

50376
1987
73

UNIVERSITE DES SCIENCES
ET TECHNIQUES DE LILLE
FLANDRES-ARTOIS



SCIENCES DE LA TERRE

N° d'ordre 96

THESE

pour l'obtention du titre de
DOCTEUR DE L'UNIVERSITE EN
GEOSCIENCES

mention Océanologie



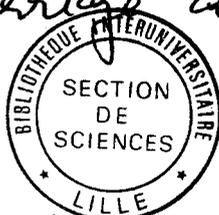
ETUDE DES COMPOSES HUMIQUES
DE SEDIMENTS ESTUARIENS RECENTS



ERJU

KALINOWSKI

Exemplaire corrigé après avis du jury



Soutenu le 25 Mars 1987 devant le jury composé de

M	P	CELET	Président et Rapporteur
Mme	F	ERB	Rapporteur
MM	A-Y	HUC	Rapporteur
	R	BLONDEAU	Examineur
	H	CHAMLEY	Examineur
	B	FOURNET	Examineur

AVANT-PROPOS

La réalisation de cette thèse de Doctorat n'aurait pu être menée sans le concours de nombreuses personnes auxquelles je tiens à exprimer ma gratitude et ma reconnaissance.

Je remercie Monsieur H. CHAMLEY d'avoir accepté que je poursuive des études sur l'humus dans le cadre d'une thèse au sein de l'U.F.R. des Sciences de la terre de l'université des Sciences et Techniques de Lille, dans une discipline aussi intéressante que le monde des Argiles.

Monsieur R. BLONDEAU, Maître de Conférences en Microbiologie, a su partager ses talents de chercheur et sa connaissance des composés humiques, ne ménageant ni son temps ni son savoir depuis le D.E.A.. Son goût de la perfection et sa volonté constante me fut d'une aide précieuse dans la réalisation des publications originales. Je lui exprime ma profonde reconnaissance.

Madame F. ERB, Professeur à la Faculté de Pharmacie de Lille, a accepté de lire et de juger ce travail malgré ses nombreuses charges universitaires. Je suis très reconnaissant de l'honneur qu'elle me fait en participant à ce jury.

Monsieur A. HUC, Ingénieur à l'Institut Français du Pétrole, a bien voulu consacrer une partie de son temps pour venir participer en tant que rapporteur et spécialiste de l'humus marin et du kérogène: je l'en remercie bien vivement.

Je tiens tout particulièrement à décliner ma gratitude à Monsieur P. CELET, Professeur de Géologie Dynamique, d'avoir accepté de présider ce jury de thèse. Qu'il en soit remercié.

Je suis redevable à Monsieur B. FOURNET, Professeur de Biochimie, d'avoir bien voulu orienter mes recherches dans l'analyse des sucres contenus dans les molécules humiques. Sa participation à ce jury de thèse est le reflet de la pluridisciplinarité qu'exige l'analyse détaillée des composés humiques.

Mes remerciements seraient incomplets si j'omettais de mentionner Monsieur Y LEROY pour l'aide apportée à la réalisation des chromatographies en phase gazeuse, Messieurs B. MOUCHEL et P. WATKIN du Centre Commun de R.M.N. de Lille I, et de Monsieur P. RECOURT pour la diffraction RX.

Enfin, la réalisation technique de cette thèse a été menée de façon efficace par Mme F. DUJARDIN pour la dactylographie, Mme A. BREBION pour le tirage et M. J. CARPENTIER pour les diapositives.

RESUME

Les composés humiques représentent une forme de réserve de carbone organique qui est très largement distribuée dans les horizons supérieurs des sols au sein desquels ils s'édifient à partir de précurseurs divers issus de la décomposition de la matière vivante, mettant en oeuvre des réactions complexes de polymérisation et de condensation.

Ces composés organiques stables sont également véhiculés par les eaux douces ou marines et peuvent se déposer dans les sédiments. Ce travail est consacré à l'analyse des composés humiques extractibles de sédiments superficiels de plusieurs estuaires de la Manche orientale, dans le but de mieux connaître leur composition, leur structure, leur diversité et leur origine continentale ou marine.

Les composés extraits de prélèvements représentent 19 à 53 % du carbone organique total et sont plus riches en acides humiques (non solubles à pH acide) qu'en acides fulviques (solubles à pH acide) : le rapport AF/AH est compris entre 0,29 et 0,64. De nombreuses propriétés présentées par ces acides humiques comme la teneur élevée en azote et en soufre, le poids moléculaire important, les particularités de leurs spectres IR et RMN du ^{13}C concourent à les considérer comme des produits d'origine spécifiquement marine. L'analyse quantitative des différents monosaccharides libérés par leur hydrolyse suggère en outre que les précurseurs de ces composés ont subi de nombreuses modifications avant de se condenser sous forme organo-minérale stable et résistante à la biodégradation. Les acides fulviques montrent par contre une aromaticité relativement élevée qui pourrait suggérer une participation de précurseurs d'origine terrestre dans le processus conduisant à leur formation.

Une technique de fractionnement de ces substances humiques par chromatographie d'interaction hydrophobe a permis leur séparation en plusieurs familles moléculaires chimiquement distinctes, et a révélé que les acides humiques et fulviques sédimentaires sont plus hydrophobes que leurs homologues terrestres.

Mots-clefs : Sédiment - Estuaire - Manche Orientale - Matière organique - Composés humiques
- Acides fulviques - Hydrophobicité .

SOMMAIRE**ABSTRACT****ZUSAMMENFASSUNG****INTRODUCTION****PARTIE I GENERALITES SUR LE COMPLEXE HUMIQUE TERRESTRE ET
MARIN**

I Cycle du carbone organique

II Approche historique et connaissances actuelles de l'humus

III Travaux antérieurs relatifs aux composés humiques estuariens

PARTIE II CARACTERISTIQUES DES SEDIMENTS ETUDIES

I Sites étudiés

II Caractéristiques sédimentologiques

III Granulométrie des sédiments

IV Minéralogie des argiles

PARTIE III ANALYSE DES SUBSTANCES HUMIQUES EXTRACTIBLES

I Extraction des matières organiques et fractionnement

II Caractéristiques des substances humiques

**PARTIE IV ETUDE DES SUCRES PRESENTS DANS LES SUBSTANCES
HUMIQUES**

I Analyses quantitatives

II Identification des monosaccharides

PARTIE V FRACTIONNEMENT DES SUBSTANCES HUMIQUES

I Mise au point de la technique de fractionnement

II Etudes physico-chimiques des fractions isolées

CONCLUSIONS GENERALES**TABLE DES MATIERES**

ABSTRACT

Humic compounds represent a way of organic carbon reserve which is very widespread at the upper horizons of soils where the humification process occurs after decomposition of living materials using very complex reactions like molecular polymerization and condensation.

These stable organic compounds are also carried by fresh or marine waters and they can settle. This work reports analysis of sedimentary humic compounds from estuaries of the Eastern Channel with a view to know their composition, their chemical structure, their diversity and their continental or marine origin.

The humic extracts are estimated to be in the range of 19-53 % of total organic carbone, and the sediments are more rich in humic acids (soluble in alkaline solutions) than fulvic acids (soluble in acid solutions): the AF/AH ratio is found between 0.29 to 0.64. Many properties of humic acids are described: high nitrogen and sulphur contents, high molecular weight and the particularities of their IR and ^{13}C NMR spectra go to prove that to consider them like products of specifically marine origin. The monosaccharidic materials after acid hydrolysis of humid acids, suggest besides the precursors have undergone many modifications before self-condensation in the form of stable organo-mineral complexes and biodegradation-proof. On the other hand, fulvic acids show comparatively high aromaticity which could suggest a participation of terrestrial precursors in formation process.

A technique of humic substances fractionation by hydrophobic interaction chromatography has allowed to separate into several molecular series, chemically separate and has shown the sedimentary humic and fulvic acids are more hydrophobic than their terrestrial homologues.

Key-words: Sediment - Estuary - Eastern Channel- Organic Matter - Humic compounds - Humic acids - Fulvic acids - Hydrophobicity.

ZUSAMMENFASSUNG

Die Humusstoffe stellen eine Art Reservoir an organischem Kohlenstoff dar, welches in den oberen Bodenhorizonten weitverbreitet wird. Hier werden sie ausgehend von verschiedenen Wegen der Zersetzung lebender Materie durch komplexe Polymerisationsreaktionen und Kondensation gebildet. Die stabilen organischen Verbindungen werden durch Süß- oder Salzwasser transportiert und setzen sich in den Sedimenten ab.

Diese Arbeit befasst sich mit der Analyse extraktierbarer Humusverbindungen aus den Oberflächensedimenten mehrerer Estuarien des östlichen Armeikanals. Das Ziel besteht darin, ihre Zusammensetzung, Struktur sowie ihre Mannigfaltigkeit besser zu verstehen und die Frage ihres marinen oder kontinentalen Ursprungs zu klären.

Die aus den Proben gewonnenen Verbindungen besitzen einen organischen Kohlenstoffanteil von 19-53 % und sind reicher an Huminsäuren (unlöslich bei saurem pH-Wert) als an Fulvosäuren (löslich bei saurem pH-Wert). Das AF/AH-Verhältnis bewegt sich zwischen 0,29 und 0,64. Zahlreiche Eigenschaften dieser Huminsäuren, wie der hohe Gehalt im Stickstoff und im Schwefel, das hohe Molekulargewicht und die Besonderheiten im IR- und RMN-Spektrum des C-13 tragen dazu bei, sie als Produkte mit einer spezifisch marinen Entstehung zu betrachten. Die quantitative Analyse der verschiedenen durch Hydrolyse abgespaltenen Monosaccharide legt darüber hinaus nahe, dass die Vorstufen dieser Verbindungen zahlreichen strukturellen Änderungen unterlagen, bevor sie in ihre, der Biodegradation gegenüber resistenten, stabile organo-mineralische Form kondensierten. Die Fulvosäuren zeigen im Gegensatz dazu eine relativ hohe Aromatisierung, welche auf eine Beteiligung von Vorstufen terrigenen Ursprungs hinweisen könnte.

Eine Fraktionierungstechnik dieser Humussubstanzen durch eine Chromatographie unter Ausnutzung der Hydrophobie erlaubt ihre Auftrennung in verschiedene Molekularfamilien mit chemischen Unterschieden und hat gezeigt, dass die sedimentären Huminsäuren und Fulvosäuren hydrophober sind als ihre terrigenen Homologe.

Schlüsselwörter: Sediment - Estuar - Östlichen Armeikanals - organische Materie - Humusverbindungen - Huminsäuren - Fulvosäuren - Hydrophobie.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les substances humiques représentent des composés organiques de teinte foncée, riches en carbone, polydispersés et relativement polycondensés, comportant des fonctions acides, essentiellement carboxyliques, responsables de leur liaison avec les substances minérales du sol, des eaux ou des sédiments. Cette combinaison organo-minérale, associée à leur structure complexe composée d'éléments aromatiques et aliphatiques et à leur résistance à la biodégradation explique leur particulière stabilité. Aussi leur durée de "résidence" moyenne s'exprime habituellement en centaines d'années et peut même atteindre le millénaire avec l'humine qui est la fraction la plus stable des substances humiques.

Selon leur solubilité, on distingue les acides fulviques, solubles dans les alcalis et les acides, et les acides humiques solubles dans les alcalis mais insolubles dans les acides. Quant à l'humine, il s'agit de la fraction insoluble dans les alcalis et les acides. Le poids moléculaire moyen de ces fractions croît en fonction de leur solubilité et peut varier de 10^3 à 10^5 .

Ces substances humiques sont formées à partir de substances organiques diverses issues de la décomposition de la matière vivante. Dans un premier temps, les biopolymères sont fractionnés et libèrent des éléments possédant une certaine "réactivité" chimique, qui sont alors capables dans un deuxième temps de se polymériser en présence ou non d'enzymes et de se condenser de façon désordonnée. La dernière étape est marquée par la formation de complexes avec la fraction minérale du site au niveau duquel se réalise l'humification et l'humine représenterait le stade ultime de complexité moléculaire et de stabilité. Pour certains géochimistes, cette humine est à l'origine de la formation des kérogènes, matière organique insoluble dans les solvants organiques et située dans les roches, par conséquent assimilée à des géopolymères qui sont susceptibles d'évoluer lors du processus de genèse en donnant les combustibles fossiles (gaz, pétroles, bitumes, charbons).

Dans cette évolution qui entraîne un gain d'entropie, les substances humiques représentent par conséquent des intermédiaires entre les biopolymères et les géopolymères. Cette situation à la charnière de deux disciplines d'étude : la biologie et la géologie, est probablement responsable pour une bonne part de la relative pénurie de nos connaissances actuelles sur ces composés.

Le travail présenté ici concerne les substances humiques d'origine sédimentaire, composés encore moins bien connus que leurs homologues d'origine terrestre dont le rôle dans la productivité des végétaux a occasionné l'intérêt des agronomes. Parmi les sites sédimentaires susceptibles d'accumuler cet humus, les estuaires et les fonds marins, représentent des endroits privilégiés compte tenu des deux sources possibles, continentales et marines d'apports organiques capables d'intervenir.

Nos échantillons sédimentaires ont été prélevés dans trois estuaires de la Manche orientale. Dans un premier temps, nous avons réalisé une analyse systématique de la fraction minérale et de la matière organique extractible de ces sédiments. Etant donnée l'inaccessibilité de son étude au moyen des méthodes classiques d'analyse, l'humine a par contre été totalement laissée à l'écart de nos préoccupations. Ce premier travail a permis de dégager quelques propriétés caractéristiques de ce type d'humus et de donner certaines indications sur l'origine des précurseurs ayant contribué à sa formation.

Dans un deuxième temps, nous avons entrepris une analyse plus détaillée des sucres contenus dans ces extraits humiques. Les sucres représenteraient en effet un pourcentage assez élevé du carbone organique et comme leur extraction est relativement facile par hydrolyse chimique, l'identification des monosaccharides présents peut être un moyen de nous renseigner sur leur origine (marine ou terrestre).

La troisième partie de ce travail concerne des tentatives de fractionnement des acides humiques ou fulviques dans le but de mieux connaître leur nature, leurs propriétés et d'obtenir des fractions plus homogènes chimiquement. Dans cette optique, une technique de fractionnement par chromatographie d'interactions hydrophobes a été mise au point.

PARTIE I

Généralités sur le complexe humique

terrestre et marin

PARTIE I

GENERALITES SUR LE COMPLEXE HUMIQUE TERRESTRE ET MARIN

I - CYCLE DU CARBONE ORGANIQUE

La figure 1 représente le cycle du carbone organique d'après Pelet (1985) : la fraction du cycle biologique alimentant le cycle sédimentaire représente environ 1 %. De façon générale, les quantités de matière organique sédimentaire (10^{16} t) sont plus importantes que la biomasse terrestre (10^{12} t). Le point commun aux différents circuits du cycle est le domaine atmosphérique avec la formation de CO_2 et de CH_4 (Debyser et Deroo, 1969a, b)

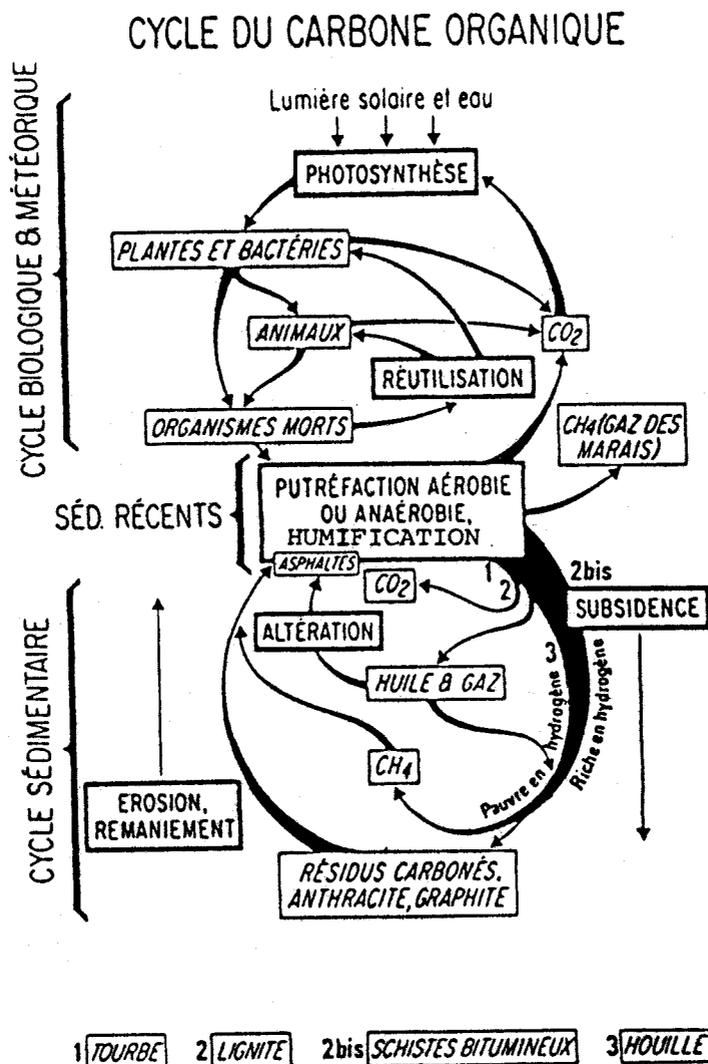


FIGURE 1 : Cycles biochimique et géochimique du Carbone Organique d'après PELET (1985), modifié.

Degens *et al.* (1984) ont cherché à mesurer le transport du carbone organique dans les rivières majeures du globe terrestre et la figure 2 indique l'apport annuel en carbone organique dissous et particulaire (C.O.D. et C.O.P.) des continents vers les océans via les rivières : le maximum de carbone organique particulaire et dissous est transporté par les rivières de l'Asie et des Amériques. En terme de rendement annuel (en t/Km²), l'Asie et l'Océanie figurent en première place.

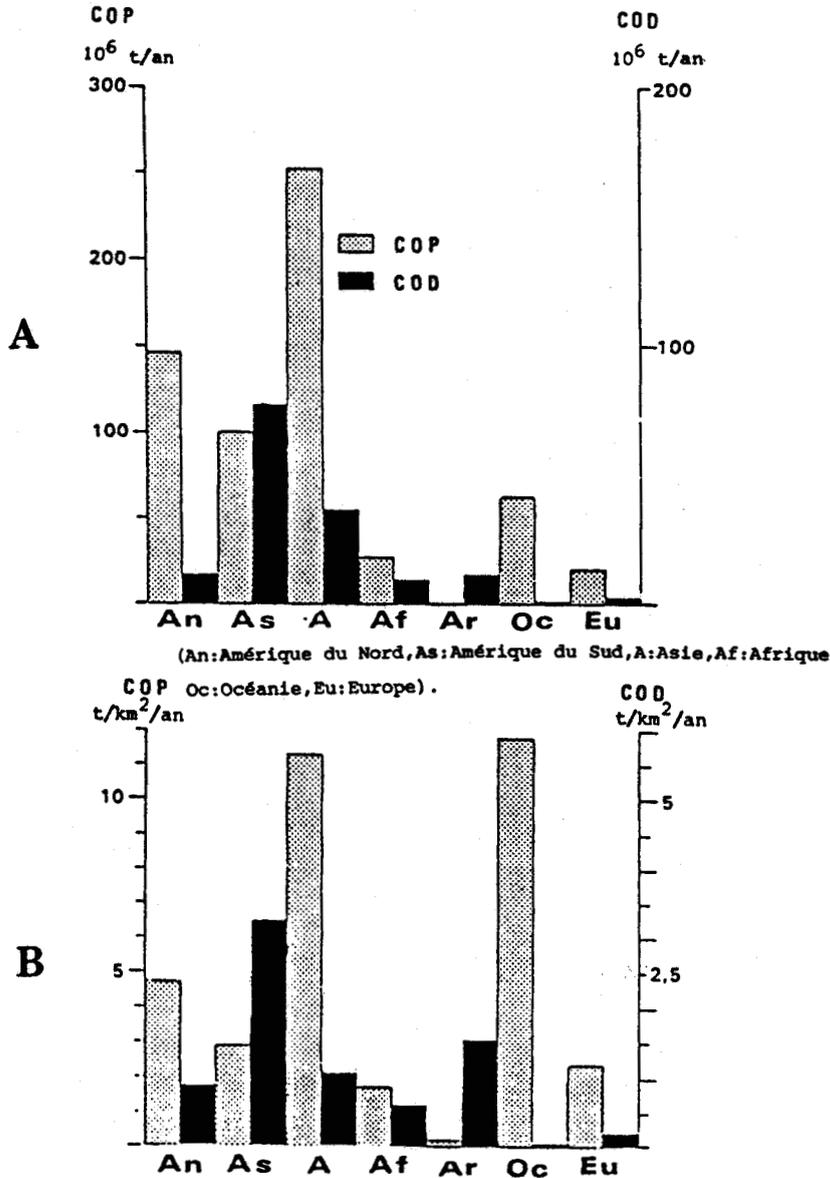


FIGURE 2 : Transports du Carbone Organique dans les principaux fleuves, sous formes particulières (COP) et dissous (COD) d'après DEGENS *et al.* (1984).

A: Apport des continents vers les fleuves en t/année
 B: Rendement en t/km²/année

Les possibilités de conservation notable de la matière organique n'existent qu'en milieu aquatique et c'est la raison pour laquelle les sédiments marins et lacustres sont susceptibles de contenir des fractions organiques évoluées (humus, kérogène, pétrole). Sous l'influence directe de l'amplitude des marées et des variations météorologiques (température, précipitation, insolation, vent), le transport et l'évolution de la matière organique offrent des particularités propres aux milieux de sédimentation. Les substances humiques sont une fraction importante de la matière organique et sont ubiquistes au sein de la biosphère et de la lithosphère, non seulement dans les sols, mais également dans le charbon (Atherton et al., 1967 ; Lakatos et al., 1979), dans certains champs pétrolifères (Kargashilova et al., 1974), dans les eaux naturelles fluviales (Wilson et Weber, 1977), lacustres (Toledo, 1980), souterraines (Pich, 1973 ; Thurman et al., 1982), marines (Gillam et Riley, 1982).

Parmi les sites susceptibles d'accumuler les substances humiques, en quantités significatives, les estuaires sont des endroits privilégiés : les apports d'origine continentale et marine contribuent à l'enrichissement en matière organique du sédiment : Saliot (1983) estime à 4.10^8 t de carbone organique par an les apports de matière organique transitant par les estuaires, alors qu'à titre de comparaison la productivité annuelle du phytoplancton marin est estimée à 200.10^8 t de carbone.

II - APPROCHE HISTORIQUE ET CONNAISSANCES ACTUELLES RELATIVES AUX SUBSTANCES HUMIQUES

II.1 - LE CONCEPT DE L'HUMUS

En 1761, Wallerius avait déjà remarqué le rôle important de la matière organique du sol par sa capacité à absorber l'eau et les éléments nutritifs et, en 1786 Achard en effectuant des extractions à partir d'une tourbe à l'aide d'alcalis, mettait en évidence après acidification un précipité noir amorphe. Mais ce n'est qu'en 1804 que De Saussure a proposé le terme d'"humus" à la fraction organique noire présente dans les couches superficielles du sol. Cet auteur montra également que ce composé possédait une teneur en carbone plus élevée que le matériel végétal dont il semblait être issu.

Berzélius en 1861 propose la première classification applicable à ces composés, en distinguant :

- les acides humiques, solubles en solution alcaline,
- l'humine, composé organique qui est inerte,
- les acides créniques et apocréniques capables de former des sels et des complexes avec les métaux.

Mulder en 1862 classe à son tour les substances humiques du sol en trois fractions distinctes, suivant leur solubilité et leur coloration :

- l'acide humique brun et l'acide humique noir, solubles dans les alcalis;
- l'humine et l'ulmine, insolubles dans les alcalis,
- les acides créniques et apocréniques, tous deux solubles dans l'eau, mais les premiers étant précipitables après addition d'acide acétique, alors que les seconds précipitent lors de la neutralisation de l'acide acétique en excès.

Une quatrième fraction a été proposée par Hoppe-Seyler en 1889, il s'agit de l'acide hymatomélanique, acide humique solubilisable dans l'alcool, mais par la suite Oden (1914 et 1919) a réfuté son existence en expliquant que ces acides pouvaient provenir d'une dénaturation des acides humiques imputable aux extractions alcalines. Ce même auteur proposa aussi de substituer aux termes d'acides créniques et apocréniques celui d'acides fulviques.

La classification habituellement utilisée aujourd'hui est finalement plus simple, puisqu'elle ne considère que trois fractions : les acides humiques (AH) et fulviques (AF) et l'humine (Hu).

II.2 - LA FORMATION DES SUBSTANCES HUMIQUES

Le principal précurseur qui intervient dans l'édification des composés humiques terrestres est constitué par la lignine des tissus végétaux. Plusieurs arguments permettent de justifier son rôle en tant que précurseur : le plus important étant la présence de structures aromatiques et de groupements phénoliques dans les molécules humiques elles-mêmes; sa résistance particulière à la biodégradation est également à retenir, car elle assure leur maintien pendant de longues périodes à la surface du sol.

Au cours de l'humification, cette lignine subit différentes modifications : (coupures entre les monomères, perte des groupements méthoxyles, oxydation des fonctions alcool), donnant naissance à des molécules capables de réagir avec des composés azotés (acides aminés et protéines) et de former un composé qui en évoluant constituera l'humus. Cette théorie ligno-protéique de l'origine de l'humus a été développée pour la première fois par Waksman (1932).

Une autre hypothèse s'inspire des travaux de Maillard (1912 et 1916), qui a comparé les acides humiques avec des produits de condensation qu'il obtenait en faisant réagir des sucres avec des acides aminés. Cette hypothèse, qui suppose donc comme précurseurs essentiels de l'humus, des polysaccharides (cellulose, hémicellulose, ...) et des protéines, semble plutôt convenir à l'environnement marin (figure 3).

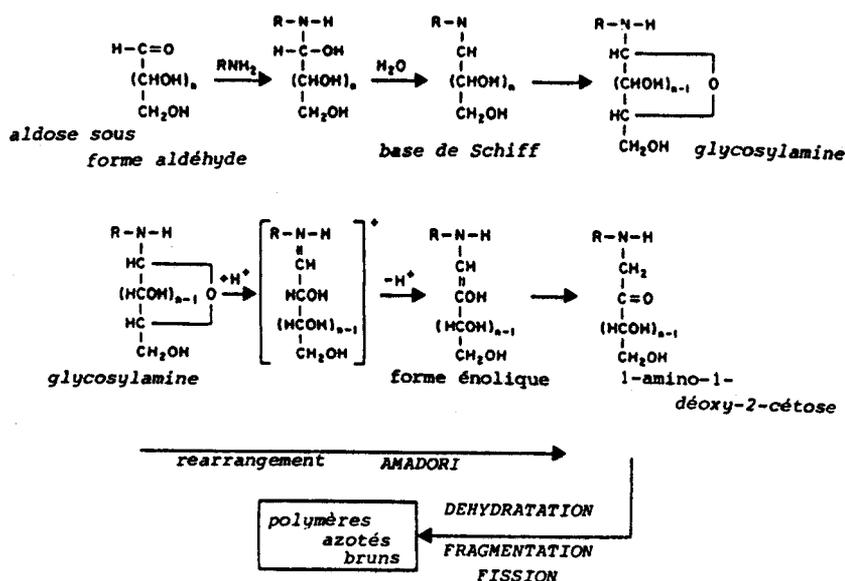


FIGURE 3 : Réaction de type MAILLARD entre un sucre et un acide aminé selon HODGE (1953).

II.3 - LES MODELES STRUCTURAUX PROPOSES

Les substances humiques sont constituées par des mélanges complexes de composés polycondensés, mais sont caractérisées par certaines propriétés très voisines, indifféremment de leurs lieux de formation.

Depuis une cinquantaine d'années, de nombreux auteurs ont essayé de proposer des modèles théoriques susceptibles de représenter une structure moléculaire, plus ou moins universelle, applicable aux substances humiques. Dans certains cas, ces auteurs s'inspirent de la structure moléculaire des précurseurs de l'humus et dans d'autres cas, ils prennent plutôt en considération les structures des produits de dégradation obtenus par des attaques chimiques (par exemple hydrolyses acides ou basiques).

Un certain nombre de modèles ont ainsi été publiés entre 1930 et 1970, et quelques exemples sont représentés dans la figure 4.

II.3.1 - Modèle de Fuchs (1930)

Cet auteur propose le schéma structural des molécules humiques avec des groupements carboxyliques (COOH) et hydroxyles (OH) sur des unités aromatiques (figure 4).

II.3.2 - Modèle de Flaig (1960)

Le modèle de Flaig est inspiré de la structure de la lignine, dont certains monomères issus de sa décomposition se seraient transformés en fournissant

des groupements quinone ($C=O$), cette évolution s'accompagnerait de polymérisations et d'associations moléculaires impliquant la présence de molécules azotées (figure 4).

II.3.3 - Modèle de Dragunov (1961)

Kononova (1966) cite le modèle structural de Dragunov qui comporte de nombreuses structures des types di- et tri-hydroxybenzène (1), sur lesquelles s'insèrent des liaisons quinone ; l'azote est présent sous formes cycliques (2) ou aliphatiques (3). Certains résidus d'hydrates de carbone peuvent également être insérés latéralement (4)(figure 4).

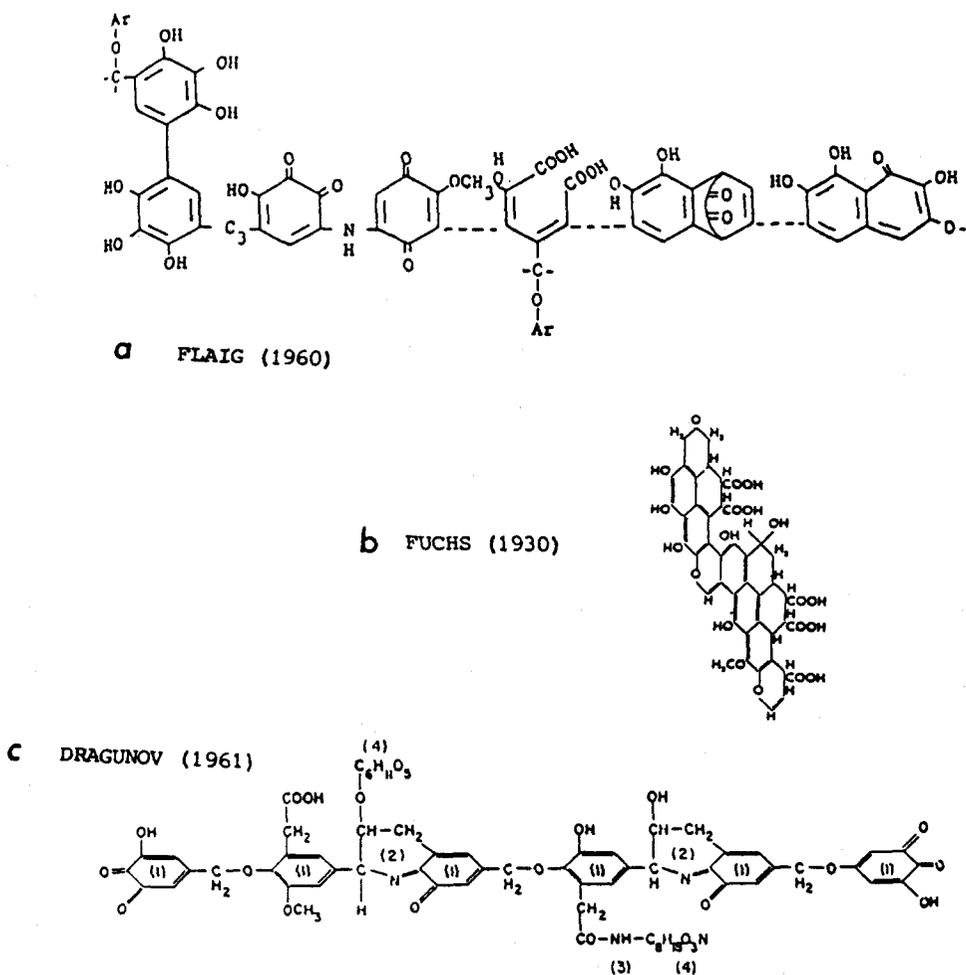


FIGURE 4 : Différents modèles structuraux proposés pour les acides humiques :

- a) par FLAIG (1960)
- b) par FUCHS (1930)
- c) par DRAGUNOV (1961)

II.3.4 - Modèle de Felbeck (1965)

Le motif proposé en 1965 par Felbeck suppose l'existence d'unités pyrone reliées entre elles par les liaisons méthylènes ($-CH_2-$) et auxquelles sont fixées

des structures aromatiques, aliphatiques (essentiellement des acides aminés ?) ou des groupements phénols. L'auteur suppose une participation microbienne à l'élaboration des composés humiques du sol.

Les modèles plus récents proposés depuis 1970 s'appliquent plus spécifiquement, soit aux acides fulviques (Schnitzer et Khan, 1972 ; Buffle, 1977), soit aux acides humiques (Haworth, 1971).

II.3.5 - Modèles de Schnitzer et Khan (1972) et de Buffle (1977)

Le modèle de Schnitzer et Khan consiste en un assemblage d'acides phénoliques et benzène-carboxyliques reliés par l'intermédiaire de ponts hydrogène et, ponctué par des vides de dimensions variables susceptibles de fixer des composés organiques à faible poids moléculaire (acides gras, acides aminés ou petits peptides, sucres) ou inorganiques (oxydes et ions métalliques) (figure 5a).

Buffle (1977) propose également un modèle d'acide fulvique, qui facilite davantage la compréhension de leurs propriétés physico-chimiques. Une densité plus élevée de groupements carboxyles (COOH) et phénoliques (OH) explique l'importance des réactions de complexation avec les ions minéraux par exemple (figure 5b).

Remarquons que ces deux modèles n'incluent pas la présence de l'azote et sont relativement plus riches en carboxyles que ne le montrent les dosages à partir d'acides fulviques naturels.

II.3.6 - Conception de Haworth (1971)

Haworth (1971) a proposé une architecture applicable essentiellement aux acides humiques. Il ne s'agit pas d'un modèle précis comme les précédents, mais d'un schéma dont les détails structuraux restent à définir : pour cet auteur, les acides humiques sont constitués par un nucléus (ou "core"), partie centrale très aromatique, sur lequel seraient fixés de manière plus ou moins stable chimiquement ou physiquement, des sucres, des peptides, des acides phénoliques ou des ions métalliques (figure 5c). Ce concept repose surtout sur des résultats d'analyses chimiques qui montrent que les techniques d'attaques "douces" comme les hydrolyses, ne libèrent que de petites molécules souvent aliphatiques : elles seraient constituées par les éléments périphériques, alors que la portion centrale n'est touchée que par les attaques brutales (dégradations oxydatives avec le permanganate ou avec l'acide nitreux par exemple).

Cette architecture est à l'heure actuelle admise par un très grand nombre de chercheurs : elle offre l'avantage de s'appliquer également aux acides

fulviques qui comporteraient un nucléus plus petit et une densité d'éléments périphériques plus importante.

II.3.7 - Modèle de Wershaw (1977)

Plus récemment, Wershaw et al. (1977) ont essayé d'expliquer l'étendue de la gamme des poids moléculaires des substances humiques en considérant une hiérarchisation des structures. Selon eux, les structures les plus simples seraient composées d'acides phénoliques, quinoniques et benzène-carboxyliques reliées par des liaisons covalentes. L'association de ces structures donnerait des agrégats moléculaires par l'intermédiaire de liaisons plus faibles et selon la nature des particules élémentaires on distinguerait des agrégats homogènes ou des agrégats "mixtes".

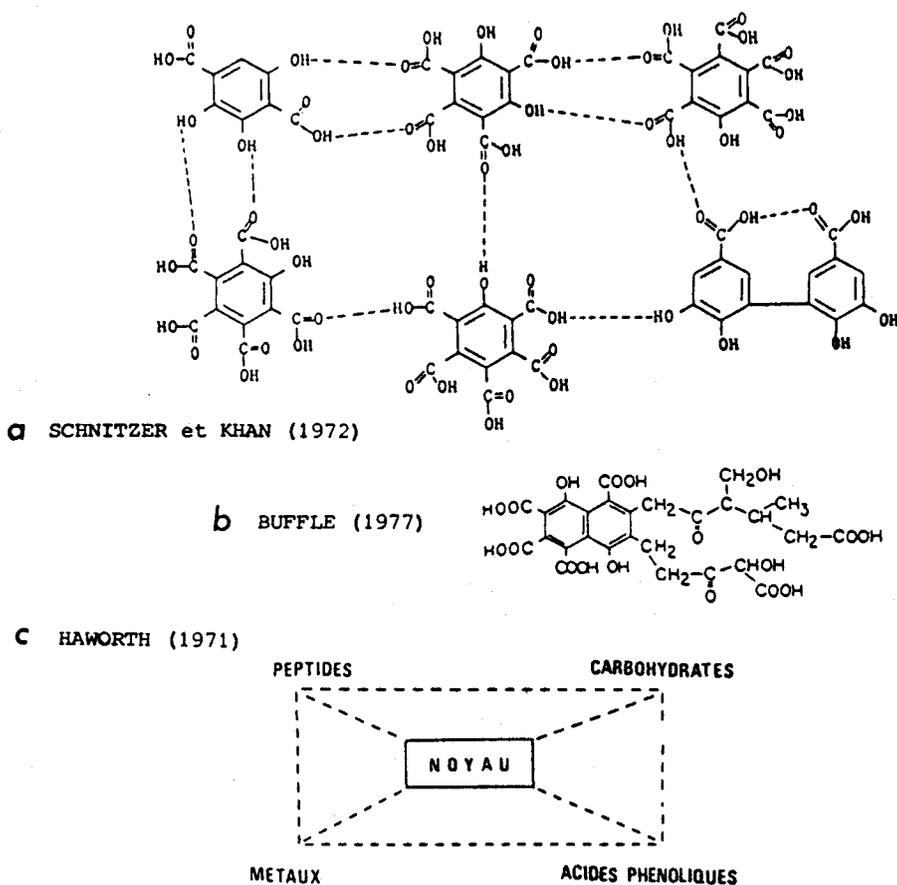


FIGURE 5 : Différents modèles structuraux proposés pour les acides fulviques:

a) par SCHNITZER et KHAN (1972)

b) par BUFFLE (1977)

Concept moléculaire représentatif des substances humiques selon HAWORTH (1971):c.

