

# L'analyse minérale des plantes oléagineuses à l'I.R.H.O. (1)

A. BONVALET (2)

**Résumé.** — La nutrition minérale est fréquemment un facteur limitant de la production. Le diagnostic foliaire permet de situer le niveau de nutrition des plantes et d'en déduire les besoins. Les résultats de multiples essais de fumure minérale réalisés dans des situations très diverses ont permis de déterminer les « niveaux critiques », teneurs en éléments minéraux au-dessous desquelles une application de l'élément déficient a toutes chances d'entraîner, avec une amélioration de la nutrition, un accroissement de la production. Les moyens du laboratoire d'analyse des plantes sont décrits : organisation, techniques analytiques, appareillage. La connexion à un ordinateur accroît la capacité d'analyses et facilite la surveillance des dosages. Une grande rigueur de toutes les opérations, depuis le prélèvement des échantillons jusqu'à l'analyse chimique, est un élément essentiel pour l'utilisation du diagnostic foliaire. Le laboratoire joue aussi un rôle de formation, soit par l'accueil de stagiaires, soit par un concours technique apporté aux nouveaux laboratoires installés dans les pays tropicaux.

La nutrition minérale, par la place qu'elle occupe dans le métabolisme végétal, est fréquemment un facteur limitant dans le niveau de production d'une culture. Une des méthodes d'investigation de la nutrition minérale est le diagnostic foliaire.

Le diagnostic foliaire a pour but de déceler, par une analyse chimique de la feuille, les besoins de la plante, les « carences » ou les « déficiences » en certains éléments minéraux.

Les bases en ont été établies en France par Lagatu et Maume vers 1925. Cette technique a été appliquée aux plantes oléagineuses par l'I.R.H.O. et, par son développement, est devenue un instrument de travail extrêmement efficace permettant d'orienter la fumure minérale.

Les comparaisons entre de multiples essais de fumure minérale ont permis de relier au rendement la teneur en éléments minéraux et de déterminer les « niveaux critiques » définis arbitrairement, comme la teneur d'un élément en p. 100 de matière sèche en dessous de laquelle une application de l'engrais approprié a beaucoup de chances de donner une réponse économiquement valable.

Pour la détermination de ces niveaux critiques, il a fallu, en particulier, réaliser des milliers de dosages chimiques par des méthodes standardisées, contrôlées d'une façon permanente.

L'interprétation de ces données ne pourra être faite de façon valable que si les résultats chimiques fournis sont précis et fiables.

Le diagnostic foliaire orienté utilisant la comparaison de plantes saines ou malades nécessite l'obtention de résultats précis de laboratoire.

Le laboratoire d'analyses minérales des plantes s'est considérablement développé au cours des années, suivant les demandes du Service agronomique, tant pour l'expérimentation et la recherche que pour les contrats portant sur la zone intertropicale du monde entier. Le nombre des échantillons foliaires analysés annuellement atteint maintenant le chiffre de 10 000.

Les techniques utilisées ont été modifiées et améliorées depuis la création du laboratoire de l'I.R.H.O. [1, 2], paral-

èlement à l'évolution du matériel servant aux diverses déterminations.

A Montpellier, le regroupement du GERDAT, a permis de connecter les appareils de mesure à un ordinateur qui, en même temps, permet l'identification des échantillons, les calculs et le stockage en mémoire des résultats avant leur édition.

## I. — RÉCEPTION DES ÉCHANTILLONS ET PRÉPARATION

Les prélèvements foliaires, collectés suivant des règles précises et préalablement séchés avant leur expédition pour en assurer la meilleure conservation, arrivent au Département Agronomie de l'I.R.H.O.

Un numéro d'enregistrement, dans un fichier réservé, leur est affecté par l'ordinateur d'après le classement logique fait par le demandeur ; en outre, le programme d'identification permet l'introduction systématique et régulière d'un échantillon « témoin » de référence.

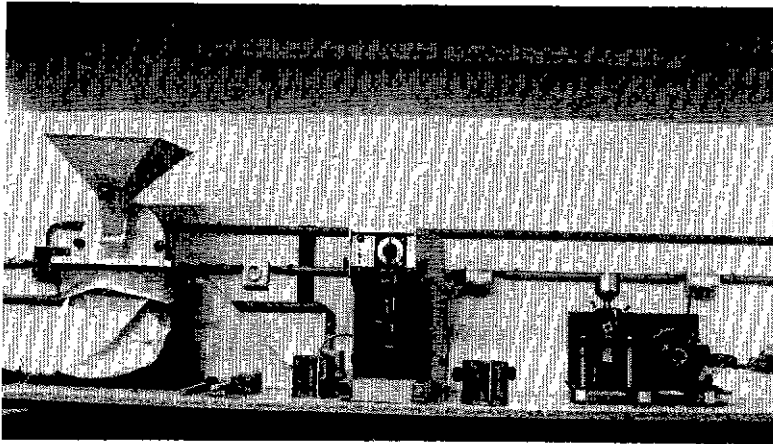
Les échantillons se présentent en petits paquets de morceaux de folioles pour le palmier et le cocotier, en sachets contenant des feuilles entières pour les arachides, accompagnés d'une fiche signalétique, et leur poids varie entre 5 et 50 g. Un séchage complémentaire est effectué à 60 °C en étuve pour faciliter le broyage ; celui-ci peut être fait, suivant l'importance de l'échantillon, à l'aide de différents appareils : un broyeur à marteaux Gondard (tamis 5/10 mm) pour les plus gros, un broyeur à couteaux Wiley (tamis 40 mesh), ou le MB 19 C.N.T.A., ou même un simple moulin à café pour les autres (Fig. 1).

La poudre fine obtenue est transvasée, ainsi que la fiche signalétique, dans une enveloppe en papier kraft sur laquelle est noté le numéro de l'échantillon avec une indication de sa nature. La conservation des échantillons en attente d'analyse est assurée dans la salle de broyage, ceux-ci étant classés dans des boîtes en carton portant indication des numéros et de la nature ; le stockage des échantillons se fait dans cette même salle pendant 5 ans.

Les déterminations demandées sont toujours celles des éléments majeurs : N, P, K, Ca, Mg et Na pour certains, le chlore et le soufre sur une grande partie des échantillons, ainsi que le bore. Les autres oligoéléments : Fe, Cu, Mn, Zn, Al et Mo sont dosés à la demande.

(1) Le laboratoire de l'I.R.H.O. a été regroupé à Montpellier en 1974, au sein des services communs du GERDAT.

(2) Ing. ENSCR, Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux (I.R.H.O.), Chef de Service du Laboratoire AMP du GERDAT. I.R.H.O./GERDAT, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex (France).



◀ FIG. 1 — Broyeurs (*Grinders*) Gondard, C.N.T.A., Wiley

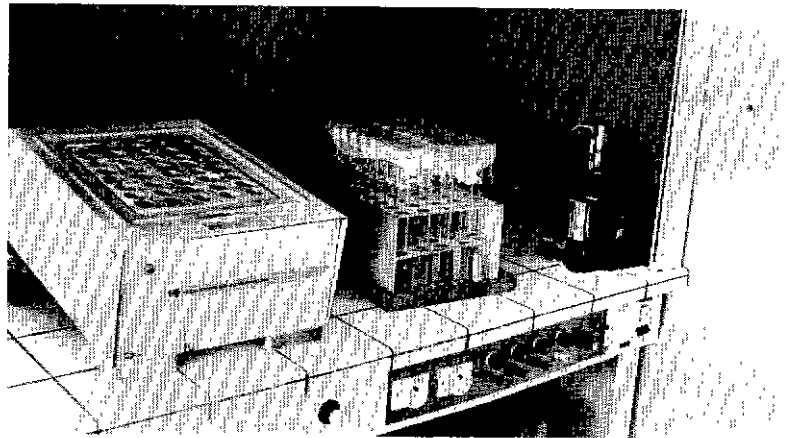
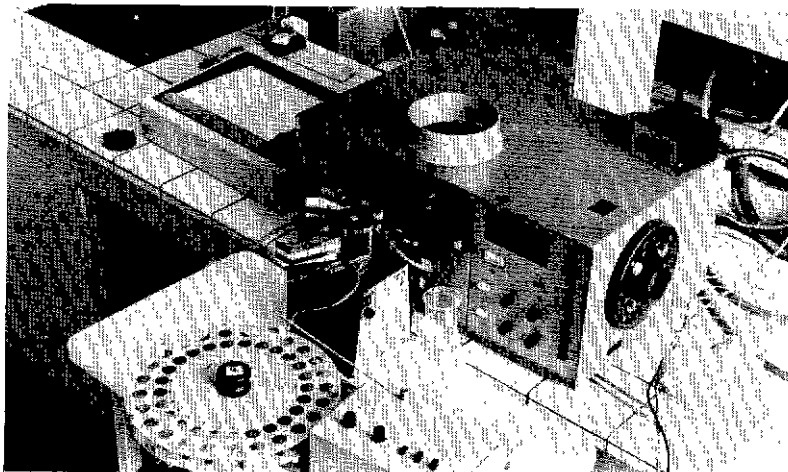


