

La céruléo-molybdimétrie méthode de micro-dosage des ions phosphoriques et arséniques.

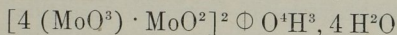
par **Georges Denigès.**

(Institut de Chimie biologique et médicale à l'Université de Bordeaux.)

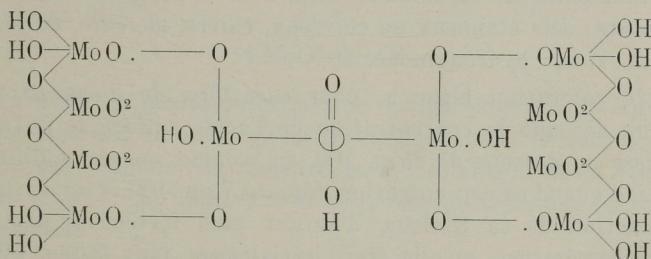
(Eingelangt am 26. April 1929.)

I. Préliminaires.

Nous avons désigné sous le nom de céruléo-molybdimétrie¹⁾ une méthode de détermination des ions phosphoriques et arséniques — même lors qu'ils sont en fort minime quantité — fondée sur la production très aisée de composés phospho et arsénio-molybdiques bleus (c æ r u l e u s, bleu) que nous avons isolés l'état de cristaux rhombiques, analysés, représentés par le complexe:



et pour lesquels nous avons proposé le schéma de structure:



⊕ étant un des deux phosphoroïdes: phosphore ou arsenic.

Ces composés dont le poids moléculaire (1578 pour le dérivé phosphoré, 1670 pour celui de l'arsenic) est environ 50 fois plus considérable pour le premier, 22 fois plus pour le second que le poids du phosphore (31) ou de l'arsenic (75) qu'ils renferment et dont l'intensité de teinte est fort grande, quand ils sont en solution, permettent, par suite, de déceler et de doser, par voie colorimétrique, les moindres traces d'ions phosphorique ou arsénique.

¹⁾ G. DENIGES. C. R. Acad. des sciences, 1920, t. 171, p. 802; 1928, t. 186, p. 1052 et Bulletin des travaux de la Soc. de Pharmacie de Bordeaux, 1927, t. III, p. 107; t. IV, p. 203 et 206; 1928, t. II, p. 49; t. III, p. 128; t. IV, p. 203.

Nous nous appesantirons presque exclusivement, dans ce mémoire, sur ce qui concerne le premier de ces ions dont la diffusion dans la nature et l'importance l'emportent de beaucoup sur ce qui a trait au second mais en établissant, tout d'abord, les différences fondamentales existant entre ce que nous appellerons: les bleus de molybdène stables et instables.

II. Bleus de molybdène stables et instables.

Suivant les conditions de température, de degré d'acidité et de composition du milieu, les solutions hydro-sulfuriques d'acide molybdique, soumises à l'action d'agents de réduction, prennent une coloration bleue ne correspondant pas, toujours, à la formation d'un même produit.

C'est ainsi que le réactif sulfo-molybdique dont nous avons, autrefois, indiqué la formule (solution à 10 p. 100 de molybdate d'ammonium, additionnée de son volume d'acide sulfurique concentré) et les applications²⁾ — réactif que, pour simplifier, nous désignerons, dans ce qui va suivre, par les lettres S. M. — bleuit sous l'influence de la lumière solaire et d'un grand nombre de réducteurs: sels stanneux ou cuivreux, cuivre, mercure, étain, aluminium, zinc, hydroquinone, etc.

Cette coloration bleue a, pour caractère, de disparaître par dilution dès que la concentration de l'acide sulfurique du milieu s'abaisse au dessous de 25 p. 100, en volume, ou par addition de cet acide quand sa concentration dépasse 75 p. 100 et de s'atténuer par l'action de la chaleur, d'autant plus fortement pour une même température, qu'elle était initialement plus faible; elle reparaît, d'ailleurs, par refroidissement et semble obéir à une loi d'équilibre.

On peut donc qualifier d'*i n s t a b l e* le produit bleu ainsi formé, et dont la nature reste encore indéterminée, car si la disparition de sa teinte, par dilution, pourrait faire songer à un bioxyde de molybdène anhydre, bleu, son atténuation par la chaleur ou l'addition d'un excès d'acide sulfurique est contraire à cette hypothèse.

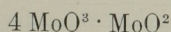
Nous ajouterons qu'il a encore, comme caractère, de ne pas passer

²⁾ G. DENIGES, Bulletin de la Société chimique de Paris, 3^o série t. III, p. 797 et Bulletin des travaux de la Société de Pharmacie de Bordeaux, 1893, p. 286.

dans l'éther quand on agite sa solution hydrosulfurique avec ce véhicule, mais sans s'insolubiliser sous son influence³⁾.

Au contraire, en présence d'ions phosphoriques ou arséniques et dans d'autres conditions de concentration, ces mêmes solutions soumises à l'action des réducteurs précités, ou encore, même en l'absence de ces ions, les solutions neutres de molybdates alcalins traitées par le chlorure stanneux, prennent une teinte bleue permanente que ni la dilution, ni l'élévation de température ne détruisent ou n'atténuent et qui correspondent à la formation de composés bien déterminés pouvant, par suite de cette permanence, être appelés, à juste titre: bleus de molybdène stables.

