

CN0100311
U200
041

1978/6

REPUBLIQUE DU SENEGAL
PRIMATURE

DELEGATION GENERALE
A LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
ET TECHNIQUE

NOTE TECHNIQUE

MINERALISATION PAR VOIE HUMIDE EN VUE DU DOSAGE.
DES ELEMENTS MAJEURS (N-P-K-Ca-Mg) DANS LES PLANTES

par

R. OLIVER

Ingénieur IRAT
détaché à l'ISRA.

C.N.R.A. - BAMBEY - S.D.I.	
Date	09/02/78
Numéro	014202
Mois Bulletin	
Destinataire	SR/Doc

Janvier 1978

Centre National de Recherches Agronomiques
de Bambey

INSTITUT SENEGALAIS DE RECHERCHES AGRICOLES

(I. S. A. A.)

1 - INTRODUCTION

L'utilisation généralisée des statistiques par les agronomes et la mise à la disposition des analystes de moyens rapides de dosage (colorimétrie automatique, absorption atomique) multiplie les demandes d'analyses d'échantillons de plantes. Il reste toutefois à minéraliser les échantillons de façon rapide et simple, pour disposer des solutions permettant la détermination d'un maximum d'éléments sur le même extrait.

De nombreux auteurs se sont attachés à ce problème et plusieurs méthodes ont été proposées. Des modifications ont été apportées à la méthode Kjeldahl pour rendre la minéralisation plus rapide (LENGERKEN-MOLLER-WETTERAU, GLOWA, BATEY-CRESSER, WILLET). La mise au point par certains fabricants d'appareils de minéralisation à l'aide de blocs d'aluminium munis d'un système de chauffage permet d'opérer à des températures relativement élevées (400°C) pendant des temps très courts (1/2 heure) (PANCZEL, MOLNAR, ISAAC-JOHNSON). Des méthodes de minéralisation polyvalentes ont été étudiées par KENNETH H. NICHOLLS pour le dosage simultané de N et P dans les eaux naturelles, ainsi que pour le zinc, le phosphore et l'azote par THRONEBERRY.

Nous nous sommes attachés à mettre au point une méthode permettant le dosage simultané des différents éléments majeurs sur le même minéralisat.

2 . MATERIEL ET METHODES

L'objectif cherché est la mise au point d'une technique de minéralisation simple et rapide permettant le dosage simultané de plusieurs éléments et en particulier l'azote et le phosphore. La technique choisie ne peut être que dérivée de celle de KJELDAHL. Nous avons opté pour celle décrite par LENGERKEN et coll. dans laquelle l'eau oxygénée permet une prédigestion de la matière organique et où le sulfate de sodium est utilisé de préférence au sulfate de potassium pour augmenter la température d'ébullition de l'acide sulfurique. La présence de métaux lourds (Sélénium) étant incompatible avec le dosage de PO_4 par colorimétrie du phosphomolybdate d'ammonium réduit, ce dernier a été supprimé du catalyseur de minéralisation. Enfin comme nous ne disposons pas de bloc d'attaque en aluminium, l'attaque a été faite dans des matras de Kjeldahl de 50 ml préalablement jaugés à 75 ml. Le mode opératoire proposé est le suivant.

. Peser 150 mg de poudre végétale séchée au moins 2 heures à l'étuve à 80°C dans des matras. Ajouter 1g de sulfate de sodium anhydre RP ainsi que 3 ml de H_2SO_4 36 N RP et 3 ml de H_2O_2 à 30 volumes (addition à la pipette automatique), munir le matras d'un pantin et laisser reposer quelques minutes puis porter le matras sur la rampe de chauffage (E00 W-220 volts - 8 matras par rampe), et laisser attaquer pendant 2 heures à 2h 1/2 environ. Laisser refroidir environ 10 minutes puis ajuster à volume avec de l'eau distillée, boucher les matras avec un bouchon en caoutchouc et homogénéiser (solution A).