FIG. 2 — Minéralisateur (*Mineraliser*) BD 40 ▶



◀ FIG. 3. — Spectrophotomètre d'Absorption Atomique (*Atomic Absorption spectrophotometer*)

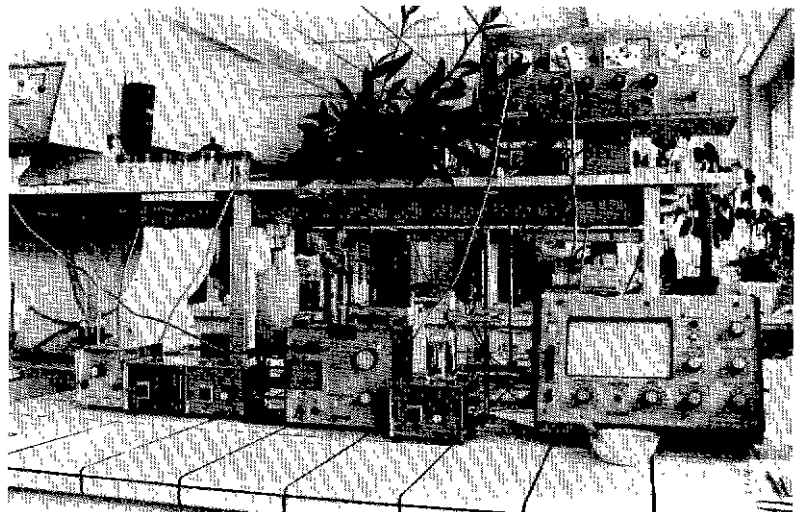


FIG. 4. — Dosage du chlore (*Chlorine determination*). ▶

## Organisation du laboratoire.

Le laboratoire reçoit des séries de demandes élémentaires d'analyses, portant généralement sur 200 à 250 échantillons par semaine. Sur chaque demande élémentaire, sont indiqués les numéros des échantillons, leur identification agronomique ainsi que les éléments à déterminer avec leur ordre de priorité.

L'équipe du laboratoire est formée de 2 techniciens, d'une chimiste et de 3 aides de laboratoire dont une est spécialisée pour le dosage du chlore.

La détermination de l'azote est confiée à une aide de laboratoire, tandis que les 2 techniciens et 1 aide de laboratoire qualifiée préparent les solutions pour les dosages de P, K, Ca, Mg et Na ainsi que pour les dosages d'oligo-éléments Fe, Cu, Mn et Zn ; une 3<sup>e</sup> chimiste prend en charge les dosages de S et de B. L'un ou l'autre des techniciens qualifiés assurera les manipulations nécessaires à la détermination d'aluminium ou de molybdène suivant les demandes. Au moment de la pesée, les numéros des échantillons sont marqués sur des feuillets, par séries de 15 correspondant aux plateaux de capsules de silice et aux portoirs de tubes utilisés pour la conservation des solutions jusqu'aux dosages. Le matériel accessoire (caisses en bois, plateaux à capsules, portoirs à tubes, bancs à filtrer, etc.) a été fabriqué sur place. L'exécution d'un nombre d'analyses de plus en plus élevé a nécessité l'adoption de méthodes rapides, adaptées à l'emploi d'appareils entièrement automatisés, connectés à un ordinateur et qui sont servis par les techniciens.

L'utilisation de l'ordinateur implique des contraintes telles que : respect de l'ordre d'enregistrement des numéros d'échantillons, analyse dans l'ordre logique, non-inversion des standards et travail très régulier. Le lavage de vaisselle a été réduit au minimum en remplaçant la verrerie aussi souvent que possible par des récipients en matière plastique, à jeter après usage.

## II. — TECHNIQUES ANALYTIQUES

### 1. — Dosage de l'azote.

La méthode Kjeldahl est utilisée pour la minéralisation des échantillons et est effectuée dans un minéralisateur BD40 Technicon.

Cet appareil permet d'attaquer, dans une même série, 40 échantillons. Les solutions diluées obtenues sont stockées après homogénéisation en attente du dosage colorimétrique (Fig. 2).

La réaction de Berthelot (obtention de bleu d'indophénol par combinaison de l'ion  $\text{NH}_4$  avec le phénate de l'hypochlorite de sodium) est utilisée pour la détermination colorimétrique à l'aide d'un autoanalyseur Technicon, constitué par :

- un distributeur sur le plateau duquel sont placés solutions, échantillons et standards dans un ordre bien déterminé,
- une pompe à galets qui, en écrasant des tubes de CPV calibrés, provoque l'aspiration des solutions à doser et des divers réactifs, leur mélange par passage dans des petites bobines de verre et la séparation des portions de solutions par des bulles d'air,
- un bain thermostaté contenant une bobine dite « de délai » où s'effectue et se complète la réaction colorée,
- un colorimètre à filtres relié à un enregistreur.

Dans le système d'organisation actuel, l'enregistreur est lui-même relié à l'IBM 7 par l'intermédiaire d'un potentiomètre de recopie.

Le plateau distributeur a sa vitesse commandée par une came qui fixe en même temps la durée de prélèvement de l'échantillon et la durée de rinçage : une came de 40 l/1 indique que 40 godets sont dosés en 1 h avec un temps de prélèvement identique au temps de rinçage. Les solutions standards de travail sont préparées par dilution à partir d'une solution de  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  à 2 000  $\mu\text{g N/ml}$  et contiennent de l'acide sulfurique et du sulfate de sodium.

Lorsque le technicien met en route l'autoanalyseur, il donne à l'ordinateur, par l'intermédiaire du périphérique (imprimante), l'ordre de prendre les informations de son appareil par un programme approprié puis, en fin de journée, le programme des paramètres est introduit ; dans ce programme, on indique :

- le numéro de l'appareil,
- le temps de prélèvement,
- le nombre de standards et leur valeur,
- le numéro du premier échantillon,
- le numéro total d'échantillons dosés,
- le nombre de séquences identiques,
- la quantité d'échantillons dans chaque séquence.

A l'arrêt de la prise d'information, ordonnée par le technicien, l'ordinateur édite un listing comportant les numéros d'échantillons et leur valeur permettant de vérifier, avant de rentrer les résultats en mémoire, si les témoins d'analyse sont corrects et s'il n'y a pas eu d'incident (ce que l'on peut d'ailleurs vérifier sur l'enregistrement).

### 2. — Dosage du phosphore.

La minéralisation des échantillons est effectuée par voie sèche. Après traitement chlorhydrique, les solutions obtenues sont conservées pour les dosages de P d'une part, de K, Na, Ca et Mg d'autre part.

Un autoanalyseur Technicon est utilisé pour le dosage du phosphore et la réaction colorée en jaune du phosphovanadomolybdate est mise à profit. Le même processus de travail est utilisé avec l'ordinateur que dans le cas du dosage de l'azote.

