

Étude structurale par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire du proton de substances humiques de diverses origines

Résonance magnétique nucléaire
Proton
Substances humiques
Nuclear magnetic resonance
Proton
Humic substances

François GADEL ^a, Gilbert TORRI ^b

^a Laboratoire de Sédimentologie et Géochimie Marines,
Université de Perpignan, avenue de Villeneuve, 66025 Perpignan, France,

^b Laboratoire de Chimie Marine, Université de Toulon et du Var,
boulevard des Armaris, la Giponne, 83100 Toulon, France.

Reçu le 12/11/86, révisé le 1/10/87, accepté le 7/10/87.

RÉSUMÉ

L'analyse par spectrométrie de résonance magnétique nucléaire du proton de substances humiques issues de milieux très diversifiés rend compte de l'influence de trois facteurs majeurs: l'origine du matériel, les conditions de milieu et la diagenèse.

Les acides humiques extraits d'algues présentent toujours une aliphaticité supérieure à ceux issus de phanérogame, de caractère plus aromatique. Par ailleurs, les premiers montrent une grande abondance de groupements méthyles, indice d'une forte ramification des chaînes aliphatiques. Les polysaccharides semblent plus abondants dans les seconds, en rapport avec la plus grande résistance biochimique du complexe lignocellulosique. Le phénomène est encore plus accentué dans les acides fulviques fortement enrichis en hydrates de carbone. Aussi, les caractères des composés humiques issus de dépôts variés dépendent de la prédominance plus ou moins marquée des populations algaires ou phanérogamiques dans le milieu.

Comparativement aux dépôts lagunaires et marins, les alluvions de fleuves africains sont enrichis en substances humiques de caractère aromatique. La ramification des chaînes aliphatiques est faible, les polysaccharides abondants, plus encore dans les acides fulviques.

Le caractère oxygéné du milieu se marque par une aliphaticité moindre comparative-ment aux milieux réduits. La ramification des chaînes aliphatiques semble également moindre. Les teneurs en polysaccharides sont légèrement affectées. L'accentuation des effets d'oxygénation accroît encore ces différences.

Avec l'enfouissement, les effets de la diagenèse précoce se traduisent par une baisse de l'aliphaticité et du caractère ramifié des chaînes carbonées. Si les polysaccharides ne semblent pas trop affectés par ces processus précoces, l'évolution à l'échelle géologique réduit considérablement leurs teneurs comme l'aliphaticité.

Oceanol. Acta, 1988, 11, 1, 13-23.

ABSTRACT

Structural analysis by proton nuclear magnetic resonance of humic substances from various environments

The analysis by ¹H nuclear magnetic resonance of humic substances from different environments sheds light on the influence of three factors: the origin of organic materials, the environmental conditions and diagenesis.

Humic acids from algae always exhibit an aliphaticity higher than those extracted from phanerogams with an aromatic character. Otherwise, the former display a great abundance of methyl groups, an indication of a high branching of aliphatic chains. The polysaccharides appear more abundant in the latter, corresponding to higher

biochemical resistance of the ligno-cellulosic complex. This richness is still highly marked in fulvic acids enriched in carbohydrates. The nature of humic compounds from deposits results from the more or less high predominance of algal or phanerogamic populations.

Compared to lagoonal and marine environments, the African river deposits are enriched in humic substances with an aromatic character. The branching of aliphatic chains is low, polysaccharides are abundant, and much more in fulvic acids.

The oxidizing character of the environment leads to a lower aliphaticity compared to reducing conditions. The branching of aliphatic chains is weak. The increase of oxidizing conditions accentuates these differences.

With burial, the early diagenetic effects are emphasized by a decrease of the aliphaticity and the branching of the aliphatic chains. The polysaccharides do not seem to be much sensitive to these early processes. However, the evolution on the geological scale greatly lowers their contents as well as the aliphaticity of humic compounds.

Oceanol. Acta, 1988, 11, 1, 13-23.

INTRODUCTION

Nombreuses sont les études réalisées sur les composés humiques aussi bien en milieu terrestre que dans le domaine aquatique, fluvial et marin (Degens, 1965; Bordovskiy, 1965; Rashid *et al.*, 1970; Schnitzer, Khan, 1972). Ces substances dérivent des processus de condensation de produits issus de la dégradation de plantes, d'animaux et de la biomasse microbienne (Haider *et al.*, 1975). Elles constituent en fait, aussi bien dans les sols que dans les eaux et les dépôts marins et lagunaires, un important apport énergétique pour l'activité biologique (Sieburth, Jensen, 1968) et représentent également des vecteurs actifs dans le déplacement et la fixation des éléments métalliques (Manskaya, Drosdova, 1968; Rashid, King, 1970).

L'utilisation de la résonance magnétique nucléaire ¹³C et ¹H permet de préciser la contribution des fragments aliphatiques et aromatiques dans la structure chimique de substances humiques d'origines variées (Neyroud, Schnitzer, 1974; Stuermer, Payne, 1976; Wilson, Goh,

1977; Ruggiero *et al.*, 1979; Hatcher *et al.*, 1980; Dereppe *et al.*, 1980).