. Reprendre 5 ml du minéralisat ainsi obtenu en fiole jaugée de 25 ml, ajouter 2,5 ml (pipette automatique) de solution de Lanthane (La203 en milieu chlorhydrique) à 1,87% de La, et ajuster à volume avec de l'eau distillée (solution B).

Les déterminations effectuées sur les minéralisats ainsi obtenus sont résumées dans le tableau suivant; les manifolds de dosage de l'azote et du phosphore figurent en annexe ainsi que le mode de préparation des gammes étalon utilisées.

Eléments	Principe de dosage	Appareil utilisé	Gamme étalon	Dilution ou non du dosage;
N	Colorimétrie automatique au dichloroisocyanurate Na	Chaîne Color Electro-synthèse cuve 1,5cm de trajet optique	10 à 100 ppm N milieu H ₂ SO ₄ 4%	Solution A 1cc 2mg plante
P	Colorimétrie automatique du phosphomolybdate NH ₄ réduit par l'acide ascorbique		1 à 10 ppm P milieu H ₂ SO ₄ 4%	Solution A 1cc 2mg plante
K	Emission de flamme en milieu Lanthane	Spectrophotomètre absorption	K= 1 à 20ppm	Solution B 1cc 0,4mg plante
Ca	Absorption atomique en milieu Lanthane	atomique P.E. 306 convertible en émission de flamme	Ca= 0,5 à 10ppm Mg=0,5 à 5ppm	Solution A 1cc 0,44mg plante
Mg	Absorption atomique en milieu Lanthane		Gamme complexe milieu H ₂ SO ₄ 0,8% et Na ₂ SO ₄ 266%	Solution A 1cc 0,44mg plante

Le mode opératoire proposé a été testé sur des échantillons témoins fournis par le Comité Inter Instituts (C.I.I. Publication anonyme). Dans un premier temps divers échantillons du C.I.I. ont été analysés par la méthode proposée et les résultats ont été comparés à ceux du C.I.I. tandis que dans un deuxième temps le même échantillon, avec ou sans addition de quantité connue d'éléments à doser était minéralisé dans plusieurs séries d'analyses pour tester la variabilité de la technique proposée.

3 - RESULTATS ET DISCUSSION DES RESULTATS

Le bon déroulement de la minéralisation est facile à contrôler, la faible prise d'essai et le repos de quelques minutes avant la mise sur les rampes de chauffage évite la formation de mousses, tandis que la puissance électrique modérée pour chaque matras (100 W environ) permet une ébullition douce et sans à coups de l'acide sulfurique. L'attaque commence par l'ébullition de l'eau oxygénée qui est totalement évaporée 10 minutes environ, puis le résidu noie pendant quelques minutes avant de s'éclaircir progressivement pour devenir parfaitement limpide et clair après 2 heures à 2h 1/2 d'attaque. Il est utile d'agiter le matras de temps en temps pour décoller les particules de matière organique des parois.

L'étude comparée des résultats obtenus par le C.I.I. et par la méthode préconisée figure au tableau 1.

Les résultats obtenus pour l'azote et le phosphore sont très voisins de ceux du C.I.I. tandis que l'on trouve certains résultats par excès pour le potassium et par défaut pour le calcium et le magnésium. A ce propos, il faut d'ailleurs remarquer que la présence d'une forte concentration

à la
en sels du milieu d'analyse (1,33% Na₂SO₄/minéralisation) oblige à diluer le milieu avant les dosages par émission de flamme ou absorption atomique pour ne pas "encrasser" le brûleur de l'appareil; il est aussi préférable de rincer les capillaires d'aspiration entre deux Echantillons par le pompage d'eau distillée pendant quelques secondes. Cette dilution peut être limitative pour certains appareils peu sensibles dans le cas d'échantillons pauvres en certains éléments, le calcium dans les grains par exemple.

