

## **Chapitre 5**

### **Dosage des éléments minéraux nutritifs (N, P, K.....)**

## **I. Les éléments nutritifs :**

A l'exception du carbone (C), les éléments nutritifs sont tous prélevés par la plante dans la solution du sol. On les répartit en deux catégories (classification quantitative) :

**Azote (N) :** Il est le moteur de la croissance végétale. Il représente 1 à 4 % de la matière sèche végétale. Il est prélevé dans le sol sous forme soit nitrique (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) soit ammoniacale (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). Il se combine aux composés du métabolisme des hydrates de carbone de la plante pour donner des acides aminés et des protéines. Etant le constituant essentiel de protéines, il intervient dans les principaux processus de développement de la plante et de détermination du rendement. Un bon apport d'azote à la plante est aussi important pour l'absorption d'autres éléments nutritifs.

**Phosphore (P) :** Il compte pour 0.1 à 0.4 % de la matière sèche, et joue un rôle déterminant dans le transfert d'énergie. Ainsi il est indispensable à la photosynthèse et aux autres processus chimico-physiologiques de la plante. Il est essentiel à la différenciation cellulaire et au développement des jeunes tissus à partir desquels se fait la croissance de la plante. La plupart des sols cultivés et ceux non cultivés sont carencés en phosphore ou ont une fixation élevée vis-à-vis du phosphore, limitant ainsi sa biodisponibilité.

Le phosphore élémentaire est très réactif chimiquement et il ne se retrouve pas à l'état pur dans la nature. Il est toujours en combinaison avec d'autres éléments. La plupart de ces composés ne sont pas disponibles pour les plantes puisqu'ils sont insolubles.

**Potassium (K) :** Il représente 1 à 4 % de la matière sèche de la plante et ses fonctions sont multiples. Il active plus de 60 enzymes (substances chimiques qui gouvernent la vie). Il joue ainsi un rôle vital dans la synthèse des hydrates de carbone et des protéines. K améliore le régime hydrique de la plante et accroît sa tolérance à la sécheresse, au gel et à la salinité. Les plantes bien alimentées en potassium sont moins sensibles aux maladies.

## **I. DOSAGE DE L'AZOTE**

L'azote peut se présenter dans les eaux aussi bien sous forme minérale qu'organique.

En général, s'agissant des eaux naturelles, ce sont les formes minérales qui sont de loin les plus importantes.

Un certain nombre de termes doivent être précisés :

### **□Azote total**

L'azote total comprend l'ensemble des formes azotées, aussi bien minérales qu'organiques.

### **□Azote KJELDAHL**

L'azote KJELDAHL correspond à celui qui se trouve sous la forme de composés azotés organiques et d'ammonium. Il ne comprend donc pas des composés oxydés de l'azote tels les nitrates et nitrites, ni certaines autres formes, oximes, hydrazine, hétérocycles.

L'expression « azote KJELDAHL » trouve son origine dans le nom de celui qui a mis au point la méthode universelle utilisée pour doser les fractions azotées concernées.

### □Azote minéral

L'azote minéral est constitué par l'ammoniaque, les nitrites, les nitrates.

### Azote organique

L'azote organique est essentiellement formé par des protéines, des polypeptides, de l'urée, des acides aminés.

### □Azote ammoniacal

L'azote ammoniacal représente l'azote sous la forme  $\text{NH}_4^+$

## 1. Relation entre les diverses fractions azotées

Compte tenu des définitions ci dessus, il existe les relations suivantes entre les différentes fractions azotées :

$$N_{\text{total}} = N_{\text{organique}} + N_{\text{minéral}} \quad (1)$$

$$N_{\text{KJELDAHL}} = N_{\text{organique}} + N_{\text{NH}_4^+} \quad (2)$$

$$N_{\text{minéral}} = N_{\text{NH}_4^+} + N_{\text{NO}_2^-} + N_{\text{NO}_3^-} \quad (3)$$

La relation (2) permet ainsi de déterminer l'azote organique à partir de la mesure de l'azote KJELDAHL et de l'azote ammoniacal.