III - TRAVAUX ANTERIEURS RELATIFS AUX COMPOSES HUMIQUES ESTUARIENS

L'existence de synthèses bibliographiques récentes témoigne l'intérêt porté aux substances humiques véhiculées par le milieu marin : Gjessing (1976),

Christman et Gjessing (1983) et Rashid (1985). Les travaux concernant les composés humiques en domaine estuarien sont néanmoins restreints, comparés à leurs homologues terrestres (tableau 1). Leurs concentrations dans les sédiments seront tributaires de plusieurs facteurs tels que la distance à la côte, la profondeur d'eau, des conditions d'oxydo-réduction du substrat, la productivité biologique, la granulométrie et la minéralogie du substrat (Rashid, 1974 ; Jackson, 1975).

LIEUX D'ETUDE	AUTEURS
Baie de l'Aiguillon(France)	RIGOMIER et al. 1971
Amazone(Brésil) et Choctawhatchee(U.S.A.)	NISSENBAUM et KAPLAN 1972
Orinoco(U.S.A.)	PIERCE et FELBECK 1972
Baie de l'Aiguillon(France)	DUMON 1972
Grande Baie Sud(U.S.A.)	HAIR et BASSETT 1973
Loire et Baie de l'Aiguillon(France)	HUC 1973
Apalachicola(U.S.A.)	MAC FARLANE 1978
Amazone(Brésil)	SHOLKOVITZ et al. 1978
Baie de Jade(R.F.A.)	KERNDORFF et SCHNITZER 1979
St Lawrence(Canada)	POCKLINGTON et LEONARD 1979
Loire(France)	DEREPPE et al. 1980
Baies de Suruga et de Sagami(Japon)	SAITO et HAYANO 1980,1981
Baies de Suruga et de Sagami(Japon)	HAYANO et al. 1982
Hudson-Raritan(U.S.A.)	HATCHER et al. 1983
Severn(U.S.A.)	MANTOURA et WOODWARD 1983
Baie de Tokyo(Japon)	HAYASE et TSUBOTA 1983,1984
Baie de Chesapeake(U.S.A.)	SOHN 1985

TABLEAU 1 : Travaux antérieurs relatifs à l'analyse des substances humiques d'estuaires et de baies.

PARTIE II

Caractéristiques des sédiments étudiés

PARTIE II

CARACTERISTIQUES DES SEDIMENTS ETUDIES

I - SITES ETUDIES

Les trois estuaires étudiés sont ceux de la Canche, de l'Authie et de la Somme (figure 6) ; leur orientation est NW-SE. Ils débouchent en Manche orientale, dans la partie Nord-Ouest du Bassin Parisien.

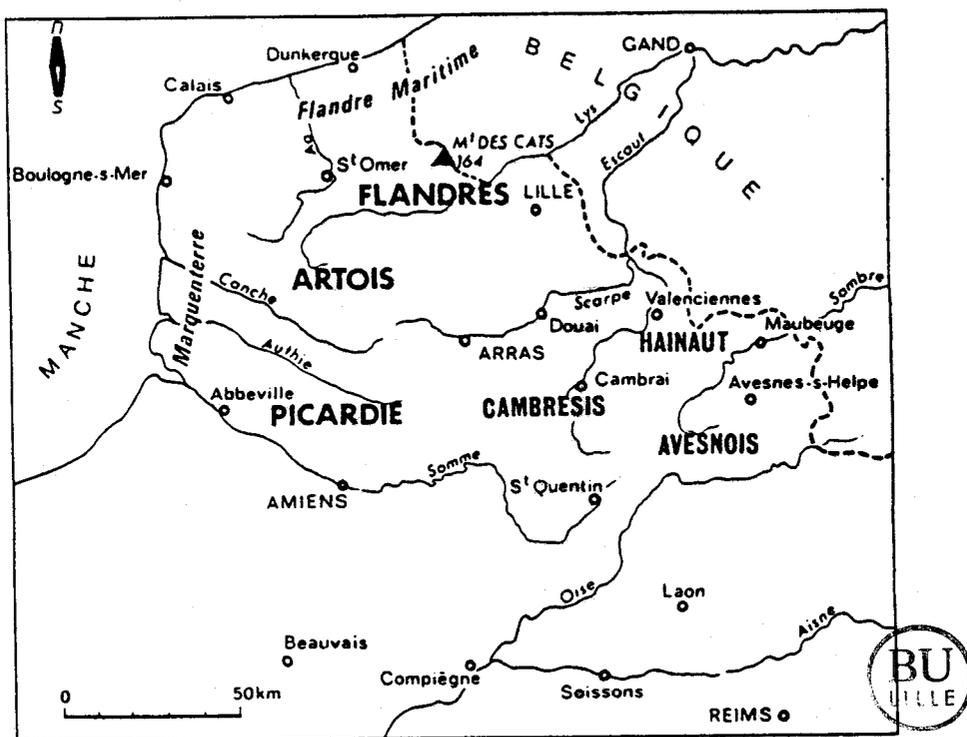


FIGURE 6 : Situation géographique des estuaires d'après Delattre et al. (1973).

I.1 - LA CANCHE (du latin quantia : caillouteuse)

D'une longueur de 96 km, elle prend sa source au pied du Mont de Gouy-en-Ternois dans le Pas-de-Calais, à une altitude de 133 m. Descendant les collines de l'Artois, elle rejoint la Manche orientale près du Touquet - Paris-Plage. Ses affluents principaux sont, de l'amont vers l'aval, la Ternoise, la Planquette, la Créquoise et la Course. Ce fleuve draine un bassin versant de 894 km² et atteint la Manche en formant un large estuaire (2,5 km de la Pointe du Touquet - Paris-Plage à celle de Lournel). Le débit moyen est de l'ordre de 13 m³/s.

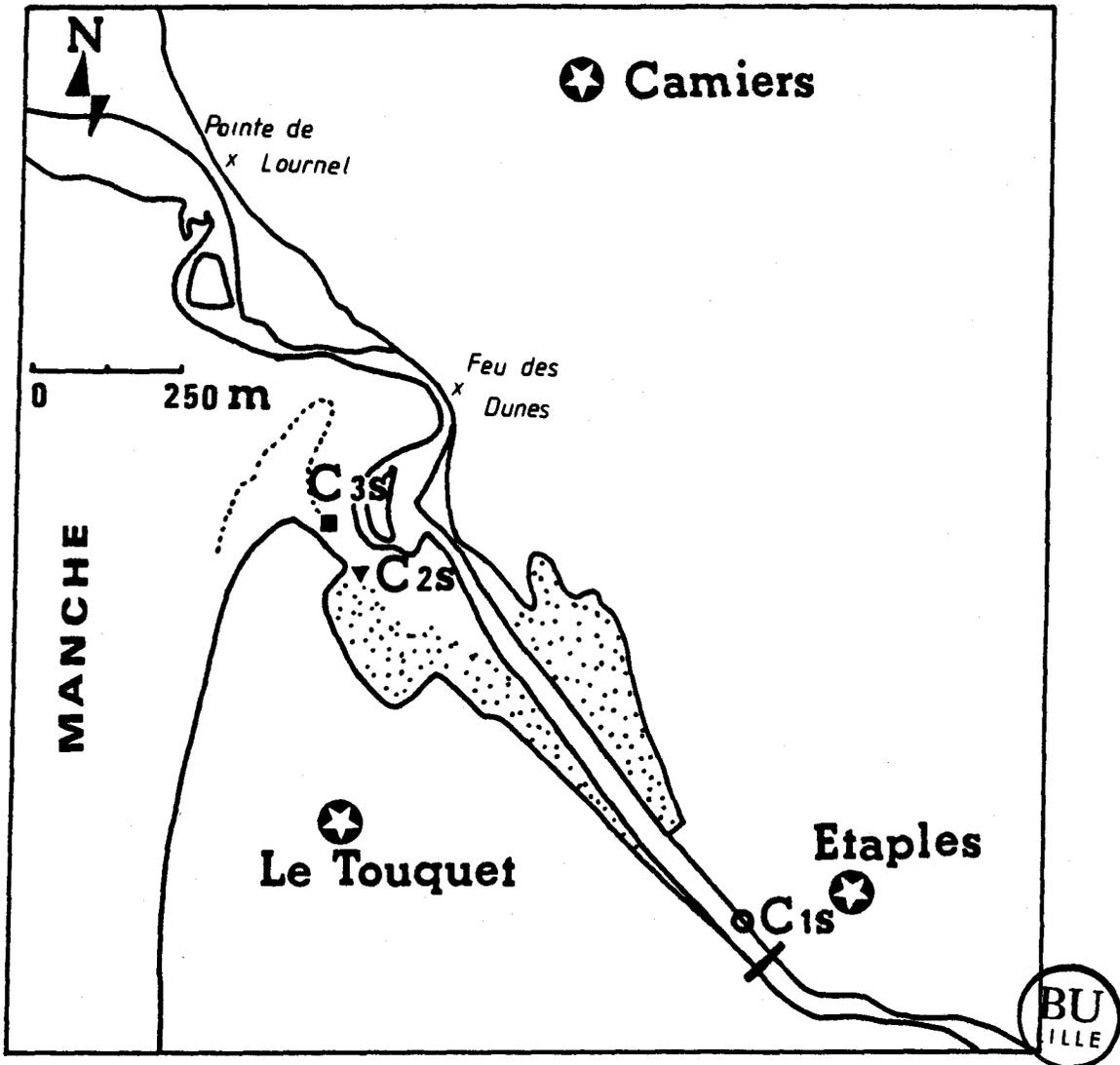


FIGURE 7 : Localisation des prélèvements dans l'estuaire de la Canche.

Un important banc sableux de direction Nord-Sud entrave l'embouchure de l'estuaire et fait apparaître un poulcier au niveau de la Pointe du Touquet progressant vers le Nord-Ouest. Corrélativement, une érosion au niveau de Lournel crée un musoir ; un phénomène identique (poulcier et musoir secondaires) est en voie de formation selon la même orientation (figure 7).

Au Pléistocène, l'isthme du Pas-de-Calais sépare la Mer du Nord et la Manche. A l'Holocène ou Flandrien (période post-glaciaire), la transgression de la Manche et de la Mer du Nord aboutit à une communication définitive, le relèvement du niveau de la mer entraîna le développement des estuaires picards par ennoiment des paléovallées. La transgression flandrienne mobilise et redistribue les dépôts terrigènes. Trois assises sont classiquement observées (Delattre *et al.*, 1973) :

- l'assise d'Ostende formant un cordon littoral ancien, constituée de galets roulés, de graviers et de sables coquilliers ;

- l'assise de Calais représente des sables argileux donnant naissance à la slikke et au shore au niveau de l'estuaire ; quelques bancs tourbeux sont représentés ;

- l'assise de Dunkerque du Flandrien supérieur, est connue sous le nom des sables du Marquenterre (Gosselet, 1902) formant le cordon littoral constitué de graviers et de sables coquilliers.

Les changements de position de la ligne de rivage à l'Holocène, semblent sans relation évidente avec le niveau marin. Le Fournier (1974 et 1980) note que les phénomènes transgressifs et régressifs ne s'expliquent que par la formation et la dislocation successives de plusieurs barrières littorales et non par d'éventuels phénomènes de tectonique ou de tassements différentiels. L'existence de deux générations de barrières littorales (8 000 et 6 000 BP) et de deux périodes de démantèlement (entre 6 000 et 4 000 BP, et de 2 500 BP à l'actuel) est proposée par Le Fournier (1974). Depuis l'époque romaine, les apports sédimentaires ne compensent plus le transfert littoral entraînant un déséquilibre au niveau de la morphologie sous-marine. Depuis 1758, l'ablation de la rive Nord au niveau de l'estuaire de la Canche est ainsi estimée à 2 km (Despeyroux, 1985).

A chaque marée, la mer pénètre dans l'estuaire et l'influence du flux est sensible jusqu'à 5 km de l'embouchure. Ghestem (1966) note que la marée était sensible jusqu'à Montreuil-sur-Mer vers le VII et VIII èmes siècles. Avec un débit d'étiage de l'ordre de $5 \text{ m}^3/\text{s}$, la Canche est un fleuve à courant faible ; par conséquent la Manche joue un rôle important au sein de l'estuaire en étant responsable d'une érosion et également d'un comblement par le biais du courant de flot qui, en remontant l'estuaire, apporte des éléments fins et plus grossiers en période de tempêtes ou de grandes marées.

1.2 - L'AUTHIE (du latin altus : haut)

L'Authie, longue de 100 km et rejoignant la Manche orientale par les Bas-Champs picards, prend sa source à Coigneux dans le département de la Somme. D'amont en aval, ses principaux affluents sont la Grouches, la Course, la Dordogne et l'Huîtrepin - pour un bassin versant de 750 km^2 et un débit moyen annuel estimé à $9 \text{ m}^3/\text{s}$. La largeur maximale de l'estuaire est de 3,5 km (de la Pointe de Routhiauville (= Dune Blanche) à celle du Haut-Banc) (figure 8).

La dynamique sédimentaire est active dans cet estuaire : l'accrétion rapide de la Pointe de la Dune Blanche entraîne une migration du chenal vers

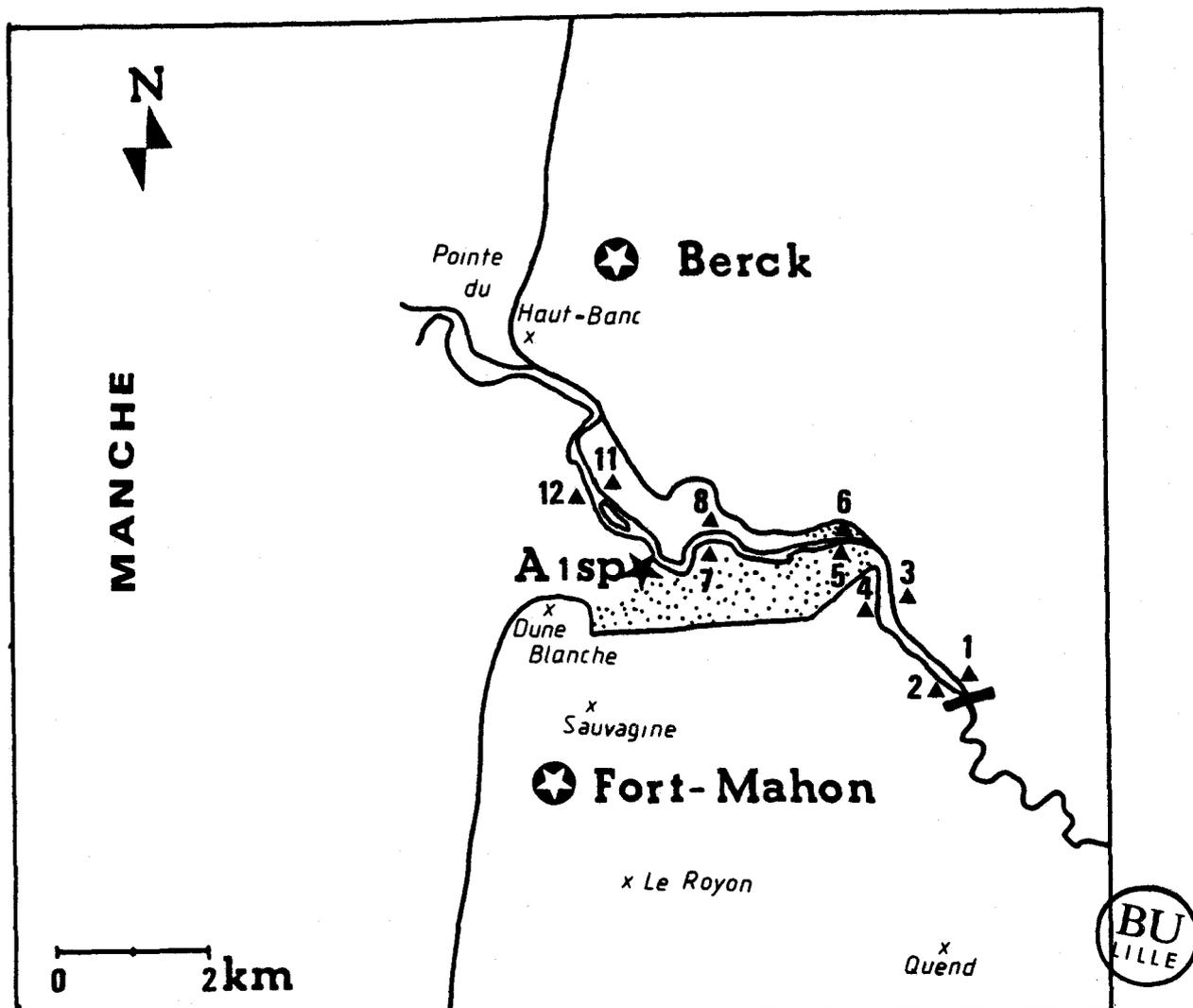


FIGURE 8 : Situation des prélèvements destinés à l'étude minéralogique des fractions fines ($2 \mu\text{m}$) dans l'estuaire de l'Authie.

($A_{1s}=9, A_{1p}=10$)

le Nord, provoquant d'emblée une sévère érosion de la Pointe du Haut-Banc. Le bilan régional entre la progression et le recul du trait de côte, reste positif malgré la phase transgressive actuelle du cycle flandrien. L'alimentation du littoral ne peut se faire qu'aux dépens du prisme sédimentaire sous-marin, s'effectuant probablement au niveau des deltas de marée (Mennessier *et al.*, 1981). Les apports actuels s'effectuent essentiellement par suspensions. Le cordon de dunes en panache, s'étendant de la Pointe de Routhiauville à celle de St-Quentin en baie de Somme, est en progression rapide vers le Nord depuis deux millénaires : vers 1600, le cordon atteignait un front arqué Quend-Plage et le Royon et, vers 1730 il s'était avancé de 2 km de Fort-Mahon-Plage à la Sauvagine. Les houles dominantes sont à l'origine d'une dérive littorale vers le Nord qui édifie le cordon littoral repris ensuite par le vent (Lepetit *et al.*, 1980).

I.3 - LA SOMME (du celtique samara : rivière tranquille)

La Somme prend sa source à Font-Somme dans le département de l'Aisne, à une altitude de 80 m et rejoint la mer en formant un large estuaire entre le Crotoy et St Valéry-sur-Somme. D'une longueur totale de 245 km, le bassin

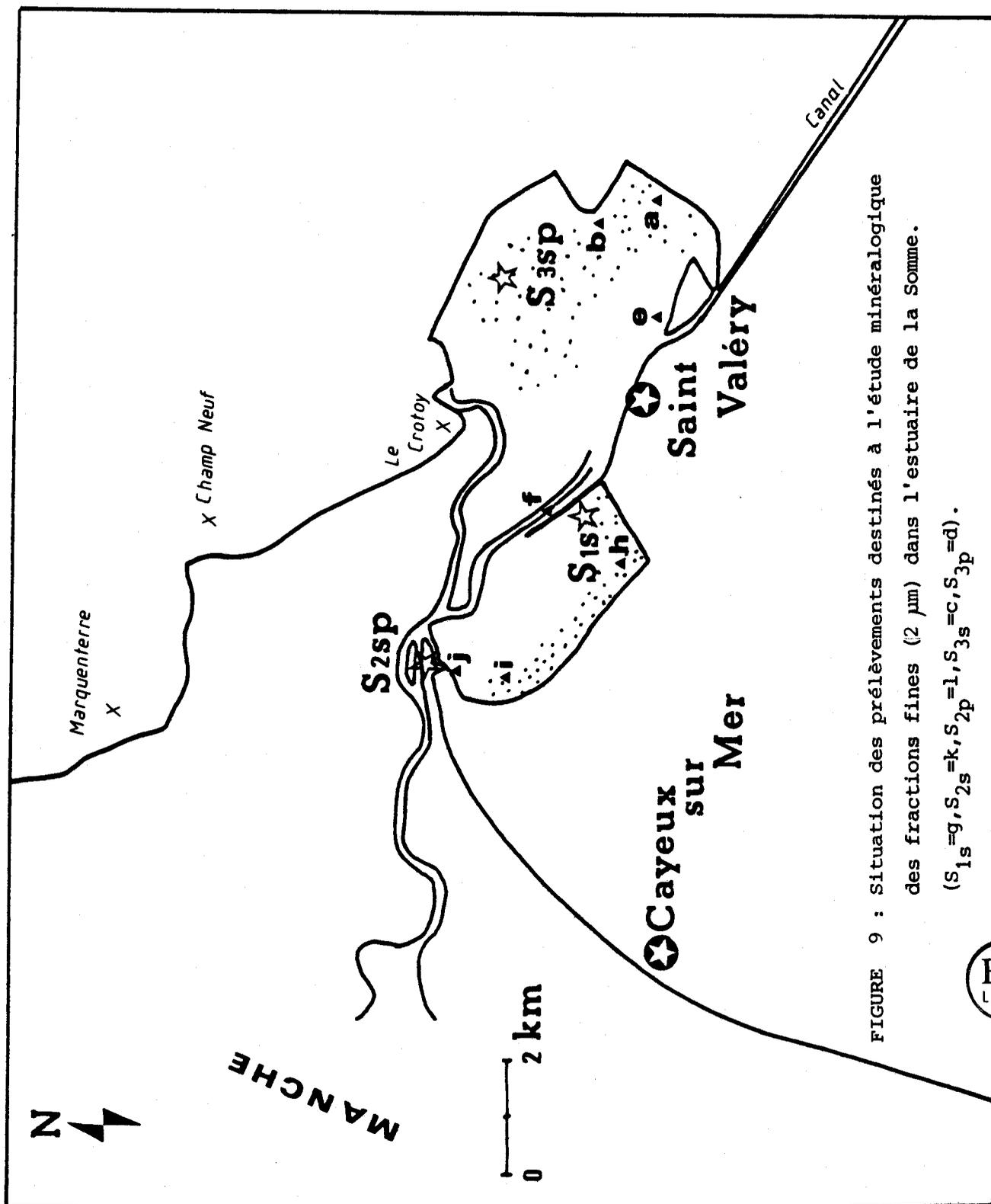


FIGURE 9 : Situation des prélèvements destinés à l'étude minéralogique des fractions fines ($2 \mu\text{m}$) dans l'estuaire de la Somme.

($S_{1s}=g, S_{2s}=k, S_{2p}=l, S_{3s}=c, S_{3p}=d$).

versant atteint 5 600 km². Des trois fleuves picards, la Somme présente un débit moyen le plus élevé avec 50 m³ /s environ. L'estuaire mesure 10 km de long et son cordon dunaire en panache s'étend du Crotoy à la ferme du Champ-neuf (figure 9). L'érosion, par les houles, de la Pointe de la Dune Blanche, est moins intense que dans les deux estuaires décrits précédemment.

Bournerias et al. (1981) remarquent que le flot (marée montante ou flux) dure environ 2 h en baie de Somme, alors que le jusant (marée descendante ou reflux) est plus lent : 4 h. Or 50 millions de m³ d'eau l'envahissent à chaque marée pour y apporter 5 000 t de vase (soit 1 dg/l ou 100 g/m³). Puisque le jusant est de moindre énergie, 1 % environ de ce "bouchon vaseux" est abandonné sur place, soit 50 t par marée. Il n'est par conséquent pas étonnant qu'au XII^{ème} siècle, Abbeville fut le troisième port de la Manche après Dieppe et Caen. Aujourd'hui, une écluse empêche la marée de remonter jusqu'à Abbeville. En aval, la Somme est canalisée sur plusieurs kilomètres sous l'appellation du canal maritime d'Abbeville débouchant sur Valéry-sur-Somme.

La tendance à l'envasement ou à l'ensablement influe grandement sur la faune et la flore. Aussi il existe un certain nombre d'ouvrages relatifs aux rapports existants entre les groupements végétaux, le milieu estuarien et le substratum (Ghestem, 1966 ; Duval, 1973 ; Dupont, 1975 ; Bournerias et al., 1981). Dans ces estuaires, on distingue le schorre et la slikke : la première zone correspond à la partie haute du marais littoral, formée de vase consolidée à végétations halophiles recouvertes aux pleines mers de vives eaux. La slikke se caractérise par la partie basse du marais littoral, vaseuse et non ou faiblement colonisée par la végétation : elle est généralement inondée à chaque marée.

Sur le haut schorre, prolifèrent en liseré argenté les armoises maritimes (Artemisia maritima) associées avec des gazons épais de chiendent piquant (Agropyron pungens). Sur le schorre moyen qui est atteint par la mer à toutes les grandes marées, correspond le domaine de l'obione (Halimione portulacoïdes) formant un peuplement dense de 30 à 50 cm de hauteur, mêlé à de nombreuses autres plantes halophytes, dont des graminées comme Puccinellia maritima. La présence de troupeaux de bovins et d'ovins explique en partie la régression de l'obione. Sur le bas schorre où le substratum est plus souvent engorgé, Puccinellia maritima se développent abondamment avec l'aster marin (Aster tripolium).

En haute slikke, on rencontre les salicornes annuelles (Salicornia europaea) et les spartines de Townsend (Spartina townsendi) qui, en formant de grosses touffes, jouent un rôle important dans la fixation des sédiments (Bournerias et al., 1981).

II - CARACTERISTIQUES SEDIMENTOLOGIQUES

II.1 - PRELEVEMENTS

Les prélèvements ont été opérés à des époques différentes : pour la Canche en septembre 1982, pour l'Authie en septembre 1983 et pour la Somme en février 1984. Il s'agit de sédiments vaseux noirâtres situés au niveau de la slikke, en zone dépourvue de végétation. Les sites exacts des divers prélèvements sont représentés dans le tableau 2. Les symboles choisis pour l'identification des échantillons sont les suivants : la lettre en majuscule correspond à la première

ECHANTILLON	COORDONNEES GEOGRAPHIQUES	PRELEV.	COT %	CaCO ₃ %	code des couleurs CAILLEUX (MUNSELL)
C1s	01°32'11"E 50°30'50"N	0-10cm	1,34	32,83	M91 gris clair (2,5 Y 7/2)
C2s	01°34'16"E 50°32'17"N	0-10cm	1,75	28,94	N91 olive pâle (5 Y 6/3)
C3s	01°34'24"E 50°32'21"N	0-10cm	0,81	17,28	T85 jaune pâle (5 Y 7/4)
A1s	01°35'04"E 50°22'05"N	0-20cm	0,72	25,49	N91 olive pâle (5 Y 6/3)
A1p	01°35'04"E 50°22'05"N	20-40cm	0,53	20,82	M92 gris clair (5 Y 7/1)
S1s	01°36'19"E 50°12'02"N	0-10cm	0,35	28,16	M91 gris clair (5 Y 7/1)
S2s	01°34'13"E 50°13'03"N	0-20cm	0,93	45,78	T85 jaune pâle (2,5 Y 7/4)
S2p	01°34'13"E 50°13'03"N	20-40cm	1,05	48,38	T80 blanc (5 Y 8/2)
S3s	01°40'05"E 50°12'24"N	0-20cm	1,00	38,05	T85 jaune pâle (5 Y 7/4)
S3p	01°40'05"E 50°12'24"N	20-40cm	1,16	43,57	T85 jaune pâle (5 Y 7/4)

TABLEAU 2 : Caractéristiques des sédiments estuariens prélevés.
(C: Canche, A: Authie, S: Somme, COT: carbone organique total).

lettre du nom de l'estuaire concerné, la lettre en minuscule définit la tranche de prélèvement : s = superficielle (soit 0-10 cm, soit 0-20 cm) et p = profonde (20-40 cm). Seuls les estuaires de l'Authie et de la Somme ont fait l'objet de ces types de prélèvement. En ce qui concerne l'estuaire de la Canche, les sédiments furent très pauvres en carbone organique au-delà de 10 cm de profondeur de prélèvement.

II.2 - CARBONE ORGANIQUE TOTAL

Le dosage est effectué sur le sédiment entier et sec, selon la méthode rapide de Nelson et Sommers (1965) : il s'agit d'une réaction obtenue à 150° C ± 5° C durant 30 mn en présence de dichromate de potassium et d'acide sulfurique, puis d'un titrage final du dichromate non utilisé avec la solution de Mohr en présence d'un indicateur (acide N phénylanthranilique dans une solution de Na₂CO₃).

Les valeurs obtenues varient de 0,35 à 1,75 % (tableau 2) et, sont d'autant plus élevées que la fraction fine des sédiments ($< 2\mu\text{m}$) est importante. Ceci est en relation avec la surface spécifique et à la capacité d'échanges des minéraux phylliteux notamment.

II.3 - CARBONATES

La teneur est mesurée avec le calcimètre de Bernard par attaque du sédiment entier avec HCl 2N puis mesure du gaz carbonique dégagé. Les teneurs obtenues s'échelonnent de 17,28 à 48,38 % (tableau 2), les échantillons de la Somme étant relativement plus riches. Les examens microscopiques de tous les échantillons ne révèlent que de rares débris de roches calcaires pour les trois estuaires : la fraction carbonatée est essentiellement d'origine organogène et plus spécialement zoogène (débris coquilliers et tests divers abondants).

III - GRANULOMETRIE DES SEDIMENTS

III.1 - METHODES

Après tamisage sous l'eau au tamis de $63\mu\text{m}$, la fraction retenue est placée sur une colonne vibrante constituée de tamis AFNOR (modules 19 à 26). Deux subdivisions majeures sont alors prises en compte : les sables grossiers (Sg) de 1 à 0,15 mm et les sables fins (Sf) de 0,15 à 0,063 mm. La fraction inférieure à $63\mu\text{m}$ est analysée au Sedigraph 5 000 D qui permet d'automatiser l'analyse des dimensions basée sur les lois de Stokes de sédimentation. Les résultats sont exprimés par des courbes semi-logarithmiques : pourcentage cumulé en fonction du logarithme des diamètres équivalents sphériques. Les quatre subdivisions établies pour les fines sont les suivantes : limon grossier (Lg) de 63 à $20\mu\text{m}$, limon fin (Lf) de 20 à $2\mu\text{m}$, argile (A) de 2 à $1\mu\text{m}$ et argile fine (Af) inférieure à $1\mu\text{m}$ de diamètre.

Résultant de l'analyse granulométrique, deux indices permettent d'apprécier le classement et l'asymétrie de la distribution :

$$S_0 = \sqrt{\frac{Q_{25}}{Q_{75}}} \quad \text{indice de classement (de Trask)}$$

$$S_k = \frac{Q_{25} \times Q_{75}}{(Q_{50})^2} \quad \text{indice d'asymétrie (de Skewness)}$$

où Q_{75} , Q_{50} et Q_{25} correspondent respectivement au diamètre des particules à un pourcentage de 75, 50 et 25 du poids du sédiment. Les valeurs de classement sont :

- 1 à 1,20 bien classé
 1,20 à 1,87 moyennement classé
 1,87 à 2,75 mal classé

De même pour l'asymétrie:

- $S_K < 1$ fraction fine plus abondante par rapport à la moyenne
 $S_K = 1$ distribution normale
 $S_K > 1$ fraction grossière relativement plus abondante
 (Despeyroux, 1985).

III.2 - RESULTATS

L'analyse granulométrique (tableau 3) révèle que les fractions fines (< 63 μm) sont importantes dans nos sédiments à l'exception de trois échantillons (C_{3s} , A_{1p} et S_{1s}). En ce qui concerne les sédiments C_{1s} et C_{2s} de la Canche, les teneurs en particules fines sont respectivement de 61 et 48 % : C_{1s} est issu d'une vase litée noirâtre plaquée contre la berge droite du chenal au niveau du pont d'Étaples - C_{2s} se trouve plus vers l'aval dans une zone propice à la décantation en zone protégée par le banc sableux du Pilori. Les échantillons les plus fins sont rencontrés dans l'estuaire de la Somme (59,7 à 70 % de fraction < 63 μm) à l'exception de S_{1s} plus proche du chenal où l'hydrodynamisme est plus élevé. Le classement des particules est mauvais à très mauvais avec un indice S_o de Trask supérieur à 2 pour tous les échantillons. A l'exception de S_{3p} , l'Authie et la Somme montrent une distribution normale avec un indice S_K voisin de l'unité.

Ech.	granulométrie						indices	
	Sg %	Sf %	Lg %	Lf %	A %	Af %	S_o classmt	S_k asymétrie
C_{1s}	2	37	17	27	7	10	3,22	1,20
C_{2s}	16	36	6	29	6	7	4,40	0,73
C_{3s}	53	20	9	13	3	2	6,30	0,36
A_{1s}	32	33	12	15	4	4	2,79	1,00
A_{1p}	33	47	6	11	2	1	4,50	0,91
S_{1s}	22	67	5	4	1	1	2,06	1,01
S_{2s}	1,5	39	24	22	6	7,5	2,89	0,98
S_{2p}	1	35	26	26	6	6	2,71	1,08
S_{3s}	4	26	29	29	8	4	2,56	1,10
S_{3p}	7	33	24	27	6	3	2,96	1,27

TABLEAU 3 : Analyses granulométriques des sédiments.

En intégrant la classification employée par Vaslet et al. (1978) relative aux sédiments superficiels de la Manche, nos sédiments sont classés dans les trois catégories suivantes :

- Sédiments lithoclastiques, vaseux calcaireux à lutites (5 à 25 %) = A_{1p} et S_{1s}
- Sédiments lithoclastiques, vaseux calcaireux à lutites (25 à 75 %) = C_{2s}, C_{3s} et A_{1s}.
- Sédiments lithobioclastiques, vaseux calcaireux à lutites ((25 et 75 %) = C_{1s}, S_{2s}, S_{2p}, S_{3s} et S_{3p}.

Les sédiments lithobioclastiques se distinguent par une teneur en carbonate comprise entre 30 et 50 %, alors que celle-ci est inférieure à 30 % pour les sédiments lithoclastiques.

IV - MINÉRALOGIE DE LA FRACTION < 2 μm

IV.1 - METHODES

Une étude minéralogique des fractions fines (< 2 μm) est réalisée par diffraction des rayons X sur des pâtes orientées. Après décarbonatation (HCl O, 2 N) et défloculation (centrifugations successives avec eau distillée), les sédiments sont mixés au microhomogénéiseur pendant 1 mn juste avant la décantation qui s'opère pendant 110 mn dans un pilulier de 100 ml. Les deux premiers centimètres de la solution qui correspondent aux particules non calcaires de diamètre inférieur à 2 μm (loi de Stokes), sont prélevés à l'aide d'une seringue et centrifugés ensuite à 2 000 g pendant 40 mn. Le culot obtenu est homogénéisé puis étalé sur une lame rainurée. Celle-ci est d'abord placée dans le diffractomètre sans traitement préalable (1er spectre) ; puis elle subit un traitement à l'éthylène glycol (2ème spectre). Ce traitement permet de différencier les minéraux argileux gonflants à la suite de la pénétration de ces molécules organiques dans l'espace interfoliaire. Enfin, un chauffage à 490° C pendant 2 h différencie la chlorite et la kaolinite qui est détruite. Les trois spectres-type sont représentés sur la figure 10. Parallèlement des minéraux accessoires non argileux sont également détectables tels que le feldspath (3,20Å) la goethite (4,20Å) ou le quartz (4,30Å). L'estimation semi-quantitative prend en considération la hauteur des raies à partir du bruit de fond, corrigée en fonction de la cristallinité du minéral (en rapport avec la largeur des pics obtenus). Les détails techniques et l'interprétation des spectres en diffraction RX sont indiqués par Brindley (1951), Chamley (1966), Calatayud (1981) et Holtzapffel (1985). Dans les figures 8 et 9, sont situés les points de prélèvements réalisés pour cette étude en baie d'Authie et de Somme.

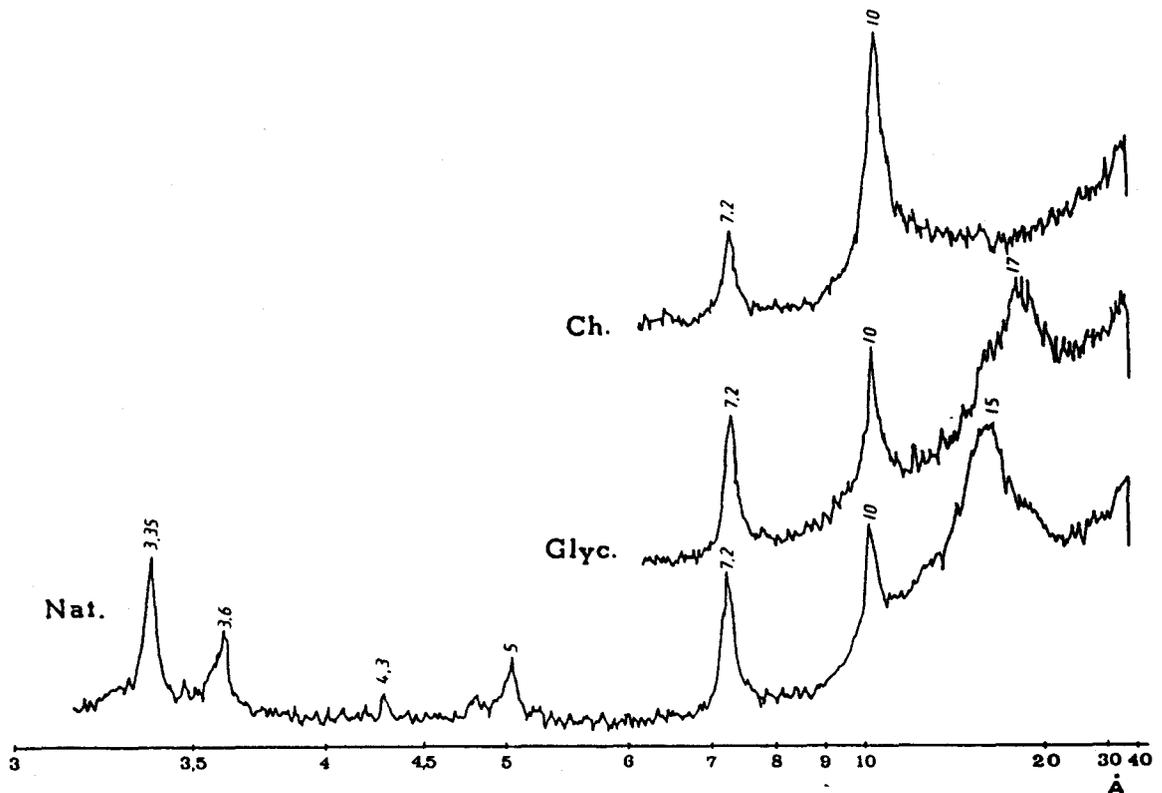


FIGURE 10 : Diffractogramme type de la fraction fine ($< 2 \mu\text{m}$) en pâtes orientées: échantillon A_{1S} de l'estuaire de l'Authie. (Diagrammes "naturel, glycolé et chauffé")

IV.2 - RESULTATS

Dans le tableau 4, les teneurs en chlorite, illite, interstratifiés, vermiculite, smectite et en kaolinite sont déterminées de l'amont vers l'aval pour les estuaires de l'Authie et de la Somme. En ce qui concerne l'estuaire de la Canche, Despeyroux (1985) note l'inexistence d'évolution marquante dans la composition des cortèges argileux de l'amont vers l'aval. Les valeurs sont les suivantes pour cet estuaire : chlorite 5 %, illite 30 %, interstratifiés 25 %, vermiculite en traces, smectite 25 % et kaolinite 10 à 15 %. Pour les estuaires de l'Authie et de la Somme, nous trouvons une proportion plus élevée de smectite (35 à 40 %) au détriment des interstratifiés (15 à 20 %). Globalement, nous retrouvons pour les trois estuaires, l'importance relative de la smectite, de l'illite et des interstratifiés. Lucas (1962) regroupe les édifices interstratifiés irréguliers en $(10-14_s)$: illite-smectite, en $(10-14_v)$: illite-vermiculite, en (14_c-14_s) : chlorite-smectite et, en (14_c-14_v) : chlorite-vermiculite.

