

---

---

**Qualité du sol — Détermination de  
l'activité des déshydrogénases dans les  
sols —**

**Partie 2:  
Méthode au chlorure de iodotétrazolium  
(CIT)**

iTeh STANDARD PREVIEW

(standards.iteh.ai)  
*Soil quality — Determination of dehydrogenase activity in soils —  
Part 2: Method using iodotetrazolium chloride (INT)*

ISO 23753-2:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1501a7db-773b-4c12-bf8e-045fd0bfb53/iso-23753-2-2005>



**PDF – Exonération de responsabilité**

Le présent fichier PDF peut contenir des polices de caractères intégrées. Conformément aux conditions de licence d'Adobe, ce fichier peut être imprimé ou visualisé, mais ne doit pas être modifié à moins que l'ordinateur employé à cet effet ne bénéficie d'une licence autorisant l'utilisation de ces polices et que celles-ci y soient installées. Lors du téléchargement de ce fichier, les parties concernées acceptent de fait la responsabilité de ne pas enfreindre les conditions de licence d'Adobe. Le Secrétariat central de l'ISO décline toute responsabilité en la matière.

Adobe est une marque déposée d'Adobe Systems Incorporated.

Les détails relatifs aux produits logiciels utilisés pour la création du présent fichier PDF sont disponibles dans la rubrique General Info du fichier; les paramètres de création PDF ont été optimisés pour l'impression. Toutes les mesures ont été prises pour garantir l'exploitation de ce fichier par les comités membres de l'ISO. Dans le cas peu probable où surviendrait un problème d'utilisation, veuillez en informer le Secrétariat central à l'adresse donnée ci-dessous.

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 23753-2:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1501a7db-773b-4c12-bf8e-045fd0bfb53/iso-23753-2-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1501a7db-773b-4c12-bf8e-045fd0bfb53/iso-23753-2-2005>



**DOCUMENT PROTÉGÉ PAR COPYRIGHT**

© ISO 2005

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'ISO à l'adresse ci-après ou du comité membre de l'ISO dans le pays du demandeur.

ISO copyright office  
Case postale 56 • CH-1211 Geneva 20  
Tel. + 41 22 749 01 11  
Fax + 41 22 749 09 47  
E-mail [copyright@iso.org](mailto:copyright@iso.org)  
Web [www.iso.org](http://www.iso.org)

Version française parue en 2011

Publié en Suisse

**Sommaire**

Page

<b>Avant-propos .....</b>	<b>iv</b>
<b>Introduction.....</b>	<b>v</b>
<b>1     <b>Domaine d'application .....</b></b>	<b>1</b>
<b>2     <b>Références normatives .....</b></b>	<b>1</b>
<b>3     <b>Principe .....</b></b>	<b>1</b>
<b>4     <b>Réactifs et produits .....</b></b>	<b>2</b>
<b>5     <b>Appareillage .....</b></b>	<b>3</b>
<b>6     <b>Mode opératoire.....</b></b>	<b>3</b>
<b>7     <b>Calculs .....</b></b>	<b>3</b>
<b>8     <b>Rapport d'essai.....</b></b>	<b>4</b>
<b>Bibliographie.....</b>	<b>5</b>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

[ISO 23753-2:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1501a7db-773b-4c12-bf8e-045fd0bfb53/iso-23753-2-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1501a7db-773b-4c12-bf8e-045fd0bfb53/iso-23753-2-2005>

## 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 Normes internationales sont rédigées conformément aux règles données dans les Directives ISO/CEI, Partie 2.

La tâche principale des comités techniques est d'élaborer les Normes internationales. 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.

L'attention est appelée sur le fait que certains des éléments du présent document peuvent faire l'objet de droits de propriété intellectuelle ou de droits analogues. L'ISO ne saurait être tenue pour responsable de ne pas avoir identifié de tels droits de propriété et averti de leur existence.

L'ISO 23753-2 a été élaborée par le comité technique ISO/TC 190, *Qualité du sol*, sous-comité SC 4, *Méthodes biologiques*.

L'ISO 23753 comprend les parties suivantes, présentées sous le titre général *Qualité du sol — Détermination de l'activité des déshydrogénases dans les sols*: [ISO 23753-2:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1501a7db-773b-4c12-bf8e-0456f0b81153/iso-23753-2-2005)

— *Partie 1: Méthode au chlorure de triphényltétrazolium (CTT)*

— *Partie 2: Méthode au chlorure de iodotétrazolium (CIT)*

iTeh STANDARD PREVIEW  
(standards.iteh.ai)

## Introduction

La microflore du sol est responsable de la décomposition et de la transformation des matières organiques, de la stabilité de sa structure et des cycles du carbone, de l'azote, du soufre et du phosphore. Les déshydrogénases, en tant qu'enzymes de la chaîne respiratoire, jouent un rôle fondamental dans la production d'énergie par les organismes. Elles permettent l'oxydation des composés organiques en transférant deux atomes d'hydrogène. Les déshydrogénases sont des composants essentiels du système enzymatique des micro-organismes. L'activité des déshydrogénases peut donc être utilisée comme indicateur des réactions biologiques d'oxydoréduction ainsi que pour mesurer l'activité microbienne dans le sol.