Bien que les structures aromatiques, d'après certains auteurs (Wilson, Goh, 1977), aient été considérées comme négligeables dans la construction des composés humiques, les recherches récentes ont bien montré qu'elles en représentaient des constituants significatifs (Ruggiero *et al.*, 1979).

Nous avons choisi d'étudier des composés humiques sélectionnés par résonance magnétique nucléaire du proton. En effet, cette technique, par la rapidité d'exécution des spectres, permet d'obtenir, lorsque l'on doit analyser de nombreux échantillons, des informations d'ordre statistique (Lenz *et al.*, 1977; Sciacovelli *et al.*, 1977; Harvey *et al.*, 1983). L'édifice moléculaire n'est pas dégradé lors de l'expérimentation, mais les conditions opératoires de dissolution (mélange D₂O-NaOD) ne permettent de détecter que les signaux des protons non échangeables, c'est-à-dire les protons appartenant aux enchaînements aliphatiques, supportés par des cycles aromatiques diversement substitués ou adjacents à des groupements fonctionnels, attracteurs ou donneurs d'électrons (tab. 1). Néanmoins, l'essentiel de la

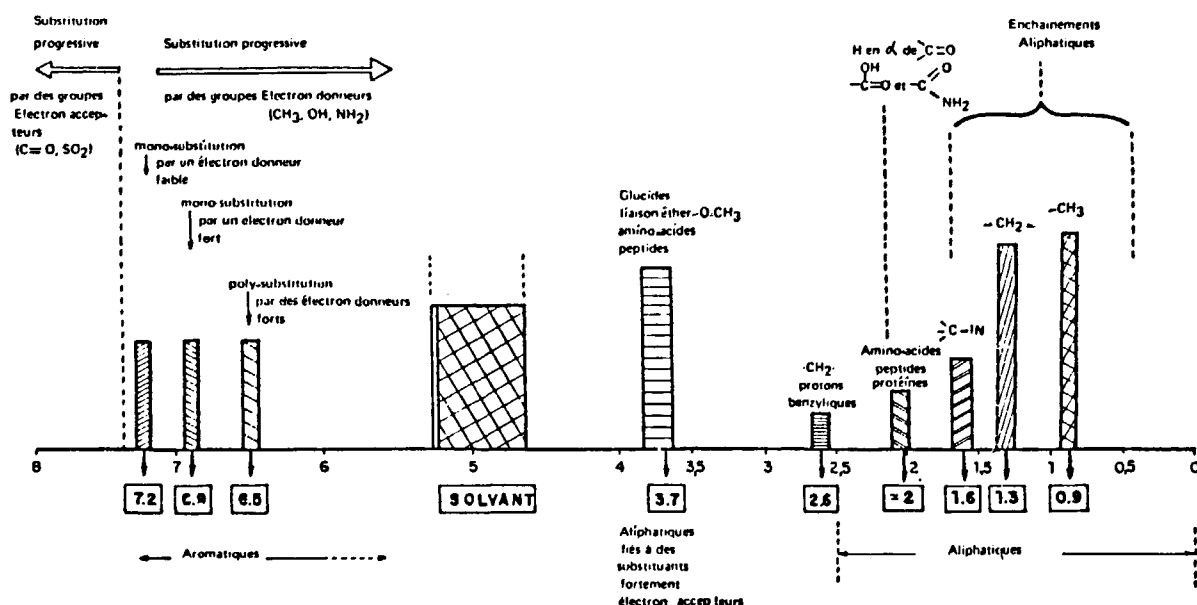


Tableau 1 Attribution des déplacements chimiques des protons de substances humiques exprimées en ppm (référence TMS) Chemical shifts of protons in humic substances (in ppm downfield from TMS).

molécule est décrit (Wilson, 1981) et la contribution relative de chaque site protoné peut être évaluée par dosage.

Le but de cette étude était de connaître, grâce à la RMN H^1 , à la lumière de certains de leurs caractères chimiques étudiés grâce à d'autres techniques analytiques, la nature des composés humiques, acides humiques principalement, extraits de végétaux aquatiques ou de dépôts marins, lagunaires et fluviaux. Par ailleurs, disposant de données sédimentologiques et géochimiques, il était intéressant de préciser le complément d'informations apporté par la RMN H^1 sur la nature des substances humiques, ceci suivant plusieurs orientations majeures :

- précisions sur l'origine des composés humiques en fonction des deux pôles majeurs que constituent, d'une part le milieu terrestre riche en végétaux supérieurs ligneux, donc sources de substances aromatiques, d'autre part le domaine aquatique marin, où évoluent des organismes riches en substances azotées et aliphatiques (Hatcher *et al.*, 1980);
- informations sur les effets des conditions de milieu au cours de la sédimentation;
- renseignements enfin sur les effets de la diagenèse précoce avec l'enfouissement.