Ces derniers sont de deux catégories: les uns étant solubles dans l'éther qui les enlève totalement à leur solution sulfurique, dès que cet acide atteint une concentration de 4 N⁴⁾: ce sont les phospho et arsénio-conjugués plus haut signalés; un autre étant, au contraire, insoluble dans ce liquide qui ne l'emprunte jamais à ses solutions sulfuriques, quel que soit leur degré d'acidité, mais qui peut l'y insolubiliser, en le coagulant, sous forme d'un précipité bleu surnageant le liquide aqueux: c'est le bleu de molybdène proprement dit:



En dehors des modes de formation connus pour ces divers bleus stables, il en est un autre qu'on réalise facilement et dont on peut déduire une formule avantageuse pour l'obtention de la réaction céruléo-molybdique relative à la recherche de traces de phosphore et d'arsenic.

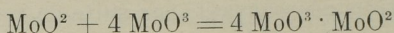
Si, en effet, on dilue dans trois fois son volume d'eau le réactif sulfo-molybdique (S. M.) précédemment indiqué, ce qui fournit une solution contenant, pour 200^{c.c.}: 2 gr. 50 de molybdate d'ammonium, 175^{c.c.} d'eau et 25^{c.c.} d'acide sulfurique, et si on l'additionne de l'un des réducteurs plus haut énumérés et en particulier de cuivre métallique, il se produit d'abord, même à froid, au bout d'un temps variable avec le réducteur, une coloration jaune rougeâtre, plus ou moins foncée, résultant de la formation,

³⁾ Avec certains échantillons d'éther, abandonnés en vidange, la solution acide devient jaune d'or par suite de la production d'acide permolybdique provenant de l'eau oxygénée formée dans l'éther altéré.

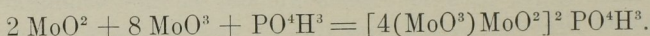
⁴⁾ Mais non à leur solution phosphorique ou acétique, même à ce degré de concentration.

au moins partielle, de bioxyde de molybdène salifié par l'acide sulfurique et qu'on peut insolubiliser par un excès d'ammoniaque, lorsqu'on emploie le cuivre, par exemple. Si l'on arrête, à ce point la réduction (qui va plus loin avec le zinc, l'aluminium, etc.), le liquide additionné d'une solution aqueuse, assez concentrée, d'un molybdate alcalin, se colore immédiatement en bleu et peut même précipiter un produit de même couleur.

Il se forme ainsi du bleu de molybdène proprement dit, stable et insoluble dans l'éther:



Par contre, si on l'additionne, non plus de molybdate mais d'ion phosphorique ou arsénique et si le milieu renferme encore de l'acide molybdique non réduit, la coloration bleue qui prend naissance, lentement à froid, rapidement à chaud, résulte de la formation des dérivés phospho ou arsénio-céruléo-molybdiques — extrêmement stables — dont il a été question plus haut et ayant pris naissance, dans le cas de l'acide phosphorique par exemple, suivant la réaction:



III. Moyens divers pour réaliser la réaction céruléo-molybdique.

L'égalité précédente qui formule la réaction céruléo-molybdique dans le cas du phosphore et qui peut-être appliquée à l'arsenic en y remplaçant P par As, montre que cette réaction nécessite la présence simultanée des ions phosphoriques ou arséniques qu'elle sert à rechercher ou à doser et des éléments de l'acide molybdique et de son produit de réduction MoO^2 .

Un milieu molybdoso-molybdique est donc nécessaire à sa production.

Or, ce milieu peut être réalisé soit extemporanément, dans le cours même de la réaction par réduction partielle d'acide molybdique; soit par addition, au liquide renfermant le phosphoroïde, d'un mélange de deux solutions séparées contenant l'une MoO^3 , l'autre MoO^2 .

Dans le premier cas, on peut avoir recours au chlorure stanneux ou au cuivre.

Avec le chlorure stanneux⁵⁾, on met, dans un tube à essai, 5^{c.c.} de solution phosphorique (concentration: de 0 mg 2 à 20 mgs. de PO^4H^3 par litre) on ajoute III à IV gouttes de réactif S. M. (voir plus haut), I à II gouttes de réactif stanneux et on agite. Déjà, avec 1 milligramme de PO^4H^3 par litre, une coloration bleue très accusée est aussitôt obtenue; une très légère nuance bleutée est encore perceptible avec Vingt fois moins de substance phosphorée.

Quand les doses de PO^4H^3 mises en œuvre sont suffisamment importantes on continue à ajouter, goutte à goutte, le réactif stanneux jusqu'à ce que la coloration bleue n'augmente plus d'intensité.

Le chlorure stanneux réduit une partie de MoO^3 en MoO^2 et ce dernier, agissant à l'état naissant, en présence de MoO^3 excédant, provoque immédiatement, à froid, la réaction céruléo-molybdique.

Avec le cuivre en tournures — cas surtout à recommander en présence du ferricum qui gênerait la réaction et que Cu réduit⁶⁾ en ferrosu inactif, et du mercure que MoO^2 réduirait à l'état colloïdal troublant ainsi la réaction cherchée mais que Cu fixe à l'état d'amalgame — on ajoute, toujours à 5^{c.c.} de solution phosphorique, XII gouttes de réactif S. M. préalablement étendu au quart ou III gouttes seulement de réactif en nature; 10 à 15 centigrammes⁷⁾ de tournures de cuivre et on porte à l'ébullition qu'on maintient pendant 30 secondes pour obtenir la teinte bleue caractéristique. Ce temps et cette température sont nécessaires pour que l'action réductrice du cuivre, sur une partie de l'acide molybdique, ait lieu dans les meilleures conditions.

Dans le second cas, on bien on prépare à l'avance le réactif

⁵⁾ Préparé en dissolvant, à chaud, 0 gr. 10 d'étain, en feuille, dans un mélange de 2^{c.c.} de Cl H pur et d'une goutte de solution de sulfate de cuivre à 3 on 4, p. 100; ajoutant, ensuite, 10^{c.c.} d'eau, laissant refroidir et déposer puis décantant ou filtrant, s'il y a lieu.