La surveillance de la valeur des échantillons témoins est constante : pour permettre la bonne prise d'information par l'ordinateur, une vitesse de 40 godets/h est utilisée aussi pour ce dosage. Les standards sont préparés par dilution à partir d'une solution de phosphate monopotassique à 1 000  $\mu\text{g P/ml}$  et contiennent la même quantité d'acide chlorhydrique que les échantillons. Il est ainsi aisé de déterminer la teneur en phosphore d'environ 200 à 225 échantillons pendant une journée de travail.

### 3. — Dosage du potassium et du sodium.

L'utilisation du photomètre de flamme Electrosynthèse modèle Ph F62, équipé de filtres sélectifs, employé déjà à Paris dès 1967, est continue au laboratoire AMP de Montpellier.

L'automatisation en a été accrue en équipant ce photomètre d'un passeur d'échantillons Technicon et d'une pompe à dilution permettant de travailler dans les conditions de sensibilité de l'appareil. Les résultats, lisibles sur un millivoltmètre, sont copiés par un enregistreur Sefram relié à l'ordinateur. Ce dernier fait toujours le même travail : prise d'information, calculs des résultats et mise en mémoire. La cadence de 60 godets/h (avec un temps de prélèvement



double de celui du rinçage) permet un enregistrement net, donc une prise d'informations claire pour l'IBM, par l'intermédiaire du potentiomètre de copie placé dans l'enregistreur.

Le principe du dosage est simple : les solutions à analyser sont pulvérisées finement dans une flamme air-propane et les radiations émises par les divers éléments ainsi excités sont filtrées par des filtres interférentiels avant de frapper une cellule photoélectrique. On compare les signaux donnés par les échantillons à ceux des solutions standards. La sensibilité de l'appareil nécessite des dilutions allant en général du 1/10 au 1/20, suivant la teneur des échantillons.

Les standards utilisés sont préparés par dilution à partir de solutions standards du commerce à 1 000 µg/ml de K ou de Na, couvrent l'échelle : pour K : de 25 à 250 µg/ml, pour Na : de 5 à 40 µg/ml et sont placés en tête de chaque série d'échantillons sur le plateau distributeur avant de passer par la pompe à dilution. Le technicien, de la même façon, donnera à l'ordinateur l'ordre de prendre les informations venant de l'appareil et, après avoir introduit son programme « paramètres », examinera les résultats après édition du listing par l'ordinateur, puis les rentrera en mémoire.

#### 4. — Dosage du calcium et du magnésium.

Ces deux déterminations sont faites par spectrophotométrie d'Absorption Atomique. Les radiations émises par une lampe à cathode creuse, réalisée avec l'élément à doser, traversent une flamme acétylène-air dans laquelle on pulvérise la solution de l'échantillon à analyser. Les éléments dissociés de leurs composés chimiques et à l'état fondamental absorbent les radiations provenant de la lampe à cathode creuse, d'où un abaissement de l'intensité de la lumière reçue par le photomultiplicateur. L'appareil utilisé couramment est un Techtron 1200 de la gamme Varian, équipé d'un distributeur d'échantillons et d'une pompe à dilution (Fig. 3). Les réponses lues sur un cadran à affichage numérique sont transmises à un enregistreur. Le spectrophotomètre est connecté directement à l'IBM 7 qui fournira les résultats après la journée de manipulations.

Les dosages de Ca et Mg nécessitent l'emploi d'un tampon spectral, le lanthane, destiné à éliminer les interférences importantes dues au phosphore. La sensibilité des appareils nécessite des dilutions qui, généralement, sont : le 1/5 pour le calcium, et le 1/20 pour le magnésium. Les gammes de travail obtenues par dilution à partir des solutions du commerce à 1 000 µg/ml de Ca et Mg seront diluées et dosées en même temps que les échantillons.

Les paramètres de travail sur le AA 1200 sont les suivants :

	$\lambda$	Fente	Gamme standard
Ca . . . . .	422,7 nm	0,5 nm	10 à 100 µg/ml
Mg . . . . .	285,2 nm	0,2 nm	5 à 50 µg/ml

Le prélèvement automatique des échantillons et la transmission des informations, ainsi que le temps d'intégration des résultats sur l'appareil, nécessitent un temps de prélèvement d'au moins 20 s pour chaque godet, et un temps de rinçage identique. Dans ce cas aussi, le calcul effectué par l'ordinateur permet la vérification rapide des échantillons témoins avant la rentrée en mémoire des résultats.

#### 5. — Dosage du chlore.

La méthode potentiométrique utilisée à l'I.R.H.O. depuis 1970 s'est révélée très valable et très efficace par sa rapidité et sa justesse.

L'appareil utilisé est un potentiomètre-millivoltmètre TTT2 de Radiometer équipé de 2 électrodes, l'une d'argent, l'autre servant de référence, au sulfate mercurieux (Fig. 4).

Le nitrate d'argent (N/15) est ajouté à la solution à doser au moyen d'une autoburette couplée avec le potentiomètre. L'extraction des chlorures est réalisée par simple agitation pendant 5 min, sur un agitateur magnétique, de 1 g d'échantillon de feuilles pulvérisées, par 50 ml d'acide nitrique dilué. L'addition de  $\text{NO}_3\text{Ag}$  titré se fait automatiquement et la burette est stoppée lorsque le point d'équivalence de la réaction est atteint.

Un programme de calcul adapté permet au manipulateur d'entrer en mémoire les résultats dans l'IBM. Le dosage d'une soixantaine d'échantillons est fait très facilement dans la journée.

#### 6. — Dosage du soufre.

Une minéralisation oxydante (addition d'acide nitrique et de nitrate de magnésium), suivie d'une calcination, transforme le S présent dans la feuille en sulfate ; celui-ci sera dosé par turbidimétrie automatique, réalisée à l'aide de l'autoanalyseur Technicon.

L'addition de chlorure de baryum provoque la formation d'un précipité de  $\text{SO}_4\text{Ba}$  qui est maintenu en suspension par de la gélatine. Une vanne placée sur le circuit d'analyse permet le rinçage des tubes calibrés et de la cuve du colorimètre avec une solution d'EDTA entre chaque échantillon.

Les valeurs des témoins sont contrôlées sur le listing de l'ordinateur et les résultats rentrés en mémoire ensuite.

#### 7. — Dosage des oligoéléments.

##### a) Fe, Mn, Zn, Cu.

La détermination de ces éléments est très aisément effectuée par spectrophotométrie d'Absorption Atomique. Cependant, la technique de minéralisation est plus longue et plus complexe que dans le cas des éléments majeurs, afin d'éviter des pertes par volatilisation, adsorption sur la silice ou formation de silicates insolubles.

La calcination est alors réalisée sur des prises d'essais plus importantes (2 g) et dans des capsules de platine qui permettront le traitement par l'acide fluorhydrique en vue d'éliminer la silice restant sur les filtres après insolubilisation et dissolution des sels directement solubles dans l'acide chlorhydrique dilué.

Les modes opératoires utilisés pour ces déterminations sont très proches de ceux préconisés par les méthodes de référence du Comité Inter-Instituts d'Analyse foliaire.

Ce mode de minéralisation avec destruction de la silice peut aussi convenir pour la détermination des éléments majeurs en opérant une dilution appropriée.

La sensibilité de l'Absorption Atomique permet de descendre très bas dans les gammes de dosage.

Les conditions opératoires utilisées habituellement sont les suivantes :

	$\lambda$ nm	Fente nm	Gamme standard usuelle
Fe . . . . .	248,3	0,5	1,5 à 15 µg/ml
Cu . . . . .	324,7	0,5	0,1 à 1 µg/ml
Mn . . . . .	279,8	0,5	1 à 10 µg/ml
Zn . . . . .	213,8	0,5	0,4 à 4 µg/ml

L'appareil est utilisé directement sans pompe à dilution.

**b) Aluminium.**

Une simple calcination de 1 g de feuilles en poudre est effectuée à 500 °C dans une capsule de silice. Après reprise par acide chlorhydrique dilué et filtration, la solution obtenue est traitée à l'autoanalyseur : la formation d'une laque rouge avec l'Eriochrome cyanine est utilisée pour ce dosage, en présence d'un tampon. Le maximum d'absorption se situe à 535 nm ; l'interférence du fer Fe<sup>+++</sup> est supprimée par l'addition d'acide ascorbique et celle du P compensée par l'emploi de standards complexes en contenant.

