

Institut National de la Recherche Agronomique

Unité de Science du Sol

Domaine Saint-Paul

84140 MONTFAVET - AVIGNON

I.U.T LYON - Claude Bernard

Département de chimie

Promotion 1992-1993

**DOSAGE DES IONS : Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- ,
A L'ELECTROPHORESE CAPILLAIRE**

Catherine TRUCHARD

25 Avril - 1 Juillet 1994

AVANT - PROPOS

Je tiens en premier lieu à faire part du plaisir que j'ai eu à effectuer ce stage dans l'unité de Science du sol de l'INRA.

Je tiens tout d'abord à remercier **Laurent BRUKLER**, directeur de l'unité de Science du sol, de m'avoir accueilli au sein de son service.

Je remercie également **Anne-Marie de COCKBORNE**, mon maître de stage, pour toute l'attention qu'elle m'a portée, sa disponibilité et son aide précieuse dans la rédaction de ce rapport.

Tous mes remerciements vont ensuite à **M NURY**, professeur à l'IUT de chimie de Villeurbanne, pour avoir accepté d'être mon responsable de stage.

Enfin, un grand merci à Sadia, Béatrice, Marie, Brigitte, Caroline, Christine et tout le personnel de l'INRA pour leur sympathie et leur bonne humeur qui ont rendu ce stage très agréable.

RESUME

Cette étude a pour but de doser les chlorures, les sulfates et les nitrates dans des échantillons d'eau et de végétaux prélevés au niveau de la vallée de la Vistrenque.

Dans un premier temps, nous nous sommes attachés à la mise au point de la méthode de dosage, des anions précédemment cités, par l'électrophorèse capillaire. Nous avons donc testé la reproductibilité et la validité de cette nouvelle méthode d'analyse, en considérant la ionométrie comme méthode de référence. Nous avons alors constaté que les deux méthodes : électrophorèse capillaire et ionométrie n'étaient pas statistiquement différentes.

Pour effectuer cette mise au point nous nous sommes donc servis des échantillons d'eau et de salade provenant de la région de la Vistrenque. Suite à ces analyses, nous avons pu étudier l'évolution des ions Cl^- , SO_4^{2-} , et NO_3^- dans la salade, lors de divers cycles culturaux, et dans l'eau de nappe. Les résultats obtenus montrent une évolution croissante des ions dans le végétal au cours du temps, et caractérisent parfaitement les zones de prélèvement d'eau avec leur taux de pollution en nitrates.

Mots clés : Electrophorèse capillaire, ionométrie, validité, chlorure, sulfate, nitrate, salade, eau

SOMMAIRE

Introduction

Chapitre I : Institut National de la Recherche Agronomique.

1-) Le domaine de saint-Maurice	2
2-) Le domaine de saint-Paul	2

Chapitre II : Présentation de l'étude expérimentale.

ELECTRODE SPECIFIQUE.

I-) Principe	4
II-) Limites	5
III-) Electrodes spécifiques (ORION, 1986)	6
IV-) Mode opératoire	7

ELECTROPHORESE CAPILLAIRE.

I-) Principe général	8
II-) Principe du logiciel	11
III-) Mode opératoire	13

ORIGINE DES ECHANTILLONS.

I-) Echantillons de poudre végétale	16
II-) Etude d'échantillons d'eau	18

PRESENTATION ET ANALYSE DES RESULTATS

Chapitre III : Electrophorèse Capillaire

Mise au point méthodologique.

I-) Mise au point méthodologique du traitement des données	20
II-) Reproductibilité	21
III-) Validité de la méthode	22
IV-) Discussion - Conclusion	23

Chapitre IV : Les cultures de salades.

Etude de l'évolution du calcium, du potassium, du chlorure, du sulfate et du nitrate.

I-) Evolution au cours du temps	26
II-) Evolution simultanée du potassium et de l'azote	28
III-) Discussion - Conclusion	30

Chapitre V : La nappe de la Vistrenque

REGION DE CODOGNAN - 30

I-) Analyse des résultats	31
II-) Discussion - Conclusion	32
<i>Conclusion</i>	33
BIBLIOGRAPHIE	34
ANNEXES	35

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n°1 : Calendrier de prélèvement des salades.

Tableau n°2 : Intégration en mesurant l'aire du pic et calibration en passant par le point origine.

Tableau n°3 : Intégration en mesurant la hauteur du pic et calibration en passant par l'origine.

Tableau n°4 : Intégration en mesurant l'aire du pic et calibration en ne passant pas par l'origine.

Tableau n°5 : Intégration en mesurant la hauteur du pic et calibration en ne passant pas par l'origine.

Tableau n°6 : Comparaison $Y = aX + b$ et $Y = aX$.

Tableau n°7 : $A = F(B)$ - Test de Student.

Tableau n°8 : Reproductibilité de solutions synthétiques.

Tableau n°9 : Reproductibilité d'échantillons d'eau.

Tableau n°10 : Reproductibilité d'échantillons de végétal.

Tableau n°11 : Validité - Test de Student.

Tableau n°12 : Validité - abstraction de l'ordonnée à l'origine de l'équation de régression.

Tableau n°13 : Rapports K/N total et K/N-NO₃ dans la 1ère culture.

Tableau n°14 : Rapports K/N total et K/N-NO₃ dans la 2ème culture.

Tableau n°15 : Rapports K/N total et K/N-NO₃ dans la 3ème culture.

Tableau n°16 : éléments exportés par le végétal en kg/ha.

Tableau n°17 : analyse des échantillons d'eau.

Liste des figures.

- Figure n°0 : Implantations de l'INRA.
- Figure n°1 : Carte de la vallée de la Vistrenque.
- Figure n°2 : Carte de la région de Codognan.
- Figure n°3 : Schéma de principe de la ionométrie.
- Figure n°4 : Schéma des électrodes spécifiques.
- Figure n°5 : Vue d'ensemble de l'électrophorèse capillaire.
- Figure n°6 : Schéma de l'appareil.
- Figure n°7 : migration des ions.
- Figure n°8 : Déplacement des anolytes dans le capillaire.
- Figure n°9 : Tableau du Quick Set 1.
- Figure n°10 : Tableau du Quick Set 2.
- Figure n°11 : Tableau d'intégration.
- Figure n°12 : Electrophérogramme du standard 1.
- Figure n°13a : Comparaison CE_ES pour les chlroures.
- Figure n°13b : Comparaison CE_ES pour les nitrates.
- Figure n°14 : Electrophérogramme de l'échantillon B19, non dilué.
- Figure n°15 : Electrophérogramme de l'échantillon B19, dilué.
- Figure n°16 : Electrophérogramme de l'échantillon E.
- Figure n°17 : Electrolyte Chromate - OFM sans ajout de calcium.
- Figure n°18 : Electrolyte Chromate _ OFM avec ajout de 10 mg/l de Ca^{2+} .
- Figure n°19 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/g de matière sèche de la 1^{ère} culture de 1993.
- Figure n°20 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/salade de la 1^{ère} culture de 1993.
- Figure n°21 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/g de matière sèche de la 2^{ème} culture de 1993.
- Figure n°22 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/salade de la 2^{ème} culture de 1993.
- Figure n°23 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/ g de matière sèche de la 3^{ème} culture.
- Figure n°24 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/salade de la 3^{ème} culture de 1993.
- Figure n°25 : Graphique de l'évolution simultanée du potassium et de l'azote nitrique.
- Figure n°26 : Graphique de l'évolution simultanée du potassium et de l'azote total.
- Figure n°27 : Rapport potassium_azote total en fonction du temps.
- Figure n°28 : Rapport potassium_ azote nitrique en fonction du temps.

INTRODUCTION

L'aspect essentiel de l'étude à laquelle j'ai participé est une mise au point méthodologique du système d'analyse par électrophorèse capillaire.

Afin d'effectuer cette mise au point méthodologique, nous avons dosé les éléments d'échantillons provenant de la vallée alluviale de la Vistrenque. où l'équipe à laquelle j'ai été affectée conduit un programme de recherche sur l'aspect de la pollution par les composés azotés. Cette vallée est située au sud de la France, en bordure de la méditerranée, dans le département du Gard. C'est un bassin d'effondrement d'une dizaine de mètres entre garrigues et costières, qui a une superficie d'environ 300 km² et qui est limitée par les failles de Nîmes et de Vauvert de direction Nord-Est / Sud-Ouest (carte 1).

Cette zone géographique fait l'objet d'une large étude sur les problèmes de pollution par les nitrates et donc de dénitrification. D'ailleurs plusieurs communes de la région se sont regroupées pour former le syndicat des eaux de la Vistrenque. Les programmes d'étude concernant cette région ont été lancés par plusieurs organisations qui ont toutes un rôle différent dans l'étude de la pollution par les nitrates :

La DIREN s'occupe du dosage des nitrates dans les nappes phréatiques.

L'ENGREF s'occupe de l'aspect transfert des nitrates.

L'INRA étudie essentiellement l'aspect géochimique, c'est à dire la dénitrification, mais également l'aspect transfert.

La Chambre Agricole du Gard étudie l'aspect agronomique.

Les échantillons qui ont servis de base à ce travail proviennent à la fois de l'étude concernant l'aspect transfert (échantillons de salades) et de celle concernant l'aspect géochimique (échantillons d'eau), ils nous ont permis d'effectuer la mise au point méthodologique de l'électrophorèse capillaire, et par la suite nous avons tenté d'analyser l'évolution de ces ions présents dans le végétal au cours du temps et d'analyser les ions présents dans les échantillons d'eau.

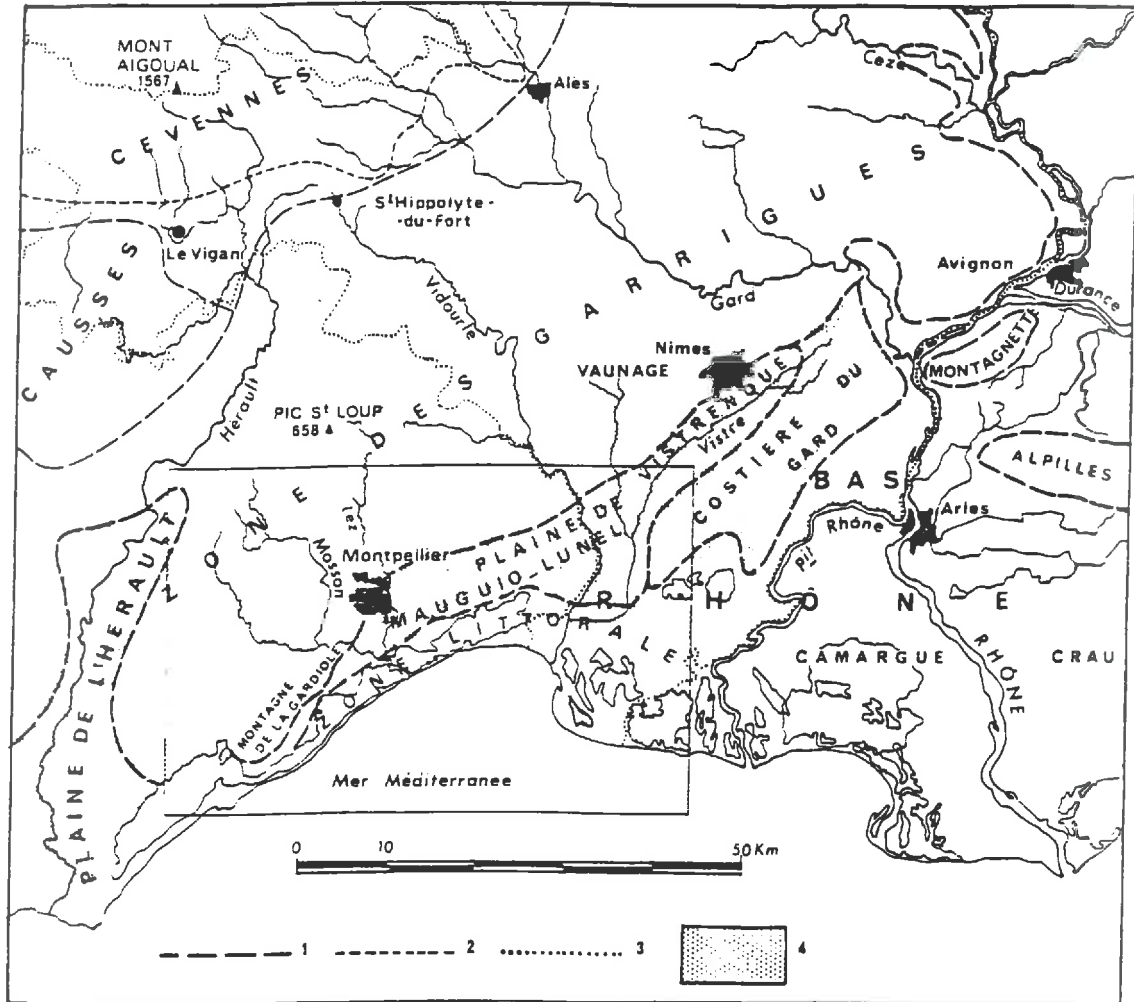


Figure n°1 : Carte de la vallée de la Vistrenque.

- 1 — Limite des zones naturelles.
- 2 — Limite des Cévennes cristallines (au nord-ouest) et des Cévennes calcaires (au sud et à l'est).
- 3 — Limite de départements.
- 4 — Périmètres d'irrigation équipés ou en projet dans la concession BRL.

Chapitre 1

INSTITUT NATIONAL DE LA RECHERCHE AGRONOMIQUE

L'INRA, fondé en 1946, est devenu depuis 1984 un établissement public national à caractère scientifique et technique (E.P.S.T), placé sous la double tutelle du ministère de la recherche et de l'enseignement supérieur et du ministère de l'agriculture et de la forêt .

L'INRA a reçu pour mission (décret du 14/12/84) de:

- *Contribuer à la politique nationale de recherche.
- *Organiser et exécuter toutes les recherches intéressant l'agriculture et les industries qui lui sont liées.
- *Effectuer des expériences scientifiques.
- *Publier et diffuser les résultats de ses travaux,
- *Apporter son concours à la formation.

L'INRA est le corps le plus décentralisé de la recherche française: 70% du personnel travaille en dehors de Paris et de l'Ile de France . Il a des relations avec près de 70 pays avec lesquels il collabore et effectue des échanges . L'institut dispose d'un budget d'environ 2.5 millions de francs dont 87% proviennent de l'état et 13% de ses propres ressources . Son personnel permanent se compose de 8300 agents, ce qui le situe comme le troisième organisme français de recherche , après le CNRS et le CEA .

L'INRA regroupe 300 sites d'activités et 1100 hectares exploités pour le travail expérimental . Il est organisé en 28 départements placés sous la responsabilité d'un chef de département assisté d'un conseil scientifique . Les centres de recherches, au nombre de 22 sur le territoire national

(figure 1) sont placés sous la direction d'un président de centre, assisté du conseil scientifique et du conseil de gestion .

Le centre d'Avignon est l'un des plus important, avec son personnel de 510 personnes, dont 190 chercheurs . Il regroupe les domaines de Saint-Paul et Saint-Maurice à Montfavet et un domaine situé avenue Vivaldi en Avignon .

1/ Le domaine de Saint-Maurice.

Ses principaux axes de recherche sont:

****L'amélioration des plantes maraichères*** par la création de nouvelles variétés de légumes adaptées aux conditions de production (fraises, tomates, poivrons...).

****La pathologie végétale*** (lutte biologique, chimique et lutte contre les champignons, bactéries et virus de la culture).

2/ Le domaine Saint-Paul.

Ce domaine regroupe les Unités de Recherche suivantes dirigées vers les productions végétales et le milieu physique .

****Agronomie*** : effets des technique culturales sur le rendement,

****Bioclimatologie et S.T.E.F.C.E.*** : Service Technique d'Etude des facteurs Climatiques de l'Environnement : influence du climat sur la production et l'environnement, gère la banque des données météo journalière de tout l'INRA,

****Recherches Fruitières et Méditerranéennes*** : création et sélection de variétés adaptées au midi méditerranéen,

****Unité de Développement*** : valorisation du milieu par l'élevage,

****Biométrie et Centre de Traitement Régional*** : unité informatique qui apporte son soutien aux autres centres, en statistiques notamment,

****Laboratoire d'Automatique et de Micro-informatique,***

****Unité Régionale de Documentation*** : gestion de la documentation et assistance aux chercheurs,

****Phytopharmacie*** : propriété et conséquences sur l'environnement des produits chimiques utilisés en agriculture,

****Technologie des Produits Végétaux et des Fruits Tropicaux*** : techniques de conservation et de conditionnement,

****Zoologie et Apiculture*** : lutte contre les insectes ravageurs, amélioration génétique de l'abeille,

****Science du Sol,***

UNITE de SCIENCE DU SOL

Cette unité a comme objectif général d'étudier et de modéliser les transferts hydrique, salin et gazeux dans un sol.

Ses principaux axes de recherche concernent la compréhension des processus et des phénomènes physiques qui ont lieu dans le sol ou dont le sol est l'objet.

Les thèmes de recherche abordés sont nombreux:

- *Analyse expérimentale et théorique du transport couplé eau-nitrate.
- *Analyse expérimentale et théorique de la répartition entre l'évaporation directe du sol et la transpiration des couverts végétaux.
- *Géochimie des eaux et de la solution du sol, application du traçage géochimique à la quantification des flux hydriques.
- *Modélisation des transferts d'eau et de chaleur dans le système sol-plante-atmosphère.
- *Modélisation des transferts gazeux et des transferts couplés d'eau et de solutés dans les milieux poreux complexes.
- *Caractérisation des états de surface et estimation du bilan hydrique à partir de données issues de la télédétection.
- *Analyse expérimentale des relations entre l'évolution des états de surface et l'infiltrabilité.
- *Action des contraintes mécaniques sur l'évolution de l'espace poral du sol et modélisation des états de surface.
- *Relations entre les propriétés physiques et mécaniques des lits de semences et l'implantation de culture semées.
- *Relations entre les propriétés physiques et mécaniques des sols et les modèles d'architecture racinaire.