⁶⁾ Cette réduction est d'ordre catalytique: en effet, Cu ne réduit pas directement Fe''' en Fe'' mais transforme d'abord MoO^3 en MoO^2 qui réduit immédiatement Fe''' en Fe'' en revenant à l'état de MoO^3 , ce cycle se poursuivant tant qu'il y a du ferricum à réduire

⁷⁾ Cette quantité doit s'abaisser à 5 ou 6 centigrammes, en présence de mercure. Quand elle dépasse 8 centigrammes, la fixation de ce métal à l'état d'amalgame — lorsqu'il est en trop grand excès — se fait incomplètement et, au lieu de laisser le milieu limpide, comme, quand il est complètement retenu par le cuivre, le mercure, trop rapidement libéré, se repand, en partie dans le liquide, à l'état colloïdal et empêche une bonne observation colorimétrique.

molybdoso-molybdique en agitant, à plusieurs reprises (une dizaine de fois environ) pendant une heure exactement, de contact, et entre 18 et 20 degrés, un mélange de 15^{cc.} de réactif S. M. dilué au quart et de 0 gr. 30 de tournures de cuivre, le tout contenu dans un petit flacon d'une vingtaine de grammes, se bouchant à l'émeri.

Au bout du temps prescrit, on décante, dans un autre petit flacon, le liquide devenu jaune brunâtre et qui constitue le réactif cherché.

On l'emploie à la dose de VI gouttes pour 5^{cc.} de solution phosphorique (ou arsénique) et on porte le tout à l'ébullition, pendant une douzaine de secondes, pour obtenir la réaction céruléo-molybdique. Ce réactif doit être renouvelé toutes les semaines.

On bien — et cette pratique a l'avantage de fournir des réactifs d'une conservation très longue — on commence à réduire complètement une certaine quantité (30^{cc.} par exemple) de réactif S. M. dilué au quart, en le laissant en contact avec 0 gr. 50 à 0 gr. 60 de tournures de cuivre.

Au bout de quelques heures, durant lesquelles on aura agité plusieurs fois le liquide et le métal contenus dans un flacon presque plein, le liquide molybdeux, jaune-brunâtre — un des éléments du réactif complet — est prêt. On le conservera, sans le décarter, en le laissant constamment avec le cuivre résiduel.

Pour l'emploi, on en met III gouttes par essai de 5^{cc.} et on ajoute, au mélange, VI à VII gouttes de réactif S. M. étendu au quart (second élément du réactif molybdoso-molybdique).

L'ébullition du mélange est prolongée, comme il est indiqué plus haut, durant une douzaine de secondes pour réaliser la réaction cherchée.

IV. Préparation des étalons colorimétriques.

1° On prépare, à l'avance, 100^{cc.} de solutions aqueuses de phosphate disodique contenant des doses de ce sel correspondant à 2, 4, 6, 8, 10 et 12 milligrammes de P²O⁵ par litre et obtenues en diluant, convenablement, une solution mère renfermant, par litre, 5 gr. 042 de phosphate disodique pur et non effleuri, ce qui correspond, pour ce même volume d'un litre, à 1 gramme d'anhydride phosphorique P²O⁵.

Toutes ces solutions phosphoriques, aussi bien les liqueurs mères que les dilutions, seront conservées à l'abri des moisissures

— dans leur flacon respectif dûment étiqueté — par addition d'un petit fragment de camphre⁸⁾.

On choisit, ensuite six tubes de verre le plus blancs et le plus semblables possible, d'environ 15 à 16 millimètres de diamètre intérieur, par exemple, et dans lesquels un même volume d'eau s'élèvera à la même hauteur.

On les marque avec une toute petite étiquette portant, respectivement, les chiffres: 2, 4, 6, 8, 10 et 12.

Ils sont destinés à recevoir les liquides colorés étalons. Ces derniers s'obtiennent très rapidement et à froid, quand on emploie le chlorure stanneux comme réducteur du réactif S. M. en mettant, dans les six tubes, 5^{cc} des solutions phosphoriques titrées correspondant au numéro respectif de chacun de ces récipients et ajoutant du réactif S. M. et du chlorure stanneux selon les conditions indiquées au paragraphe III.

Quand on veut utiliser les autres techniques, dans un tube un peu plus important que les précédents (de 18 millimètres de diamètre intérieur avec 18 centimètres de hauteur) et choisi tel pour éviter les projections lors de l'ébullition des liquides qu'il devra contenir, on introduit d'abord 5^{cc} du liquide titré à 2 milligrammes de P²O⁵, par litre, puis soit VI gouttes de réactif molybdoso-molybdique, soit III gouttes de réactif molybdeux et VI gouttes de réactif S. M. dilué au quart, soit enfin XII gouttes de ce dernier réactif et une petite quantité de tournures de cuivre (de 5 à 20 centigrammes et plus suivant les cas — voir paragraphe III).

On porte à l'ébullition en agitant constamment le liquide, le tube étant tenu avec une pince de bois.

Ce point obtenu et sans cesser de brasser⁹⁾, en quelque sorte, le liquide, en secouant de haut en bas, un peu obliquement et d'une manière constante, le récipient qui le contient, on continue l'ébullition dans l'air chaud surmontant la flamme, durant à peu

⁸⁾ Avec les liquides titrés précédents, dilués au dixième, on réalise des solutions à 2, 4, 6, 8, 10 et 12 dixièmes de milligramme de P²O⁵, par litre. Ces dernières servent, surtout pour le titrage de liquides extrêmement peu concentrés en ions PO⁴ tels que les eaux potables pour lesquelles l'emploi du chlorure stanneux est à recommander.

