
**Qualité du sol — Méthodes biologiques —
Détermination de la minéralisation de
l'azote et de la nitrification dans les sols, et
de l'influence des produits chimiques sur
ces processus**
(standards.iteh.ai)

*Soil quality — Biological methods — Determination of nitrogen
mineralization and nitrification in soils and the influence of chemicals on
these processes*
<https://standards.iteh.ai/standards/sist/4859a318-cac9-406b-92ef-5e0eb672af39/iso-14238-1997>



Avant-propos

L'ISO (Organisation internationale de normalisation) est une fédération mondiale d'organismes nationaux de normalisation (comités membres de l'ISO). L'élaboration des Normes internationales est en général confiée aux comités techniques de l'ISO. Chaque comité membre intéressé par une étude a le droit de faire partie du comité technique créé à cet effet. Les organisations internationales, gouvernementales et non gouvernementales, en liaison avec l'ISO participent également aux travaux. L'ISO collabore étroitement avec la Commission électrotechnique internationale (CEI) en ce qui concerne la normalisation électrotechnique.

Les projets de Normes internationales adoptés par les comités techniques sont soumis aux comités membres pour vote. Leur publication comme Normes internationales requiert l'approbation de 75 % au moins des comités membres votants.

La Norme internationale ISO 14238 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

L'annexe A fait partie intégrante de la présente Norme internationale. L'annexe B est donnée uniquement à titre d'information.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.itoh.ai)
ISO 14238:1997
<https://standards.itoh.ai/catalog/standards/sist/4859a318-cac9-406b-92ef-5e0eb672af39/iso-14238-1997>

© ISO 1997

Droits de reproduction réservés. Sauf prescription différente, aucune partie de cette publication ne peut être reproduite ni utilisée sous quelque forme que ce soit et par aucun procédé, électronique ou mécanique, y compris la photocopie et les microfilms, sans l'accord écrit de l'éditeur.

Organisation internationale de normalisation
Case postale 56 • CH-1211 Genève 20 • Suisse
Internet: central@iso.ch
X.400: c=ch; a=400net; p=iso; o=isocs; s=central

Imprimé en Suisse

Introduction

Le sol se compose d'éléments vivants et non vivants qui existent dans un milieu complexe et hétérogène. Dans le sol, les microorganismes sont principalement responsables du cycle nutritif et jouent ainsi un rôle essentiel dans le maintien de la fertilité du sol. La minéralisation de l'azote dans les composés organiques pour donner de l'ammonium (ammonification) et ensuite des nitrites et des nitrates (nitrification) constitue l'un des principaux processus microbiens. En clair, toute interférence à long terme avec ce processus pourrait avoir une influence sur la fertilité du sol.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 14238:1997](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4859a318-cac9-406b-92ef-5e0eb672af39/iso-14238-1997)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4859a318-cac9-406b-92ef-5e0eb672af39/iso-14238-1997>

Page blanche

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 14238:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4859a318-cac9-406b-92ef-5e0eb672af39/iso-14238-1997>

Qualité du sol — Méthodes biologiques — Détermination de la minéralisation de l'azote et de la nitrification dans les sols, et de l'influence des produits chimiques sur ces processus

1 Domaine d'application

La présente Norme internationale prescrit des procédures de laboratoire destinées à mesurer la minéralisation de l'azote et la nitrification par la microflore du sol.

Pour les recherches de nature fondamentale ou à titre consultatif, elle donne les grandes lignes des procédures pour l'évaluation des taux et l'importance de la minéralisation de l'azote dans le ou les sol(s) de qualité connue ou inconnue.

En ce qui concerne la recherche de la toxicité éventuelle des produits chimiques pour la minéralisation de l'azote dans les sols, elle présente une procédure simple qui permet d'évaluer l'effet de produits chimiques purs et fournit une base de comparaison des toxicités de différents produits chimiques.

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4859a318-cac9-406b-92ef-5e0eb672af39/iso-14238-1997>

2 Références normatives

Les normes suivantes contiennent des dispositions qui, par suite de la référence qui en est faite, constituent des dispositions valables pour la présente Norme internationale. Au moment de la publication, les éditions indiquées étaient en vigueur. Toute norme est sujette à révision et les parties prenantes des accords fondés sur la présente Norme internationale sont invitées à rechercher la possibilité d'appliquer les éditions les plus récentes des normes indiquées ci-après. Les membres de la CEI et de l'ISO possèdent le registre des Normes internationales en vigueur à un moment donné.