$$\text{On a en effet : } N_{\text{organique}} = N_{\text{KJELDAHL}} - N_{\text{NH}_4^+} \quad (4)$$

*Note : L'expression « azote total » est parfois employée pour définir ce qui correspond en fait à « l'azote KJELDAHL ». C'est là une mauvaise habitude, source d'erreurs regrettables.*

## 2. Manipulation

Elle consiste à effectuer le dosage de l'azote KJELDAHL, puis celui de l'azote ammoniacal et d'en déduire l'azote organique à l'aide de la relation :

$$N_{\text{organique}} = N_{\text{KJELDAHL}} - N_{\text{NH}_4^+}$$

## 2. Dosage de l'azote kjeldahl

### 2. 1. Principe

**1. la minéralisation :** L'azote organique est minéralisé sous forme de sulfate d'ammonium par l'action conjuguée de l'acide sulfurique et de catalyseurs de minéralisation. Le schéma de la réaction est le suivant :



**2. la distillation :** Les ions  $\text{NH}_4^+$  qui résultent de cette minéralisation, ainsi que ceux qui préexistaient dans l'eau, sont transformés ensuite en ammoniac par une lessive de soude.



**3. la titration :** L'ammoniac est alors entraîné par un courant de vapeur vers une solution de piégeage où il pourra être dosé par simple acidimétrie.

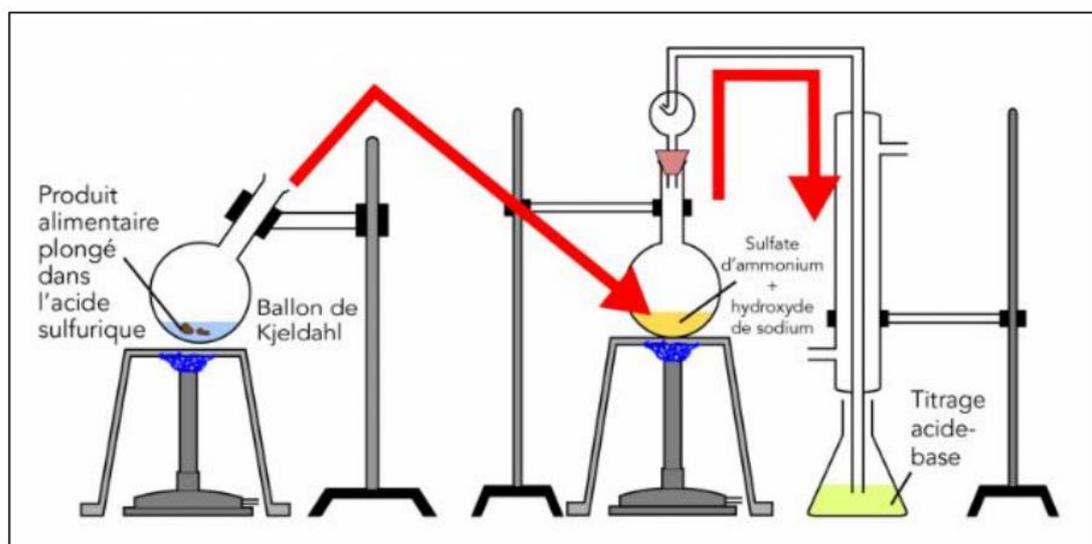


Figure : Dosage de l'azote kjeldahl

## 2.2. Produits, matériel et instrumentation

### **Produits**

- Catalyseur de minéralisation ;
- Acide sulfurique concentré (produit dangereux) ;
- Solution d'acide borique agent anti moussant ;
- Solution d'acide sulfurique 0,1 N ;
- Lessive de soude à 300 g/l (produit dangereux) ;
- Indicateur coloré.

### **Matériel**

- Tubes de minéralisation ;
- Burette de 25 ml ;

- Pipettes de 10 et 25 ;
- Jaugé de 100 ml ;
- Eprouvettes de 10 et 100 ml ;
- Béchers ;
- Billes de verre ;
- Agitateur magnétique.

***Instrumentation***

- Unité de distillation
- Digesteur

### ***2.3. Mode opératoire***

Mettre le digesteur sous tension dès l'arrivée au laboratoire.

