

SS/AVS - THKAG

TH-FC7

CHARRO FRANCK BTAO 2
Institut Saint Dominique Le Puy

Rapport de Stage

Etude de l'azote organique dans un
sol

Année 1987

REMERCIEMENTS

Je remercie Monsieur P. STENGEL, Directeur de la Station de Science du Sol, pour avoir bien voulu m'accueillir lors de mon stage.

Je remercie Madame de Cockborne, maître de stage avec qui j'ai plus particulièrement travaillé, pour les connaissances qu'elle m'a données et sans lesquelles je n'aurais pu accomplir aucun travail.

Je remercie enfin tout le personnel de la Station de Science du Sol pour les relations amicales entretenues à mon égard.

SOMMAIRE

- PREMIERE PARTIE : présentation de l'INRA
- DEUXIEME PARTIE : étude de l'azote total dans un sol :
 - Introduction
 - Aspect théorique
 - Méthodes utilisées :
 - . mesure de l'azote total
 - . ionométrie - application aux nitrates
 - . spectrométrie optique d'émission pour le dosage de l'azote 15
 - Présentation des résultats
 - Autre méthode utilisée :
 - . méthode de mesure de la densité texturale
 - Bibliographie
 - Annexe 1 et 2

PREMIERE PARTIE

PRESENTATION DE L' INRA

L'INSTITUT NATIONAL de la RECHERCHE AGRONOMIQUE

I SON ORGANISATION

Organisé sous sa forme actuelle en 1946, l'INRA a reçu pour mission l'organisation et la publication de tous travaux de recherche scientifiques intéressant les productions végétales et animales, la transformation et la conservation des produits végétaux et animaux.

L'INRA emploie 7 400 personnes en France.

Placé sous la tutelle du Ministère de l'Agriculture et du Ministère de l'Industrie et de la Recherche, l'INRA est un établissement public national doté de l'autonomie financière.

II SES RESSOURCES

Elles proviennent de 80 à 90 % d'une subvention de l'Etat et pour le reste des ventes de produits agricoles, d'analyses, de brevets, de droits de licence sur les variétés obtenues, de contrats de recherche.

III HISTORIQUE

L'INRA s'est d'abord intéressé aux recherches économiques et sociologiques de l'agriculture ainsi qu'au monde rural, aux recherches vétérinaires, forestières et hydrobiologiques. De nouvelles orientations sont apparues en raison de problèmes posés en cette fin de XXe siècle :

- l'aménagement de l'espace rural,
- la sauvegarde de l'environnement,
- l'économie des matières premières, y compris l'eau,
- l'emploi des produits chimiques,
- la transformation des produits agricoles,
- la qualité des aliments.

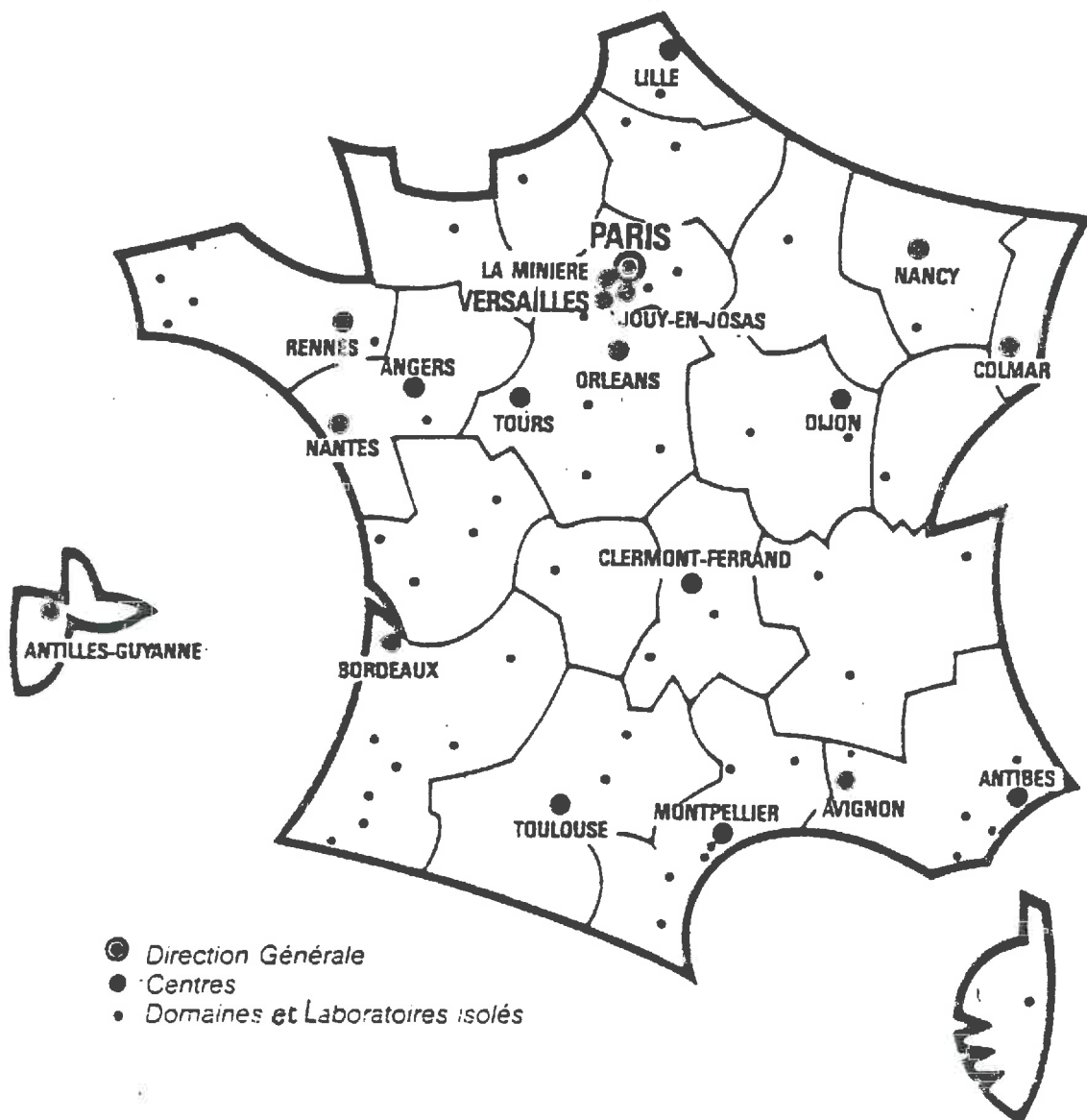
Les recherches de l'INRA sont organisées selon trois critères :

- orientation par production,
- orientation par spécialisation scientifique,
- orientation régionale.

I.N.R.A

Etablissement Public National au service

- de l'Agriculture
- des Industries Agricoles et Alimentaires
- de l'Environnement



CENTRE de RECHERCHE AGRONOMIQUE d'AVIGNON - MONTFAVET

Situé au coeur d'une région de production agricole, ses recherches visent à améliorer les facteurs de production maraîchère et fruitière et de gestion des forêts méditerranéennes.

Il bénéficie de la collaboration d'autres centres INRA et de divers organismes de recherche scientifique et technique.

I HISTORIQUE

C'est un des 21 centres de l'Institut National de la Recherche Agromique. Il fut créé en 1953 sur le Domaine Saint Paul à Montfavet. L'INRA installa les laboratoires de la Station d'Agronomie et ceux de la Station de Zoologie. En 1957, la Station expérimentale d'Apiculture fut construite. La même année fut implantée la Station d'Amélioration des plantes maraîchères sur le Domaine Saint Maurice situé à 4 kms au Nord de Montfavet. Au cours des années suivantes, des disciplines complémentaires ont été créées, donnant un plus vaste rayon de recherches.

La superficie totale à la disposition du centre INRA Avignon - Montfavet, en propriété ou location, est d'environ 260 hectares.

II ENUMERATION des DIFFERENTES STATIONS AINSI QUE LEURS FONCTIONS

A. Domaine Saint Paul

- AGRONOMIE : étudie l'effet des techniques culturales sur l'élaboration du rendement.
- RECHERCHES d'ARBORICULTURE FRUITIERE : création et sélection de variétés de porte-greffes de fruits à noyau et à pépins adaptés à la région méditerranéenne.
- BIOCLIMATOLOGIE : étudie l'influence du climat sur la production agricole.
- BIOMETRIE : informatique, électronique, automatique.
- DOCUMENTATION : utilisation de l'outil informatique pour la gestion de l'information au service des utilisateurs.
- PHYTOPHARMACIE : etdie les moyens chimiques ou biologiques de protection des plantes, les pollutions atmosphériques.
- TECHNOLOGIE DES PRODUITS VEGETAUX : étudie la qualité des fruits et légumes

- RECHERCHES INTEGREES EN PRODUCTION VEGETALE : recherche de référence utiles au développement en production de légumes.
- ZOOLOGIE : étude des insectes ravageurs et de la protection des cultures.
- SYLVICULTURE MEDITERRANEENNE :
- SCIENCE DU SOL : (son but sera développé ultérieurement).

B. Domaine Saint Maurice

- AMELIORATION DES PLANTES MARAICHERES : tente de faire progresser la création de nouvelles variétés de légumes.
- PATHOLOGIE VEGETALE : mise au point de méthodes de lutte biologique contre les champignons, virus sur différentes formes de cultures.

III ORGANISATION DU PERSONNEL

Le personnel de l'INRA compte au total 460 employés répartis de la façon suivante :

- 20 % de fonctionnaires, personnel scientifique,
- 80 % de contractuels, dont 46 % sont des agents techniques et 34 % des agents administratifs.
- les chercheurs (scientifiques et ingénieurs compris) sont diplômés des grandes écoles ou des universités. Les techniciens, suivant leur fonction, possèdent des BTS, BT ou certificat d'études primaires (actuellement niveau Brevet des Collèges).
- Les employés habitent dans des villes situées dans un rayon de 30 kms autour de Montfavet.
- L'horaire hebdomadaire des employés est de 38 h ; il se répartit différemment suivant les Stations.

Répartition à la Station "Science du Sol" où j'ai été accueilli :

lundi	
mardi	8 h/jour
mercredi	

jeudi	
vendredi	7 h/jour

- Les congés sont de 27 jours ouvrés (jour ouvré = 5 jours par semaine). Si l'agent prend 5 jours de congés en dehors de la période d'été (du 1er mars au 1er octobre), il bénéficie de 2 jours de congés supplémentaires dans l'année (loi de la fonction publique), ce qui porte alors les congés à 29 jours ouvrés.

A. La Vie Sociale du Centre

1/ L'amicale

Etant un organisme d'état, l'INRA ne possède pas de comité d'entreprise. En revanche, il y a une amicale dont le sigle est A.D.A.S. De ce fait, les employés bénéficient d'une bibliothèque, d'une discothèque, de cours de tennis, et d'autres activités.

Les employés ont la possibilité de partir en vacances dans les villages où l'A.D.A.S paie une côte part.

Une colonie de vacances accueille les enfants pendant cette période.

2/ Les syndicats

Ils sont au nombre de trois : CGT, CFDT, CFTC. Signalons que moins de 30 % du personnel est syndiqué.