ISO 10381-6:1993, *Qualité du sol — Échantillonnage — Partie 6: Lignes directrices pour la collecte, la manipulation et la conservation de sols destinés à une étude en laboratoire des processus microbiens aérobies.*

ISO 10390 1994, *Qualité du sol — Détermination du pH.*

ISO 10694:1995, *Qualité du sol — Dosage du carbone organique et du carbone total après combustion sèche (analyse élémentaire).*

ISO 11260:1994, *Qualité du sol — Détermination de la capacité d'échange cationique effective et du taux de saturation en bases échangeables à l'aide d'une solution de chlorure de baryum.*

ISO 11261:1995, *Qualité du sol — Dosage de l'azote total — Méthode de Kjeldahl modifiée.*

ISO 11274:—1), *Qualité du sol — Détermination de la caractéristique de la rétention d'eau — Méthodes de laboratoire.*

ISO 11277:—1), *Qualité du sol — Détermination de la répartition granulométrique de la matière minérale des sols — Méthode par tamisage et sédimentation après élimination des sols solubles de la matière organique et des carbonates.*

ISO 11465:1993, *Qualité du sol — Détermination de la teneur pondérale en matière sèche et en eau — Méthode gravimétrique.*

3 Définitions

Pour les besoins de la présente Norme internationale, les définitions suivantes s'appliquent.

3.1 minéralisation de l'azote: Dégradation microbienne d'une substance organique azotée, par les processus d'ammonification et de nitrification, donnant des produits inorganiques, plus particulièrement de l'ammonium et des nitrates.

3.2 ammonification: Dégradation microbienne de l'azote organique en ammoniaque.

3.3 nitrification: Oxydation microbienne de l'ammonium en nitrites puis en nitrates.

3.4 dose d'inhibition (ID_%): Quantité de produit chimique ajoutée au sol qui inhibe effectivement la minéralisation de l'azote d'un pourcentage fixé, à l'issue d'un temps donné, par rapport à un échantillon d'essai témoin non traité par exemple, ID₂₅ et ID₅₀ indiquent respectivement 25 % et 50 % d'inhibition de la minéralisation de l'azote.

(standards.iteh.ai)

ISO 14238:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4859a318-cac9-406b-92ef-5e0eb672af39/iso-14238-1997>

4 Principe

Les taux ou l'importance de la minéralisation de l'azote dans des sols aérobies sont déterminés en mesurant les concentrations d'ammonium, de nitrites et de nitrates libérés au cours de la minéralisation de l'azote contenu dans les matières organiques du sol ou au cours de la minéralisation d'un composé organique azoté ajouté.

L'influence des produits chimiques sur la minéralisation de l'azote est déterminée en amendant le sol à l'aide d'une source d'azote organique facilement dégradable et en mesurant le pourcentage d'inhibition de la formation de produit dans les sous-échantillons traités avec différentes quantités de produit chimique, par rapport à un échantillon d'essai témoin non traité.

5 Matériaux

5.1 Sols

5.1.1 Sélection des sols

5.1.1.1 Essai de minéralisation de base

Pour les essais de base destinés à comparer les capacités de minéralisation de l'azote de différents sols ou à comparer la minéralisation de l'azote dans un sol prélevé à différentes périodes de l'année, s'assurer que le choix du ou des sol(s) est compatible avec l'objectif de la détermination.

1) À publier.

5.1.1.2 Essais de toxicité

Pour les essais destinés à déterminer l'influence des produits chimiques sur la minéralisation de l'azote, utiliser un sol ayant une faible teneur en masse de carbone organique (0,5 % à 1,5 %) et en argile et connu pour être capable de minéraliser la matière organique azotée ajoutée en produit ultime (nitrate).

NOTE — Ces sols représentent le pire des cas car l'absorption est minimale et la disponibilité des produits chimiques vis-à-vis de la microflore est maximale. Le taux de nitrification pouvant être trop faible pour permettre une évaluation valable des effets des produits chimiques sur le processus, les sols dont le pH est inférieur à 5 ne sont pas satisfaisants pour les essais de routine.

5.1.2 Collecte, manipulation et conservation des sols

Pour tous les essais, les recommandations de l'ISO 10381-6 relatives à la collecte, à la manipulation et à la conservation des sols doivent être respectées.

Les informations suivantes doivent être notées pour figurer dans le rapport d'essai:

- date de la collecte;
- date(s) des essais;
- conditions de conservation, y compris température, humidité;
- temps de conservation.