#### ***2. 3.1. Préparation de l'échantillon***

On préparera simultanément trois prises d'essais du même échantillon.

Introduire successivement dans chaque tube de minéralisation :

- Environ 3 g de catalyseur ;
- 100 ml d'échantillon à l'éprouvette ;
- 10 ml d'acide sulfurique concentré, à l'éprouvette et avec précaution ;
- Quelques gouttes d'anti moussant ;
- Quelques billes de verre.

#### ***2. 3.2. Minéralisation***

- Placer les tubes dans les loges du digesteur ;
- Raccorder les tubes au collecteur ;
- Mettre en marche la trompe à eau reliée au collecteur ;
- Agir sur le rhéostat de telle sorte que l'ébullition soit sans excès ;
- Augmenter légèrement la puissance de chauffe, dès que l'eau a disparu et qu'il ne reste pratiquement plus que l'acide ;
- Laisser la minéralisation se faire durant 45 m dès l'apparition des fumées blanches ;
- Eteindre le digesteur à l'issue de ce laps de temps ;
- Saisir le collecteur avec la pince prévue à cet usage et déposer avec précaution les tubes sur le portoir ;
- Laisser refroidir puis retirer le collecteur ;

- Dissoudre de nouveau le précipité au cas où il apparaîtrait, en y ajoutant doucement un peu d'eau distillée.

**Attention :** *Au cours de cette opération dangereuse, il s'agit de l'addition d'eau à un acide concentré. Pour ce faire, il est impératif d'orienter le tube vers une direction ne présentant aucun risque pour vous et vos voisins.*

### 2. 3.3. Distillation

La mise en route de l'appareil doit être effectuée en présence du moniteur qui effectuera les réglages éventuels et en respectant scrupuleusement l'ordre des séquences suivant :

- Préparation de la distillation*

- Ouvrir le robinet d'eau et vérifier que le débit est d'environ 1 l/mn ;
- Mettre l'appareil sous tension ;
- Vérifier que le vase intermédiaire est vide, sinon ouvrir le robinet de vidange et le refermer  
lorsque l'opération est effectuée ;
- Mettre une ou deux gouttes de phénophtaléine dans chacun des tubes échantillons ;
- Positionner un tube sur son support et veiller à ce que le flexible en PTFE soit immergé d'au moins 1 cm dans la solution;
- Ajouter éventuellement avec précaution, un peu d'eau;
- Obturer le tube avec le bouchon de raccord et poser le tube sur le plateau basculant;
- Placer un erlenmeyer contenant 25 ml d'acide borique (éprouvette) sur le socle de réception;
- Introduire dans l'erlenmeyer quelques gouttes d'indicateur coloré;
- Ajouter la quantité d'eau distillée nécessaire pour que le tube soit au contact de la solution d'acide borique;
- Introduire doucement environ 50 cm<sup>3</sup> de soude à l'acide du robinet marqué « NaOH »;
- Refermer le robinet.

**Note :** *En général la solution contenue dans le tube à distiller vire au rose, couleur de la phénophtaléine en milieu basique. Cette couleur peut cependant disparaître au début, puis réapparaître au cours de la distillation. Si la quantité de soude introduite n'est pas suffisante, le milieu restera acide et la coloration rose ne se manifesterait pas !*

- Distillation proprement dite*

- Mettre en marche la distillation en agissant sur le robinet marqué « distillation » ;
- Observer que la solution contenue dans l'erlenmeyer vire rapidement au vert ;

- Recueillir environ 100 à 200 ml de distillat ;
- Retirer l'erenmeyer ;
- Rincer le flexible d'un jet de pissette et recueillir les eaux de rinçage ;
- Fermer le robinet « distillation » ;
- Observer, dans les secondes qui suivent, l'aspiration du contenu du tube de distillation dans le vase intermédiaire ;
- Retirer le tube de distillation avec un gant d'amiante et le déposer sur son portoir ;
- Actionner le robinet « vidange » pour éliminer le contenu du vase intermédiaire ;
- Rincer le flexible en PTFE, l'appareil est prêt pour une nouvelle distillation.