## iTeh STANDARD PREVIEW (standards.iteh.ai)

[ISO 23753-2:2005](https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1501a7db-773b-4c12-bf8e-045fd0bfb53/iso-23753-2-2005)

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1501a7db-773b-4c12-bf8e-045fd0bfb53/iso-23753-2-2005>

**iTeh STANDARD PREVIEW**  
**(standards.iteh.ai)**

ISO 23753-2:2005

<https://standards.iteh.ai/catalog/standards/sist/1501a7db-773b-4c12-bf8e-045fd0bfb53/iso-23753-2-2005>

# Qualité du sol — Détermination de l'activité des déshydrogénases dans les sols —

## Partie 2:

## Méthode au chlorure de iodotétrazolium (CIT)

### 1 Domaine d'application

La présente partie de l'ISO 23753 spécifie une méthode de détermination de l'activité des déshydrogénases dans le sol à l'aide de chlorure de 2-(4-iodophényl)-3-(4-nitrophényl)-5-phényltétrazolium (CIT). Comme la réduction par le CIT est moins sensible à la présence d'O<sub>2</sub>, cette méthode est plus reproductible que la méthode au CTT décrite dans l'ISO 23753-1.

Elle ne s'applique pas à la détermination de l'activité des déshydrogénases dans les couches supérieures (horizons L, F et H) des formes d'humus de forêt à faible activité microbienne (par exemple le mor), ou dans les sols présentant des propriétés réductrices (par exemple les sols saturés d'eau).

### 2 Références normatives

Les documents de référence suivants sont indispensables pour l'application du présent document. Pour les références datées, seule l'édition citée s'applique. Pour les références non datées, la dernière édition de la publication à laquelle il est fait référence (y compris tous les amendements) s'applique.

ISO 10381-6, *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, *Qualité du sol — Détermination du pH*

ISO 11259, *Qualité du sol — Description simplifiée du sol*

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

### 3 Principe

La solution de CIT est ajoutée à un échantillon de sol et le mélange est incubé à 30 °C pendant 18 h. L'iodonitrotétrazolium formazan (INTF) dégagé est extrait à l'acétone (dans le cas des sols humiques) et dosé par photométrie à une longueur d'onde de 485 nm.

NOTE 1 Cette méthode est fondée sur une version modifiée de la méthode décrite dans la Référence [1].

NOTE 2 L'acétone est utilisé comme solvant d'extraction et il n'est pas procédé à une extraction complète des échantillons.

Dans le cas des sols ayant des caractéristiques réductrices (par exemple les sols saturés d'eau), il convient de ne pas utiliser l'activité des déshydrogénases pour mesurer l'activité biologique dans le sol<sup>[3]</sup>. Des composés abiotiques, tels que les composés du fer(II) ou les sulfures, peuvent réduire le CIT.

## 4 Réactifs et produits

### 4.1 Sol

Prélever et préparer des échantillons de sol comme spécifié dans l'ISO 10381-6. Si les échantillons qui ont été tamisés à l'état frais ne sont pas analysés immédiatement, ils peuvent être conservés pendant une durée maximale de trois mois à une température de 4 °C. Déterminer la teneur en matière sèche de l'échantillon conformément à l'ISO 11465.

La conservation pouvant modifier l'activité enzymatique, il convient de ne pas comparer l'activité des déshydrogénases d'échantillons conservés pendant une durée différente.

### 4.2 Acide chlorhydrique, $c(\text{HCl}) = 1 \text{ mol/l}$ .

### 4.3 Solution tampon tris, $c = 0,1 \text{ mol/l}$ .

Dissoudre 12,11 g de tris (hydroxyméthyl) aminométhane dans 600 ml d'eau distillée et ajuster le pH à:

- a) 7,7 pour les sols dont la teneur en carbonate est supérieure à 2 %, ou
- b) 7,9 pour les sols dont la teneur en carbonate est inférieure ou égale à 2 %

en utilisant une solution d'acide chlorhydrique à 1 mol/l, puis compléter à 1 000 ml avec de l'eau distillée. Déterminer le pH conformément à l'ISO 10390.