5.1.3 Caractérisation des sols

Les caractéristiques suivantes doivent être déterminées afin de faciliter l'interprétation des données et à des fins comparatives.

a) Caractéristiques physiques:

- répartition granulométrique mesurée conformément à l'ISO 11277;
- teneur en eau, conformément à l'ISO 11465;
- caractéristique de la rétention d'eau, conformément à l'ISO 11274 et/ou capacité de rétention d'eau, conformément à l'annexe A.

b) Caractéristiques chimiques:

- pH du sol, conformément à l'ISO 10390, ou déterminé en solution de KCl ou de CaCl₂;
- capacité d'échange cationique (CEC), conformément à l'ISO 11260;
- teneur en matières organiques, conformément à l'ISO 10694;
- teneur en azote total, conformément à l'ISO 11261.

5.2 Produits et réactifs

5.2.1 Sable de quartz, fin et propre, de granulométrie allant de 0,1 mm à 0,5 mm.

5.2.2 Chlorure de potassium, solution $c(\text{KCl}) = 1 \text{ mol/l}$.

5.2.3 Substrat azoté, à une concentration qui donnera environ 100 mg d'azote par kilogramme de sol.

Par exemple:

- farine de luzerne, avec un rapport de C:N inférieur ou égal à 16:1;
- corne broyée;
- tout autre source organique azotée appropriée.

Il est également admissible de mesurer la minéralisation de l'azote à partir de la matière organique du sol. Dans ce cas, le sol n'est pas amendé à l'aide d'une source d'azote organique.

Pour les essais où seule la nitrification présente de l'intérêt, le sulfate d'ammonium $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ est une source d'azote appropriée.

5.3 Substance d'essai

Une substance d'essai n'est nécessaire que lorsque la recherche a pour but de déterminer si la substance peut avoir une influence sur la minéralisation de l'azote. Les substances d'essai doivent être les plus pures disponibles dans le commerce. Dans de nombreux cas, il peut être approprié d'expérimenter des produits chimiques ou des mélanges de qualité technique ou commerciale.

NOTE — En cas de mélange de supports ou d'ingrédients de formulation avec la substance d'essai, il convient de prendre en compte leur influence sur la minéralisation de l'azote (le cas échéant).

Dans les expériences normalisées utilisant des substances d'essai connues, les données suivantes (le cas échéant) doivent être indiquées:

- nom (IUPAC);
- structure;
- numéro de registre CAS (Chemical Abstracts Service);
- masse moléculaire relative;
- pureté;
- stabilité dans l'eau;
- solubilité dans les solvants organiques;
- pression de vapeur;
- coefficient de partage eau/octanol;
- constante de dissociation des acides (pKa);
- coefficient d'absorption.

iTeh STANDARD PREVIEW
(standards.iteh.ai)

ISO 14238:1997

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4859a318-cac9-406b-92ef-5e0eb672af39/iso-14238-1997>

6 Appareillage

Matériel courant de laboratoire et, en particulier, ce qui suit.

6.1 Agitateur mécanique.

6.2 Centrifugeuse ou papier filtre à plis (exempt de nitrates).

6.3 Instruments pour le mesurage des concentrations d'ammonium, de nitrates et de nitrites dans les extraits de sol.

7 Modes opératoires

7.1 Options expérimentales

7.1.1 Essai de minéralisation de base

Pour la comparaison des capacités de minéralisation de l'azote dans différents sols ou pour la comparaison de la minéralisation de l'azote dans un sol prélevé à différentes périodes de l'année, s'assurer que la conception de l'expérience et les analyses effectuées sont compatibles avec les objectifs de l'expérience.

7.1.2 Essais de toxicité

Afin de déterminer l'influence des produits chimiques sur la minéralisation de l'azote, traiter un seul sol microbiologiquement actif avec au moins cinq concentrations de la substance d'essai. Pour plus de commodité, limiter les analyses au mesurage des quantités de nitrates formés (en milligrammes de NO_3 par kilogramme de masse sèche de sol) dans des échantillons traités et des échantillons témoins après 28 jours d'incubation. Les relations dose-réponse peuvent être établies en utilisant cette conception d'essai simple. Dans certains cas, lorsque, par exemple, les concentrations du sol sont connues ou prévisibles par un tri grossier (par exemple avec les pesticides), les informations dose-réponse peuvent être inutiles, un échantillon non traité et une concentration appropriée de produit chimique d'essai étant suffisants.

7.2 Traitement des sols

7.2.1 Essai de minéralisation de base

Choisir un substrat à partir de la liste indiquée en 5.2.3 bien que le choix final d'un substrat organique spécifique utilisé dépend du but de l'essai. Mélanger soigneusement et en homogénéisant la matière organique choisie avec le sol. Si la minéralisation de l'azote à partir de matière organique du sol est examinée, il n'est pas nécessaire d'ajouter un substrat azoté.