**c) Molybdène.**

La faible teneur de cet élément dans les feuilles (en général moins de 1 ppm) rend ce dosage particulièrement délicat.

La prise d'essai de 5 g est calcinée au four à moufle à 500 °C puis, après insolubilisation de la silice, reprise par l'acide chlorhydrique dilué. Le complexe vert formé par le Dithiol et Mo<sup>VI</sup> est extrait par de l'alcool isoamylique. Les interférences du fer (Fe<sup>+++</sup>) sont éliminées par sa réduction en Fe<sup>++</sup> et par l'acide tartrique.

La mesure de la densité optique est effectuée à 680 nm et la gamme de standards couvre l'intervalle de concentration entre 0 et 0,6 µg Mo/ml.

**d) Bore.**

Le dosage colorimétrique de cet élément a beaucoup évolué ces dernières années. Nous avons commencé dès 1972 à remplacer la Quinalizarine par de la Diantrimide et à automatiser cette détermination ; cependant, il subsistait toujours un inconvénient majeur : le milieu acide-anhydride acétique était remplacé par de l'acide sulfurique concentré.

La littérature, en 1969, a donné l'indication d'un nouveau réactif spécifique, l'Azométhine H, facile à préparer au laboratoire et permettant de travailler moins dangereusement en milieu acétique dilué.

Plusieurs essais, ainsi que les travaux du Comité Inter-Instituts d'Analyse foliaire, ont conduit à l'application usuelle de cette méthode et à l'utilisation de l'autoanalyseur Technicon. Un tampon contenant de l'EDTA élimine les interférences rencontrées dans les plantes. L'échantillon (1 g) est calciné, repris par de l'acide acétique à 25 p. 100 et centrifugé. La colorimétrie est faite sur une aliquote de la liqueur surnageante.

**8. — Édition des résultats.**

Lorsqu'un technicien a dosé un élément dans la série d'échantillons à analyser, l'indication en est portée sur un cahier spécial après la rentrée en mémoire des résultats.

Toutes les déterminations étant effectuées, l'introduction par le technicien d'un programme d'édition dans l'ordinateur permet d'obtenir un tableau des résultats correspondant aux échantillons analysés (Tabl. I).

Un programme spécifique permet d'avoir le coefficient de variation des éléments dosés pour les échantillons témoins de la série demandée (Tabl. II).

Les tableaux de résultats sont ensuite transmis aux agronomes pour examen et les dosages de contrôles complémentaires, à effectuer, remis au laboratoire.

TABLEAU I

Édition de résultats d'analyses  
(Editing of analytical results)

Année : 80 (Year)	Numéro de la demande : 166 (N° of request)						Page : 1
	N	P	K	Ca	Mg	Cl	S
4859	2,57	0,152	0,923	0,605	0,265	0,742	0,157
4860	2,82	0,172	0,973	0,783	0,280	0,599	0,177
4861	2,48	0,151	0,999	0,622	0,287	0,653	0,155
4862	2,62	0,158	1,043	0,715	0,271	0,723	0,160
4863	2,61	0,165	1,044	0,585	0,337	0,842	0,159
4864	2,65	0,165	0,806	0,653	0,337	0,820	0,166
4865	2,64	0,159	0,841	0,651	0,311	0,792	0,140
4866	2,30	0,139	0,843	0,600	0,330	0,795	0,150
4867	2,57	0,152	0,834	0,541	0,325	0,632	0,164
4868	2,57	0,153	0,871	0,652	0,310	0,672	0,158
4869	2,57	0,158	0,810	0,626	0,366	0,951	0,128
4870	2,65	0,164	0,887	0,598	0,315	0,815	0,154
4871	2,61	0,155	0,914	0,526	0,300	0,633	0,147

TABLEAU II

Coefficients de variation  
(Coefficients of variation)

Année : 80 (Year)	Calcul coef de var. Fichier I.R.H.O. (Calculation coef. of var. - I.R.H.O. Records)						20 <sup>e</sup> série (20th run)
	N	P	K	Ca	Mg	Cl	S
4860	2,82	0,172	0,973	0,783	0,280	0,599	0,177
4880	2,82	0,170	1,005	0,790	0,273	0,596	0,175
4900	2,90	0,167	1,010	0,773	0,268	0,595	0,000
4920	2,84	0,170	0,984	0,789	0,271	0,600	0,000
4940	2,85	0,167	0,997	0,791	0,284	0,000	0,000
4960	2,79	0,166	0,959	0,764	0,284	0,000	0,000
4980	2,81	0,166	0,948	0,751	0,288	0,000	0,000
5000	2,78	0,168	0,985	0,782	0,294	0,598	0,000
5020	2,86	0,169	1,017	0,789	0,278	0,597	0,000
5040	2,84	0,167	0,967	0,753	0,272	0,596	0,187
5060	2,75	0,168	0,966	0,736	0,288	0,596	0,185
5080	2,79	0,167	0,972	0,766	0,284	0,596	0,183
5100	2,77	0,169	0,957	0,778	0,280	0,601	0,190
5120	2,74	0,167	0,931	0,746	0,290	0,602	0,192
NB. VAL.	14	14	14	14	14	11	7
Moy. (Mean) X :	2,81	0,168	0,976	0,771	0,281	0,598	0,184
E.T. (S.D.) X :	0,044	0,002	0,025	0,018	0,008	0,002	0,006
C.V.X :	1,57	1,00	2,53	2,37	2,82	0,41	3,34

**III. — CONTRÔLES**

Les échantillons ne sont en principe analysés qu'une fois, car un contrôle permanent de la qualité du travail est assuré grâce à la surveillance de la valeur des « échantillons témoins » qui s'intègrent et suivent le cycle complet des opérations d'analyses avec le calcul des coefficients de variation pour chaque élément dosé. Ces « échantillons témoins » sont obtenus à partir de lots de quelques kilogrammes de feuilles, soigneusement broyées et homogénéisées avant leur répartition dans des enveloppes en papier kraft et qui sont introduits dans les séries d'échantillons.

La détection des résultats aberrants est effectuée par le service « Statistiques » qui contrôle les diagrammes de corrélation entre les divers éléments. Des analyses de contrôles supplémentaires sont demandées pour les échantillons si les points représentatifs se situent hors des ellipses de corrélation [4], ou après confrontation avec les résultats obtenus précédemment, ou encore par rapport aux réponses aux expérimentations agronomiques.

En dehors des précautions observées au laboratoire et de la surveillance constante exercée pour assurer la qualité des analyses, il est indispensable de pouvoir comparer les résultats obtenus à ceux provenant d'autres laboratoires.

Dans ce but, le laboratoire de l'I.R.H.O. poursuit sa participation à la chaîne internationale d'analyses créée par l'Université d'Agronomie de Wageningen (Pays-Bas) : chaque laboratoire membre de cette chaîne analyse 6 échantillons de plantes, reçus tous les deux mois, selon ses propres méthodes et détermine les éléments qui l'intéressent. L'ensemble des résultats de la chaîne est communiqué très rapidement sous forme d'un bulletin comportant, en regard des résultats, le nom du laboratoire correspondant. En fin d'année, un listing récapitulatif est envoyé par Wageningen à chaque participant ; les éléments les plus susceptibles d'écarts y sont indiqués, donc à surveiller spécialement.

Le Comité Inter-Instituts des Techniques d'Analyse foliaire prend une part active dans cette voie. Créé en 1951, il réunissait les laboratoires de huit Instituts spécialisés [3], actuellement regroupés dans le cadre du GERDAT ; il est composé maintenant d'une trentaine de laboratoires de recherches, tant français qu'étrangers [5, 6].