Pour ce qui concerne le phosphore, le blanc de dosage est relativement élevé/paf rapport (0,4 ppm P) aux teneurs des solutions à analyser correspondant aux échantillons (0,3 à 5 ppm P). Cette pollution peut être attribuée à l'eau oxygénée qui contient généralement des ions Phosphate, elle peut être déphosphorée avant utilisation (DABIN) mais cette opération est longue et délicate et se révèle être inutile dans notre cas si l'on prend soin de pipette]: l'eau oxygénée de façon très reproductible et de faire un blanc de série avec le même réactif que les échantillons à analyser.

La reproductibilité des résultats obtenus dans des séries de minéralisation différentes pour un même échantillon est bonne (cf tableau II) et correspond à celle généralement obtenue pour les méthodes finales de dosage utilisées (colorimétrie automatique et absorption atomique).

Il faut remarquer que la moyenne des résultats trouvés rentre dans les normes admises par le C.I.I. ainsi d'ailleurs que la plupart des résultats extrêmes.

Enfin l'addition de quantités connues d'éléments à analyser permet de retrouver, dans les limites de la précision des analyses, la totalité des ajouts effectués, ce qui montre qu'il n'y a pas des pertes d'éléments à la minéralisation et que les effets de matrice au niveau du dosage peuvent être considérés comme négligeables.

4 * CONCLUSION

La présente étude montre que la modification proposée de la méthode KJELDALH permet le dosage sur le même extrait des principaux éléments majeurs dans de bonnes conditions de reproductibilité. Les principaux avantages de la méthode sont :

- * minéralisation à l'aide de matériel courant et peu coûteux (matras, rampes de chauffage) en comparaison du matériel nécessaire à la mise en oeuvre de la méthode C.I.I. (four à moufle, creusets en platine);

- * temps de minéralisation relativement bref (3 heures au maximum) permet/ la réalisation par le même opérateur de 150 à 200 analyses par semaine/tant environ, ce qui, combiné à la suppression de la minéralisation par voie sèche, libère un opérateur et permet d'augmenter de façon non négligeable, les possibilités d'analyse d'un laboratoire.

B I B L I O G R A P H I E

- LENGERKEN J.V., MÜLLER V., WETTEKEAU H.: Die Nahrung 18-5 (1974) 551-556
- GLOWA W. : J.of.A.O.A.C. - 57-5 1974) 1228-1230
- BATEY T., CRESSER M.S., WILLET I.R. : Analytica chimica acta 69 (1974) 484-487
- PÁNCZÉL M., MOLNÁR G. : 3e Colloque Européen et Méditerranéen sur le contrôle des besoins nutritionnels des plantes cultivées p.73-77
- ISAAC R.A., JOHNSON W.C. : J.of AOAC, 59-1 (1976) 98-100
- C.I.I. (Anonyme) : 3e Colloque Européen et Méditerranéen sur le contrôle de l'alimentation des plantes cultivées Budapest Sept. 72
- KENNETH H., NICHOLLS : Analytica chimica acta 76 (1976) 208-211
- THRONEBERRY G.O. : Analytical Biochemistry 60 (1974) 358-368.
- DABIN B. : Cahiers ORSTOM Série Pédologie (1965) III n°4 p.335-366.

Tableau I: Résultats comparés de la méthode C.I.I (1) et de la méthode testée (2)

Echantillon		N %	P %	K %	Ca%	Mg %
Codia	1	0.73	0.025	0.38	0.84	0.28
	2	0.635 ^o	0.020 ["]	0.42 ⁺	0.73 [~]	0.27 ^o
Olivier	1	1.36	0.080	0.51	2.605	0.131
	2	1.30 ^o	0.085 ^o	0.57 ^o	2.470 ^o	0.138 ^o
Pêcher	1	4.215	0.225	2.182	2.161	0.472
	2	4.30 ^o	0.285 ^o	2.275 ^o	2.081 ^o	0.435 [~]
Gol der	1	2.251	0.163	1.441	1.278	0.286
	2	2.310 ^o	0.164 ^o	1.700 ⁺⁺	1.193 ⁻	0.274 ⁻

° : résultats rentrant dans les limites données par le C.I.I.
 - ou t : résultats légèrement inférieurs ou supérieurs à ceux du C.I.I.
 -- ou ++: résultats supérieurs ou inférieurs à ceux du C.I.I.