7.2.2 Essai de toxicité

Utiliser l'un des substrats azotés donnés en 5.2.3 pour déterminer l'influence des produits chimiques sur la minéralisation de l'azote.

NOTE — Le choix de composés dont les rapports de C:N sont faibles est probablement le meilleur car peu d'azote libéré au cours de la minéralisation est immobilisé par la microflore du sol.

Mélanger soigneusement le substrat azoté choisi (5.2.3) et l'homogénéiser avec le sol. Puis diviser le sol en six sous-échantillons de masse égale. Mélanger cinq de ces sous-échantillons à différentes concentrations de la substance à examiner (trois répétitions pour chaque dose). Mélanger le sous-échantillon restant, mais ne pas ajouter de substance d'essai (en cas d'utilisation d'un support, ne mélanger qu'avec le sol). Le sous-échantillon ne contenant pas de produit chimique sert d'essai témoin non traité. Si possible, sélectionner une série de concentrations permettant l'estimation des valeurs ID_{25} ou ID_{50} .

Appliquer la substance d'essai en utilisant un support approprié, par exemple:

- a) dans l'eau, en fonction de la solubilité du composé dans l'eau;
- ou
- b) sur une matière solide, par exemple mélangé à du sable de quartz (5.2.1) ou avec une portion du sol examiné.

Avec de nombreux produits chimiques organiques, le sol ou le sable utilisé comme support peut être recouvert du produit chimique d'essai en le dissolvant dans un solvant. Dans ce cas, il convient d'éliminer le solvant par évaporation avant le mélange avec le sol.

7.3 Incubation des sols.

Pour l'examen de la minéralisation de l'azote, incuber les sols de l'une des deux façons suivantes:

- a) des échantillons en vrac de chaque variante ou traitement; ou
- b) une série de sous-échantillons individuels de chaque variante ou traitement.

Lors de l'incubation des variantes sous forme d'échantillons en vrac, préparer de grandes quantités de sol et prélever les sous-échantillons requis (par exemple de 10 g à 100 g) au cours de l'expérience. Les quantités de sol préparées sont déterminées ici par les tailles des échantillons prélevés, le nombre de répétitions utilisées et la durée de l'expérience. Mélanger soigneusement les sols incubés en vrac avant le sous-échantillonnage. Pour des échantillons importants, étaler le sol sur une profondeur maximale de 3 cm afin de faciliter le transfert de l'oxygène. Mélanger également l'échantillon de sol toutes les semaines.

Dans le cas de variantes se présentant sous la forme d'une série de sous-échantillons individuels, diviser chaque variante en une série de sous-échantillons égaux et sacrifier ces sous-échantillons selon le besoin. Lors d'études comportant plusieurs intervalles d'échantillonnage, préparer suffisamment de sous-échantillons pour tenir compte de toutes les répétitions et de tous les temps d'échantillonnage.

NOTE — Le choix des températures, de la teneur en eau du sol et des conditions d'éclairage au cours de l'incubation dépendra du but de l'expérience.

Pour les essais destinés à déterminer l'influence des produits chimiques sur la minéralisation de l'azote, maintenir les sols à (20 ± 2) °C et une pression d'eau dans les pores d'environ 0,02 MPa, à 5 % près [(40 ± 5) % à (60 ± 5) % de capacité de rétention d'eau maximale], à l'obscurité.

NOTE — Une température de (20 ± 2) °C a été choisie comme valeur standard à des fins de comparaison et parce qu'elle donne des résultats relativement rapides. Des températures hors de cette gamme peuvent être utilisées si elles sont plus appropriées (par exemple, en raison de conditions locales, de manque d'équipement de refroidissement).

Dans toutes les expériences, les récipients contenant des sols doivent permettre le libre échange des gaz, ce qui contribue à empêcher le développement de sites anaérobies qui pourraient provoquer des pertes d'azote par dénitrification. Minimiser les pertes en eau du sol en incubant les sols dans des récipients couverts. Déterminer la teneur en humidité du sol à intervalles réguliers et remplacer les pertes par de l'eau déionisée.

NOTE — Cela peut se faire par pulvérisation fine à la surface des échantillons.

Lorsque les potentiels de minéralisation de différents sols sont à comparer, les potentiels de l'eau des sols doivent être aussi semblables que possible. Dans certaines expériences, on peut y parvenir en étalant les échantillons de sol en couche mince à la base d'une fiole et en ajoutant suffisamment d'eau pour recouvrir la surface jusqu'à une profondeur d'environ 1 mm.

iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

7.4 Échantillonnage des sols pour les essais

7.4.1 Essais de minéralisation de base

ISO 14238:1997

Le nombre d'échantillons et la fréquence d'échantillonnage dépendront du but des expériences mais ils doivent être suffisants pour permettre la construction d'une courbe dose-réponse.

