements: an at-sea comparison of spectrophotometric and potentiometric methods. *Deep-Sea Res.* **35**: 1405–1410.
- Clayton, T.D. and Byrne, R.H. 1993. Spectrophotometric seawater pH measurements: total hydrogen ion concentration scale calibration of m-cresol purple and at-sea results. *Deep-Sea Res.* **40**: 2115–2129.
- DelValls, T.A. and Dickson, A.G. 1998. The pH of buffers based on 2-amino-2-hydroxymethyl-1,3-propanediol ('tris') in synthetic sea water. *Deep-Sea Res.* **45**: 1541–1554.
- Dickson, A.G. 1993. The measurement of sea water pH. *Marine Chem.* **44**: 131–142.

### **Annexe III : Références**

UNEP/MAP/MED POL, 2005. Sampling and Analysis Techniques for the Eutrophication Monitoring Strategy of MED POL. MAP Technical Reports Series No. 163. UNEP/MAP, Athens, 46 pp.

UNEP/MAP, 2019. UNEP/MED WG.467/5. IMAP Guidance Factsheets: Update for Common Indicators 13, 14, 17, 18, 20 and 21: New proposal for candidate indicators 26 and 27.

UNEP/MAP, 2019a. UNEP/MED WG.463/6. Monitoring Protocols for IMAP Common Indicators related to pollution.

UNEP/MAP, 2019b. UNEP/MED WG.463/10. Schemes for Quality Assurance and Control of Data related to Pollution.

### **Dissolved oxygen**

Benson B.B., Krause D. Jr., 1980. The concentration and isotopic fractionation of gases in freshwater in equilibrium with atmosphere. *Limnol. Oceanogr.*, 25: 662-671.

Benson B.B., D. Krause, Jr., 1984. The concentration and isotopic fractionation of oxygen dissolved in freshwater and seawater in equilibrium with atmosphere. *Limnol. Oceanogr.*, 29: 620-632.

Grasshoff, K., 1983. - Determination of oxygen. In: Grasshoff, K., Ehrhardt M., Kremling K. (eds), *Methods of Seawater Analysis*, Verlag Chemie, Weinheim: 61-72.

Millero F.J., 1986. Solubility of oxygen in seawater. *UNESCO Technical Papers in Marine Science*, 50: 13- 17.

Tijssen S.B., Van Bennekom A.J., 1989. High precision determination of dissolved oxygen. *ICES C.M.* 1989/c:6, Annex C: 11-12.

UNESCO. 1973. *International oceanographic tables*, Vol. 2. NIO-UNESCO, Paris.

Weiss, R.F., 1970. The solubility of nitrogen, oxygen and argon in water and seawater. *Deep-Sea Research*, 17: 721–735.

Winkler, L.W., 1888. Die Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffes. *Berichte der Deutschen Chemischen Gesellschaft*, 21: 2843–2855.

### **pH**

Dickson, A.G., 1993. The measurement of sea water pH. *Mar. Chem.*, 44: 131-142.

Dickson, A.G., Sabine, C.L. and Christian, J.R. (Eds.) 2007. *Guide to Best Practices for Ocean CO<sub>2</sub> Measurements*. PICES Special Publication 3, 191 pp.

Gieskes, J. M., 1969. Effects of temperature on the pH of seawater. *Limnology and Oceanography* Vol 14 Issue 5, p 679-685.

ISO 10523: Water quality – Determination of pH.

ISO 11352: Water quality – Estimation of measurement uncertainty based on validation and quality control data.

ISO 17025: General requirements for the competence of testing and calibration laboratories.