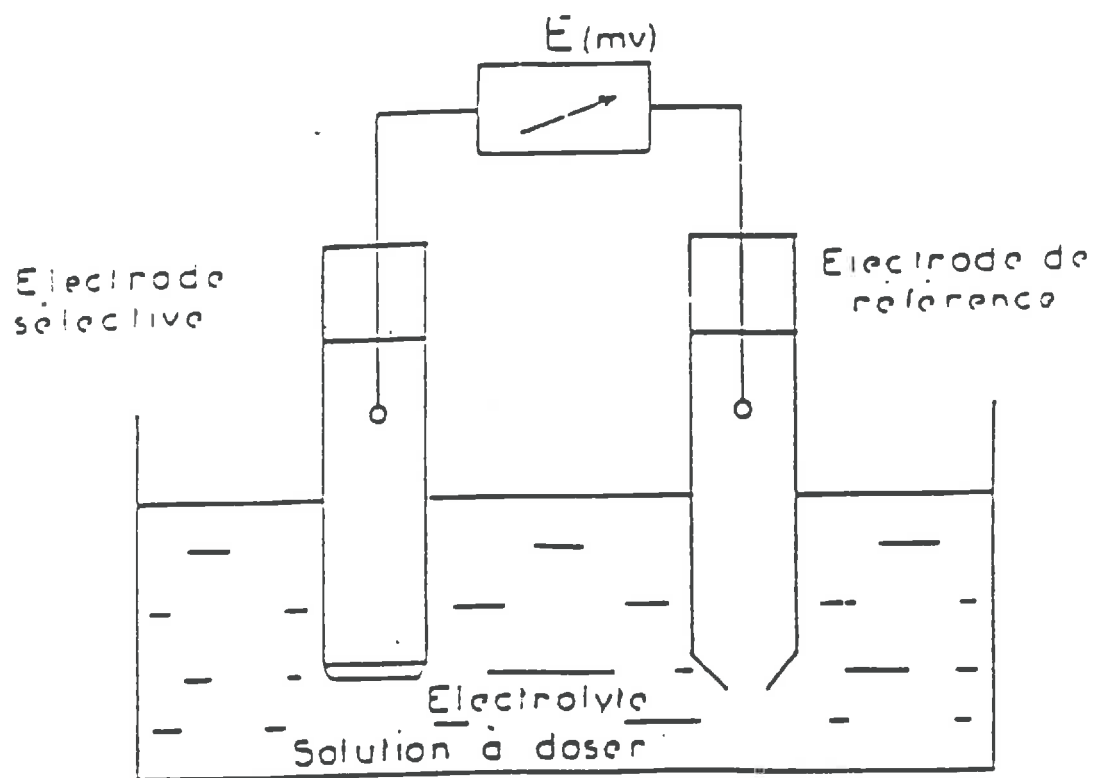


Figure n°3 : Schéma de principe de la ionométrie.

CHAPITRE II

PRESENTATION DE L'ETUDE EXPERIMENTALE.

ELECTRODE SPECIFIQUE

I-) PRINCIPE

1-) Principe de la mesure

La détermination des potentiels électrochimiques s'effectue en mesurant la force électrochimique qui apparait entre deux électrodes, une de référence et une autre de comparaison ou spécifique de l'ion étudié, plongées dans une solution aqueuse étudiée (figure 3, schéma de principe de la ionométrie).

Cette méthode de mesure par ionométrie est basée sur l'équation de NERNST:

$$E = E_0 \pm \frac{RT}{nF} \ln \frac{Ox}{Red} \quad (1)$$

Pour une solution contenant l'ion à mesurer, et en émettant l'hypothèse que l'activité de la solution interne à l'électrode spécifique est constante, le potentiel à travers la membrane de l'électrode spécifique est donné par la relation:

$$E = E_0 \pm \frac{RT}{nF} \ln A_s \quad (2)$$

R: constante des gaz parfaits (8.315 J/mol/°)

T: température en degrés Kelvin

n: valence de l'ion

As: activité de la solution étudiée

F : nombre de Faraday (96500 Coulombs)

E_o : Potentiel standard (lié à l'électrode de référence) ou potentiel normal d'oxydoréduction.

2-) Relation entre la concentration et l'activité ionique.

L'équation de NERNST indique que l'électrode ne répond pas à la concentration de la solution mais à son activité ionique (As). L'activité ionique étant la probabilité de dissociation du sel de la solution. Ce phénomène traduit une certaine dépendance des ions entre eux en solution. Dépendance qui est liée, selon les concentrations, aux interactions plus ou moins fortes existantes entre les ions.

Activité ionique, As, et concentration, Ca, sont liées par la relation:

$$A_s = \tau_a \cdot C_a \quad (3)$$

τ_a : coefficient d'activité ionique

Le coefficient d'activité ionique tend vers un lorsque la concentration tend vers zéro. Donc aux faibles concentrations, inférieures ou égales à 0.01 N, on confond activité ionique, As, et concentration de l'ion en solution, Ca. On obtient alors :

$$E = E_o \pm 2.3 \frac{RT}{nF} \log C_a \quad (4)$$

II-) LIMITES.

1-) Sensibilité de la méthode.

L'électrode spécifique permet de détecter de très faibles concentrations, ce qui s'explique par la relation semi-logarithmique entre la différence de potentiel et la concentration, mais ne permet de détecter que de faibles variations de concentrations lorsque ces dernières sont élevées.

Ceci est mis en évidence en dérivant l'équation de NERNST :

$$\frac{dE}{dC} = \pm 2.3 \frac{RT}{nF} \frac{1}{C} \quad (5)$$

2-) Paramètres influençant les mesures.

a-) La température

D'après l'équation (4), le coefficient de NERNST, ou pente de la droite d'étalonnage contient le paramètre température. en conséquence la variation de celui-ci influe sur les mesures. En effet, le fabricant ORION (1986) indique qu'une variation de 1°C occasionne une variation de 5% de la pente.

De plus, le potentiel absolu de l'électrode de référence varie également avec la température, il est donc recommandé de travailler à température constante ou de tenir compte de la température des solutions. Les électrodes peuvent être utilisées de 0 à 40°C sans destruction (ORION 1986). Dans notre cas, le laboratoire est climatisé à 20°C \pm 1°C.

b-) La force ionique

La force ionique est la quantité d'ions présents dans la solution. Afin de pouvoir comparer les échantillons entre eux et les comparer à une droite d'étalonnage, il est nécessaire que chaque solution soit de même force ionique. Pour ce faire, il est nécessaire d'utiliser un ajusteur de force ionique, dont la nature est liée à l'ion que l'on veut mesurer. Il s'agit d'un composé qui n'interagit pas avec l'ion étudié, mais qui permet de maintenir la force ionique constante. Cependant, sa quantité ne doit pas excéder cinquante fois la quantité de l'ion étudié.

c-) Interférences chimiques

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

d-) Effet de la rémanence

L'électrode présente une certaine dérive quand on passe d'une solution de forte concentration à une solution de concentration plus faible. Pour y remédier, on réalisera donc les mesures en allant des concentrations les plus faibles aux concentrations les plus élevées. Si on ne peut connaître l'ordre de grandeur, on plonge les électrodes dans une solution de faible concentration quelques secondes.

e-) Avantages

Les avantages de cette méthode sont la rapidité de la mesure et un large domaine d'étude

Bonne précision: le volume minimal de solution dans laquelle la mesure reste correcte est d'environ 5 cm³.

III-) ELECTRODES SPECIFIQUES (ORION, 1986)

1-) Electrodes du calcium, du potassium et du nitrate.

Les électrodes spécifiques du calcium, du potassium et du nitrate comprennent un corps d'électrode et un embout sensible interchangeable. Cet embout contient une solution de remplissage gélifiée, une

membrane saturée avec un liquide échangeur d'ion, et un réservoir de liquide échangeur. La membrane, saturée avec l'échangeur d'ion organique, sépare l'échantillon du liquide échangeur contenu dans l'embout, et est sélective de l'ion étudié (figure 4) . Un potentiel s'établit au niveau de la membrane, il est proportionnel à la teneur en ion X étudié dans la solution, dans la mesure où les concentrations sont inférieures à 0.01 N.

A l'électrode spécifique est associée une électrode de référence : simple jonction, à potentiel constant, pour les électrodes spécifiques du calcium et du potassium, et double jonction, à potentiel constant, pour l'électrode spécifique du nitrate.

Pour détecter l'ion potassium, l'électrode de référence est remplie de solution de NaCl 5M alors que pour détecter l'ion calcium, la solution de remplissage est une solution de KCl 4M.

Lors de la détermination de l'ion nitrate, la chambre interne de l'électrode de référence double jonction est remplie de solution ORION 90.00.02, et la chambre externe de solution ISA de NH_4SO_4 0.04M .

2-) Electrode spécifique du chlorure

L'électrode spécifique de l'élément chlorure est à membrane solide, cristalline, elle est utilisée avec une électrode de référence simple jonction remplie d'une solution ORION de référence 90.00.01.

IV-) MODE OPERATOIRE

1-) Gamme étalon

Les solutions étalons sont préparées à partir d'une solution 0.1N commercialisée par le fabricant Orion. Pour le calcium, il s'agit d'une solution de chlorure de calcium, pour le chlorure d'une solution de chlorure de sodium, pour le potassium d'une solution de chlorure de potassium, et pour les nitrates d'une solution de nitrate de sodium.

Dans tous les cas, on réalise les solutions étalons, en procédant de la manière suivante :

solution $10^{-2}N$: 10 ml de la solution $10^{-1}N$. Complément à 100ml avec H_2O déminéralisée.

solution $10^{-3}N$: 10 ml de la solution $10^{-2}N$. Complément à 100 ml avec H_2O déminéralisée.

solution $10^{-4}N$: 10. ml de la solution $10^{-3}N$. Complément à 100 ml avec H_2O déminéralisée.

solution $5.10^{-5}N$: 5 ml de la solution $10^{-3}N$. Complément à 100 ml avec H_2O déminéralisée.

solution $10^{-5}N$: 10 ml de la solution $10^{-4}N$. Complément à 100 ml avec H_2O déminéralisée.

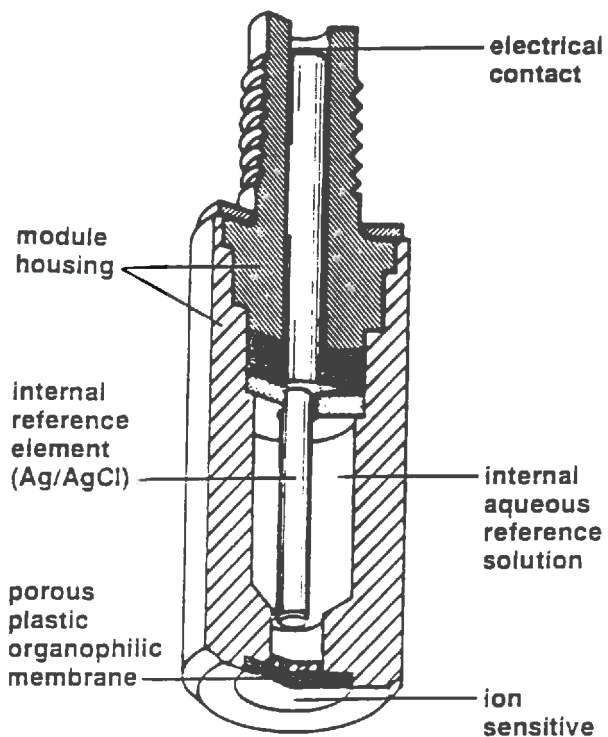


Figure n°4 : Schéma des électrodes spécifiques.

électrode à membrane ionique

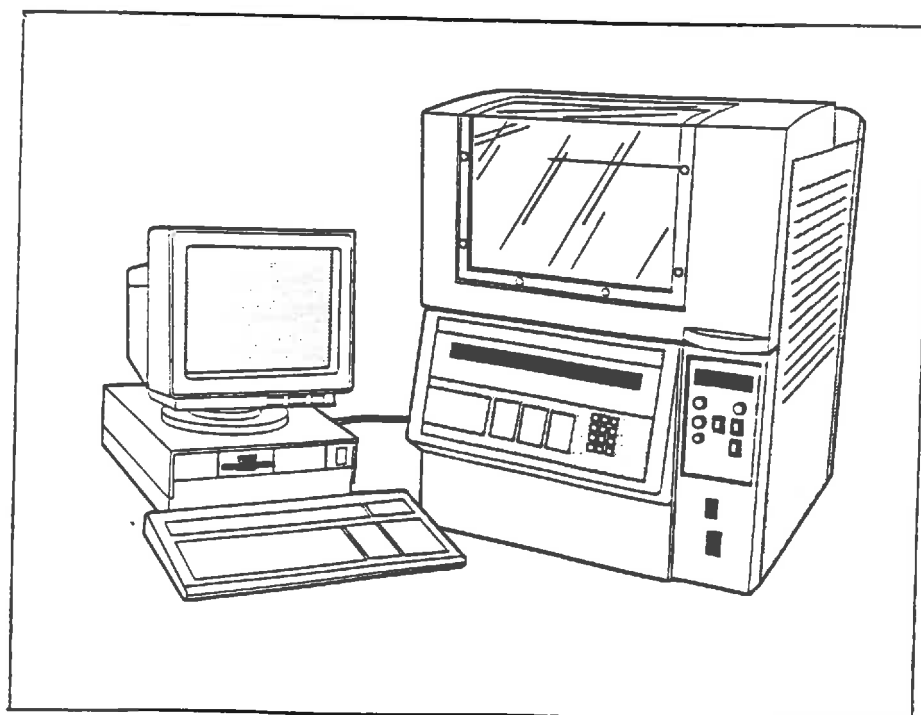


Figure n°5 : Vue d'ensemble de l'électrophorèse capillaire.

Ensemble électrophorèse capillaire (WATER-MILIPORE)

Chaque mesure est effectuée sur un volume de 20 ml, en présence de l'ajusteur de force ionique adapté à la nature de l'élément dosé.

Pour le dosage du calcium, l'ajusteur de force ionique utilisé est une solution de KCl 4M, on en ajoute 0.4 ml pour 20 ml de solution ; pour le chlorure on utilise une solution de NO_3Na 5M, on en ajoute également 0.4 ml ; pour le potassium on utilise une solution de NaCl 5M, on en ajoute aussi 0.4 ml ; et pour les nitrates on utilise une solution tampon complexe (CuSO_4 , Ag_2SO_4 , $\text{AlK}(\text{SO}_4)_2$) et on en ajoute 2ml pour 20 ml de solution .

ELECTROPHORESE CAPILLAIRE (C.I.A).

I-) PRINCIPE GENERAL.

La CIA (Capillary Ion Analyser) est un système d'électrophorèse capillaire intégrateur et automatique, piloté par ordinateur, qui permet de doser l'ensemble des ions d'un échantillon (figure 5).

1-) Description de l'appareillage.

L'appareillage est constitué de deux récipients remplis d'électrolytes. Ces deux récipients sont reliés entre eux par un capillaire en silice, recouvert extérieurement de polymère, pour faciliter sa manipulation. Ce capillaire a une longueur de 60 cm pour un diamètre interne de 75 micromètres, cette faible section permet d'éviter les dissipations de chaleur. Il s'étend donc du carrousel des échantillons jusqu'au banc optique et au carrousel de réception (figure 6).

Une alimentation haute tension permet d'appliquer une différence de potentiel pouvant atteindre 30 Kv entre les deux compartiments. Les tensions les plus couramment utilisées pour l'analyse des ions sont de l'ordre de 15 à 20 Kv, mais elles sont fonction essentiellement de la nature des ions et de leur temps de rétention.

Un détecteur à U.V est installé près de l'extrémité du capillaire. A ce niveau, le capillaire est dénudé et fait office de cellule pour le détecteur : son chemin optique fait donc 75 micromètres.

Si l'appareillage est utilisé pour l'analyse des anions, le compartiment anodique se trouve du côté du détecteur, et on utilise une alimentation négative. La situation est inversée lors de l'analyse des cations.

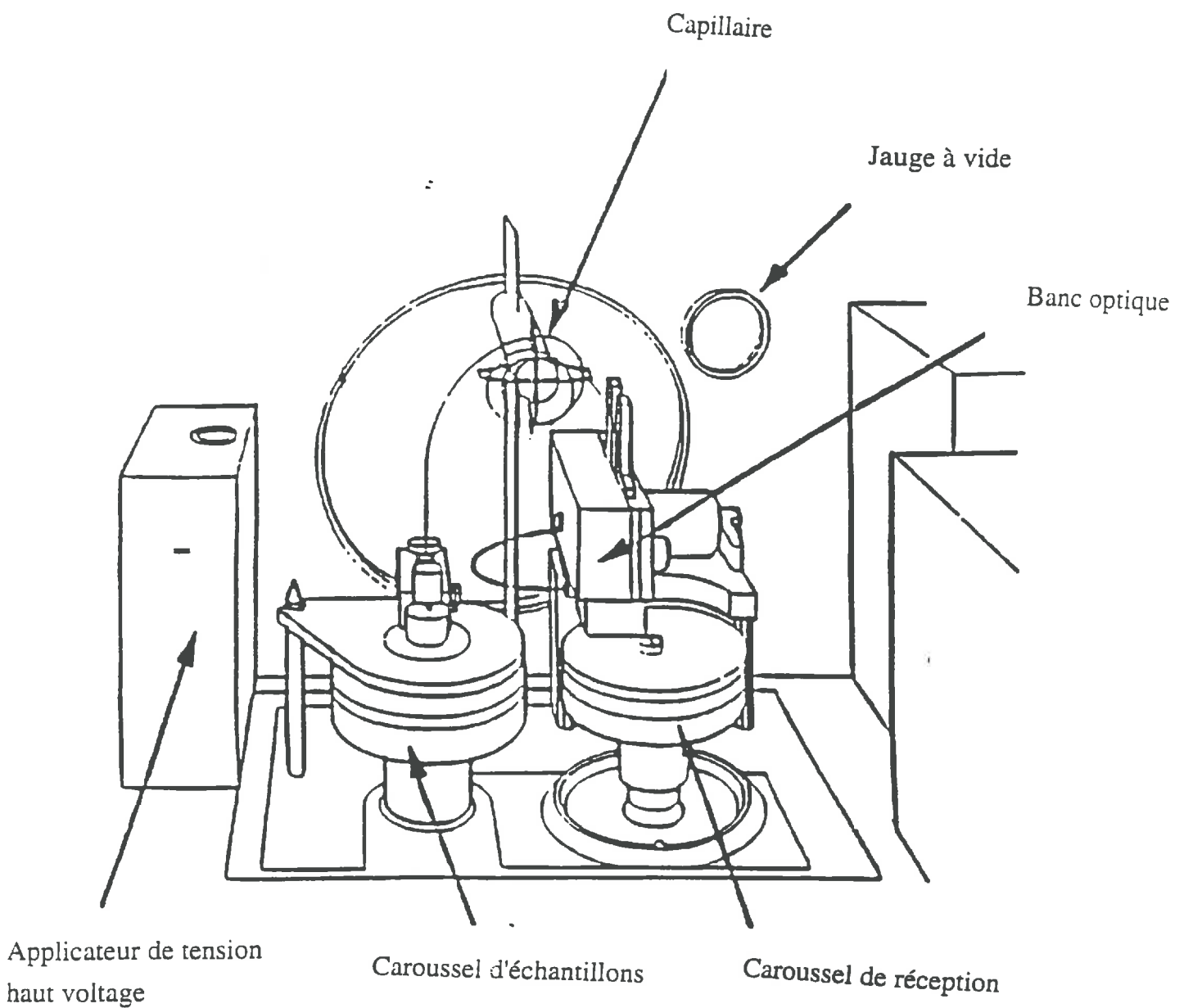


Figure n°6 : Schéma de l'appareil.