⁹⁾ Ce brassage et cette agitation sont essentiels à la constance de l'opération. Toute autre technique, en particulier celle du chauffage des liquides, à l'aide du bain-marie, ne fournit que des résultats beaucoup moins fidèles.

près une douzaine de secondes — en l'absence de cuivre métal — en comptant 1, 2, 3, etc. jusqu'à 12, à la cadence approchée de la seconde sexagésimale. Avec le cuivre en tournures, on prolonge l'ébullition pendant 30 secondes. Cela fait, on verse le liquide, devenu bleu, dans le tube étalon marqué du chiffre 2 et en outre, d'un trait à l'encre correspondant, depuis le fond, à un volume de 5^{c.c.}. Quand ce liquide est devenu froid, on ajoute suffisamment d'eau pour que son niveau supérieur atteigne le trait de jauge de 5^{c.c.}.

On opère de même avec les solutions à 4, 6, 8, 10 et 12 milligrammes de P²O⁵, par litre. Finalement, les six tubes étalons contenant chacun 5^{c.c.} de liquides bleus de teintes croissant, du N^o. 2 au N^o. 12, d'une manière très régulière et qu'on distingue fort aisément les unes des autres soit directement, soit plus facilement encore au bloc de Walpole, sont bouchés et gardés pour les comparaisons ultérieures. Si l'on a soin de les additionner d'un petit fragment de cuivre en tournures, ces étalons se conservent pendant plus d'un mois sans que leur couleur initiale change d'une manière sensible.

V. Applications céruléo-molybdimétriques au cas du Phosphore.

Micro-dosage extemporané de l'ion phosphorique.

1^o Dans les vins et les autres boissons fermentées.

La détermination quantitative de l'ion phosphorique dans les vins, malgré l'intérêt qu'elle peut présenter: identification d'échantillons; repérages de vins d'un cru donné, suivant les années de récolte; falsifications, par addition d'acide phosphorique, pour hausser la somme acide-alcool; addition de phosphate de chaux à la cuve avant ou après vinification, etc., n'est pas de pratique courante.

La raison en est dans la lenteur, la minutie, en un mot la difficulté relative de cette opération par les méthodes ordinaires qui, toutes, nécessitent l'emploi d'un volume assez considérable de liquide et la destruction préalable de sa matière organique. La céruléo-molybdimitrie permet de résoudre cette question en quelques minutes, en opérant directement sur le vin et en n'employant pas plus de 2 à 3 gouttes de ce liquide, par opération.

Mode opératoire.

a. **Cas des vins blancs.** — Avec une pipette très exactement calibrée à 1^{c.c.}, on prélève 1^{c.c.} de vin qu'on introduit dans un matras jaugé de 50^{c.c.} et on achève de remplir ce récipient, jusqu'au trait de jauge, avec de l'eau qui peut être de l'eau commune à la condition que cette dernière renferme moins d'un dixième de milligramme de P²O⁵ par litre, ce qui est la règle pour les bonnes eaux potables, mais ce dont on devra s'assurer par un essai direct.

Le vin, ainsi dilué au cinquième, étant rendu homogène par agitation, on en prélève 5^{c.c.} qu'on introduit dans le tube qui a servi à préparer les étalons, on leur ajoute VI gouttes de réactif molybdoso-molybdique¹⁰⁾, ou III gouttes de réactif molybdeux et VI gouttes de réactif S. M. dilué au quart, et on porte à l'ébullition dans les conditions opératoires indiquées précédemment.

Cela fait et après, refroidissement, on décante de liquide, devenu bleu, dans un tube de même calibre et de même verre que les tubes étalons, on en complète, s'il y a lieu, le volume à 5^{c.c.} et on compare l'intensité de sa teinte à celle des tubes étalons eux-mêmes. Si, par exemple, cette teinte s'identifie à celle du contenu du tube 6, on dit que le vin essayé renferme :

$$6 \text{ mgr.} \times 50 = 0 \text{ gr. } 30 \text{ de P}^2\text{O}^5, \text{ par litre.}$$

Si cette teinte est comprise entre celle des tubes 8 et 10 mais plus près de ce dernier, on en conclura que le vin renferme :

$$9 \text{ mgr. } 5 \times 50 = 0 \text{ gr. } 47 \text{ de P}^2\text{O}^5, \text{ par litre}$$

à 1 centigramme près, environ.

En d'autres termes, le poids de P²O⁵, existant dans 1 litre du vin essayé, est donné en multipliant par 0 gr. 05 le numéro réel — ou calculé¹¹⁾ quand la teinte est intermédiaire entre celle du contenu de deux tubes successifs marqués — du tube étalon dont le liquide a une intensité de teinte se rapprochant le plus de celle qu'aura fournie le vin dilué.

Lorsque la teinte obtenue dépasse celle de l'étalon 12, ce qui

¹⁰⁾ Quand le réactif est préparé depuis plusieurs jours, on augmente le nombre, de gouttes, à ajouter, d'une goutte tous les deux ou trois jours pour compenser sa diminution de titre en molybdène réduit, provenant de l'oxydation spontanée qu'il a pu subir.

¹¹⁾ C'est ainsi que, dans l'exemple choisi, le numéro calculé est 9,5 qui se rapproche plus de la valeur 10 que la moyenne (10 + 8 : 2 = 9) des deux numéros successifs marqués 8 et 10.

est assez rare, on étend à moitié le liquide représentant déjà la dilution au cinquantième; on traite à l'ébullition, comme il a été indiqué, 5^{cc}. de cette nouvelle dilution additionnés, suivant la technique ordinaire, des réactifs précités et, après comparaison chromoscopique, on calcule comme précédemment, mais en doublant les résultats obtenus.

b. *Cas des vins rouges.* — On opère absolument comme avec les vins blancs mais en tenant compte que ces liquides, même dilués, conservent toujours une teinte plus ou moins rosée qui s'exalte vers le rose vif quand ils sont acidulés, comme c'est le cas par addition des réactifs molybdiques.