Un restaurant est géré à part entière par l'administration et permet au personnel de déjeuner sur le lieu de travail.

B. La Gestion du Centre

1/ Au niveau de la Station

Il existe un Conseil de Station comprenant le Directeur de la Station et des membres élus du personnel scientifique et technique. Il est discuté des problèmes budgétaires, des problèmes scientifiques et des problèmes liés à la vie de la Station.

2/ Au niveau du centre

Un Conseil de Gestion associe l'ensemble du personnel à la marche générale du Centre, à la gestion des moyens de travail, à l'examen des problèmes communs. Ce Conseil se compose des chefs de service, de l'Administrateur, des membres du personnel élus, d'un représentant de chaque syndicat placé sous la présidence de l'Administrateur.

Un conseil scientifique assure l'animation scientifique du Centre et veille à la meilleure utilisation du potentiel de recherche, notamment dans le cadre d'action pluridisciplinaires. Il se compose du Président du Centre (nommé pour 4 ans), des membres élus du cadre de la recherche, des techniciens élus, d'administratifs et d'un représentant de chaque syndicat.

La formation professionnelle est utilisée par environ 30 % du personnel. Des cours de formation sont assurés, des stages professionnels permettent aux employés d'améliorer leurs connaissances.

C. L'Avancement et l'Embauche du Personnel

Chaque année, les agents sont notés et leur avancement catégoriel est

discuté en commissions administratives paritaires Locales, Régionales et Nationales, sur consultation des feuilles de notes et des appréciations du Chef de Service.

L'INRA embauche sur concours suivant le mode de la Fonction Publique.

IV STATION DE SCIENCE DU SOL

Sa vocation essentielle est l'étude des relations entre sol et plantes. La Station étudie la physique et la mécanique des sols appliquées aux choix des techniques culturales, à l'évaluation et à la conservation de la fertilité physique des sols cultivés.

Les objectifs principaux de la Station sont les suivants :

- adaptation des techniques de travail et d'entretien du sol,
- optimisation de l'apport de l'eau et des engrais,
- contrôle de conditions physiques d'exploitation des terrains cultivés,
- maintien de la fertilité.

Le laboratoire de "Science du Sol" étudie l'influence et l'état de la constitution des sols sur la circulation de l'eau et des solutés, les comportements mécaniques et structuraux ainsi que le fonctionnement physique des couches de surface du sol. Il étudie l'irrigation localisée fertilisante en cultures fruitières, le rôle des propriétés mécanique du sol sur la croissance racinaire.

Ses recherches concernent les systèmes céréaliers, légumiers de plein champ et l'arboriculture fruitière.

Le travail se situe au laboratoire ou sur le terrain ; il s'agit toujours d'un travail d'équipe. A priori, les travaux effectués dans cette Station ne présentent pas de dangers particuliers, si ce n'est le fait que l'on manipule des éléments radioactifs (solutions d'isotopes radioactifs, sources scellées, sondes γ et à neutrons).

Pour cela, le personnel utilisateur est sous contrôle médical (port de films pour la détection des rayonnements). Les employés subissent deux visites médicales par an avec prise de sang.

DEUXIEME PARTIE

ETUDE DE L'AZOTE TOTAL

DANS UN SOL

INTRODUCTION

Le travail qui m'a été confié s'inscrit dans le cadre d'un programme de recherche qui a pour but d'étudier les transferts d'eau et de nitrates dans un sol, lorsqu'y est présent une fonction puits racinaire ; celle ci est présentement matérialisée par un pêcher âgé de un an. Dans ce contexte, l'étude qui m'a été confiée est l'analyse de l'azote total avec mise en évidence d'une possibilité de réorganisation des nitrates apportés lors de la fertilisation.

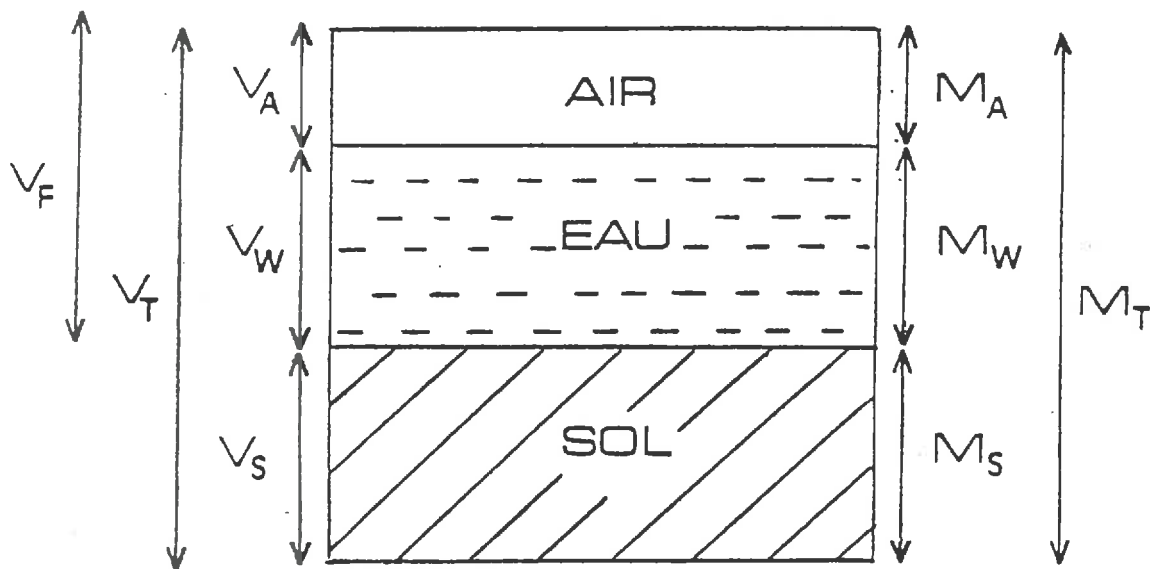
ASPECT THEORIQUE

I LE SOL

Le sol est un système hétérogène constitué de trois phases :

- phase solide : composants du sol (sable, argile, limon),
- phase liquide : l'eau du sol (contenant des substances dissoutes),
- phase gazeuse : l'air.

Ces trois phases interagissent fortement l'une sur l'autre. Cependant, afin d'exprimer quantitativement leurs proportions, on peut les considérer comme des constituants indépendants ; ce qui ramène à ce type de représentation :



M_a = masse de l'air (g)

M_w = masse d'eau (g)

M_s = masse du solide (g)

M_t = masse totale (g)

V_a = volume de l'air (cm^3)

V_w = volume d'eau (cm^3)

V_s = volume du solide (cm^3)

V_t = volume total (cm^3)

V_f = volume des pores (cm^3)

On définit avec ces diverses grandeurs physiques plusieurs paramètres représentatifs du sol.

1/ DENSITE SOLIDE

C'est le rapport de la masse de solide du sol sur le volume de solide du sol.

$$\gamma^s = \frac{M_s}{V_s}$$

M_s = masse de solide du sol

V_s = volume de solide du sol

2/ DENSITE SECHE APPARENTE

C'est le rapport de la masse de solide du sol sur le volume qui le contient.

$$\gamma^s = \frac{M_s}{V_t}$$

M_s = masse de solide du sol

V_t = volume total occupé par l'ensemble du sol

3/ DENSITE TEXTURALE

Il s'agit du rapport de la masse solide du sol sur le volume de ce sol dont les particules élémentaires sont dans leur arrangement minimum.

4/ POROSITE TOTALE

C'est la fraction du volume unitaire non occupé par la phase solide.

$$n = \frac{\text{volume de vide}}{\text{volume encombré}}$$

$$n = \frac{V - V_s}{V}$$

V = volume encombré

V_s = volume de solide

II TRANSFERT DE SOLUTES DANS UN SOL

Les phénomènes qui interviennent lorsqu'une solution saline circule dans un sol, sont :

- la diffusion :

lorsque deux liquides de concentrations différentes d'une même substance sont mis en contact, il intervient un phénomène physico - chimique qui tente à égaliser la concentration en tout point du volume occupé par les deux liquides.

- la dispersion mécanique :

lorsque deux liquides s'écoulent à travers un milieu poreux, la dispersion mécanique s'ajoute à la diffusion moléculaire. Cette dispersion dépend de la vitesse moyenne de la solution dans les pores et des caractéristiques de l'espace poral.

- la convection :

c'est un flux qui est proportionnel à la vitesse de déplacement de la solution dans les pores, et à la concentration de celle-ci.

III L'AZOTE DANS LE SOL

L'azote dans le sol se trouve pour plus de 95 % sous forme d'azote organique, le reste étant sous forme d'azote minéral (nitrate, nitrite, ammoniacque). Ces formes ne sont pas figées ; ainsi l'azote organique, sous l'action des micro-organismes peut se transformer en azote ammoniacal, nitreux ou nitrique, alors que l'azote minéral peut évoluer vers une forme organique : le processus est appelé réorganisation.