Dans l'estuaire de la Slack, Calatayud (1981) remarque également très peu de variation d'amont en aval de la minéralogie des argiles.

AUTHIE	C	I	Interstratiifiés				V	S	K
			(10-14 _s)	(10-14 _v)	(14 _c -14 _v)	(14 _c -14 _s)			
1s	10%	25%	10%	tr	nd	5%	nd	35%	15%
2s	5%	25%	10%	tr	tr	5%	nd	40%	15%
3s	10%	25%	10%	tr	tr	5%	nd	35%	15%
4s	5%	30%	10%	tr	tr	5%	nd	35%	15%
5s	5%	30%	5%	tr	tr	5%	nd	35%	15%
6s	5%	30%	10%	tr	tr	5%	nd	35%	15%
7s	5%	30%	10%	tr	tr	5%	nd	35%	15%
8s	5%	30%	10%	tr	nd	5%	nd	30%	20%
9s	5%	30%	5%	tr	tr	5%	nd	40%	15%
10s	5%	30%	10%	tr	tr	5%	nd	35%	15%
11s	5%	30%	10%	5%	nd	5%	nd	30%	15%

SOMME	C	I	Interstratiifiés				V	S	K
			(10-14 _s)	(10-14 _v)	(14 _c -14 _v)	(14 _c -14 _s)			
as	tr	30%	5%	tr	5%	10%	nd	35%	15%
bs	tr	20%	5%	tr	5%	10%	nd	45%	15%
cs	5%	30%	10%	tr	tr	10%	nd	35%	10%
dp	5%	30%	10%	tr	tr	10%	nd	35%	10%
es	5%	25%	10%	tr	tr	10%	nd	40%	10%
fs	5%	30%	10%	tr	nd	5%	nd	40%	10%
gs	5%	20%	15%	tr	tr	10%	nd	40%	10%
hs	5%	30%	5%	tr	nd	10%	nd	35%	15%
is	tr	30%	10%	tr	tr	10%	nd	35%	15%
js	5%	30%	10%	5%	nd	5%	nd	35%	10%
ks	5%	30%	10%	tr	tr	5%	nd	40%	10%
lp	tr	30%	10%	tr	tr	5%	nd	40%	15%

TABLEAU 4 : Analyses minéralogiques de la fraction argileuse des sédiments (<2 μm) prélevés dans les estuaires de l'Authie et de la Somme.

(C: chlorite, I: illite, V: vermiculite, S: smectite, K: kaolinite, tr: traces, nd: non détecté).



PARTIE III

Analyse des substances humiques

extractibles

PARTIE III

ANALYSE DES SUBSTANCES HUMIQUES EXTRACTIBLES

I - EXTRACTION DES MATIERES ORGANIQUES ET FRACTIONNEMENT

Les substances organiques non humiques sont préalablement éliminées par séparation densimétrique et solubilisation, alors que l'extraction des substances humiques est favorisée par décalcification ménagée. Pour l'extraction proprement dite, des précautions ont été prises afin d'obtenir un rendement élevé sans pour autant altérer les propriétés physico-chimiques.

I.1 - TRAITEMENTS PREALABLES

I.1.1 - Techniques

Les échantillons sédimentaires, séchés à l'air libre et homogénéisés, sont d'abord tamisés sur maille de 1 mm, puis broyés au mortier afin de détruire les agrégats éventuels capables de piéger des débris organiques peu ou pas décomposés. Ce tamisage permet surtout d'écarter les débris coquilliers, notamment Cardium edule, Scrobicularia plana, Tellina crassa, Tellina tenuis et Tellina fabula.

La matière organique fraîche ou peu humifiée des sédiments est éliminée par la méthode densimétrique mise au point par Monnier et al. (1962) pour des sols. La densité 1,80 généralement employée pour les échantillons du sol, est utilisable pour les sédiments estuariens (Kalinowski, 1983). Le protocole utilisé est le suivant : la liqueur densimétrique correspond à un mélange d'alcool éthylique absolu et de bromoforme ajusté à une densité de 1,80. Les sédiments sont placés dans cette liqueur à raison de 25 g pour 100 ml. Après agitation manuelle de 10 minutes par retournements successifs dans une fiole conique, une centrifugation de 5 minutes à 1 400 g conduit à la récupération, dans le surnageant, de la matière organique non liée. Après filtration et séchage, la fraction légère est pesée et inventoriée.

Un autre traitement fait intervenir le mélange benzène-méthanol (1/1 v/v) : à 100 g de sédiment prétraité en densimétrie sont ajoutés 200 ml de ce mélange, une agitation manuelle de 10 minutes suivie d'une centrifugation à 2 000 g conduit à l'obtention d'un surnageant jaunâtre. D'après Jambu (1971),

les composés récupérés dans cette liqueur sont représentés par des hydrocarbures aliphatiques, des cires, des résines, des phospholipides, des graisses et des acides gras, des porphyrines et des terpénoïdes.

En ce qui concerne la décarbonatation, destinée à augmenter le rendement d'extraction humique, nous avons opéré de la façon suivante : 100 g de sédiment sont ajoutés à 100 ml de HClO, 1 N et le mélange est porté en agitation magnétique pendant 30 minutes. Ensuite, une centrifugation de 5 minutes à 1 500 g permet de récupérer un culot qui est utilisable pour l'extraction proprement dite des substances humiques.

I.1.2 - Résultats et discussion

Le tableau 5 donne les résultats quantitatifs, relatifs à la séparation densimétrique. Selon les échantillons, cette fraction légère (densité inférieure à 1,80) représente 115 à 520 mg en poids sec pour 100 g de sédiment initial et correspond à 0,91 jusqu'à 9,63 % du carbone organique total (C.O.T.) du

100 g	COT (%)	FRACTION LEGERE		C orga F.1.
		POIDS SEC (mg)	C orga (mg)	COT (%)
C1s	1,34	520	87 (16,76%)	6,49
C2s	1,75	420	78 (18,60%)	4,46
C3s	0,81	520	78 (15,00%)	9,63
A1s	0,72	218	21 (9,63%)	2,92
A1p	0,53	115	11 (9,57%)	2,08
S1s	0,35	135	13 (9,63%)	3,71
S2s	0,93	176	22 (12,50%)	2,37
S2p	1,05	256	27 (10,55%)	2,57
S3s	1,00	370	48 (12,97%)	1,30
S3p	1,16	275	29 (10,55%)	0,91

TABLEAU 5 : Fraction légère (F.1.) extractible avec le mélange alcool éthylique-bromoforme (densité 1,80): importance quantitative à partir de 100 g de sédiments. (COT: carbone organique total).

sédiment. Les plus fortes teneurs se rencontrent dans l'estuaire de la Canche. L'observation microscopique montre la présence de nombreuses diatomées, de particules charbonneuses et de débris divers tels que spicules d'échinodermes ou de spongiaires. Sont associés également quelques débris d'algues (vertes et brunes) et de végétaux supérieurs. L'inventaire de ces éléments figurés des divers échantillons estuariens est succinctement donné dans le tableau 6.

Nature	Echantillon									
	C1s	C2s	C3s	A1s	Alp	S1s	S2s	S2p	S3s	S3p
DIATOMEES	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
DEBRIS VEGETAUX	+	++	++	++	+	+	++	+	++	++
FORAMINIFERES	+	+	+	+	+	++	++	++	++	++
SPICULES DIVERS	+	+	+	tr						
GASTEROPODES	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
LAMELLIBRANCHES	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
OSTRACODES	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
PARTICULES NOIRES	++	++	++	+	+	+	+	+	+	+

TABLEAU 6 : Répartition des constituants figurés dans la fraction légère (< 1,80).
(+++ : très fréquent, ++ : fréquent, + : présent, tr : traces).

Plus précisément, parmi les diatomées, les espèces suivantes ont été identifiées : Biddulphia rhombo, Raphoneis amphiceras à "valves" lancéolées ornées d'alvéoles radiantes, Anlacodiscus argus à "valves" épaisses avec structures alvéolaires et ponctuations assez grosses, Melosira en longues chaînes et Thalassiosira. Parmi les foraminifères benthiques dominant les Elphidium, quant aux milioles, elles montrent un arrangement des loges suivant une symétrie axiale d'ordre 2. La reconnaissance est réalisée à l'aide des ouvrages de Van der Werff et Huls (1958 à 1966) et de Langlet (1962).

Notons que les particules noires charbonneuses sont relativement plus abondantes dans l'échantillon de la Canche : il est possible qu'il y ait une relation avec les niveaux tourbeux existants dans la partie nord de l'embouchure entre la Pointe du Lournal et le feu des dunes de Camiers (cf. figure 7). Le faciès tourbeux signalé par Dubois (1921) représenterait selon Munaud et Gilot (1977) des dépôts d'arrière marais développés à l'abri du cordon dunaire.

L'efficacité d'une décarbonatation ménagée sur le rendement d'extraction des substances humiques, est révélée par les résultats représentés dans le tableau 7 relatif à l'échantillon A₁ de l'estuaire de l'Authie. Un peu plus du double d'acides humiques est extrait après ce traitement, l'effet étant moins net pour les acides fulviques. L'acide chlorhydrique favoriserait la mobilisation des ions calcium et corrélativement l'intégration des ions sodiques à la suite des extractions.

100 g de sédiment	AH pyro	AH soude	AH total	AF pyro	AF soude	AF total	SHE	
	34 mg (10+12+12)	33 mg (20+ 8+ 5)	67	69 mg (32+20+17)	20 mg (12+ 5 + 3)	89	156 mg	Ais sans HCl
	107 mg (30+50+27)	102 (60+25+12)	209	65 (27+23+15)	28 (15+ 8 + 5)	93	302 mg	Ais avec HCl
	33 mg (13+10+10)	34 mg (21+ 8+ 5)	67	53 mg (26+15+12)	18 mg (11+ 4 + 3)	71	138 mg	Alp sans HCl
	73 mg (20+25+28)	141 mg (87+34+20)	214	48 mg (28+ 9+11)	25 mg (17+ 5 + 3)	73	287 mg	Alp avec HCl

TABLEAU 7 : Bilan humique obtenu à partir des sédiments Ais et Alp après trois extractions successives au pyrophosphate suivies de trois autres avec la soude: extractions précédées ou non d'un traitement ménagé avec HCl 0,1 N. (SHE: substances humiques extractibles).

1.2 - EXTRACTION DES SUBSTANCES HUMIQUES

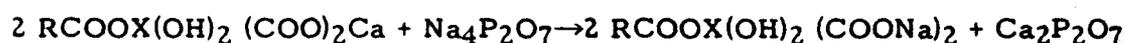
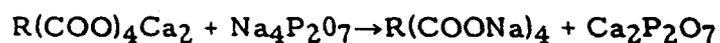
1.2.1 - Principe

Nous avons signalé que l'extraction devait répondre à deux nécessités impératives : permettre un rendement maxima et un minimum de dégradations pour les molécules récupérées. Les composés humiques, étant associés à la phase minérale du sédiment, ils se solubilisent par l'intermédiaire de réactifs sodiques selon le principe suivant :

Complexe humo-minéral + Réactif sodique → Humate de sodium + Sel précipitable
insoluble soluble

Des essais antérieurs (Kalinowski, 1983) avaient conduit à utiliser différentes solutions d'extraction pour l'étude d'échantillons estuariens : les pyrophosphates neutre et alcalin, le tétraborate et la soude. Il s'est avéré que deux de ces solutions, le pyrophosphate neutre et le tétraborate, étaient relativement peu efficaces. A titre d'exemple, le pyrophosphate neutre extrait trois fois moins d'acides humiques que son homologue alcalin lorsque l'extraction est opérée sur un sédiment superficiel de l'estuaire de la Canche.

De façon plus précise, la réaction d'extraction au pyrophosphate de sodium à pH alcalin peut s'écrire de la façon suivante :



1.2.2 - Méthodes d'extraction et de fractionnement

Pour l'extraction de substances humiques, les modalités suivantes ont été employées : dans un premier temps, 250 g de sédiments prétraités sont

placés dans 750 ml de $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M à pH 9,8, puis agités pendant 3 heures sur table rotative en présence d'un gaz inerte : l'azote. Après un repos de 24 h à l'obscurité, le surnageant coloré est récupéré par centrifugation à 5000 g pendant 30 minutes. A partir du culot de centrifugation, cette extraction est à nouveau réalisée deux fois selon le même protocole. Ensuite une seconde série de trois extractions est opérée avec la soude 0,1 M à pH 12,0 en empruntant le même mode opératoire.

Le fractionnement acide humique (AH) / acide fulvique (AF) est réalisé par acidification des solutions alcalines d'extraction au moyen d'une solution HCl 1 N de façon à obtenir un pH de 1,0 (l'acide chlorhydrique concentré n'est pas employé pour éviter d'éventuelles hydrolyses à l'interface acide/solution d'extraction). Après un repos de 24 h à température ambiante et à l'obscurité, le flocculat d'acides humiques est récupéré par centrifugation à 4 000 g pendant 10 minutes. Le surnageant contient les acides fulviques qui restent en solution quel que soit le pH.

1.2.3 - Résultats et discussion

Le tableau 8 donne les bilans humiques exprimés en carbone organique, des différentes étapes d'extraction opérées par le pyrophosphate de sodium et ensuite par la soude. Les valeurs sont indiquées en mg de carbone organique pour 100 g de sédiment sec brut. Ces bilans confirment l'importance des composés humiques extractibles par rapport à l'ensemble des composés organiques pour les différents échantillons : 19,14 à 54,96 % du carbone de la matière organique liée (MOL) sont extraits sous formes d'acides fulviques ou humiques. La fraction organique non solubilisable est assimilée à l'humine (voir Part. I, § II.1) pouvant être constituée par des débris de microorganismes intimement associés avec la fraction minérale ou, par des polycondensats très évolués.

Globalement, les teneurs en substances humiques extractibles (SHE) sont plus fortes en surface, ce qui peut être mis en corrélation avec la taille moyenne plus fine des sédiments : les échantillons C_{1s} et C_{2s} présentent 17 et 13 % de particules argileuses ($< 63\mu\text{m}$) et s'avèrent riches en composés humiques extractibles (624 et 444 mg respectivement de carbone organique pour 100 g de sédiments secs).

Les acides fulviques sont en général extraits au cours des trois premières extractions au pyrophosphate (à l'exception de l'échantillon S_3). Par exemple, cette première série conduit à solubiliser 68 % des acides fulviques de l'échantillon A_{1p} et 89 % pour l'échantillon S_{1s} . En ce qui concerne les acides

ECH. 100g	COT (%)	AF (mg) pyro+sde	AH (mg) pyro+sde	SHT (mg)	SHT/MOT (%)	SHT/MOL (%)	AF/AH
C1s	1,34	104+37	262+221	624	46,57	50,12	0,29
C2s	1,75	114+26	173+131	444	25,37	26,56	0,46
C3s	0,81	51+21	66+83	221	27,28	30,37	0,48
A1s	0,72	65+28	107+102	302	41,94	43,27	0,44
A1p	0,53	48+23	73+140	284	53,58	54,96	0,33
S1s	0,35	24+3	27+15	69	19,71	21,72	0,64
S2s	0,93	79+22	96+90	287	30,86	32,08	0,54
S2p	1,05	65+24	90+83	262	24,95	25,49	0,51
S3s	1,00	44+41	34+101	232	23,24	23,55	0,63
S3p	1,16	31+28	41+133	220	18,97	19,14	0,34

TABLEAU 8 : Bilan humique obtenu à partir de l'ensemble des échantillons sédimentaires.

(COT: carbone organique total, SHT: substances humiques totales, MOT: matière organique totale, MOL: matière organique liée).

humiques, pyrophosphate et soude possèdent approximativement la même efficacité, exception faite de l'échantillon S₃ pour lequel deux tiers des acides humiques sont solubilisés par la soude, ce qui suggère l'existence de liaisons organo-minérales plus fortes. En effet, le pyrophosphate permet de déplacer des acides fulviques de leurs complexes de coordination avec les sites métalliques des argiles, s'absorbe à leur place et conduit au passage en solution des acides fulviques (Bremner *et al.*, 1946 ; Bruckert, 1979). Par contre, la soude provoque la rupture des liaisons les plus résistantes et entraîne une forte dispersion des minéraux argileux associés aux substances humiques. Bruckert (1979) note que le pyrophosphate neutre et le tétraborate sont des réactifs peu ou non complexants qui permettent d'extraire des substances humiques essentiellement adsorbées sur la phase minérale par l'intermédiaire de liaisons électrostatiques.

Le rapport AF/AH en carbone organique est toujours inférieur à 1 (0,29 pour C_{1s} à 0,64 pour S_{1s}) (tableau 9). Si on compare ces résultats à ceux de Dumon (1972) et de Huc et Durand (1973) également relatifs à des sédiments estuariens, les acides fulviques prédominent sur les acides humiques. Alors que le premier auteur n'emploie qu'un seul réactif (pyrophosphate alcalin) et une extraction unique : il est possible d'affirmer que l'extraction humique est incomplète ; mais les seconds utilisent un mélange de pyrophosphate-soude et une série de quatre extractions successives : ce qui nous fait penser qu'en

ECHANTILLON	AF/AH	34 AF / AH					
	AH	1°	2°	3°	4°	5°	6°
C1s	0,29	0,63	0,28	0,31	0,18	0,16	0,07
C2s	0,46	1,01	0,40	0,45	0,22	0,19	0,12
C3s	0,48	1,70	0,45	0,67	0,25	0,26	0,30
A1s	0,44	0,86	0,50	0,52	0,25	0,29	0,33
A1p	0,33	1,42	0,35	0,39	0,17	0,13	0,13
S1s	0,64	1,05	0,81	0,19	0,20	0,15	0,34
S2s	0,54	1,37	0,66	0,38	0,26	0,20	0,25
S2p	0,51	0,75	0,95	0,40	0,32	0,24	0,26
S3s	0,63	1,37	1,33	0,98	0,45	0,46	0,29
S3p	0,34	0,65	0,87	0,82	0,17	0,13	0,25

PYROPHOSPHATE

SOUDE

TABLEAU 9 : Evolution du rapport AF/AH en fonction des extractions successives (trois au pyrophosphate de sodium, puis trois avec la soude).

baie d'Aiguillon (Sèvre) les composés humiques les plus labiles (acides fulviques) dominant. Pour des échantillons marins, Poutanen et Morris (1983a, b) trouvent des quantités égales d'acides fulviques et humiques. Quant à Cronin et Morris (1982) et, Gershanovich et Zaslavskiy (1983), ils signalent la prédominance des acides humiques en baie de Walvis (Afrique du Sud) et dans la région péruvienne de l'Océan Pacifique. Les taux d'extraction de substances humiques pour nos échantillons sont faibles mais comparables à ceux des auteurs précédemment cités. Des fluctuations sont observables selon des échantillons, mais elles ne semblent pas être en rapport direct avec la profondeur de ceux-ci : Huc et Durand (1973) formulaient déjà cette remarque en envisageant les remaniements probables que subissent les sédiments des estuaires.

II - CARACTERISTIQUES DES SUBSTANCES HUMIQUES

II.1 - TECHNIQUES DE PURIFICATION

II.1.1 - Cas des acides humiques

Les acides humiques extraits sont redissous dans le réactif qui a conduit à leur extraction ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ ou NaOH) et subissent à nouveau trois précipitations successives à pH 1,0. Après resolubilisation et ajustement du pH à 7,0, les acides humiques sont traités par ultracentrifugation à 100 000 g pendant 30 mn (Dormaar *et al.*, 1970) : l'opération conduit essentiellement à éliminer les minéraux phylliteux et phosphate de calcium restés dans la solution. Les extraits sont ensuite dialysés en employant des tubes en cellulose régénérée de type

SPECTRA-POR 6 (Spectrum Medical Industries Inc.) dont le seuil de coupure correspond à un poids moléculaire de 1 000. La dialyse se poursuit plusieurs jours en présence d'eau distillée régulièrement renouvelée.

Enfin un passage sur résine échangeuse de cations (Amberlite IR 120 employée sous forme H^+) va permettre l'obtention de molécules humiques sous forme acide. Cette résine est régénérée avec une solution de HCl 1 N.

II.1.2 - Cas des acides fulviques

Les solutions fulviques sont traitées par passage sur une résine complexante XAD 8 (Merck) selon la technique de Aiken et al. (1979). Les molécules d'acide fulvique sont retenues sur la résine à pH acide (1,0) alors que les sels et petites molécules organiques sont élués. Après rinçage avec de l'eau distillée acide (pH 1,0), les molécules fulviques complexées sont éluées ensuite par le passage d'une solution d'ammoniaque à 10 % (V/V) ou avec de la soude décinormale. Dans ce dernier cas, une dialyse est nécessaire pour éliminer les sels après neutralisation de la soude ; l'élimination de l'ammoniaque est plus aisée par l'évaporation sous vide.

Au terme de ces opérations de purification, les acides humiques et fulviques sont concentrés sous vide et lyophilisés. Les poudres fines obtenues sont constamment conservées à l'abri de l'humidité et de la lumière. Les teneurs en cendres de nos composés sont le plus souvent inférieures à 10 % et soulignent l'efficacité des divers traitements spécifiques de purification.

II.2 - ANALYSE ELEMENTAIRE

II.2.1 - Technique

L'analyse élémentaire concerne les éléments majeurs : le carbone, l'hydrogène, l'azote et le soufre. Ils sont dosés par la méthode de pyrolyse par le centre de microanalyse du C.N.R.S. de Lyon. La teneur en oxygène est calculée par soustraction des autres valeurs. Les résultats sont exprimés en pourcentage de poids sec, sans cendres (déterminées par calcination au four à 550° C).

II.2.2 - Résultats

Le tableau 10 représente la composition élémentaire des acides humiques et fulviques et on retrouve les différences classiques généralement observées dans des composés humiques des sols. Les acides humiques sont beaucoup plus riches en carbone que les acides fulviques, les écarts dépassent parfois 10 %

	C %	H %	N %	S %	* O %	ponderal			atomique		
						C/H	C/N	H/C	O/C	N/C	S/C
AF C1s	43,38	4,56	5,21	2,90	43,95	9,51	8,33	1,26	0,76	0,10	0,025
AF C2s	43,83	6,14	10,56	3,22	36,25	7,14	4,15	1,68	0,62	0,21	0,028
AF C3s	44,63	5,09	5,79	3,38	41,11	8,77	7,71	1,37	0,69	0,11	0,028
AF A1s	43,11	4,91	5,21	2,71	44,06	8,78	8,27	1,37	0,77	0,10	0,024
AF A1p	39,63	5,29	5,46	2,40	47,22	7,49	7,26	1,60	0,89	0,12	0,023
AF S1s	38,46	5,21	3,81	2,09	50,43	7,38	10,09	1,63	0,98	0,08	0,020
AF S2s	43,05	5,04	5,21	2,95	43,75	8,54	8,26	1,40	0,76	0,10	0,026
AF S2p	45,35	4,99	5,51	2,84	41,31	9,09	8,23	1,32	0,68	0,10	0,023
AH C1s	49,92	6,53	6,60	1,76	35,19	7,64	7,56	1,57	0,53	0,11	0,013
AH C2s	48,58	7,15	5,65	2,11	36,51	6,79	8,60	1,77	0,56	0,10	0,016
AH C3s	51,50	6,48	7,47	2,25	32,30	7,95	6,89	1,51	0,47	0,12	0,016
AH A1s	52,92	6,33	6,18	1,99	35,58	8,36	8,56	1,44	0,50	0,10	0,014
AH A1p	50,28	6,55	6,59	2,31	34,27	7,68	7,63	1,56	0,51	0,11	0,016
AH S1s	49,80	6,67	6,30	2,11	35,12	7,47	7,90	1,61	0,53	0,10	0,015
AH S2s	50,86	6,30	5,86	2,05	34,93	8,07	8,07	1,49	0,52	0,10	0,015
AH S2p	50,12	6,36	5,85	2,49	35,18	7,88	8,57	1,52	0,53	0,10	0,019



TABLEAU 10 : Composition élémentaire des fractions fulviques et humiques sédimentaires.

(Résultats exprimés en % de poids sec sans cendres)

* teneur en oxygène calculée par différence.

(échantillons A_{1p} et S_{1s}). Le contenu en azote et en soufre est élevé dans tous les cas : pour les acides fulviques, la teneur en azote est généralement supérieure à 5 % et voisine ou supérieure à 6 % pour les acides humiques. Les teneurs en soufre varient entre 2 et 3 % avec des valeurs légèrement supérieures pour les acides fulviques.

Les rapports atomiques H/C et O/C déterminent dans le diagramme de Van Krevelen (figure 11), la position des acides humiques et fulviques. Les acides humiques correspondraient plutôt à la zone II, d'origine mixte algale et continentale et, les acides fulviques à la zone III d'origine continentale. Ceci indépendamment du site de prélèvement de nos échantillons. Il a également été tenu compte de la composition de deux "humus de synthèse": l'acide polymaléique et une mélanoïdine. De même pour le diagramme (H/C, N/C), les résultats sont représentés sur la figure 12.

Il est courant de trouver dans certains travaux des modèles à structure chimique déterminée auxquels on se réfère pour comparer aux molécules humiques: c'est le cas de l'acide polymaléique et des mélanoïdines issues de la réaction de MAILLARD (voir Partie I, §II.2). Les compositions élémentaires

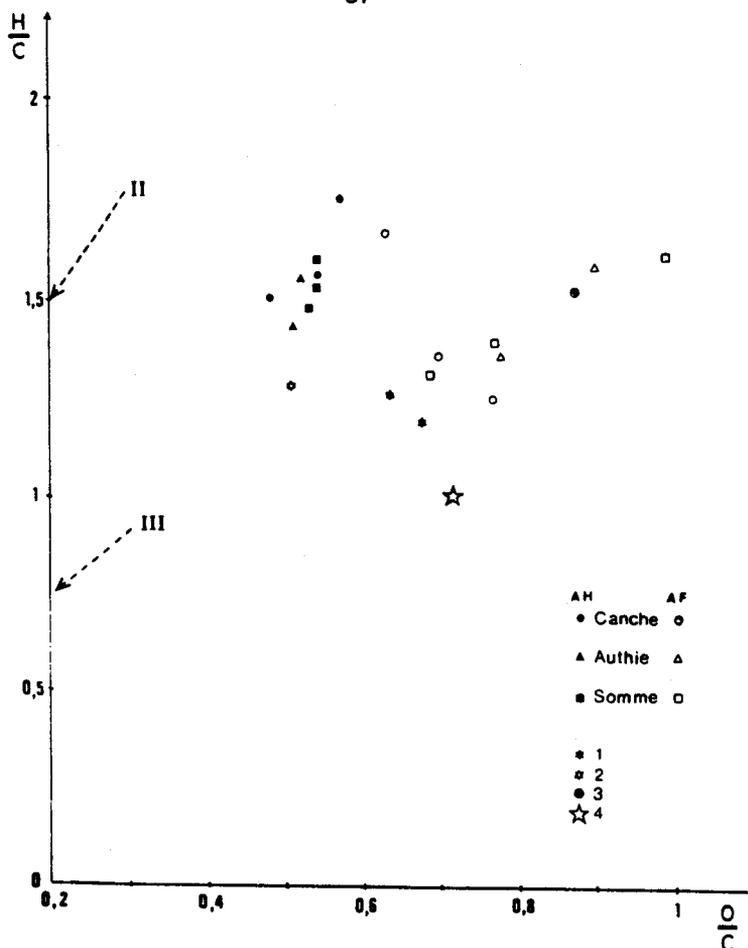


FIGURE 11 : Diagramme de Van Krevelen (H/C,O/C) des composés humiques estuariens et d'autres composés de nature ou d'origine différente.

(1:acides humiques estuariens analysés par HAYANO *et al.* (1982);
 2:mélanoïdine obtenue par MAL *et al.* (1982);3:acide humique marin
 analysé par STUERMER *et al.* (1978);4:acide polymaléique préparé
 par SPITELLER *et SCHNITZER* (1983)).

proviennent de Spiteller et Schnitzer (1983) pour l'acide polymaléique (C : 48,4%;H :4,2%;N: 1,4% et O : 46%) et de Mal *et al.* (1982) pour une mélanoïdine synthétisée à partir du xylose et de la glycine (C : 53,8%;H : 5,8%;N : 5,8% et O : 35,6%).

Ces compositions élémentaires correspondent à des poudres (AH et AF) non différenciées suivant le réactif d'extraction. Cependant pour quelques échantillons, nous avons effectué les analyses en distinguant les poudres extraites au pyrophosphate et celles extraites à la soude : les résultats sont représentés dans le tableau 11. Ils montrent que les acides humiques extraits avec le pyrophosphate sont souvent plus riches en carbone et en hydrogène, alors que pour les acides fulviques, la tendance est plutôt inverse. Il ne semble pas y

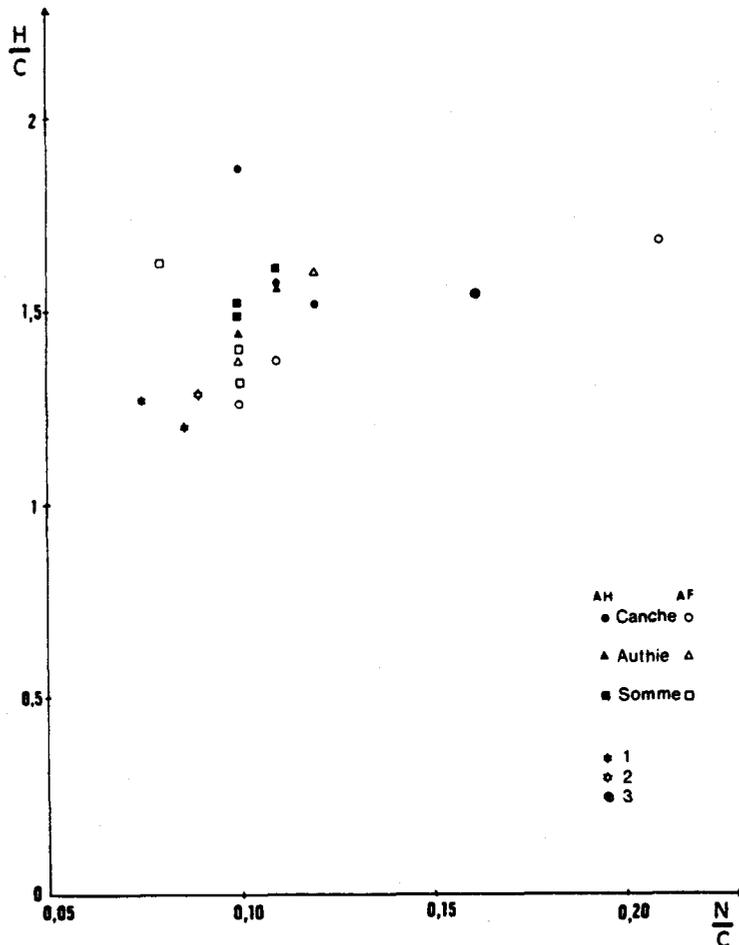


FIGURE 12 : Diagramme (H/C,N/C) des composés humiques estuariens et d'autres composés de nature ou d'origine différente (même légende que la figure 11).

	C %	H %	N %	S %	O %	ponderal		atomique				
						C/H	C/N	H/C	O/C	N/C	S/C	
AC. FULVIQUES	C1s pyro	43,92	4,19	5,19	3,01	43,69	10,48	8,46	1,14	0,75	0,10	0,026
	C1s sde	41,88	5,59	5,27	2,58	44,68	7,49	7,95	1,60	0,80	0,11	0,023
	C3s pyro	43,49	5,20	6,16	3,38	41,77	8,36	7,06	1,43	0,72	0,12	0,029
	C3s sde	47,40	4,81	4,88	nd	42,91	9,85	9,71	1,22	0,68	0,09	nd
	A1s pyro	41,84	4,68	5,08	2,61	45,79	8,94	8,24	1,34	0,82	0,10	0,023
	A1s sde	46,05	5,44	5,52	2,94	40,05	8,47	8,34	1,42	0,65	0,10	0,024
AC. HUMIQUES	C1s pyro	51,76	6,58	6,25	1,61	33,80	7,87	8,28	1,53	0,49	0,07	0,008
	C1s sde	47,74	6,48	7,01	1,93	36,84	7,37	6,81	1,63	0,58	0,13	0,015
	C3s pyro	52,89	6,27	7,70	2,29	30,85	8,44	6,87	1,42	0,44	0,12	0,016
	C3s sde	50,39	6,65	7,28	2,22	33,46	7,58	6,92	1,58	0,50	0,12	0,017
	A1s pyro	53,11	6,39	5,68	2,01	32,81	8,31	9,35	1,44	0,46	0,09	0,014
	A1s sde	52,73	6,26	6,70	1,97	32,34	8,42	7,87	1,42	0,46	0,11	0,014
	Alp pyro	49,83	6,60	6,17	2,42	34,98	7,55	8,08	1,59	0,53	0,11	0,018
	Alp sde	50,51	6,53	6,81	2,25	33,90	7,74	7,42	1,55	0,50	0,12	0,017

TABLEAU 11 : Composition élémentaire des fractions fulviques et humiques selon le type d'extraction (pyrophosphate ou soude). (Résultats exprimés en % de poids sec sans cendres-nd:non déterminé)
* teneur en oxygène calculée par différence.

avoir de relation nette entre les solutions d'extraction employées et le degré de condensation des produits humiques obtenus, puisque les rapports C/H présentent des écarts peu significatifs.

II.2.3 - Interprétation et discussion

Les fortes teneurs en azote et en soufre ont souvent été relevées à propos de substances humiques issues des sédiments marins, lacustres ou même fluviatiles en faisant référence aux travaux de Rashid et King (1970), Rashid (1974) et de Gillam et Riley (1982) pour l'azote et, à ceux de Nissenbaum et Kaplan (1972), Huc (1973), Stuermer et Harvey (1974), Debyser et Gadel (1977) et de Stuermer et al. (1978) pour le soufre. Les fortes teneurs en azote s'expliquent facilement à propos des sédiments marins profonds, compte tenu des conditions anaérobies qui ralentissent la minéralisation des protéines (le produit final est représenté par l'ammoniac, Blondeau, 1980) ; elles sont plus inattendues pour nos échantillons qui sont périodiquement aérés par suite du mouvement des marées.

Le rapport pondéral C/H est compris entre 7 et 10, supposant un faible degré de condensation des molécules humiques de nos sédiments. Pour les composés humiques terrestres, présentant des teneurs moins élevées en hydrogène, le rapport C/H est plus élevé et peut être mis en relation avec son caractère aliphatique moindre (Huc, 1973). Cette dernière propriété semble commune à toutes les substances humiques marines (Rashid et King, 1970 ; Saito et Hayano, 1980).

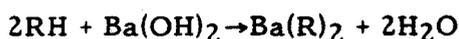
Pour le soufre, les teneurs sont de même inférieures ou égales à 3 % dans le cas de composés humiques de sédiments marins profonds. Selon Nissenbaum et Kaplan (1972), le soufre aurait pour origine l'hydrogène sulfuré produit par réduction des sulfates. Debyser et Gadel (1978) rappellent l'importance des molécules organiques soufrées chez les organismes marins.

II.3 - GROUPEMENTS FONCTIONNELS

Le dosage des groupes fonctionnels est très utile puisqu'ils sont à l'origine de la plupart des propriétés des substances humiques et qu'ils interviennent aussi bien au point de vue géochimique, écologique ou biologique. Les acidités sont responsables de la capacité d'échange grâce à la présence de l'hydrogène dissociable des groupements carboxyliques et phénoliques. Il est admis que les groupements carboxyles sont cependant plus fortement acides que les groupements phénoliques (Flaig, 1970). Les quinones possèdent également un rôle important dans la complexation des ions métalliques avec transfert de charge, et dans les fonctions physiologiques de certains végétaux ou organismes marins (Rashid, 1972).