Dans ces conditions, cette teinte rosée se superpose à la teinte bleue, fournie par les phosphates, pour donner un coloration violacée qui n'est plus, immédiatement, comparable à celle des étalons.

On tourne, avec la plus grande facilité, ce petit inconvénient apparent, en plaçant devant ou derrière les étalons, au bloc de Walpole, un tube de verre identique à ceux-ci et dans lequel on aura mis 8 à 10^{cc}. de la dilution vineuse additionnés d'une goutte d'acide sulfurique étendu au dixième. Devant ou derrière le tube contenant l'essai à comparer, on mettra un autre tube renfermant seulement de l'eau.

La teinte parasite est, ainsi, compensée à merveille et n'affecte, en rien, la rigueur des dosages.

Cette technique, rigoureusement suivie, fournit, dans un temps extrêmement court, des résultats d'une constance surprenante. Elle ne nécessite pas d'adaptation spéciale et permet, en outre, de mener rapidement, en série, un nombre important de déterminations de phosphates, dans le vins.

Les exemples suivants donneront une idée de la constance de la méthode: Un vin rouge de la région de Léognan (en Gironde), d'authenticité certaine, a été examiné à l'aide de cette méthode par quatre opérateurs différents dont chacun a trouvé 0 gr. 32 d'ion phosphorique, par litre de liquide.

1^{cc}. du même vin, dilué à 50^{cc}. avec de l'eau, après incorporation, dans la dilution, de 1 gramme soit de sucre ordinaire, soit de sucre interverti, de 1^{cc}. d'alcool absolu, de 0 gr. 10 d'acide tartrique et de 1 gramme de glycérine — ce qui correspond à des doses décuples pour les trois premiers de ce corps, et centuples pour le dernier, de celles qu'on trouve pour les constituants

massifs, habituels, des vins, même les plus sucrés — a fourni, encore, 0 gr. 32 d'ion phosphorique, par litre.

Dans un essai identique mais où le même vin avait été additionné de 0 gr. 18 d'ion phosphorique, par litre, on a retrouvé 0 gr. 50 de cet ion, ce qui correspond bien à la quantité calculée:

$$0 \text{ gr. } 32 + 0 \text{ gr. } 18 = 0 \text{ gr. } 50.$$

Ces chiffres montrent, indiscutablement, que les constituants ordinaires du vin, même ajoutés à des doses énormes, sont sans influence sur la rigueur des dosages, par céruléo-molybdimétrie, pratiqués suivant la technique plus haut indiquée.

On doit en déduire qu'aux proportions où ils existent dans les vins, ils ne peuvent amener aucune perturbation, à la base même de l'opération et que les chiffres trouvés représentent bien le phosphore minéral des vins.

On peut même dire que ce procédé est, actuellement, le seul pouvant donner ce phosphore minéral, tous les autres nécessitant la destruction préalable des matériaux organiques laquelle entraîne la minéralisation fatale du phosphore organique qui se trouve constamment dans les vins sous forme de combinaisons éthérées: glycériques, hexosiques, inositiques ou autres et dont la présence, pour certaines au moins, est expliquée par les théories modernes sur le mécanisme de la fermentation alcoolique.

Mais il se prête, aussi, à la détermination exacte et très rapide du phosphore total — d'où l'on peut déduire le phosphore organique — en opérant comme suit:

1^{cc}. de vin est évaporé dans une capsule de platine à fond rond (on peut, également, se servir d'un récipient en quartz ou en porcelaine) jusqu'à formation d'extrait presque sec. Au résidu, on ajoute X gouttes d'acide azotique; on évapore de nouveau et dessèche jusqu'à forte carbonisation. On ajoute encore V gouttes d'acide azotique; enfin, on évapore et calcine, jusqu'à obtention de cendres blanches.

On reprend, ensuite, par 20^{cc}. d'eau qu'on additionne d'une goutte d'acide sulfurique pur, on porte à l'ébullition, on décante dans un matras jaugé de 50^{cc}. et, avec de l'eau dont une partie aura servi à laver la capsule, on complète le volume, jusqu'au trait de jauge, après complet refroidissement.

Avec 5^{cc}. de cette dilution on fait, comme plus haut, la détermination colorimétrique de P²O⁵.

Le vin rouge, pris précédemment comme exemple, a ainsi fourni 0 gr. 38 de phosphore total ce qui correspond à 0 gr. 38 — 0 gr. 32 = 0 gr. 06 de phosphore organique, également exprimé en P^2O^5 .

Quand les vins rouges sont sucrés, on porte la première dose d'acide azotique à XX gouttes, la seconde à X, cette seconde addition se faisant lorsque, après dessiccation avancée et début de calcination, le résidu s'est fortement caramélisé.

Enfin, on fait une troisième addition de X gouttes du même acide, une fois la carbonisation obtenue et avant l'ultime calcination.

Le temps total de l'essai, dosage compris, ne dépasse pas dix minutes.

C'est en employant cette méthode que nous avons obtenu les résultats suivants sur des échantillons de vins d'une authenticité certaine.