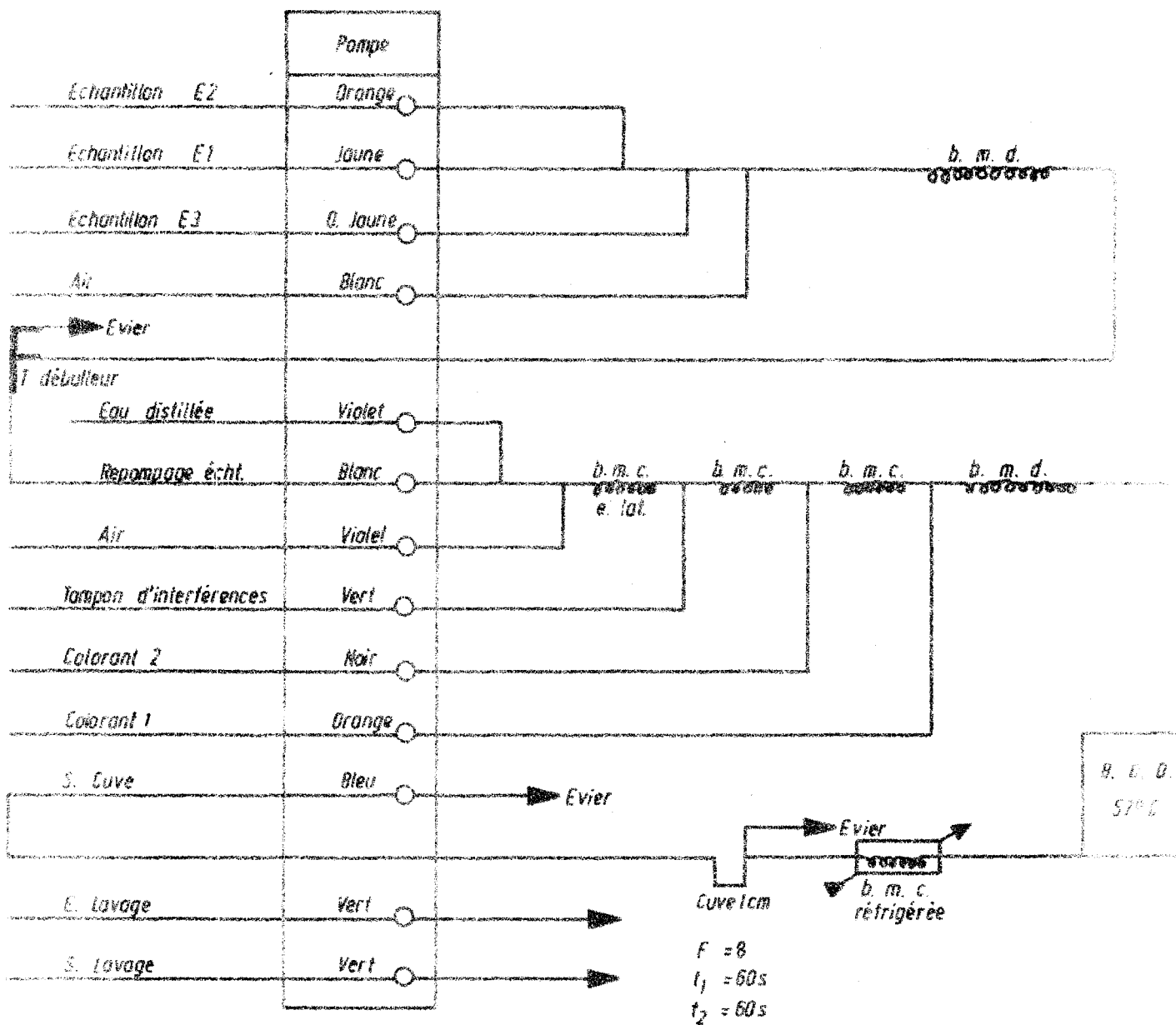
Tableau II : Variabilité des résultats (6 répétitions) et taux de recouvrement de quantité minimum d'éléments ajoutés avant minéralisation à un échantillon de Palmier (C.I.I.)