MATÉRIEL ET MÉTHODES D'ÉTUDE

L'étude a porté sur une série de substances humiques – acides humiques essentiellement – extraites de végétaux aquatiques en cours de dégradation (phanérogames et algues), de tourbes, de matériaux en suspension et de sédiments provenant d'une gamme de milieux écologiques très diversifiés :

- domaines marin, lagunaire et fluvial de la zone méditerranéenne;
- domaines marin, lacustre et lagunaire de la zone tempérée;
- domaines marin et lacustre de la zone subarctique;
- domaines lacustre, fluvial et fluvio-marin de la zone intertropicale.

La localisation des différents types de prélèvements est indiquée sur la figure 1.

Les composés humiques sont extraits suivant une technique décrite précédemment (Debyser *et al.*, 1977) : Après décarbonatation avec HCL 2 N et lavage à l'eau distillée, les échantillons sont soumis à une extraction avec un mélange NaOH 0,1 N- $Na_4P_2O_7$ 1%. Les extraits alcalins, après ajout de NaCl et centrifugations successives afin d'éliminer les floccules argileux, sont amenés à pH 2 afin de séparer les acides fulviques, solubles, des acides humiques, précipités. La méthode de purification comprend une dialyse prolongée contre de l'eau distillée, suivie d'un passage sur résine échangeuse H^+ . Les échantillons purifiés sous forme acide sont ensuite lyophilisés. Ils sont soumis à l'analyse élémentaire et à l'analyse en spectroscopie infrarouge avant d'en effectuer l'étude en RMN H^1 .

Les spectres de RMN du proton sont enregistrés à 80 MHz sur un appareil Bruker WP80 opérant par transformée de Fourier. Les déplacements chimiques sont mesurés par rapport au TMS pris comme référence externe (tab. 1). Les échantillons (environ 10 mg) sont dissous dans 0,3 ml d'un mélange D_2O -NaOD 0,1 N sous atmosphère inerte. L'angle de pulse est de 45° et le nombre d'accumulations est d'environ 1500. Les pourcentages relatifs des groupements fonctionnels sont mesurés par pesée des aires des signaux étalés. Les résultats sont ensuite analysés à partir de la connaissance sédimentologique et géochimique que nous avons des milieux de prélèvement.

Notons que, bien qu'il puisse exister un échange hydrogène-deutérium se traduisant par une altération de la figure spectrale (Ruggiero *et al.*, 1980) et une sous-estimation du taux d'aromaticité pouvant atteindre 10%, cet échange isotopique se limite à un faible type de protons phénoliques (Massicot, Zonszajn, 1967). Ces réserves étant formulées, la mesure de l'intensité du signal situé entre 5,3 et 9 ppm demeure une bonne estimation de la contribution aromatique à l'édifice moléculaire humique (Dereppe *et al.*, 1980).

RÉSULTATS ET DISCUSSION

L'étude, principalement orientée vers la reconnaissance des caractères liés à l'origine du matériel organique, à

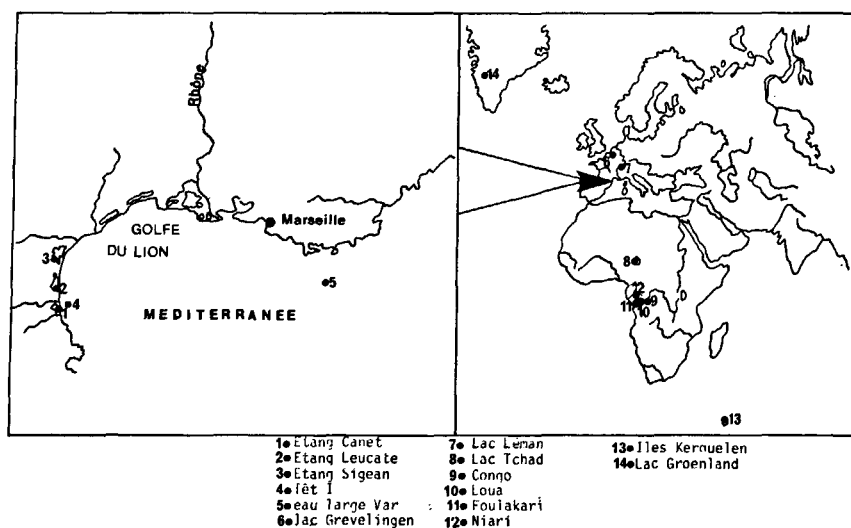


Figure 1
Situation des divers prélèvements.
Location of samples.

Tableau 2

Paramètres RMN ^1H des substances humiques étudiées. Les déplacements chimiques sont donnés en ppm par rapport au TMS pris comme référence.

^1H NMR parameters of humic substances studied (chemical shifts in ppm downfield from TMS).