VINS ROUGES

CRUS	Années	P^2O^5 minéral par litre
SAINT-EMILION Château Ballan	1926	0 gr. 55
— — Bellevue	—	0 gr. 50
— — Peyreau	—	0 gr. 42
— — Mirbande	—	0 gr. 40
— — Rose	—	0 gr. 39
— — Guadet	—	0 gr. 30
— — Parsac	1927	0 gr. 38
— — Rabion	—	0 gr. 38
— — Puisseguin	—	0 gr. 30
POMEROL — Goupil	—	0 gr. 28
SAINT-JULIEN — Gruaud Laroze	1926	0 gr. 36
PAULLAC — Mouton d'Armailhac	—	0 gr. 40
MAGAU — Carrière	1927	0 gr. 45
— — Cusseau	—	0 gr. 36
— — Fine Rose	—	0 gr. 35
LUGON-FRONSAC — —	—	0 gr. 35
ARQUES-FRONSAC — —	—	0 gr. 57
BELVES — Beauvoir	1926	0 gr. 42
— — Puy Arnaud	1887	0 gr. 32
CADAUJAC Domaine de Chantecrit	1887	0 gr. 42
— — —	1898	0 gr. 40
— — —	1924	0 gr. 42

VINS BLANCS

CRUS	Années	P ² O ⁵ minéral par litre
SAUTERNES Château Raymond Lafon	1920	0 gr. 55
— — Guiraud de Suduiraud	—	0 gr. 58
SAINT-MAXANT — de Malagarre	—	0 gr. 25
CADAUJAC Domaine de Chantecrit	1922	0 gr. 30

La moyenne, calculée sur 30 vins rouges parmi lesquels se trouvaient tous ceux qui figurent sur le tableau ci-dessus a été de 0 gr. 38 de P²O⁵ minéral, par litre; le dosage colorimétrique, pratiqué sur leur mélange a fourni, exactement, le même chiffre.

c. Cas des autres boissons fermentées. — Les techniques qui viennent d'être indiquées, pour les vins, sont applicables aux moûts après filtration et à toutes les boissons fermentées (bières, cidres, poirés, vinaigres, etc.).

Dans le cas des vinaigres on peut ainsi, avec leur aide, se rendre compte, immédiatement, si le produit est d'origine vinaire, ou purement issu de l'acool; ou, encore, s'il a été préparé par dilution d'acide acétique.

Le rapport $\frac{P \text{ organique}}{P \text{ minéral}}$ si facile à établir par cette méthode, sera, en outre, susceptible d'apporter à l'œnologie un nouvel élément pour l'appréciation des fraudes possibles et même pour suivre l'évolution des fermentations, remédier, en certains cas, à l'insuffisance phosphatique des moûts pour le développement des levûres, etc. etc.

En un mot, la méthode céruléo-molybdimétrique permet de poursuivre, avec la plus grande aisance, une série de questions que l'insuffisance ou la difficulté des procédés connus, ne permettaient pas jusqu'ici d'aborder.

2° Dans les terres, les engrais et les minerais phosphatés.

a. Cas de l'ion phosphorique soluble dans l'eau. — 5 grammes de terre — préparée suivant les procédés classiques d'échantillonnage — sont mis dans un flacon d'environ 100^{cc} et additionnés de 50^{cc} d'eau. On bouche, agite à plusieurs reprises pendant un quart d'heure et on filtre.

5^{cc}. du filtrat tout additionnés du réactif molybdoso-molybdique, préalablement préparé ou formé extemporanément dans le liquide (voir plus haut, dans le cas des vins) et portés à l'ébullition qu'on maintiendra 12 secondes. On compare, ensuite, la teinte bleue obtenue à celle d'étalons préparés d'une façon semblable avec des liquides renfermant de 2 à 12 milligrammes de P^2O^5 , par litre.

Si la teinte correspond à celle de l'étalon à n milligrammes par litre, la teneur, en P^2O^5 , du kilogramme de terre sera de n centigrammes. Si cette teinte dépasse celle de l'étalon 12, on dilue le liquide de macération de la terre et on calcule en conséquence; si elle n'atteint pas celle de l'étalon 2, on la compare à une seconde échelle d'étalons allant de 0 mgr. 4 à 2 mgr. par litre.

Enfin, si le produit de macération de la terre est coloré, on en additionne 10^{cc}. d'une goutte d'acide sulfurique. Le mélange, mis dans un tube, est juste porté à l'ébullition et, au moment de la comparaison chromométrique, placé au bloc de Walpole devant les tubes étalons que l'on compare au contenu du tube renfermant l'essai.

b. Cas de l'ion phosphorique soluble dans les acides. — Pour la détermination de l'ion phosphorique soluble dans les acides dilués (minéraux ou organiques) et dont la quantité l'emporte, généralement, de beaucoup sur celle de l'acide phosphorique soluble dans l'eau, il faut procéder, d'emblée, à des dilutions plus grandes.

Ainsi, lorsque le dissolvant choisi est l'eau azotique à 2 p. 100, on commence à traiter 5 grammes de terre par 50^{cc}. de dissolvant (ou plus si la terre est très calcaire). L'effervescence finie, on filtre.

Lorsque le titre initial du liquide de dissolution ne dépasse pas 2 p. 100 d'acide nitrique, on peut, après dilution au vingtième d'une partie du filtrat, opérer directement le dosage colorimétrique mais en faisant intervenir un tiers de plus, environ, du réactif.

Si ce titre est supérieur à 2 p. 100, ou si l'on se sert d'eau régale (détermination de P^2O^5 total) on évapore à sec, puis calcine 1^{cc}. du filtrat. On reprend par 10^{cc}. d'eau bouillante acidulée d'une goutte d'acide sulfurique.

C'est ainsi qu'on opérera lorsque l'acide citrique sera l'agent de dissolution, la calcination devant, alors, être précédée d'addition de quelques gouttes d'acide nitrique pour favoriser la combustion complète.

Quand la terre est ferrugineuse mais n'abandonne pas, au dissolvant, plus de 1 à 2 p. 100 de son poids de fer, on peut opérer comme précédemment mais en doublant la dose de réactif molybdoso-molybdique employé à chaque essai.