Electrophorèse capillaire (WATER)

2-) Mode d'injection.

L'électrophorèse capillaire possède un système d'injection automatique et son carrousel d'échantillons peut recevoir jusqu'à 20 échantillons.

Deux modes d'injection sont utilisables :

Mode hydrostatique : l'échantillon est surélevé de 10 cm pendant trente secondes et la solution est aspiré par siphonage.

Mode électromigration : un potentiel donné, appliqué pendant un certain temps, fait migrer les ions dans le capillaire suivant leur charge et leur mobilité.

On utilisera uniquement le mode hydrostatique qui permet d'injecter un volume d'échantillon proportionnel à la durée de surélévation donc constant et assez représentatif de l'échantillon d'origine, alors que le mode par électromigration, moins reproductible, sera utilisé pour des échantillons plus complexes et à très faibles concentrations.

Après chaque injection, une purge automatique permet de renouveler l'électrolyte dans le capillaire et d'éliminer les éléments qui s'y trouvent encore.

3-) Principe de séparation

Après l'injection de l'échantillon, le potentiel est appliqué : ce qui provoque la migration des ions, vers la cathode pour les cations et vers l'anode pour les anions (figure 7).

Les facteurs de séparation des anolytes sont : leur vitesse, leur mobilité et leur migration vers l'anode ou la cathode.

La vitesse de migration des ions dépend de la mobilité des espèces, on peut l'écrire :

$$v = \mu E \quad (6)$$

v : vitesse de l'anolyte (cm/s)

μ : mobilité de l'anolyte (cm²/V.s)

E : force du champ électrique (Volt)

avec :

$$E = \frac{V}{L} \quad (7)$$

V : voltage appliqué (volt)

L : longueur du capillaire (cm)

On peut également considérer la mobilité totale d'un anolyte :

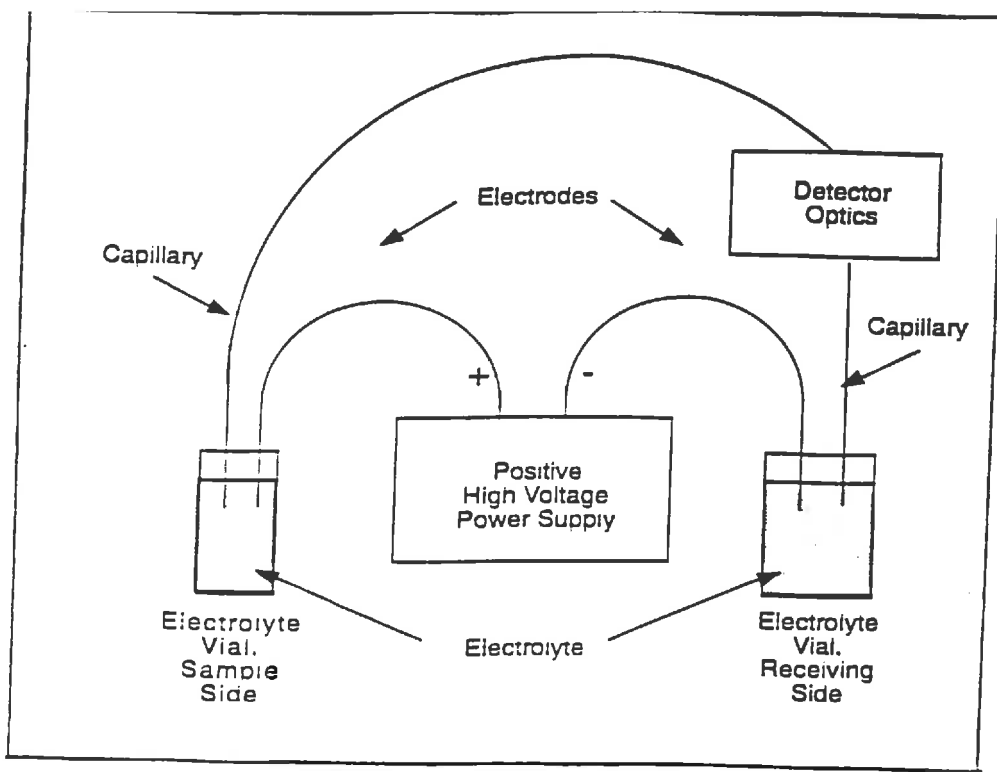


Figure n°7 : migration des ions.

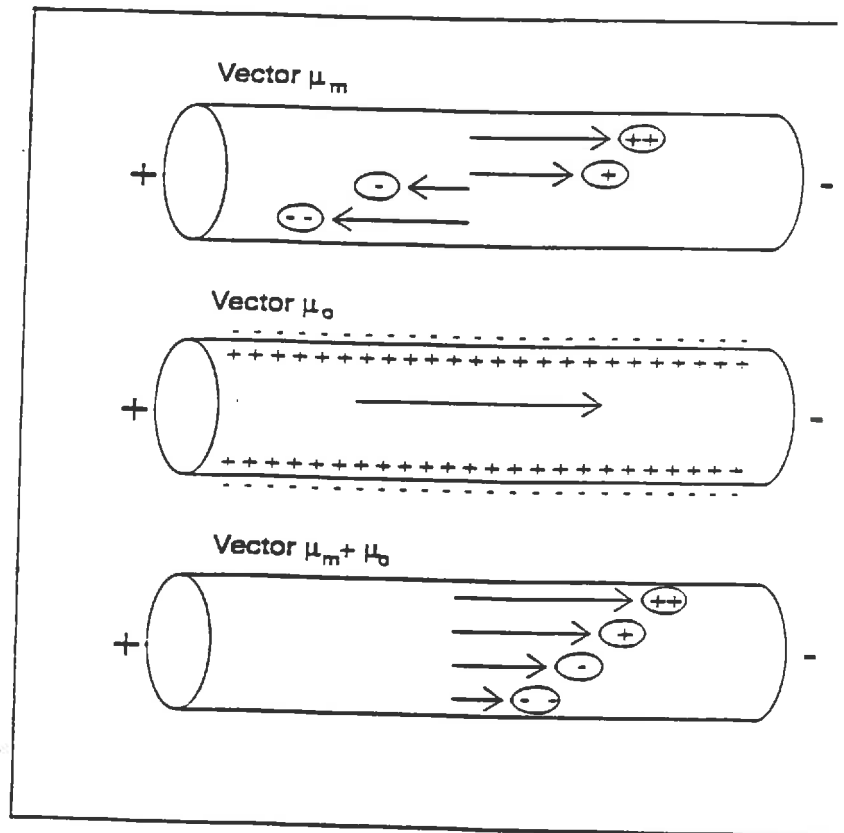


Figure n°8 : Déplacement des analytes dans le capillaire.

$$\mu = \mu_m + \mu_o \quad (8)$$

μ : mobilité de l'anolyte (cm²/s)

μ_m : mobilité électrophorétique, provoquant la séparation. Elle est fonction de la charge et du rayon moyen de la molécule.

μ_o : mobilité électro-osmotique, provoquant la migration.

A l'intérieur du capillaire, le flux électro-osmotique, lié à l'état de surface du capillaire, rallonge le temps de migration des ions, il doit donc être contrôlé. Pour se faire, on ajoute à l'électrolyte un réactif, CIA-PAKTM, ce qui permet de raccourcir les temps de migration, d'obtenir des pics extrêmement fins et d'avoir une excellente séparation (figure 8).

Ce mécanisme de séparation basé sur la mobilité des espèces a pour conséquences de modifier totalement l'ordre d'élution rencontré en chromatographie d'échanges d'ions, ce qui permet de résoudre certains problèmes que l'on peut rencontrer en chromatographie ionique comme les interférences entre les acides organiques et les ions inorganiques.

L'ordre de migration est prévisible en fonction des tables de conductivité limite équivalente, d'où la détermination aisée de la faisabilité ou non d'une séparation.

De plus les interférences entre les anions et les cations sont inexistantes et les risques de précipitation d'hydroxydes métalliques sont pratiquement nuls

Différents modes de détection sont utilisables en électrophorèse capillaire, mais c'est la détection UV inverse qui s'est avérée la plus performante pour ce type d'application.

4-) Limites et avantages.

Lors de l'analyse par électrophorèse capillaire, la séparation des ions dans le capillaire dépend des produits à analyser et de l'électrolyte utilisé. Pour obtenir une bonne séparation des éléments à doser, les facteurs à prendre en considération sont :

- Le choix des électrolytes, leur pH, leur concentration.
- La mobilité des produits à analyser.
- Les constituants organiques.
- L'ajout de substances possédant des propriétés tensioactives ou de solvants organiques.
- L'utilisation de capillaires fonctionnalisés ou remplis.
- La longueur du capillaire, son diamètre, le potentiel.

Lorsque tous ces facteurs sont appropriés à l'analyse effectuée, on peut constater que l'électrophorèse capillaire présente de nombreux avantages :

- Rapidité d'analyse.
- Facilité d'emploi.
- Grande résolution : limites de détection de l'ordre de 0.1 ppm, linéarité des réponses.

- Faible coût d'utilisation.
- Analyse sur un petit volume d'échantillon.

II-) PRINCIPE DU LOGICIEL.

L'ensemble de l'électrophorèse capillaire est pilotée par un ordinateur et équipé du logiciel Millennium 2010 qui permet l'acquisition et le traitement des données.

Pour accéder au logiciel, on allume l'ordinateur, on clique sur "*Session Manager 1.10*", et on tape le mot de passe.

Pour acquérir et traiter les données, il est nécessaire qu'un projet existe, en son absence il faudra le créer (WATER, 1993).

1-) *Composition d'un projet (WATER, 1993).*

Un projet se compose de :

L'Instrument Method : elle contient les informations qui permettent le pilotage de l'électrophorèse et l'acquisition des chromatogrammes bruts provenant du détecteur. Elle définit donc les paramètres de communication entre la chaîne chromatographique et le logiciel.

Dans notre cas, on ne dispose que d'une seule instrument méthode, car notre appareil ne possède que la fonction d'électrophorèse capillaire pour l'analyse des ions, c'est la méthode *SATIN*.

La Processing Method : elle contient les paramètres qui permettent l'intégration des chromatogrammes, la construction des courbes de calibration, et donc le traitement des données.

La Report Method : elle contient les informations nécessaires à l'impression.

La Method Set : elle regroupe l'ensemble des méthodes précédentes et permet leur enchaînement. Elle est indispensable pour pouvoir lancer une analyse dans Millenium, et elle doit contenir au moins *Instrument method*, les deux autres méthodes pouvant être momentanément mises par défaut, et modifiées plus tard lors du traitement de données (*Processing Method*), et lors de l'impression (*Report Method*).

2-) *Création d'un projet (WATER, 1993).*

Dans la majorité des cas, un projet se crée en effectuant la copie d'un projet existant, ou de celui par défaut (en place lors de l'installation de l'appareil). Par la suite on effectue des modifications. Dans notre cas nous avons procédé ainsi, et lors du traitement des données, nous avons adapté la méthode de procédure (*Processing Method*) à nos échantillons.

3-) *Lancement de l'acquisition des données.*

Après avoir accédé au projet par double clic de l'icone le représentant, il faut se placer dans le *Quick-set* qui est composé de 2 tableaux :

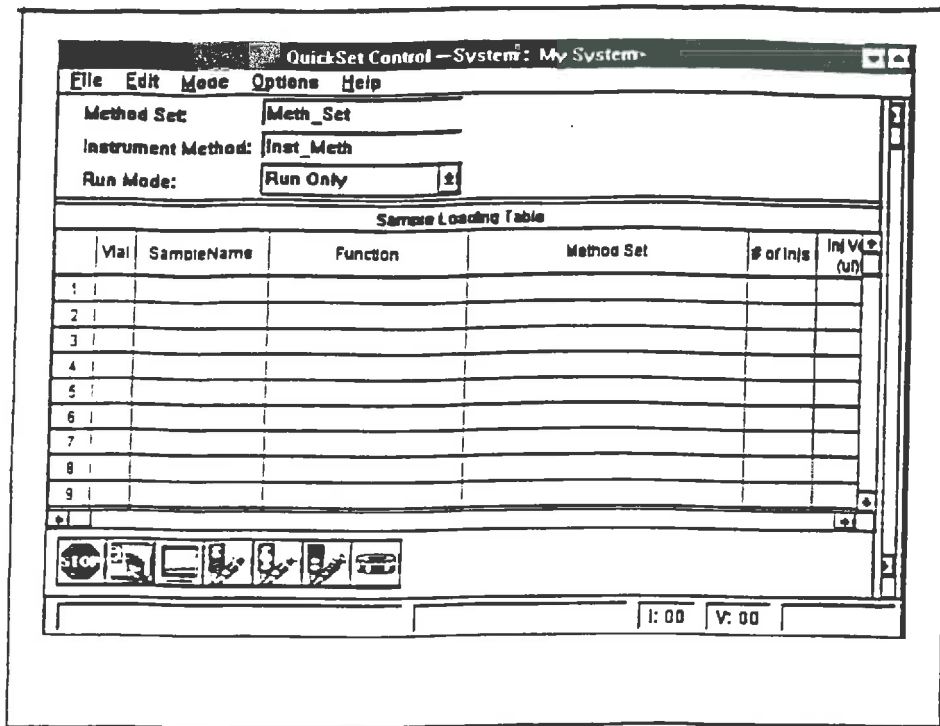


Figure n°9 : Tableau du Quick Set 1.

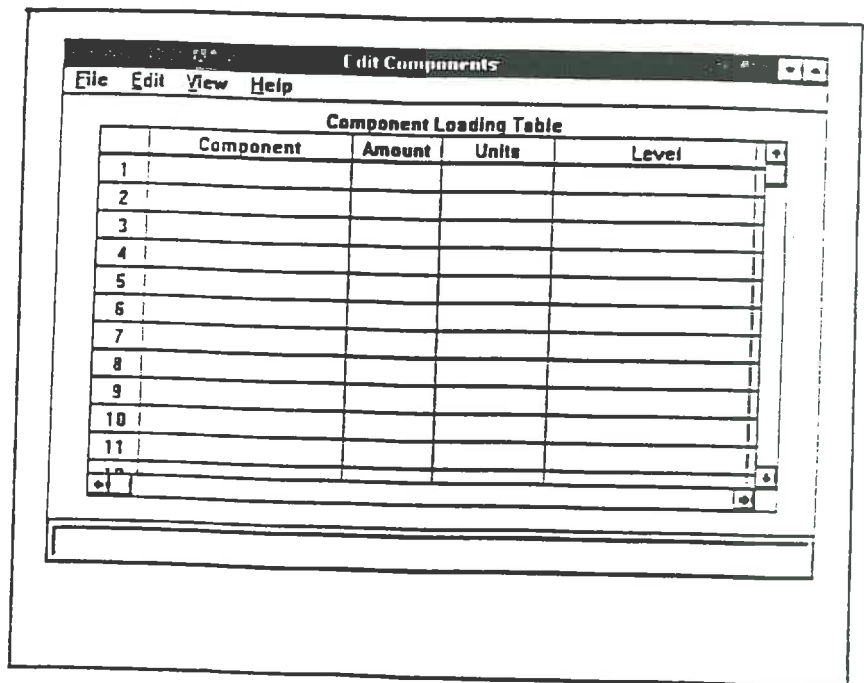


Figure n°10 : Tableau du Quick Set 2.

1-) *Samples loading table* : tableau dans lequel on indique le nom des échantillons, leur numéro, le type d'injection, la *Method Set* choisie, et la durée de l'enregistrement (figure 9).

2-) *Amount* : tableau dans lequel on indique le nom des composés des standards, leurs concentrations et leur unité (figure 10).

Dans le *Quick Set*, on doit également indiquer le mode d'acquisition et le type de séries.

Modes d'acquisition :

Run Mode : enregistrement seul.

Run Mode and Process : enregistrement et traitement.

Run Mode and Report : enregistrement et impression.

types de séries :

Sample Set : lancement de l'ensemble du carrousel

Single Sample : lancement d'un échantillon

Lorsque tout est rempli, on donne la main à l'appareil en cliquant sur l'icône, on donne un nom à l'acquisition et on appuie sur la *Start* de la C.I.A., l'acquisition est lancée.

Au cours de l'acquisition, on peut visionner l'électrophérogramme et arrêter l'électrophorèse capillaire en cours de dosage, si l'on constate une anomalie.

4-) *Traitement des résultats*

Lorsque toutes les données sont enregistrées, on peut effectuer le traitement des résultats. Pour cela, on utilise une méthode de procédure. Initialement cette méthode est copiée par défaut dans notre projet, et lors du traitement des données on doit l'adapter à nos échantillons. Pour réaliser ces modifications, on se base sur les électrophérogrammes des standards, et on adapte certains paramètres, comme :

L'aire minimum au niveau de laquelle un pic est détecté.

La hauteur minimum au niveau de laquelle un pic est détecté.

Le filtre : il prend en compte la largeur des pics, par défaut on indique la valeur 2.

Le seuil ou "*Threshold*" : il donne le changement de pente au début et à la fin des pics, il peut varier de 1 à 999999, et sa valeur par défaut est de 125. Dans l'ensemble, cette valeur doit être suffisamment élevée afin de cacher le bruit du détecteur

Toutes ces données sont enregistrées dans la table d'intégration (figure 11), où on indique aussi la période de l'enregistrement des données durant laquelle on souhaite analyser, intégrer les pics, et où on indique également le mode d'intégration choisit ("*valley to valley*", "*Force Peak*", etc...).

Dans la méthode de procédure, on doit également remplir le tableau des composés, dans lequel on indique : le nom du composé, son temps de rétention, la fenêtre acceptable autour du temps de rétention, la réponse choisie pour la calibration (aire ou hauteur), et le type de courbe de calibration utilisé (passant par l'origine ou non).

LC Processing Method Untitled

Minimum Area	172254.	Minimum Height	8529.
Filter	2.04	Threshold	138.