Déplacements chimiques ppm		Attribution
0,6	1,0	Groupes méthyles terminaux des enchaînements méthyléniques
1,0	1,7	-CH ₂ - des enchaînements méthyléniques et groupes méthyles
1,7	3,3	Protons liés à des carbones adjacents aux groupes carboxyles, carbonyles, amides et aux groupes benzyliques
3,3	4,6	Protons en α de carbones liés à des atomes d'oxygène polysaccharides et éthers
5,3	9	Protons aromatiques, hétéroaromatiques ou oléphiniques

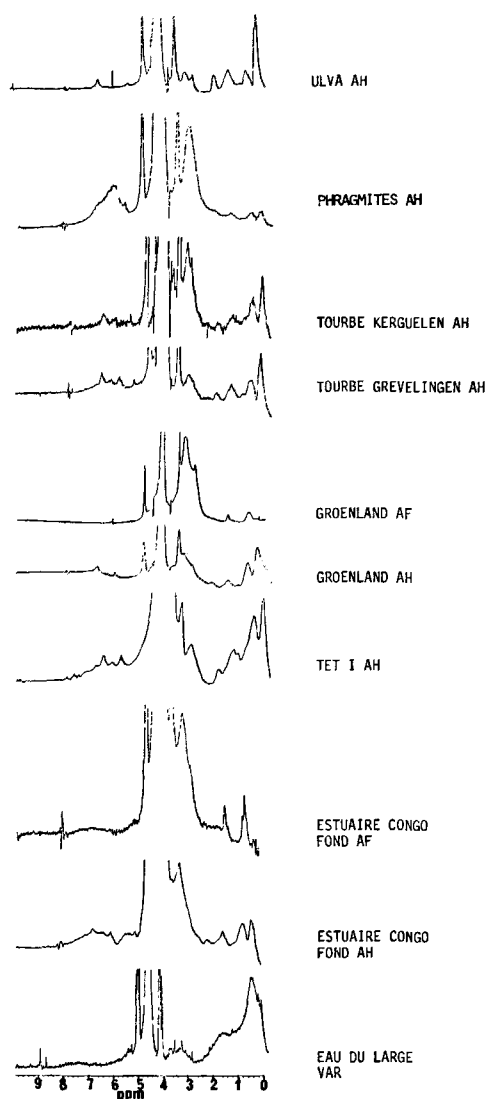


Figure 2

Spectres de résonance magnétique nucléaire du proton d'acides fulviques et humiques: influence de l'origine du matériel organique.

^1H nuclear magnetic resonance spectra of fulvic and humic acids: influence of the organic matter origin.

l'influence des conditions de milieu et de la diagenèse, s'est intéressée aux déplacements chimiques des protons dans les substances humiques exprimées en ppm. Dans

le tableau 2 sont précisées les attributions des divers déplacements observés.

Influence de l'origine du matériel organique

Une des questions qui se pose au préalable dans l'étude des composés humiques est de savoir quelles sont leurs propriétés physicochimiques qui résultent, en milieu aquatique, de l'origine du matériel organique initial.

Dans les extraits humiques de végétaux en cours de dégradation (acides humiques), des différences significatives apparaissent en effet suivant la nature algale ou phanérogamique du matériel. Dans le cas des algues, l'aliphaticité est généralement prédominante (de 70 à 90%), avec une valeur maximale pour *Ulva lactuca* (fig. 2), montrant par là l'importance des groupements méthyles et des enchaînements polyméthyléniques probablement issus des lipides membranaires (Harvey *et al.*, 1983). De ce fait, l'aromaticité ne représente que 10 à 30% de l'ensemble, et le rapport aliphaticité/aromaticité varie de 2 à 10 (tab. 3). L'aromaticité correspondrait principalement aux protons aromatiques des cycles des acides aminés et des divers pigments présents.

Les polysaccharides présentent des valeurs moyennes (de 10 à 27%), relativement faibles pour certains extraits. Ces proportions, variables, peuvent être fonction du degré d'évolution des débris végétaux. Les pourcentages de protons correspondant aux protéines des substances d'origine algale représentent 10 à 16% du total. Toutefois, dans le cas de matériel d'origine continentale, la part à rapporter aux protons portés par les carbones en α des groupes acides ou esters appartenant aux macromolécules humiques ainsi que celle concernant les groupements CH₃, CH₂ et CH en α d'un carbone aromatique, ne sont pas négligeables.

En terme d'aliphaticité, la forte teneur en groupements CH₃, comparativement aux CH₂+CH traduit une ramification importante des chaînes aliphatiques, nombreuses et courtes (Hatcher *et al.*, 1980).

Au contraire, les extraits humiques de phanérogames aquatiques (*Phragmites communis*, *Posidonia oceanica*) en cours de dégradation offrent des valeurs d'aromaticité bien supérieures (fig. 2); les rapports aliphaticité/aromaticité sont de l'ordre de 1 à 2. Pour ce type de végétaux, les polysaccharides représentent des pourcentages relativement forts comparativement aux extraits d'algues, qui peuvent s'expliquer par leur participation aux tissus de soutien dans ce type de végétaux (complexe ligno-cellulosique; Painter, 1983), offrant de ce fait une résistance biochimique plus grande que les membranes algales. Notons également une ramification moindre des chaînes aliphatiques (groupements CH₃, moins abondants; tab. 3).