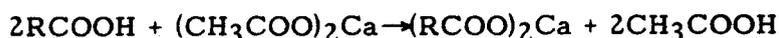
II.3.1 - Techniques de dosage

L'acidité totale est dosée par la baryte en solution selon la méthode de Schnitzer et Gupta (1965) :



R représentant la molécule humique, et la baryte non utilisée dans la réaction est titrée en retour par un acide. A 30 mg de composés humiques décationisés (sous forme H⁺), sont ajoutés 20 ml de Ba(OH)₂ 0,2 N et la réaction se déroule sous agitation pendant 24 h en présence d'azote à température ambiante. Le titrage s'effectue à l'aide d'une électrode Verre-Calomel avec une solution standard de HCl 0,5 N, à un pH de 8,4. Simultanément, un blanc est préparé avec 20 ml de Ba(OH)₂ 0,2 N.

L'acidité carboxylique est déterminée par la méthode de l'acétate de calcium de Schnitzer et Gupta (1965) :



L'acide acétique ainsi formé est dosé par une base. Dans un erlen meyer rodé, 30 mg d'échantillon décationisé sont mis en présence de 10 ml de (CH₃COO)₂Ca 1 N puis de 40 ml d'eau distillée dégazée (sans CO₂). Après une agitation de 24 h à température ambiante et sous azote, le titrage est réalisé avec une solution standard de NaOH 0,01 N, à un pH de 9,8. Le blanc étant constitué par l'acétate de calcium et l'eau distillée dégazée.

L'acidité phénolique est obtenue en retranchant l'acidité carboxylique de l'acidité totale. Les résultats sont exprimés en milliéquivalents d'acidité par gramme de substances humiques sans cendres (m.eq/g).

Le dosage des quinones C = 0 est réalisé avec une solution de chlorure d'étain en milieu basique et à température ambiante selon la méthode de Vasilyevskaya et al. (1971). 30 mg d'extrait humique décationisé sont imprégnés avec 0,2 ml d'éthanol (95°) et dissous dans 5 ml de NaOH 0,1 N en présence d'un courant d'azote et sous agitation magnétique ; 10 ml de NaOH 2,5 N sont ajoutés. Après adjonction de 5 ml de SnCl₂ 0,05 N, la réaction se déroule 1 heure ; l'excès de Sn²⁺ est titré par potentiométrie à l'aide d'une paire d'électrodes (Platine et Calomel) et d'une solution de K₂Cr₂O₇ 0,05 N. Un blanc est réalisé, et les résultats sont exprimés en m. eq de groupement quinone par gramme d'extrait humique sans cendres.

II.3.2 - Résultats et discussion

Les résultats d'analyse des groupements fonctionnels sont indiqués dans le tableau 12. L'acidité carboxylique de nos extraits est comprise dans la gamme

ECH.	acidité totale (meq/g)	acidité carboxylique (meq/g)	acidité phénolique * (meq/g)	quinone (meq/g)
AF C1s	10,16	4,38	5,78	3,67
AF C2s	9,75	4,03	5,72	2,25
AF C3s	10,21	4,57	5,63	2,38
AF A1s	9,46	3,39	6,07	4,01
AF A1p	8,18	2,67	5,51	5,23
AF S1s	9,52	4,70	4,81	3,08
AF S2s	8,91	4,35	4,56	3,60
AF S2p	11,01	3,57	7,44	2,97
AH C1s	6,54	3,54	3,00	3,58
AH C2s	5,85	3,02	2,83	4,07
AH C3s	6,46	3,03	3,43	3,96
AH A1s	7,65	2,47	5,18	5,02
AH A1p	8,81	2,81	6,00	4,49
AH S1s	7,88	2,57	5,31	4,99
AH S2s	7,09	2,50	4,59	5,23
AH S2p	7,09	2,81	4,28	5,77

TABLEAU 12 : Teneurs en groupements fonctionnels des fractions fulviques et humiques.
(Résultats exprimés en milliéquivalent par gramme d'extrait sec sans cendres)
* acidité phénolique obtenue par différence entre l'acidité totale et l'acidité carboxylique.

des valeurs couramment constatées pour les sédiments marins. Toutefois, l'acidité totale est relativement plus élevée et semble plus proche des valeurs données par les substances humiques des eaux marines (Gillam et Riley, 1982). Les acides fulviques possèdent des teneurs plus élevées en groupements acides, quelle que soit l'origine de l'échantillon et semblent liées à la richesse en oxygène donnée par l'analyse élémentaire. A titre de comparaison, les valeurs obtenues par Debyser et Gadel (1977) à partir d'acides humiques sédimentaires de la mer de Norvège, sont comprises entre 4,26 et 5,60 meq d'acidité totale/g et entre 2,30 et 4,70 m.eq d'acidité carboxylique/g. Poutanen (1985), pour des acides fulviques sédimentaires issus de la Mer Baltique, note une acidité totale très élevée (17 m.eq/g contre 3 m.eq d'acidité carboxylique/g). Dans la vase de Méan (Loire), Huc (1973) trouve une acidité carboxylique comparable à celle trouvée pour nos acides humiques.

Les résultats relatifs aux groupements quinones présentent peu de variations selon qu'il s'agit des fractions humiques ou fulviques. Il est difficile de comparer les résultats car la bibliographie est très restreinte pour le domaine sédimentaire marin ; les valeurs mentionnées par Rashid (1972) sont plus faibles que les nôtres : 1,8 et 2,4 m.eq/g pour des acides humiques et fulviques respectivement issus de sédiments de la fosse de Cariaco. Signalons que l'existence même des groupements quinones est mise en doute par certains auteurs dont récemment Minderman (1979) qui ne les détectent pas par spectroscopie (en résonance paramagnétique de l'électron).

De nouveau, entre les extraits humiques au pyrophosphate et ceux à la soude, les résultats (tableau 13) ne montrent pas de différences très significatives.

	acidité totale (meq/g)	acidité carboxylique (meq/g)	acidité * phénolique (meq/g)	quinone (meq/g)	
Ac. FULVIQUES	C1s pyro	10,25	4,67	5,58	3,88
	C1s sde	9,90	3,55	6,35	3,06
	C3s pyro	10,30	4,80	5,50	2,38
	C3s sde	9,95	4,01	5,94	nd
	A1s pyro	9,50	2,70	6,80	4,48
	A1s sde	9,36	4,98	4,38	2,91
Ac. HUMIQUES	C1s pyro	6,70	3,71	2,99	2,78
	C1s sde	6,35	3,34	3,01	4,53
	C3s pyro	6,18	2,76	3,42	2,91
	C3s sde	6,69	3,24	3,45	4,80
	A1s pyro	7,69	2,73	4,96	5,79
	A1s sde	7,61	2,20	5,41	4,21
	Alp pyro	8,75	2,72	6,03	4,94
	Alp sde	8,84	2,86	5,98	4,26

TABLEAU 13 : Teneurs en groupements fonctionnels selon la modalité d' extraction.

(Résultats exprimés en milliéquivalent par gramme d'extrait humique sec sans cendres, nd: non déterminé)

* acidité phénolique obtenue par différence entre l'acidité totale et l'acidité carboxylique.



II.4 - ESTIMATION DES POIDS MOLECULAIRES

II.4.1 - Principe et méthodes

La taille relative des molécules humiques est évaluée par chromatographie sur colonne en utilisant la filtration sur gel.

Deux types de gel, commercialisés par Pharmacia, sont utilisés : Séphadex et Séphacryl qui se présentent sous forme de perles minuscules, ce sont des hydrates de carbone polymérisés.

Dans ce type de chromatographie, deux facteurs essentiels influencent le comportement des molécules : le débit volumétrique de la phase mobile et le mouvement brownien provoquant la diffusion des molécules à l'intérieur et à l'extérieur de la phase stationnaire. La figure 13 schématise ce principe : les très grosses molécules ne pénètrent pas dans le gel et traversent rapidement le support chromatographique, alors que les autres plus petites diffusent dans le gel et seront éluées d'autant plus lentement que leur taille est petite : les molécules apparaîtront donc à la sortie de la colonne, dans l'ordre décroissant de leur encombrement moléculaire.

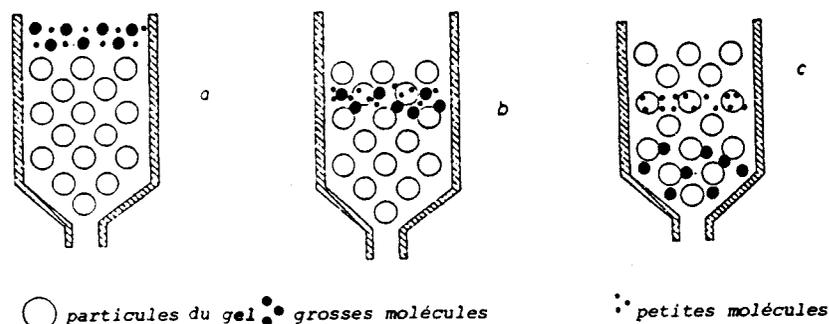


FIGURE 13 : Principe de la Chromatographie sur gel de Dextrane:représentation de trois phases successives de la chromatographie avec un mélange de molécules de deux tailles différentes. (d'après DETERMAN, 1969).

Pour éviter tout phénomène de rétention susceptible d'intervenir par suite de la présence de certains groupements carboxyliques sur le gel ou de la formation d'interactions de type ponts hydrogène ou Van der Waals, nous avons employé une solution tampon Tris-HCl à pH 9,0 de force ionique 0,05. L'estimation des poids moléculaires apparents repose sur la détermination du paramètre K_{av} :

$$K_{av} = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$$

où V_t = volume total du gel (200 ml), V_e = volume d'éluion et V_0 = volume mort déterminé par le bleu Dextran 2 000 (Poids Moléculaire PM : 2 000 000).

Le protocole est le suivant : 5 à 10 mg de composés humiques dilués dans 1 ml de solution tampon pH 9,0, sont déposés à la surface du gel et l'élution s'opère à la vitesse de 7,5 ml/h. La calibration des gels s'effectue par équivalence avec des protéines globulaires selon les indications d'Andrews (1964). Les témoins suivants sont utilisés : la ribonucléase (Poids Moléculaire PM de 13 700), la trypsine (PM 24 000), la chymotrypsinogène A (PM 25 000), la lipase (PM 38 000) et l'ovalbumine (PM 45 000). La vitamine B 12 (PM 1 355) est également utilisée. Ce type de calibration avec des protéines globulaires suppose une configuration plus ou moins sphérique des molécules d'acides humique et fulvique, qui est d'ailleurs souvent admise (Andreux, 1978) et que Ritchie et Posner (1982) ont confirmé récemment.

II.4.2 - Résultats

Les courbes d'élution obtenues avec les acides fulviques sur Séphadex G75 et avec les acides humiques sur Séphacryl S 200, sont représentées sur la figure 14 et 15.

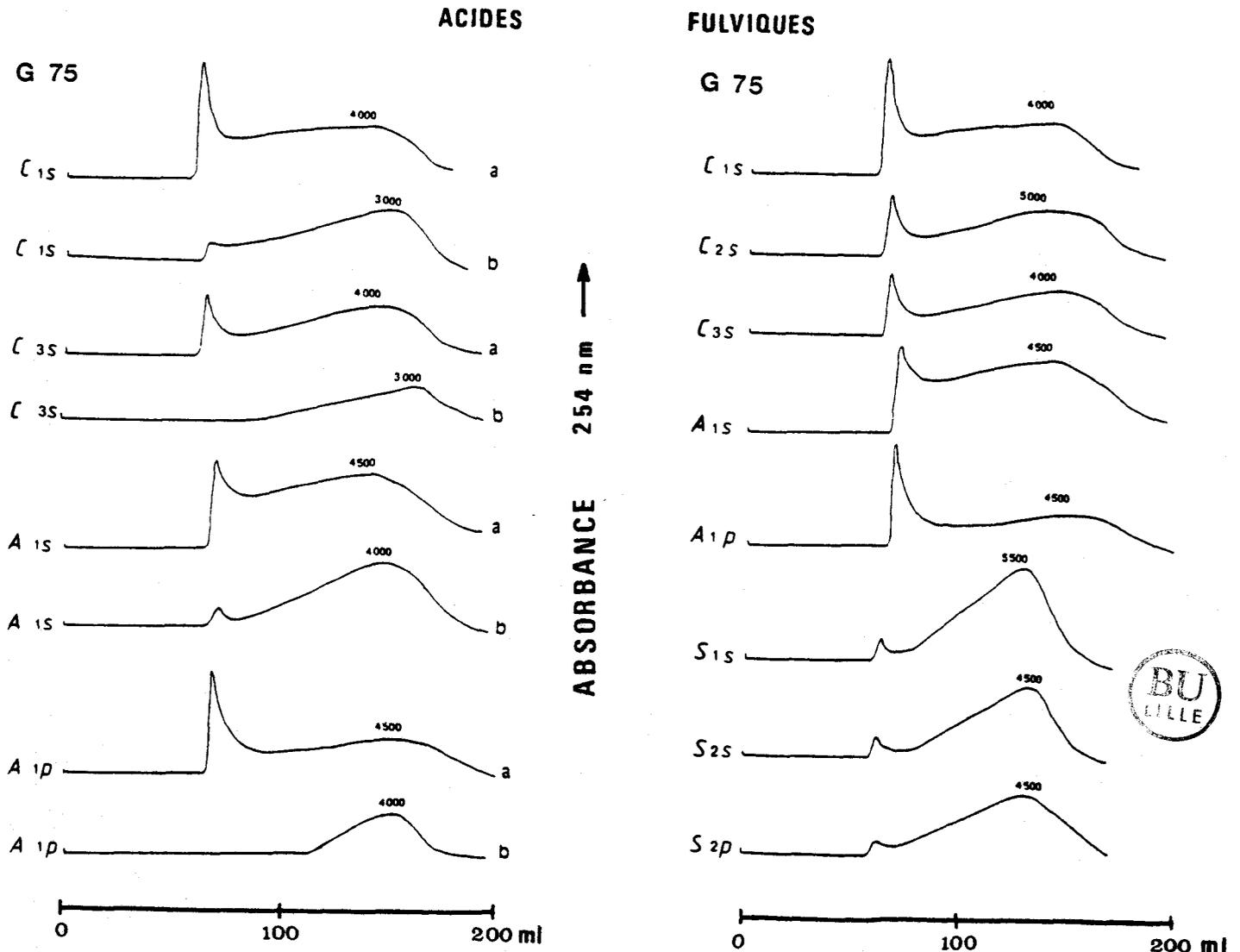


FIGURE 14 : Filtration sur gel Séphadex G75 des acides fulviques.

à droite:extraits au pyrophosphate de sodium.
à gauche:extraits a) au pyrophosphate(1°série)
b) à la soude(2°série)

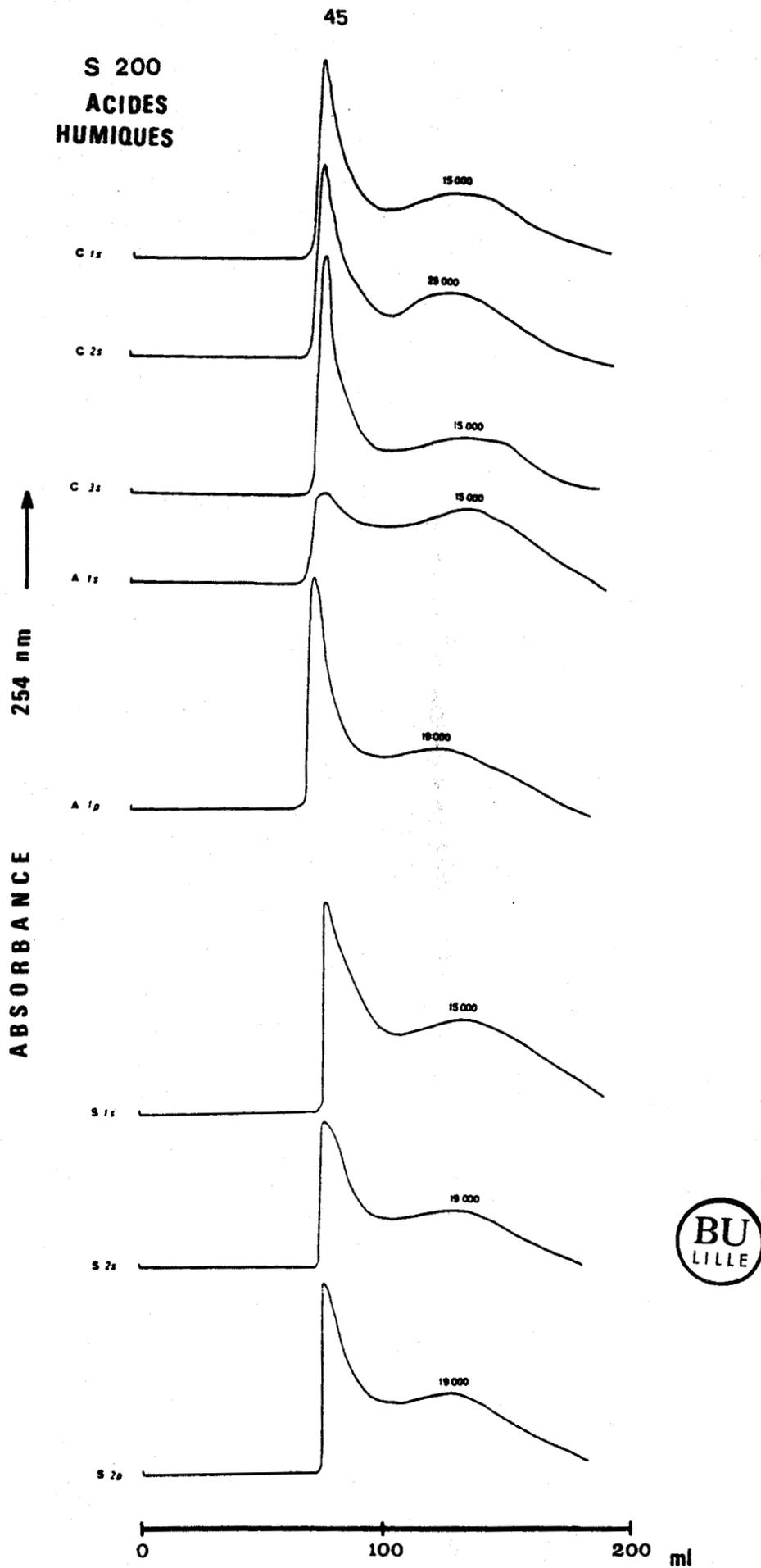


FIGURE 15 : Filtration sur gel Séphacryl S200 des acides humiques extraits au pyrophosphate de sodium.

Tous les échantillons d'acides fulviques présentent des poids moléculaires dominants compris entre 3 000 et 5 500, soit 85 à 100 % de la totalité des molécules (exception faite de A_{1p} dont les acides fulviques donnent 30 % d'exclusion, c'est-à-dire des PM supérieurs à 70 000). Les acides humiques, chromatographiés sur S 200, sont partiellement exclus : 30 à 40 % des molécules possèdent des PM apparents supérieurs à 250 000. Tandis que le PM moyen des molécules chromatographiées est compris entre 15 000 et 25 000.

Un essai a été réalisé sur Séphacryl S 300 (limite d'exclusion 1 500 000) avec un acide humique (A_{1s}) : l'exclusion chute de 35 % sur S 200 à 10 % sur S 300 (figure 16). Ce sont des valeurs de poids moléculaires élevées, tant pour les acides humiques que fulviques, qui se distinguent de leurs homologues terrestres.

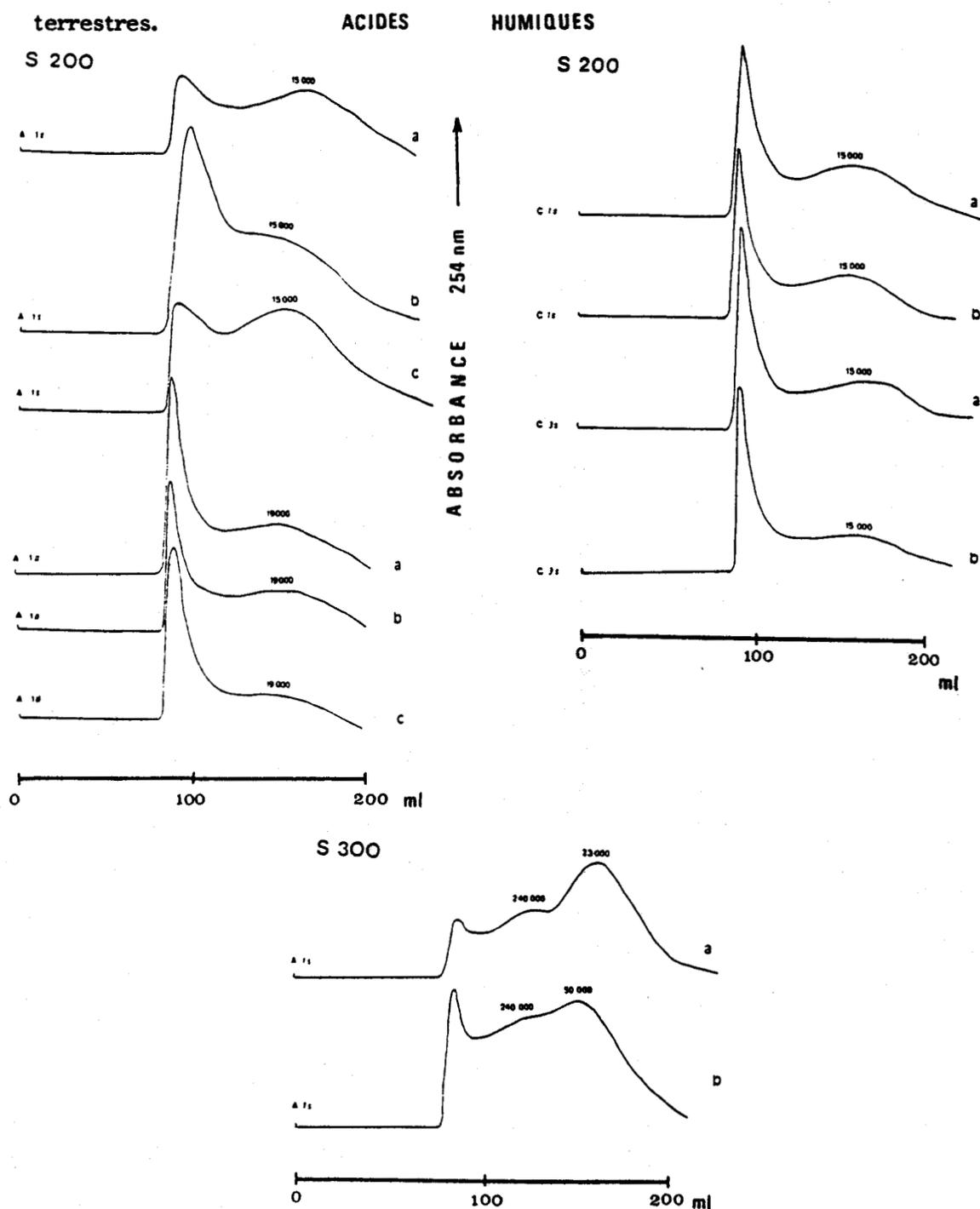


FIGURE 16 : Filtration sur gels Séphacryl S200 et S300 des acides humiques extraits par le pyrophosphate de sodium 0,1 M (a), puis avec la soude 0,1 M (b) ou par le mélange $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 1% + NaOH 0,1 M (c).

En différenciant les composés extraits au pyrophosphate et à la soude, on remarque que les acides fulviques extraits par la soude sont des molécules généralement plus petites (moins de molécules exclues et PM moyen décroissant sur G75) : figure 16. Pour les acides humiques les différences sont moins nettes, dans le cas de A_{1s} la taille des molécules récupérées avec la soude est au contraire plus élevée.

II.4.3 - Discussion

Les résultats de Rashid et King (1969), relatifs aux acides fulviques de sédiments marins, sont plus faibles que les nôtres, puisqu'un tiers des molécules ont un PM inférieur ou égal à 700 et aucune ne dépasse 10 000. Les résultats de Mac Farlane (1978), de Cronin et Morris (1982), de Poutanen et Morris (1983a) et de Hayase et Tsubota (1983) sont par contre nettement plus élevés que les nôtres, tant pour les acides fulviques que les acides humiques. Leur méthode d'investigation est cependant basée sur l'ultrafiltration et non la filtration sur gel. En ce qui concerne les acides humiques, nos résultats correspondent aux valeurs trouvées par Huc *et al.* (1974) pour des échantillons de baie, et à celles de Rashid et King (1969) relatives à des sédiments du plateau continental écossais où 1/4 à 1/3 des molécules d'acides humiques présentent des PM compris entre 200 000 et 2 000 000.

Les valeurs élevées caractéristiques de cet humus marin peuvent s'interpréter en suggérant l'intervention d'un tri moléculaire au moment où l'eau de rivière chargée en matière organique vient en contact avec l'eau de mer, l'accroissement de salinité provoque la précipitation des plus grosses molécules et leur accumulation dans le sédiment (Brogden, 1971).

II.5 - ANALYSES SPECTROSCOPIQUES

Trois types de spectroscopie ont été utilisés : l'absorption en lumière U.V. et visible, en infra-rouge et la résonance magnétique nucléaire. Ces méthodes offrent l'avantage de fournir une analyse qualitative et parfois semi-quantitative sans destruction des molécules.

II.5.1 - Principe et méthodes

Les spectres U.V.-visibles sont obtenus avec un spectrophotomètre Beckman DU-8B. Les longueurs d'onde sont comprises entre 200 et 800 nm.

Les spectres infra-rouges (IR) sont réalisés à partir de pastilles préparées avec 2 mg d'extrait humique et 150 mg de KBr anhydre préalablement broyés au mortier en agate puis passés sous presse à 10 t/cm². L'appareil utilisé est un Perkin-Elmer 257 du laboratoire de chimie macromoléculaire de Lille I,

les fréquences d'utilisation sont comprises entre 4 000 et 600 cm^{-1} . Le principe de cette méthode est détaillé dans le livre de Bellamy (1958).

La résonance magnétique nucléaire (R.M.N.) est un phénomène qui apparaît lorsqu'on soumet un noyau atomique à deux champs magnétiques perpendiculaires : l'un est constant et fort, l'autre, faible et oscillant dans un éventail déterminé de radio-fréquences, est capable de faire résonner les différents noyaux (^1H , ^{13}C et ^{31}P sont les noyaux les plus souvent utilisés). Chaque spectre caractérise les différents modes de liaison dans la molécule étudiée.

Nous avons utilisé la RMN du ^{13}C (M : 13, N : 6, concentration naturelle de l'ordre 1,11 %) qui possède un spin nucléaire égal à 1/2, ce qui signifie qu'il présente 2 états d'énergie correspondant à l'alignement avec et contre le champ magnétique. Les spectres RMN du ^{13}C des molécules humiques sont réalisés à partir de tubes (10 mm de diamètre) contenant 150 mg de substances humiques solubilisées dans 3 ml d'eau deutérée (D_2O) avec le triméthylsilane (TMS) comme référence. Le spectromètre utilisé est un Bruker FT WP 80 multinoyaux du centre commun de RMN de l'Université de Lille I. Les études quantitatives sont effectuées à partir des courbes d'intégration. Toutes les mesures spectrales et énergétiques sont exprimées en Hertz, alors que les déplacements chimiques ont pour unité le ppm (partie par million).

II.5.2 - Résultats

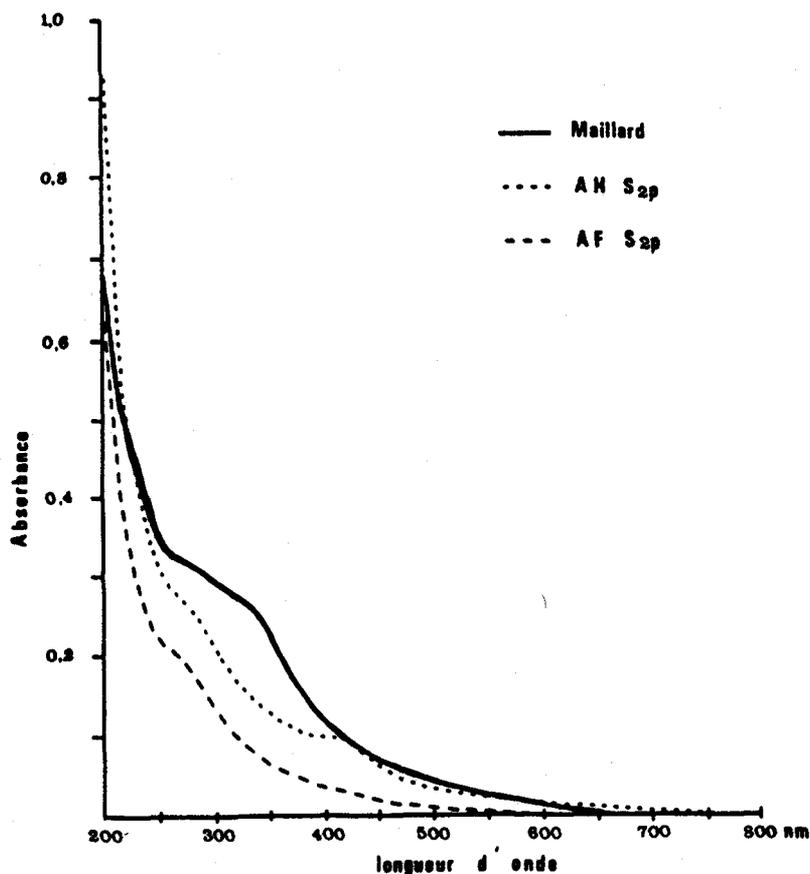


FIGURE 17 :
Spectre UV-visible d'un acide fulvique, d'un acide humique et d'une mélanofidine ("AH de synthèse" obtenu par condensation à 100°C d'un mélange équimolaire de xylose et de glycolle).
Concentration: 1mg de C organique pour 100 ml d'eau à pH 7,0.

L'allure monotone des spectres dans l'UV et le visible (figure 17) est caractéristique des acides fulviques et humiques : absence d'absorption dominante dans le visible et léger épaulement à 260 nm. La densité optique décroît avec l'augmentation de la longueur d'onde. Les spectres sont très similaires en U.V. pour des substances humiques d'origines diverses en dépit de certaines différences physico-chimiques (composition élémentaire, groupements fonctionnels, etc.). A titre de comparaison, une mélanoïdine montre une courbe identique aux composés humiques avec le même épaulement dans la région des ultra-violetts.

Les spectres I.R. des substances humiques sont représentés sur les figures 18 et 19 et le tableau 14 donne la relation entre la position des bandes d'absorption et les groupements chimiques responsables de ces absorptions.

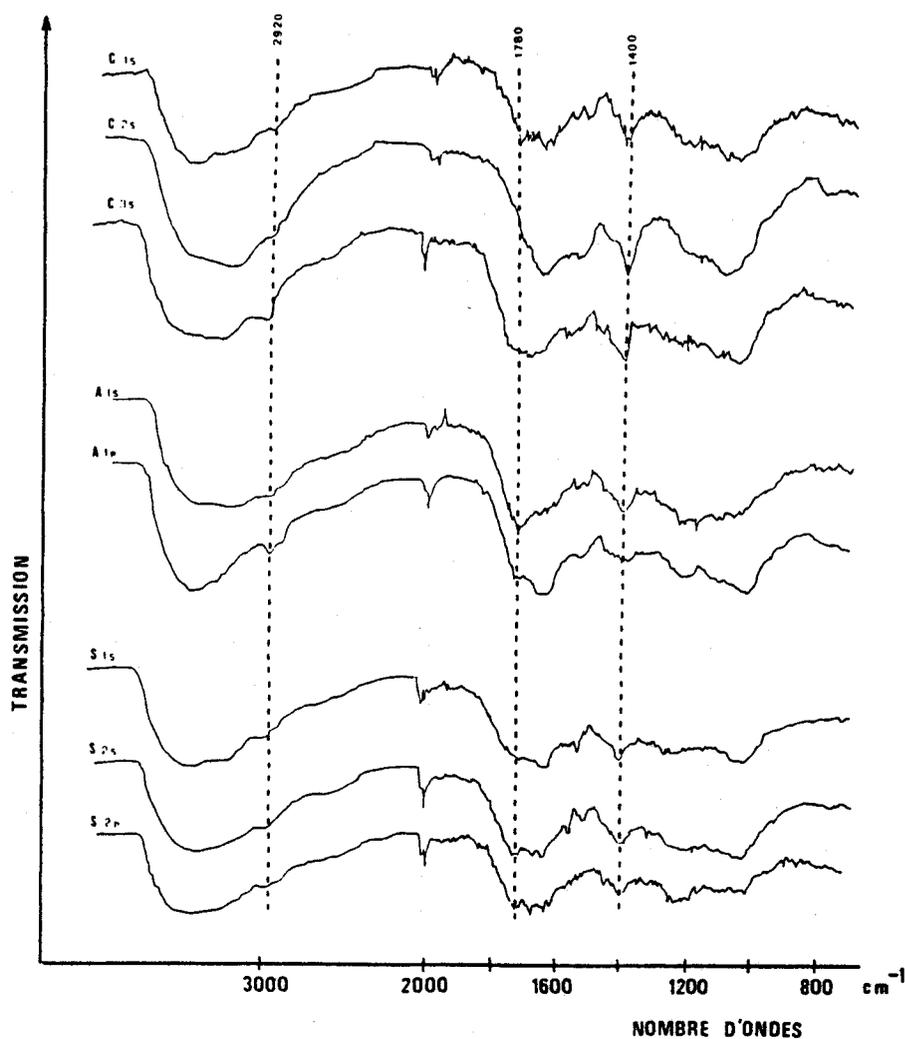


FIGURE 18 : Spectres infrarouges des acides fulviques estuariens.

Position des bandes (cm ⁻¹)	ATTRIBUTIONS
3400	Hydroxyles (Rashid 1974)
3330	NH peptidique (Debyser et Gadel, 1977)
3240	COOH (Huc, 1973)
3200	NH peptidique (Jambu, 1971)
	OH carboxylique (Debyser et Gadel, 1977)
3090	Harmonique de la bande peptidique amide II à 1540 cm ⁻¹ (Debyser et Gadel, 1977)
3030	CH aromatique (Huc, 1973)
2960	Valence CH ₃ asymétrique
2920	Valence CH ₂ asymétrique
2890	Valence CH
2870	Valence CH ₃ symétrique
2850	Valence CH ₂ symétrique
2600	OH carboxylique (Bailly, 1976)
2000	CH d'un anneau aromatique (Adhikari et Mikhopadhyay, 1980)
1730-1720	C=O des COOH Libres (Dormaar <u>et al.</u> , 1970)
1710	C=O des quinones, cétones aliphatiques et acides carboxyliques (Poutanen, 1985)
1695	Carbonyles (Plaig, 1971)
1675	Carboxylates COO ⁻ (Rashid, 1974)
1660	Amide I peptidique (Debyser et Gadel, 1977)
1660-1640	Quinones associés par des liaisons hydrogènes avec OH à proximité (Huc, 1973)
1640	C=C aromatique, COO ⁻ , C=O avec liaison hydrogène (Ruggiero <u>et al.</u> , 1980)
1610	Valence asymétrique de l'ion COO ⁻ (Jambu, 1971)
1540	Liaison peptidique amide II (Ishiwatari, 1967)
	Valence asymétrique de COO ⁻ (Ruggiero <u>et al.</u> , 1978)
1520	Valence C=C exaltée par la présence de C-O-C (Debyser et Gadel, 1978)
1490	Valence C=C (Spiteller et Schnitzer, 1983)
1450	Déformations asymétriques CH ₂ et CH ₃ (Huc et Durand, 1977)
1410	COOH acide (Debyser et Gadel, 1978)
1400	Déformation des CH des groupements méthyles et méthylènes (Stevenson et Goh, 1971)
1390-1370	Ion carboxylate COO ⁻ (Andreux, 1978)
1375	Déformation symétrique CH ₃ (Schnitzer et Khan, 1972)
1290	C-O des groupements phénoliques et alcooliques (Huc, 1973)
1250	C-O-C d'éther, d'ester et d'alcool (Poutanen, 1985)
1240	C-O des groupements COOH (Huc, 1973)
1220	Groupements phénoliques (Theng <u>et al.</u> , 1966)
1100	Silicates Si-O (Debyser et Gadel, 1978)
1100-1080	C-O des polysaccharides (Ishiwatari, 1967)
1050-1040	Ponts C-O-C (Poutanen, 1985)
	Hydrates de carbone (Debyser et Gadel, 1978)
1040	-S=O (Schnitzer et Khan, 1972)
1030-1020	Silicates (Jambu, 1971)
910 et 800	CH aromatiques (Dupuis <u>et al.</u> , 1970)
750	Anneau ortho-disubstitué ou balancement méthylénique dans une longue chaîne hydrocarbonée (CH ₂) _n avec n>4 (Adhikari et Mukhopadhyay, 1980)

TABLEAU 14 : Spectroscopie infrarouge (IR) des acides fulviques et des acides humiques: relation entre les bandes d'absorption et la nature présumée des groupements chimiques présents.

