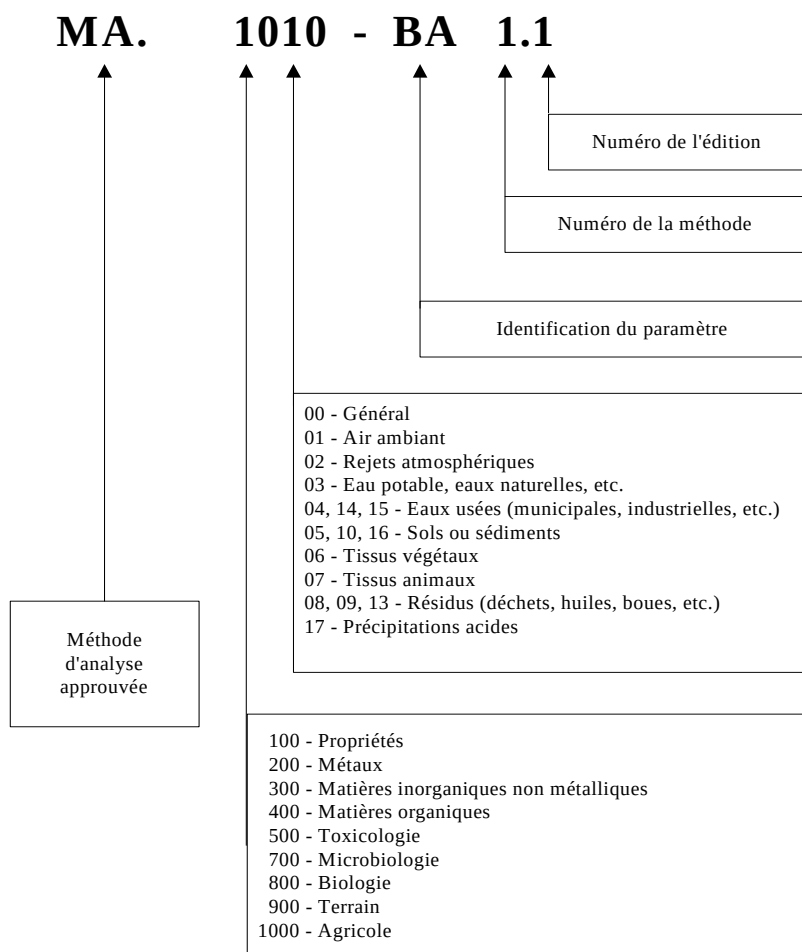


MA. 1010 – PC 1.0
Édition : 2003-03-27

Méthode d'analyse

Détermination du phosphore assimilable dans
les sols agricoles : méthode colorimétrique
après extraction avec la méthode Mehlich III

Exemple de numérotation :



Reproduction et traduction, même partielles, interdites sans l'autorisation du Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, ministère de l'Environnement du Québec.

Ce document doit être cité de la façon suivante :

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC et MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DES PÊCHERIES ET DE L'ALIMENTATION DU QUÉBEC, Détermination du phosphore assimilable dans les sols agricoles : méthode colorimétrique après extraction avec la méthode Mehlich III, MA. 1010 – PC 1.0, Ministère de l'Environnement du Québec, 2003, 13 p.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	5
1. DOMAINE D'APPLICATION	5
2. PRINCIPE ET THÉORIE	5
3. FIABILITÉ	5
3.1. Interférence	5
3.2. Limite de détection	6
3.3. Limite de quantification	6
3.4. Sensibilité	6
3.5. Fidélité	6
3.6. Justesse	6
3.7. Pourcentage de récupération	6
4. CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS	6
5. APPAREILLAGE	7
6. RÉACTIFS ET ÉTALONS	7
7. PROTOCOLE D'ANALYSE	10
7.1. Préparation de l'échantillon	10
7.2. Dosage	11
7.3. Préparation spéciale de la verrerie	12
8. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS	12
9. CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ	12
10. BIBLIOGRAPHIE	13

INTRODUCTION

Le sol est un support extrêmement complexe où se déroule simultanément une grande variété d'interactions physiques, chimiques et biologiques. Ces interactions à l'interface sol-racine sont très complexes et peu connues, mais c'est à ce niveau que les minéraux et les oligo-éléments sont assimilables par les plantes.