Les données apportées par la spectrométrie de RMN s'accordent tout-à-fait avec les résultats des analyses élémentaires et infrarouge. Comme les différences de nature chimique des composés humiques proviennent de la présence, dans les phanérogames, de lignine ou de produits phénoliques apparentés et, au contraire, de composés azotés et aliphatiques dans les algues, il s'ensuit que les acides humiques issus d'algues sont riches en hydrogène et en azote, comparativement à ceux provenant de phanérogames, plus aromatiques, donc plus

Tableau 3

Pourcentages respectifs des fractions aliphatiques et aromatiques dans les acides humiques (AH) et les acides fulviques (AF) extraits de végétaux, de dépôts et suspensions lagunaires, marins, lacustres et estuariens: influence de l'origine du matériel organique.

Percentages of aliphatic and aromatic protons with respect to the total amount of protons present in fulvic acids (AF) and humic acids (AH) from aquatic plants, marine, lagoonal, lacustrine and estuarine deposits and suspended material: influence of the organic matter origin.

Échantillon	% CH ₃	% CH ₂ +CH	% H α	% O-CH ₃	% polysaccharides	% Σ aliphatiques	% Σ aromatiques	Σ aliphatiques	
								Σ aromatiques	Σ aromatiques
Ulva AH	38	12	16	8	17	91	9	10,1	
Chaeto. AH	28	15	11	4	10	68	32	2,1	
Entero. AH	25	15	10	3	27	80	20	4	
Phrag. AH	4	5	2	1	48	60	40	1,5	
Posid. AH	16	19	7	3	20	65	35	1,8	
Débris végétaux AH	8	10	6	1	41	66	34	1,9	
Tourbe AH									
Acoena	11	18	0	1	28	58	42	1,4	
Tourbe AH									
Grevelingen	22	14	9	5	19	69	31	2,2	
Grevelingen AH	15	13	12	4	38	82	18	4,6	
Chenal									
Grevelingen AH	31	14	13	6	21	85	15	5,7	
Dôme									
Lac bleu AH									
Groenland	25	14	6	3	38	86	14	6,1	
Lac bleu AF									
Groenland	0	5	3	0	92	100	0	0	
Fjord AH									
Kerguelen	19	19	15	4	32	89	11	8,1	
Macrocystis AH	18	24	4	3	37	86	14	6,1	
Lac Léman AH	34	29	6	3	15	87	13	6,7	
Suspension Têt 1 AH	25	19	12	4	18	78	22	3,5	
Estuaire Congo AF surface	2	7	4	0	76	89	11	7,7	
Estuaire Congo AH surface	8	7	3	1	48	66	34	2	
Estuaire Congo AF fond	0	19	8	4	58	70	10	6,8	
Estuaire Congo AH fond	12	10	1	6	34	63	37	1,7	
Eau du large (Var)	22	40	23	-	10	95	5	19	

carbonés [rapports atomiques H/C et N/C respectivement de l'ordre de 1,5 et 0,17 pour les algues et de 1,2 et 0,04 pour les phanérogames (Gadel, 1980; fig. 3)].

En spectrométrie infrarouge les bandes amides I et II respectivement à 1 660 et 1 540 cm⁻¹, sont intenses pour les humus d'algues comme les bandes à 2 920 et 2 850 cm⁻¹ correspondant aux groupements aliphatiques saturés (fig. 4). Ces bandes sont considérablement réduites dans le cas des extraits provenant de phanérogames, au profit des bandes aromatiques correspondant aux liaisons C=C (1 630 cm⁻¹) et carboxyliques (1 710 cm⁻¹).

L'analyse de dépôts où prédomine l'une ou l'autre de ces deux classes de végétaux rend également compte de telles différences (tab. 3).

Les domaines marins côtiers représentent, à ce titre, un bon exemple de milieux où se trouvent associés des matières organiques purement autochtones, marines, de caractère azoté et aliphatique, et les apports fluviaux organiques de caractère aromatique. Suivant la situation géographique et la saison, les influences continentales ou marines peuvent prédominer.

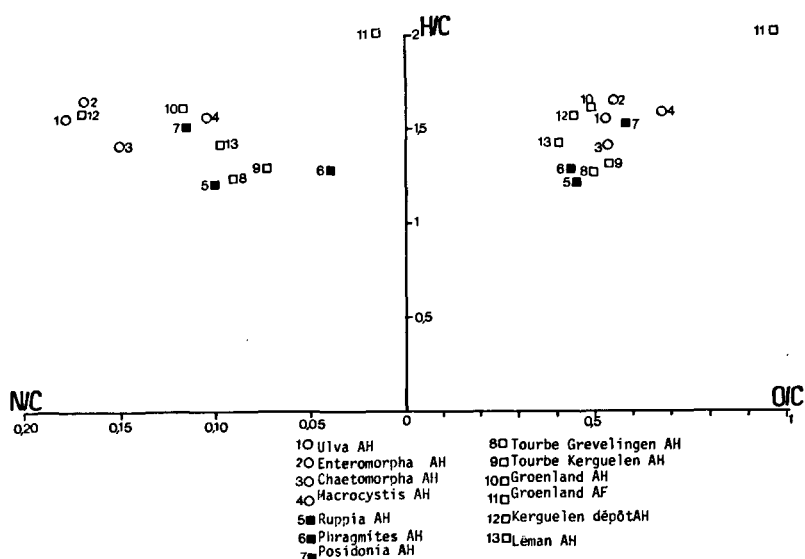


Figure 3

Valeurs des rapports atomiques H/C, N/C et O/C d'acides fulviques et humiques: influence de l'origine du matériel organique.