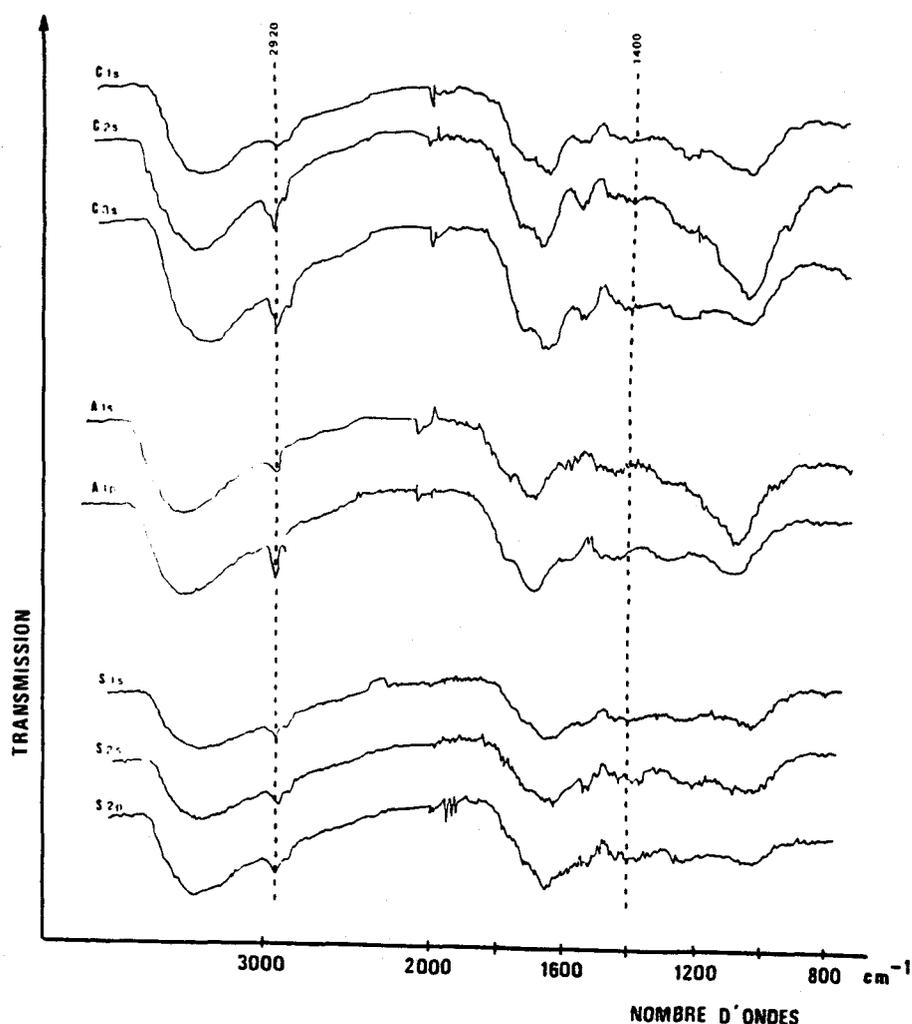


FIGURE 19 : Spectres infrarouges des acides humiques estuariens.

a) Bande de vibration de valence des hydroxyles :

Une forte absorption se rencontre sur tous les spectres entre 3 400 et 3 100 cm^{-1} , elle est principalement due aux hydroxyles liés aux molécules humiques, et peut être aussi à l'eau adsorbée et à la présence de phyllosilicates hydratés.

b) Bande des C-H aliphatiques :

Vers 2 920 et 2 860 cm^{-1} , les bandes d'absorption sont relativement nettes pour les acides humiques et caractérisent les groupements aliphatiques CH, CH₂ et CH₃, moins perceptibles avec les acides fulviques. Il subsiste vers 1 450 et 1 400 cm^{-1} des bandes de déformation de ces CH ; mais la zone comprise entre 1 600 et 1 400 cm^{-1} est très délicate dans la mesure où de nombreuses interférences interviennent. Signalons que le critère employé par Dormaar (1967), Dupuis et Jambu (1969) n'a jamais été retrouvé dans d'autres travaux récents. Néanmoins nous pouvons juste remarquer que les tangentes des spectres obtenus entre 2 100 et 1 850 cm^{-1} présentent une pente négative (vers les basses fréquences), sans pour autant conclure que nos acides humiques et fulviques aient un caractère polymérisé moindre (ou plus aliphatique).

c) Bande des carboxyliques :

Vers 1780 cm^{-1} , une absorption est souvent détectable dans les différents spectres et serait due à la présence des C = O des acides carboxyliques notamment. Mais cette absorption serait toutefois dominée par celle qui est située à 1400 cm^{-1} relative à l'ion carboxylate COO^- (les spectres IR correspondent à des sels de sodium ,humate et fulvate). On remarque d'ailleurs que cette dernière absorption est plus nette avec les acides fulviques.

d) Bande des liaisons peptidiques :

Vers $1680\text{--}1640\text{ cm}^{-1}$, l'absorption est caractéristique des C = O d'amides primaires, alors que celle située entre 1540 et 1520 cm^{-1} est attribuée aux liaisons amides secondaires.

Il n'apparaît pas dans nos spectres des différences fondamentales selon le niveau de prélèvement de l'échantillon et selon le site. Seule une légère intensification de la bande 2920 cm^{-1} (CH aliphatique) peut être notée pour les échantillons A_{1p} (AH comme AF) et pour S_{2p} (AF uniquement).

En fonction de la nature du réactif d'extraction, quelques changements apparaissent (figure 20) : la bande à 1540 cm^{-1} (carboxylate et liaison peptidique) s'intensifie pour les acides humiques extraits à la soude (C_{3s} , A_{1s} et A_{1p}) ; la bande à 1660 cm^{-1} reste rigoureusement identique et celle à 2920 cm^{-1} est plus importante pour les échantillons C_{1s} et A_{1s} avec extraction à la soude. Quant aux acides fulviques, l'absorption à 1400 cm^{-1} (déformation des CH aliphatiques, carboxylates) est beaucoup plus forte pour l'échantillon superficiel C_{3s} uniquement.

Les spectres RMN du ^{13}C d'acides humiques et fulviques sont indiqués sur les figures 21 et 22 et concernent quatre échantillons estuariens (C_{3s} , A_{1s} , S_{2s} et S_{2p}). Les spectres sont couramment divisés en quatre zones : celle qui est comprise entre 190 et 160 ppm correspond essentiellement aux carbones des groupements carboxyliques - la région comprise entre 160 et 110 ppm représente les structures aromatiques -la région entre 110 et 50 ppm permet d'apprécier l'importance des hydrates de carbone et entre 50 et 0 ppm sont concernés les carbones aliphatiques. L'importance relative de chacune des zones est consignée dans le tableau 15. Les résultats confirment l'importance des groupements carboxyliques dans les molécules humiques et fulviques et

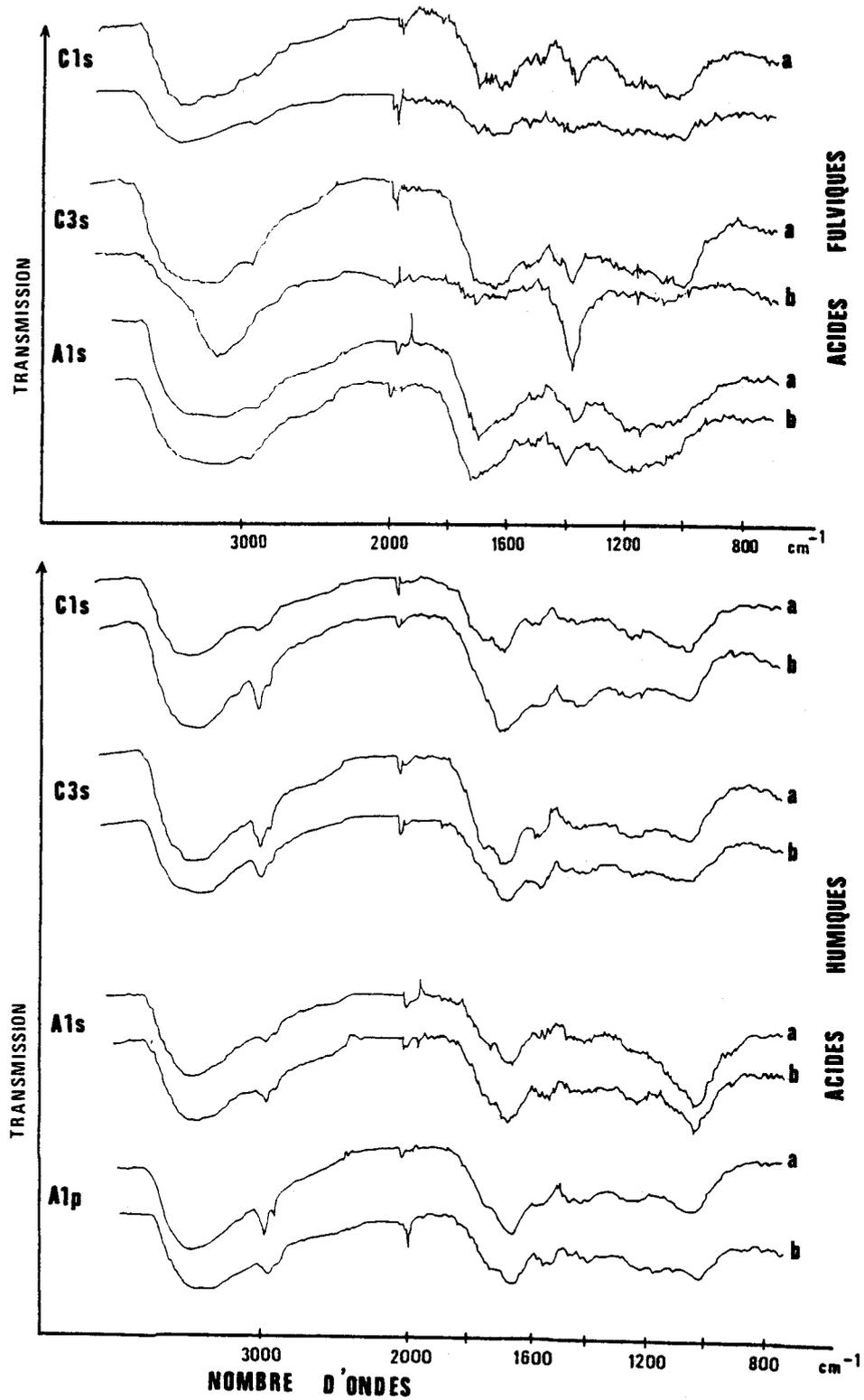


FIGURE 20 : Influence de la nature de la solution d'extraction sur les spectres infrarouges des acides fulviques et humiques.

(a: $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1 M puis b: NaOH 0,1 M)

font apparaître la prédominance des structures aliphatiques sur les structures aromatiques : 40 et 35 % respectivement pour les acides humiques et les acides fulviques en moyenne. Pour nos échantillons, l'aromaticité des acides fulviques est en général plus élevée que celle des acides humiques : il semblerait qu'une participation des précurseurs d'origine terrestre (lignine par exemple) soit plus vraisemblable (une pollution par des hydrocarbures peut être également

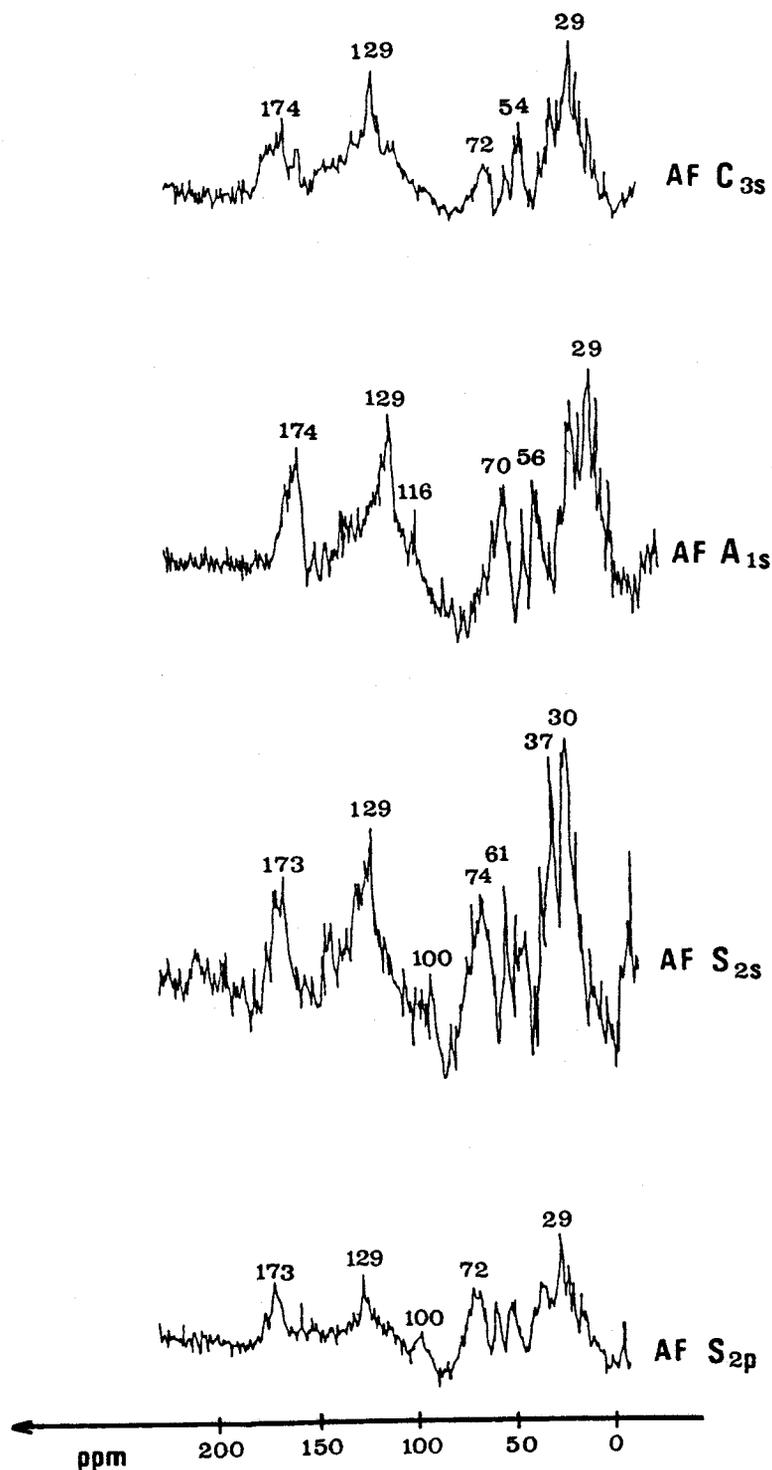


FIGURE 21 : Spectres de résonance magnétique nucléaire du ^{13}C des acides fulviques estuariens.

envisagée) - d'autant plus que le signal caractéristique des carbones méthyliques (55-56 ppm) est plus intense pour les acides fulviques.

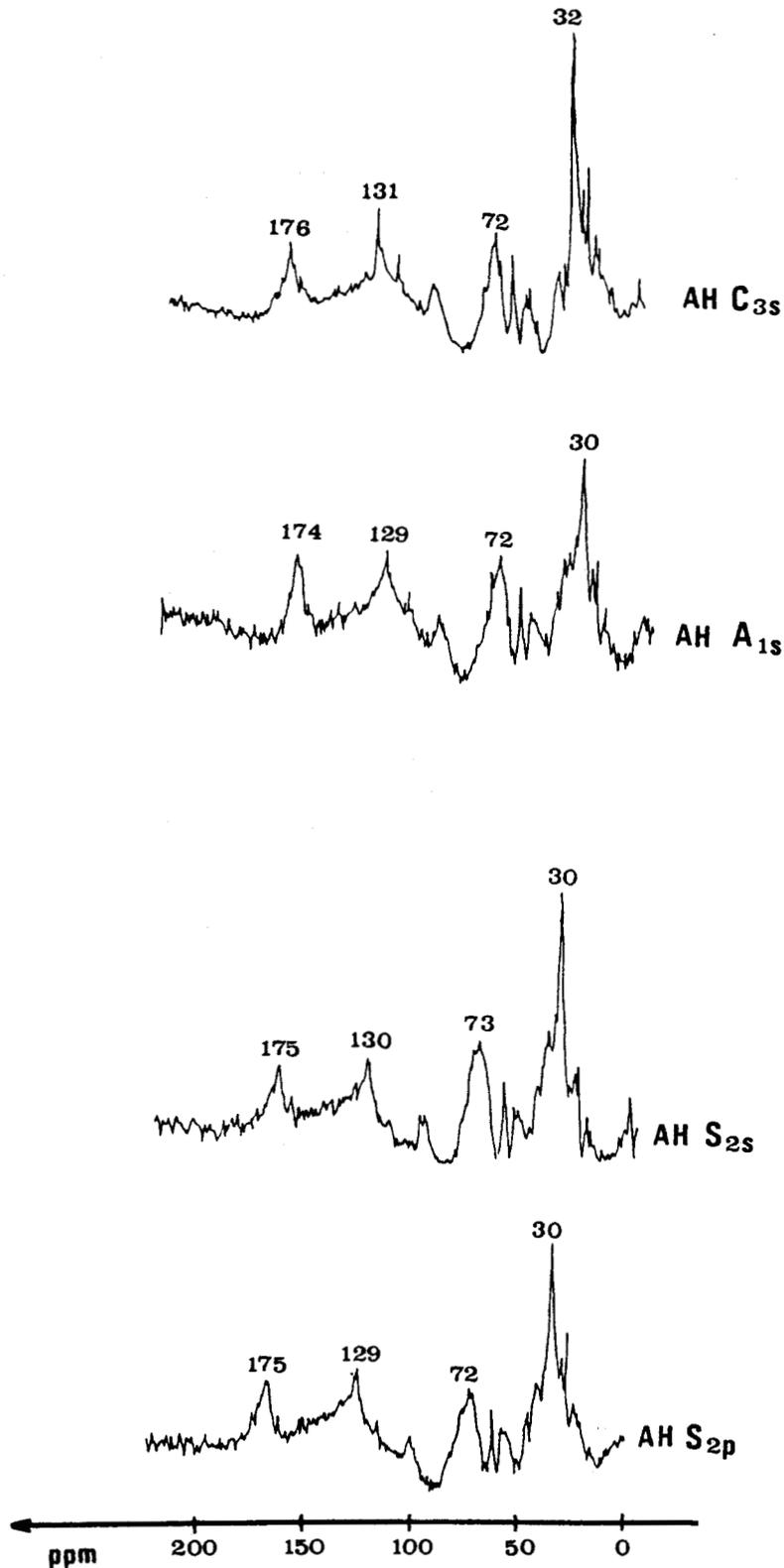


FIGURE 22 : Spectres de résonance magnétique nucléaire du ^{13}C des acides humiques estuariens.

%	Aliphatique	Polyhydroxyle	Aromatique	Carboxyle
	0-50	50-110	110-160	160-190 ppm
AH C3s	45	28	17	10
AH A1s	47	17	21	15
AH S2s	36	32	22	10
AH S2p	31	21	35	13
MOYENNE	40	25	24	12
AF C3s	47	11	26	16
AF A1s	29	21	36,5	13,5
AF S2s	28,5	29	32,5	10
AF S2p	35	28	25,5	11,5
MOYENNE	35	22	30	13
AH FP	27,5	19	41	12,5
AF FP	24	38	18,5	18,5



TABLEAU 15 : Spectres de résonance magnétique nucléaire (RMN) du ^{13}C des acides fulviques et des acides humiques : importance relative des différents types de carbone (exprimée en %). (Les valeurs des composés humiques forestiers FP sont indiquées à titre de comparaison).

Dans le cas des substances humiques d'origine terrestre, les carbones aromatiques prédominent sur leurs homologues aliphatiques. La figure 23 illustre les spectres RMN du ^{13}C d'un acide humique et d'un acide fulvique en provenance d'un sol forestier* (région de Phalempin, Nord) : l'aromaticité représente 41 % du spectre de l'acide humique contre 27,5 % pour les carbones aliphatiques.

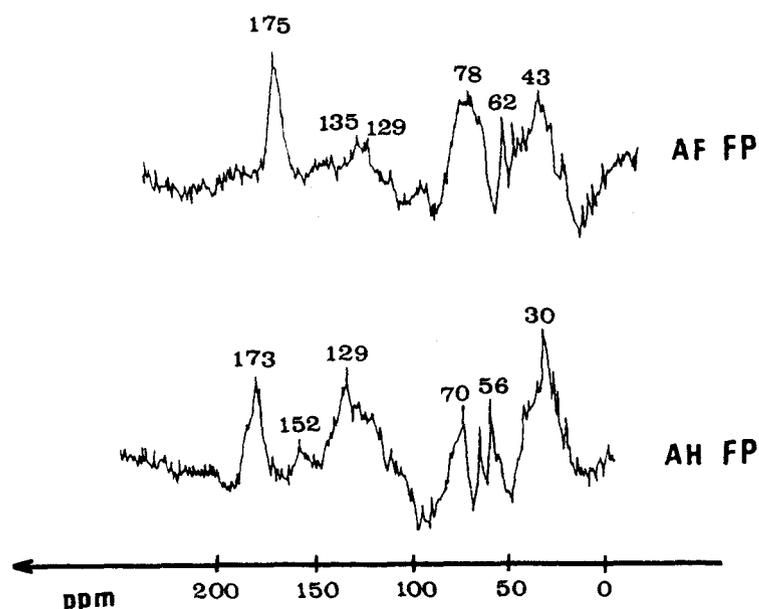


FIGURE 23 : Exemple de spectres RMN du ^{13}C donnés par des composés humiques forestiers : échantillon FP.

II.5.3 - Discussion

En spectroscopie UV, l'épaule vers 260 nm justifie l'emploi de cette longueur d'onde pour des dosages rapides de concentration en substances humiques ou l'enregistrement des divers spectres d'éluion (filtration sur gel, chromatographie d'interaction hydrophobe) à 254 m.

Dans les spectres I.R., la bande d'absorption détectée à 2920 cm^{-1} pour les acides humiques surtout, semble caractéristique du milieu sédimentaire ou aquatique : sa présence a été notée dans les spectres d'acides humiques estuariens (Huc et Durand, 1977 ; Gadel, 1980 ; Dereppe *et al.*, 1980), marins

* Cet échantillon terrestre (FP) correspond à un horizon A1 d'un sol de forêt (chênes et bouleaux principalement) sur roche-mère argileuse (argile yprésienne-Eocène). Le prélèvement concerne les dix premiers centimètres sous la litière: avec un pH de 4,5 à 5, l'humus est apparenté au type mull acide (C.O.T.: 17,82 %; carbonates de calcium : 0,65 %).

(Dereppe et al., 1980 ; Ertel et Hedges, 1983), lacustres (Ishiwatari, 1967 ; Gadel, 1980) et même de tourbières (Ertel et Hedges, 1983). Cette bande est également présente dans l'un des deux spectres d'acides fulviques sédimentaires étudiés par Hatcher et al. (1980a). A propos de la détection des liaisons peptidiques, Huc (1973) a montré la prépondérance de l'azote sous forme amino-acide dans des acides humiques de vases de Méan après hydrolyse incomplète cependant). Orioli et Curvetto (1980) ont également comparé les spectres I.R. obtenus par des acides humiques d'origine terrestre extraits avec le pyrophosphate et la soude et ils ne mentionnent pas de différences significatives., comme Worobey et Webster (1981) d'ailleurs .

En RMN la première région du spectre est toujours caractérisée par une résonance centrée autour de 174 ppm. Le déplacement chimique correspond aux carbones des carboxyles et des amides, il est légèrement plus intense pour les acides fulviques. Dans la deuxième région, le pic situé à 130 ppm est caractéristique des carbones aromatiques non substitués par des groupements contenant de l'oxygène ou de l'azote. Les signaux repérables à 70 et 80 ppm correspondraient aux carbones en position 2, 3 et 5 des monomères hexoses (Hatcher et al., 1980a) au niveau de la troisième zone ; un autre signal situé à 102-103 ppm serait responsable des carbones en position 1 des hémicelluloses comme cela était décrit par Kolodziejcki et al. (1982) et Maciel et al. (1982). Le signal présent à 55-56 ppm peut être attribué soit à la résonance du carbone méthoxylique (Ogner, 1979), soit à celle des groupements CH₂OH (Newman et al., 1980). Nous avons souligné l'importance des carbones aliphatiques (40 % des carbones humiques et 35 % des carbones fulviques) : le signal le plus intense dans cette région (0-50 ppm) est centré vers 20-30 ppm attribué aux groupements polyméthylènes selon Wilson et al. (1983).

A partir d'échantillons sédimentaires de même nature que les nôtres, Dereppe et al. (1980) notent seulement 12,7 % de carbone aromatique pour des acides humiques extraits de sédiments de la baie de Bourgneuf (Loire), et Hatcher et al. (1980b) révèlent pour des acides humiques de sédiments de la baie de New-York, 9 % de carbone aromatique. Il semblerait que la RMN du ¹³C soit un outil précis dans la définition de caractères distincts entre les substances humiques d'origines différentes.

PARTIE IV

**Etude des sucres présents dans les
substances humiques**

- PARTIE IV -

ETUDE DES SUCRES PRESENTS DANS LES SUBSTANCES HUMIQUES

La présence de sucres dans les polymères humiques, nous l'avons vu précédemment, peut être mise en évidence à partir des spectres RMN du Carbone-13 et certains auteurs pensent également avoir pu détecter la présence de ces hydrates de carbone sur des spectres infrarouges (Ishiwatari, 1967 ; Rashid, 1972 ; Ertel et Hedges, 1983).

Leur rôle en tant que précurseurs dans le processus de l'humification en milieu marin est assez prépondérant et comme leur structure est parfois représentative de ce milieu aquatique, nous les avons étudiés plus en détail en espérant pouvoir tirer quelques informations quant à l'origine de nos échantillons humiques.

I - ANALYSES QUANTITATIVES

Nous avons d'abord dosé la teneur en sucres totaux en employant la méthode du phénol-acide sulfurique préconisée par Liu *et al.* (1973). Etant donnée l'interférence fournie par l'absorption propre des substances humiques

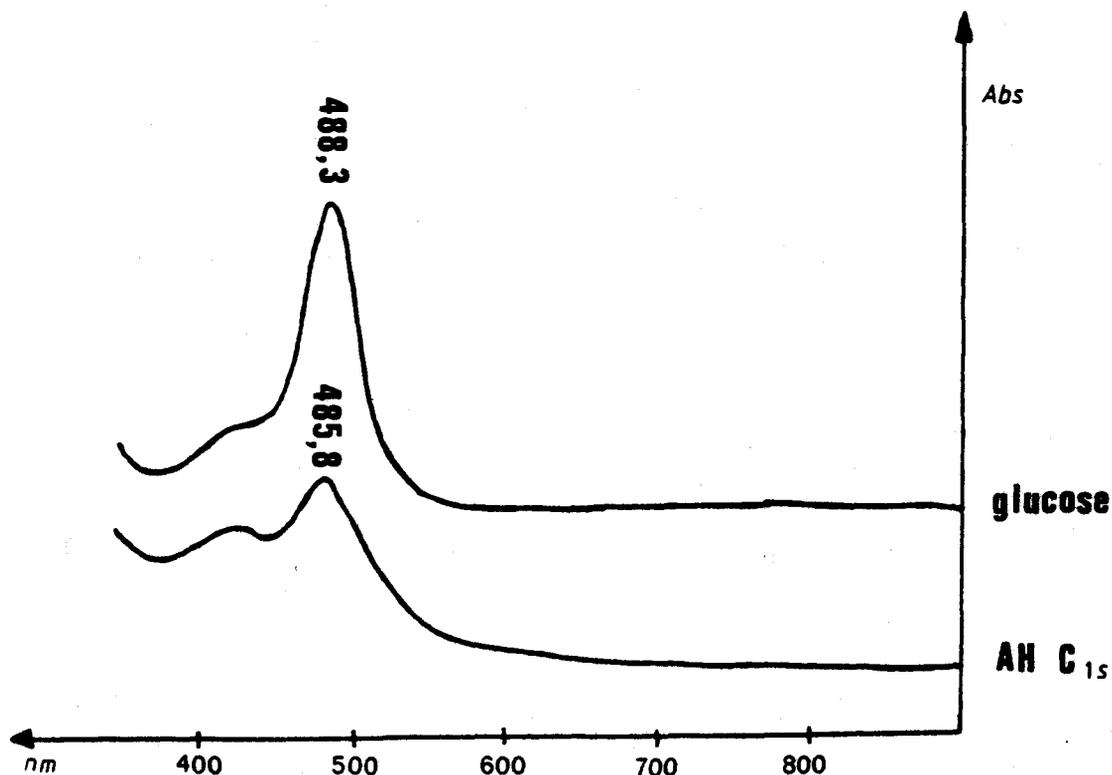


FIGURE 24 : Pic d'absorption donné par le glucose et par les sucres d'un acide humique estuarien après réaction avec le phénol en milieu sulfurique.

à 485 nm, longueur d'onde utilisée pour les lectures, des corrections sont apportées pour chaque dosage et les valeurs, exprimées en équivalents glucose sont obtenues à partir d'une gamme d'étalonnage. D'autre part, nous avons vérifié que dans nos conditions expérimentales de dosage, la courbe d'absorption de la coloration donnée par la réaction de l'acide humique avec le réactif phénol-sulfurique (maximum : 485,8 nm) était bien voisine de celle donnée par le glucose (maximum : 488,3 nm): figure 24. La proportionnalité de la coloration fournie par des concentrations croissantes d'acide humique ou d'acide fulvique (0,2 ; 0,4 ; 0,6 ; 0,8 et 1 mg) a été vérifiée.

Les concentrations en sucres totaux de l'ensemble de nos échantillons d'acides humiques et d'acides fulviques sont indiquées dans le tableau 16. Pour les échantillons relatifs à la Canche et à l'Authie, il s'agit d'extraits obtenus avec le pyrophosphate seul, alors que pour la Somme, les échantillons représentent des extraits au pyrophosphate + soude. Ces résultats révèlent que pour tous les échantillons analysés, les teneurs en sucres totaux sont plus élevées avec les acides humiques 6,93 à 10,9 %. Un essai de dosage des sucres totaux de différentes fractions d'un acide humique (S_{2p}) obtenues sur Séphacryl S400 ont montré des teneurs plus élevées pour les molécules humiques à haut poids moléculaire.

%	C1s		C3s		A1s		A1p		S1s		S2s		S2p		S3s		S3p	
SUCRES TOTAUX	6,48	9,41	2,75	7,38	2,25	7,18	5,66	9,78	5,10	10,5	1,80	10,9	2,00	8,95	3,00	7,89	2,51	6,93
AC. URONIQUES	1,65	3,40	1,15	2,58	1,00	2,51	2,12	2,45	1,30	2,63	1,52	2,64	1,11	2,65	1,75	2,51	1,03	1,98
	AF	AH																

TABLEAU 16 : Sucres totaux et acides uroniques contenus dans les substances humiques.
(Résultats exprimés en % de poids sec sans cendres).

Les acides uroniques, sucres porteurs de fonctions acides, sont dosés par la méthode au carbazole C₁₂H₉N (Montreuil et Spik, 1963) avec correction (due à la présence des oses neutres) par l'orcinol, mais aussi en tenant toujours compte de la coloration propre des substances humiques. De nouveau, des analyses préliminaires ont montré qu'en présence de composés humiques, la lecture à 530 nm préconisée par les précédents auteurs, est utilisable pour les dosages et les valeurs de la densité optique obtenues avec des concentrations croissantes de substances humiques sont bien proportionnelles.

Les résultats exprimés en équivalent d'acide glucuronique sont représentés dans le tableau 16. Les teneurs sont très voisines d'un échantillon à l'autre en ce qui concerne les acides humiques, et à l'exception de quelques unes, les concentrations en acides uroniques des acides fulviques sont de l'ordre de moitié par rapport aux acides humiques correspondants. La figure 25 récapitule les différents résultats.

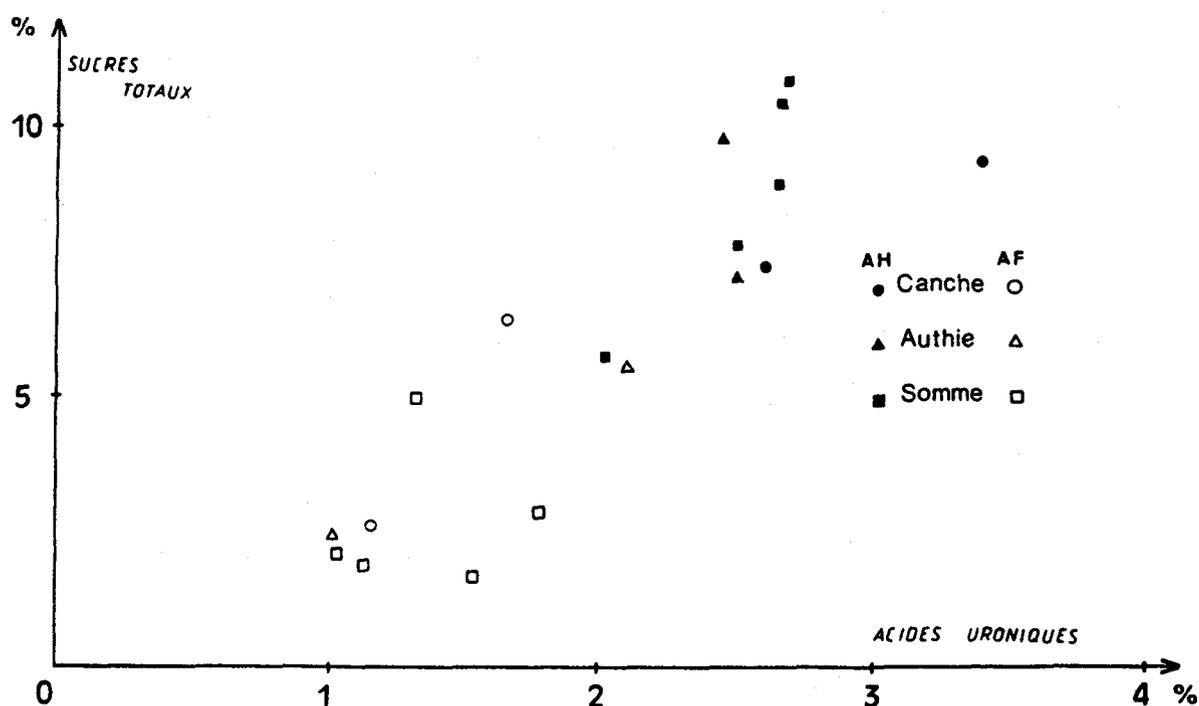


FIGURE 25 : Relation entre la concentration en sucres totaux et celle de leurs acides uroniques des composés humiques estuariens.

La richesse plus élevée en oses neutres ou acides de la fraction humique de nos échantillons par rapport à la fraction fulvique est un peu surprenante, car les résultats donnés en bibliographie prouvent plutôt l'inverse (Gallali *et al.*, 1972 ; Schnitzer et Preston, 1983). Mais il faut cependant remarquer que ces résultats concernent des échantillons terrestres. Dans le domaine sédimentaire, une étude relativement complète sur les hydrates de carbone a été entreprise par Mopper (1977) qui signale que les sucres neutres représentent de l'ordre de 19 à 20 % du carbone organique total du sédiment (de la Mer Noire) et environ 1,3 % pour les acides uroniques ; l'auteur n'a pas cependant opéré de fractionnement des substances humiques. Plus récemment et à partir de sédiments marins, Gershanovich et Zaslavskiy (1983) et Yamaoka (1983) ont dosé les sucres après avoir effectué des extractions et des fractionnements des composés humiques : ils trouvent une richesse plus importante dans la fraction fulvique qui rassemble des molécules à petits poids moléculaires, (le pourcentage des hydrates de carbone est compris entre 25 et 35 %).

Il est peut-être possible d'interpréter cette divergence dans les résultats en faisant remarquer que nos extraits fulviques sont purifiés par passage sur une résine complexante XAD 8 (voir Partie III, § II.1). En l'absence de ce traitement, les hydrates de carbone libres qui se trouvaient dans la solution d'extraction et qui n'ont pas été précipités lors de l'acidification destinée au fractionnement, se retrouvent en effet, comme le signale Hatcher *et al.* (1980a) avec la fraction fulvique, d'où une interférence possible lors des dosages entre

les sucres libres et ceux qui sont partie intégrante des molécules fulviques (en traitant sur la résine XAD 8 une solution aqueuse de pH 1,0 contenant un dextran de PM 150 000, nous avons par ailleurs pu vérifier l'absence totale de rétention de ce polymère sur la résine).

A noter, que des dosages en sucres totaux par la méthode à l'anthrone (Brink *et al.*, 1960) ont donné des résultats inférieurs à ceux du phénol-sulfurique, en raison du mode opératoire et de la lecture à 625 nm, où règnent de nombreuses interférences (acides aminés et protéines).

II - IDENTIFICATION DES MONOSACCHARIDES

II.1 - HYDROLYSE ACIDE

L'identification des monosaccharides présents dans les acides humiques ou fulviques a été réalisée après hydrolyse acide au moyen de la chromatographie en phase gazeuse.

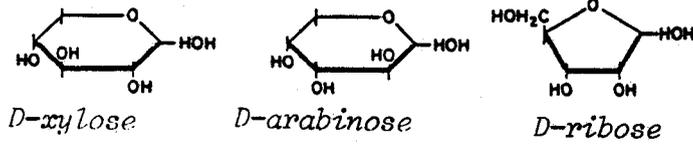
Pour cette hydrolyse, nous avons effectué des essais comparatifs avec trois acides classiques : acide sulfurique (72 %, puis 1 N), acide chlorhydrique (4 N) et l'acide trifluoroacétique (4 N). Ces essais sont opérés à 100° C en présence d'azote avec 10 mg d'extrait humique lyophilisé. Après 1, 2, 3, 4 et 5 heures de réaction, l'hydrolysate est récupéré pour la détermination de la teneur en sucres totaux au phénol-sulfurique après élimination de l'acide à l'aide du rotavapor ou de la baryte.

Un meilleur rendement est obtenu avec l'acide trifluoroacétique 4 N (CF₃COOH) avec une durée de 2 h de séjour sous N₂ à 100° C : cet acide est utilisé par la suite pour nos expériences d'identification des sucres. Après hydrolyse, le surnageant récupéré, ainsi que l'eau de lavage (trois fois à l'eau distillée) sont concentrés au rotavapor.

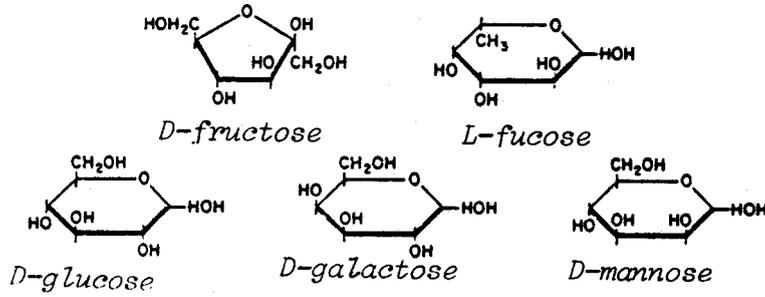
La purification des hydrolysats sont opérées sur résine échangeuse d'ions (DOWEX 50 forme H⁺), puis sur la résine DOWEX 1.8 (forme bicarbonatée). Les sucres neutres non retenus sont récupérés dans l'éluat qui est concentré et lyophilisé. Les acides uroniques retenus sur la résine DOWEX 1.8 sont élués avec une solution d'acétate de sodium 0,16 N, puis purifiés sur Amberlite IR 120 (forme H⁺). A titre de rappel, la figure 27 présente la structure des sucres les plus communs.