7.4.2 Essais de toxicité

Pour déterminer l'influence des produits chimiques sur la minéralisation de l'azote, échantillonner les sols immédiatement après traitement (voir 7.2) (0 jour) et au bout de 28 jours d'incubation (voir 7.3). Dans la plupart des sols non traités, amendés à l'azote organique et microbiologiquement intacts, le taux maximum de minéralisation est atteint en 28 jours. L'échantillonnage au bout de 28 jours permet ainsi généralement une estimation valable des valeurs ID_{25} et ID_{50} .

NOTE — À des fins statistiques au moins trois répétitions par traitement sont recommandées.

7.5 Extraction des sols

Extraire l'ammonium, les nitrites et les nitrates des échantillons de sol soumis à l'essai (voir 7.4) en agitant les échantillons avec une solution de chlorure de potassium (5.2.2) (5 ml de chlorure de potassium pour 1 g de sol en équivalent masse sèche, à 150 tr/min, pendant 60 min. Ne remplir qu'à moitié les récipients contenant le sol et la solution de chlorure de potassium afin d'optimiser l'extraction. Éliminer les fines particules de sol des extraits par filtration ou centrifugation à l'aide d'un papier filtre ou d'une centrifugeuse (6.2). Conserver les extraits exempts de particules à (-20 ± 5) °C pendant un maximum de 6 mois.

Lors de l'utilisation de méthodes d'analyses inédites, s'assurer qu'il est tenu compte de l'interférence des agents d'extraction.

NOTE — Les matériaux d'essai contenant de grandes quantités d'azote minéralisable peuvent contribuer à la formation des quantités d'ammonium, nitrites et nitrates. Lorsque de fortes concentrations de ces substances sont nécessaires pour les essais de toxicité, il convient de le prendre en considération.

7.6 Analyses

Effectuer les analyses quantitatives de l'azote sous la forme ammonium (ammonium-N), nitrates (nitrate-N) et nitrites (nitrite-N) dans les extraits²⁾.

8 Expression des résultats

8.1 Essai de minéralisation de base

Pour les essais de base, envisager la préparation de courbes de taux de minéralisation en utilisant les valeurs des ions azote individuels. Dans ce but et pour permettre d'établir les bilans azotés, convertir les quantités exprimées en milligrammes par kilogramme d'ammonium-N (NH_4^+), de nitrites (NO_2^-) et de nitrates (NO_3^-) déterminées analytiquement (7.6) en ammonium-N (NH_4^+ -N), en nitrite-N (NO_2^- -N) et nitrate-N (NO_3^- -N)

Dans d'autres cas et en particulier pour comparer les taux de minéralisation dans différents sols, exprimer les valeurs de minéralisation de l'azote à chaque intervalle d'échantillonnage comme une valeur unique appelée « N_{min} .»

Utiliser la formule suivante pour déterminer N_{min} :

$$N_{\text{min}} = \left[\left(\text{NH}_4^+ - N_T \right) + \left(\text{NO}_2^- - N_T \right) + \left(\text{NO}_3^- - N_T \right) \right] - \left[\left(\text{NH}_4^+ - N_S \right) + \left(\text{NO}_2^- - N_S \right) + \left(\text{NO}_3^- - N_S \right) \right]$$

où

- ISO 14238:1997
<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/4859a318-cac9-406b-92ef-5e0eb672af39/iso-14238-1997>
- $(\text{NH}_4^+ - N_T)$ est la concentration en ammonium, en milligrammes d'azote par kilogramme de sol sec, au moment de l'échantillonnage;
- $(\text{NO}_2^- - N_T)$ est la concentration en nitrites, en milligrammes d'azote par kilogramme de sol sec, au moment de l'échantillonnage;
- $(\text{NO}_3^- - N_T)$ est la concentration en nitrates, en milligrammes d'azote par kilogramme de sol sec, au moment de l'échantillonnage;
- $(\text{NH}_4^+ - N_S)$ est la concentration en ammonium, en milligrammes d'azote par kilogramme de sol sec, au début de l'incubation;
- $(\text{NO}_2^- - N_S)$ est la concentration en nitrites, en milligrammes d'azote par kilogramme de sol sec, au début l'incubation;
- $(\text{NO}_3^- - N_S)$ est la concentration en nitrates, en milligrammes d'azote par kilogramme de sol sec, au début de l'incubation.

2) Fera l'objet d'une future Norme internationale.