Atomic ratios H/C, N/C and O/C of fulvic and humic acids: influence of the organic matter origin.

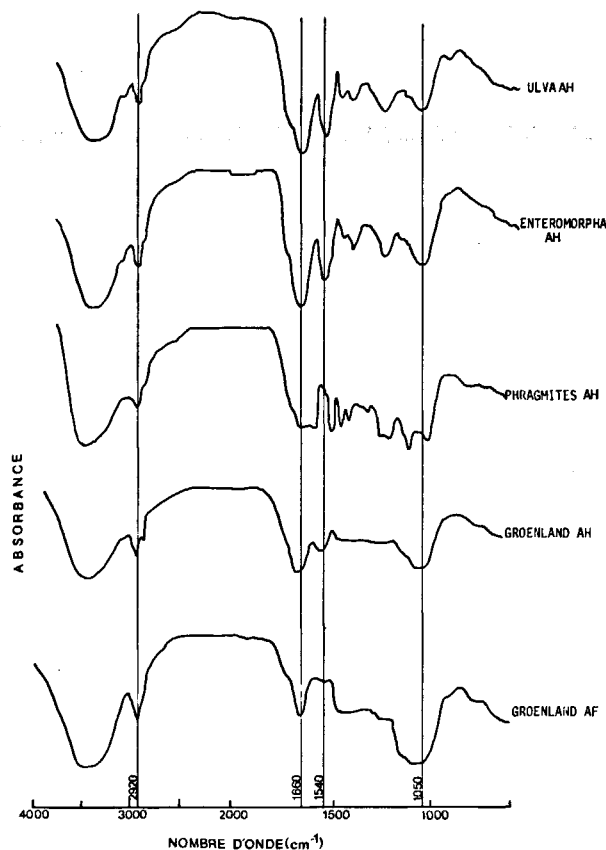


Figure 4
Spectres infrarouges d'acides humiques: influence de l'origine du matériel organique, des conditions de milieu et de la diagenèse.

Infrared spectra of humic acids: influence of the organic matter origin, environmental conditions and diagenesis.

L'échantillon de suspension Têt 1, bien que situé dans la zone d'influence d'un cours d'eau local roussillonnais (la Têt), présente à l'époque du prélèvement, en dehors des périodes de crue, un caractère typiquement marin: forte aliphaticité (rapport aliphaticité/aromaticité: 3,5), ramification des chaînes aliphatiques élevée (fig. 2; tab. 3).

Au contraire, les acides fulviques et humiques extraits des suspensions, prélevées dans l'estuaire du Congo en surface et à proximité du fond, présentent des caractères physicochimiques propres aux végétaux supérieurs qui constituent l'essentiel du matériel organique apporté par le fleuve.

L'aliphaticité des acides fulviques n'atteint pas des valeurs extrêmes (70 à 89%; fig. 2). Les polysaccharides sont très abondants (de 58 à 76%). Les acides humiques présentent un caractère aromatique plus accusé, de l'ordre de 35%. Il faut remarquer une ramification dans l'ensemble réduite des chaînes aliphatiques, marquée par une prédominance ou des valeurs égales des groupements $\text{CH}_2 + \text{CH}$ par rapport aux groupements CH_3 (fig. 2, tab. 3).

Les différences observées entre les suspensions de surface et celles de fond soulignent la plus grande fraîcheur du matériel en surface, comparativement à la matière organique beaucoup plus humifiée en profondeur qui présente des caractères proches de celle qui sédimente sur le plateau continental.

Un échantillon de matière organique extraite de l'eau de mer du large (Var, France) présente une très forte

aliphaticité (95%) où prédominent les structures lipidiques (CH_2 : 40%) et protéiques (23%).

Dans le domaine littoral, pour des tourbes formées à partir de matériel soit à prédominance algale (tourbe du lac Grevelingen, sud de la Hollande), soit à prédominance phanérogamique (tourbe à Acoena, Iles Kerguelen), on retrouve des différences du même ordre (fig. 2; tab. 3): plus grande aliphaticité pour la tourbe algale hollandaise (69 contre 58%), associée à une ramification plus grande des chaînes aliphatiques. Les polysaccharides sont plus abondants dans la tourbe issue de phanérogames (28 contre 19%), soulignant par là la plus grande résistance des hydrates de carbone provenant de végétaux supérieurs. Les rapports atomiques H/C et N/C sont respectivement de 1,3 et 0,07 pour la tourbe à Acoena et de 1,25 et 0,11 pour la tourbe hollandaise (fig. 3).