Les minéraux et les oligo-éléments sont les éléments essentiels à la croissance des plantes. Il est complexe d'effectuer des analyses de sol pour préciser les besoins d'engrais, car on essaie d'évaluer la quantité de nutriments assimilables dans un sol spécifique pour une grande variété d'espèces culturales pendant la saison de croissance.

En 1986, le Québec a adopté l'extractif Mehlich III, qui permet d'extraire plusieurs éléments simultanément.

Cette méthode est utilisée pour la détermination du phosphore par colorimétrie.

La présence de phosphore dans les sols provient de l'activité industrielle et de l'épandage d'engrais de ferme ou d'engrais chimique sur les terres agricoles.

1. DOMAINE D'APPLICATION

Cette méthode s'applique à la détermination du phosphore assimilable dans les échantillons de sol agricole. Le domaine d'étalonnage se situe entre 0,05 mg/l et 2,0 mg/l P pour les solutions étalons.

2. PRINCIPE ET THÉORIE

Les minéraux et les oligo-éléments sont d'abord extraits du sol à l'aide de la solution Mehlich III. L'extrait Mehlich est ensuite utilisé pour le dosage du phosphore assimilable.

Puis, l'ion orthophosphate réagit avec l'ion molybdate et l'ion antimoine pour former un complexe phosphomolybdate. Ce dernier est réduit avec l'acide ascorbique en milieu acide pour former un complexe bleu phosphomolybdique, dont l'absorbance à 660 nm est proportionnelle à la concentration de l'ion orthophosphate présent dans l'échantillon.

3. FIABILITÉ

Les termes suivants sont définis dans le document DR-12-VMC, intitulé « Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie ».

3.1. INTERFÉRENCE

Les arsénates réagissent avec le molybdate d'ammonium pour former un complexe bleu produisant une interférence positive sur le résultat d'analyse. Le chrome hexavalent et les nitrites

interfèrent négativement pour des concentrations aussi faibles que 1,0 mg/l. Des concentrations aussi élevées que 50 mg Fe⁺³/l, 10 mg Cu/l et 10 mg SiO₂/l peuvent être tolérées. Des concentrations plus élevées en oxyde de silice causent une interférence positive.

3.2. LIMITE DE DÉTECTION

Aucune donnée statistique n'est disponible.

3.3. LIMITE DE QUANTIFICATION

Aucune donnée statistique n'est disponible.

3.4. SENSIBILITÉ

Aucune donnée statistique n'est disponible.

3.5. FIDÉLITÉ

3.5.1. Répliquabilité

Aucune donnée statistique n'est disponible.

3.5.2. Répétabilité

Aucune donnée statistique n'est disponible.

3.6. JUSTESSE

Aucune donnée statistique n'est disponible.

3.7. POURCENTAGE DE RÉCUPÉRATION

Aucune donnée statistique n'est disponible.

4. **CONSERVATION DES ÉCHANTILLONS**

Prélever les échantillons dans des contenants en plastique ou dans des boîtes de carton ciré exempts de contamination.

Aucun agent de conservation n'est requis et les échantillons peuvent être conservés à la température ambiante. Le délai de conservation entre le prélèvement et l'analyse ne doit pas excéder 6 mois.

5. APPAREILLAGE

- 5.1. Agitateur mécanique
- 5.2. Système automatisé pour le dosage des phosphates [de type auto-analyseur Technicon ou FIA (flow injection analysis)], incluant :
 - échantillonneur;
 - pompe péristaltique;
 - système pour la réaction;
 - colorimètre muni de filtres de longueur d'onde de 660 nm et d'une cellule de 10 mm;
 - enregistreur ou ordinateur muni d'un interface.
- 5.3. Balance dont la sensibilité est de 1 mg
- 5.4. Spectrophotomètre dans le visible (colorimètre)

6. RÉACTIFS ET ÉTALONS

Tous les réactifs commerciaux utilisés sont de qualité A.C.S., à moins d'indication contraire.

L'eau utilisée pour la préparation des réactifs et des solutions étalons est de l'eau distillée ou déminéralisée.