### 4.4 Solution de substrat (CIT)

Peser 900 mg de chlorure de 2-(4-iodophényl)-3-(4-nitrophényl)-5-phényltétrazolium dans une fiole conique de 100 ml placée sur un agitateur magnétique et y ajouter 100 ml de la solution tampon tris (4.3). Ajouter ensuite le reste de la solution tampon tris et traiter le mélange avec une sonde à ultrasons pendant 1 min à 2 min pour dissoudre le CIT autant que possible et obtenir une suspension. Enlever ultérieurement une partie de la suspension tout en agitant pour garder une solution homogène. Déterminer la texture du sol conformément à l'ISO 11259.

La solubilité du CIT dans la solution tampon tris de pH 7,7 est au plus de 5 mg/ml. Au cours de l'incubation, la dissolution du CIT dans la suspension provoque une légère augmentation jusqu'à 7 mg/ml au maximum. Par conséquent, il convient d'utiliser 9 mg/ml.

### 4.5 Acétone de qualité analytique

### 4.6 Solutions d'INTF

#### 4.6.1 Solution mère d'INTF

Peser 50 mg d'iodonitrotétrazolium formazan dans une fiole jaugée de 100 ml, le dissoudre dans de l'acétone et compléter à 100 ml.

#### 4.6.2 Solutions d'étalonnage d'INTF

Introduire à la pipette respectivement 0 ml, 0,5 ml, 1,0 ml, 2,0 ml, 3,0 ml et 4,0 ml de la solution mère dans une série de fioles jaugées de 50 ml. Ajouter un peu d'acétone (utiliser le solvant d'extraction déjà utilisé dans les échantillons), ajouter 10 ml de solution tampon tris et compléter au trait avec de l'acétone afin d'obtenir des concentrations respectives de 0 µg, 5 µg, 10 µg, 20 µg, 30 µg et 40 µg d'INTF par ml de mélange de solution tampon et d'acétone.

Puisque le CIT et l'INTF sont sensibles à la lumière, il convient de protéger les solutions des rayons lumineux tout au long de l'analyse.



## 5 Appareillage

5.1 Photomètre.

5.2 pH-mètre.

5.3 **Tubes à essai**, par exemple de 2 cm de diamètre et d'une capacité minimale de 30 ml (prise d'essai de 5 g; voir également l'Article 6).

5.4 **Étuve**, réglable à  $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

5.5 **Fioles coniques, fioles jaugées, pipettes et entonnoirs appropriés.**

5.6 **Filtre à plis**, à filtrage lent (90 s à 100 s).

5.7 **Sonde à ultrasons.**

5.8 **Agitateur pour tubes à essai.**

## 6 Mode opératoire

Peser 2,00 g à 5,00 g de sol naturellement humide dans chacun de quatre tubes à essai. Ajouter 2 ml à 5 ml de la solution de substrat (4.4) à trois échantillons. Introduire à la pipette 2 ml à 5 ml de solution tampon tris (4.3), au lieu de la solution de substrat (4.4), dans l'échantillon à blanc. Homogénéiser les échantillons sur l'agitateur pour tubes à essai, obturer les tubes avec un bouchon en caoutchouc et les mettre à incuber dans l'obscurité à  $30 ^\circ\text{C}$  pendant 18 h.

Pour extraire le formazan dégagé, ajouter 20 ml d'acétone aux échantillons et les laisser reposer 2 h à l'abri de la lumière. Agiter les échantillons sur l'agitateur 1 h, et de nouveau 2 h, après avoir ajouté le solvant d'extraction. Filtrer ensuite les échantillons en conditions de semi-obscurité à l'aide d'un filtre à plis.

Dans l'heure qui suit, mesurer l'absorbance des filtrats en fonction du point zéro de la courbe d'étalonnage par photométrie à une longueur d'onde de 485 nm.

## 7 Calculs

Déterminer l'activité des déshydrogénases (pour des sols secs) à l'aide de la courbe d'étalonnage et de l'équation suivante:

$$a = \frac{(\bar{\rho}_{\text{cs}} - \bar{\rho}_{\text{bs}}) \times V \times 100}{m \times \text{DM} \times t}$$

où

$a$  est l'activité des déshydrogénases, en  $\mu\text{g/g}$  de sol sec par heure;

$\bar{\rho}_{\text{cs}}$  est la concentration en INTF moyenne de l'échantillon complet, en  $\mu\text{g/ml}$ ;

$\bar{\rho}_{\text{bs}}$  est la concentration en INTF moyenne de l'échantillon à blanc, en  $\mu\text{g/ml}$ ;

$V$  est le volume de la solution [= volume de la solution de substrat ou de la solution tampon (5 ml) + volume du solvant d'extraction (25 ml)], en ml;

$m$  est la masse initiale de l'échantillon de sol, en g;

DM est la teneur en matière sèche de l'échantillon conformément à l'ISO 11465, en pourcentage;

$t$  est le temps d'incubation (ici 18 h), en h.