Les conclusions de ces travaux ont été publiées à maintes reprises, notamment au cours des Colloques sur le Contrôle de l'Alimentation des Plantes cultivées. Des méthodes de référence ont été publiées pour le dosage des éléments majeurs N, P, K, Ca et Mg [7], puis de Ca et Mg ainsi que des oligoéléments Cu, Mn, Fe et Zn par spectrophotométrie d'Absorption Atomique [8]. Un travail de mise au point a été fait sur le dosage du bore et sur celui du chlore [9]. Le dosage du soufre pose encore quelques problèmes et les études actuelles portent sur la détermination d'éléments traces, Pb, Cd, Co, Ni et Mo.

Les réunions de ce comité, au rythme de deux fois l'an, ont permis d'avancer considérablement les travaux et de constituer, à la suite de ces études, une banque de 16 étalons végétaux très divers [10, 11] analysés maintenant par de

nombreux laboratoires étrangers, selon des méthodes nouvelles plus sophistiquées telles que l'Activation neutronique, le Plasma inductif, la Fluorescence X.

La formation et le perfectionnement de l'équipe de techniciens du laboratoire permettent l'obtention de résultats fiables. Les coefficients de variation faibles des « témoins » sont une marque de la qualité intrinsèque de l'analyse chimique, ainsi que la répétabilité de la valeur moyenne des teneurs obtenues pour les divers éléments. Il est important de faire confiance à un laboratoire stable.

La comparaison des résultats sur plusieurs années sera faite aisément et les conditions et formules de fumure pourront être obtenues plus sûrement et donc avec économie.

Les méthodes d'analyses propres à chaque laboratoire doivent être conservées, mais peuvent être améliorées de façon permanente.

## CONCLUSION

La rigueur dans le prélèvement des échantillons, liée à la fiabilité de l'analyse chimique des feuilles, permettra une plus grande facilité pour des conseils de fumures économiques. Au laboratoire, la précision et la sensibilité recherchées pour les analyses sont de plus en plus grandes surtout dans certains cas, tels le soufre et les éléments traces. L'apparition de techniques et d'appareils nouveaux peut le permettre ; la collaboration étroite avec des laboratoires extérieurs et les laboratoires membres du Comité Inter-Instituts amène des progrès permanents.

En même temps, le laboratoire d'Analyses Minérales des Plantes prend également une part active à la formation : sous l'égide de la F.A.O., du Ministère de la Coopération, du Ministère des Affaires étrangères, dans le cadre de l'Assistance Technique, des ingénieurs et techniciens étrangers (Philippines, Indonésie, Madagascar, Espagne...) viennent se perfectionner à Montpellier.

Des stagiaires français, aussi, viennent de collèges ou de lycées agricoles au cours de leurs études pour l'obtention d'un brevet professionnel.

De même, l'implantation de laboratoires d'analyses a été organisée et surveillée par des missions aux Philippines et en Indonésie, portant principalement sur le diagnostic foliaire du cocotier, dans le cadre de contrats F.A.O.-I.R.H.O. [12].

## BIBLIOGRAPHIE

- [1] VALANTIN G., BESSUAND J., ESTIENNE A. (1952). — *Oléagineux*, 7, n° 6, p. 363-365.
- [2] BONVALET A., SERVANT M. (1973). — *Oléagineux*, 28, n° 6, p. 301-306.
- [3] Instituts regroupés au sein du GERDAT à Montpellier :  
 — I.F.C.C. (Institut français du Café, du Cacao et autres Plantes stimulantes) Direction : 34, rue des Renaudes, 75017 Paris,  
 — I.R.A.T. (Institut de Recherches agronomiques tropicales et des Cultures vivrières) Direction : 110, rue de l'Université, 75340 Paris cedex 07,  
 — I.R.C.A. (Institut de Recherches sur le Caoutchouc) Direction : 42, rue Scheffer, 75016 Paris,  
 — I.R.C.T. (Institut de Recherches du Coton et des Textiles exotiques) Direction : 34, rue des Renaudes, 75017 Paris,  
 — I.R.F.A. (Institut de Recherches sur les Fruits et Agrumes) Direction : 6, rue du Général-Clergerie, 75016 Paris,  
 — I.R.H.O. (Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux) Direction : 11, square Pétrarque, 75016 Paris.
- [4] BACHY A. (1971). — *Oléagineux*, 26, n° 12, p. 747-752.
- [5] Participants du Comité Inter-Instituts d'Étude des Techniques Analytiques du Diagnostic foliaire :  
 — C.E.A., SHI-Latin, BP 38, 26700 Pierrelatte (France)  
 — Centro de Edafología y Biología, Aplicada Del Cuarto, Apartado de Correos 1052, Cortijo el Cuarto, Sevilla (Espagne),  
 — C.N.A.R.B.R.L., 685, route d'Arles, BP 4001, 30001 Nîmes cedex (France),  
 — C.N.R.S.-C.E.P.E., BP 5051, 34033 Montpellier cedex (France),  
 — Estacion experimental del Zaidin, Avenida Cervantes, Granada (Espagne),  
 — Faculté d'Agronomie, Laboratoire d'Agro-Chimie, Coupure 533, 9000 Gent (Belgique),  
 — G.E.R.D.A.T., avenue du Val-de-Montferand, BP 5035, 34032 Montpellier cedex (France),  
 — Istituto Chimica agraria, Università di Bologna, Via S. Giacomo 7, 40126 Bologna (Italie),  
 — Station des Plantes ornementales, Ministère de l'Agriculture, 21 Caritasstr., B-9230 Melle (Belgique),  
 — Institut de Recherches chimiques, Museummann 5, 1980 Tervuren (Belgique),  
 — Institut expérimental pour la Céréaleculture, Via Cassia 176, 00191 Roma (Italie),  
 — O.R.S.T.O.M., 70, route d'Aulnay, 93140 Bondy (France),

- Centre de Recherches Rhône-Poulenc, 182-184, avenue Aristide-Briand, 92160 Antony (France),
- S.C.P.A. : Société commerciale des Potasses et de l'Azote, Laboratoires Centre de Recherches, Aspach-le-Bas, 68700 Cernay (France),
- SOMIVAC, BP 226, Montosoro, 20098 Bastia (Corse),
- Station fédérale de Recherches en Chimie agricole et sur l'Hygiène de l'Environnement, Schwarzenburgstr 155, CH-3097 Liebefeld-Bern (Suisse),
- Université agricole, Section de Chimie Agricole, 3 de Dreyen, Wageningen (Pays-Bas),
- I.N.R.A., Laboratoire d'Analyses Végétales, La Grande Ferrade, 33140 Pont de la Maye (France),
- E.N.S.A.T. : Ecole nationale agronomique de Toulouse, Laboratoire de Physiologie Végétale Appliquée, 145, avenue de Muret, 31076 Toulouse cedex (France),
- Centre de Recherches de Gorsem, 3800 St-Truiden (Belgique),
- Institut national agronomique Paris-Grignon, Laboratoire de Chimie Analytique, 16, rue Claude-Bernard, 75231 Paris cedex 05 (France),
- Laboratoire municipal, rue du Professeur-Vezes, 33300 Bordeaux (France),
- Institut phytopathologique Benaki, Kippissia, Athènes (Grèce),
- Università catholica di Piacenza, Facoltà di Agraria, 29100 Piacenza (Italie),
- I.N.R.A., Domaine Saint-Paul, 84140 Montfavet (France),

- Institut d'Hydraulique agricole et des Herbages, Fałenty, 05 550 Raszyn (Pologne).
- [6] PREVOT Dr. P. *et al.* (1961) — Enquête sur les analyses chimiques de diagnostic foliaire réalisées par huit laboratoires. *Agronomie Tropicale*, n° 1/1961, p. 52-59.
- [7] Comité Inter-Instituts (1969). — Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux, N, P, K, Ca, Mg, Na. *Oléagineux*, 24, n° 8-9, p. 497-504.
- [8] PINTA M. et Comité Inter-Instituts (1973). — Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux, Ca, Mg, Fe, Mn, Zn et Cu par Absorption Atomique. *Oléagineux*, 28, n° 2, p. 87-92.
- [9] PINTA M., VAN SCHOUWENBERG J. Ch., BONVALET A., LACHICA M. et HERMAN P. (1976). — Les étalons végétaux pour l'analyse foliaire. Résultats complémentaires obtenus pour les éléments Na, Cl, S et B. 4<sup>e</sup> colloque international sur le Contrôle de l'Alimentation des Plantes cultivées. Gand, septembre 1976.
- [10] PINTA M. et Comité Inter-Instituts (1975). — Etalons végétaux pour l'analyse foliaire. *Analisis*, 32, n° 6, p. 345-353.
- [11] PINTA M., DANIEL R. (1980). — Nouveaux étalons C.I.I. pour l'analyse foliaire. 5<sup>e</sup> colloque international sur le Contrôle de l'Alimentation des Plantes cultivées. Castel Franco Veneto, août 1980.
- [12] Documents I.R.H.O., Missions Philippines/Indonésie, n°s 1336, 1337, 1518, 1551.