- 6.1. Acide acétique glacial, $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (CAS n° 64-19-7)
- 6.2. Acide sulfurique, H_2SO_4 (CAS n° 7664-93-9)
- 6.3. Acide nitrique, HNO_3 (CAS n° 7697-37-2)
- 6.4. Fluorure d'ammonium, NH_4F (CAS n° 12125-01-8)
- 6.5. Nitrate d'ammonium, NH_4NO_3 (CAS n° 6484-52-2)
- 6.6. Acide éthylène diamine tétraacétate, EDTA $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_8$ (CAS n° 60-00-4)
- 6.7. Tartro-antimoniate de potassium, $\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 28300-74-5)
- 6.8. Phosphate de potassium monobasique, KH_2PO_4 (CAS n° 7778-77-0)
- 6.9. Molybdate d'ammonium, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (CAS n° 12054-85-2)
- 6.10. Acide ascorbique, (L+) $\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ (CAS n° 50-81-7)
- 6.11. Lauryl sulfate de sodium, (LAS) $\text{C}_{12}\text{H}_{25}\text{OSO}_2\text{ONa}$ (CAS n° 151-21-3)
- 6.12. Agent aérosol 22

6.13. Solution mère Mehlich III

Dans une fiole jaugée de 200 ml, dissoudre 11,11 g de fluorure d'ammonium (cf. 6.4) dans environ 100 ml d'eau. Ajouter 5,85 g d'EDTA (cf. 6.6), le dissoudre et compléter au trait de jauge avec de l'eau.

6.14. Solution extractive Mehlich III

Dans une fiole de 1 000 ml, dissoudre 20,01 g de nitrate d'ammonium (cf. 6.5), 10 ml de la solution mère Mehlich III (cf. 6.13), 11,5 ml d'acide acétique (cf. 6.1) et 0,8 ml d'acide nitrique (cf. 6.3) et compléter au trait de jauge avec de l'eau.

6.15. Solution d'acide sulfurique 2,0 N

Diluer 56 ml d'acide sulfurique concentré (cf. 6.2) dans environ 400 ml d'eau, laisser refroidir, ajouter 1 ml d'agent aérosol 22 (cf. 6.12) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

La solution doit être renouvelée chaque jour.

6.16. Solution d'acide sulfurique 5,0 N

Diluer 141 ml d'acide sulfurique concentré (cf. 6.2) dans environ 700 ml d'eau, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

6.17. Solution d'acide sulfurique 9,0 N

Diluer 250 ml de H_2SO_4 (cf. 6.2) dans environ 700 ml d'eau, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Solution pour le dosage manuel

6.18. Solution combinée A

Dissoudre 12 g de molybdate d'ammonium (cf. 6.9) dans 250 ml d'eau. Dans une fiole de 100 ml, dissoudre 0,2908 g de tartro-antimoniate de potassium (cf. 6.7) dans 80 ml d'eau. Compléter au trait de jauge avec de l'eau. Transvider les deux solutions précédentes dans une fiole jaugée de 2 litres contenant déjà 1 000 ml d'acide sulfurique 5,0 N (cf. 6.16). Compléter au trait de jauge de 2 litres avec de l'eau. Bien mélanger par inversion. Garder dans un endroit à l'abri de la lumière à 4 °C.

6.19. Solution de travail B

Dissoudre 1,056 g d'acide ascorbique dans 200 ml de la solution A (cf. 6.18). Cette solution doit être préparée tous les jours.

Solution pour le dosage automatisé (méthode 1)

6.20. Réactif molybdate

Dissoudre 4,3 g de molybdate d'ammonium (cf. 6.9) et 0,12 g de tartro-antimoniate de potassium (cf. 6.7) dans environ 800 ml d'eau. Ajouter 27 ml de H_2SO_4 (cf. 6.2) tout en agitant, laisser refroidir et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Ce réactif se conserve un mois lorsque l'agent mouillant n'est pas ajouté.

Lors de l'utilisation, ajouter 1,0 ml de la solution de sulfate lauryl de sodium (cf. 6.11) par 200 ml de réactif. Le réactif contenant l'agent mouillant se conserve pendant une semaine.

6.21. Solution d'acide ascorbique 10 % (P/V)

Dissoudre 10 g d'acide ascorbique (L+) (cf. 6.10) dans environ 80 ml d'eau. Agiter et compléter à 100 ml avec de l'eau.

Cette solution se conserve une semaine à environ 4 °C.