Si le ferricum est abondant, il faut le réduire. Le seul moyen pratique que nous ayons trouvé pour cela — toute autre tentative ayant échoué — a été d'effectuer l'essai colorimétrique final avec le réactif S. M. au quart, en en faisant intervenir X gouttes par essai de 5^{cc.} et pratiquant l'ébullition en présence de 15 à 20 centigrammes de tournures de cuivre. Le réactif molybdoso-molybdique se forme, ainsi, extemporanément, réduit le ferricum, repasse à l'état molybdique, puis de nouveau à la forme réduite, grâce à l'excès de cuivre et, lorsque la réduction de Fe⁺⁺⁺ en Fe⁺⁺ est complète — ce dont on s'aperçoit à la teinte bleutée que prend le mélange — fournit, si l'ébullition est maintenue encore 30 secondes, la même coloration (le volume final étant amené à 5^{cc.}) qu'on aurait obtenue avec le réactif molybdoso-molybdique lui même, en l'absence de fer.

Les résultats sont excellents, même en présence de 50 p. 100 de fer, surtout si l'on a soin de comparer, les teintes obtenues, avec une gamme d'étalons préparés avec le cuivre, dans les mêmes conditions, et d'opérer assez vite, la présence des sels de fer, dans le milieu, favorisant l'auto-oxydation du phospho-conjugué bleu.

Pour les engrais, la détermination de l'ion phosphorique sera effectuée par des techniques analogues avec cette seule différence que, lorsqu'il s'agira d'engrais phosphatés, les dilutions vu les fortes teneurs en cet ion, devront être beaucoup plus considérables que dans le cas des terres.

Il en sera, a fortiori, de même, pour les minerais phosphatés.

Dans ces conditions, les substances ambiantes, ne gênent plus le dosage direct.

5° Dans les produits de l'organisme.

a. Cas des urines. — La méthode classique et clinique de dosage de l'ion phosphorique urinaire, par les sels d'uranyle, n'est pas toujours d'une application aisée avec les urines fortement colorées soit par des pigments d'ordre pathologique (bile, urobiline, hémoglobine, etc.), soit par des dérivés d'origine médicamenteuse (bleu de méthylène, cryogénine, etc.). De plus, elle est

souvent entachée d'erreur dans le cas des albuminuries plus ou moins massives.

La céruléo-molybdimétrie permet de pratiquer ce dosage non seulement avec une extrême célérité mais dans des conditions où le procédé uranique est inapplicable ou, tout au moins, douteux dans ses résultats. En outre, comme il ne nécessite, pour être mis en œuvre, que des quantités infimes de liquide urinaire (une demi-goutte normale, c'est à dire 0^{c.c.} 025 pour un essai) elle est applicable dans des cas où la dose d'urine dont on dispose — par exemple chez les tout jeunes enfants, les animaux de petite taille, etc. — rend impossible l'utilisation de tout autre procédé de dosage. Elle est, enfin, un précieux et rapide mode de contrôle du procédé classique et, à ce dernier point de vue, mérite son usage

systematique en urologie où la détermination du rapport $\frac{P^{2}O^{5}}{\text{Urée}}$, toujours utile, s'impose, particulièrement, dans les cas d'albuminurie, pour dépister une rétention possible d'urée.

Pratique du dosage. Avec une pipette, très exactement calibrée 1^{c.c.}, on prélève 1^{c.c.} d'urine qu'on introduit dans un matras jaugé de 200^{c.c.} et on achève de remplir ce récipient, jusqu'au trait de jauge, avec de l'eau commune exempte de phosphates.

L'urine, ainsi diluée au deux-centième, étant rendue homogène par agitation, on en prélève 5^{c.c.} qu'on traite par les réactifs molybdoso-molybdiques comme les vins et on les compare à des étalons (renfermant de 2 à 12 milligrammes de P²O⁵ par litre) traités dans les mêmes conditions. Si la teinte obtenue correspond, par exemple, à l'étalon à 6 mgr. par litre, l'urine examinée renferme 6 mgr. \times 200 = 1 gr. 20 de P²O⁵, par litre.

Lorsque la teinte de l'essai dépasse celle de l'étalon 12 on étend à moitié le liquide représentant déjà la dilution au deux-centième; enfin lorsqu'elle n'atteint pas celle de l'étalon 6, on fait une seconde opération sur 5^{c.c.} d'urine diluée seulement au centième. Dans les deux cas, on calcule en conséquence.

Quand la dilution — quoique fort grande — de l'urine employée, donne encore un liquide sensiblement coloré — ce qui est exceptionnel — on compense cette teinte parasite en mettant au bloc de Walpole, devant ou derrière les étalons, un tube de verre renfermant une dizaine de centimètres cubes de cette dilution.

Enfin, si l'urine examinée renferme plus d'un gramme d'albumine, par litre, on ajoute au centimètre cube de cette urine, mis dans un matras jaugé de 200^{c.c.}, une dizaine de centimètres cubes d'eau, II gouttes d'acide acétique cristallisable, de V à X gouttes de réactif de Tanret (iodure mercurico-potassique acétique), suivant la quantité d'albumine, on porte juste à l'ébullition, on complète à 200^{c.c.} avec de l'eau. Après refroidissement, on filtre et on opère comme plus haut sur 5^{c.c.} du liquide filtré.

c. C a s d u s a n g. — Dans une éprouvette, jaugée à 25^{c.c.}, on introduit 1^{c.c.} de sang ou de sérum sanguin; on ajoute le double de ce volume soit 2^{c.c.} d'iodure mercurico-potassique [réactif de Tanret]¹²⁾; on agite pour mélanger, on complète à 25^{c.c.} avec de l'eau, on mélange encore et on filtre.