METHODES UTILISEES

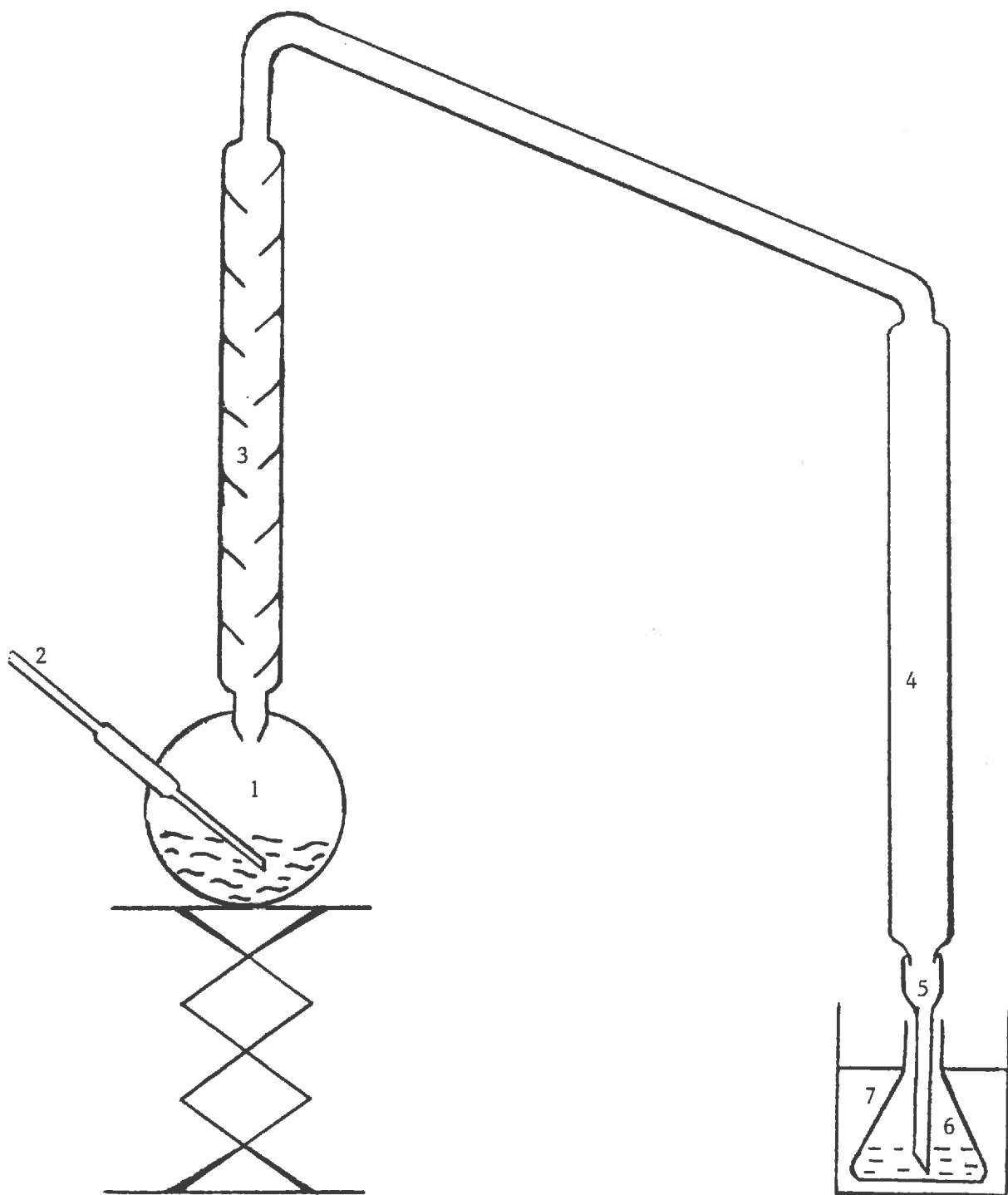


FIGURE 1 : rampe à distillation

- 1 - ballon de 1l contenant le résidu de minéralisation + de la soude
- 2 - arrivée de la vapeur
- 3 - colonne Vigreux
- 4 - réfrigérant à air

- 5 - allonge
- 6 - erlen de 250 contenant 1 d' H_2SO_4 + H_2O distillée + 3 gouttes d'indicateur
- 7 - b cher rempli d'eau

MESURE DE L'AZOTE TOTAL

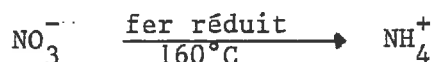
I CHOIX DE LA METHODE DE MINERALISATION

Pour la minéralisation de l'azote total des sols avec prise en compte des nitrates, plusieurs méthodes sont à notre disposition, mais la méthode Kjeldahl - Olsen est la seule qui permet une réduction quasi - totale des nitrates marqués à l'azote 15 (GUIRAUD, FARDEAU, 1977). Cet élément se trouvant en quantités non négligeables dans nos échantillons de sol, nous avons donc utilisé cette technique.

II PRINCIPE ET MODE OPERATOIRE

Il s'agit de la réduction préalable des nitrates par le fer en milieu sulfurique dilué. On prend 3 g d'échantillon de sol auquel on ajoute 1 g de fer réduit et 20 ml d'acide sulfurique 12 N. On laisse à la température de la pièce environ une heure, puis on chauffe lentement jusqu'à très douce ébullition pour chasser l'eau (1 h 30 à 160°C)

Il y a réduction des nitrates :



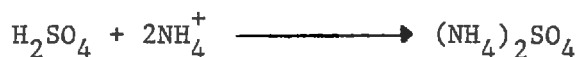
L'ammonium ainsi formé se combine avec l'acide sulfurique pour donner du sulfate d'ammonium :



Mais il reste alors dans le matra l'azote sous forme organique. On laisse donc refroidir et l'on ajoute 3 g de catalyseur et 7 ml d'acide sulfurique concentré 36 N. On chauffe à nouveau jusqu'à clarification (4 h à 360°C)



L'ammonium obtenu comme précédemment se combine avec l'acide sulfurique :



A la fin de la minéralisation, on a dans le matra du sulfate d'ammonium, de l'acide sulfurique en excès et des éléments insolubles du

sol tel que la silice.

III DISTILLATION DE L'AZOTE

Après refroidissement, le résidu de la minéralisation est placé dans un ballon à distiller de 1 l.

Dans un bécher de 250 ml, on met 10 ml d'acide sulfurique 0,1 N, 25 ml d'eau distillée et 2 gouttes d'indicateur coloré.

A l'aide d'une rallonge, on connecte le bécher au réfrigérant à air. Le ballon de 1 l est connecté à la colonne Vigreux. Par le col d'arrivée de vapeur d'eau, on introduit 80 ml de soude à 50 % et on branche la vapeur d'eau.

La soude qui est une base forte déplace le sulfate d'ammonium suivant la réaction :



La soude neutralise également l'excès d'acide sulfurique.

L'ammoniac dégagé est entraîné par la vapeur d'eau, il se condense dans le réfrigérant à air sous forme d'hydroxyde d'ammonium (NH_4OH). On le recueille dans une solution d'acide sulfurique de titre connu et l'on a la réaction :



Cependant, cet acide sulfurique a été mis en excès, et lorsque la distillation est finie, cet excès est titré en retour par une solution de soude de même normalité ; on a la réaction :



Pour la commodité des calculs, le titre de la solution de soude et d'acide sulfurique sont pris identiques.

On distille environ 40 mn, soit 200 ml de distillat.

Afin d'éliminer les traces éventuelles d'azote apporté par les réactifs, un blanc est réalisé. Il s'agit de minéraliser et de distiller seulement en présence des réactifs suivant le mode opératoire décrit ci-dessus.

IV REACTIFS UTILISES

- acide sulfurique 36 N
- acide sulfurique 12 N. Dilution au 1/3 de la solution 36 N.

- acide sulfurique 0,1 N (prolabo)
- catalyseur : mélange de Sélénium, CuSO_4 , K_2SO_4 dans les proportions 2-5-10
- fer réduit
- indicateur coloré Tashiro, composé de 0,2 g de rouge de méthyle et de 0,2 g de bleu de méthylène dissout dans 100 ml d'éthanol, qui de violet en milieu acide passe au vert à la neutralité.
- soude à 50 % : 500 g de soude en pastilles sont dissout dans 1 l d'eau distillée.
- soude 0,1 N (prolabo).

V CALCULS

Compte tenu qu'une molécule de H_2SO_4 réagit avec deux molécules de NH_4OH , si l'on travaille avec des solutions de même normalités, 1 cm^3 H_2SO_4 0,1 N réagira avec 1 cm^3 de NH_4OH 0,1 N ou 3,5 mg de NH_4OH soit 1,4 mg d'azote.

De même :

1 cm^3 de H_2SO_4 0,1 N sera neutralisé par 1 cm^3 de NaOH 0,1 N

Donc, lors du dosage en retour, le volume de soude apporté pour neutraliser

l'excès d'acide sulfurique correspondra au volume d'acide sulfurique 0,1 N

qui n'a pas réagit avec NH_4OH . En conséquence, ce volume V_1 que l'on déduira

du volume V de H_2SO_4 0,1 N initialement présent nous donnera le volume de H_2SO_4

0,1 N qui a réagit avec NH_4OH .

$$\text{Soit } V - V_1 = V_2$$

De là, nous déduirons la masse d'azote ammoniacal qui a distillé

$$V_2 \times 1,4 \text{ mg} = \text{mg de N}$$

APPLICATION NUMERIQUE

Nous prendrons comme exemple l'échantillon N°25 (tableau N°6)

Soit $V = 9,91$ ml : volume de soude pour neutraliser l'échantillon comprenant uniquement les réactifs, échantillon appelé blanc.

On note que dans les réactifs, il existe quelques traces d'azote.

Soit $V_1 = 9,87$ ml : volume de soude nécessaire pour neutraliser l'excès de H_2SO_4 de l'échantillon N°25.

Volume de H_2SO_4 n'ayant pas réagi avec NH_4OH :

$$9,91 - 9,87 = 0,04 \text{ ml}$$

Quantité d'azote total dans l'échantillon :

$$0,04 \times 1,4 = 0,056 \text{ mg}$$

Nous avons pesé 3 g de sol, soit pour 1 g :

$$0,056 : 3 = 0,0187 \text{ mg}$$

Par ailleurs, cet échantillon doit être représentatif du volume du sol
(tableau N°6)

Masse de sol pour ce niveau : 24 558, 7 mg

Masse d'azote total dans ce volume de sol :

$$0,0187 \times 24\,558,7 = 459,2 \text{ mg}$$

Azote organique présent = azote total déduction faite de l'azote nitrique :

$$459,2 - 424,9 = 34,3 \text{ mg}$$

VI REPRODUCTIBILITE DE LA METHODE

La reproductibilité permet de connaître le coefficient de variation sur la mesure effectuée. A partir d'un échantillon, nous avons effectué 7 reproductibilités ; la valeur moyenne obtenue est de $0,13 \pm 0,003$ mg de N, soit un coefficient de variation de 2,3 %

Pour le calcul de l'écart type, du coefficient de variation, se reporter à l'annexe 1.

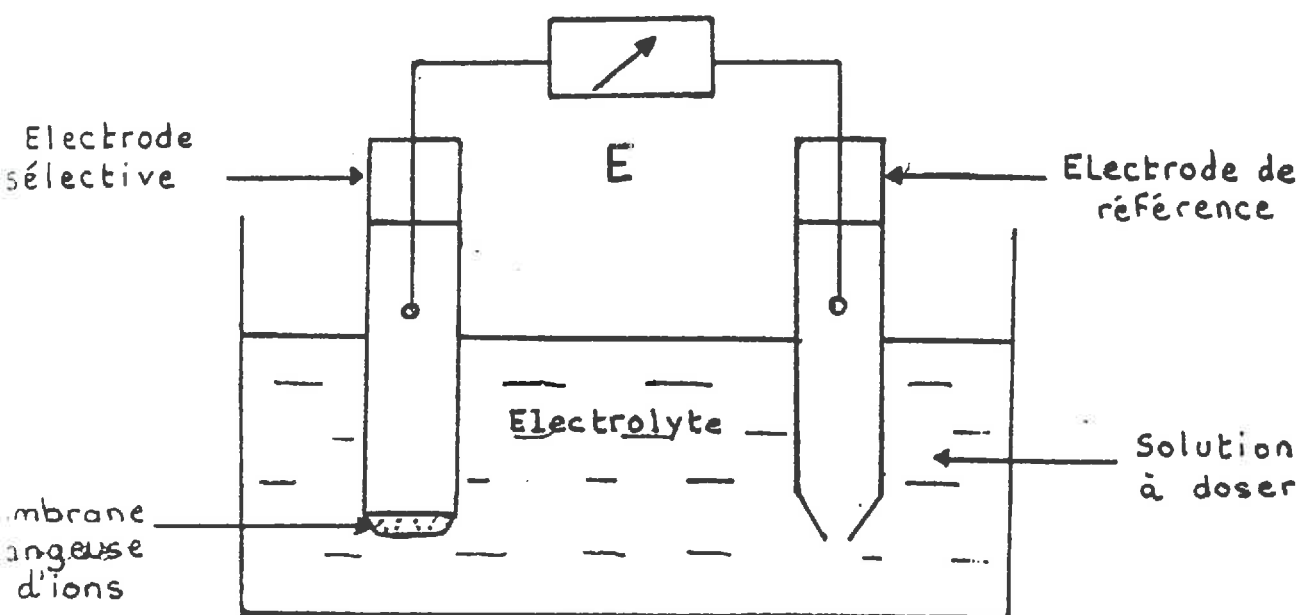


FIGURE 2

DISPOSITIF EXPERIMENTAL

IONOMETRIE

APPLICATION AUX NITRATES

I PRINCIPE

La détermination du pH et des potentiels électrochimiques s'effectue en mesurant la force électrochimique qui apparaît entre deux électrodes plongées dans une solution étudiée. L'une est l'électrode de mesure et l'autre l'électrode de référence ou de comparaison (figure 2).

$$E_c = E_o \pm 2,3 \frac{RT}{nF} \log C$$

- E_o = potentiel de l'électrode de référence,
- R = constante des gaz parfaits,
- T = température exprimée en degrés Kelvin,
- n = valence de l'ion,
- F = nombre de Faraday = constante = 96 500 coulombs
- C = concentration

II INFLUENCE DE LA TEMPERATURE

Il est recommandé de travailler à température constante lorsque les appareils n'ont pas la correction automatique de température. Les électrodes peuvent être utilisées de 0 à 50°C.