Les extraits humiques de dépôts d'un lac bleu du Groënland, laboratoire naturel sur la calotte glaciaire où prédominent des populations de cyanophycées, présentent une très forte aliphaticité au niveau des acides humiques (86%), plus accentuée encore dans les acides fulviques, essentiellement constitués de polysaccharides (92%; fig. 2). Un dépôt de fjord des îles Kerguelen offre des caractères assez voisins, dénotant la participation majeure des algues à la sédimentation (aliphaticité 89%; polysaccharides 32%). Les acides humiques extraits de *Macrocystis pyrifera*, algue très abondante dans la région, montrent d'ailleurs une aliphaticité très élevée (86%) et un taux de polysaccharides de 37%.

Les analyses élémentaires s'accordent tout-à-fait avec ces observations (fig. 3). Les acides humiques des dépôts du Groënland offrent en effet des rapports H/C et N/C très élevés (1,62 et 0,115 respectivement). Le rapport H/C atteint des valeurs plus fortes encore dans les acides fulviques (H/C: 2,02), indice de leur nature polysaccharidique. Cette dernière particularité se trouve soulignée en spectroscopie infrarouge par une bande accusée à 1050 cm^{-1} , caractéristique des hydrates de carbone (fig. 4).

Le dépôt d'un fjord (Kerguelen) présente également des rapports H/C et N/C élevés (1,59 et 0,17 respectivement), caractéristiques d'un matériel algale. La richesse relative en composés hydrogénés et azotés dans *Macrocystis* se trouve aussi soulignée par les valeurs des rapports H/C et N/C (1,58 et 0,104) respectivement (fig. 3).

Les dépôts d'un milieu lacustre (lac Léman, partie centrale) offrent également une forte aliphaticité (aliphaticité/aromaticité: 6,7). Les chaînes aliphatiques sont très ramifiées (groupements CH_3 : 34%), indice de l'origine planctonique du matériel organique. L'analyse élémentaire confirme d'ailleurs ces données (H/C: 1,43 et N/C: 0,097).

Dans les sédiments superficiels lagunaires méditerranéens (Canet: Ca I et II; Sigean: Si), le mélange de populations aquatiques algales et phanérogamiques introduit des variations dans les taux d'aliphaticité (de 60 à 75%) qui sont fonction justement du développement et de la participation aux dépôts de l'un ou l'autre de ces deux types de végétaux. On retrouve ces particularités au niveau de l'analyse élémentaire avec

des valeurs des rapports H/C et N/C de 1,5 et 0,10 en moyenne.

Dans le lac Grevelingen (Hollande), les acides humiques extraits des dépôts d'un chenal (profondeur 20 m) et d'un dôme sableux (profondeur 3 m) offrent une aliphaticité élevée, plus forte sur le dôme (aliphaticité/aromaticité de 4 à 7; tab. 3). La plus grande abondance de polysaccharides dans le chenal (38%) serait liée à l'accumulation de débris de phanérogame. L'humus du dôme paraît légèrement plus riche en protons attribuables aux protéines. Par ailleurs, les chaînes aliphatiques sont plus ramifiées. Ces particularités pourraient être en rapport avec la nature même des rares constituants organiques inclus dans les sables du dôme (mucilages organiques autour des grains ou méiofaune).

Ces différences se trouvent confirmées par l'analyse élémentaire des acides humiques (rapports H/C et N/C respectivement de 1,60 et 0,11 pour le dôme et de 1,40 et 0,09 pour le chenal; fig. 3).

Influence des conditions de milieu

Les caractéristiques structurales des produits humiques qui se forment en milieu aquatique ne sont pas uniquement déterminées par la nature du matériel végétal primaire dont ils dérivent.

Les conditions hydrodynamiques du milieu déterminent les processus chimiques et biochimiques dont ce dernier va être le siège et imposent leur empreinte, qui peut devenir prépondérante. Les caractères des substances humiques peuvent en effet être dans certains cas plutôt fonction des conditions de milieu que de l'origine même de la matière organique (Debyser, Gadel, 1979).

Tableau 4

Pourcentages respectifs des fractions aliphatiques et aromatiques dans les acides humiques (AH) et fulviques (AF) extraits de dépôts et suspensions variés: influence des conditions de milieu.

Percentages of aliphatic and aromatic protons with respect to the total amount of protons present in fulvic acids (AF) and humic acid (AH) from various deposits and suspended material: influence of environmental conditions.

Échantillon	% CH ₃	% CH ₂	% H α	% O-CH ₃	% polysaccharides	% Σ aliphatiques	% Σ aromatiques	Σ aliphatiques	
								Σ aromatiques	
Ca I AH	27	15	9	3	20	74	26	2,8	
Ca II AH	19	10	8	4	21	62	38	1,6	
Si ox. AH	—	47	0	0	43	90	10	9	
Si. réd. AH	—	71	0	0	20	91	9	10	
Si. I AH	17	17	12	8	28	82	18	4,6	
Leucate Sud AH	12	12	7	3	14	48	52	0,9	
Nokoué AH dépôt	5	8	8	0	31	52	48	1,1	
Lac AH Tchad	6	5	5	0	22	38	42	0,9	
Suspensions Congo AH	12	16	7	2	24	61	39	1,6	
Suspensions Niari AH	6	10	6	1	21	44	56	0,8	
Foulakari AH	8	14	5	2	30	59	41	1,4	
Foulakari AF	2	12	5	2	53	74	26	2,8	
Alios AH	13	0	0	41	3	57	43	1,3	
Loua AH	10	14	7	2	35	68	32	2,1	
Niari berge AH	3	7	5	1	14	30	70	0,4	
Niari berge AF	1	11	10	2	71	95	5	19	

Deux types de facteurs peuvent alors jouer un rôle déterminant:

- les conditions d'oxygénation;
- le lessivage, qui va assurer un renouvellement plus ou moins rapide de la phase liquide au contact du matériel végétal en cours de dégradation et l'élimination des fractions labiles.