Solution pour le dosage automatisé (méthode 2)

6.22. Solution molybdate-antimoine

Dissoudre 30 g de molybdate d'ammonium (cf. 6.9) et 0,15 g de tartro-antimoniate de potassium (cf. 6.7) dans environ 600 ml d'eau et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

6.23. Solution d'acide ascorbique

Dissoudre 12 g d'acide ascorbique (L+) (cf. 6.10) dans environ 150 ml d'eau. Agiter et compléter à 200 ml avec de l'eau. Ajouter 1 ml de « Levure V » (agent mouillant). Bien mélanger par inversion.

Cette solution se conserve une semaine à environ 4 °C.

6.24. Solution étalon de phosphore de 1 000 mg/l P

Dissoudre 4,394 g de KH_2PO_4 (cf. 6.8) préalablement séché à 105 °C dans environ 800 ml d'eau, ajouter 1,0 ml de la solution de H_2SO_4 9 N (cf. 6.17) et compléter à 1 000 ml avec de l'eau.

Cette solution se conserve un an.

6.25. Solutions étalons de phosphore

À l'aide de dilutions, préparer une série de solutions étalons ayant les concentrations suivantes :

Étalon	Concentration de phosphore (mg/l P)
1	0
2	1
3	2
4	4
5	6
6	8

Voici un exemple pour la préparation de ces solutions étalons :

Solution étalon de phosphore de 100 mg/l

Dans une fiole jaugée de 50 ml, introduire à l'aide d'une pipette 5 ml de la solution étalon de phosphore de 1 000 mg/l P (cf. 6.24) dans environ 40 ml d'eau et compléter au trait de jauge avec de l'eau.

Solutions étalons de phosphore de 0,05, 0,2, 0,5, 1 et 2 mg/l P

Dans une série de fioles jaugées de 100 ml, introduire à l'aide de pipettes et de micropipettes 0,05, 0,2, 0,5, 1,0 et 2 ml de la solution étalon de phosphore de 100 mg/l P (cf. 6.24) dans environ 80 ml de solution extractive Mehlich III (cf. 6.14) et compléter au trait de jauge avec la solution extractive.

7. PROTOCOLE D'ANALYSE

Pour toute série d'échantillons, les recommandations des « Lignes directrices concernant l'application des contrôles de la qualité en physico-chimie », DR-12-SCA-01, sont suivies afin de s'assurer d'une fréquence d'insertion adéquate en ce qui concerne les éléments de contrôle et d'assurance de la qualité (blanc, matériaux de référence, duplicata, etc.). Tous ces éléments d'assurance et de contrôle de la qualité suivent les mêmes étapes du protocole analytique que les échantillons.

Les renseignements sur la préparation des échantillons de sol agricole sont présentés dans le document intitulé « Préparation des échantillons de sol agricole ».

7.1. PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

- À l'aide d'une cuillère calibrée, mesurer 3 cm³ de sol (broyé et tamisé à 2 mm) dans un erlenmeyer de 125 ml et ajouter 30 ml de la solution extractive Mehlich III (cf. 6.14).

Agiter avec un agitateur mécanique pendant exactement 5 minutes (120 agitations/minute).

Note – Un volume de sol différent peut être utilisé mais toujours conserver le rapport solide/liquide de 1:10.

- Filtrer sur un papier filtre Whatman n° 40 et recueillir le filtrat.

7.2. DOSAGE

7.2.1. Colorimétrie manuelle

Le dosage est effectué en utilisant un spectrophotomètre dans le visible.

- Préparer une gamme de solutions standard de phosphore dans la solution extractive Mehlich III (cf. 6.14). Utiliser la solution extractive Mehlich III diluée (2/25) (V/V) comme blanc.
- Pipeter 2 ml de l'extrait (standard ou témoin) de sol exempt de turbidité dans une fiole jaugée de 25 ml.
- Ajouter 15 ml d'eau déminéralisée et 4 ml de solution B (cf. 6.19).
- Compléter à 25 ml avec de l'eau déminéralisée. Bien mélanger par inversion.
- Laisser reposer 10 minutes, puis lire l'absorbance à 882 nm.

7.2.2. Colorimétrie automatique (méthode 1)

Le dosage est fait en utilisant un auto-analyseur Technicon.