Integration Event Table

	Start (min)	Event	Value	Stop (min)				
1	0.000	Inhibit Integration		3.000				
2	3.000	Valley-to-Valley		10.000				
3	10.000	Force Peak						
4								
5								
6								
7								
8								

The screenshot shows a software window titled "Review Method: Project Demo" with a menu bar (File, Edit, View, Plot, Options, Windows, Applications, Help). Below the menu bar, the text "LC Processing Method DefaultCh2" is displayed. There are four input fields for parameters: "Minimum Area" (0.), "Minimum Height" (0.), "Filter" (27.), and "Threshold" (1000.). Below these fields is the "Integration Event Table" header. The table has columns for "Start (min)", "Event", "Value", and "Stop (min)". The table body contains 17 empty rows, numbered 1 through 17. At the bottom of the window, there is a button labeled "Create or modify Calibration Curves".

Figure n° 11 : Tableau d'intégration.

Lorsque tous ces tableaux sont remplis, on peut effectuer la calibration, c'est à dire l'étalonnage à l'aide des standards.

La calibration terminée, on peut visualiser les courbes d'étalonnage et disposer de leur expression numérique.

Par la suite, on procède à la quantification des éléments dans chaque échantillon. Pour cela on appelle l'échantillon choisit et on ouvre notre méthode de procédure adaptée à l'aide des standards

III-) MODE OPERATOIRE.

Notre étude a porté uniquement sur les anions, et dans toutes les manipulations on utilisera de l'eau ultra pure (eau Milli Q, 18.2 mW)

1-) Préparation des standards.

Pour effectuer la calibration de l'appareil, on réalise des solutions étalons contenant un échantillon représentatif des ions que l'on veut doser. Pour l'étude des anions, nous nous sommes intéressés aux éléments suivant : chlorures, sulfates, nitrites, et nitrates.

Les solutions étalons initiales servant à préparer les standards sont des solutions de Na_2SO_4 , NaNO_3 de concentration 1.000 ± 0.003 g/l en anion (Standal), une solution de KCl de concentration 1.000 ± 0.003 g/l en cation (Standal) et une solution de NaNO_2 de concentration 0.100 ± 0.001 mol/l (ORION).

On réalise les solutions standards en procédant de la manière suivante :

Solution 1 : concentrations de 5 mg/l en SO_4^{2-} , NO_3^- , de 4.54 mg/l en Cl^- , et de 4.6 mg/l en NO_2^- .

Procédure : 0.5 ml de toutes les solutions standards initiales ; complément à 100 ml avec H_2O .

Solution 0 : concentrations de 2.5 mg/l en SO_4^{2-} , NO_3^- , de 2.27 mg/l en Cl^- , et de 2.3 mg/l en NO_2^- .

Procédure : diluer la solution 1, 25 ml et complément à 50 ml avec H_2O .

Solution 2 : concentrations de 10 mg/l en SO_4^{2-} , NO_3^- , de 9.08 mg/l en Cl^- , et de 9.2 mg/l en NO_2^- .

Procédure : 1 ml de toutes les solutions standards initiales ; complément à 100 ml avec H_2O .

Solution 3 : concentrations de 20 mg/l en SO_4^{2-} , NO_3^- , de 18.16 mg/l en Cl^- , et de 18.4 mg/l en NO_2^- .

Procédure : 2 ml de toutes les solutions standards initiales ; complément à 100 ml avec H_2O .

Solution 4 : concentrations de 30 mg/l en SO_4^{2-} , NO_3^- , en 27.24 mg/l en Cl^- , et de 27.6 mg/l en NO_2^- .

Procédure : 3 ml de toutes les solutions standards initiales ; complément à 100 ml avec H₂O

2-) Préparation de l'électrolyte.

Préparation de la solution mère de chromate 0.1 M.

Dans une fiole de 250 ml :

Verser 5.8525 gr de Na₂CrO₄ Tétrahydrate.

Mettre environ 100 ml d'eau ultra pure.

Verser 17 ml d'H₂SO₄ 10 mM (préparée en diluant 560 ml de H₂SO₄ de qualité ULTREX dans 1 l d'eau).

Compléter à 250 ml par H₂O

Préparation de l'électrolyte 5mM Chromate, 0.5 mM OFM-BT.

Dans une fiole de 200 ml :

Verser 9 ml de chromate 0.1 M.

Verser 5 ml d'OFM-BT.

Compléter à 200 ml par H₂O.

Filtrer sous vide, sur membrane type G.V 0.22 mm, laisser l'électrolyte dégazer 5 mn sous vide.

L'électrolyte ainsi obtenue à un pH stable de 7.8, en dessous de 7, il précipite. Son utilisation peut s'étendre jusqu'à pH 11.

3-) Préparation du carrousel d'échantillons.

Le carrousel d'échantillons peut contenir une série de 20 échantillons. On place en tête les standards réalisés précédemment, en les classant suivant leurs concentrations croissantes, puis on met les échantillons à analyser. Ce carrousel dispose également de 4 réservoirs en son centre que l'on remplit d'électrolyte. Ils sont utilisés pour effectuer les purges du capillaire entre chaque injection d'échantillons.

4-) Préparation du chromatographe automatique.

Lorsque le carrousel d'échantillons et le carrousel de réception, contenant 4 réservoirs d'électrolyte et une poubelle, sont prêts, on peut les mettre dans l'appareil (figure 5 et 6), pour cela appuyer on fait descendre les supports des carrousels (appuyer sur *Down*), et on ouvre la porte (appuyer sur *Door Open*). Ensuite on place les carrousels.

5-) Mise en condition du capillaire.

Chaque jour avant utilisation de l'appareil, on doit effectuer une purge du capillaire. Cette opération s'effectue de façon semi-manuelle à partir de 3 flacons situés à la base du capillaire qui sont remplis avec les solutions suivantes:

-flacon situé le plus au fond : KOH 0.1 N.

-flacon central : H₂O

-flacon à l'avant : électrolyte fraîchement préparé.

Par la suite, on réalise 4 purges successives, d'une durée de 2 mn chacune : KOH, eau Milli Q, électrolyte et enfin eau Milli Q. Pour réaliser ces purges, on place à chaque fois le capillaire dans le flacon contenant la solution de rinçage désirée, puis on appuie sur *Purge* et *Manual*.

6) Programmation du passeur automatique.

Après la purge et avant de lancer l'électrophorèse, on ne doit pas oublier de remettre la poubelle du carrousel de réception en position 5, et de placer le capillaire dans le carrousel d'échantillons au niveau de la position *Home*.

On programme les échantillons les uns après les autres, en réglant les paramètres suivant :

Numéro de l'échantillon.

Nombre de répétition : on indique 0 si le carrousel n'est pas totalement rempli et qu'à un certain numéro d'échantillon on n'a pas de mesure à effectuer.

Durée de l'injection : dans notre cas on a réglé ce paramètre à 30 secondes pour tous les échantillons.

Durée de l'analyse : elle dépend du temps de rétention des éléments étudiés, dans notre cas on a réglé ce paramètre à 6 minutes pour l'ensemble des échantillons.

Voltage utilisé : fixé pour nos échantillons à 15 Kv.

On doit également régler pour l'ensemble des échantillons :

Le mode d'injection : hydrostatique.

La purge : automatique entre chaque mesure.

On doit aussi annuler la sécurité, pour cela on appuie sur *Sample* , on compose le code 96, puis le 0 (la valeur 1 indiquant que la sécurité est en place) et pour retourner au programme, on appuie sur *Display*.

Lorsque tous ces paramètres sont réglés, l'appareil attend qu'on lui donne la main.

ORIGINE DES ECHANTILLONS

I-) ECHANTILLONS DE POUDRE VEGETALE

Les échantillons de poudre végétale proviennent d'une étude qui a été effectuée sur une parcelle agricole en zone de maraîchage. Dans ce qui suit nous présentons brièvement le dispositif.

1-) Présentation du dispositif.

a-) La parcelle d'étude

La parcelle expérimentale (annexe 2) a une superficie de 3 hectares et se situe sur la commune du Cailar, dans le département du Gard. Au sein de celle-ci a été retenue une sous parcelle de 2500 m², soit 25 m par 100 m, sur laquelle un dispositif expérimental a été installé. La culture est réalisée sur paillage plastique en polyéthylène noir microperforé, ce qui limite le développement des mauvaises herbes et ralentit le refroidissement du sol.

b-) Les cycles culturaux

Le cycle cultural annuel est composé de 3 cultures :

La culture de printemps (avril-mai) est composée de 4 variétés : laitue pommée, batavia, chicorée frisée et scarole, qui sont plantées sur 4 rangées, ce qui représente une densité de 7 salades au mètre carré.

La culture d'été est composée de 3 variétés : chicorée frisée, batavia et laitue, qui sont plantées sur 3 rangées, ce qui représente une densité de 5 salades au mètre carré.

La culture d'automne-hiver est composée d'une seule variété, la chicorée frisée, plantée sur 3 rangs, ce qui représente une densité de 5 salades au mètre carré.

Le calendrier suivi lors des cycles culturaux a été le suivant :

Cycle	Plantation	Récolte	Durée en jours
1 ^{er}	25/03/93	17/05/93	53
2 ^{ème}	06/06/93	14/07/93	38
3 ^{ème}	06/10/93	28/02/94	145

c-) Echantillonnage des salades.

Les dates de prélèvements des échantillons de salades sont donnés pour 1993, dans le tableau 1.

Compte-tenu de l'étude conduite en 1992 (FALQUET, 1992), l'échantillonnage, pour 1993, a été en moyenne de 4 salades, toutes espèces confondues.

Après chaque prélèvement, l'échantillon de salade est lavé, afin d'éliminer toute la terre, essuyé, pesé et découpé. Il sera mis à sécher à 70°C environ une semaine. Après refroidissement, il est pesé sec et broyé en une très fine poudre. A partir d'une aliquote de cette poudre, on effectuera les dosages d'ions désirés.

	Culture		
	1 ^{ère}	2 ^{ème}	3 ^{ème}
08/04/93	17/06/93	21/10/93	
16/04/93	25/06/93	27/10/93	
23/04/93	02/07/93	25/11/93	
30/04/93	09/07/93	03/12/93	
07/05/93		22/12/93	
14/05/93		26/12/94	
		17/02/94	

Tableau 1 : Calendrier des prélèvements de salades.

d-) Le suivi de la culture.

Il a été effectué pour chaque échantillon, feuilles et racines, des prélèvements de l'année 1993, le dosage des ions suivants : chlorures, sulfates, nitrites et nitrates

2-) Modes d'extraction.

Le mode d'extraction des ions du végétal dépend de la méthode d'analyse choisie. Dans notre cas, on s'est intéressé aux éléments solubles, dosés à l'électrophorèse capillaire et à l'électrode spécifique.

a-) Extraction à l'eau.

La poudre végétale est séchée à l'étuve pendant 24 heures à une température de 70°C.

On pèse environ exactement une masse de 200 mg de cette poudre végétale. On la place dans un flacon.

On ajoute 100 ml d'eau Milli Q, pour permettre le dosage à l'électrophorèse capillaire.

On agite les échantillons ainsi préparés pendant une heure.

Après décantation, on filtre la solution sur filtre papier lent (Whatman 5).

Les éléments sont ensuite dosés, dans le filtrat, à l'électrode spécifique et à l'électrophorèse capillaire.

II-) ETUDE D'ECHANTILLONS D'EAU.*1-) La zone d'étude.*

Les échantillons étudiés proviennent de la région de Codognan (Gard), où se trouvent une zone d'épandage, utilisée par l'entreprise S^T MAMET, et une gravière (carte 2).

Ces échantillons d'eau proviennent des nappes phréatiques de la région de la Vistrenque, et ils ont été prélevés dans des puits, en mai 1994.

2-) Dosage des ions dans l'eau.

Pour doser les ions se trouvant dans l'eau, le seul problème rencontré a été celui de la concentration trop élevée, et dans ce cas nous avons été amenés à diluer

Dans l'eau, on dose donc les ions totaux : chlorures, sulfates, nitrates.

PRESENTATION ET ANALYSE DES RESULTATS

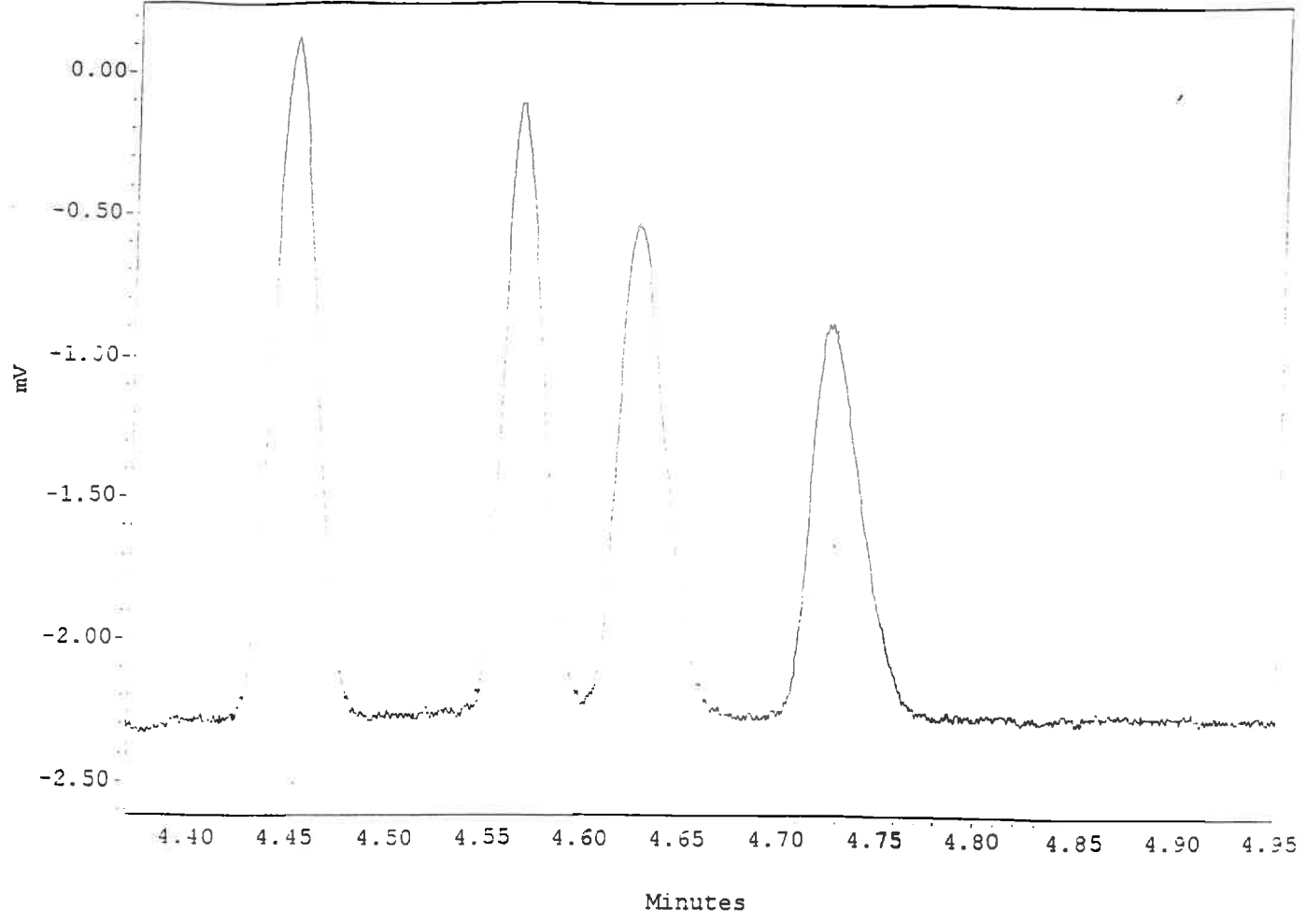


Figure n° 12 : Electrophérogramme du standard 1.

Chapitre III

ELECTROPHORESE CAPILLAIRE.

MISE AU POINT METHODOLOGIQUE

I-) MISE AU POINT METHODOLOGIQUE DU TRAITEMENT DES DONNEES.

Lors de cette étude, nous avons dans un premier temps analysé au niveau d'un électrophérogramme (figure 12), obtenu à partir de standards, qu'elle était la méthode d'intégration des pics qui était le mieux adaptée. Pour ce faire, nous avons effectué l'étalonnage, à partir des 5 standards, en considérant le mode d'intégration par surface de pics, puis le mode d'intégration par hauteur de pic. Dans les deux cas, la régression linéaire liant les deux variables, *concentration de standard - réponse de l'appareil*, a été calculée en forçant puis en ne forçant pas la droite d'étalonnage à passer par l'origine. Les expressions numériques pour chaque élément et pour chaque cas considéré sont données dans les tableaux 2, 3, 4 et 5.

Pour comparer ces méthodes, on a analysé les valeurs des coefficients de corrélation, r^2 , et celles des ordonnées à l'origine obtenues.

On peut remarquer que pour les droites d'étalonnage ne passant pas par l'origine, les valeurs du r^2 ont tendance à diminuer en fonction de la nature de l'élément et de son temps de rétention, du chlorure au nitrate (tableaux 4 et 5). Les ordonnées à l'origine, qui sont parfois importantes, peuvent poser un problème lors des mesures de faibles concentrations.

En ce qui concerne le mode d'intégration, que l'on utilise pour l'étalonnage une équation de la forme $Y = a X$, ou $Y = a X + b$, on remarque que l'intégration par la hauteur du pic donne des résultats de moins bonne qualité (tableaux 3 et 5). Les équations obtenues ont des valeurs de r^2 variables s'éloignant de celle requise 1, et décroissantes. Lorsqu'on considère l'aire d'un pic, les équations obtenues ont des valeurs de r^2 très

Tableau 2 : Intégration en mesurant l'aire du pic et calibration en passant par le point origine.

ELEMENTS	EQUATION	r^2
Chlorure	$Y = 690 X$	0.999
Sulfate	$Y = 506 X$	0.999
Nitrite	$Y = 581 X$	0.997
Nitrate	$Y = 429 X$	0.999

Tableau 3 : Intégration en mesurant la hauteur du pic et calibration en passant par l'origine.

ELEMENTS	EQUATION	r^2
Chlorure	$Y = 563 X$	0.996
Sulfate	$Y = 369 X$	0.945
Nitrite	$Y = 264 X$	0.877
Nitrate	$Y = 176 X$	0.749

Tableau 4 : Intégration en mesurant l'aire du pic et calibration en ne passant pas par l'origine.

ELEMENTS	EQUATION	r^2
Chlorure	$Y = 695 X - 12.4$	0.999
Sulfate	$Y = 495 X + 221$	0.999
Nitrite	$Y = 598 X - 329$	0.998
Nitrate	$Y = 434 X - 99$	0.997

Tableau 5 : Intégration en mesurant la hauteur du pic et calibration en ne passant pas par l'origine.