Eléments	N %	P %	K %	Ca%	Mg%	
Valeur CII \bar{M}	2.63	0.169	0.88	0.80	0.290	
écart admissible	0.154	0.012	0.07	0.036	0.014	
Valeurs trouvées	min.	2.75	0.162	0.893	0.752	0.275
	max.	2.81	0.170	0.988	0.835	0.302
	m	2.776	0.166	0.940	0.803	0.289
Etude statistique	σ	0.01749	0.00379	0.0345	0.0272	0.00953
	CV%	0.63	2.3	3.7	3.4	3.2
	Ecart \pm à 95%	0.014	0.003	0.028	0.022	0.008
Recouvrement de quantités connues d'éléments	4 ajouté 1000*	50	500	500	250	
	Q retrouvé %	960	53.7	505	520	230
	%	96	107	101	104	92

* addition de N sous forme ammoniacal

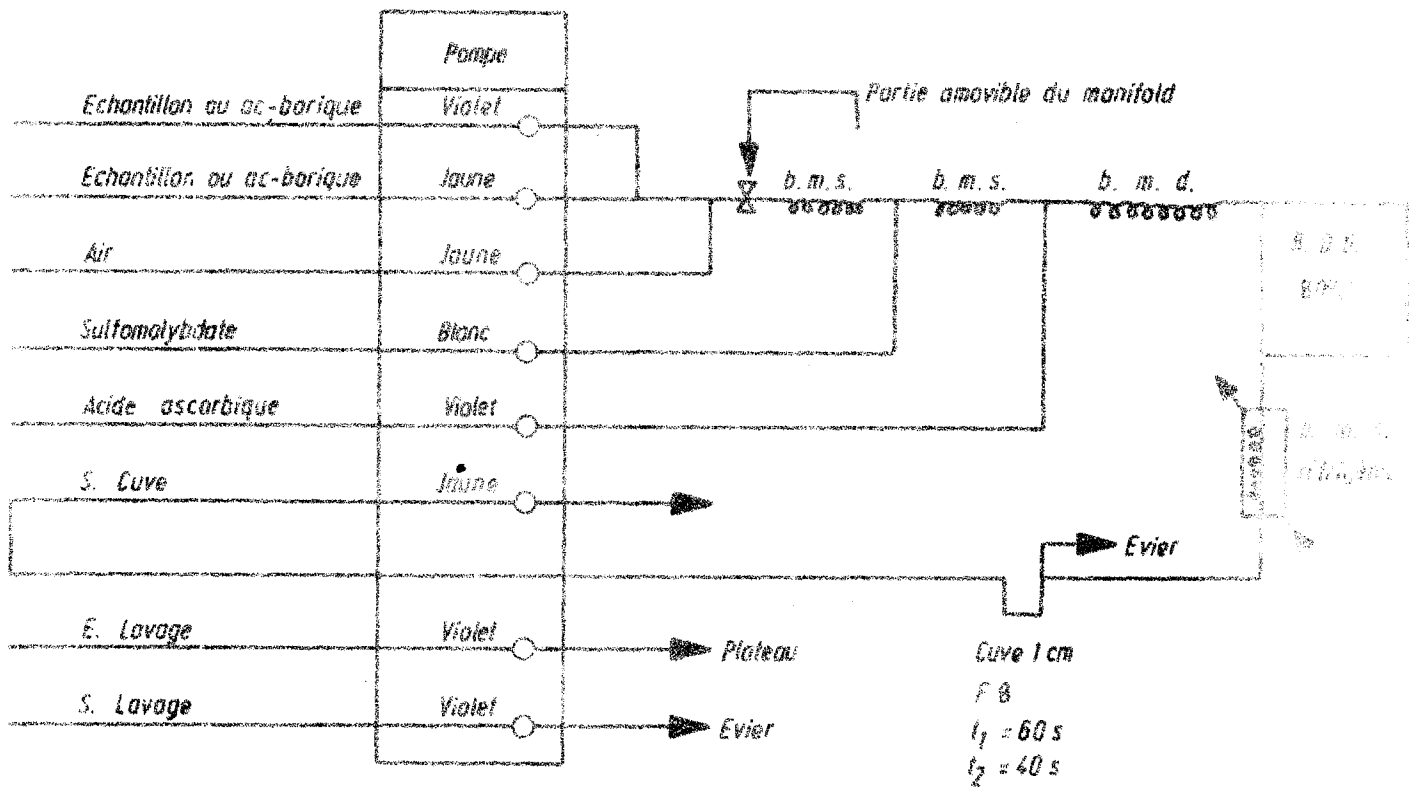
DOSAGE DE L'AZOTE AU DICHLOROISOCYANURATE DE SODIUM

MANIFOLD

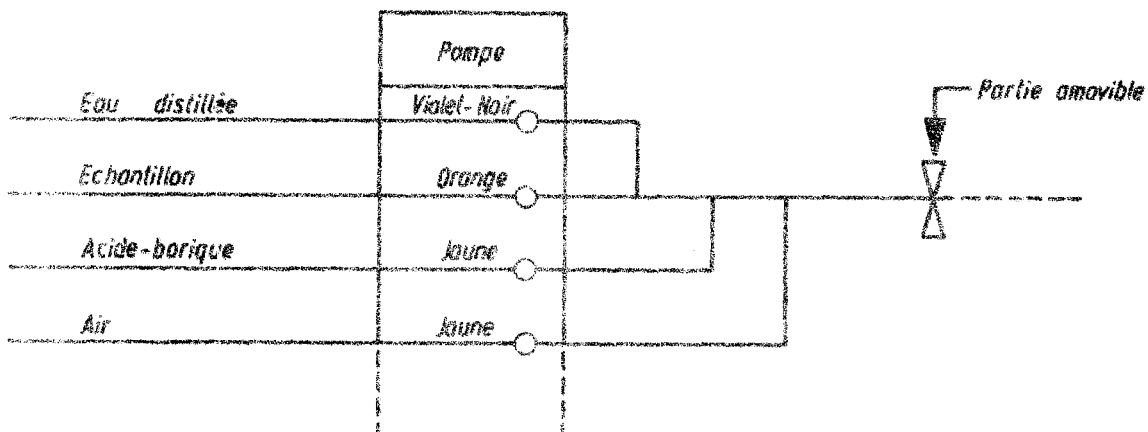


DOSAGE DES PHOSPHATES PAR REDUCTION DU PHOSPHOMOLYBDATE D'AMMONIUM A L'ACIDE ASCORBIQUE A CHAUD

MANIFOLD (A)



MODIFICATION POSSIBLE DU MANIFOLD (B)



R E S U M E

Une modification de la méthode KJELDALH de minéralisation des échantillons végétaux (attaque de 150 mg de plante par 3 cc H_2SO_4 RP, 3 cc de H_2O_2 à 30 volumes et 1g de $Na_2 SO_4$) permet le dosage, sur le même minéralisat des principaux éléments majeurs (N, P, K, Ca, Mg). La méthode testée sur les échantillons témoins du C.I.I. donne des résultats reproductibles et en accord avec ceux de cet organisme.

Annexe : REACTIFS ET MANIFOLDS UTILISES

1- de minéralisation

- Acide sulfurique RP. 36 N (RDH 30 743)
- Sulfate de Sodium anhydre RP (Merck 6649)
- Eau oxygénée à 30 volumes: diluer 277 ml de H₂O₂ à 35% (RDH n°18304) à 1 litre avec de l'eau distillée.