III INTERFERENCES CHIMIQUES

Les électrodes spécifiques ne sont pas totalement spécifiques d'un ion, ce qui est la source d'interférences.

IV IONS INTERFERENTS POUR LES NITRATES

Principalement les chlorures, carbonates, bicarbonates, nitrites et ions organiques (carboxyliques).

4 - 1 CARBONATES ET BICARBONATES

Leur présence dans la solution donne une mesure par excès. Pour les éliminer, on acidifie à l'aide d'un acide fort (H_2SO_4) en ramenant à un pH d'environ 4,5.

4 - 2 CHLORURES

Comme précédemment, nous obtenons des résultats par excès. On élimine l'interférence en précipitant les chlorures par un sel d'argent ($AgSO_4$).

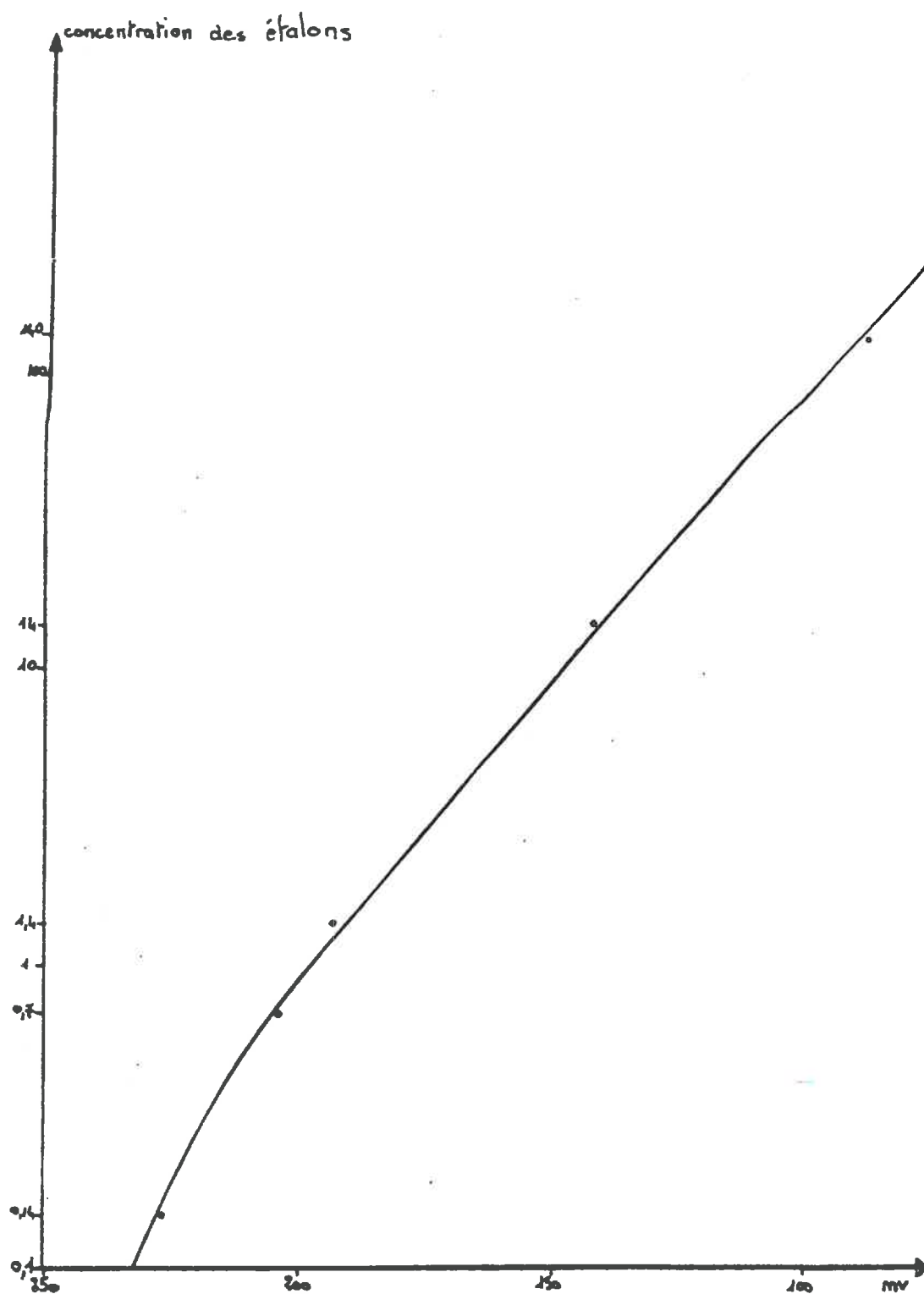


FIGURE 3

COURBE D'ETALONNAGE

4 - 3 NITRITES

On les réduit à l'aide de sulfamide, ce qui ne détruit pas les nitrates.

4 - 4 IONS ORGANIQUES

On intervient au niveau de la force ionique de la solution en utilisant du sulfate d'aluminium.

Lors de notre étude, les solutions d'extraction présentaient un pH de 7,8. Nous les avons amené à un pH de 4,5 à l'aide de l'acide sulfurique comme pour une interférence carbonate - bicarbonate.

Pour ce faire, nous avons prélevé 20 ml de solution d'extraction et ajusté le pH à 4,5 à l'aide d'une solution de H_2SO_4 0,1 N au pH mètre. Nous avons ajouté 0,3 ml de cet acide. Par la suite, à 20 ml de solution d'extraction, nous avons ajouté 0,3 ml de H_2SO_4 0,1 N sans contrôle du pH.

DOMAINE D'ETUDE DE L'ION NITRATE

Comme toute méthode physico - chimique, on a recouru à la comparaison à une droite d'étalonnage. Son domaine de validité va de 10^{-2} à 10^{-5} N (figure 3). Un étalonnage fréquent est conseillé, ce qui permet de travailler avec un risque d'erreur inférieur à 2 %.

La précision de la mesure est limitée par le facteur température et la force ionique de la solution. On s'affranchit de ces deux points en travaillant à température constante et en utilisant un ajusteur de force ionique.

Une certaine dérive de l'électrode est observée ; elle est due à la mémoire de celle-ci lorsqu'on passe d'une solution fortement concentrée à une solution qui l'est plus faiblement. Pour éviter cette source d'erreur, on passe les solutions à l'électrode dans un ordre croissant.

PREPARATION DE L'ETALONNAGE

Réactifs utilisés :

- solution de $MgSO_4$ à 2 g $Mg l^{-1}$
- solution de $MgSO_4$ à 1 g $Mg l^{-1}$
- solution de Na_2NO_3 à 1 400 $\mu g N l^{-1}$ (orion)

Pour des problèmes d'ajustement de force ionique, l'extraction de NO_3^- des sols est faite à l'aide d'une solution de $MgSO_4$ à 1 g $Mg l^{-1}$.

Les étalons seront donc préparés avec cette solution.

10^{-2} N : 10 ml de 10^{-1} N + 50 ml de $MgSO_4$ à 2 g $Mg l^{-1}$, compléter à 100 avec H_2O

10^{-3} N : 10 ml de 10^{-2} N compléter à 100 ml avec $MgSO_4$ à 1 g l^{-1}

10^{-4} N : 10 ml de 10^{-3} N compléter à 100 ml avec MgSO_4 à 1 g l^{-1}
 $5 \cdot 10^{-4}$ N : 5 ml de 10^{-3} N compléter à 100 ml avec MgSO_4 à 1 g l^{-1}
 10^{-5} N : 10 ml de 10^{-4} N compléter à 100 ml avec MgSO_4 à 1 g l^{-1}

VII MODE OPERATOIRE DE LA METHODE

Les échantillons arrivent directement du terrain. Une partie de cet échantillon est utilisée pour la détermination de l'humidité et l'autre pour l'extraction de l'ion nitrate.

A la masse de sol pesée, on ajoute 50 ml d'une solution de MgSO_4 à 1 g Mg l^{-1} , contenant un inhibiteur biologique. On effectue une agitation mécanique durant une heure puis on filtre.

Un volume aliquote du filtrat sert à la mesure ; si cette mesure sort du domaine d'étude (supérieur à 10^{-2} N), on effectuera une dilution.

Si les échantillons de sol sont secs, la détermination de l'humidité pondérale n'a pas de raison d'être. C'est dans ce deuxième cas que nous nous situons.

Il faut cependant noter que pour la détermination exacte des nitrates du sol, la mise en solution se fait immédiatement après le prélèvement, et la séparation solide - liquide dans les 4 heures qui le suivent, ceci pour éviter une évolution des nitrates.

VIII REPRODUCTIBILITE

Comme dans le cas de l'azote total, nous avons fait une étude de la reproductibilité. Pour un même sol, nous l'avons analysé en 8 exemplaires. La valeur moyenne est de 3 528,5 mg avec un écart type de 46 mg, soit un coefficient de variation de 1,3 %. Ce qui est tout à fait correct avec ce qu'annonce la littérature.