ELEMENTS	EQUATION	r ²
Chlorure	$Y = 540 X + 446$	0.999
Sulfate	$Y = 315 X + 1014$	0.991
Nitrite	$Y = 211 X + 1030$	0.971
Nitrate	$Y = 130 X + 970$	0.929

éléments	$Y = a X + b$	$Y = a X$
Chlorure	$Y = 755 X + 137$ $r^2 = 0.999$	$Y = 766 X$ $r^2 = 0.998$
Sulfate	$Y = 548 X + 148$ $r^2 = 0.998$	$Y = 569 X$ $r^2 = 0.996$
Nitrite	$Y = 487 X + 259$ $r^2 = 0.996$	$Y = 529 X$ $r^2 = 0.995$
Nitrate	$Y = 465 X + 175$ $r^2 = 0.997$	$Y = 468 X$ $r^2 = 0.995$

Tableau 6 : Comparaison $Y = a X + b$ et $Y = a X$

éléments	équation	Tobs origine	Tobs pente	Probabilité	T Student
Chlorure	$Y = 0.954 X + 3$ $r^2 = 0.999$	3.66	2.39	99.5 %	3.35
Sulfate	$Y = 1.023 X + 1.54$ $r^2 = 0.999$	0.85	1.025	99.5 %	3.35
Nitrate	$Y = 0.993 X + 2.28$ $r^2 = 0.998$	7.34	0.794	99.5 %	3.35

Tableau 7 : $A = F(B)$ - Test de Student

proches de 1 et qui ne varient pas. Ceci s'explique par le fait que lorsqu'on intègre un pic en considérant sa hauteur, il n'est pas toujours facile de vraiment prendre sa plus grande hauteur, alors que pour mesurer son aire, le problème ne se pose pas.

Pour une série de 9 échantillons nous avons calculé leur concentration en considérant d'une par la droite d'étalonnage suivant la forme $Y = a X$ et d'autre par la forme $Y = a X + b$ (tableau 6). On a effectué une analyse statistique à partir des résultats obtenus en calculant l'expression numérique de la relation (10) pour le chlorure, le sulfate et le nitrate.

$$\text{Série A} = F(\text{Série B}) \quad (10)$$

Série A : valeurs calculées avec $Y = a X$

Série B : valeurs calculées avec $Y = a X + b$

Le T observé indique que la pente n'est pas statistiquement différente de 1 (annexe 1) puisque la valeur est dans tous les cas inférieure au T de Student théorique. En revanche l'ordonnée à l'origine est significative (annexe 1) pour deux éléments : le chlorure et le nitrate où la valeur du T observé est supérieure à la valeur du T de Student (tableau 7).

Le nombre d'échantillons qui a permis de faire les tests n'est cependant pas suffisamment important pour tirer des conclusions générales. Il sera donc nécessaire de reprendre l'analyse sur une série plus importante, afin de confirmer ou d'infirmer les résultats.

Lors de la suite de l'étude nous utiliserons l'intégration des pics par la mesure de leur aire et, pour l'étalonnage, dans un premier temps nous considérerons que la droite passe par l'origine quelque soit l'élément analysé.

II-) REPRODUCTIBILITE.

Afin d'effectuer les tests de reproductibilité des mesures, nous avons considéré 3 types d'échantillons :

1-) *Une solution synthétique* contenant 15 mg/l de chlorure, 10 mg/l de sulfate, 9.2 mg/l de nitrites et 10 mg/l de nitrates.

2-) *Un échantillon d'eau* (provenant de la région de Codognan - 30) dont les concentrations en chlorure et en nitrates, de valeurs respectives 77.2 mg/l et 60 mg/l, ont été mesurées à l'électrode spécifique.

Tableau 8 : Reproductibilité de solutions synthétiques .

ELEMENTS	MOYENNE mg/l	E.T	C.V %	E.V %
Chlorures	14.964	0.128	0.85	0.128
Sulfates	9.934	0.063	0.63	0.66
Nitrites	9.308	0.045	0.48	1.17
Nitrates	9.59	0.064	0.67	4.1

Tableau 9 : Reproductibilité d'échantillons d'eau.

ELEMENTS	MOYENNE mg/l	E.T	C.V %	E.V %
Chlorure	79.4	1.29	1.7	2.8
Sulfate	180.9	1.86	1.03	/
Nitrate	60.58	1.31	2.2	1

Tableau 10 : Reproductibilité d'échantillons de végétal .

ELEMENTS	MOYENNE mg/l	E.T	C.V %	E.V %
Chlorure	44.38	0.71	1.6	0.05
Sulfate	18.24	0.08	0.44	/
Nitrite	0.765	0.04	5.2	/
Nitrate	1.66	/	/	/

LEGENDE

E.T : Ecart Type.
C.V : coefficient de variation.
E.V : Ecart à la valeur vraie.

3-) *Un échantillon provenant d'une extraction d'un végétal* (salades provenant de la région de Cailar - 30) dont les concentrations en chlorure et en nitrates, de valeurs respectives 44.4 mg/l et 2 mg/l, ont été mesurées à l'électrode spécifique.

Les résultats obtenus à l'électrophorèse capillaire sont regroupés dans les tableaux 8 , 9 et 10.

Dans le cas de la solution d'extraction des éléments solubles du végétal, on observe probablement une activité biologique intense qui transforme rapidement les nitrates en nitrites, qui en principe devraient être absent de la solution. Lorsque l'on effectue le dosage à l'électrode spécifique on doit ajouter à la solution d'extraction un inhibiteur biologique qui bloque momentanément cette activité. Or ce composé contient du chlorure qui lors du dosage de celui-ci à l'électrophorèse capillaire se serait ajouté à la quantité présente dans l'échantillon.

Nous avons donc considéré que la totalité de l'azote nitrique venait des nitrates, ce qui n'est pas totalement satisfaisant.

Il sera nécessaire de vérifier l'hypothèse en réalisant une autre extraction en présence d'un inhibiteur biologique.

Exception faite du problème posé par les nitrites et les nitrates, dans la solution d'extraction du végétal, pour toutes les solutions étudiées, la reproductibilité observée est satisfaisante car les coefficients de variation sont au plus égaux à 2.2 %.

On observe néanmoins une meilleure reproductibilité, tout éléments confondus, sur les solutions étalons, car leur coefficient de variation est inférieur à 1 %. Ceci s'explique par le fait que seuls les éléments étudiés se trouvent présents en solution et donc qu'il n'y a aucun élément extérieur pour perturber la mesure.

L' écart à la valeur vraie est plus ou moins élevé selon l'élément considéré. En effet, on peut observer que cet écart à la valeur vraie augmente lorsque l'on passe des chlorures, aux sulfates, aux nitrites et aux nitrates, dans le cadre de la solution synthétique. Mais ceci n'est plus vrai au niveau des échantillons (Tableau 10).

III-) VALIDITE DE LA METHODE.

Afin de vérifier la validité de la méthode de l'électrophorèse capillaire, nous avons analysé deux séries d'échantillons à l'électrophorèse capillaire et à l'électrode spécifique, cette dernière étant prise comme mesure de référence. La première série de 25 échantillons se compose d'eau prélevée en différents points de la nappe (carte 2), la deuxième série de 30 échantillons résulte de l'extraction des éléments solubles dans l'eau de poudre végétale de salade.

Par la suite nous avons établi pour les chlorures et les nitrates, des relations entre les résultats obtenus à l'électrophorèse capillaire et ceux obtenus à l'électrode spécifique (figures 13a et 13b ; tableaux 11 et 12), et nous avons effectué une étude statistique.

Cette relation est du type :

$$Y = a X + b$$

où : Y = résultats de l'électrophorèse capillaire.

X = résultats de l'électrode spécifique.

a et b étant les paramètres d'ajustement.

Nous avons testé si l'ordonnée à l'origine, b, était statistiquement significativement différente de zéro (annexe 1) et si la pente, a, était statistiquement significativement différente de 1 (annexe 1).

Dans un premier temps, nous avons effectué l'analyse en considérant les deux séries d'échantillons séparément puis en les regroupant. Les résultats obtenus sont portés au tableau 11. Leur analyse montre que les T observés pour la pente et pour l'ordonnée à l'origine sont inférieurs aux T de Student théoriques, pour une probabilité de 99.5 %. Donc statistiquement les deux méthodes ne sont pas significativement différentes. En conséquence, nous pouvons exprimer les relations suivant l'équation générale :

$$Y = a X$$

Dans ce cas, la pente s'exprime de la manière suivante :

$$a = \frac{\sum x^2}{\sum xy}$$

Les expressions numériques sont données au tableau 12.

IV-) DISCUSSION - CONCLUSION.

1) Lorsqu'un échantillon est fortement concentré en un élément par rapport à un autre, les pics sont très mal séparés (figure 14), et cela entraîne une mauvaise quantification des éléments. Pour obtenir une bonne séparation, on est alors conduit à diluer l'échantillon (figure 15). Or dans ce cas, il peut arriver qu'un élément se trouve en concentration tellement faible, qu'il ne puisse être détecté après dilution. C'est le cas des échantillons B15 et B26 (eau de nappe), pour les ions nitrates.

C.E. ELECTRODE SPECIFIQUE
CHLORURE

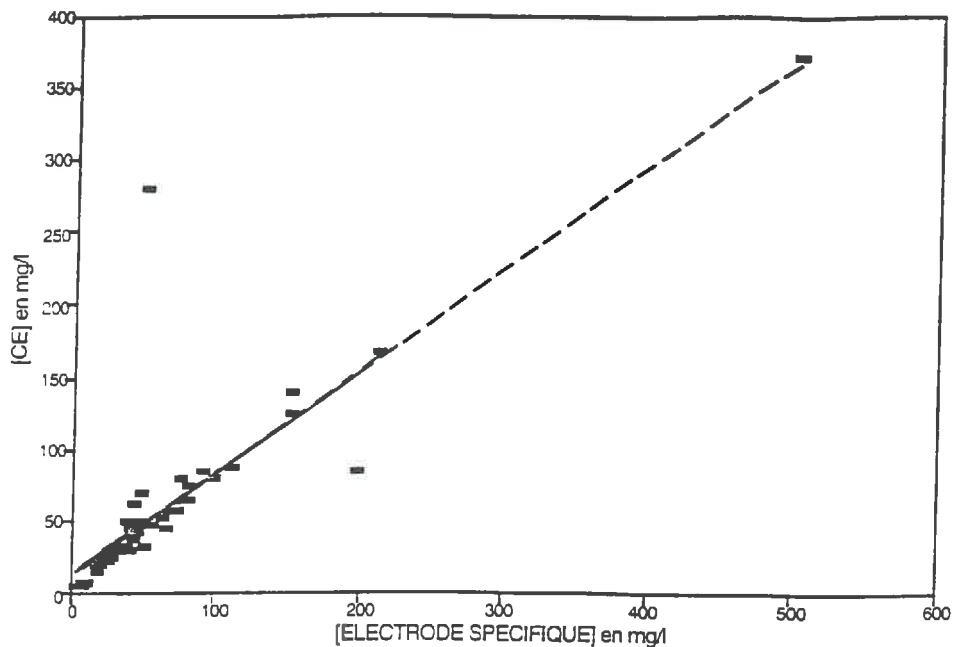
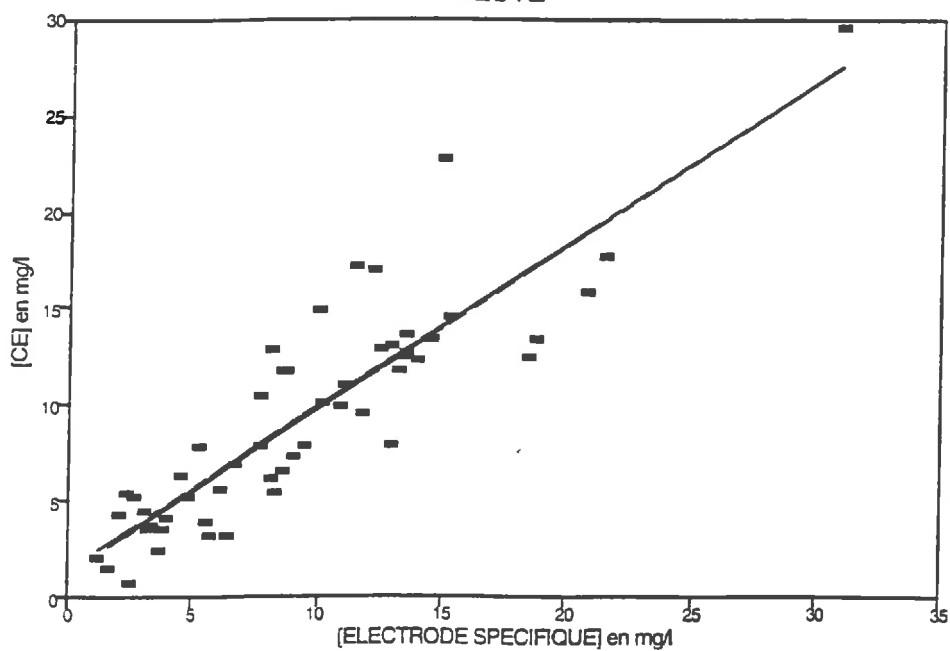


Figure n° 13a : Comparaison CE_ES pour les chlorures.

Figure n° 13b : Comparaison CE_ES pour les nitrates.

C.E. ELECTRODE SPECIFIQUE
AZOTE



échantillon	équation	T _{Obs} origine	T _{Obs} pente	Probabilité	T Student
EAU Chlorure	$Y = 0.64 x + 26.46$ $r^2 = 0.611$	1.80	$3.92 \cdot 10^{-11}$	99.5 %	2.797
EAU Nitrate	$Y = 1.04 X + 2.6$ $r^2 = 0.87$	0.63	0.87	99.5 %	2.819
SALADE Chlorure	$Y = 0.93 X + 0.61$ $r^2 = 0.77$	0.19	0.64	99.5 %	2.756
SALADE Azote	$Y = 0.71 X + 1.67$ $r^2 = 0.78$	2.27	1.07	99.5 %	2.756
EAU + SALADE Chlorure	$Y = 0.703 X + 13.25$ $r^2 = 0.70$	2.167	2.33	99.5 %	2.41
EAU + SALADE Azote	$Y = 0.84 X + 1.35$ $r^2 = 0.78$	1.96	0.64	99.5 %	2.41

Tableau 11 : Validité - Test de Student.

échantillon	équation de régression	équation calculée
EAU Chlorure	$Y = 0.64 X + 26.46$ $r^2 = 0.611$	$Y = 1.281 X$
EAU Nitrate	$Y = 1.04 X + 2.6$ $r^2 = 0.87$	$Y = 0.921 X$
SALADE Chlorure	$Y = 0.93 X + 0.61$ $r^2 = 0.77$	$Y = 1.056 X$
SALADE Azote	$Y = 0.71 X + 1.67$ $r^2 = 0.78$	$Y = 1.030 X$
EAU + SALADE Chlorure	$Y = 0.703 X + 13.25$ $r^2 = 0.70$	$Y = 1.262 X$
EAU + SALADE Azote	$Y = 0.84 X + 1.35$ $r^2 = 0.78$	$Y = 0.98 X$

Tableau 12 : Validité - abstraction de l'ordonnée à l'origine de l'équation de régression

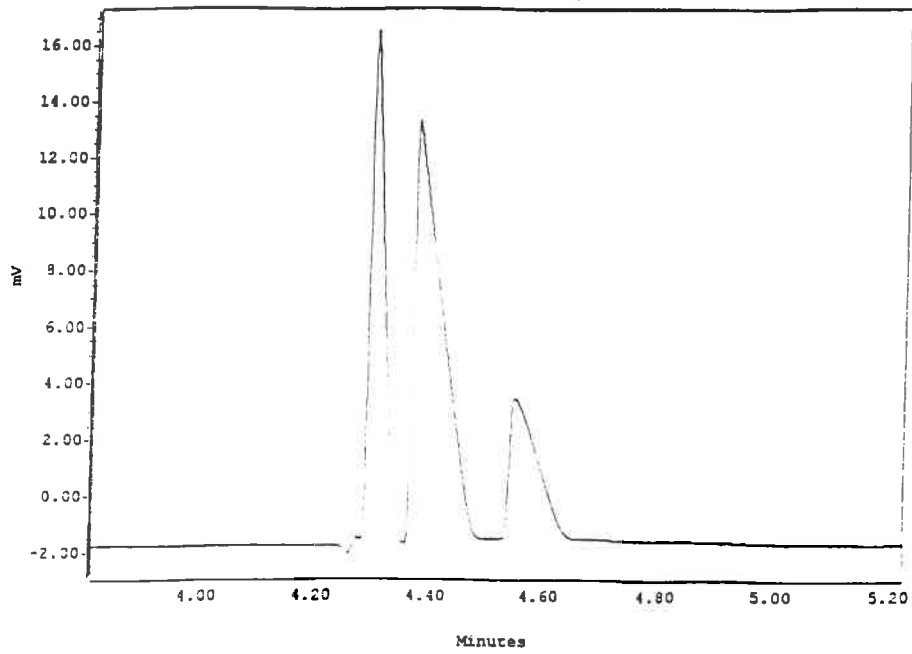


Figure n° 15 : Electrophérogramme de l'échantillon B19, dilué.

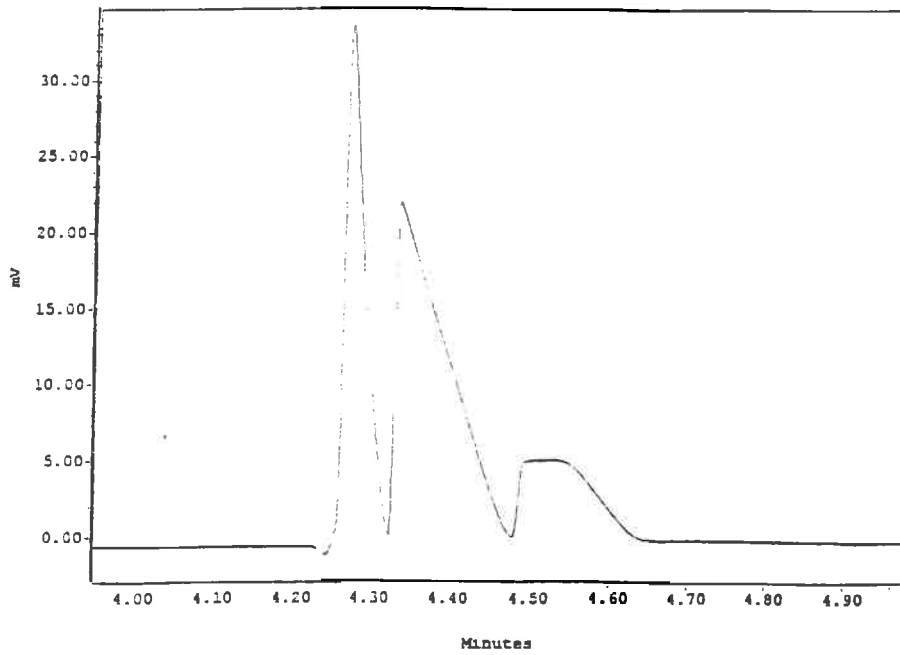


Figure n° 14 : Electrophérogramme de l'échantillon B19, non dilué.

