



# **Travaux Pratiques Physiologie Végétale (S4)**

**Filière : SVI**

**Séance 3 : Dosage des nitrates dans un extrait végétal**

**Pr. Mohammed L'bachir EL KBIACH  
Département de Biologie, Faculté des Sciences, Tétouan**

- Faculté des Sciences Tétouan
- Université Abdelmalek Essaâdi

2019 -2020

## **T.P 3**

### **DOSAGE DES NITRATES DANS UN EXTRAIT VEGETAL**

#### **I- PRINCIPE**

En milieu acide, les nitrates forment un complexe d'acide nitrosalicylique par la nitration de l'acide salicylique. Ce complexe a une absorption maximale à 410 nm dans des solutions basiques (pH 12). L'absorbance du chromophore est proportionnelle à la teneur en nitrates dans la solution. La méthode est rapide sans montrer beaucoup d'interférences et peut être utilisée pour les extraits végétaux.

#### **II- REACTIFS ET MATERIELS**

Tubes à essai, pipettes de 0,1 ; 1 et 5 ml ; colorimètre ou spectrophotomètre ; solution d'acide salicylique (AS) à 5 % dans l'acide sulfurique concentré 36 N (AS-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> à 5 %) ; solution de soude (NaOH) à 2 N ; solution de nitrate d'ammonium (NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>) à 8 mM (à conserver à 4 °C).

Le but de la séance est le dosage des nitrates dans un extrait végétal (on va utiliser comme matériel végétal le blé sauvage).

Le nitrate doit être réduit en nitrite en présence de l'enzyme nitrate réductase. Ce nitrite est par la suite réduit en azote ammoniacal par l'enzyme nitrite réductase.

Il existe 3 possibilités pour cette réduction :

- Soit au niveau des racines (100%)
- Soit au niveau des feuilles (100%)
- Soit 50% au niveau des racines et 50% au niveau des feuilles : c'est le cas typique du blé (monocotylédones).

#### **III- PROTOCOLES**

##### **1- EXTRACTION DES NITRATES**

-Peser et broyer (1 à 2 g) de matériel végétal (feuilles et racines de Blé sauvage) dans un mortier en présence de sable et de 20 ml d'éthanol à 50 % ;

-Placer l'homogénat au bain-marie à 80 °C ;

- Centrifuger à 3000 rpm (rotations par minutes) pendant 5 minutes ;
- Noter le volume exact du surnageant.

## 2- PREPARATION DE LA GAMME ETALON

A partir d'une solution mère  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  8 mM, préparer des solutions à 6 mM, 4 mM, 2 mM et 1 mM ;

-Pipeter 0,1 ml des solutions mères dans les tubes à essais (ne pas oublier 0,1 ml de  $\text{H}_2\text{O}$  dans le tube 0) ;

-Ajouter 0,4 ml de AS- $\text{H}_2\text{SO}_4$  à 5 %, mélanger et laisser à température ambiante pendant 20 minutes environ ;

-Ensuite ajouter doucement 9,5 ml de soude 2 N ;

**-Lire les DO à 410 nm.**

La courbe d'étalonnage est réalisée avec une gamme de 0 ; 0,1 ; 0,2 ; 0,4 ; 0,6 et 0,8  $\mu\text{moles}$  par milieu réactionnel.

## 3- DOSAGE DES NITRATES

Préparer pour chaque échantillon (extrait foliaire) 3 tubes de la manière suivante :

Tubes	1	2	3
EXTRAIT (ml)	0,1	0,1	0,1
AS- $\text{H}_2\text{SO}_4$ (ml)	0	0,4	0,4
$\text{H}_2\text{O}$ (ml)	0,4	0	0
<b>Attendre 20 minutes</b>			
NaOH (ml)	9,5	9,5	9,5

**Lire les DO à 410 nm (tube 1 = témoin).**

Puis on projette la valeur de la DO obtenue sur la courbe d'étalonnage.

a/ Déterminer la quantité de nitrates en mg par gramme de matières fraîche du matériel végétal.

b/ En déduire la quantité d'azote en mg par gramme de matières fraîches du matériel végétal.

NB :

Le nitrate d'ammonium est un composé chimique de formule  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , principalement utilisé comme engrais azoté. Dans e cas, il est plus connu sous le nom d'ammonitrate (33,5 % d'azote N total).

-Masse molaire : 80,052 g/mol

-Densité : 1,72 g/cm<sup>3</sup>

-Point de fusion : 169,6 °C

-Point d'ébullition : 210 °C

-Solubilité : Eau

# Bon courage



## LIENS UTILES 🙌

### Visiter :

1. <https://biologie-maroc.com>

- Télécharger des cours, TD, TP et examens résolus (PDF Gratuit)

2. <https://biologie-maroc.com/shop/>

- Acheter des cahiers personnalisés + Lexiques et notions.
- Trouver des cadeaux et accessoires pour biologistes et géologues.
- Trouver des bourses et des écoles privées

3. <https://biologie-maroc.com/emploi/>

- Télécharger des exemples des CV, lettres de motivation, demandes de ...
- Trouver des offres d'emploi et de stage