5^{c.c.} du filtrat sont mis dans un tube à essai puis additionnés de X gouttes du réactif S. M. dilué au quart et de 5 à 6 centigrammes de cuivre, en tournures.

Avec un trait d'encre, on marque, sur le tube, le point le plus déclive du ménisque inférieur du liquide qu'on porte, ensuite, à l'ébullition. Celle-ci, une fois obtenue, est maintenue pendant 30 secondes, en agitant constamment le tube.

On laisse refroidir, on ajoute, goutte à goutte, suffisamment d'eau pour rétablir le volume primitif dans la mesure où il a été diminué par l'ébullition, et on verse le liquide résultant dans le tube destiné à la comparaison colorimétrique avec les étalons.

Si le liquide du tube contenant l'essai a une teinte identique à celle du liquide étalon à n mgs. de P²O⁵ par litre, c'est que le sang ou le sérum sanguin essayés — dont la dilution est 1 : 25 — contiennent 25 fois plus de P²O⁵, soit:

n fois 25 milligrammes, par litre.

Cet essai peut-être effectué avec 0^{c.c.} 4 seulement de sang ou de sérum sanguin et 0^{c.c.} 8 de réactif de Tanret, mélange qu'on étend, cette fois, à 10^{c.c.} seulement, avec de l'eau, pour maintenir la même concentration que dans le cas précédent.

Après filtration, on opère sur 5^{c.c.}, ainsi qu'il a été dit plus haut. Enfin, si l'on ne disposait que de quantités de sang plus réduites

¹²⁾ Voici la formule de ce réactif tel que nous l'employons: Mettre, dans un matras jaugé de 200^{c.c.}, 2 gr. 71 de bichlorure de mercure finement pulvérisé, 10^{c.c.} d'eau distillée et 7 gr. 20 d'iodure de potassium. Agiter jusqu'à dissolution et compléter le volume à 200^{c.c.} avec de l'eau. Mélanger, ensuite, le liquide résultant, avec 40^{c.c.} d'acide acétique cristallisable.

— 1 goutte, soit 0^{c.c.} 05, par exemple — on pourrait, encore, en déterminer la teneur en P²O⁵, en la mélangeant à II gouttes (0^{c.c.} 1) de réactif de Tanret, étendant à 7^{c.c.} 5 avec de l'eau, filtrant et opérant toujours avec 5^{c.c.} de filtrat, mais en comparant, cette fois, la teinte obtenue, avec celle d'étalons de teneur en P²O⁵ six fois plus faible que dans les cas précédents, c'est à dire à 1, 2, 4, 6 et 8 sixièmes de milligramme de ce produit, par litre. Les calculs restent les mêmes¹³⁾.

c. Cas du liquide céphalo-rachidien. — On opère comme dans le cas du sang mais avec quatre gouttes seulement de réactif de Tanret.

d. Cas des laits. — Quand le lait à examiner est riche en protides, comme celui de vache par exemple, on en met 1^{c.c.} dans un matras jaugé de 100^{c.c.}; on ajoute II gouttes d'acide acétique et II gouttes de réactif de Tanret, on complète à 100^{c.c.} et on filtre, après mélange.

On opère sur 5^{c.c.}, soit avec VI à VIII gouttes de réactif S. M. au quart, en nature, plus III gouttes du même réactif réduit par le cuivre et 12 secondes d'ébullition; soit avec du cuivre en tournures et X gouttes de réactif S. M. au quart et 30 secondes d'ébullition.

Avec les laits pauvres en protides, comme celui de femme par exemple, on complète seulement le volume final à 50^{c.c.} et, après filtration, on opère de préférence avec le cuivre en tournures (5 à 6 centigrammes).

e. Cas de la salive. — On prend 1 gramme de ce liquide, on étend à 50^{c.c.} avec de l'eau, on filtre et l'on opère sur 5^{c.c.} du filtrat comme avec les liquides précédents.

f. Autres principes biochimiques. — On voit qu'avec de très légères variantes, on peut déterminer le phosphore minéral ou organique dans tous les produits bio-chimiques animaux ou végétaux par le méthode céruléo-molybdimétrique qui peut-être, ainsi, considérée, pour le dosage très rapide du phosphore, comme d'une universalité absolue.

¹³⁾ En minéralisant le sang total par les méthodes connues, mais en opérant avec des dilutions au moins dix fois plus fortes du résidu hérmatique, repris par l'acide sulfurique dilué, mais sans faire intervenir de réactif de Tanret — inutile en l'absence d'albuminoïdes — on pourra effectuer des micro-dosages de phosphore total du sang avec de très faibles quantités de ce liquide (moins d'une goutte). Cette minéralisation pourra être faite sur les autres liquides de l'organisme.

Applications de la méthode céruléo-molybdimétrique au cas de l'arsenic.

Tout ce qui vient d'être dit pour le phosphore serait rigoureusement applicable à l'arsenic si ce métalloïde était aussi diffusé dans la nature que son congénère. Mais c'est surtout dans l'appréciation quantitative des taches et anneaux arsenicaux obtenus dans les expertises légales, par exemple, que la méthode céruléo-molybdimétrique peut-être d'un usage précieux.

Il suffira, pour en faire usage, de traiter ces résidus arsenicaux par NO^3H , d'évaporer à sec et de dissoudre, l'acide arsénique formé, dans $5^{\text{c.c.}}$ on un plus grand volume d'eau — suivant l'importance apparente de sa messe — enfin, de traiter ces solutions comme celles de P^2O^5 mais en préparant les étalons de comparaison avec des liqueurs titrées d'arséniate disodique.

On peut, ainsi, évaluer exactement la teneur en arsenic de taches ou d'enduits ne contenant pas plus d'un millième de milligramme de ce métalloïde.