2) Parmi les éléments solubles à l'eau, extraits de la poudre végétale, on a pu détecter les ions oxalates qui formaient un pic collé à celui des nitrates (figures 16 et 17). Pour obtenir une séparation parfaite des 2 pics, il aurait été nécessaire d'ajouter du chlorure de calcium à l'électrolyte (figure 18).

3-) L'étude méthodologique réalisée, nous a permis de mettre en évidence la performance de la méthode d'analyse par électrophorèse capillaire . En effet, nous avons noté une très bonne reproductibilité des résultats, nous avons également observé que les écarts entre les analyses par électrophorèse capillaire et celles par électrode spécifique ne sont pas significativement différents et que la durée d'analyse était assez faible, car pour obtenir un électrophérogramme, comprenant les chlorures, les sulfates, les nitrites, les nitrates et les phosphates, il ne faut que 6 minutes.

Cependant, certains points que nous avons traité mériteront d'être approfondis, tels que l'étalonnage, la performance de l'électrolyte.

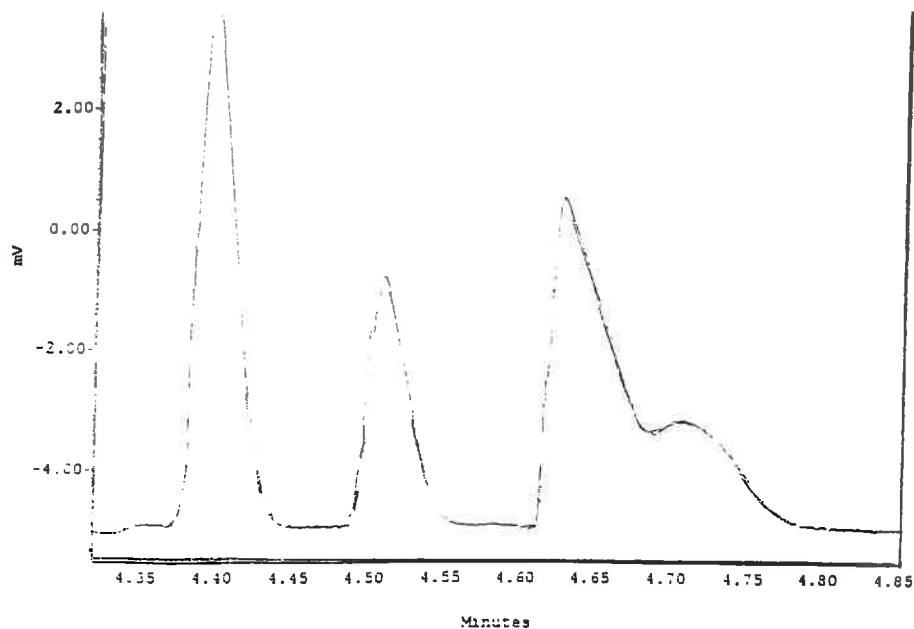
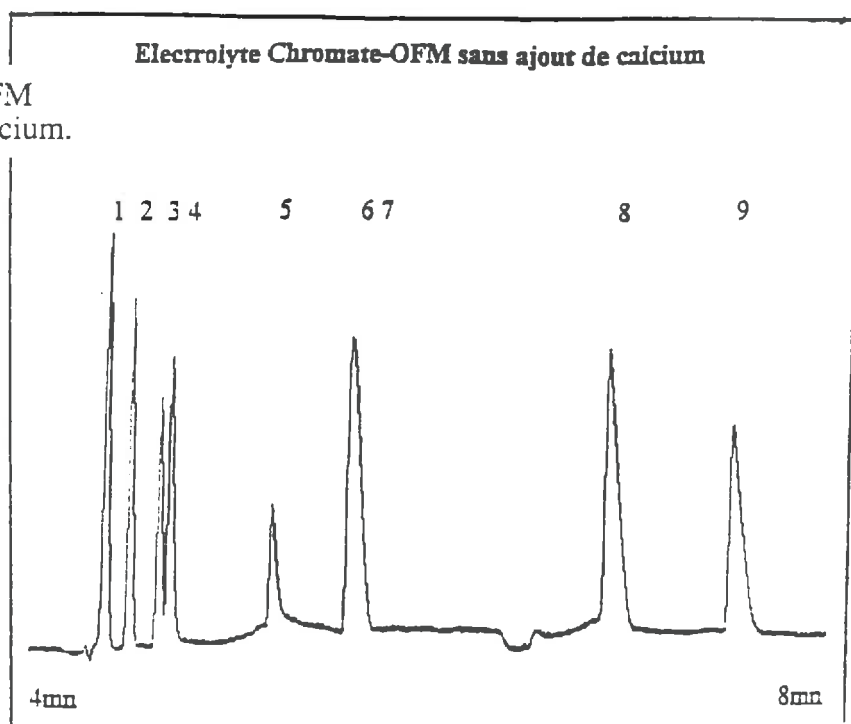
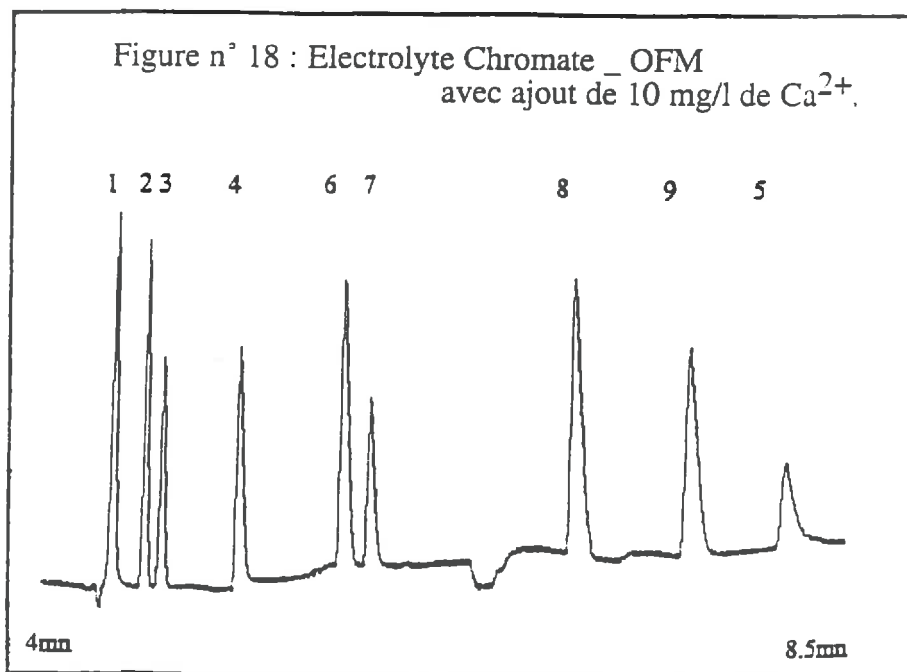


Figure n° 16 : Electrophérogramme de l'échantillon E.

Figure n° 17 : Electrolyte Chromate - OFM sans ajout de calcium.



- 1 Cl-
- 2 SO₄⁻
- 3 NO₃⁻
- 4 oxalate
- 5 citrate
- 6 formiate
- 7 malate
- 8 acetate
- 9 propionate



*Chapitre IV***LES CULTURES DE SALADES.***Etude de l'évolution du calcium, du potassium, du chlorure, du sulfate et du nitrate*

Les plantes contiennent dans des proportions différentes un certain nombre d'éléments. Il a été mis en évidence la présence de onze éléments simples en quantité relativement importante : azote, calcium, carbone, chlore, hydrogène, magnésium, oxygène, phosphore, potassium, sodium et soufre. Ces éléments sont désignés sous l'appellation d'éléments majeurs. Ceux que l'on trouve en quantité moindre, sont désignés sous le terme d'oligo-éléments (cuivre, fer, manganèse, etc...).

Dans notre étude nous nous sommes intéressés à l'évolution du calcium, du potassium, du sulfate et du chlorure.

Le calcium est un élément nutritif de la plante qui constitue 50 % des cendres. Il est un constituant des parois cellulaires participant à une meilleure résistance du végétal. Comme le potassium il joue un rôle important dans la neutralisation des acides organiques.

Le potassium joue un rôle dans le métabolisme général de la plante. Un déséquilibre du potassium par rapport à l'azote perturbe les mécanismes, et rend la plante sensible aux parasites et aux maladies.

Le soufre est un constituant des acides aminés, il intervient dans le métabolisme des vitamines.

Le chlorure, sa carence est très rare, on redoute surtout son excès qui augmente la salinité des sols.

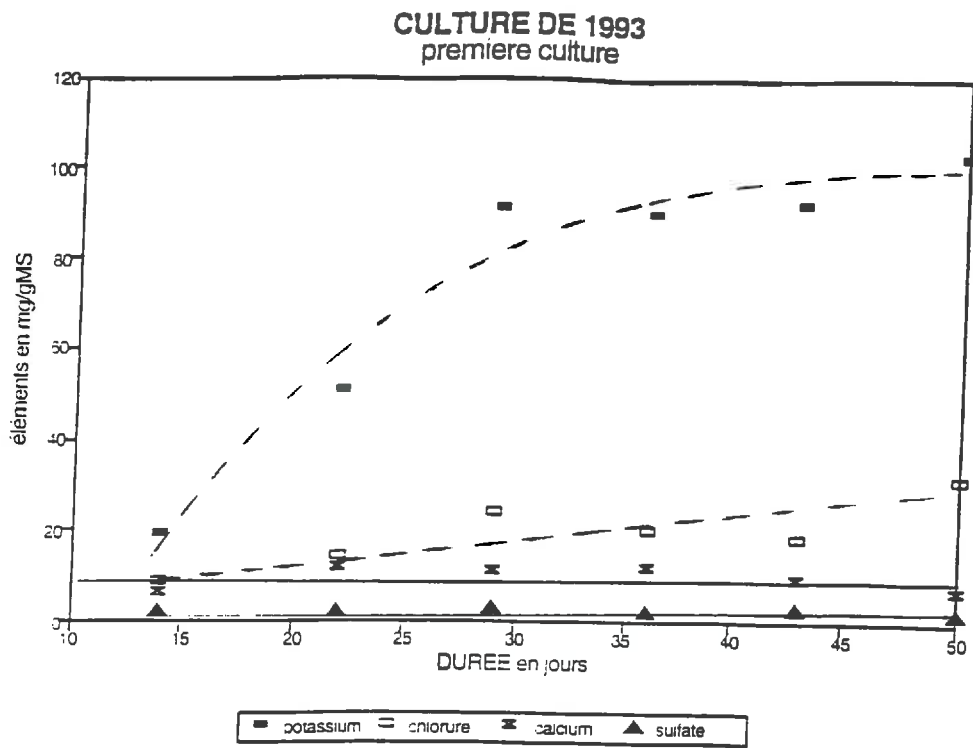
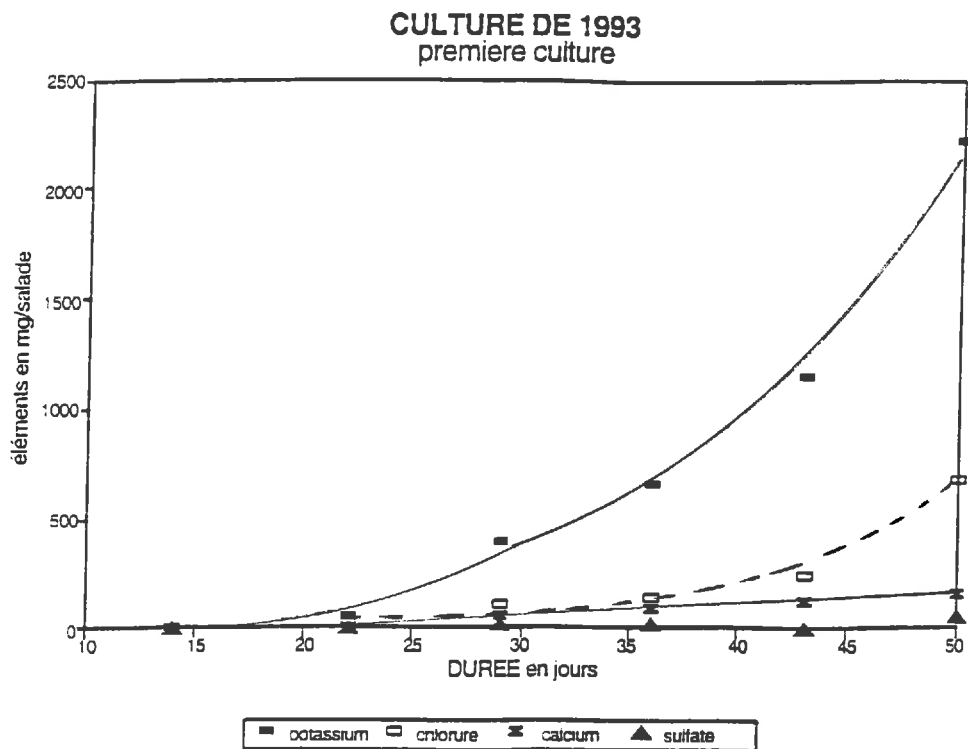


Figure n° 19 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/g de matière sèche de la 1^{ère} culture de 1993.

Figure n° 20 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/salade de la 1^{ère} culture de 1993.



I-) EVOLUTION AU COURS DU TEMPS

Après extraction à l'eau des éléments : chlorures, potassium et calcium, de la poudre végétale, nous avons analysé leur évolution au cours du temps, culture par culture, et fait une étude comparative entre les 3 cycles culturaux. le nitrate ayant été traité par GACHON, 1994.

Première culture, culture de printemps.

Lorsque l'on exprime l'élément en milligramme par gramme de matière sèche en fonction du temps, on observe (figure 19) :

Pour le calcium : une croissance rapide de la teneur en calcium jusqu'au 36^{ème} jour après la plantation, avec un maximum de 12.5 mg/g de matière sèche, puis une diminution au cours du temps, pour atteindre 7.1 mg/g de matière sèche à la récolte.

Pour le potassium : une croissance jusqu'au 36^{ème} jour, on peut ensuite observer un palier à partir de la valeur de 90 mg/g de matière sèche et de nouveau une augmentation à partir du 43^{ème} jour de culture après la plantation.

Pour le chlorure : une croissance assez irrégulière de cette teneur en chlorure, puis une baisse entre le 29^{ème} et le 36^{ème} jours de culture après la plantation.

Pour le sulfate : la quantité reste constante au cours du temps autour d'une valeur moyenne de 3.0 mg/g.

Lorsque l'on exprime l'élément en milligramme par masse de salade moyenne en fonction du temps, on observe (figure 20) :

Pour le calcium : une évolution linéaire croissante au cours du temps, dont l'expression numérique est :

$$\text{Ca} = 4.42 \text{ jours} - 71.1$$

$$\text{avec un } r^2 = 0.97.$$

Pour le potassium : une croissance assez rapide de façon exponentielle au cours du temps.

Pour le chlorure : une croissance à allure exponentielle au cours du temps qui atteint sa valeur maximale de 683.6 mg/ salade lors de la récolte.

Pour le sulfate : une croissance à allure exponentielle.

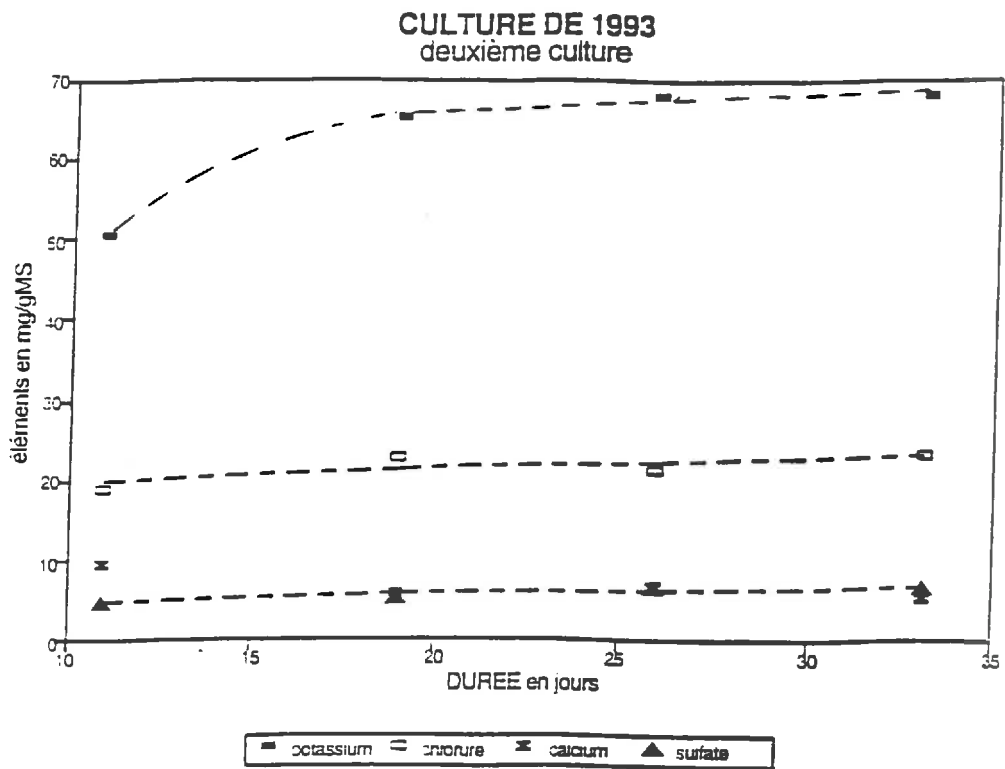


Figure n°21 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/g de matière sèche de la 2^{ème} culture de 1993.