Pour visualiser l'effet de l'hydrolyse acide sur la molécule humique, nous avons effectué un spectre RMN du ¹³C du résidu d'hydrolyse de l'acide humique (AHS_{2p}) : figure 27. Par comparaison, l'hydrolyse réduit l'intensité des signaux des carbohydrates (50-110 ppm) et des C = O et COOH. Des faits semblables sont relevés par Gonzales-Vila *et al.* (1983) et Schnitzer et Preston (1983) avec des résidus d'hydrolyse de composés humiques d'origine terrestre.

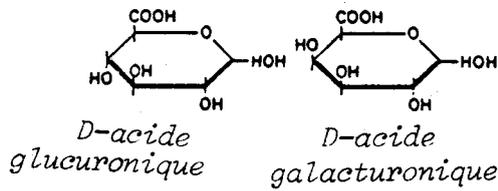
63
PENTOSES



HEXOSES



ACIDES URONIQUES



SUCRES AMINES

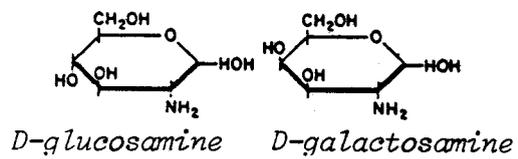


FIGURE 26 : Rappel de la structure des monosaccharides les plus fréquents.

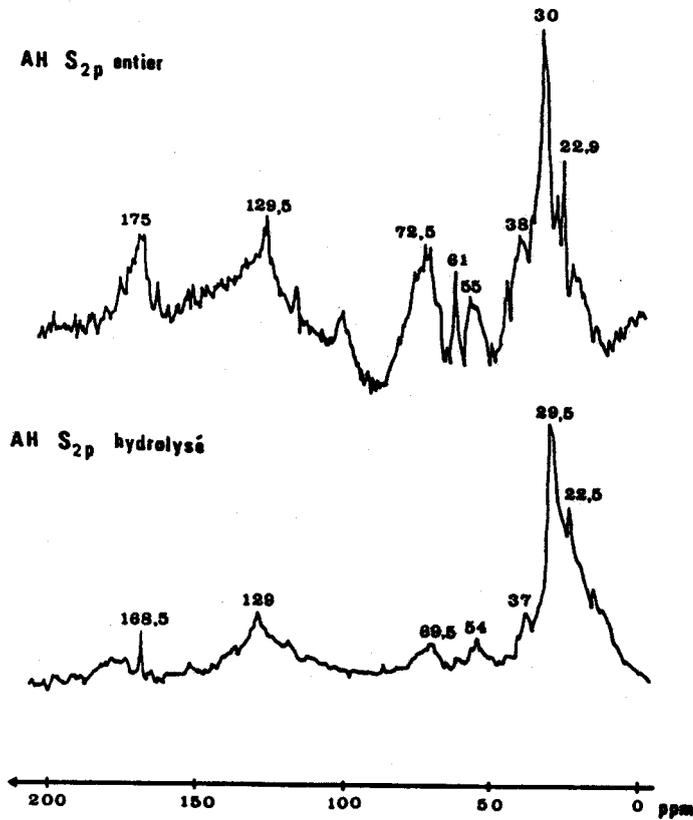


FIGURE 27 : Effet de l'hydrolyse acide (CF₃COOH 4N 2h30 à 100°C) sur le spectre RMN du ¹³C d'un acide humique estuarien (S_{2p}).

II.2 - CHROMATOGRAPHIE PAPIER

L'efficacité du traitement hydrolytique est contrôlée par une chromatographie des sucres neutres sur papier Whatman n° 3 en élution descendante avec le mélange n-butanol/acide acétique/eau (4/1/5 en volume) comme éluant. Après 48 h d'élution les chromatogrammes sont révélés par pulvérisation du réactif oxalate : aniline + acide oxalique à 25 % + éthanol et séchage à 105° C. Les différentes taches correspondant aux sucres révélés à partir des échantillons d'acide humique sédimentaire et d'acide humique terrestre, sont indiquées sur la figure 28.

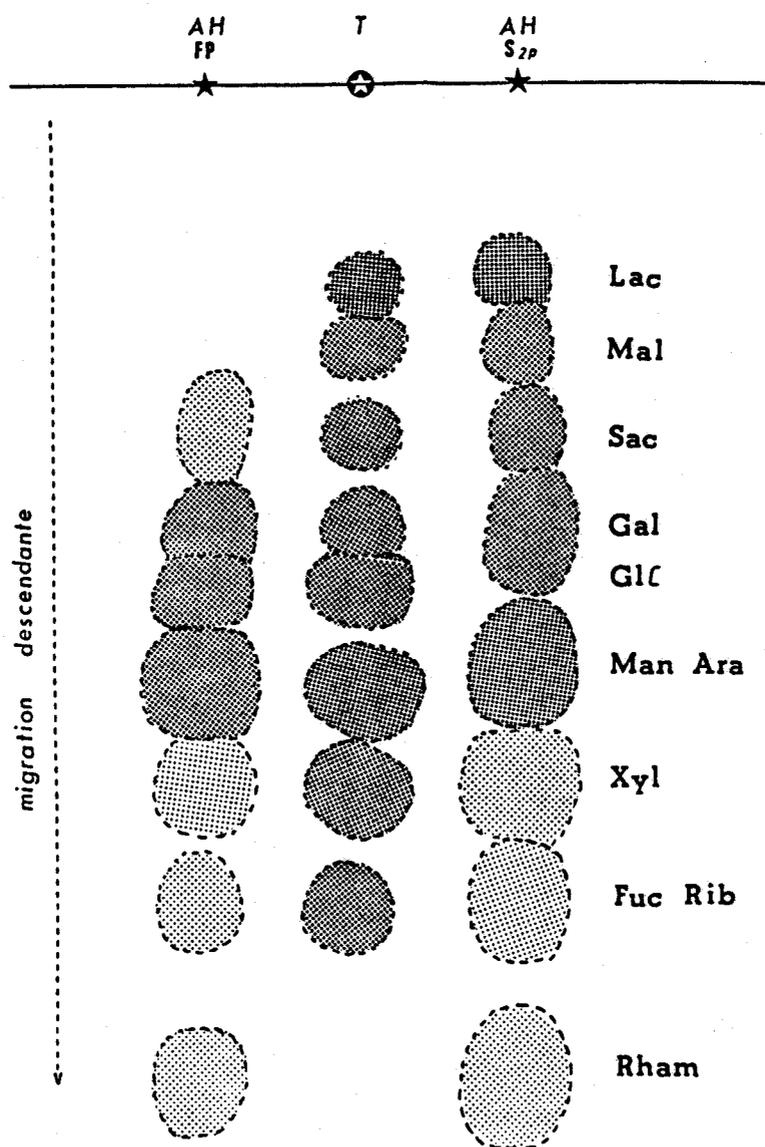


FIGURE 28 : Chromatographie sur papier des sucres neutres libérés par l'hydrolyse acide (CF_3COOH 4N, 2h) de deux acides humiques : sédimentaire S_{2p} et forestier FP.

(T: témoins; Lac: lactose; Mal: maltose; Sac: saccharose; Gal: galactose; Glc: glucose; Man: mannose; Ara: arabinose; Xyl: xylose; Fuc: fucose; Rib: ribose; Rha: rhamnose).

Nous voyons que les monosaccharides dominants sont représentés par le glucose-galactose et le mannose-arabinose. Pour l'acide humique sédimentaire, les disaccharides sont également identifiables : le lactose, le maltose et le saccharose. Leur présence suggère vraisemblablement une complexité plus grande des composés sucrés de ces acides humiques.

II.3 - CHROMATOGRAPHIE EN PHASE GAZEUSE

La chromatographie en phase gazeuse permet l'analyse qualitative et semi-quantitative des monosaccharides.

II.3.1 - Méthodes

Les conditions d'hydrolyse adoptées pour cette analyse sont les suivantes :

1 mg de poudre est additionné à 10 μ g de mésoinositol (= Témoin interne) en solution aqueuse et après lyophilisation dans un tube en pyrex, 200 μ l d'acide trifluoroacétique 4 N sont incorporés pour assurer l'hydrolyse à 100° C pendant 2h30 sous azote. L'agent d'hydrolyse est ensuite éliminé sous vide dans un dessiccateur en présence de P₂O₅. Le résidu est repris avec 500 μ l d'une solution de borohydrure de potassium (2 mg par ml de NH₄OH 0,05 N) et après 2 h de contact à la température ambiante, la réaction est stoppée avec incorporation d'acide acétique à 10 %, de façon à amener le pH à une valeur voisine de 4,0. Après évaporation à sec, les borates sont éliminés par le méthanol (3 opérations successives au méthanol) et le résidu est repris avec de l'eau distillée pour être lyophilisé. La dernière étape consiste en une réaction en présence de pyridine (100 μ l) + anhydride acétique (100 μ l) pendant une nuit à température ordinaire, l'excès étant ensuite éliminé par évaporation sous courant d'azote.

La séparation chromatographique des sucres est réalisée au laboratoire de Chimie biologique avec un appareil GIRDEL 300 équipé d'une colonne Cpsil 5 CB (chrompack). La température est programmée de 140° à 240° C, à raison d'une élévation de 2° C par minute. Le gaz vecteur employé est l'hélium.

II.3.2 - Résultats et discussion

La figure 29 représente les séparations par chromatographie en phase gazeuse, de l'hydrolysats des acides humiques et fulviques de l'échantillon S_{2p} et leur analyse semi-quantitative est indiquée dans le

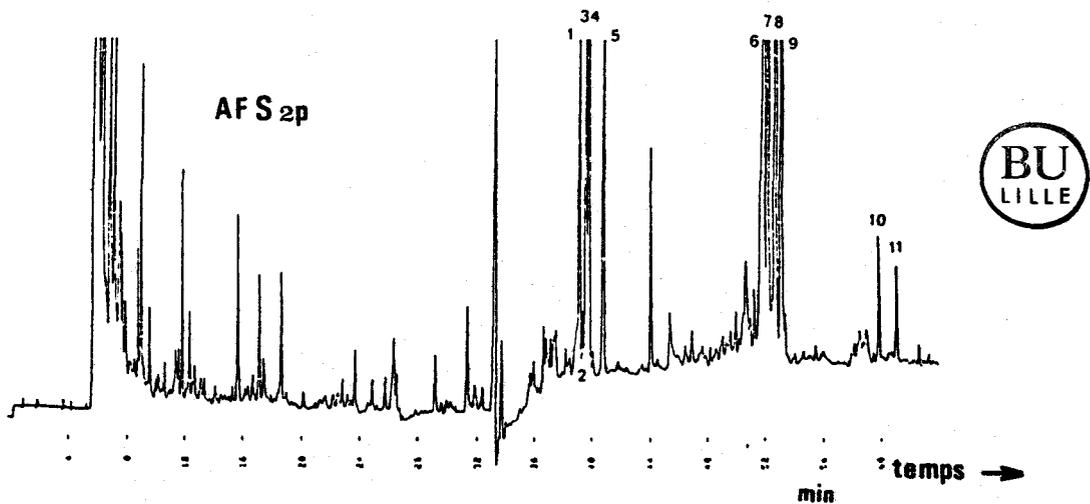
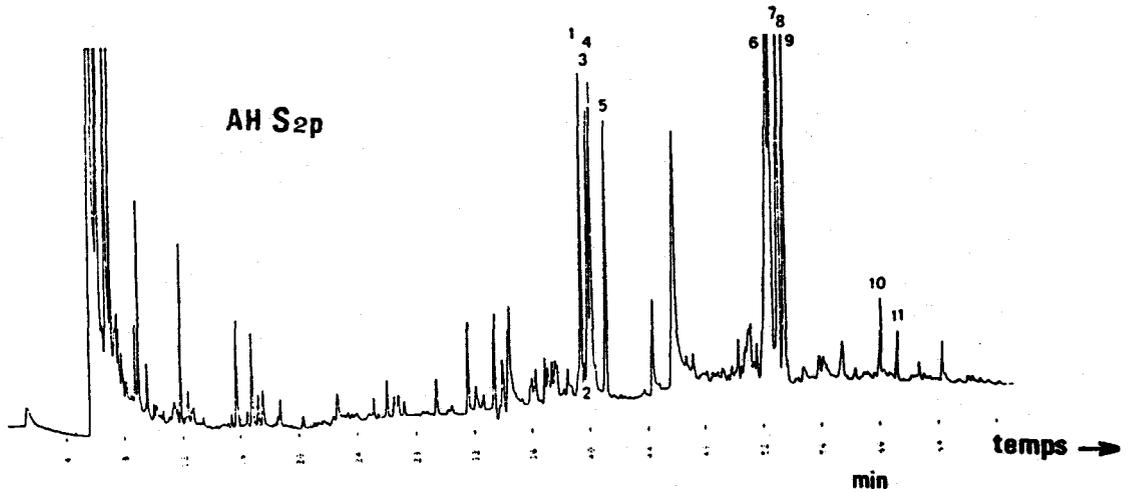


FIGURE 29 : Chromatographie en phase gazeuse des sucres libérés par l'hydrolyse acide (CF_3COOH 4N) à partir d'un acide humique et d'un acide fulvique sédimentaires (S_{2p}).
 (1:rhamnose;2:ribose;3:fucose ;4:arabinose;5:xylose;6:mésoinositol =témoin;7:mannose;8:glucose;9:galactose;10:glucosamine;11:galactosamine).

%	Rha	Fuc	Ara	Xyl	Rib	Man	Glc	Gal	Glc-N	Gal-N
AF S2p	12	12	13	12,5	2	12,5	15	14	4	3
AH S2p	11,5	9,5	14	10	1,5	13,5	15,5	14,5	5,5	4,5
AF FP	5,5	4	20,5	7	2	20,5	17	12	6,5	5
AH FP	4	1	44	5	1	18	13	11	2	1

TABLEAU 17 : Teneurs en monosaccharides des acides fulviques et des acides humiques sédimentaires (S2p) ou forestiers (FP). (Rha: rhamnose, Fuc: fucose, Ara: arabinose, Xyl: xylose, Rib: ribose, Man: mannose, Glc: glucose, Gal: galactose, Glc-N: glucosamine, Gal-N: galactosamine). Résultats exprimés en % de la totalité des sucres.

tableau 17. De ces résultats, il ressort une certaine similitude entre les concentrations en monosaccharides des acides fulviques et humiques pour chacun des échantillons (S_{2p} estuarien ou FP forestier) et un contraste lorsque ces concentrations sont comparées d'un échantillon à l'autre. L'échantillon sédimentaire présente un remarquable équilibre entre les teneurs des sept principaux sucres: rhamnose, fucose, arabinose, xylose, mannose, glucose, galactose, qui sont comprises entre 10 et 15 % de sucres. Alors que l'échantillon terrestre est très riche en arabinose, mannose et relativement en glucose et galactose.

Dans la bibliographie, il existe très peu de données permettant de comparer nos résultats. En domaine sédimentaire, nous n'avons trouvé que les travaux de Yamaoka (1983) qui a analysé des échantillons côtiers du détroit de Suo (Japon). Cet auteur signale dans les hydrolysats d'acides humiques et d'acides fulviques, trois monosaccharides légèrement dominants, représentant chacun de l'ordre de 15 à 25 % des sucres neutres: glucose, galactose et rhamnose. La richesse totale en sucres de ses acides fulviques est très élevée par rapport aux acides humiques, mais ces teneurs peuvent être interprétées en tenant compte de l'absence de purification des extraits qui conduit souvent à une "contamination" de la fraction fulvique avec des hydrates de carbone libres.

Des analyses de sucres ont également été entreprises à partir de sédiments entiers marins par Mopper (1977) et Ittekkot *et al.* (1984a, b), sans extraction préalable des substances humiques. Mopper trouve une concentration plus élevée pour deux sucres: le glucose et le galactose représentant chacun 15 à 25 % des sucres neutres (les valeurs varient légèrement selon les techniques d'hydrolyse utilisées) et une concentration de l'ordre de 10 % pour quatre autres

monosaccharides : rhamnose, xylose, fucose et mannose. Les résultats d'Ittekkot et al. sont voisins : glucose et galactose représentent selon les échantillons 15 à 25 % des monosaccharides, le mannose 15 à 20 % et le xylose, fucose et rhamnose : de l'ordre de 10 % chacun.

Il est intéressant de comparer ces résultats avec les teneurs en monosaccharides relevées cette fois-ci à partir de la matière organique présente dans l'eau de mer. En récupérant les particules organiques en suspension dans des échantillons d'eau prélevés dans l'Océan Pacifique, Handa et al. (1969) notent ainsi la présence d'un sucre dominant, le glucose, qui représente 25 à 55 % des sucres neutres, puis dans l'ordre décroissant le xylose, le mannose et le galactose (10 à 20 %). Les résultats plus récents de Mopper (1977) sont du même ordre : après hydrolyse des hydrates de carbone récupérés à partir d'échantillons d'eau prélevés dans la Mer Noire et la Mer du Nord, il trouve une forte proportion de glucose : 55 à 70 %, suivi par le galactose : 10 % environ.

Ces résultats montrent par conséquent que les teneurs en différents monosaccharides tendent vers une sorte d'uniformité lorsqu'on compare successivement les valeurs données par la matière organique en suspension dans les eaux marines, la matière organique présente dans les sédiments et les substances humiques présentes dans ces sédiments. Cette teneur en différents monosaccharides semble s'uniformiser progressivement au fur et à mesure de la transformation en humus des précurseurs sucrés.

Dans le cas de l'humus terrestre, nous n'avons pas relevé cette uniformité en analysant l'humus terrestre (FP, forêt de feuillus). Les résultats obtenus par Ogner (1980) à partir d'un humus de forêt de sapins, sont de même ordre : il note un monosaccharide nettement dominant, le glucose (36,4 % des sucres neutres des AH, 42,9 % pour les AF), puis une concentration assez élevée de mannose (17 à 18 %) et 10 à 12 % de xylose et de galactose (les autres sucres sont relativement mineurs : 6 à 9 % pour le rhamnose, 4 à 6 % pour l'arabinose et le fucose chacun).

Les modifications subies par les précurseurs de nature polysaccharidique dans le cas de l'humus forestier seraient donc moins poussées que pour l'humus sédimentaire. Ce résultat peut aisément s'expliquer en signalant que ces précurseurs dans l'environnement marin sont généralement véhiculés par l'eau pendant de longues périodes avant de se fixer dans les sédiments. Ce processus favorise le mélange des précurseurs de natures ou d'origines différentes, et permet une maturation plus profonde de leur structure, par suite de l'activité dépolymérisante de la microflore des eaux marines. En outre, la part plus importante prise en milieu marin par rapport au milieu terrestre de ces hydrates de carbone en tant que précurseurs d'humus ne peut qu'amplifier cette uniformisation.

En ce qui concerne les relations entre l'identité des sucres présents dans l'humus et leur origine terrestre ou aquatique, nos résultats ne sont guère concluants si on se réfère au xylose, "sucre du bois", qui est relativement abondant dans l'humus sédimentaire. Par contre, le fucose, "sucre des algues" et particulièrement des diatomées (Parson et al., 1961 ; Handa et Yanagi, 1969), est effectivement mieux représenté dans l'humus sédimentaire par rapport aux composés humiques terrestres, et spécialement dans la fraction fulvique. Mais le xylose et le fucose ne sont plus considérés comme des marqueurs spécifiques de milieu par les biochimistes .

Ces remarques ne coïncident cependant pas avec nos précédents résultats en RMN du carbone 13 des acides fulviques estuariens. Ceux-ci montraient en effet une aromaticité relativement élevée, caractéristique d'une origine terrestre : une participation mixte de précurseurs d'origines terrestre et marine justifierait évidemment l'obtention de tels résultats, mais notre analyse de sucre ne repose que sur l'utilisation d'un seul échantillon de sédiment estuarien ; nous pensons que d'autres analyses sont indispensables pour conclure de façon plus catégorique.

PARTIE V

Fractionnement des substances

humiques

PARTIE V

FRACTIONNEMENT DES SUBSTANCES HUMIQUES

Le fractionnement des substances humiques en groupements moléculaires plus homogènes constitue probablement l'une des clefs qui permettra de mieux comprendre leur structure, leur origine et leur évolution. Mise à part la séparation classique en acide humique et acide fulvique reposant sur des caractères de solubilité qui est couramment employée, les autres essais de fractionnement ont souvent été abandonnés faute d'une caractérisation suffisamment précise des sous-fractions séparées. Etant donnée la large polydispersité des molécules, il n'est guère possible d'envisager un fractionnement reposant sur leur taille et les caractéristiques de leur ionisation ne permet pas non plus l'emploi des supports échangeurs d'ions.

L'utilisation de résines hydrophobes a cependant donné quelques résultats intéressants : avec l'Amberlite XAD2, Mantoura et Riley (1975) montrent qu'un fractionnement des acides humique ou fulvique est possible lors de la désorption des molécules au moyen de solutions à pH croissant et, avec l'Amberlite XAD8, Mac Carthy et al. (1979) et Curtis et al. (1981) obtiennent également des résultats par le biais d'une élution avec un gradient de pH.

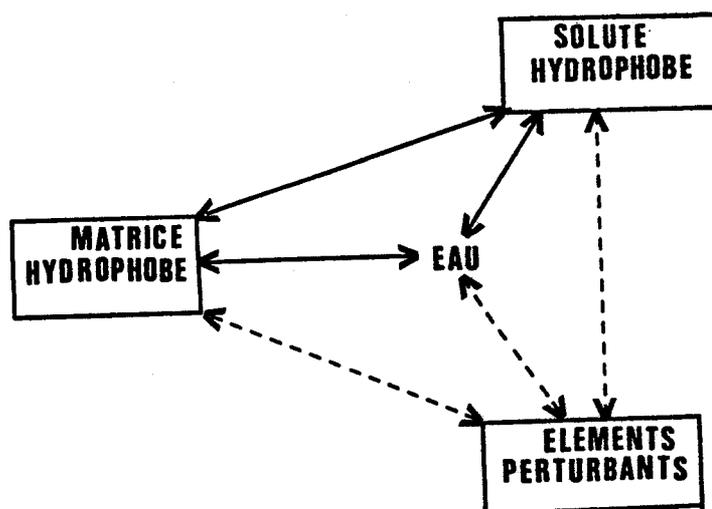


FIGURE 30 : Paramètres de la Chromatographie d'interaction hydrophobe.

Nos efforts ont porté sur l'utilisation de gels hydrophobes : l'Octyl-Sépharose CL-4B et le Phényl-Sépharose CL-4B, commercialisés par Pharmacia. Ce sont des gels d'agarose modifié sur lesquels sont fixés des groupements octyl ou phényl. Lorsque des molécules en solution sont appliquées sur de tels gels, elles sont soumises d'une part aux interactions avec la matrice hydrophobe du gel, et d'autre part aux interactions avec les molécules d'eau du solvant (figure 30). Ainsi, toutes perturbations comme la température, le pH ou la force ionique qui influencent ces interactions peuvent conduire à l'élution de ces molécules. Avec les substances humiques, ces deux derniers paramètres ont été particulièrement considérés et la plupart des essais sont réalisés avec l'Octyl-Sépharose.

I - MISE AU POINT DE LA TECHNIQUE DE FRACTIONNEMENT

I.1 - CHOIX DES ECHANTILLONS

Pour cette étude, nous avons choisi plusieurs échantillons de substances humiques d'origine différente, afin de pouvoir comparer leurs propriétés hydrophobes :

- un acide humique et un acide fulvique d'un sol forestier (FP) ;
- un acide humique et un acide fulvique d'un sédiment de l'estuaire de la Somme (S2p) ;
- un acide humique commercial (Aldrich) ;
- deux humus de synthèse : l'acide polymaléique et la mélanoidine issue du mélange xylose/glycine.

Les substances humiques de l'échantillon forestier sont extraites par le pyrophosphate de sodium 0,1M et celles de l'échantillon sédimentaire par le mélange $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,1M + NaOH 0,1M. Quant à l'acide humique commercial qui est d'origine terrestre, il a été initialement extrait avec la soude 0,1M puis purifié selon la technique décrite par Narkis et Rebhun (1975) et traité sur Amberlite IR120(H⁺). Cet extrait commercial a déjà été utilisé pour des comparaisons par plusieurs auteurs (Saito et Hayano, 1980 ; Miknis et al., 1981 ; Hatcher et al., 1981, Hayano et al., 1982 ; Steelink et al., 1983).

L'acide polymaléique est préparé selon la méthode de Braun et Pomakis (1974) avec de l'acide maléique en présence de pyridine, sa composition élémentaire est proche de celle des substances humiques et plus précisément des acides fulviques (Anderson et Russel, 1976) (voir figures 11 et 12, Partie III, § II.2). Wilson et al. (1981) ont souligné en outre que ses caractéristiques le rapprochent plus de l'humus aquatique.

La mélanoïdine a été synthétisée par la réaction de Maillard (1912 et 1916) selon la technique de Benzing-Purdie et Ripmeester (1983) en présence de xylose et de glycine. Ce choix repose essentiellement sur les rendements obtenus qui sont relativement élevés.

I.2 - METHODE DE FRACTIONNEMENT

En chromatographie d'interactions hydrophobes, la nature de la solution saline employée pour l'élution ainsi que sa concentration jouent un rôle déterminant. Selon la nature de l'anion et du cation, le relargage ("salting out") ainsi que le "chaotropisme" des molécules seront plus ou moins intense (tableau 18).

	effet "salting-out"									
ANIONS	PO ₄ ³⁻	SO ₄ ²⁻	CH ₃ COO ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	NO ₃ ⁻	ClO ₄ ⁻	I ⁻	SCN ⁻	
CATIONS	NH ₄ ⁺	Rb ⁺	K ⁺	Na ⁺	Cs ⁺	Li ⁺	Mg ²⁺	Ca ²⁺	Ba ²⁺	
	effet chaotropique									

TABLEAU 18 : Effet de la nature des anions et des cations sur les interactions hydrophobes.

Après des essais préalables de solubilisation et de comportement sur le gel avec différents sels, nous avons finalement retenu le chlorure de sodium qui permet une solubilisation plus facile des échantillons humiques très concentrés. Ce chlorure de sodium est incorporé dans une solution tampon Tris-HCl 0,01M à pH 7,0 à une concentration 3M et l'Octyl-Sépharose CL-4B est placé dans une colonne (30x2,6 cm) sur laquelle les échantillons sont appliqués à raison de 10 mg de carbone organique solubilisés dans 5 ml du même tampon amenés à une concentration 3M de NaCl. La vitesse d'élution est uniformément de 40 ml/h et un collecteur de fractions équipé d'un détecteur UV (254 nm) permet d'enregistrer les fractions éluées. Les estimations quantitatives sont réalisées par le dosage du carbone organique.

Le choix de la concentration 3M résulte d'essais préalables qui montrent qu'au delà de cette molarité, l'efficacité de l'adsorption des molécules humiques n'est guère améliorée, alors que des risques de précipitations par relargage ("salting-out") pouvaient se produire, en particulier pour les acides humiques sédimentaires (figure 31).

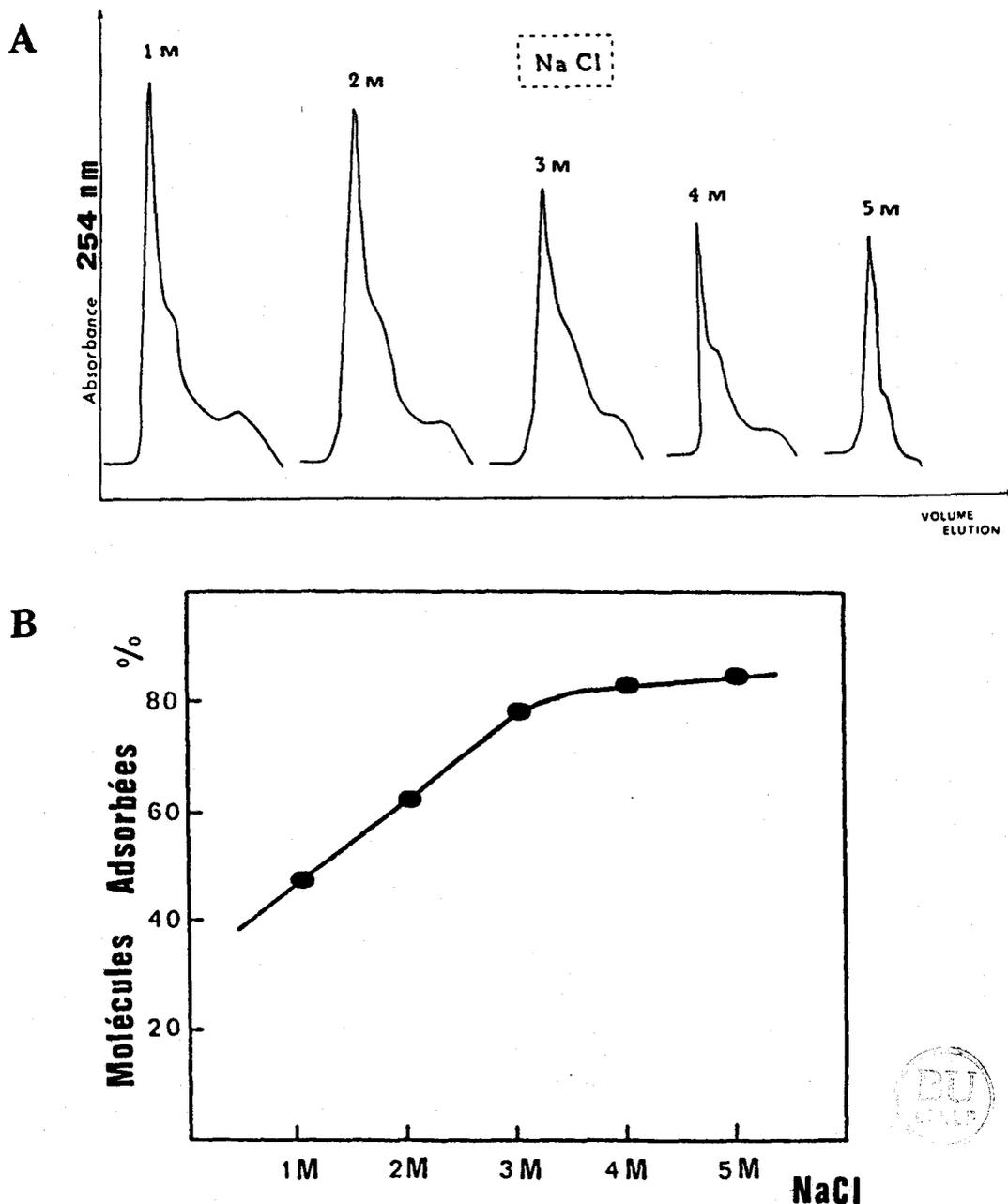


FIGURE 31 : Efficacité de l'adsorption des molécules humiques (échantillon forestier FP) sur l'Octyl-Sépharose CL-4B en fonction de la concentration en NaCl de la phase mobile:

A: Enregistrement de la fraction non adsorbée.

B: Courbe représentant l'efficacité de l'adsorption.

Après élution sur l'Octyl-Sépharose avec la solution tampon contenant le chlorure de sodium (3M), les molécules adsorbées sur ce gel sont fractionnées en plusieurs étapes :

- 1) Avec un gradient de concentration décroissant de NaCl de 3M à 0M, suivi par élution avec l'eau distillée.
- 2) Avec un gradient de pH croissant obtenu avec une solution de soude jusqu'à une concentration de 0,2M, suivi par une élution avec cette soude 0,2M. (L'emploi d'une concentration plus élevée est évitée pour ne pas risquer les dénaturations moléculaires).

I.3 - RESULTATS

L'application du gradient décroissant de NaCl ne conduit pas à une élution fractionnée des molécules organiques et ce n'est qu'en présence d'eau distillée que certaines sont désadsorbées. Des essais ont été réalisés avec des gradients simultanément décroissants en NaCl (3M à 0) et croissants en éthylène-glycol (concentration de 0 à 50 %) mais aucune amélioration de la technique n'a pu être enregistrée. Le gradient décroissant en NaCl a néanmoins été conservé dans le but d'éviter la formation d'artefact au contact entre le sel et l'eau pure.

Les profils d'élution obtenus avec différents échantillons sont représentés sur les figures 32 et 33.

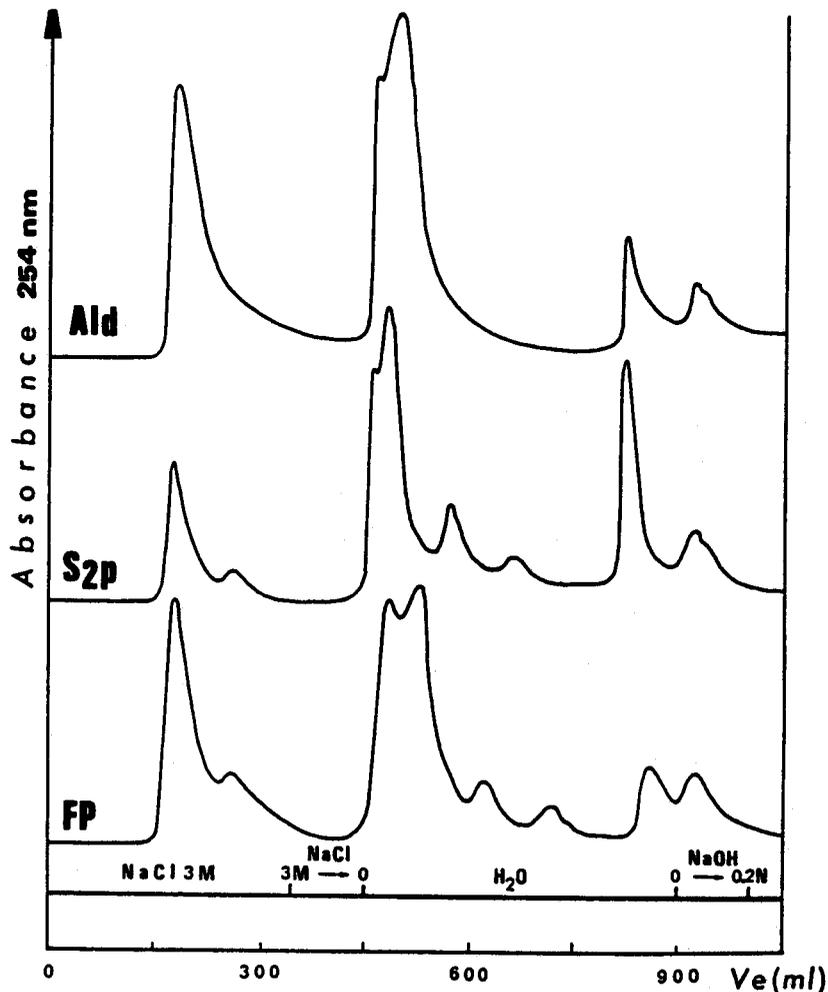


FIGURE 32 : Elution sur l'Octyl-Sépharose CL-4B des acides humiques forestier (FP), estuarien (S_{2p}) et commercial (Aldrich).
(V_e = volume d'élution)

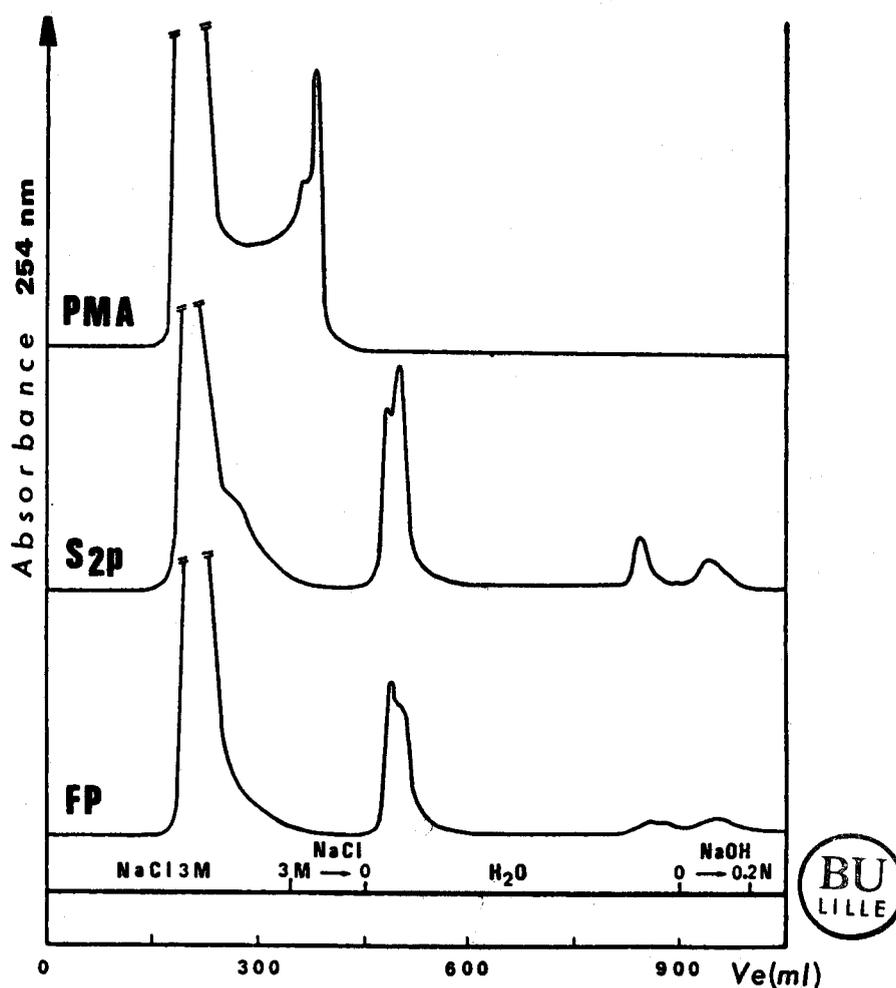


FIGURE 33 : Elution sur l'Octyl-Sépharose CL-4B des acides fulviques forestier (FP), estuarien (S_{2p}) et de l'acide polymaléique (PMA).
(V_e = Volume d'élution)

Le pourcentage de récupération des substances humiques est compris entre 85 et 96 %, il varie selon la nature des échantillons mais avec une proportion de molécules non éluées toujours plus importante pour les échantillons sédimentaires par rapport à leurs homologues terrestres. Ces résultats montrent que les acides humiques possèdent des propriétés hydrophobes plus prononcées que les acides fulviques : les pourcentages de molécules non adsorbées sont respectivement de 87 et 64 % pour les acides fulviques terrestre et sédimentaire, alors qu'ils représentent 23 et 8 % pour les acides humiques correspondants. D'autre part, ces résultats confirment le caractère plus hydrophobe des substances humiques (AF + AH) sédimentaires par rapport aux substances humiques terrestres. Le profil d'élution donné par l'acide humique commercial (Aldrich) est très proche de celui de l'échantillon forestier (FP), ce qui s'explique aisément par son origine également terrestre. Les humus de synthèse sont différents : la mélanoidine issue de la réaction de Maillard (non représentée) est totalement élue par le NaCl 3M, sans fractionnement. Alors que l'acide

polymaléique, totalement élué lui aussi par la solution NaCl, présente cependant une fraction moléculaire qui se distingue des autres par un certain retard dans leur élution : cette fraction est éluee lorsque la solution NaCl est approximativement molaire.