#### 2.1.3.4. Dosage

##### Schéma

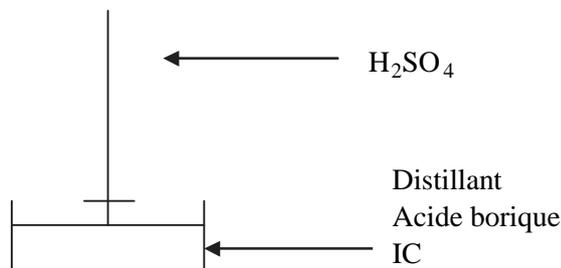


Figure 1 : Dispositif de dosage ammoniacal

##### Protocole

- Titrer le contenu de l'erenmeyer par H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 0,1 N jusqu'à ce que la solution verte revienne à sa couleur initiale ;
- Noter V<sub>1</sub> le volume d'acide utilisé ;
- Vider et rincer l'erenmeyer ;
- Introduire 25 ml d'acide borique (indicateur coloré) dans l'erenmeyer, et procéder au même dosage que pour le distillat ;
- Noter V<sub>0</sub> le volume d'acide utilisé pour obtenir le changement de coloration, V<sub>0</sub> correspond à l'ammoniac éventuellement apporté par le tampon borique ;
- Noter (V<sub>1</sub> – V<sub>0</sub>) représente le volume d'acide utilisé pour neutraliser le seul ammoniac libéré par l'échantillon après minéralisation.

##### Expression des résultats

On a :  $N_1 * (V_1 - V_0) = N_2 * V_2$

$$N_2 = \frac{N_1 * (V_1 - V_0)}{V_2}$$

Avec :  $(V_1 - V_0)$  = volume d'acide nécessaire à la neutralisation ;

$N_1$  = normalité de l'acide ;

$V_2$  = volume de la prise d'essai (100 ml) ;

$N_2$  = normalité de la solution d'ammoniac.

L'azote en mg/l s'exprime alors par  $T_2 \text{ mg/l} = N_2 \cdot 1000 \cdot 14$

## II. DOSAGE DU PHOSPHATE

### Principe :

Les ions phosphates  $\text{PO}_4^{3-}$  réagissent en milieu acide avec le molybdate d'ammonium pour former un complexe phosphomolybdique de couleur bleue, après réduction par l'acide ascorbique. Nous allons donc réaliser un dosage par spectrophotométrie dans le visible à la longueur d'onde de 720 nm. Dans un premier temps, on prépare une gamme étalon dont on mesure l'absorbance pour tracer une courbe d'étalonnage. Ensuite, on mesure l'absorbance de l'eau à analyser pour déterminer sa concentration en ions phosphate par comparaison avec la courbe d'étalonnage.

### Préparation de la solution mère $S_0$ :

- Peser avec précision 0,439 g de dihydrogénophosphate de potassium sec de formule  $(\text{KH}_2\text{PO}_4)$ . Les introduire dans une fiole jaugée de 1 L pour préparer par dissolution une solution  $S$  de concentration  $C = 3,23 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ . En effet n

$$n = \frac{m}{M(\text{KH}_2\text{PO}_4)} = \frac{0,439}{136,1} = 3,23 \cdot 10^{-3} \text{ mol}$$

Compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Bien agiter pour homogénéiser la solution.

Diluer au  $1/10^e$  cette solution : prélever à la pipette jaugée 10,0 mL de la solution préparée  $S$  et les introduire dans une fiole jaugée de 100 mL puis compléter avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Bien agiter pour homogénéiser la solution.

- Recommencer cette opération (dilution au  $1/10^e$  de la solution déjà diluée). On obtient ainsi une solution  $S_0$  de concentration  $C_0 = 3,23 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$  soit de concentration massique en phosphore  $C_0 = 1 \text{ mg P/L}$ . La concentration massique en phosphore s'exprime ici en mg P/L (milligramme de phosphore par litre de solution). Il s'agit de la masse d'élément phosphore se trouvant par litre de solution. En effet, 1,0 mg d'élément phosphore correspond à

$$n = \frac{m}{M(P)} = \frac{1,0 \cdot 10^{-3}}{31} = 3,23 \cdot 10^{-5} \text{ mol d'atomes de phosphore.}$$

Comme 1 mole de dihydrogénophosphate de potassium contient 1 mole d'atomes de phosphore, la concentration molaire de la solution  $S_0$  est bien  $C_0 = 3,23 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ .