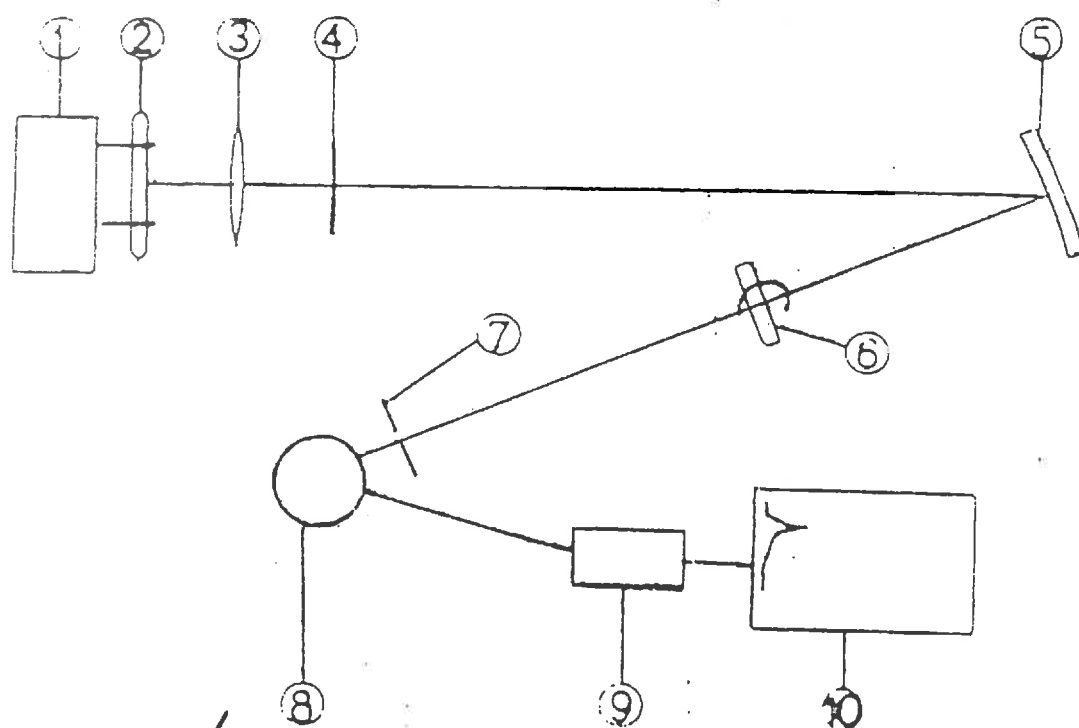


Fig. 4 — Schéma du spectromètre optique GS 1. (GUIRAUD)

- 1) Haute Fréquence ; 2) tube à décharge sans électrode ;
 3) lentille convergente ; 4) fente d'entrée ; 5) réseau concave ;
 6) lame à faces parallèles ; 7) fente de sortie ; 8) photo-
 multiplicateur ; 9) amplificateur ; 10) enregistreur.

SPECTROMETRIE OPTIQUE D'EMISSION
POUR DOSAGE DE L'AZOTE 15

I PRINCIPE GENERAL

La présence d'un atome de masse 15 dans une molécule d'azote gazeux provoque un déplacement de certaines bandes du spectre d'émission moléculaire, quand la molécule est excitée par un champ électrique oscillant à haute fréquence. Ainsi la longueur d'onde de la bande observée dans le proche ultra violet passe de 297,7 nm (nanomètre) pour les molécules $^{14}\text{N}^{14}\text{N}$, à 298,3 nm pour les molécules $^{14}\text{N}^{15}\text{N}$ et 298,9 nm pour les molécules $^{15}\text{N}^{15}\text{N}$ (GUIRAUD, 1984)

II LE SPECTROMETRE OPTIQUE

(figure 4)

Une décharge de haute fréquence est appliquée à un tube de verre (sans électrode), rempli par de l'azote sous une pression de 1 Torr. Une lumière violette est alors émise, focalisée par une lentille. Cette lumière est envoyée sur le réseau qui la décompose en un spectre, lui même envoyé vers le photomultiplicateur.

L'intensité des raies obtenues, enregistrée permet de déterminer la proportion d'atome d'azote 15.

III PREPARATION DES ECHANTILLONS

Bien que n'ayant pas participé à la réalisation de cette préparation, nous en expliquerons succinctement le mode opératoire sur la feuille ci-jointe relative à ce sujet. (tableau A)

IV CALCULS

Les spectres donnés aux figures 5 et 6 sont enregistrés automatiquement.

Le calcul du pourcentage d'azote 15 est basé sur le principe de la dilution isotopique;

Abondance isotopique en pourcentage d'azote 15

Le calcul se fait à partir de la mesure de la hauteur des pics 28 ($^{14}\text{N}_2$), 29 ($^{14}\text{N}^{15}\text{N}$) et 30 ($^{15}\text{N}_2$).:

$$\% \text{ } ^{15}\text{N} = \frac{\text{hauteur du pic 30} + 1/2 \text{ hauteur du pic 29}}{\text{hauteur des pics (28, 29, 30)}} \times 100$$

Cependant, pour des teneurs inférieures à 10 % en ^{15}N , il est impossible de mesurer le pic 30. En conséquence, on utilise seulement les

PREPARATION DES ECHANTILLONS :

Echantillon à étudier

Prise comprise entre 5 et 6 μg d'azote (de façon à obtenir une pression finale de N_2 dans l'ampoule de 1 Torr)

↓
filtre fibre de verre

↓
25 μl de H_2SO_4 0,1 N

↓
Etuve à 50°C

↓
 $\text{Cu} + \text{CuO} + \text{CaO}$

replier le papier filtre pour l'introduire dans l'ampoule

↓
Introduire dans l'ampoule

↓
Mettre sous vide

avec des fours mobiles à 550°C sans chauffer l'échantillon (dégazage des parois des tubes) (30 mn)

↓
Vérifier la stabilité du vide
($5 \cdot 10^{-3}$ Torr environ)

↓
Enlever les fours et sceller les ampoules sous vide actif.

↓
Procéder à la conversion en azote moléculaire de l'échantillon à 550°C pendant 6h.

↓
Attendre 24h ou laisser tremper 1h les ampoules dans de l'azote liquide
Introduire l'ampoule dans le support du spectromètre optique.

TABLEAU A

pics 28 et 29. Mais la méthode de calcul ci-dessus est la méthode générale.

ABONDANCE ISOTOPIQUE INFÉRIEURE À 10 %

Cas de l'échantillon où le pic 30 n'est pas mesurable. Seul le pic 29 est amplifié (figure 5).

On calcule la teneur isotopique suivant la formule :

$$\% \text{ } ^{15}\text{N} = \frac{100 \text{ R}}{2 + \text{R}}$$

Où R est le rapport de la hauteur du pic 29 sur le pic 28

Hauteur du pic 28 = 15,4 cm

Hauteur du pic 29 = 11,9 cm

APPLICATION NUMÉRIQUE

$$\text{R} = \frac{11,9}{15,4}$$

$$\text{Gain} = 5 = 31,25$$

$$\text{R} = \frac{11,9}{31,25 \times 15,4}$$

$$\text{R} = 0,0247$$

$$\% \text{ } ^{15}\text{N} = \frac{100 \times 0,0247}{2 + 0,0247}$$

$$\% \text{ } ^{15}\text{N} = 1,22 \%$$

Figure 5

ABONDANCE ISOTOPIQUE SUPERIEURE OU EGALE A 10 %

Cas de l'échantillon où le pic 30 est mesurable.

On calcule la teneur isotopique suivant la formule :

$$\% ^{15}\text{N} = \frac{200 R'}{1 + 2R'}$$

Où R' est le rapport de la hauteur du pic 30 sur la hauteur du pic 29

APPLICATION NUMERIQUE

Hauteur du pic 30 = 1,9 cm

Hauteur du pic 29 = 10,4 cm

$$R = \frac{1,9}{10,4}$$

$$R = 0,1826$$

$$\% ^{15}\text{N} = \frac{200 \times 0,1826}{1 + 2 \times 0,1826}$$

$$\% ^{15}\text{N} = 26,75 \%$$

Figure 6

V ETALONNAGE

Comme pour le ionomètre, nous avons recourt à un étalonnage.

Suivant la teneur de l'échantillon, nous utiliserons les équations suivantes :

excès isotopique de 0 à 1 %

$$E \% = 1,195 T - 0,538$$

excès isotopique de 1 à 10 %

$$E \% = 1,267 T - 0,454$$

excès isotopique de 10 à 35 %

$$E \% = 1,389 T - 2,236$$

Il faut noter qu'à l'état naturel il y a 0,37 % d'excès isotopique

REMARQUE : le spectrophotomètre d'émission est équipé d'un micro ordinateur et tous les calculs que nous venons de donner sont directement exécutés par la machine.

Lors de la mise en route de l'appareil, nous rentrons les paramètres de chaque courbe d'étalonnage, et pour les échantillons nous obtenons directement la mesure en excès isotopique;

PRESENTATION DES RESULTATS

GRANULOMETRIE SANS DECAL 5 FRACTIONS	P 1000	
- Argile		: 79
- Limon fin		: 34
- Limon grossier		: 25
- Sable fin		: 417
- Sable grossier		: 445
STABILITE STRUCTURALE TEST S		
- Agrégats alcool %		: 43.76
- Agrégats benzene %		: 35.44
- Agrégats air %		: 34.48
- Sables grossiers		: 36.60
- Argile + Limon max.		: 9.12
- S		: 1.84
- LOG 10 S		: 1.27
CARBONE ORG. METH. ANNE - MAT. ORGANIQUES	P 1000	
- Carbone organique - Methode Anne		: 0.5
- Matières organiques		: 0.8
AZOTE KJELDAHL	P 1000	: 0.03
RAPPORT CARBONE ORGANIQUE (ANNE) / AZOTE KJELDAHL		: 16.66
PH CHLORURE DE POTASSIUM 0.1 n		: 8.4
CALCAIRE TOTAL	P 1000	: 13.
INDICE DE POUVOIR CHLOROSANT		
- Calcaire actif P. 1000		: 0.3
- Fer facilement extractible mg. p. kg		: 12.6
- I. P. C.		: 16.0
ACIDE PHOSPHORIQUE JORET HEBERT	P 1000	: 0.00
CAPACITE D'ECHANGE METH. DE METSON	M. EQ. P. 100	: 1.1
MAGNESIUM ECHANGEABLE	M. EQ. P. 100	: 0.09
POTASSIUM ECHANGEABLE	M. EQ. P. 100	: 0.01

Tableau N°:1 Résultats de l'analyse de soi

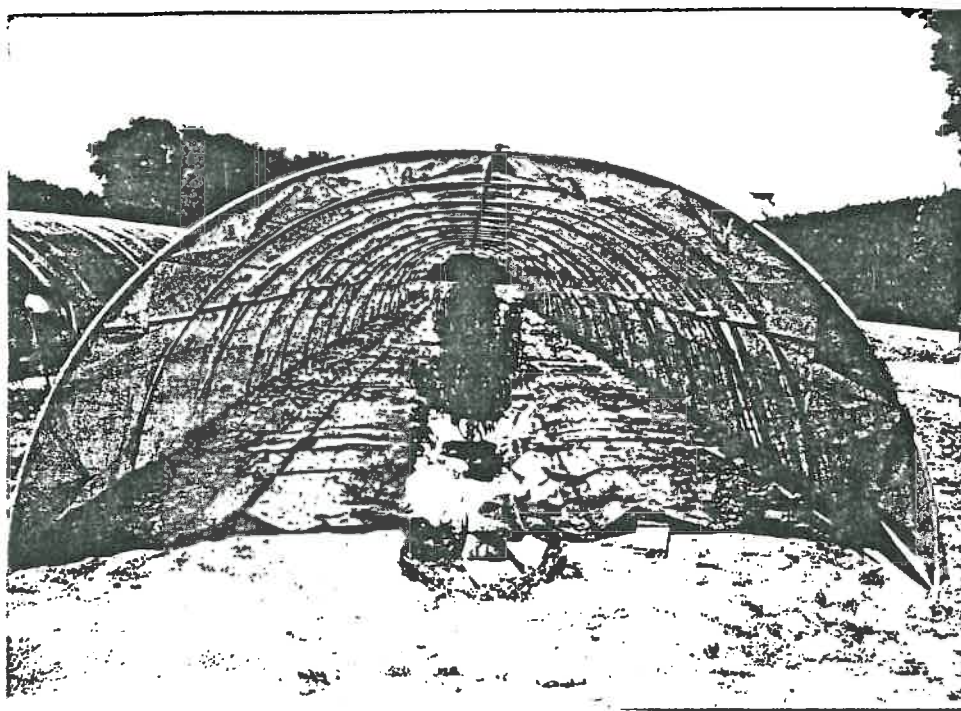


PHOTO 1 : ensemble arbre - conteneur sous tunel plastique.