Le comportement de ces humus de synthèse, sur le gel hydrophobe est donc plus proche de celui des acides fulviques et caractérise une plus grande homogénéité moléculaire.

A propos des composés humiques initialement retenus sur l'Octyl-Sépharose en présence de NaCl 3M mais désadsorbés lorsque la concentration en électrolytes est nulle, ils peuvent donner plusieurs fractions plus ou moins distinctes selon leur vitesse d'élution (cas surtout des acides humiques sédimentaires et terrestres), mais l'une de ces fractions est plus particulière, car elle est éluee très tardivement juste avant les molécules qui sont entraînées par la soude. Cette fraction qui est plus importante avec l'échantillon d'acide humique sédimentaire, peut en partie provenir d'un artefact car lorsqu'elle est à nouveau chromatographiée dans les mêmes conditions sur la colonne d'Octyl-Sépharose, elle ne donne pas de résultats totalement reproductibles. Certaines molécules sont en effet entraînées par l'éluant sitôt que sa force ionique devient nulle. En faisant varier la concentration en acide humique de l'échantillon chromatographié ou son pH (5,5 au lieu de 7,0), nous avons pu constater que ces deux facteurs étaient capables d'influencer la quantité de molécules impliquées dans ce phénomène. Comme ces deux facteurs selon Ghosh et Schnitzer (1980) influencent la structure macromoléculaire des molécules humiques, il est probable que celle-ci soit à l'origine du phénomène observé.

Signalons enfin que des essais de fractionnement ont été réalisés particulièrement avec les acides humiques sédimentaires et terrestres sur colonne de Phényl-Sépharose au lieu de l'Octyl-Sépharose et en employant les mêmes séquences d'élution. Les résultats obtenus n'apportent aucune amélioration : cette technique a été abandonnée.

I.4 - DISCUSSION

Les propriétés des substances humiques qui conduisent à ce type de fractionnement mettant en jeu des interactions hydrophobes, peuvent en partie être imputées à l'existence de groupes CH, CH₂ et CH₃ à la surface des molécules dont le rôle dans des adsorptions hydrophobes a déjà été mentionné par Tschapek et al. (1973 et 1981) pour des acides humiques. Les calculs de ces auteurs aboutissent par exemple à la présence de deux sites hydrophobes par 100 Å² pour un acide humique issu d'une tourbe. Pour les acides fulviques, des propriétés hydrophobes ont également été envisagées par Hayase et Tsubota (1984) qui ont essayé d'analyser différentes fractions d'acide fulvique de poids moléculaires distincts.

Nos résultats suggèrent également que les substances humiques d'origine sédimentaire possèdent des propriétés hydrophobes plus prononcées que leurs homologues terrestres. Ces observations sont d'ailleurs en accord avec les investigations de Hayano et al. (1982) et de Hayase et Tsubota (1983) relatives aux tensions de surface des solutions de substances humiques sédimentaires. Le poids moléculaire plus élevé des extraits humiques sédimentaires par rapport aux extraits terrestres peut ainsi accentuer leur hydrophobicité, de même que certains de leurs constituants comme les dérivés lipidiques, dont l'importance a été signalée par Ogner et Schnitzer (1970), Schnitzer et Khan (1972) et Harvey et al. (1984).

Quant à l'analogie de comportement que nous avons relevé entre l'acide polymaléique et les acides fulviques, elle confirme les résultats des analyses chimiques d'Anderson et Russell (1976) et ceux de Spittler et Schnitzer (1983) ou Martin et al. (1984) relatifs à leurs propriétés.

II - ETUDES PHYSICO-CHIMIQUES DES DIFFERENTES FRACTIONS ISOLEES

L'analyse des différentes fractions séparées par chromatographie d'interaction hydrophobe a été réalisée à partir de l'échantillon présentant le caractère hydrophobe le plus marqué : l'acide humique sédimentaire (S2p).

Le profil d'élution obtenu avec cet échantillon est rappelé sur la figure 34 qui signale en outre la récupération d'une fraction qui n'avait pas été mentionnée précédemment, obtenue par élution de l'Octyl-Sépharose (CL-4B) avec de

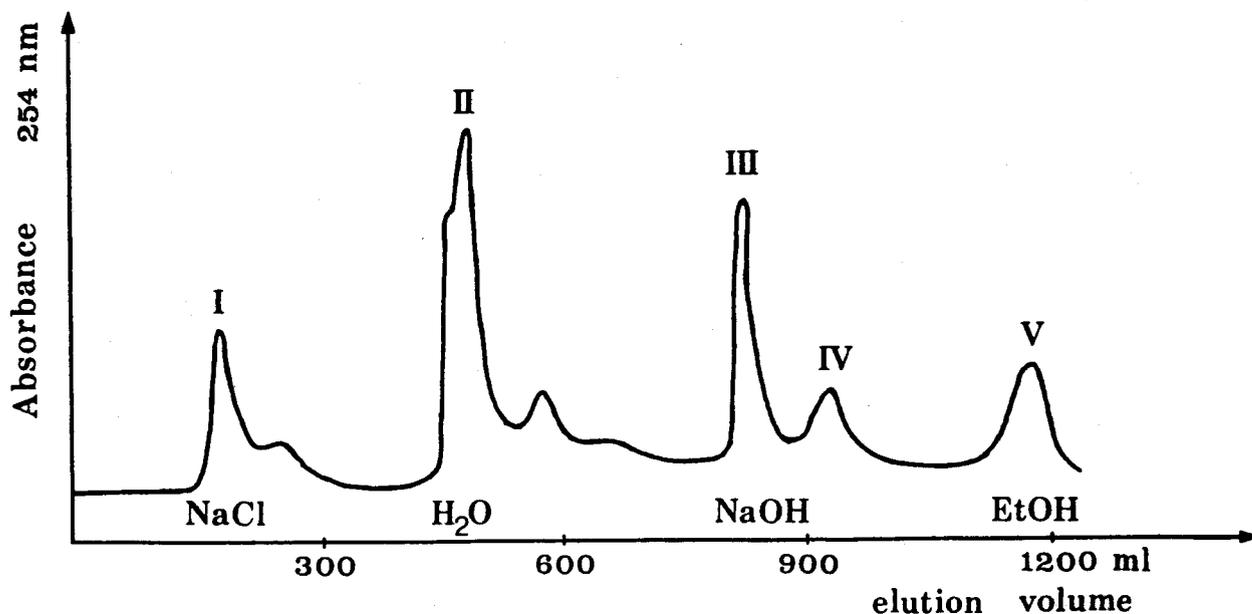


FIGURE 34 : Fractionnement de l'échantillon S_{2p} d'un acide humique sur l'Octyl-Sépharose CL-4B.

l'éthanol à 90 % (V/V). Les cinq fractions présentant des concentrations suffisantes de substances pour effectuer les analyses, sont numérotées de I à V selon leur ordre d'éluion, c'est-à-dire également selon leur hydrophobicité croissante :

AH I : Molécules humiques non retenues sur l'Octyl-Sépharose en présence du NaCl 3M, donc les plus hydrophiles. Elles représentent 11 % des acides humiques de l'échantillon.

AH II : Molécules désadsorbées sitôt que l'éluant ne contient plus le sel de sodium (45 % des acides humiques de l'échantillon).

AH III : Molécules désadsorbées en présence d'eau distillée, mais présentant une certaine rétention sur le gel (16 % des acides humiques de l'échantillon).

AH IV : Molécules désadsorbées par la solution de soude 0,2N (7 % des acides humiques de l'échantillon).

AH V : Molécules désadsorbées par l'éthanol (10 % des acides humiques de l'échantillon).

Après leur récupération, ces différentes fractions sont dialysées avec les tubes Spectra Por 6 et lyophilisées.

II.1 - RESULTATS DES ANALYSES

II.1.1 - Etude de la polydispersion moléculaire

La polydispersion moléculaire est réalisée sur Séphacryl S400 selon le protocole précédemment décrit (cf. Partie III, § II.4) et les courbes de distribution obtenues avec les 5 fractions et l'échantillon non fractionné, sont représentées sur la figure 35.

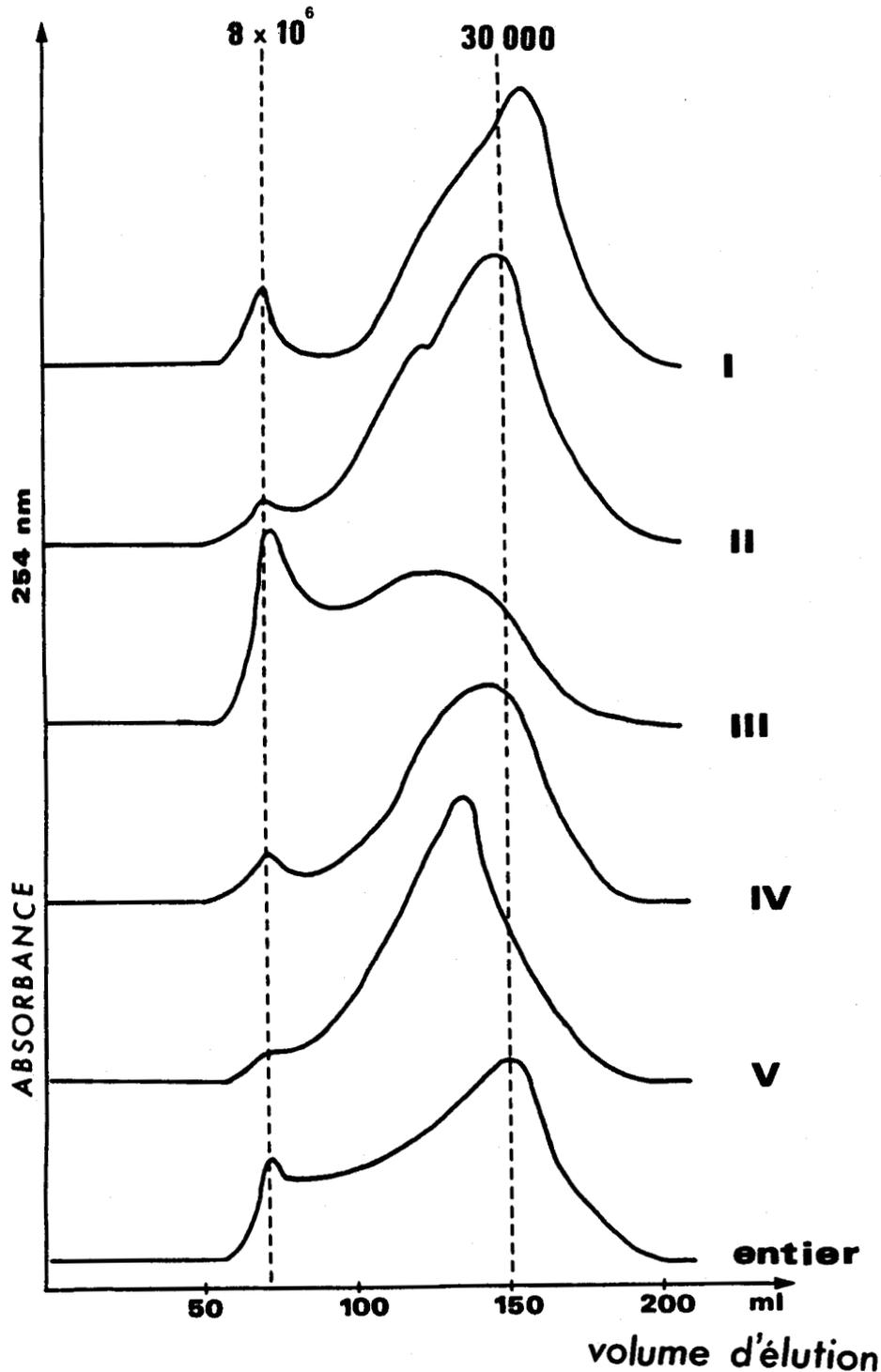


FIGURE 35 : Filtration sur gel Séphacryl S 400 de l'acide humique S_{2p} entier et des cinq fractions isolées.

Nous constatons que toutes les fractions contiennent des molécules qui sont exclues du gel (la limite d'exclusion pour les protéines globulaires avec le gel est de 8×10^6) mais que la fraction III contient beaucoup plus de molécules de ce type. Par contre, la gamme de distribution des poids moléculaires donnée par la fraction I montre que celle-ci contient des molécules relativement plus petites que toutes les autres, alors que les courbes des fractions II et IV sont assez semblables.

II.1.2 - Etude des spectres infra-rouges

Ces spectres sont représentés dans la figure 36 : ils sont assez semblables puisqu'on y retrouve toujours les mêmes bandes d'absorption caractéristiques des acides humiques. La bande d'absorption située vers 2920 cm^{-1} , typique des -CH aliphatiques, présente néanmoins un intérêt lorsque l'on considère son intensité : celle-ci a tendance à croître en fonction de l'ordre d'éluion des fractions humiques.

II.1.3 - Etude des spectres RMN du carbone 13

Ces spectres indiqués dans la figure 37, révèlent que la composition de la fraction I est très différente de celle de l'acide humique entier ou de celle des autres fractions. Son spectre présente une remarquable intensité des signaux caractéristiques de la présence des hydrates de carbone (71-75 ppm) et une absence de signaux caractéristiques des carbones aromatiques (3 % de carbone sous forme aromatique dans la région 110-160 ppm, alors que les carbones polyhydroxyliques dans la région 50-110 ppm représentent plus de 60 % du carbone total).

Le spectre de la fraction II mentionne par contre une aromaticité élevée par rapport aux autres fractions.

La concentration de la fraction V n'étant pas suffisante pour l'obtention de signaux suffisamment nets, son spectre n'est pas représenté sur la figure 37.

II.1.4 - Composition élémentaire et teneur en groupements fonctionnels

La composition élémentaire (tableau 19) n'indique aucune différence en ce qui concerne la teneur en H, N et S des cinq fractions. La teneur en carbone est cependant plus faible dans les fractions I et IV, leur conférant un H/C plus élevé. Le même rapport H/C est en outre en relation inverse avec les valeurs du E_4/E_6 : pour la fraction II qui possède le H/C le plus bas, son E_4/E_6 est le plus élevé : 4,37, suggérant un faible degré de condensation en s'appuyant sur les travaux de Chen *et al.* (1977) qui montrèrent que le rapport des densités optiques à 465 et 665 nm est en relation avec le degré de condensation des molécules humiques.

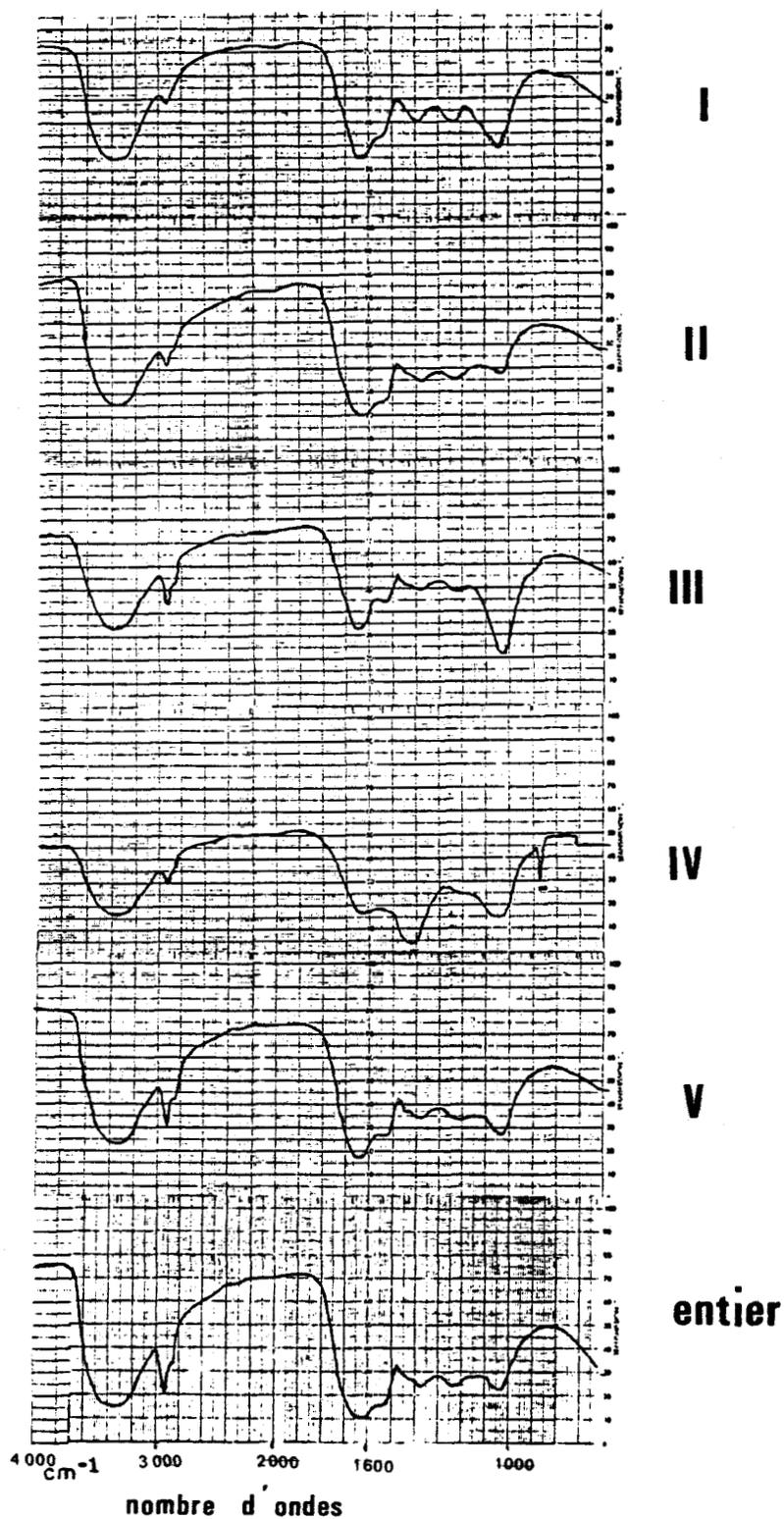


FIGURE 36 : Spectres infrarouges de l'acide humique S_{2p} entier et des cinq fractions isolées.

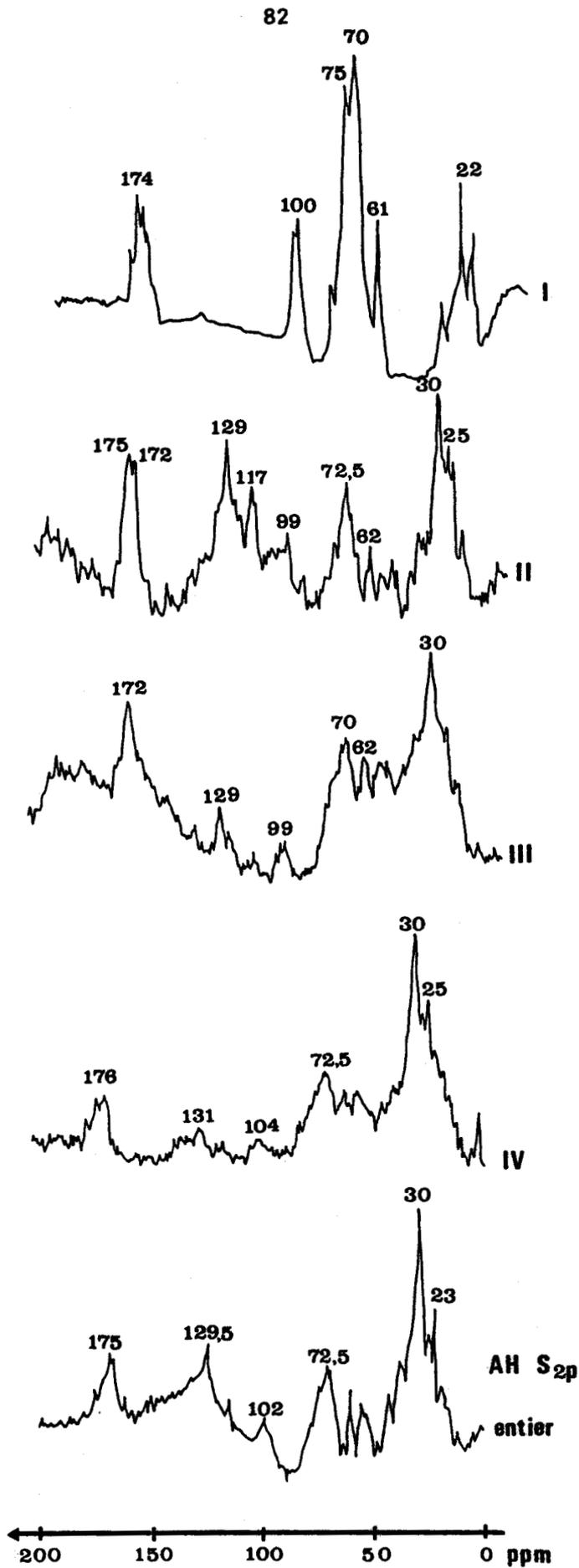


FIGURE 37 : Spectres RMN du ^{13}C de l'acide humique $\text{S}_{2\text{p}}$ et des quatre premières fractions isolées.

L'acidité carboxylique (tableau 19) est particulièrement élevée dans la fraction I et les groupements dicarboxyliques (méthode au résorcinol et étalonnage avec l'acide O-phtalique selon Arai et Kumada (1983)) représentent dans cette fraction 36,5 % de l'acidité carboxylique. La fraction IV montre également une acidité carboxylique assez élevée puisqu'elle atteint une valeur deux fois plus importante que celle des fractions III et V.

Ech	E ₄ /E ₆	C %	H %	N %	S %	a	H/C atom.	b	b	c	d
						O %		COOH	diCOOH	Sucres totaux %	Acides uroniques %
AH-I	3,46	42,22	6,42	5,64	2,27	43,45	1,82	4,49	1,64	17,25	5,35
AH-II	4,37	50,27	6,00	5,44	2,34	35,95	1,43	2,50	0,48	5,39	1,75
AH-III	3,82	50,19	6,74	5,12	1,88	36,07	1,61	1,69	0,48	5,99	1,80
AH-IV	3,40	42,64	6,08	4,90	2,10	44,28	1,71	3,75	0,48	5,25	2,60
AH-V	3,84	52,34	7,03	5,52	2,02	33,09	1,61	1,87	0,62	5,50	1,49
AH entier	4,89	50,12	6,36	5,85	2,49	35,18	1,52	2,81	0,62	8,95	2,65

TABLEAU 19 : Composition élémentaire et teneur en groupements fonctionnels de l'acide humique non fractionné (S2p AH entier) et des différentes fractions séparées sur Octyl-Sépharose CL-4B. (Résultats exprimés à partir de poids sec sans cendres).

a: teneur en oxygène calculée par différence.

b: teneurs exprimées en m.eq/g.

c: teneur exprimée en équivalent glucose.

d: teneur exprimée en équivalent acide glucuronique.

II.1.5 - Teneur en sucres

Le dosage des sucres neutres et des acides uroniques conduit encore à une distinction très nette de la fraction I qui est en général trois fois plus riche que les autres fractions (tableau 19). La fraction IV présente en outre une teneur en acides uroniques légèrement plus élevée qui est peut-être responsable en partie de son acidité carboxylique remarquée précédemment.

En procédant à l'hydrolyse de la fraction I, sa composition en monosaccharides a pu être examinée et celle-ci est comparée avec les monosaccharides de l'extrait humique entier dans le tableau 20. A l'exception du rhamnose dont la concentration est beaucoup plus élevée dans la fraction I, les résultats ne font pas état d'écarts importants pour la nature des différents sucres.

	Fucose	Galactose	Mannose	Glucose	Rhamnose	Arabinose	Xylose	Ribose
AH ent.	10.6	16.0	15.0	17.4	12.8	15.4	11.4	1.4
AH-I	13.5	13.6	13.7	16.5	25.8	8.9	7.2	0.8

TABLEAU 20 : Teneurs en monosaccharides de l'acide humique non fractionné (S2p AH entier) et de sa fraction hydrophile non retenue par l'Octyl-Sépharose CL-4B (AH I).
(Résultats exprimés en % de sucres neutres).

II.2 - DISCUSSION

D'après l'estimation des poids moléculaires, nous avons constaté que la fraction hydrophile I présentait une gamme de molécules un peu plus petites que l'ensemble des molécules présentes dans l'extrait brut, et qu'il existait une certaine relation entre l'importance de l'hydrophobicité et l'éventail des tailles moléculaires des fractions. Cette relation a déjà été remarquée par Hayase et Tsubota (1983) à propos d'extraits humiques fractionnés par ultra filtration. De même Mantoura et Riley (1975) ont mentionné à partir d'extraits humiques aquatiques que l'hydrophobicité était une caractéristique des molécules les plus volumineuses.

Les spectres infra-rouges ne nous ont pas apporté de renseignements très intéressants. Pourtant, Mac Carty *et al.* (1979) ont signalé la présence d'une bande d'absorption très nette à 1720 cm^{-1} , caractéristique de leur fraction hydrophile obtenue à partir d'un extrait brut traité sur résine XAD 8. Quant aux spectres RMN, celui de la fraction I est plutôt voisin des spectres donnés par des acides fulviques sédimentaires (Hatcher *et al.*, 1980a ; Saito et Hayano, 1981).

L'acidité et la concentration élevée en sucres de la fraction I sont bien évidemment responsables pour une bonne part de son hydrophilie. Un résultat identique a été obtenu par Takahashi *et al.* (1982) à partir d'extraits riches en lignine fractionnés sur Phényl ou Octyl-Sépharose. Comme la concentration en différents monosaccharides de cette fraction I hydrophile est un peu moins uniforme que dans l'extrait non fractionné, elle pourrait suggérer une évolution moins poussée de l'humification, mais nous ne pouvons guère nous prononcer plus, étant donné que c'est la seule fraction qui a été analysée à ce point de vue.

La chromatographie d'interactions hydrophobes représente donc une technique qui permet la séparation de fractions chimiquement distinctes à partir des acides humiques sédimentaires. La fraction qui présente la plus grande spécificité est constituée par des molécules hydrophiles non retenues par le gel. Elle est caractérisée par une teneur élevée en sucres et en groupements carboxyles, ainsi qu'une absence relative d'aromaticité. Ces éléments sont probablement responsables de l'absence d'affinité avec le gel.

Ces propriétés que nous mettons en évidence chez certains acides humiques sont également caractéristiques des acides fulviques et on pense généralement, que chez ces derniers, l'acidité élevée et la teneur en hydrates de carbone sont à l'origine de leur solubilité à pH 1,0 qui les différencie fondamentalement des acides humiques. Or notre fraction I isolée des autres molécules humiques n'est toujours pas soluble à pH acide et doit encore être considérée comme un acide humique. Il faut par conséquent essayer de retenir d'autres propriétés pour expliquer l'identité des acides fulviques, et dans cette optique leur taille plus petite que celle des acides humiques pourrait constituer l'un de ces arguments. Des recherches récentes menées en laboratoire ont cependant montré qu'à elle seule, la taille ne pouvait représenter un élément suffisant pour définir les acides fulviques (Blondeau, 1986). Nos propres résultats concernant les acides fulviques sédimentaires ont d'autre part prouvé qu'ils ne pouvaient être identifiés par leur richesse en sucres. Ces réflexions nous conduisent ainsi à suggérer que deux propriétés seulement sont susceptibles de représenter l'entité chimique distincte des acides fulviques par rapport aux acides humiques : leur taille et leur acidité.

CONCLUSIONS GENERALES

CONCLUSIONS GENERALES

Cette étude concerne une analyse des substances humiques extractibles de sédiments récents de plusieurs estuaires : CANCHE , AUTHIE et SOMME . Les échantillons prélevés pour ces analyses contiennent 0,35% à 1,75% de carbone organique total , et leur fraction argileuse est relativement riche en smectites , illites et interstratifiés . Les substances humiques extraites représentent 19 à 54% de la matière organique liée, et la libération de ces molécules dépend de l'efficacité des procédés d'extraction utilisés et de la mise en oeuvre de traitements préalables. Ces taux d'extraction qui montrent des variations selon les échantillons, ne semblent en tous cas pas être en relation directe avec la profondeur des prélèvements .

La proportion d'acides fulviques est relativement faible par rapport aux acides humiques (AF/AH compris entre 0,29 et 0,64). Les analyses élémentaires effectuées sur ces deux fractions signalent un rapport pondéral C/H de 7 à 9,5 , suggérant un faible degré de condensation des molécules . Ces analyses soulignent également la présence de teneurs relativement élevées en Azote (de l'ordre de 5% pour les acides fulviques et de 6% pour les acides humiques) et en Soufre (2 à 3% dans les deux cas.)

En ce qui concerne les groupements fonctionnels : l'acidité carboxylique est comprise dans la fourchette de valeurs couramment obtenues avec les sédiments marins alors que l'acidité totale est plus élevée ainsi que les teneurs en groupements quinones . La gamme de distribution des poids moléculaires , obtenue par filtration sur gel de dextrans ,prouve que ces molécules humiques d'origine sédimentaire sont en général plus volumineuses que celles qui sont d'origine terrestre .

En employant la spectroscopie IR et RMN du ^{13}C , certaines caractéristiques structurales ont pu être établies , notamment une prédominance des structures aliphatiques sur les structures aromatiques. L'aromaticité des acides fulviques est cependant plus prononcée que celle des acides humiques ce qui suggère une origine peut-être différente de certains précurseurs utilisés pour la formation de ces acides .

Le dosage des hydrates de carbone donne 7 à 11% de sucres totaux pour les acides humiques , et 2 à 6,5% pour les acides fulviques . La proportion des acides uroniques , sucres acides ,est relativement élevée dans le cas des acides fulviques (0,8 à 2,1%). La chromatographie en phase gazeuse permet de distinguer sept principaux monosaccharides dans les hydrolysats des deux acides : glucose, galactose, arabinose, rhamnose, fucose, xylose et mannose. Leur concentration relativement uniforme suggère l'intervention de nombreux remaniements au cours du processus de l'humification, et dans le milieu marin des réactions de type Maillard sont souvent mises en cause afin d'expliquer l'origine des substances humiques : la richesse en hydrates de carbone du phytoplancton incite effectivement à entrevoir l'existence de telles réactions .

Enfin,une nouvelle méthode de fractionnement des substances humiques reposant sur des interactions hydrophobes a été mise au point avec des gels d'Octyl-Sepharose . Cette technique permet de mettre en évidence le caractère plus hydrophobe des acides humiques sédimentaires par rapport à leurs homologues terrestres mais aussi par rapport aux mélanoidines . L'analyse des différentes sous-fractions (5) isolées montre que la plus hydrophile contient une concentration plus élevée de groupes carboxyles et d'hydrates de carbone , mais l'aromaticité des molécules et leur poids moléculaire moyen sont plus faibles. Ces propriétés sont habituellement plutôt caractéristiques des acides fulviques .

Si les fonctions des substances humiques entraînées par les eaux commencent à être connues (réactivité photochimique, transport et complexation des métaux, transport et concentration des polluants, stimulation de la croissance du phytoplancton...) , celles de l'humus sédimentaire sont plus difficiles à percevoir. Au niveau des estuaires qui sont le siège de perpétuels mouvements conduisant à l'enfouissement des substances humiques , nous sommes en présence de milieux qui favorisent la stabilisation des molécules en les protégeant du processus de minéralisation . Les molécules humiques qui jusque maintenant pouvaient toujours être considérées comme des dérivés de biopolymères, sont alors susceptibles sous cette forme stabilisée d'évoluer progressivement en géopolymères au cours de la diagenèse . Cette transformation possible des substances humiques conduisant aux hydrocarbures fossiles (via les kérogènes) n'est probablement pas un facteur à négliger lorsque le problème du devenir de ces dépôts estuariens est posé .

REFERENCES

REFERENCES

- ACHARD F.K., 1786- in STEVENSON F.J. 1982
- ADHIKARI M., MUKHOPADHYAY T.K., 1980- Infrared absorption spectra of clay-humus and metal-clay-humus complexes. *J. Indian Soc. Soil Sci.*, 28, 312-318.
- AIKEN G.R., THURMAN E.M., MALCOM R.L., 1979- Comparison of XAD macroporous resins for the concentration of fulvic acid from aqueous solution. *Anal. Chem.*, 51, 1799-1803.
- ANDERSON H.A., RUSSELL J.D., 1976- Possible relationship between soil fulvic acid and poly-maleic acid. *Nature*, 260, 597.
- ANDREUX F., 1978- Etude de la stabilisation physico-chimique et biologique d'acides humiques modèles. *Thèse Doct. Etat*, Nancy, 174p.
- ANDREWS P., 1964- Estimation of the molecular weights of proteins by Sephadex gel-filtration *Biochem. J.*, 91, 222-233.
- ARAI S., KUMADA K., 1983- The determination of 1,2-dicarboxylate structures in humic acid by fluorescein formation. *Geoderma*, 31, 151-162.
- ATHERTON N.M., CRANWELL P.A., FLOYD A.J., HAWORTH R.D., 1967- ESR spectra of humic acids. *Tetrahedron*, 23, 1653-1667.
- BAILLY J-R., 1976- Spectroscopie IR de quelques fractions d'acides humiques obtenues sur Sephadex. *Plant and Soil*, 45, 95-111.
- BELLAMY L.J., 1958- The infra-red spectra of complex molecules. *John Wiley ed.*, New York, 425 p.
- BENZING-PURDIE L., RIPMEESTER J.A., PRESTON C.M., 1983- Elucidation of the nitrogen forms in melanoidins and humic acid by Nitrogen-15 cross polarization-magic angle spinning nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Agric. Food Chem.*, 31, 913-915.
- BERZELIUS J.J., 1861- in STEVENSON F.J. 1982.
- BLONDEAU R., 1980- Fixation biologique de l'azote atmosphérique. *Vuibert*, Paris, 102p.
- BLONDEAU R., 1986- Comparison of soil humic and fulvic acids of similar molecular weight. *Org. Geochem.*, 9, 47-50.
- BONNEAU M., SOUCHIER B., 1979- Pédologie, Tome II: Constituants et propriétés du sol. *Masson et Cie*, Paris, 459p.
- BOURNERIAS M., POMEROL C., TURQUIER Y., 1981- La Manche, de Dunkerque au Havre. *Delachaux et Niestlé*, Paris, 242p.
- BRAUN D., POMAKIS T., 1974- Über die Polymerisation von Maleinsäure anhydrid mit organischen Basen. *Makromol. Chemie*, 175, 1411-1425.
- BREMNER J.M., HEINTZE S.G., MANN P.G.T., LEES H., 1946- Metallo-organic complexes in soil. *Nature*, 158, 790-791.
- BRINDLEY G.W., 1951- X-ray identification and crystal structures of clay minerals. *Min. Soc. Great Britain, Monograph*, London, 345p.
- BRINK R.H., DUBACH P., LYNCH D.L., 1960- Measurements of carbohydrates in soil hydrolyzates with anthrone. *Soil Sci.*, 89, 157-166.
- BROGDEN W.B., 1971- Characterization of freshwater and estuarine humic acids by molecular weight distribution. *Ph.D.*, Florida University, 210p.
- BRUCKERT S., 1979- Analyse des complexes organo-minéraux des sols, in BONNEAU M. et SOUCHIER B. 1979, chapitre IX, 187-209.
- BUFFLE J.A.E., 1977- Les substances humiques et leurs interactions avec les ions minéraux. *T.S.M.-l'eau*, 1, 3-10.
- CAILLEUX A., Code des couleurs des sols. *Boubée éd.*, 15p.
- CALATAYUD P., 1981- Alluvionnement argileux dans deux bassins versants du Nord de la France *D.E.A.*, Lille, 51p.
- CARTES GEOLOGIQUES B.R.G.M.
Rue XXI-6 au 1/50 000^{ème}
Carte des sédiments superficiels de la Manche au 1/500 000^{ème}

- CHAMLEY H., 1966- Guide technique du laboratoire de géologie marine. *Document interne, Station marine d'Endoume-Marseille*, 168p.
- CHEN Y., SENESI N., SCHNITZER M., 1977- Information provided on humic substances by E₄/E₆ ratios. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 41, 352-358.
- CHOUDHRY G.G., 1984- Humic substances. *Gordon and Breach Sci. Publ.*, New York, 185p.
- CHRISTMAN R.F., GJESSING E.T., 1983- Aquatic and terrestrial humic materials. *Ann Arbor Sci. New York*, 538p.
- CRONIN J.R., MORRIS R.J., 1982- The occurrence of high molecular weight humic material in recent organic-rich sediment from the namibian shelf. *Estuar., Coast. and Shelf Sci.* 15, 17-27.
- CURTIS M.A., WITT A.F., SCHRAM S.B., ROGERS L.B., 1981- Humic acid fractionation using a nearly linear pH gradient. *Anal. Chem.*, 53, 1195-1199.
- DEBYSER J., DEROO G., 1969a Facteurs contrôlant la répartition de la matière organique dans les sédiments. *Revue I.F.P.*, XXIV, 21-48.
- DEBYSER J., DEROO G., 1969b Analyse et critique des données géologiques. *Revue I.F.P.*, XXIV, 151-174.
- DEBYSER Y., GADEL F., 1977- Etude géochimique des composés humiques et des kérogènes. in *Géochimie Organique des sédiments marins profonds, ORGON I, MER de Norvège. Edition C.N.R.S.*, Paris, 247-268.
- DEBYSER Y., GADEL F., 1978- Etude des composés humiques, des kérogènes et de la fraction hydrolysable dans les sédiments. in *Géochimie Organique des sédiments marins profonds, ORGON II, Atlantique-NE Brésil. Edition C.N.R.S.*, Paris, 339-356.
- DEGENS E.T., KEMPE S., ITTEKOT V., 1984- Monitoring Carbon in world rivers. *Environment*, 26, 29-33.
- DELATTRE C., MERIAUX E., WATERLOT M., 1973- Région du Nord et Bassin de Mons. *Masson et Cie, Ed.*, Paris, 176p.
- DEREPPE J.M., MOREAUX C., DEBYSER Y., 1980- Investigation of marine and terrestrial humic substances by ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy. *Organic Geochem.*, 2, 117-124.
- DE SAUSSURE, 1804- in STEVENSON F.J. 1982.
- DESPEYROUX Y., 1985- Etude hydrosédimentaire de l'estuaire de la Canche (Pas-de-Calais). *Thèse 3^e cycle*, Lille, 188p.
- DETERMANN H., 1969- Chromatographie sur gel: filtration, perméation, tamisage moléculaire. *Masson et Cie, Paris*, 193p.
- DORMAAR J.F., 1967- Infrared spectra of humic acids from soils formed under grass or trees. *Geoderma*, 1, 37-45.
- DORMAAR J.F., METCHE M., JACQUIN F., 1970- Extraction and purification of humic acids from a rendzina Ah and a podzol Bh horizon. *Soil Biol. Biochem.*, 2, 285-293.
- DRAGUNOV S.S., 1961- in KONONOVA M.M. 1966.
- DUBOIS G., 1921- Notes géographiques et géologiques sur l'estuaire de la Canche. *Ann. Soc. Géol. Nord*, 46, 9-16.
- DUMON J.C., 1972- Résultats du fractionnement de la matière organique humifiée extraite de sédiments fluviatiles, laguno-marins et marins. *Bull. Inst. Géol. Bassin Aquitain* 12, 15-23.
- DUPONT J.P., 1975- Présence de biolithosores à *Pygospio elegans claripede* (Polychètes sédentaires) dans la baie de Somme. *C.R. Acad. Sci. Paris*, 280, 1773-1776.
- DUPUIS T., JAMBU P., 1969- Etude par spectroscopie IR des produits de l'humification en milieu hydromorphe calcique. *Sci. du Sol*, 1, 23-35.
- DUPUIS T., JAMBU P., DUPUIS J., 1970- Etude par analyse thermique différentielle des substances organiques extraites de sols hydromorphes calciques. *Ann. Agron.*, 21, 75-94.
- DUVAL J., 1973- La productivité primaire en baie de Canche. *Thèse 3^e cycle*, Lille, 91p.
- ERTEL J.R., HEDGES J.I., 1983- Bulk chemical and spectroscopic properties of marine and terrestrial humic acids, melanoidins and catechol-based synthetic polymers. in *Aquatic and terrestrial humic materials*, Edit. CHRISTMAN R.F., GJESSING E.T., *Ann Arbor Science*, 143-163.