**Préparation de la gamme étalon :**

Utiliser le tableau suivant pour fabriquer 5 solutions filles notées  $S_1$  à  $S_5$ , de concentration  $C'$  dans 5 tubes à essai numérotés.  $V_0$  est le volume de solution  $S_0$  à introduire (à la micropipette),  $V_{\text{eau}}$  le volume d'eau distillée à ajouter (à la burette).

Solution	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$	$S_5$
$C'$ (mg P/L)	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
$V_0$ (mL)	0,5	1,0	1,5	2,0	2,5
$V_{\text{eau}}$ (mL)	4,5	4,0	3,5	3,0	2,5

On obtient une échelle de teinte.

**Tracé de la courbe d'étalonnage :**

- Ajouter 1,0 mL du réactif dont la préparation est indiquée ci-dessous, au contenu de chaque tube à essai.
- Bien agiter. Attendre environ 15 min que la coloration bleue se stabilise.
- Mesurer l'absorbance  $A$  de chaque solution pour un filtre de longueur d'onde  $\lambda = 720 \text{ nm}$  (filtre rouge). (Ne pas oublier de « refaire le blanc » entre chaque mesure)
- Tracer la courbe illustrant les variations de l'absorbance  $A$  en fonction de la concentration  $C'$ .

**Préparation du réactif :**

- 148 mL d'acide sulfurique concentré dans une fiole de 1 L. Ajuster avec de l'eau distillée.
- 12 g de molybdate d'ammonium dans 250 mL d'eau distillée.
- 0,291 g de tartrate double d'antimoine et de potassium dans 100 mL d'acide sulfurique 4 N.

- Mélanger les trois solutions dans une fiole de 2 L et ajuster avec de l'eau distillée.
- Dissoudre 1 g d'acide ascorbique dans 50 mL de la solution de molybdate ainsi préparée.
- Une coloration jaune se forme.

### Analyse d'une eau de rivière :

- Il faut commencer par filtrer l'eau prélevée dans la rivière sur büchner (filtration avec aspiration).
- Introduire 5,0 mL d'eau de rivière filtrée dans un tube à essais + 1,0 mL de réactif et mesurer comme précédemment l'absorbance.
- Utiliser la courbe précédemment tracée pour déterminer la concentration massique en phosphore de l'eau analysée.

### Sécurité :

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  : précautions d'usage , S22-24/25

Réactif : corrosif

### Utilisation du spectrophotomètre :

1. Brancher le cordon d'alimentation et mettre l'appareil sous tension ; la lampe témoin verte s'allume.
2. Mettre le filtre correspondant à la longueur d'onde  $\lambda$  choisie dans son logement.
3. Placer la **solution de référence** (ici : de l'eau distillée) dans le logement pour tube à essais et appuyer brièvement sur le bouton poussoir **R** (Référence). Le voyant rouge s'allume et l'afficheur doit indiquer .00A (ce qui signifie que l'absorbance A de la solution est nulle).
4. Retirer la solution de référence et insérer dans le logement le tube à essais contenant la solution dont on veut mesurer l'absorbance. Appuyer puis relâcher le bouton poussoir **T** (Test) Le voyant lumineux s'allume à nouveau, et indique l'absorbance de la solution à la longueur d'onde.

**Remarque importante :** il est nécessaire de refaire « le blanc » (réglage avec l'eau distillée) avant chaque mesure pour plus de précision.

## **III. DOSAGE DU POTASSIUM**

### **1. Principe**

Le potassium du sol facilement soluble et immédiatement disponible pour les plantes, extrait par l'eau (Méthode H<sub>2</sub>O<sub>10</sub>-Ex) est dosé par spectrométrie d'absorption atomique à la flamme, à une longueur d'onde de 769.9nm.