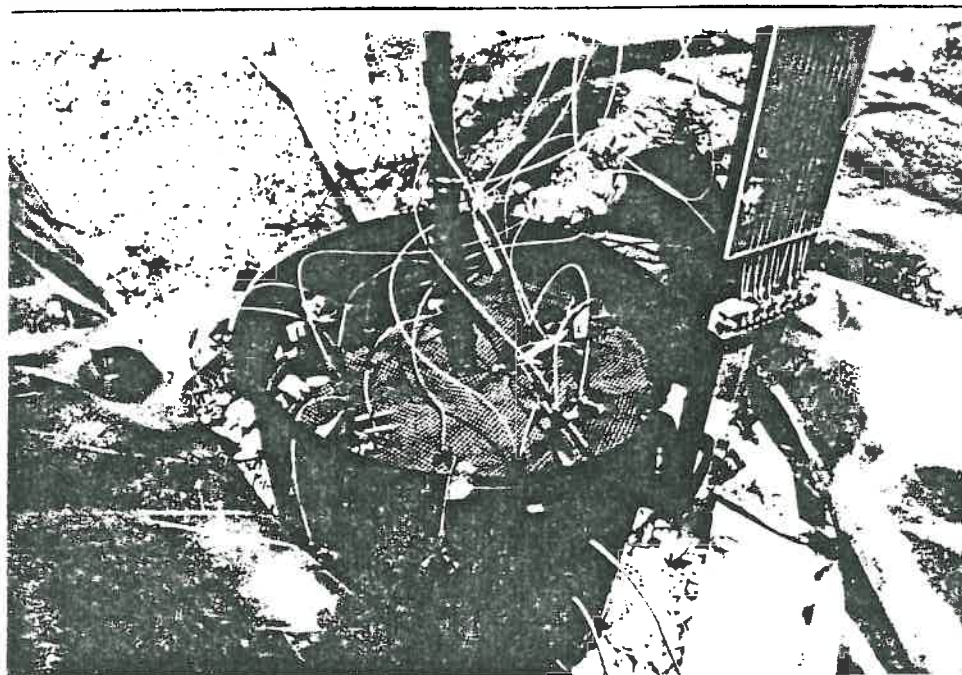
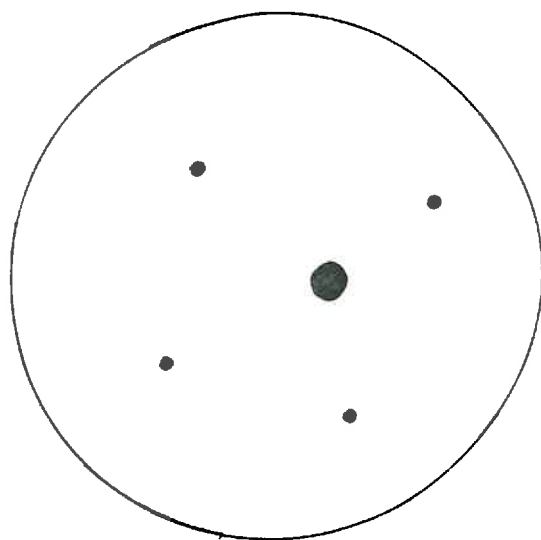


PHOTO 2 : ensemble arbre - conteneur.

Vue de dessus



4 prélèvements

arbre

Vue de profil

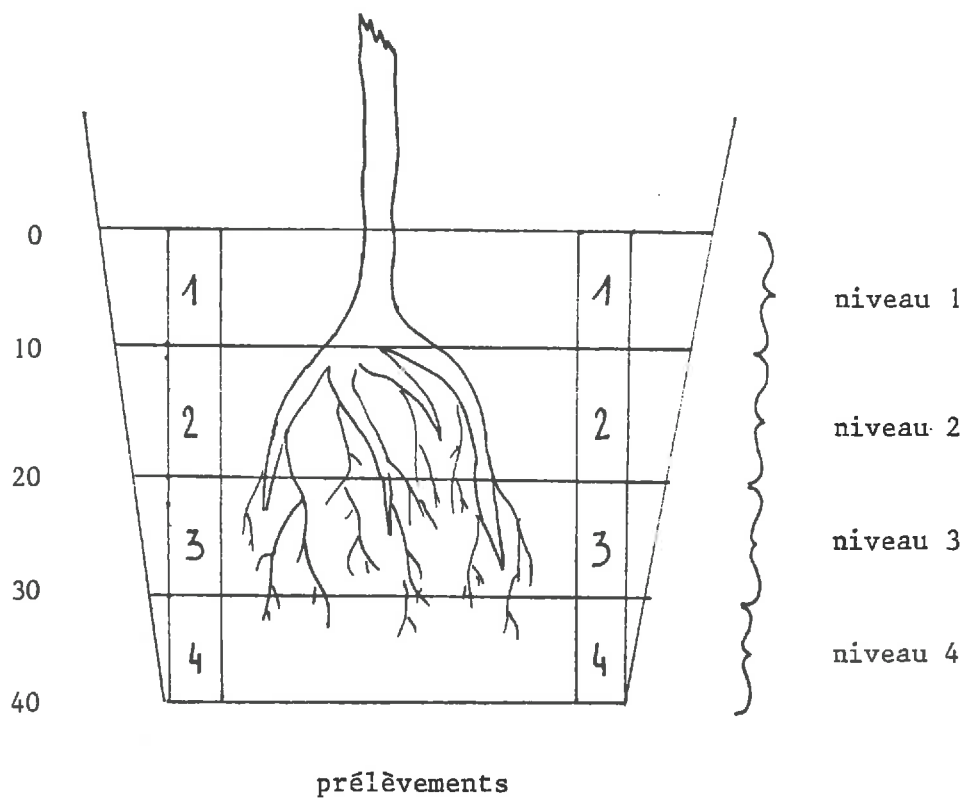


FIGURE 7

Dispositif expérimental de prélèvement

I PRESENTATION DES TRAVAUX ANTERIEURS

Bien qu'en n'ayant pas participé à l'élaboration de l'essai, nous décrivons brièvement le site expérimental pour faciliter la compréhension lors de l'analyse des résultats.

1 - 1 DESCRIPTION DU DISPOSITIF

Le sol utilisé est sableux, sa composition granulométrique et certains éléments qu'il contient sont donnés au tableau 1.

Ce sol a été disposé dans des conteneurs plastiques de 71 litres, perforés à la base pour permettre le drainage éventuel. Le volume occupé par le sol est de 54 litres. En leur centre a été planté un arbre fruitier (pêcher) âgé de un an, à une profondeur de 20 à 25 cm.

Une mesure de densité a été effectuée afin de connaître la masse exacte de sol dans le conteneur. Le profil de densité du conteneur que nous avons étudié est donné au tableau 2 ainsi que la masse de sol niveau par niveau considéré.

Les ensembles arbre - conteneur ont été placés sous tunels plastiques pour être à l'abri des intempéries (photos 1 et 2). Nous disposons en début d'expérimentation de 88 individus. Un suivi hydrique a été assuré tout au long de la saison et la fertilisation nitrate s'est effectuée à un rythme de 15 jours.

1 - 2 FERTILISATION NITRATE

Il a été apporté du nitrate de calcium en solution tous les 15 jours. Chaque individu a reçu la fertilisation suivant les doses indiquées dans le tableau 3. Dans le même temps, trois individus pris au hasard recevaient une solution de nitrate de calcium marqué à l'azote 15, isotope stable de l'azote (annexe 2). Le marquage permet d'une part de suivre correctement le nitrate que l'on apporte et d'autre part de le distinguer de celui initialement présent. Au bout de 15 jours, date notée exactement, les trois individus sont détruits et l'on a procédé à leur analyse comme suit :

- le sol : on a considéré 4 niveaux, et par niveau, il a été fait 4 prélèvements (figure 7) que l'on a mélangé pour effectuer un échantillon moyen. L'azote nitrique et son isotope ¹⁵N ont été mesurés.

- le végétal : il a été divisé en 4 parties : racines, troncs, rameaux et feuilles. L'azote total et l'azote 15 ont été mesurés. Ceci a été fait trois fois durant la saison suivant le calendrier donné au tableau 3.

1 - 3 ANALYSE DES RESULTATS

Un condensé des résultats est donné au tableau 4. Leur analyse

DATES	APPORT DE NITRATES MARQUES	REMARQUES
7.5.86	2,2 g à 6 %	Apport de ^{15}N aux arbres 69 - 65 - 26
27.5.86	3,13 g à 6 %	Apport de ^{15}N aux arbres 59 - 40 - 25
28.5.86		Prélèvement des arbres 69 - 65 - 26
11.6.86		Prélèvement des arbres 59 - 40 - 25
4.7.86	2,2 g à 6 %	Apport de ^{15}N aux arbres 63 - 53 - 34
21.7.86		Prélèvement des arbres 63 - 53 - 34

TABEAU 3

Fertilisation nitrate. (M. GARCIA, 1986)

NIVEAUX	DENSITE	VOLUME DES NIVEAUX en cm^3	MASSE DE SOL en g
1	1.56	15844.3	24558.7
2	1.55	14810.5	23104.4
3	1.60	13811.6	22098.6
4	1.63	13263.8	21619.9

TABEAU 2

Résultats de l'étude du conteneur (M. GARCIA, 1986)