- FELBECK G.T., 1965- Structural chemistry of soil humic substances. *Adv. Agron.*, 17, 327-368;
- FLAIG W., 1960- in FELBECK G.T. 1965.
- FLAIG W., 1970- Contribution à la connaissance de la constitution et de la synthèse des acides humiques. *A.F.E.S.*, 1, 39-72.
- FLAIG W., 1971- Some physical and chemical properties of humic substances as a basis of their characterization. *Geochemistry*, 49-67.
- FUCHS W., 1930- in STEVENSON F.J. 1982.
- GADEL F., 1980- Géochimie des composés humiques dans les dépôts superficiels. *Colloques Internat. C.N.R.S. Marseille*, 293, 45-60.
- GALLALI T., GUCKERT A., JACQUIN F., 1972- Etude des polysaccharides et de leur rôle au sein de la matière organique humifiée des sols. *Bull. E.N.S.A.I.A.*, 14, 207-219.
- GERSHANOVICH D.Y., ZASLAVSKIY Y.N., 1983- Geochemical characterization of the organic matter in bottom sediments in the upwelling zone in the southeast Pacific. *Geochem. Int.* 20, 88-96.
- GHESTEM A., 1966- Etude des prés salés de la baie de Canche en relation avec les caractères physico-chimiques, biochimiques et microbiologiques des sédiments. *Thèse Doct Etat Pharmacie*, Lille, 148p.
- GHOSH K., SCHNITZER M., 1980- Macromolecular structures of humic substances. *Soil Sci.*, 129, 266-276.
- GILLAM A.H., RILEY J.P., 1982- Microscale functional group analysis of marine and sedimentary humic substances. *Anal. Chim. Acta*, 141, 287-299.
- GJESSING E.T., 1976- Physical and chemical characteristics of aquatic humus. *Ann Arbor Sci.*, 120p.
- GONZALEZ-VILA F.J., LUDEMANN H.D., MARTIN F., 1983- ¹³C NMR structural features of soil humic acids and their methylated, hydrolysed and extracted derivatives. *Geoderma*, 31, 3-15.
- GOSSELET J.E., 1902- Galets glaciaires d'Étaples. *Ann. Soc. Géol. Nord*, 31, 297-307.
- HAIR M.E., BASSETT C.R., 1973- Dissolved and particulate humic acids in an East Coast Estuary. *Estuar. and Coast. Marine Sci.*, 1, 107-111.
- HANDA N., YANAGI K., 1969- Studies on water-extractable carbohydrates of the particulate matter from the northwest Pacific Ocean. *Marine Biology*, 4, 197-207.
- HARVEY G.R., BORAN D.A., PIOTROWICZ S.R., WEISEL C.P., 1984- Synthesis of marine humic substances from unsaturated lipids. *Nature*, 309, 244-246.
- HATCHER P.G., BREGER I.A., MATTINGLY M.A., 1980a Structural characteristics of fulvic acids from continental shelf sediments. *Nature*, 285, 560-562.
- HATCHER P.G., ROWAN R., MATTINGLY M.A., 1980b ¹H and ¹³C NMR of marine humic acids. *Organic Geochem.*, 2, 77-85.
- HATCHER P.G., MACIEL G.E., DENNIS L.W., 1981- Aliphatic structure of humic acids, a clue to their origin. *Organic Geochem.*, 3, 43-48.
- HATCHER P.G., BREGER I.A., DENNIS L.W., MACIEL G.E., 1983- Solid-state ¹³C NMR of sedimentary humic substances: new revelations on their chemical composition. in Aquatic and terrestrial humic materials, Edit. CHRISTMAN R.F., GJESSING E.T., *Ann Arbor Sci.*, 37-81.
- HAWORTH R.D., 1971- The chemical nature of humic acid. *Soil Sci.*, 111, 71-79.
- HAYANO S., SHINOZUKA N., HYAKUTAKE M., 1982- Surface active properties of marine humic acids. *yukagaku*, 31, 357-362.
- HAYASE K., TSUBOTA H., 1983- Sedimentary humic acid and fulvic acid as surface active substances. *Geochim. cosmochim. Acta*, 47, 947-952.
- HAYASE K., TSUBOTA H., 1984- Reversed-phase liquid chromatography of molecular weight-fractionated sedimentary fulvic acid. *J. Chromatography*, 295, 530-532.
- HODGE J.E., 1953- Chemistry of browning reactions in model systems. *Agric. Food Chem.*, 1, 928-943.
- HOLTZAPFFEL T., 1985- Les minéraux argileux: préparation, analyse diffractométrique et détermination. *Soc. Géol. Nord*, 136p.
- HOPPE-SEYLER F., 1889- in STEVENSON F.J. 1982.
- HUC A-Y., 1973- Contribution à l'étude de l'humus marin et de ses relations avec les kérogènes. *Thèse Doct Ing.*, Nancy, 59p.
- HUC A-Y., DURAND B., 1973- Etude des acides humiques et de l'humine de sédiments récents considérés comme précurseurs des kérogènes. *Proc. 6th Int. meeting on Organic Geochem.* 53-72.

- HUC A-Y., DURAND B., JACQUIN F., 1974- Caractérisation des acides humiques de sédiments marins récents et comparaison avec leurs homologues terrestres. *Bull. E.N.S.A.I.A.*, 16, 59-75.
- HUC A-Y., DURAND B.M., 1977- Occurrence and significance of humic acids in ancient sediments. *Fuel*, 56, 73-80.
- ISHIWATARI R., 1967- Infrared absorption band at 1540 cm^{-1} of humic acid from a recent lake sediment. *Geochim. J. Japan*, 1, 61-70.
- ITTEKOT V., DEUSER W.G., DEGENS E.T., 1984a- Seasonality in the fluxes of sugars, amino acids, and amino sugar to the deep ocean: Sargasso Sea. *Deep-Sea Res.*, 31, 1057-1069.
- ITTEKOT V., DEGENS E.T., HONJO S., 1984b- Seasonality in the fluxes of sugars, amino acids and amino sugars to the deep ocean: Panama Basin. *Deep-Sea Research*, 31, 1071-1083.
- JACKSON T.A., 1975- Humic matter in natural waters and sediments. *Soil Sci.*, 119, 56-64.
- JAMBU P., 1971- Contribution à l'étude de l'humification dans les sols hydromorphes calcaïques. *Thèse Doct Etat, Poitiers*, 192p.
- KALINOWSKI E., 1983- Les substances humiques dans les sédiments de l'estuaire de la Canche. *D.E.A., Lille*, 47p.
- KARGASHILOVA G.N., BOLTENKOVA L.I., BAIRAMOVA A., 1974- in CHOUDHRY G.G. 1984.
- KERNDORFF H., SCHNITZER M., 1979- Humic and fulvic acids as indicators of soil and water pollution. *Water, Air and Soil Pollution*, 12, 319-329.
- KOLODZIEJSKI W., FRYE J.S., MACIEL G.E., 1982- ^{13}C NMR spectrometry with cross polarization and magic-angle spinning for analysis of lodgepole pine wood. *Anal. Chem.*, 54, 1419-1424.
- KONONOVA M.M., 1966- Soil organic matter. *Pergamon Press Ltd, Oxford*, 450p.
- LAKATOS B., KORBULY J., MEISEL J., SIPOS S., 1979- Biopolymer-metal complex systems. IX Physical and chemical properties of high purity humic acids obtained from hungarian brown coals. *Acta Agro. Acad. Sci. Hungaricae*, 28, 335-364.
- LANGLET J., 1962- Contribution à l'étude du microplancton (protistes, diatomées) dans la région de Boulogne sur Mer. *D.E.S., Lille*, 43p.
- LE FOURNIER J., 1974- La sédimentation Holocène en bordure du littoral picard et sa signification dynamique. *Bull. Centre Rech. Pau S.N.P.A.*, 8, 327-349.
- LE FOURNIER J., 1980- Modern analogue of transgressive sand bodies off eastern english channel. *Bull. Centre Rech. Explor. Prod. Elf Aquitaine*, 4, 99-118.
- LEPETIT J.P., CLIQUE P.M., THELLIER P., TRANCHANT M., 1980- Catalogue sédimentologique des côtes françaises: Tome I De la baie de Somme (exclue) à la frontière belge. *Rapp. Ministère des Transports*, 144p.
- LIU D., WONG P.T.S., DUTKA B.J., 1973- Determination of carbohydrate in lake sediment by a modified phenol-sulfuric acid method. *Water Research*, 7, 741-746.
- LUCAS J., 1962- La transformation des minéraux argileux dans la sédimentation, étude sur les argiles du Trias. *Mém. Serv. Carte Géol. Alsace-Lorraine*, 23, 202p.
- MAC CARTHY P., PETERSON M.J., MALCOM R.L., THURMAN E.M., 1979- Separation of humic substances by pH gradient, desorption from a hydrophobic resin. *Anal. Chem.*, 51, 2041-2043.
- MAC FARLANE R.B., 1978- Molecular weight distribution of humic and fulvic acids of sediments from a North Florida estuary. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 42, 1579-1582.
- MACIEL G.E., KOLODZIEJSKI W.L., BERTRAN M.S., DALE B.E., 1982- ^{13}C NMR and order in cellulose. *Macromolecules*, 15, 686-687.
- MAILLARD L.C., 1912- Action des acides aminés sur les sucres; formation des mélanoidines par voie méthodique. *C.R.A.S., CLIV*, 66-68.
- MAILLARD L.C., 1916- Synthèse des matières humiques par action des acides aminés sur les sucres réducteurs. *Ann. Chimie*, V, 258-317.
- MAL S.S., SLIVKA Z.M., POVARKOVA S.S., YURKEVICH Y.A., 1982- Comparative study of melanoïdins and humic acids. *Pochvovedeniye*, 9, 66-73.
- MANTOURA R.F.C., RILEY J.P., 1975- The analytical concentration of humic substances from natural waters. *Anal. Chim. Acta*, 76, 97-106.
- MANTOURA R.F.C., WOODWARD E.M.S., 1983- Conservative behaviour of riverine dissolved organic carbon in the Severn estuary: chemical and geochemical implications. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 47, 1293-1309.
- MARTIN F., GONZALEZ-VILA F.J., LUDEMANN H.D., 1984- About the similarity between polymaleic acid and water soluble humic fractions. *Z. Naturforsch.*, 39, 244-248.

- MENNESSIER G., AUFFRET J.-P., MONCIARDINI C., 1981- Notice de la carte géologique RUE XXI-6 au 1/50 000° du B.R.G.M.
- MIKNIS F.P., SULLIVAN M., BARTUSKA V.J., MACIEL G.E., 1981- Cross polarization magic-angle spinning ^{13}C NMR spectra of coals of varying rank. *Org. Geochem.*, 3, 19-28.
- MINDERMAN G., 1979- A tentative approach to the molecular structure of humic acids: the spectral evidence for a derivation of humic acids from plant-borne esters. I: the electron paramagnetic resonance spectra. *Neth. J. Agric. Sci.*, 27, 79-91.
- MONNIER G., TURC C., LUUSINANG G., 1962- Une méthode de fractionnement densimétrique par centrifugation des matières organiques du sol. *Ann. Agron.*, 13, 55-63.
- MONTREUIL J., SPIK G., 1963- Microdosage des glucides, fascicule 1. *Doct. interne*, Lille, 146p.
- MOPPER K., 1977- Sugars and uronic acids in sediments and water from the Black Sea and North Sea with emphasis on analytical techniques. *Marine Chem.*, 5, 585-603.
- MULDER G.J., 1862- in STEVENSON F.J. 1982.
- MUNAUD A.V., GILOT E., 1977- Recherches palynologiques et datations ^{14}C dans les régions côtières du Nord de la France: phases transgressives et stabilisations dunaires flandriennes dans l'estuaire de la Canche. *Bull. Assoc. Fr. Etude Quatern.*, 52, 17-25.
- NARKIS N., REBHUN M., 1975- The mechanism of flocculation process in the presence of humic substances. *Journal A.W.W.A.*, 101-108.
- NELSON D.W., SOMMERS L.E., 1975- A rapid and accurate procedure for estimation of organic carbon in soils. *Proc. Indiana Acad. Sci.*, 84, 456-462.
- NEWMAN R.H., TATE K.R., BARRON P.F., WILSON M.A., 1980- Towards a direct, non-destructive method of characterising soil humic substances using ^{13}C NMR. *J. Soil Sci.*, 31, 623-631.
- NISSENBAUM A., KAPLAN I.R., 1972- Chemical and isotopic evidence for the formation in situ origin of marine humic substances. *Limnology and Oceanography*, 17, 570-582.
- ODEN S., 1914- Zur Kolloidchemie der Humustoffe. *Kolloid Z.*, 14, 123-130.
- ODEN S., 1919- Huminsäuren. *Kolloidchemie Beih.*, 11, 75.
- OGNER G., 1979- The ^{13}C NMR spectrum of a methylated humic acid. *Soil Biol. Biochem.*, 11, 105-108.
- OGNER G., 1980- Analysis of the carbohydrates of fulvic and humic acids as their partially methylated alditol acetates. *Geoderma*, 23, 1-10.
- OGNER G., SCHNITZER M., 1970- The occurrence of alkanes in fulvic acid, a soil humic fraction. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 34, 921-928.
- ORIOLO G.A., CURVETTO N.R., 1980- Evaluation of extractants for soil humic substances. I: isotachophoretic studies. *Plant and Soil*, 55, 353-361.
- PARSONS T.R., STEPHENS K., STRICKLAND J.D.H., 1961- On the chemical composition of eleven species of marine phytoplanktons. *J. Fish. Res. Board Can.*, 18, 1001-1016.
- PELET R., 1985- Sédimentation et évolution géologique de la matière organique. *Bull. Soc. Géol. France*, I, 1075-1086.
- PICH J., 1973- Variability of subsurface water quality of the first water-bearing horizon in the Vistula valley. *Biul. Int. Geol.*, Warsaw, 277, 339.
- PIERCE R.H., FELBECK G.T., 1972- A comparison of three methods of extracting organic matter from soils and marine sediments. *Proc. Int. Meeting Nieuwerluis Pudoc Wageningen*, 217-232.
- POCKLINGTON R., LEONARD J.D., 1979- Terrigenous organic matter in sediments of the St Lawrence estuary and the Saguenay fjord. *J. Fish. Res. Board Can.*, 36, 1250-1255.
- POUTANEN E.L., 1985- Humic and fulvic acid in marine sediments. *Finnish Mar. Res.*, 251, 1-45.
- POUTANEN E.L., MORRIS R.J., 1983a- The occurrence of high molecular weight humic compounds in the organic-rich sediments of the Peru continental shelf. *Oceanol. Acta*, 6, 21-28.
- POUTANEN E.L., MORRIS R.J., 1983b- A study of the formation of high molecular weight compounds during the decomposition of a field diatom population. *Estuar. Coastal and Shelf Sci.*, 17, 189-196.
- RASHID M.A., 1972- Quinone content of humic compounds isolated from the marine environment. *Soil Sci.*, 113, 181-188.
- RASHID M.A., 1974- Humic compounds of the sedimentary environment: their chemical nature and geochemical significance. *Geol. Surv. Can. Paper*, I, 123-132.
- RASHID M.A., 1985- Geochemistry of marine humic compounds. *Springer-Verlag Inc.*, New York, 300p.

- RASHID M.A., KING L.H., 1969- Molecular weight distribution measurements on humic and fulvic acid fractions from marine clays on the scotian shelf. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 33, 147-151.
- RASHID M.A., KING L.H., 1970- Major oxygen-containing functional groups present in humic and fulvic acid fractions isolated from contrasting marine environments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 34, 193-201.
- RIGOMIER D., DUPUIS J., JAMBU P., 1971- Les phénomènes de maturation du sol et leur incidence sur les modifications de l'activité biologique dans une séquence d'assèchement de vases marines. *Rev. Géogr. Phys. et Géol. Dyn.*, XIII, 101-122.
- RITCHIE G.P., POSNER A.M., 1982- The effect of pH and metal binding on the transport properties of humic acids. *J. Soil Sci.*, 33, 233-247.
- RUGGIERO P., SCIACOVELLI O., TESTINI C., INTERESSE F.S., 1978- Spectroscopic studies on soil organic fractions, II: IR and ^1H NMR spectra of methylated and unmethylated fulvic acids. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 42, 411-416.
- RUGGIERO P., INTERESSE F.S., CASSIDEI L., SCIACOVELLI O., 1980- ^1H NMR spectra of humic and fulvic acids and their peracetic oxidation products. *Geochim. Cosmochim. Acta* 44, 603-609.
- SAITO Y., HAYANO S., 1980- Distribution of oxygen-containing functional groups and elements in humic acids from marine sediments. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, 36, 59-67.
- SAITO Y., HAYANO S., 1981- Characterization of humic and fulvic acids isolated from marine sediments of Sagami and Suruga Bays with C-13 and Proton nuclear magnetic resonance. *J. Oceanogr. Soc. Japan*, 36, 286-292.
- SALIOT A., 1983- Biochimie de la matière organique en milieu estuarien, *Oceanis*, 9, 531-538.
- SCHNITZER M., GUPTA U.C., 1965- Determination of acidity in soil organic matter, *Soil Sci. Soc. Proc.*, 29, 274-277.
- SCHNITZER M., KHAN S.U., 1972- Humic substances in the environment. *Marcel Dekker Inc.*, New York, 327p.
- SCHNITZER M., PRESTON C.M., 1983- Effects of acid hydrolysis on the ^{13}C NMR spectra of humic substances. *Plant and Soil*, 75, 201-211.
- SHOLKOVITZ E.R., BOYLE E.A., PRICE N.B., 1978- The removal of dissolved humic acids and iron during estuarine mixing. *Earth and Planetary Sci. Letters*, 40, 130-136.
- SOHN M.L., 1985- CP MAS ^{13}C NMR spectra of estuarine sedimentary humic acids. *Org. Geochem.* 8, 203-206.
- SPIELLER M., SCHNITZER M., 1983- A comparison of the structural characteristics of poly-maleic acid and a soil fulvic acid. *J. Soil Sci.*, 34, 525-537.
- STEELING C., MIKITA M.A., THORN K.A., 1983- Magnetic resonance studies of humates and related model compounds. in CHRISTMAN and GJESSING, 83-105.
- STEVENSON F.J., 1982- Humus chemistry. *John Wiley & Sons*, 443p.
- STEVENSON F.J., GOH K.M., 1971- Infra-red spectra of humic acids and related substances. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 35, 471-483.
- STUERMER D.H., HARVEY G.R., 1974- Humic substances from seawater. *Nature*, 250, 480-481.
- STUERMER D.H., PETERS K.H., KAPLAN I.R., 1978- Source indicators of humic substances and proto-kerogen. Stable isotope ratios, elemental compositions and electron spin resonance spectra. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 42, 989-997.
- TAKAHASHI N., AZUMA J.I., KOSHIIJIMA J., 1982- Fractionation of lignin-carbohydrate complexes by hydrophobic interaction chromatography. *Carboh. Res.*, 107, 161-168.
- THENG B.K.G., WAKE R.H., POSNER A.M., 1966- The infra-red spectrum of humic acid. *Soil Sci.* 102, 70-72.
- THURMAN E.M., WERSHAW R.L., MALCOLM R.L., PINCKNEY D.J., 1982- Molecular size of aquatic humic substances. *Org. Geochem.*, 4, 27-35.
- TOLEDO A.P.P., 1980- Molecular weight determination of humic and fulvic acids of lacustrine origin. *Ciencia e cultura*, 32, 471-474.
- TSCHAPEK M., POZZO ARDIZZI G., DE BUSSETTI S.G., 1973- Wettability of humic acid and its salts. *Z. Pflanzenernaehr Bodenkd*, 135, 16-31.
- TSCHAPEK M., WASOWSKI C., TORRES SANCHEZ R.M., 1981- Humic acid as a colloidal surfactant. *Plant and Soil*, 63, 261-271.
- VAN DER WERFF A., HULS H., 1958 à 1966- Diatomeeënflora van Nederland. *Sprey Abcoude-Den Haag*, 10 fascicules.
- VAN KREVELEN D.W., 1961- Coal. *Elsevier Publ. Co*, New York, 368p.

- VASILEVSKAYA N.A., GLEBKO L.I., MAKSIMOV O.B., 1971- Determination of quinoid groups in humic acids. *Soviet Soil Sci.*, 3, 224-228.
- VASLET D., LARSONNEUR C., AUFFRET J.-P., 1978- Notice de la carte des dépôts superficiels de la Manche au 1/500 000°. *B.R.G.M. Orléans Ed.*
- WAKSMAN S.A., 1932- Humus. *Williams and Wilkins, Baltimore*, 494p.
- WALLERIUS J., 1761- in KONONOVA M.M. 1966.
- WERSHAW R.L., PINCKNEY D.J., BOOKER S.E., 1977- Chemical structure of humic acids; Part II: the molecular aggregation of some humic acid fractions in N,N-dimethylformamide. *J. Res. U.S. Geol. Surv.*, 5, 571-577.
- WILSON S.A., WEBER J.H., 1977- Electron spin resonance analysis of semiquinone free radicals of aquatic and soil fulvic and humic acid. *Anal. Lett.*, 10, 75.
- WILSON M.A., BARRON P.F., GILLAM A.H., 1981- The structure of freshwater humic substances as revealed by ¹³C NMR spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 45, 1743-1750.
- WILSON M.A., PHILP R.P., GILLAM A.H., GILBERT T.D., TATE K.R., 1983- Comparison of the structures of humic substances from aquatic and terrestrial sources by pyrolysis gas chromatography-mass spectrometry. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 47, 497-502.
- WOROBAY B.L., WEBSTER G.R., 1981- Indigenous ¹³C NMR structural features of soil humic substances. *Nature*, 292, 526-528.
- YAMAOKA Y., 1983- Carbohydrates in humic and fulvic acids from sediments of Suo sound, Japan. *Estuar. coast. and Shelf Sci.*, 17, 725-732.

LISTE DES FIGURES

Page	
7	Figure 1 : Cycle biochimique et chimique du carbone organique.
8	Figure 2 : Transport du carbone organique dans les principaux fleuves.
11	Figure 3 : Réaction de type Maillard.
12	Figure 4 : Différents modèles structuraux d'acides humiques.
14	Figure 5 : Différents modèles structuraux d'acides fulviques et concept moléculaire représentatif des substances humiques.
16	Figure 6 : Situation géographique des estuaires.
17	Figure 7 : Localisation des prélèvements dans l'estuaire de la Canche.
19	Figure 8 : Situation des prélèvements pour l'étude minéralogique dans l'estuaire de l'Authie.
20	Figure 9 : Situation des prélèvements pour l'étude minéralogique dans l'estuaire de la Somme.
26	Figure 10 : Diffractogramme type de la fraction fine.
37	Figure 11 : Diagramme (H/C, O/C) des composés humiques estuariens.
41	Figure 12 : Diagramme (H/C, N/C) des composés humiques estuariens.
43	Figure 13 : Principe de la chromatographie sur gel de dextrane.
44	Figure 14 : Filtration des acides fulviques sur gel Séphadex G75.
45	Figure 15 : Filtration des acides humiques sur gel Séphacryl S200.
46	Figure 16 : Filtration des acides humiques sur gels Séphacryl S200 et S300 en fonction de la nature de l'extractant.
48	Figure 17 : Spectre UV-visible des composés humiques.
49	Figure 18 : Spectres infrarouges des acides fulviques estuariens.
51	Figure 19 : Spectres infrarouges des acides humiques estuariens.
53	Figure 20 : Spectres infrarouges des composés humiques en fonction de la nature de l'extractant.
54	Figure 21 : Spectres RMN du ^{13}C des acides fulviques estuariens.
55	Figure 22 : Spectres RMN du ^{13}C des acides humiques estuariens.
57	Figure 23 : Spectres RMN du ^{13}C de composés humiques forestiers.
59	Figure 24 : Pic d'absorption des sucres après réaction avec le phénol en milieu sulfurique.
61	Figure 25 : Relation entre sucres totaux et acides uroniques contenus dans les composés humiques estuariens.
63	Figure 26 : Rappel de la structure des monosaccharides.

- 63 **Figure 27 :** Effet de l'hydrolyse acide sur le spectre RMN du ^{13}C d'un acide humique estuarien.
- 64 **Figure 28 :** Chromatographie sur papier des sucres neutres libérés par hydrolyse acide ,d'acides humiques.
- 66 **Figure 29 :** Chromatographie en phase gazeuse des sucres libérés par hydrolyse acide de composés humiques estuariens.
- 70 **Figure 30 :** Paramètres de la chromatographie d'interaction hydrophobe.
- 73 **Figure 31 :** Efficacité de l'adsorption des molécules humiques sur l'Octyl-Sépharose CL-4B en fonction de la concentration en NaCl.
- 74 **Figure 32 :** Elution sur l'Octyl-Sépharose CL-4B des acides humiques d'origine différente.
- 75 **Figure 33 :** Elution sur l'Octyl-Sépharose CL-4B des acides fulviques d'origine différente et de l'acide polymaléique.
- 78 **Figure 34 :** Fractionnement final d'un acide humique estuarien sur l'Octyl-Sépharose CL-4B.
- 79 **Figure 35 :** Filtration sur gel Séphacryl S400 des différentes fractions.
- 81 **Figure 36 :** Spectres infrarouges des différentes fractions.
- 82 **Figure 37 :** Spectres RMN du ^{13}C des différentes fractions.

LISTE DES TABLEAUX

- 15 **Tableau 1** : Travaux antérieurs relatifs à l'analyse des substances humiques d'estuaires et de baies;
- 22 **Tableau 2** : Caractéristiques des sédiments estuariens prélevés.
- 24 **Tableau 3** : Analyses granulométriques des sédiments.
- 27 **Tableau 4** : Analyses minéralogiques de la fraction argileuse des sédiments (< 2 μm).
- 29 **Tableau 5** : Fraction légère extractible avec le mélange alcool éthylique-bromoforme.
- 30 **Tableau 6** : Répartition des constituants figurés dans la fraction légère.
- 31 **Tableau 7** : Bilan humique sans et avec prétraitement à l'acide chlorhydrique.
- 33 **Tableau 8** : Bilan humique à partir de l'ensemble des échantillons sédimentaires.
- 34 **Tableau 9** : Evolution du rapport AF/AH en fonction des extractions successives.
- 36 **Tableau 10** : Composition élémentaire des fractions fulviques et humiques sédimentaires.
- 38 **Tableau 11** : Composition élémentaire des fractions fulviques et humiques selon le type d'extraction.
- 41 **Tableau 12** : Teneurs en groupements fonctionnels des fractions fulviques et humiques.
- 42 **Tableau 13** : Teneurs en groupements fonctionnels selon la modalité d'extraction.
- 50 **Tableau 14** : Relation entre les bandes d'absorption I.R. et la nature présumée des groupements chimiques présents.
- 56 **Tableau 15** : Importance relative des différents types de carbone en RMN.
- 60 **Tableau 16** : Sucres totaux et acides uroniques dans les substances humiques.
- 67 **Tableau 17** : Teneurs en monosaccharides des acides fulviques et humiques sédimentaires ou forestiers.
- 72 **Tableau 18** : Effet de la nature des ions sur les interactions hydrophobes.
- 83 **Tableau 19** : Composition élémentaire et teneur en groupements fonctionnels de l'acide humique non fractionné et des différentes fractions séparées sur l'Octyl-Sépharose CL-4B.
- 84 **Tableau 20** : Teneurs en monosaccharides de l'acide humique non fractionné et de sa fraction hydrophile non retenue sur l'Octyl-Sépharose CL-4B.

LISTE DES PUBLICATIONS

Cette thèse a fait l'objet de trois publications:

KALINOWSKI E. , BLONDEAU R. , 1985

Caractéristiques des composés humiques de sédiments estuariens récents.
Vie Marine, 7 , 61 - 68 .

BLONDEAU R. , KALINOWSKI E. , 1986

Fractionation of humic substances by hydrophobic interaction chromatography.
Journal of Chromatography, 351 , 585-589 .

KALINOWSKI E. ,BLONDEAU R. , 1987

Characterization of sedimentary humic acids fractionated by hydrophobic interaction chromatography.
Environmental Science and Technology , soumis à publication.

TABLE DES MATIERES

ETUDE DES COMPOSES HUMIQUES DE SEDIMENTS ESTUARIENS RECENTS

AVANT-PROPOS 1

SOMMAIRE 2

ABSTRACT 3

ZUSAMMENFASSUNG 4

INTRODUCTION 5

PARTIE I : GENERALITES SUR LE COMPLEXE HUMIQUE TERRESTRE ET MARIN 7

I CYCLE DU CARBONE ORGANIQUE 7

II APPROCHE HISTORIQUE ET CONNAISSANCES ACTUELLES RELATIVES
AUX SUBSTANCES HUMIQUES 9

II.1 Le concept de l'humus 9

II.2 La formation des substances humiques 10

II.3 Les modèles structuraux 11

II.3.1 Modèle de Fuchs (1930) 11

II.3.2 Modèle de Flaig (1960) 11

II.3.3 Modèle de Dragunov (1961) 12

II.3.4 Modèle de Felbeck (1965) 12

II.3.5 Modèles de Schnitzer et Khan (1972) et de Buffle (1977) 13

II.3.6 Conception de Haworth (1971) 13

II.3.7 Modèle de Wershaw (1977) 14

III TRAVAUX ANTERIEURS RELATIFS AUX COMPOSES HUMIQUES
ESTUARIENS 14

PARTIE II : CARACTERISTIQUES DES SEDIMENTS ETUDIES 16

I SITES ETUDIES 16

I.1 La Canche 16

I.2 L'Authie 18

I.3 La Somme 20

II CARACTERISTIQUES SEDIMENTOLOGIQUES 22

II.1 Prélèvements 22

II.2 Carbone organique total 22

II.3 Carbonates 23

III GRANULOMETRIE DES SEDIMENTS 23

III.1 Méthodes 23

III.2 Résultats 24



IV MINÉRALOGIE DES ARGILES DE LA FRACTION < 2 μm 25

IV.1 Méthodes 25

IV.2 Résultats 26

PARTIE III : ANALYSE DES SUBSTANCES HUMIQUES EXTRACTIBLES 28**I EXTRACTION DES MATIÈRES ORGANIQUES ET FRACTIONNEMENT 28**

I.1 Traitements préalables 28

I.1.1 Techniques 28

I.1.2 Résultats et discussion 29

I.2 Extraction des substances humiques 31

I.2.1 Principe 31

I.2.2 Méthodes d'extraction et fractionnement 31

I.2.3 Résultats et discussion 32

II CARACTÉRISTIQUES DES SUBSTANCES HUMIQUES 34

II.1 Techniques de purification 34

II.1.1 Cas des acides humiques 34

II.1.2 Cas des acides fulviques 35

II.2 Analyse élémentaire 35

II.2.1 Technique 35

II.2.2 Résultats 35

II.2.3 Interprétation et discussion 39

II.3 Groupements fonctionnels 39

II.3.1 Techniques de dosage 40

II.3.2 Résultats et discussion 40

II.4 Estimation des poids moléculaires 43

II.4.1 Principe et méthodes 43

II.4.2 Résultats 44

II.4.3 Discussion 47

II.5 Analyses spectroscopiques 47

II.5.1 Principe et méthodes 47

II.5.2 Résultats 48

II.5.3 Discussion 57

PARTIE IV : ETUDE DES SUCRES PRESENTS DANS LES SUBSTANCES HUMIQUES 59

- I ANALYSES QUANTITATIVES 59
- II IDENTIFICATION DES MONOSACCHARIDES 62
 - II.1 Hydrolyse acide 62
 - II.2 Chromatographie papier 64
 - II.3 Chromatographie en phase gazeuse 65
 - II.3.1 Méthodes 65
 - II.3.2 Résultats et discussion 65

PARTIE V : FRACTIONNEMENT DES SUBSTANCES HUMIQUES 70

- I MISE AU POINT DE LA TECHNIQUE DE FRACTIONNEMENT 71
 - I.1 Choix des échantillons 71
 - I.2 Méthode de fractionnement 72
 - I.3 Résultats 74
 - I.4 Discussion 77
- II ETUDES PHYSICO-CHIMIQUES DES DIFFERENTES FRACTIONS ISOLEES 77
 - II.1 Résultats des analyses 79
 - II.1.1 Etude de la polydispersion moléculaire 79
 - II.1.2 Etude des spectres infra-rouges 80
 - II.1.3 Etude des spectres RMN du carbone 13 80
 - II.1.4 Composition élémentaire et teneur en groupements fonctionnels 80
 - II.1.5 Teneurs en sucres 83
 - II.2 Discussion 84

CONCLUSIONS GENERALES 86

REFERENCES 88

LISTE DES FIGURES 95

LISTE DES TABLEAUX 97

LISTE DES PUBLICATIONS 98

RESUME

Les composés humiques représentent une forme de réserve de carbone organique qui est très largement distribuée dans les horizons supérieurs des sols au sein desquels ils s'édifient à partir de précurseurs divers issus de la décomposition de la matière vivante, mettant en oeuvre des réactions complexes de polymérisation et de condensation.

Ces composés organiques stables sont également véhiculés par les eaux douces ou marines et peuvent se déposer dans les sédiments. Ce travail est consacré à l'analyse des composés humiques extractibles de sédiments superficiels de plusieurs estuaires de la Manche orientale, dans le but de mieux connaître leur composition, leur structure, leur diversité et leur origine continentale ou marine.

Les composés extraits de prélèvements représentent 19 à 53 % du carbone organique total et sont plus riches en acides humiques (non solubles à pH acide) qu'en acides fulviques (solubles à pH acide) : le rapport AF/AH est compris entre 0,29 et 0,64. De nombreuses propriétés présentées par ces acides humiques comme la teneur élevée en azote et en soufre, le poids moléculaire important, les particularités de leurs spectres IR et RMN du ^{13}C concourent à les considérer comme des produits d'origine spécifiquement marine. L'analyse quantitative des différents monosaccharides libérés par leur hydrolyse suggère en outre que les précurseurs de ces composés ont subi de nombreuses modifications avant de se condenser sous forme organo-minérale stable et résistante à la biodégradation. Les acides fulviques montrent par contre une aromaticité relativement élevée qui pourrait suggérer une participation de précurseurs d'origine terrestre dans le processus conduisant à leur formation.

Une technique de fractionnement de ces substances humiques par chromatographie d'interaction hydrophobe a permis leur séparation en plusieurs familles moléculaires chimiquement distinctes, et a révélé que les acides humiques et fulviques sédimentaires sont plus hydrophobes que leurs homologues terrestres.

Mots-clefs : Sédiment - Estuaire - Matière organique - Composés humiques - Acides fulviques - Hydrophobicité .