## SUMMARY

**Mineral analysis of oil plants at the I.R.H.O.**A. BONVALET, *Oléagineux*, 1981, 36, N° 2, p. 83-92.

Mineral nutrition is often a limiting factor for yield. Leaf analysis reveals the nutrient status of plants and enables their needs to be defined. The results of multiple fertilizer trials conducted in very diverse situations have allowed « critical levels » to be determined, i.e. mineral element levels below which our application of the deficient element has every chance of improving nutrition and consequently increasing yield. The means of the Plant Analysis Laboratory are described : organization, analysis techniques, apparatuses. Connection to a computer enlarges analysis capacity and makes it easier to survey the titrations. Great strictness in all operations from sampling to chemical analysis is a fundamental requirement for the use of leaf analysis. The laboratory also plays its part in training, either by accepting trainees or through technical assistance to new laboratories installed in tropical countries.

## RESUMEN

**Análisis mineral de las plantas oleaginosas en el I.R.H.O.**A. BONVALET, *Oléagineux*, 1981, 36, N° 2, p. 83-92.

La nutrición mineral es muchas veces un factor limitante de la producción. El diagnóstico foliar permite establecer el nivel de nutrición de las plantas, deduciéndose de ello las necesidades. Los resultados de múltiples ensayos de fertilización mineral realizados en situaciones muy diversas, permitieron establecer los « niveles críticos », que son los contenidos de elementos minerales debajo de los cuales una aplicación del elemento deficiente tiene las mayores probabilidades de producir junto con una mejora de la nutrición un aumento de la producción. Se describen los medios del laboratorio de análisis de las plantas : organización, técnicas analíticas, equipo. La conexión con un computador acrecenta la capacidad de análisis y facilita la vigilancia de las dosificaciones. Un elemento esencial para la utilización del diagnóstico foliar lo constituye el gran rigor de todas las operaciones, desde la toma de muestras hasta el análisis químico. Así es cómo el laboratorio también desempeña un papel de formación, bien sea mediante la acogida de los practicantes o por un concurso técnico a los nuevos laboratorios instalados en los países tropicales.

**Mineral analysis of oil plants at the I.R.H.O. (1)**

A. BONVALET (2)

Mineral nutrition due to the role it plays in plant metabolism, is often a limiting factor for crop production. One of the methods for investigating mineral nutrition is leaf diagnosis.

Through chemical analysis of the leaf, leaf diagnosis aims at discovering the plant's needs and its « shortages » or « deficiencies » in certain mineral elements.

In France, the foundations were laid by Lagatu and Maume around 1925. This technique was applied to oil plants by the

I.R.H.O., and as it progressed, has become a very efficient working tool for orientating mineral manuring.

Comparisons between many fertilizer trials have enabled the level of mineral elements to be related to yield, and the determination of « critical levels », arbitrarily defined as an element content in p. 100 dry matter below which application of an appropriate fertilizer has a high probability of yielding an economically valid response.

To determine these critical levels, it was necessary, in particular, to carry out thousands of chemical determinations by standardised methods which are continuously checked.

Interpretation of these data can only be valid if the chemical results supplied are precise and dependable.

Orientated leaf diagnosis using the comparison of healthy or sick plants requires accurate laboratory results

(1) The I.R.H.O.'s laboratory was regrouped at Montpellier in 1974 with the joint services of the GERDAT.

(2) Eng. ENSCR, Institut de Recherches pour les Huiles et Oléagineux (I.R.H.O.), Head of GERDAT AMP Laboratory, IRHO/GERDAT, BP 5035, 34032 Montpellier Cedex (France).



The plant mineral analysis laboratory has progressed a good deal over the years, in step with the requirements of the Agronomy Department, both for experiments and research as well as for contracts dealing with the inter-tropical zone world wide. The number of leaf samples analysed per year now reaches about 10 000.

The techniques used have been changed and improved since the I.R.H.O.'s laboratory was created [1, 2], parallel to the evolution of the material used for various determinations.

At Montpellier, the regrouping of the GERDAT enabled the measurement instruments to be linked up to a computer, so identification of samples, calculation and storing of results in the memory before publication, can all be carried on simultaneously.

## I. — RECEIVING AND PREPARING SAMPLES

The leaf samples, collected following precise rules and dried before sending to ensure better conservation, arrive at the I.R.H.O. Agronomy Department.

A registration number in a separate file is assigned to them by the computer, according to the logical classification requested. Furthermore, the identification program enables systematic and regular introduction of a « test » sample for reference.

The samples are made up in small packets of leaflet pieces for oil palm and coconut, in bags containing whole leaves for groundnut, along with a descriptive sheet; they weigh between 5 and 50 grams. They are oven-dried again at 60 °C to facilitate grinding, which can be done with several types of equipment depending on sample size : Gondard hammer mill (5/10 mm sieve) for the largest ones, a Wiley (40 mesh sieve) or C.N.T.A. MB 19 knife grinder or even a simple coffee grinder for others (Fig. 1).

The fine powder obtained and its descriptive sheet are placed into a Kraft paper envelope on which the sample number is noted, with an indication of its nature. The samples are kept in the grinding room until they can be analysed, classified in cardboard boxes marked with their numbers and nature; the samples are stored in the same room for 5 years.

The determinations asked for are always those for major elements; N, P, K, Ca, Mg and Na for some, chlorine and sulphur for many samples, as well as boron. The other trace elements Fe, Cu, Mn, Zn, Al, and Mo are titrated on request.

### Organisation of the laboratory.

The laboratory receives series of elementary requests for analyses which generally bear on 200-250 samples weekly.

On each request, the numbers, and agronomic identification of the samples, and the elements to be determined in order of priority are indicated.

The laboratory team includes 2 technicians, one chemist and 3 laboratory assistants, one of whom is specialised in chlorine titrating.

Nitrogen determination is done by a laboratory assistant while the 2 technicians and one qualified laboratory assistant prepare solutions for titrating P, K, Ca, Mg and Na, as well as for trace elements Fe, Cu, Mn and Zn; a third chemist deals with S and B titrating. One or the other of the qualified technicians does the necessary manipulations for determining aluminium or molybdenum depending on demand. At the time of weighing, the sample numbers are marked on sheets by series of 15, corresponding to the silica dish trays and to the tube stands used for conserving the solutions until determination is done. The accessories (wooden boxes, capsule trays, tube stands, filtering benches, etc.) are made on the spot. The increasing number of analyses led to the adoption of quick methods, suited for entirely automatic equipment linked up to a computer and operated by the technicians.

Use of the computer implies the respect of certain constraints such as : respect of order of registration of sample numbers, analysis in logical order, non-inversion of standards and very regular work. Dishwashing has been kept to a minimum by replacing glass wherever possible by throwaway plastic recipients.

## II. — ANALYTICAL TECHNIQUES

### 1. — Nitrogen.

The Kjeldahl method is used for mineralisation of samples, in a BD 40 Technicon mineralizer.

This apparatus enables 40 samples to be handled in a single series. The diluted solutions obtained are stored after homogenisation while, waiting for colorimetric titration (Fig. 2).