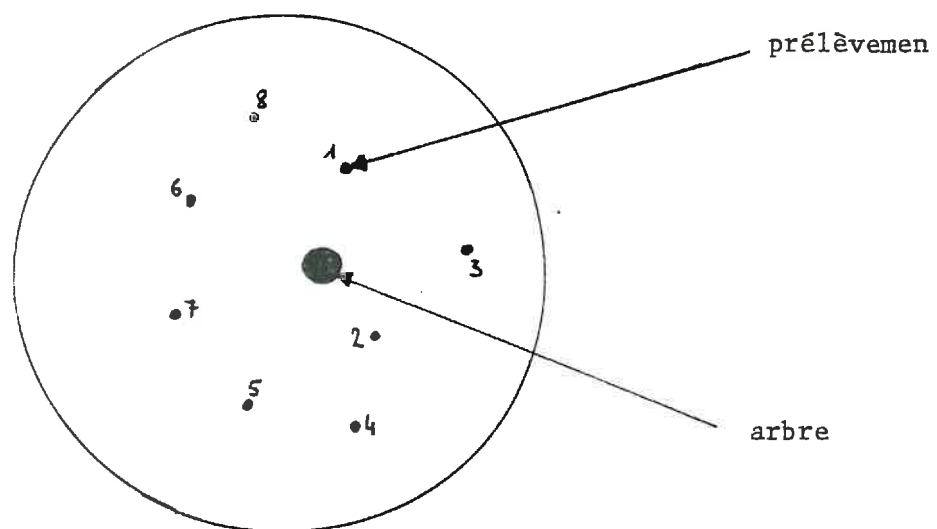


FIGURE 8

Points de prélèvement dans l'ensemble
arbre - conteneur

1° PRELEVEMENT 28.5.86 MASSE DE NO ₃ ⁻ APPORTEE : 2,2 g				
ARBRES N°	N. total dans le végétal mg Indice de Fertilisation	N. Nitrique en mg	Bilan en %	Pourcentage de N manquant
69	166,5	1361,1	69,44	30,56
65	131,8	1320,6	66,03	33,97
20	63,5	1943,6	91,24	8,76

2° PRELEVEMENT 11.6.86 MASSE DE NO ₃ ⁻ APPORTEE : 3,13 g				
ARBRES N°	N. total dans le végétal mg Indice de Fertilisation	N. Nitrique en mg	Bilan en %	Pourcentage de N manquant
59	207,1	2906,9	102	
40	194,1	1491,9	55,24	44,76
25	164,9	1880,0	67	33

3° PRELEVEMENT 21.7.86 MASSE DE NO ₃ ⁻ APPORTEE : 2,2 g				
ARBRES N°	N. total dans le végétal mg Indice de Fertilisation	N. Nitrique en mg	Bilan en %	Pourcentage de N manquant
63	689,0	1182,2	85,05	14,95
53	466,4	937,7	63,83	36,18
34	459,3	1638,0	95,05	4,95

TABEAU 4

Couches	Profils N°:							
	1	2	3	4	5	6	7	
0-10	627.4	102.2	156.1	992.0	971.8	1165.5	208.1	1
10-20	1330.0	860.5	181.6	723.4	1328.8	621.4	555.9	8
20-30	589.7	407.8	42.2	186.0	605.9	722.8	424.1	3
30-40	235.3	101.7	42.0	85.5	275.9	195.8	128.0	1
N NO3	2782.4	1472.2	421.9	1986.9	3182.5	2705.7	1361.1	1

Couches	Moy	C.V
0-10	550.4	80.3 %
10-20	811.2	47.8 %
20-30	420.1	53.5 %
30-40	153.2	51.7 %
N NO3 (mg)	1934.9	

Tableau N°: **5** Masses de nitrate par niveau pour les huit profils
(M. GARCIA, 1986)

faite par M. GARCIA (1986) montre que pour certains individus une partie de l'azote nitrique apporté n'est pas retrouvée

Plusieurs hypothèses ont été faites :

- 1/ biais provoqué par l'accumulations des erreurs dans les mesures au niveau du sol et de la plante.
- 2/ les prélèvements de sol effectués ne sont pas représentatifs de la teneur en nitrate du sol.
- 3/ les nitrates subissent une réorganisation. La possibilité de dénitrification a été écartée, le sol ne semblant pas remplir les conditions pour un tel processus.

Les risques de pertes par drainage n'ont également pas été retenus, car le suivi hydrique a permis d'effectuer une irrigation sans drainage.

Après le calcul des incertitudes de la mesure sur le sol et le végétal, il est apparu qu'elles ne justifient pas les écarts rencontrés au niveau des bilans. Il restait donc à étudier les deux autres hypothèses :

- Hétérogénéité de prélèvement,
- réorganisation des nitrates.

1 - 4 EXPERIMENTATION POUR LA MISE EN EVIDENCE DE L'HETEROGENEITE DES NITRATES

A un individu sol - plante, a été apporté 2,2 g d'azote nitrique en solution marqué à 6 % d'azote 15. Il a été détruit 8 jours après. Comme précédemment pour le sol, il a été considéré 4 niveaux, mais par niveau 8 prélèvements (figure 8) ont été faits et chacun d'eux analysés individuellement. Il a été mesuré l'azote nitrique et l'azote 15 nitrique.

Pour le végétal, il a été procédé comme au paragraphe 1 - 2 .

Les résultats obtenus par M. GARCIA (1986), sont portés au tableau 5.

Leur analyse met en évidence une hétérogénéité importante puisque les coefficients de variations niveaux par niveaux ne sont jamais inférieurs à 50 %.

La masse totale d'azote nitrique suivant que l'on considère le profil 5 ou 3 passe de 3 182 mg à 422 mg soit un rapport de 7,5.

Si l'on se reporte au bilan pour l'arbre N° 63, tableau 4, on note que l'on n'arrive pas à 100 %.

Aussi l'hypothèse d'une possibilité de réorganisation a été étudiée et c'est une partie de ce travail qui m'a été confié.

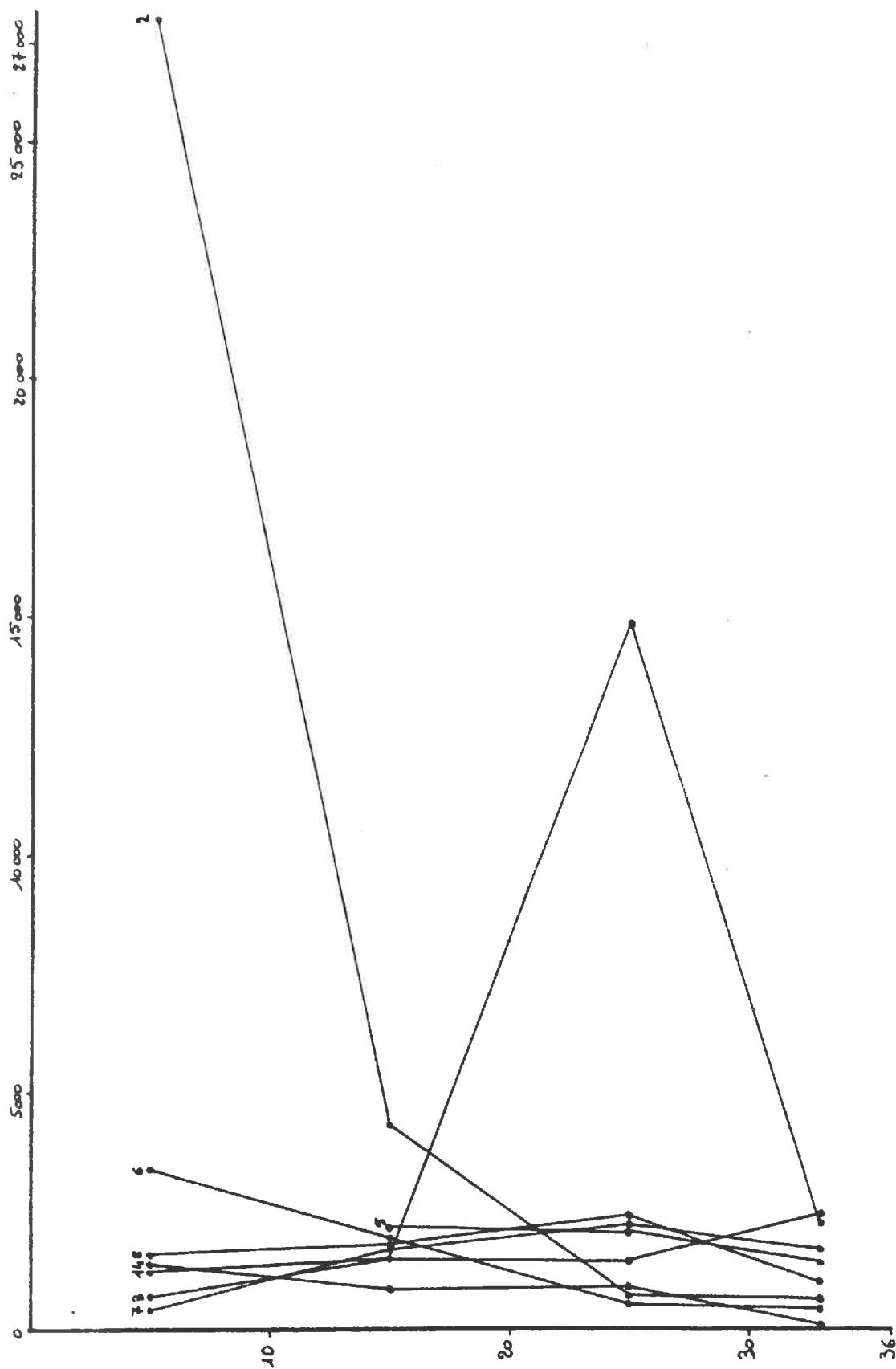


FIGURE 9
Profils de l'azote total

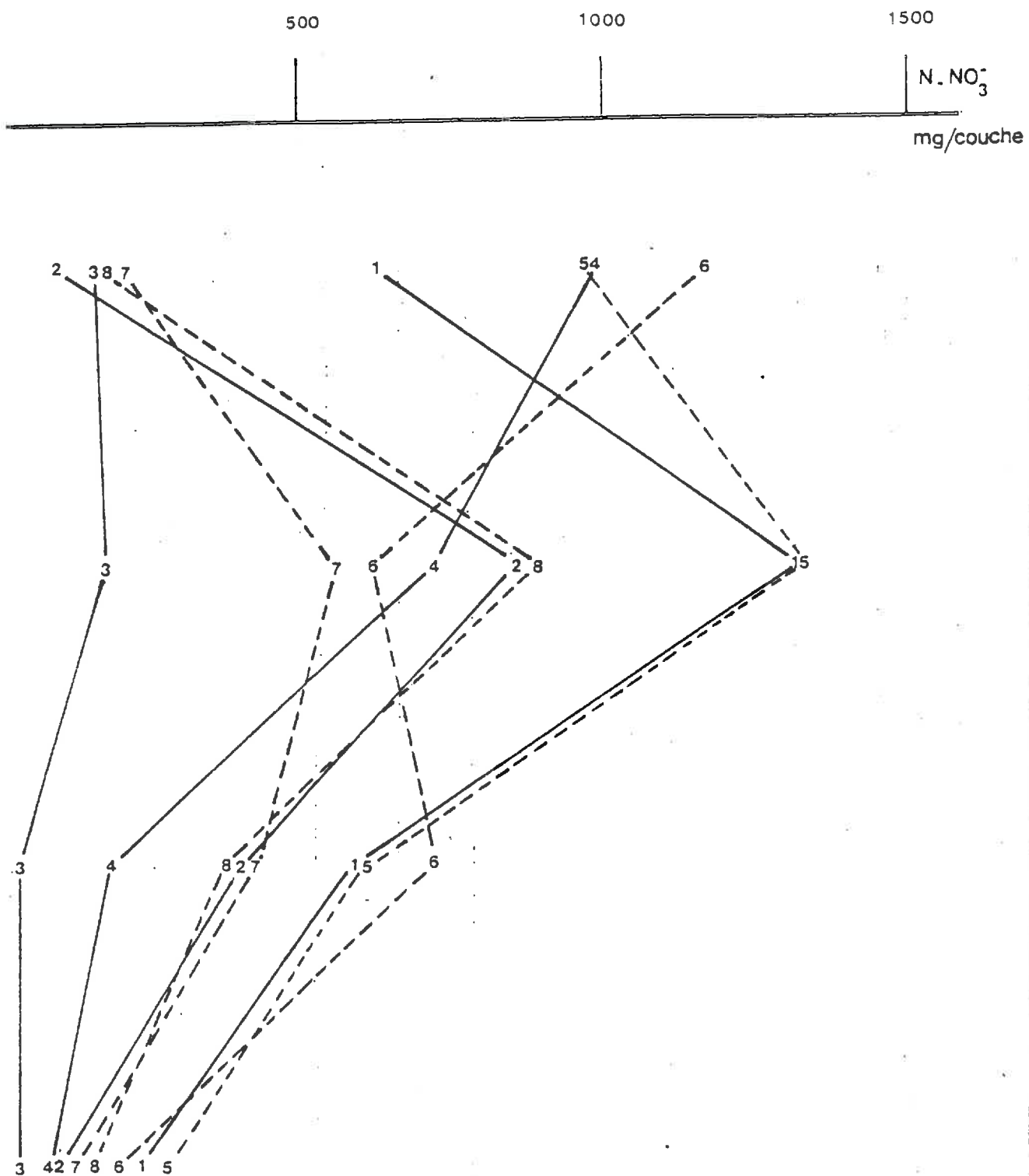


Fig. 10 Masses de nitrate total par niveau et par profil.