2- de dosage colorimétrique de l'azote

- Gamme étalon

Solution étalon de N (NH₄) à 1 g/l de N soit à 4.7143 g/l de SO₄(NH₄)₂ RP séché 2 heures à l'étuve à 80°C. A partir de cette solution préparer une gamme étalon en milieu de concentration final en H₂SO₄ de 4% et comportant les points suivants

N° Témoin	0	1	2	3	4	5	6
ppm N solution	0	10	20	40	60	80	100
% N plante	0	0,5	1	2	3	4	5

- Réactifs de dosage proprement dit

- Tampon d'interférences: EDTA(Na) 10 g/l + Tartrate Na-K-10g/l + Soude 20g/l
- Colorant.1 : Soude.80 g/l + Dichloroisocyanurate de sodium 5 g/l
- Colorant 2 : Salicylate de sodium + 85 g/l + Nitroprussiate de sodium 1 g/l (à conserver au réfrigérateur)

Réglages recommandés: tube de pompage échantillon : E3 - CUVE 1 5 cm de trajet optique - FB - temps de pompage 60 s- temps de rinçage 60 8.

3- de dosage colorimétrique du phosphore

Gamme étalon : Solution mère étalon de P à 1 g/l de P soit à 4.3071 g/l de PO₄ H₂K séché à l'étuve à 100°C. A partir de cette solution préparer une gamme étalon à milieu de concentration finale en H₂SO₄ 4% et comportant les points suivants :

N° Témoin	0	1	2	3	4	5	6
ppm P en solution	0	1	2	4	6	8	10
% P Plante	0	0,05	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5

- Réactifs de dosage proprement dits

Réactif sulfomolybdique : a) peser 25g de molybdate d'ammonium et les dissoudre dans environ 200 ml d'eau distillée

b) Ajouter avec précaution 250 ml d'acide sulfurique RP(36 N) à 300 ml d'eau distillée, laisser refroidir (opérer en bûcher de 1 litre)

c) verser avec précaution 3) dans b) puis transvaser en fiole jaugée de 1 litre et ajuster à volume avec de l'eau distillée après refroidissement.

- Acide ascorbique à 10 g/l
- Acide borique à 30 g/l

Réglages recommandés

- utiliser la version modifiée B du manifold
- cuve de 1,5 cm de trajet optique - F8 - t= 60/40 s
- Expansion 2

4- de dosage par émission de flamme (K) et absorption atomique (Ca-Mg)

Gamme étalon

Préparer une "solution de fond" contenant 8% de H₂ SO₄ RP et 2.67% Na₂ SO₄ anhydre RP.

Solution standard de Lanthan, solution à 43.86 g de La₂O₃ + 80 ml de HCl RP pour 2 litres de solution contenant 1,87% de La.

Préparer à partir d'étalon titrisol Merck à 1 g/l de K, Ca et Mg 1 litre de solution mère complexe à 100 mg/l de K, 50mg/l de Ca et 25 mg/l de Mg++

Au moment du dosage préparer une gamme étalon diluée en fiole jaugée de 50 ml contenant 5 ml de "solution de fond", 5 ml de solution standard du Lanthan et x ml de solution complexe de K, Ca, Mg. Les valeurs des témoins en fonction de x sont données au tableau ci-dessous.

N° Témoin	0	1	2	3	4	5	6	7	8
Valeur de x en ml	0	0,5	1	2	3	4	6	8	10
ppm en solution	0	1	2	4	6	8	12	16	20
K % plante	0	0,25	0,50	1,0	1,50	2,00	3,00	4,00	5,00
ppm en solution	0	0,5	1	2	3	4	6	8	10
Ca % plante	0	0,125	0,250	0,500	0,750	1,00	1,50	2,00	2,502
ppm en solution	0	0,25	0,5	1	1,5	2	3	4	5
Mg % plante	0	0,063	0,125	0,250	0,375	0,500	0,750	1,00	1,250