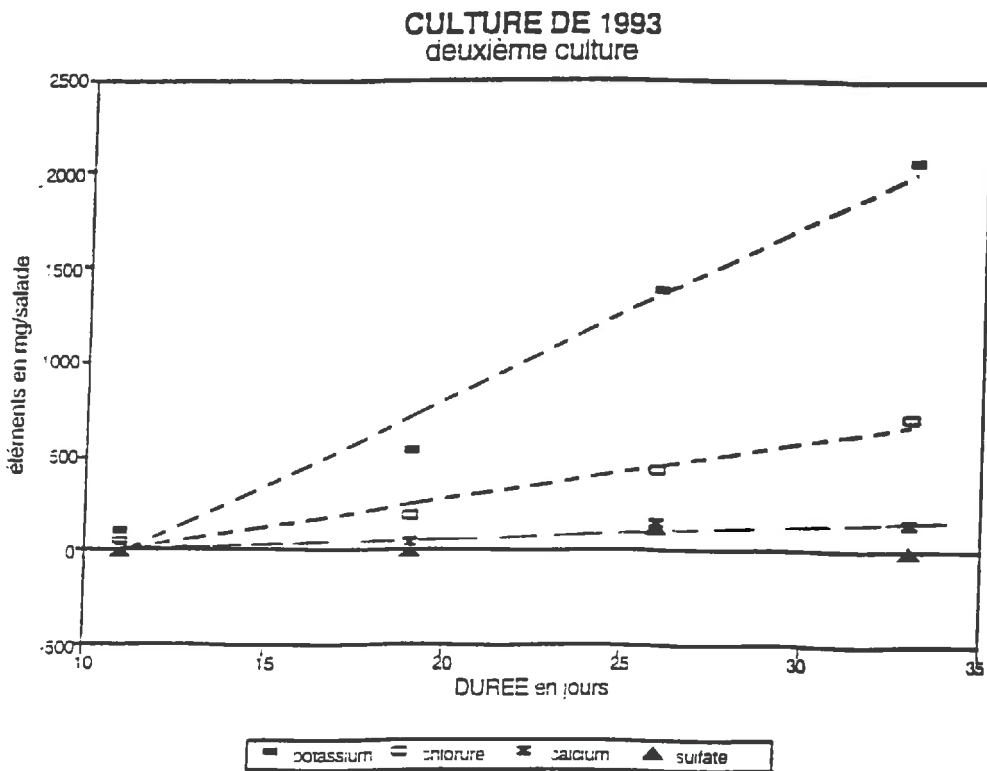


Figure n° 22 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/salade de la 2^{ème} culture de

Deuxième culture, culture d'été :

Lorsque l'on exprime l'élément en milligramme par gramme de matière sèche en fonction du temps, on observe (figure 21) :

Pour le calcium : une décroissance linéaire, en partant d'un état initial de 9.4 mg/g de matière sèche, qui a comme expression numérique :

$$\text{Ca} = -0.15 \text{ jours} + 10.28$$

avec $r^2 = 0.63$.

Pour le potassium : une croissance jusqu'au 26^{ème} jour, où la teneur en potassium atteint 68 mg/g de matière sèche, puis une stabilisation.

Pour le chlorure : une croissance linéaire au cours du temps qui a pour expression numérique :

$$\text{Cl} = 0.155 \text{ jours} + 18.17$$

avec $r^2 = 0.602$.

Pour le sulfate : une croissance linéaire, dont l'expression numérique est :

$$\text{SO}_4 = 0.082 \text{ jours} + 3.953$$

avec $r^2 = 0.806$.

Lorsque l'on exprime l'élément en milligramme par masse de salade moyenne en fonction du temps, on observe (figure 22) :

Pour le calcium : une croissance linéaire au cours du temps, dont l'expression numérique est :

$$\text{Ca} = 7.07 \text{ jours} - 64.96$$

avec $r^2 = 0.92$.

Pour le potassium : une croissance linéaire au cours du temps. L'expression numérique est :

$$\text{K} = 91.9 \text{ jours} - 1019$$

avec $r^2 = 0.976$.

Pour le chlorure : une croissance linéaire au cours du temps, qui atteint sa valeur maximale de 711.2 mg/salade à la récolte, et qui a pour expression numérique :

CULTURE DE 1993
troisième culture

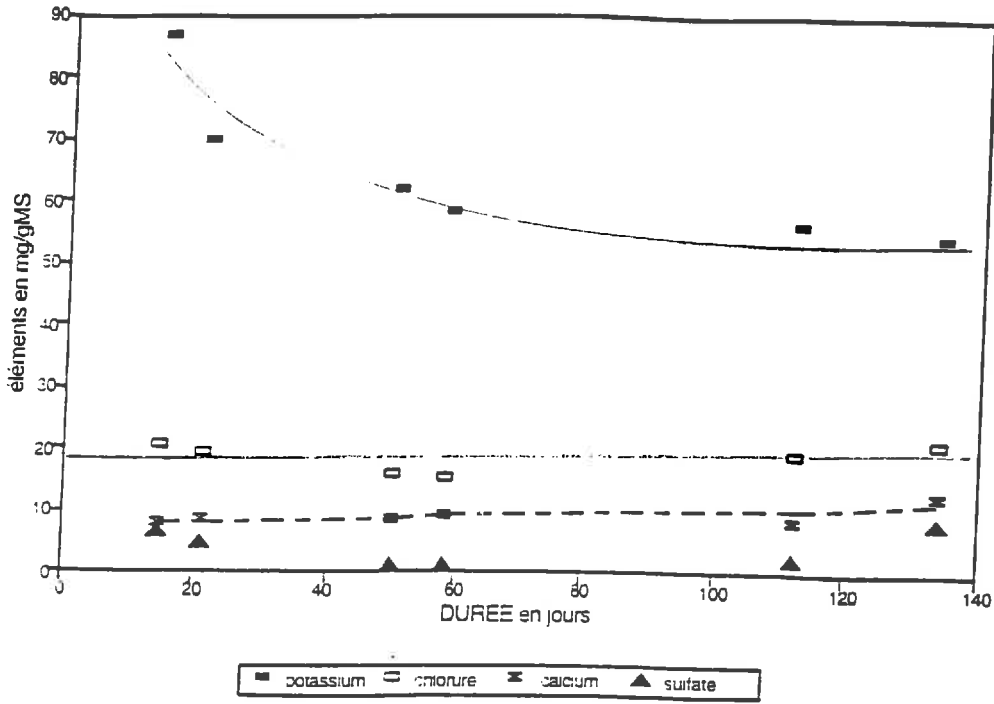
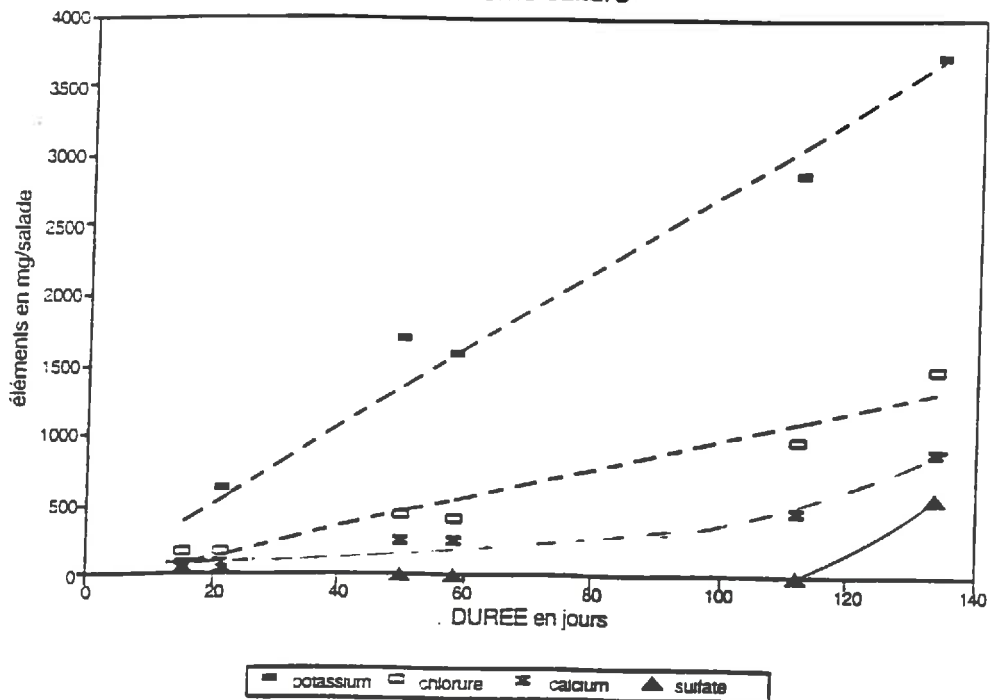


Figure n° 23 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/ g de matière sèche de la 3^{ème} culture.

Figure n° 24 : Graphique pour tous les éléments étudiés en mg/salade de la 3^{ème} culture de 1993.

CULTURE DE 1993
troisième culture



$$CI = 30.72 \text{ jours} - 339.96$$

$$\text{avec } r^2 = 0.97.$$

Pour le sulfate : une teneur très variable au cours du temps.

Troisième culture, culture d'hiver.

Lorsque l'on exprime l'élément en milligramme par gramme de matière sèche en fonction du temps, on observe (figure 23) :

Pour le calcium : une croissance linéaire jusqu'au 112^{ème} jour après la plantation, puis une augmentation plus prononcée de cette teneur en calcium jusqu'à la récolte.

Pour le potassium : une diminution exponentielle jusqu'au 77^{ème} jour, puis une stabilisation autour d'une valeur moyenne de 60 mg/g de matière sèche.

Pour le chlorure : une teneur de 15 mg/g de matière sèche à peu près constante au cours du temps.

Pour le sulfate : une décroissance jusqu'au 58^{ème} jour, puis une croissance jusqu'à la récolte.

Lorsque l'on exprime l'élément en milligramme par masse de salade moyenne en fonction du temps, on observe (figure 24) :

Pour le calcium : une croissance linéaire jusqu'au 112^{ème} jour.

Pour le potassium : une croissance linéaire au cours du temps.

Pour le chlorure : une croissance assez régulière et linéaire au cours du temps, qui atteint un maximum de 1473.4 mg par salade lors de la récolte.

Pour le sulfate : on passe par un minimum au 58^{ème} jour de culture après la plantation.

II-) EVOLUTION SIMULTANEE DU POTASSIUM ET DE L'AZOTE

Pour effectuer les comparaisons entre le potassium et l'azote nitrique, d'une part, et le potassium et l'azote total, d'autre part, on a utilisé les valeurs en azote nitrique et en azote total précédemment obtenues par GACHON (1994).

**CULTURE DE 1993
AZOTE NITRIQUE - POTASSIUM**

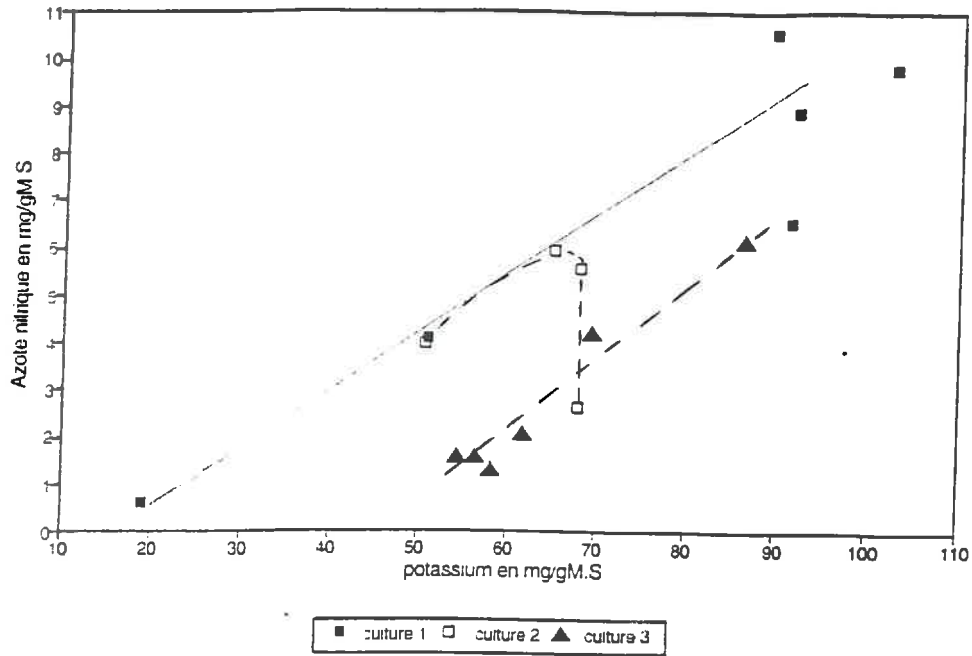
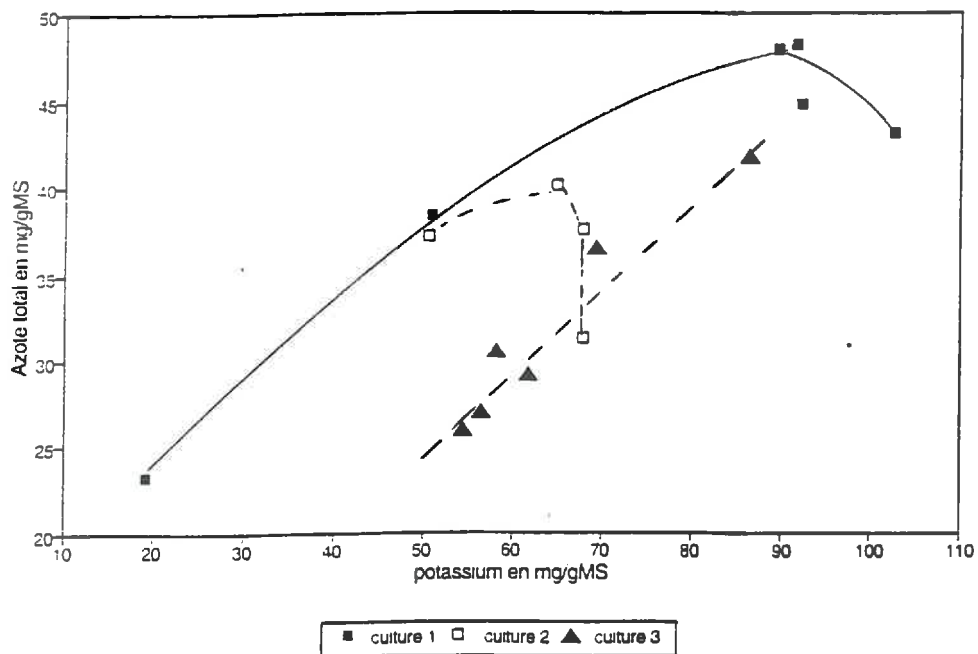


Figure n° 25 : Graphique de l'évolution simultanée du potassium et de l'azote nitrique.

Figure n° 26 : Graphique de l'évolution simultanée du potassium et de l'azote total.

**CULTURE DE 1993
AZOTE TOTAL - POTASSIUM**



II.1-) Evolution simultanée du potassium et de l'azote nitrique.

La relation qui lie la teneur en potassium, en mg/g de matière sèche, à la teneur en azote nitrique, en mg/g de matière sèche, est (figure 25) :

-Pour la première culture croissante.

-Pour la deuxième culture croissante jusqu'au 19^{ème} jour, où elle atteint son maximum qui est de 5.5 mg/g en azote et de 68 mg/g en potassium, puis décroissante jusqu'à la récolte.

-Pour la troisième culture stable, aux environs d'une teneur de 1.5 mg/g en azote, jusqu'au 58^{ème} jour, puis croissante jusqu'à la récolte.

II.2-) Evolution simultanée du potassium et de l'azote total.

La relation qui lie la teneur en potassium, en mg/g de matière sèche, à la teneur en azote total, en mg/g de matière sèche (figure 26), est :

-Pour la première culture croissante jusqu'au 36^{ème} jour, où elle atteint son maximum qui est de 48.2 mg/g en azote lorsque la teneur en potassium est de 91.8 mg/g, puis décroissante jusqu'à la récolte.

-Pour la deuxième culture croissante jusqu'au 19^{ème} jour, où elle atteint son maximum qui est de 40.1 mg/g en azote lorsque la teneur en potassium est de 65 mg/g, puis décroissante jusqu'à la récolte.

-Pour la troisième culture une croissance linéaire, dont l'expression numérique est :

$$K = 0.49 \text{ NO}_3 + 0.053$$

$$\text{avec } r^2 = 0.934.$$

II.3-) Evolution du rapport potassium sur azote total au cours du temps.