The Berthelot reaction (obtaining indophenol blue by combining the  $\text{NH}_4$  ion with phenate of sodium hypochlorite) is used for

colorimetric determination with a Technicon autoanalyser, composed of :

- a distributor on the tray of which solutions, samples and standards are placed in clearly determined order,
- a roller pump which, by crushing the calibrated PVC tubes, provokes suction of the solutions to be titred and the various reagents, their mixture by passage through small glass coils, and separation of parts of solutions by air bubbles,
- a temperature-controlled bath containing a « delay time » coil where the coloured reaction occurs and is completed,
- a colorimeter with filters linked to a recorder.

Under the present system of organisation, the recorder is itself connected to an IBM 7 through a recopy-potentiometer.

The speed of the sampler is controlled by a cam which fixes the duration of sampling and of rinsing at the same time : a 40 l/l cam indicates that 40 cups are titred in 1 h with sampling time identical to rinsing time. Standard working solutions are prepared by dilution from a  $\text{SO}_4(\text{NH}_4)_2$  solution at 2 000  $\mu\text{g N/ml}$  and contain sulphuric acid and sodium sulfate.

When the technician starts up the autoanalyser, he orders the computer, through the peripheric (printer) to read in data from his apparatus in an appropriate program, then at the end of the day the program of parameters is introduced : this indicates :

- apparatus number,
- sampling time,
- number of standards and their value,
- number of the first sample,
- total number of samples titred,
- number of identical runs,
- number of samples in each run.

When data input ordered by the technician stops, the computer edits a listing including sample numbers and their value, so that it can be checked, before the results are stored, that the analysis controls were correct and that there were no incidents (this can also be checked on the recording).

### 2. — Phosphorus.

Mineralization of the samples is done by the dry ashing method. After hydrochloric treatment, the solutions obtained are kept for determination of P on the one hand, of K, Na, Ca and Mg on the other.

A Technicon autoanalyser is used for phosphorus determination and the yellow colour reaction of phosphovanadomolybdate is made use of. The same work procedure is used with the computer as for nitrogen work.

The value of the « test » samples is checked continuously; to enable good reading in by the computer, a speed of 40 cups/h is used for this determination. The standards are prepared by dilution from a monopotassic phosphate solution at 1 000  $\mu\text{g P/ml}$  containing the same quantity of hydrochloric acid as the samples. It is thus easy to determine the phosphorus level of about 200-225 samples during one working day.

### 3. — Potassium and sodium.

The use of the Electro-Synthese flame photometer model Ph F 62, equipped with selective filters, used in Paris since 1967, continues at the AMP laboratory in Montpellier.

Automation was increased by fitting this photometer with a Technicon sampler and a dilution pump to satisfy its sensitivity conditions.

The results, which can be read on a millivoltmeter, are copied by a Sefram recorder connected to the computer. The latter always does the same work : reading in, calculation of results and storage. A speed of 60 cups/h (sampling time double that of rinsing) enables clear recording, thus clear data input for the IBM through the copy potentiometer placed in the recorder.

The titration principle is simple : the solutions to be analysed are sprayed very finely through an air-propane flame and the radiations emitted by the various elements thus excited are filtered by interferential filters before striking a photoelectric cell. The signals given by the samples are compared to those of the standard solutions. The apparatus' sensitivity requires dilutions ranging in general from 1/10-1/20 depending on the content of the samples.

The standards used are prepared by dilution from a standard commercial solution at 1 000  $\mu\text{g/ml}$  of K or Na, covering the scale : for K = 25-250  $\mu\text{g/ml}$ , for N = 5-40  $\mu\text{g/ml}$  and are placed at the head of each run of samples on the distributor tray before being put through the dilution pump.

In the same way, the technician orders the computer to read in from the apparatus, and, after introducing his parameters program, examines the results once the computer edits the listing then stores them.



#### 4. — Calcium and magnesium.

Both determinations are done by Atomic Absorption spectrophotometry. The radiations emitted by a hollow cathode lamp made with the element to be titred, are put through an acetylene-air flame in which the solution of the sample to be analysed is sprayed. The elements, dissociated from their chemical compounds and in a fundamental state, absorb the radiations from the hollow cathode lamp, leading to a drop in the intensity of the light received by the photomultiplier. The apparatus commonly used is a Technicon 1200 from the Varian range, equipped with a sample distributor and a dilution pump (Fig. 3).

The responses read out on a numerical display dial are transmitted to a recorder. The spectrophotometer is directly connected to the IBM 7 which supplies the results at the end of the day's handling.

Ca and Mg determinations require the use of a spectrum buffer, lanthane, to eliminate major interference due to phosphorus. The sensitivity of these apparatuses requires dilutions which are generally : 1/5 for calcium and 1/20 for magnesium.

The working ranges obtained by dilution from the commercial solutions at 1 000 µg/ml of Ca and Mg will be diluted and titred at the same time as the samples.

The working parameters on AA 1200 are the following :

	$\lambda$	Slot	Standard range
Ca .....	422.7 nm	0.5 nm	10-100 µg/ml
Mg .....	285.2 nm	0.2 nm	5- 50 µg/ml

Automatic sampling and data transmission as well as the time for integrating the results on the apparatus, need a sampling time of at least 20 s for each cup and the same for rinsing. In this case too, the computer's calculations enable rapid checking of control samples before the results are stored.

#### 5. — Chlorine.

The potentiometric method used by the I.R.H.O. since 1970 has proved very valid and efficient thanks to its speed and accuracy.

The apparatus used is a Radiometer TTT2 potentiometer-millivoltmeter fitted with 2 electrodes, one in silver, the other in mercurous sulfate, serving as a reference (Fig. 4).

Silver nitrate (N/15) is added to the solution to be titrated using an autoburette coupled to the potentiometer. The chlorides are extracted by simply shaking 1 g of powdered leaf samples per 50 ml of diluted nitric acid for 5 min, in an automatic stirrer. Titrated  $\text{NO}^3\text{Ag}$  is added automatically and the burette is stopped once the equivalence point of the reaction is reached.

A suitable calculating program allows the operator to store the results in the IBM. In one day's work it is easy to titrate about 60 samples.

#### 6. — Sulphur.

Oxydising mineralisation (adding nitric acid and magnesium nitrate) followed by calcination transforms the S present in the leaf into sulfate; this will be titrated by automatic turbidimetry with a Technicon autoanalyser.

The addition of baryum chloride provokes the formation of an  $\text{SO}^4\text{Ba}$  precipitate which is maintained in suspension by gelatin. A valve placed on the analysis circuit enables the calibrated tubes and the colorimeter cell to be rinsed with an EDTA solution between each sample.

The control values are checked on the computer listing, the results are then stored.

#### 7. — Trace elements.

##### a) Fe, Mn, Zn, Cu.

Determination of these elements is easily done by Atomic Absorption spectrophotometry. However, the mineralisation technique is longer and more complex than in the case of the major elements to avoid losses by volatilisation, absorption on the silica or formation of insoluble silicates.

Calcination is then practised on larger trial samples (2 g) and in the platinum dishes which will enable hydrofluoric acid treatment to eliminate the silica remaining on the filters after insolubilisation and dissolving of the salts directly soluble in diluted hydrochloric acid.

The operating methods for these determinations are very similar to those recommended by the Inter-Institute Leaf Analysis Committee as reference methods.

This mode of mineralisation with destruction of silica can also be suitable for determining major elements at the appropriate dilution.

The sensitivity of Atomic Absorption makes it possible to go down very low in the calibration ranges.

The operational conditions generally used are as follows :

	$\lambda$ nm	Slot nm	Usual standard range
Fe .....	248.3	0.5	1.5-15 µg/ml
Cu .....	324.7	0.5	0.1- 1 µg/ml
Mn .....	279.8	0.5	1 -10 µg/ml
Zn .....	213.8	0.5	0.4- 4 µg/ml

The apparatus is used directly without dilution pump.