(M. GARCIA, 1986)

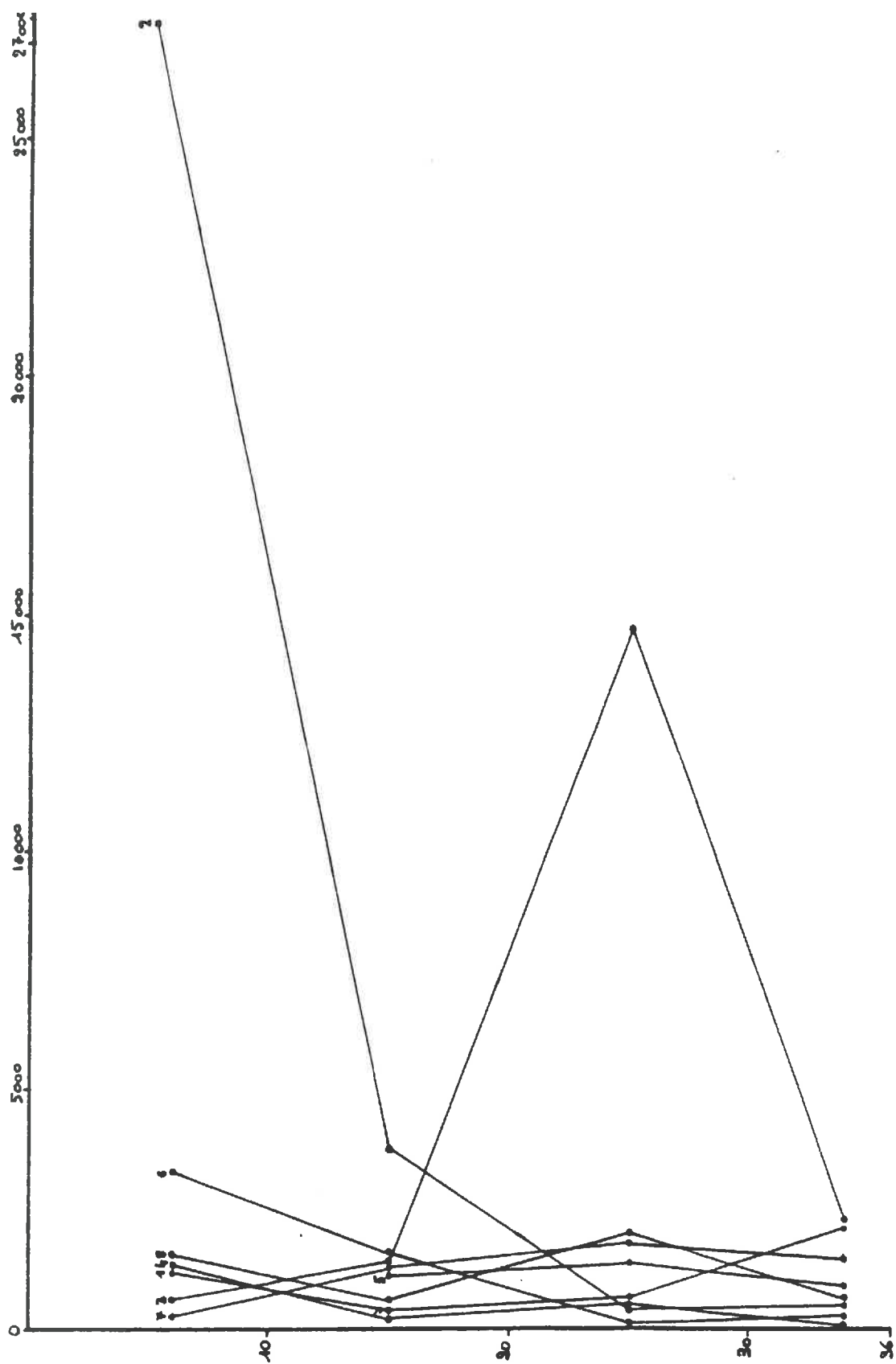


FIGURE 11

Profils de l'azote organique.

II RESULTATS ET INTERPRETATION

2 - 1 AZOTE NITRIQUE

Le dosage de l'azote nitrique est toujours effectué sur un échantillon de sol fraîchement prélevé. Si la mesure était effectuée à partir d'un échantillon conservé au frigidaire ou séché, le résultat ne serait pas exact car les micro-organismes du sol contribuent à l'évolution de l'azote nitrique.

Dans notre étude, nous souhaitons connaître la quantité d'azote organique ; il était donc nécessaire de déterminer au préalable la quantité de nitrate de l'échantillon de sol sec, même si cette valeur n'était plus représentative de celle de la quantité de nitrate au moment du prélèvement.

En général, les résultats sur sol sec sont plus fiables, mais ce n'est pas une règle générale.

2 - 2 AZOTE TOTAL

Nous avons reporté à la figure 9 les profils azote total en fonction de la profondeur. L'analyse montre qu'à l'exception des profils 2 et 3, les résultats sont assez homogènes sur toute la profondeur. On remarque que leur allure générale diffère considérablement de celle des profils nitrate (figure 10)

2 - 3 AZOTE ORGANIQUE

Pour avoir la masse d'azote organique, nous avons déduit la masse d'azote nitrique à la masse d'azote total, le tout exprimé en mg d'azote.

La figure 11 représente les profils de la quantité d'azote organique en fonction de la profondeur. Ils sont semblables à ceux obtenus pour l'azote total (figure 9). Cela implique que l'azote organique gomme l'effet de l'azote nitrique.

Lors de la mise en place du dispositif, une analyse de l'azote minéral et organique a été faite ; elle a montré que seul était présent 0,03 ‰ d'azote organique. Nous avons donc calculé la quantité d'azote organique qui était présente lors de la mise en place niveau par niveau afin d'analyser quelle a été l'évolution de l'azote organique dans le dispositif au cours de la saison.

L'état initial niveau par niveau est le suivant :

Niveau	Masse de sol par niveau en mg	Masse d'N en mg	Masse d'N organique en mg	Excédent réorganisation	Perte minéralisation
1	24558,7	736,8	1182,1	445,3	
1	23104,4	693,1	372,8		320,3
3	22098,6	663,0	622,3		40,7
4	21619,9	648,6	2185,7	1537,1	
2	24558,7	736,8	27439,4	26702,6	
2	23104,4	693,1	3744,4	3051,3	
3	22098,6	663,0	417,0		246,0
4	21619,9	648,6	503,8		144,8
3	24558,7	736,8	623,7		113,1
2	23104,4	693,1	1391,7	698,6	
3	22098,6	663,0	14838,6	14175,6	
4	21619,9	648,6	2307,5	1658,9	
4	24558,7	736,8	1119,4	382,6	
2	23104,4	693,1	209,8		483,3
3	22098,6	663,0	660,8		2,2
4	21619,9	648,6	~ 0		~ 648,6
5	24558,7	736,8	—	—	—
2	23104,4	693,1	1262,3	569,2	
3	22098,6	663,0	1417,2	754,2	
4	21619,9	648,6	949,8	301,2	
6	24558,7	736,8	3288,9	2552,1	
2	23104,4	693,1	1559,6	866,5	
3	22098,6	663,0	112,7		550,3
4	21619,9	648,6	312,1		336,5
7	24558,7	736,8	286,0		450,3
2	23104,4	693,1	1300,2	607,1	
3	22098,6	663,0	1853,8	1190,8	
4	21619,9	648,6	1581,2	932,6	
8	24558,7	736,8	1362,3	598,5	
2	23104,4	693,1	613,5		79,6
3	22098,6	663,0	1951,4	1288,4	
4	21619,9	648,6	781,3	132,7	

TABEAU 6

Comparaison des valeurs obtenues avec celles de nos échanti

Prélèvements	Azote organique en mg
1	4362,9
2	32104,6
3	19161,5
4	1990,0
5	3629,3
6	5273,3
7	5021,2
8	4708,5

TABLEAU 7

Résultats pour l'ensemble du conteneur.

Niveau	15 N NO_3^- en mg	N Total	N Total marqué en mg
1	118	2177,4	104
2	217,1	1999,8	321
3	448,6	2579,7	538
4	539,6	2820,1	676

TABLEAU 8

Résultats pour l'arbre 40. (M. GARCIA, 1986)

AUTRE METHODE UTILISEE

ANNEXE 1

CALCUL DE LA REPRODUCTIBILITE

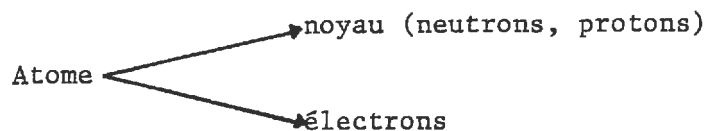
omme des x Σx

omme des x au carré Σx^2

oyenne des x \bar{x}

cart type $\sigma = \sqrt{\frac{\Sigma x^2 - \bar{x} \Sigma x}{n - 1}}$

oefficient de variation $\frac{\sigma}{\bar{x}} \times 100$

GENERALITES1 - 1 ISOTOPES

Les isotopes ont un nombre de neutrons différent mais leurs propriétés chimiques sont identiques.

Isotopes de l'azote :

- azote 13
- azote 14
- azote 15
- azote 16
- azote 17

1 - 2 ISOTOPES RADIOACTIFS

Le noyau se désintègre, il y a émission d'un rayonnement et transformation en élément stable.

Azote 13 \longrightarrow Rayon β \longrightarrow Carbone 13

isotope radioactif \longrightarrow rayon \longrightarrow isotope stable

1 - 3 ISOTOPES STABLES

- azote 15
- azote 16