Les besoins du végétal en potassium étant plus importants en hiver que lors des jours longs ou croissants, c'est à dire qu'au printemps et en été, il est préconisé en hiver un rapport potassium sur azote total de 4 et un rapport de 3 au printemps. (STEPHAN, 1982)

Compte tenu de ses données, nous nous sommes intéressé au rapport potassium sur azote total, et nous avons observé les résultats suivants (figure 27) :

-Pour la première culture une croissance linéaire, dont l'expression de régression est :

$$\text{Azote}_T = 0.04 \text{ Potassium} + 0.437$$

$$\text{avec } r^2 = 0.914.$$

CULTURE DE 1993
RAPPORT K/N total

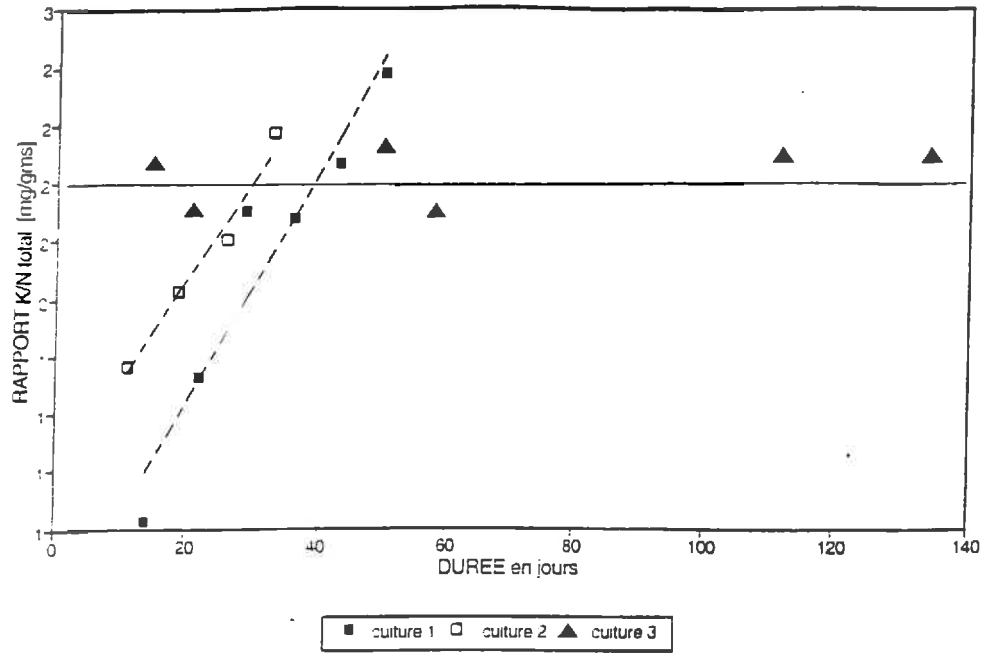
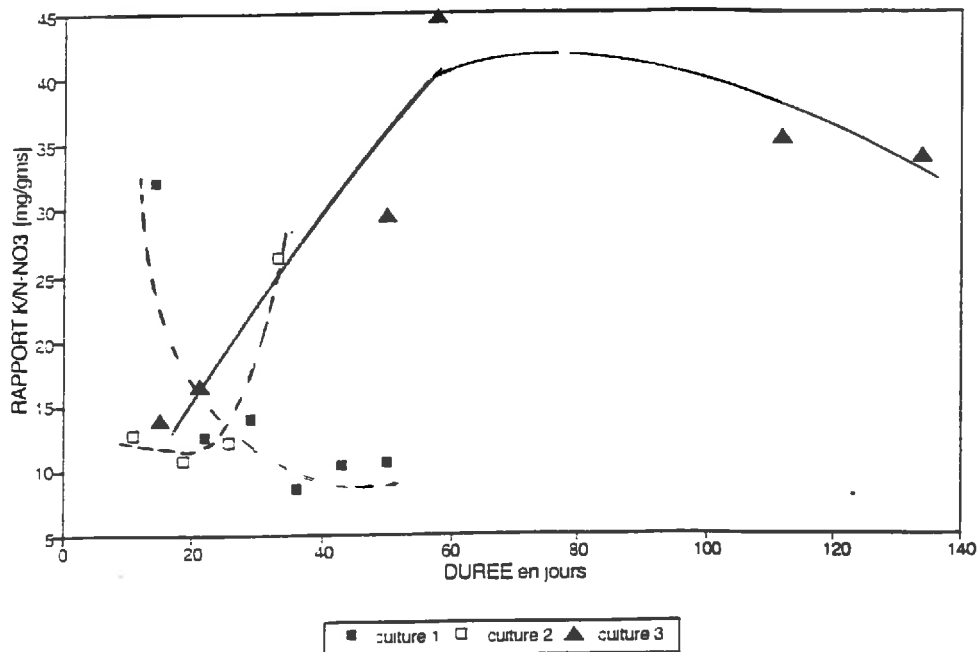


Figure n° 27 : Rapport potassium_azote total en fonction du temps.

Figure n° 28 : Rapport potassium_azote nitrique en fonction du temps.

CULTURE DE 1993
RAPPORT K/N-NO3



On observe la même évolution lors de la culture de printemps en 1992 (ALAZARD, 1993)

-Pour la deuxième culture une croissance linéaire, dont l'expression de régression est :

$$\text{Azote}_T = 0.035 \text{ Potassium} + 0.956$$

$$\text{avec } r^2 = 0.977.$$

-Pour la troisième culture une valeur moyenne constante de 2 au cours du temps.

Lors des 3 cultures de 1993, on peut constater que ce rapport n'atteint jamais 3 (Tableaux 13, 14 et 15). Il semblerait que ces cultures est une quantité d'azote total trop élevée en rapport de celle du potassium, il a été observé la même chose lors de la culture de printemps en 1992 où la valeur du rapport K/N_{total} n'a jamais dépassé 2.

II.4-) Evolution du rapport potassium sur azote nitrique au cours du temps.

Lorsque l'on étudie le rapport potassium sur azote nitrique en fonction du temps, on observe (figure 28) :

-Pour la première culture une décroissance jusqu'au 36^{ème} jour puis une stabilisation vers une valeur de 10.3 . On observe le même résultat sur la culture de printemps 1992 (ALAZARD, 1993).

-Pour la deuxième culture une stabilisation vers 12 jusqu'au 26^{ème} jour, puis une croissance jusqu'à la récolte. On a une inversion du phénomène par rapport à la première culture. Mais comme on ne dispose que de 4 points de prélèvements, il est difficile de conclure.

-Pour la troisième culture une croissance, puis une stabilisation à partir du 112^{ème} jour vers une valeur de 35.

III-) DISCUSSION-CONCLUSION

Lors des 3 cycles culturaux, on note qu'à la récolte les quantités les plus importantes de calcium, et de potassium sont issues de la 3^{ème} culture (tableau 16), il en est de même pour l'azote (GACHON, 1994). si l'on compare ces valeurs à celles de la littérature (ODET, 1989), on remarque que nos résultats sont toujours inférieurs. En effet, suivant les variétés de salade la teneur en calcium passe de 37 à 105 kg/ha et celle du potassium de 105 à 542 kg/ha.

Tableau 13 : Rapports K/N total et K/N-NO₃ dans la 1^{ère} culture.

DATES	DUREE en jours	K/N total	K/N-NO ₃
08/04/93	14	0.828	32.167
16/04/93	22	1.328	12.439
23/04/93	29	1.905	13.909
30/04/93	36	1.877	8.481
07/05/93	43	2.065	10.393
14/05/93	50	2.383	10.479
MOYENNE	1.731	14.645
ECART TYPE	0.25	3.93

Tableau 14 : Rapports K/N total et K/N-NO₃ dans la 2^{ème} culture.

DATES	DUREE en jours	K/N total	K/N-NO ₃
17/06/93	11	1.369	12.7
25/06/93	19	1.621	10.833
02/07/93	26	1.804	12.143
09/07/93	33	2.169	26.192
MOYENNE	1.741	15.467
ECART TYPE	0.193	4.153

Tableau 15 : Rapports K/N total et K/N-NO₃ dans la 3^{ème} culture.

DATES	DUREE	K/N total	K/N-NO ₃
21/10/93	15	2.072	13.968
27/10/93	21	1.907	16.571
25/11/93	50	2.124	29.428
03/12/93	58	1.905	44.846
26/01/94	112	2.096	35.375
17/02/94	134	2.1	34.125
MOYENNE	2.034	29.052
ECART TYPE	0.045	5.286

Culture	Calcium kg/ha	Potassium kg/ha	Chlorure kg/ha
première	10.8	155.5	47.9
seconde	8.1	103.7	35.6
troisième	44.4	186	73.7
	37	105	/
Laitue	105.7	542.1	/

Tableau 16 : valeurs des éléments exportés par le végétal en kg/ha

Chapitre V

LA NAPPE DE LA VISTRENQUE

Région de Codognan - 30

Les échantillons étudiés proviennent de trois zones différentes :

- 1-) *Zone d'épandage* : il s'agit de l'eau de récupération de lavage de fruits de l'usine S^t MAMET (usine implantée sur le territoire de Nîmes) .
- 2-) *Zone de gravière* : certains endroits de cette vallée sont exploités pour l'extraction du gravier, ce qui provoque la mise en place de lacs artificiels.
- 3-) *Zone isolée* : les prélèvements sont effectués dans des lieux d'habitation (mas, ou bordure de hameaux) .

I-) ANALYSE DES RESULTATS

Dans ces échantillons d'eau, nous nous sommes intéressés aux chlorures, aux sulfates, aux nitrites et aux nitrates.

Pour qu'une eau reste dans les normes de potabilité, il est nécessaire que ces éléments soient présents à des teneurs inférieures à celles données ci-dessous :

Chlorure	200 mg/l
Sulfate	250 mg/l
Nitrate	50 mg/l
Nitrite	0.1 mg/l

Les valeurs obtenues lors des analyses sont données au tableau 17. Il est à noter que nous n'avons pas détecté la présence de nitrites.

L'analyse des teneurs en nitrate nous a conduit à répartir nos échantillons en 3 catégories (figure et tableau 17) :

- 1-) La teneur en nitrate est inférieure à 50 mg/l.
- 2-) La teneur en nitrate est supérieure à 50 mg/l et inférieure à 100 mg/l.
- 3-) La teneur en nitrate est supérieure ou égale à 100 mg/l.

Les zones des gravières présentent de faibles teneurs en nitrate, ce qui est vraisemblablement dû à la présence du phénomène de dénitrification, c'est à dire à la transformation de l'azote nitrique en N_2 ou en N_2O .

Les zones d'épandage se retrouvent dans les catégories d'eau 1 et 2, précédemment définies. Il est vrai que certains points de prélèvements se trouvent en bordure de la zone d'épandage et peuvent, par conséquent, ne pas être vraiment représentatifs. Par ailleurs, il semblerait que dans ces zones il y ait des écoulements, en profondeur, et latéraux.

Les échantillons à fortes concentrations se trouvent dans **les zones isolées**, correspondant à des mas où se pose probablement des problèmes d'assainissement.

Les teneurs en sulfate ne sont jamais supérieures à la valeur admissible, mais semblent élevées au niveau des zones d'épandage.

Les teneurs en chlorure sont inférieures à la valeur admissible, exception faite pour deux échantillons B21 et B26, où les valeurs sont largement supérieures à 200 mg/l.

II-) DISCUSSION-CONCLUSION.

Si le chlorure, exception faite des lots B21 et B26, et le sulfate ne semblent pas poser de problèmes quant à leurs concentrations dans l'eau de nappe, il n'en va pas de même pour les nitrates. En effet, sur 25 échantillons analysés, la moitié ont une teneur en nitrates supérieure à 50 mg/l.

ZONE	Echantillon	Nitrates	Chlorures	Sulfates
Zone 1	B15	5	167	88
	B16	20	50	59
	B21	11	280	89
	B26	13	372	57
	353	35	124	104
Zone 2	354	25	88	109
	B18	52	45	95
	B42	64	42	98
Zone 3	B23	57	76	175
	B20	52	49	136
Zone 4	351	49	80	128
	352	57	47	103
	506	66	85	159
Epandage 1	B17	16	138	167
Epandage 2	B19	76	81	179
	512	61	64	143
Gravière	B22	28	84	132
	142	6	59	109
	B40	16	58	109
Bord gravière	B41	16	58	110
	Isolés	175	42	87
	525	55	53	106
	397	131	23	31
	580	100	50	124

Tableau 17 : analyse des échantillons d'eau en mg/l.

CONCLUSION

L'objectif principal de mon travail effectué pendant ces deux mois de stage, qui était la mise au point méthodologique de l'électrophorèse capillaire, m'a permis d'aborder d'autres sujets comme l'évolution des ions dans un végétal au cours du temps, et l'analyse d'échantillons d'eau provenant de sites caractéristiques tels que des zones d'épandage ou de gravières.

En ce qui concerne la mise au point méthodologique de l'électrophorèse capillaire, on pourra retenir que cette méthode d'analyse donne une très bonne reproductibilité des résultats, qu'elle est rapide, facile d'emploi et qu'elle permet de détecter sur de petites quantités d'échantillons de faibles concentrations d'éléments. Néanmoins, il peut se poser un problème lorsque l'échantillon étudié comprend deux éléments à analyser dont les temps de rétention sont très proches et dont les concentrations ont des valeurs très différentes, car cela entraîne une mauvaise quantification, due à la forme du pic de l'électrophérogramme ; on doit alors diluer l'échantillon, ce qui peut provoquer la non détection de l'élément le moins fortement concentré.

En ce qui concerne l'étude de l'évolution des ions au cours du temps dans le végétal, elle nous a permis de constater une augmentation de la concentration des éléments du végétal au cours de la croissance de celui-ci. On a également pu remarquer que le rapport potassium sur azote total était pour l'ensemble des cultures inférieur à celui préconisé dans la littérature, ce qui pourrait provoquer certaines maladies du végétal.

Quant aux analyses des échantillons d'eau, elles nous montrent une assez forte concentration de ces eaux en nitrates, ce qui était à prévoir car les prélèvements ont été effectués dans une zone surveillée au niveau du problème de la dénitrification.

Sur le plan personnel, ce stage m'a permis de découvrir une toute nouvelle méthode d'analyse, et d'appréhender le rôle du chimiste dans d'autres domaines que ceux rencontrés habituellement.

J'ai également pu apprécier l'ambiance de travail d'une unité de recherche, qui est très différente de celle rencontrée dans l'industrie.

BIBLIOGRAPHIE

ALAZARD, 1993 - Etude de la teneur en nitrate d'une culture maraîchère. Etude de la teneur en nitrate de l'aquifère à l'échelle d'un bassin versant.

GACHON, 1994 - Suivi d'une culture maraîchère. La salade son exportation en azote.

MILLIPORE, 1993 - Millenium 2010 . Chromatography Manager . Software user's guide.

MILLIPORE, 1993 - Waters Chromatography. Waters capillary. Ion analyser operator's manual.

ODET, 1989 - Mémento fertilisation des cultures légumières.

OLEGGINI, 1991 - Ionométrie potassium - calcium . Electrode spécifique.

ORION, 1986 - Electrodes spécifiques.

ANNEXES

ANNEXE 1

RAPPELS DE STATISTIQUES

TESTS DE STUDENT

$$A = \sum X Y - \frac{1}{n} (\sum X \cdot \sum Y)$$

$$B = \sum Y^2 - \frac{1}{n} (\sum Y)^2$$

$$C = \sum X^2 - \frac{1}{n} (\sum X)^2$$

TEST DE VALIDITE DE L'ORDONNEE A L'ORIGINE (b)

$$s_{XY} = \frac{(1 - r^2) B}{n-2}$$

$$T_{\text{obs}} = \frac{|b|}{[s_{XY} (\frac{1}{n} + \frac{x_m^2}{C})]^{1/2}}$$

TEST DE VALIDITE DE LA PENTE (a)

$$T_{obs} = \frac{|C - B| \sqrt{(n - r)}}{2 \sqrt{(B.C - A^2)}}$$

Moyenne :

$$m_X = \frac{\sum X}{n}$$

Ecart type :

$$s_X = \frac{\sqrt{(\sum X^2 - m \sum X)}}{(n - 1)}$$

Coefficient de variation :

$$\frac{s_X}{m}$$

Ecart à la valeur vraie :

$$\frac{|C - C_e|}{C}$$

C : concentration théorique.

C_e : concentration réelle.

ANNEXE 2

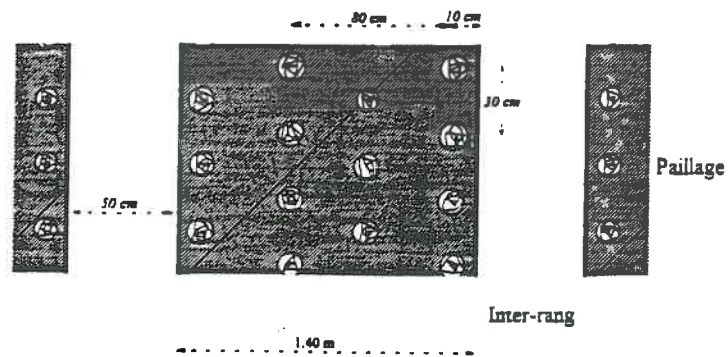
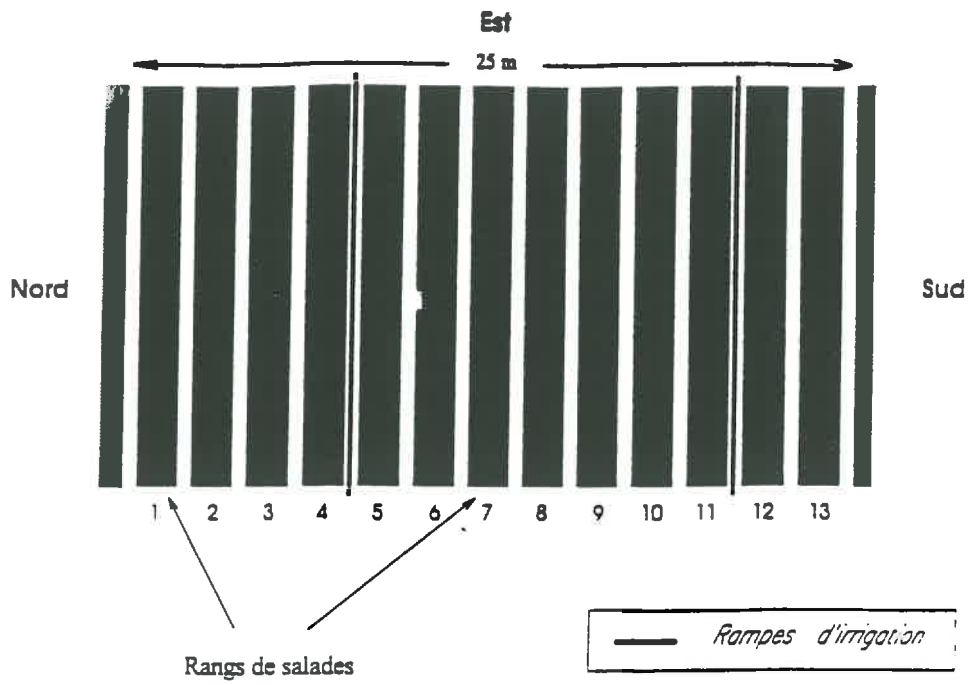


Schéma de la plantation : première culture

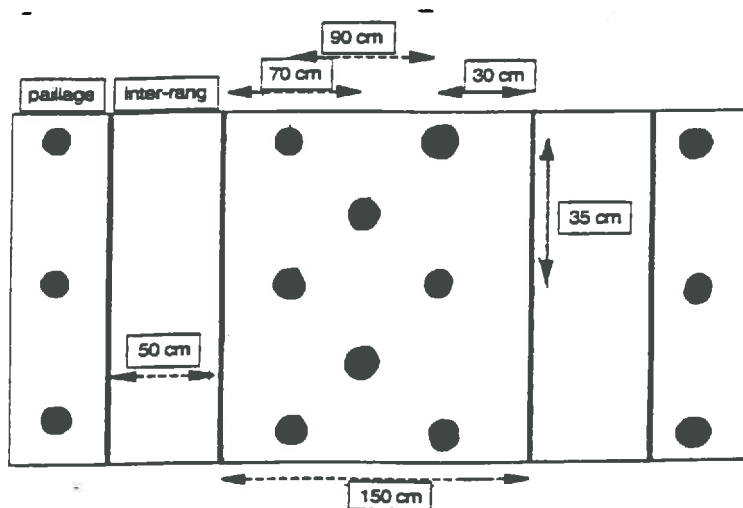


Schéma de la plantation : deuxième et troisième culture