##### b) Aluminium.

Simple calcination of 1 g of powdered leaves is done at 500 °C in a silica dish. After adding diluted hydrochloric acid and filtration, the solution obtained is treated in the autoanalyser : formation of a red lake with cyanine Eriochrome is used for this determination with a buffer. The maximum absorption is around 535 nm ; interference of iron  $\text{Fe}^{+++}$  is avoided by adding ascorbic acid and that of P compensated by using complex standards containing it.

##### c) Molybdenum.

The low level of this element in the leaves (generally less than 1 ppm) makes this determination particularly delicate.

The 5 g trial sample is calcinated in the muffle furnace at 500 °C, then after insolubilisation of the silica, recovered with diluted hydrochloric acid. The green complex formed by Dithiol and  $\text{Mo}^{\text{VI}}$  is extracted by isoamylic alcohol. Interferences of iron ( $\text{Fe}^{+++}$ ) are avoided by its reduction in  $\text{Fe}^{++}$  and by tartaric acid.

Measurement of optic density is done at 680 nm and the standard range covers the concentration interval between 0 and 0.6 µg/Mo/ml.

##### d) Boron.

Colorimetric determination of this element has greatly evolved over the last years. By 1972, we began replacing quinalizarin by diantridine and to automate this determination : however, there was still one major disadvantage : the acetic anhydric acid medium was replaced by concentrated sulphuric acid.

In 1969, scientific papers pointed to a new specific reagent, Azomethine H, easy to prepare in the laboratory and making work in the diluted acetic medium less dangerous.

Several trials, and the work of the Inter-Institutes Leaf Analysis Committee, led to general application of this method, and the use of the Technicon autoanalyser. A buffer containing EDTA eliminates interferences found in plants. The sample (1 g) is calcinated, treated by acetic acid at 25 p. 100 and centrifuged.

Colorimetry is done on an aliquot of the supernatant liquor.

#### 8. — Editing the results.

Once a technician has titred one element in the series of samples to be analysed, this is recorded in a special notebook after the results are stored

Once all determinations are finished, the technician introduces an editing program into the computer to obtain a results table corresponding to the samples analysed (Table I).

A specific program gives the coefficient of variation of the elements titrated for control samples of the run requested (Table II)

The results tables are then transmitted to the agronomists for examination, and the additional determinations of controls to be done is given to the laboratory.

### III. — CONTROLS

In principle, the samples are analysed only once, as continuous checking of work quality is ensured by checking the value of the test samples which are integrated into and follow the complete cycle of analysis operations, with calculation of coefficients of variation for each element titrated. These test samples are obtained from lots of a few kg of leaves, carefully ground and homogenised before being divided up into Kraft paper envelopes and are introduced into the sample run.

Detecting aberrant results is done by the Statistics Department, which checked the diagrams of correlation between the various elements. Additional analyses of checks are requested for samples if the representative points fall outside the correlation ellipses [4] or after confrontation with results obtained previously, or, again, for comparison with responses to agronomic experiments.

Besides the precautions observed in the laboratory and constant checking to ensure analysis quality, it is indispensable to be able to compare the results obtained with those from other laboratories.

To this end, the I.R.H.O. laboratory continues to participate in the international analysis chain created by the Wageningen Agronomy University (The Netherlands) : each member laboratory analyses 6 plant samples, received every 2 months, according to its own methods and determines the elements which interest it. All results from the chain are communicated very rapidly in the form of a bulletin bearing the name of the corresponding laboratory opposite the results. At the end of the year, a recapitulatory list is sent by Wageningen to each member ; the elements most likely to deviate and therefore requiring special vigilance are indicated.

The Inter-Institute Leaf Analysis Techniques Committee is very active in this regard. Created in 1951, it combined the laboratories of 8 specialised institutes [3] which are now regrouped in the GER-DAT framework ; it now includes about 30 research laboratories both French and foreign [5, 6].

The conclusions of these studies have often been published, notably during conferences on Control of Cultivated Plant Nutrition. Reference methods were published for determinations of major elements N, P, K, Ca and Mg [7], then for Ca and Mg as well as trace elements Cu, Mn, Fe and Zn by Atomic Absorption spectrophotometry [8]. Work on perfecting boron and chlorine determinations [9] was also done. Sulphur determination still posed some problems and current studies bear on determination of trace elements Pb, Cd, Co, Ni and Mo.

The committee's twice-yearly meetings have enabled considerable advances to be made. Following these studies, a bank of 16 very diverse plant standards [10, 11] was created, which are now analysed by many foreign laboratories with more sophisticated new methods like neutronic activation, inductive plasma, X fluorescence.

Training and perfecting the laboratory technicians team enables dependable results to be obtained. The low coefficients of variation of the « test samples » mark the intrinsic quality of chemical ana-

lysis, and so does the repeatability of the average value of the levels obtained for various elements. It is important to trust a stable laboratory.

Comparison of results over several years can be done easily and the fertilizer conditions and formulae can be obtained with more certainty and thus more economically.

Each laboratory's analysis methods should be maintained, but can be improved on a continuous basis.

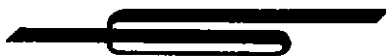
## CONCLUSION

Rigour in sampling linked to dependability of leaf chemical analysis will make it easier to give economical fertilizer recommendations. In the laboratory, the precision and sensitivity sought for analysis are increasing, especially in cases like sulphur and trace elements. The appearance of new techniques and apparatuses allows this ; close collaboration with outside laboratories and those which are part of the Inter-Institute Committee leads to continuous progress.

At the same time, the Plant Mineral Analysis Laboratory participates very actively in training : under the aegis of the F.A.O., the Ministry of Cooperation, the Foreign Ministry, in the framework of Technical Assistance, foreign engineers and technicians (Philippines, Indonesia, Madagascar, Spain) come to Montpellier to perfect their knowledge.

French trainees from agricultural colleges and high schools come during their studies to obtain a professional diploma.

In the same way, missions to the Philippines and Indonesia organised and checked the implantation of analysis laboratories there, mainly for leaf analysis of the coconut in the framework of F.A.O.-I.R.H.O. agreements [12].



Ateliers de Constructions Mécaniques

## LES FILS DE LOUIS SAMAT

Nettoyage

Epierrage

Décorticage

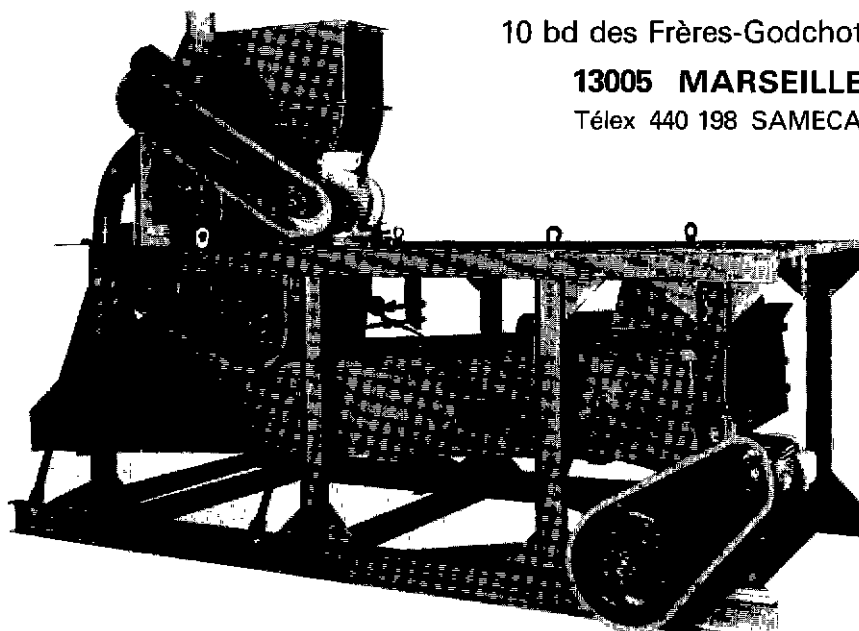
Calibrage

Manutention  
des graines  
oléagineuses

10 bd des Frères-Godchot

13005 MARSEILLE

Télex 440 198 SAMECA



*Séparateur de coques  
pour le décorticage  
des graines de coton  
non délintées*