## 2. Exécution

### Appareils et ustensiles

- (A) Spectrophotomètre d'absorption atomique (SAA) avec lampe spécifique. Mélange air/acétylène, oxydant, flamme maigre, bleue.
- (B) Diverse verrerie de laboratoire.
- (C) Balance (précision 0.1 g).

### Réactifs

- (1) Eau déminéralisée ( $H_2O$ , conductivité  $< 5 \mu S/cm$ ).
- (2) Acide chlorhydrique fumant, ( $HCl$ ).
- (3) Chlorure de lanthane(III) heptahydrate ( $LaCl_3 \cdot 7H_2O$ )
- (4) Solutions de chlorure de lanthane:
  - (4a) Solution de chlorure de lanthane à 2% Peser 53.2g (C) de chlorure de lanthane (3) dans un jaugé de 1000ml, ajouter 40ml d'acide chlorhydrique (2), agiter et mettre au trait avec de l'eau (1)
  - (4b) Solution de chlorure de lanthane à 0.2% w/v: Transférer 100ml de solution (4a) dans un jaugé de 1000ml, mettre au trait avec de l'eau (1)
- (5) Solution standard de potassium à 1000 mg K/L, prête à l'emploi
- (6) Solutions d'étalonnage:
  - (6a) 10.0 ml de  $LaCl_3$  2% (3a), compléter à 100ml avec  $H_2O$  (1) = 0.0 mg K/L
  - (6b) 0.25 ml de solution standard (5), 10ml de  $LaCl_3$  2% (4a), compléter à 100 ml avec  $H_2O$  (1) = 1.0 mg K/L
  - (6c) 0.5 ml de solution standard (5), 10ml de  $LaCl_3$  2% (4a), compléter à 100 ml avec  $H_2O$  (1)  
= 2.5 mg K/L
  - (6d) 0.1 ml de solution standard (5), 10ml de  $LaCl_3$  2% (4a), compléter à 100 ml avec  $H_2O$  (1)  
= 5.0 mg K/L
  - (6e) 1.0 ml de solution standard (5), 10ml de  $LaCl_3$  2% (4a), compléter à 100 ml avec  $H_2O$  (1)  
= 10.0 mg K/L

(6f) 2.0 ml de solution standard (5), 10ml de LaCl<sub>3</sub> 2% (4a), compléter à 100 ml avec H<sub>2</sub>O (1) = 20.0 mg K/L

### Mode opératoire

Pipeter 9.0 ± 0.5 ml de l'extrait (Méthode H2O10-Ex) dans une éprouvette, ajouter 1ml de LaCl<sub>3</sub> 2% (4a). Doser le potassium sur le spectrophotomètre d'absorption atomique (A) à une longueur d'onde de 769.9nm.

*Remarques :*

□ *Le transfert de l'extrait dans l'éprouvette – sans l'aide de pipettes, etc... - réduit le risque de contamination. Une exactitude de ±0.5ml dans le remplissage influence le résultat de ±0.5%*

□ *Selon le type d'appareil, il est possible de travailler en mode absorption ou en mode émission. Sur certains appareils, il est recommandé de disposer le brûleur en position oblique dans le but de réduire la courbure de la droite de calibrage.*

Si une dilution est nécessaire, utiliser la solution de LaCl<sub>3</sub> à 0.2% (4b).

### 3. Calcul

Extraction: 10 g de terre fine sèche dans 100 ml d'agent d'extraction Calcul:  
teneur en mg/kg de terre fine sèche.

a = concentration de K en mg/L dans les extraits dilués 1:1.11

$$\begin{aligned} \text{mg K/kg de terre fine sèche} &= a \text{ [mg/L]} \cdot \text{facteur de dilution} \times \text{volume d'extraction} \\ \text{[L]} / \text{pesée [kg]} &= a \cdot 1.11 \cdot 0.1/0.01 \\ &= a \cdot 11.1 \end{aligned}$$

*Remarque: Si une dilution est nécessaire, en tenir compte pour le calcul.*

### 4. Résultat

mg K/kg de terre sèche; une décimale.