- Mettre en marche les différents modules de l'auto-analyseur Technicon au moins 30 minutes au préalable.
- Placer chacun des tubes dans leur réactif. Laisser pomper pendant 20 minutes afin que le système s'équilibre.
- Placer la sonde de l'échantillonneur dans le standard le plus élevé. Lorsque la valeur maximum est atteinte, ajuster la valeur du standard sur le papier graphique de l'enregistreur.
- Disposer les solutions standard et les échantillons sur un plateau à échantillons et mettre en marche l'échantillonneur Technicon.
- Lorsque les analyses sont terminées, faire aspirer de l'eau dans les tubes pendant quelques minutes.

7.2.3. Colorimétrie automatique (méthode 2)

Le dosage est fait en utilisant un analyseur de phosphates.

- Démarrer la pompe et faire circuler de l'eau dans le système pendant quelques minutes. Par la suite, faire aspirer les réactifs pendant environ 30 minutes afin d'équilibrer le système.
- La ligne de base est ajustée et l'amplitude maximale est ajustée avec la solution étalon de 8 mg/l P.
- Lorsque le signal obtenu est stable, introduire les solutions étalons et les échantillons.
- Lorsque les analyses sont terminées, faire aspirer de l'eau dans les tubes pendant quelques minutes.
- Fermer le système et détendre les tubes.

7.3. PRÉPARATION SPÉCIALE DE LA VERRERIE

Aucun soin autre que le lavage et le séchage de la verrerie n'est nécessaire pour la détermination du phosphore assimilable.

8. **CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS**

Les résultats d'analyse sont obtenus comme suit :

$$\text{Teneur (ppm)} = \text{concentration lue (ppm)} \times \text{facteur de dilution}$$

$$\text{Teneur (kg/ha)} = \text{concentration lue (ppm)} \times \text{facteur de dilution} \times 2,24$$

9. **CRITÈRES D'ACCEPTABILITÉ**

Les termes utilisés dans cette section sont définis au document DR-12-SCA-01 et sont appliqués comme suit :

Pour les matériaux de référence, les matériaux de référence certifiés, les duplicata et les replica, les critères sont définis par le responsable du laboratoire.

Le blanc de méthode analytique ne doit pas avoir une concentration supérieure à la solution étalon ayant la concentration la plus faible.

Les résultats des étalons de vérification ne doivent pas varier de plus de 15 %.

10. BIBLIOGRAPHIE

AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION, AMERICAN WATER WORKS ASSOCIATION AND WATER POLLUTION CONTROL FEDERATION, Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 19th Edition, 1995.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC et MINISTÈRE DE L'AGRICULTURE, DES PÊCHERIES ET DE L'ALIMENTATION DU QUÉBEC, Préparation des échantillons de sol agricole, DR-12-PEA, Ministère de l'Environnement du Québec, 2003, 8 p.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, Lignes directrices concernant l'application des contrôles de la qualité en physico-chimie, DR-12-SCA-01, Ministère de l'Environnement du Québec, 1996.

CENTRE D'EXPERTISE EN ANALYSE ENVIRONNEMENTALE DU QUÉBEC, Protocole pour la validation d'une méthode d'analyse en chimie, DR-12-VMC, Ministère de l'Environnement du Québec, 2002, 27 p.

CONSEIL DES PRODUCTIONS VÉGÉTALES DU QUÉBEC, Détermination des minéraux et oligo-éléments par la méthode Mehlich, Agdex 533, juin 1988, 10 p.

MEHLICH A., Mehlich III soil extractant: A modification of Mehlich II extractant, *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, Volume 15, No. 12, 1984, p. 1409-1416.

MICHAELSON G. J., C. L. PING. and G.A. MITCHELL, Correlation of Mehlich III, Bray-1 and ammonium acetate extractable P, K, Ca and Mg for Alaska agricultural soils, *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, Volume 18, No. 9, 1987, p. 1003-1015.

TRAACS 800 METHOD, Industrial Method No. 786-86T, Bran + Lubbe, 1978.

TRAN SEN T. et GIROUX M., Disponibilité du phosphore dans les sols neutres et calcaires du Québec en relation avec leur caractéristiques chimiques et physiques, *Canadian Journal of Soil Science*, Volume 67, 1987, p. 1-16.

WOLF ANN M. and D.E BAKER, Comparison of soil test phosphorus by Olsen Bray P., Mehlich I soil test, Mehlich III soil test, *Communication in Soil Science and Plant Analysis*, Volume 16, No. 5, 1985, p. 467-484.