Comme exemple des effets d'une oxygénation modérée, les dépôts de l'étang de Canet font apparaître pour les acides humiques de légères variations entre un milieu réducteur de bordure (Ca I) et la partie centrale de la lagune aux conditions plus oxygénées (Ca II; tab. 4; fig. 5). L'aliphaticité est plus réduite dans le secteur central (62%) que sur les bordures (74%), indice probable d'un degré d'évolution plus avancé lié au transport dans la masse liquide et à l'agitation périodique des eaux. Si le taux de polysaccharides ne semble pas affecté, par contre, le caractère ramifié des enchaînements aliphatiques diminue (% CH₃ de 27 à 19%), comme les teneurs en protons attribuables aux protéines. Ces différences se retrouvent, mais atténuées, au niveau des rapports H/C et N/C, respectivement de 1,40 et 0,120 pour Ca I et 1,34 et 0,117 pour Ca II (fig. 6).

La comparaison de dépôts réduits et oxydés dans l'étang de Sigean plus au Nord (fig. 1) montre, si l'aliphaticité reste toujours très forte (de l'ordre de 90%), une meilleure conservation des chaînes aliphatiques saturées et protéiniques, et des groupements CH₂ dans les premiers et des polysaccharides dans les seconds. Un milieu fortement réducteur sous litière de phanérogame (Si I) fait également apparaître dans ce même étang la bonne conservation du caractère aliphatique (aliphaticité/aromaticité: 4,6) et des polysaccharides (28%; tab. 4).

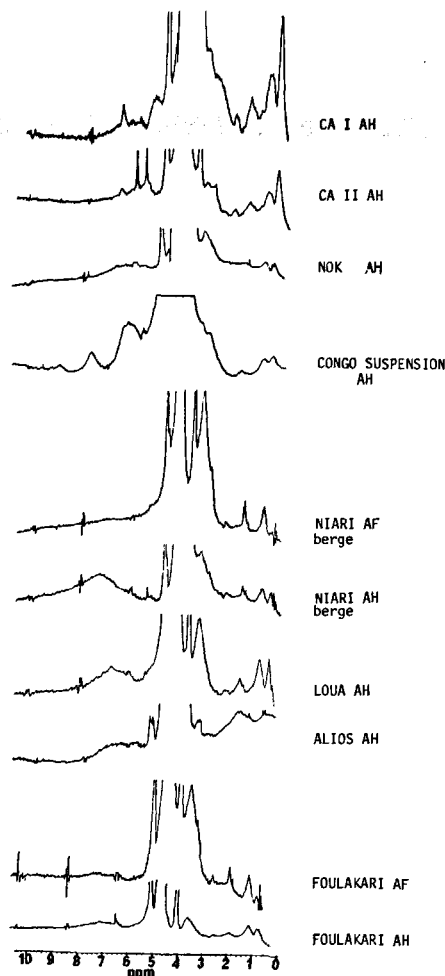


Figure 5

Spectres de résonance magnétique nucléaire du proton d'acides fulviques et humiques : influence des conditions de milieu.

^1H nuclear magnetic resonance spectra of fulvic and humic acids: influence of environmental conditions.

Au contraire, dans des milieux très oxygénés soumis à de forts effets de lessivage liés au vent dominant (sud de l'étang de Leucate; fig. 1), l'accroissement relatif de l'aromaticité (51%) provient de l'altération des chaînes azotées et aliphatiques. La ramification de ces dernières chaînes décroît, les groupements CH_2 dominent les CH_3 terminaux. Les polysaccharides diminuent en importance, bien que leur résistance à la dégradation (tissus de soutien des végétaux supérieurs) leur permettent une certaine conservation (14%). Les rapports atomiques H/C et N/C rendent également compte de tels processus (Leucate Sud: 1,05 et 0,063 respectivement; fig. 3).

Dans un domaine climatique différent, la lagune de Nokoué (NOK R.P. du Bénin) où intervient une forte sédimentation organique entraînant des conditions réductrices auxquelles peut succéder périodiquement un milieu plus oxygéné en rapport avec l'oscillation du plan d'eau, l'aliphatité des acides humiques est également basse (aliphatité/aromaticité: 1,1), comme la ramification des chaînes aliphatiques (tab. 4; fig. 5). Ces effets se marquent également sur les rapports H/C et N/C, respectivement de 1,09 et 0,028 (fig. 6).

En milieu désertique (lac Tchad), les fluctuations de la lame d'eau introduisent également des périodes

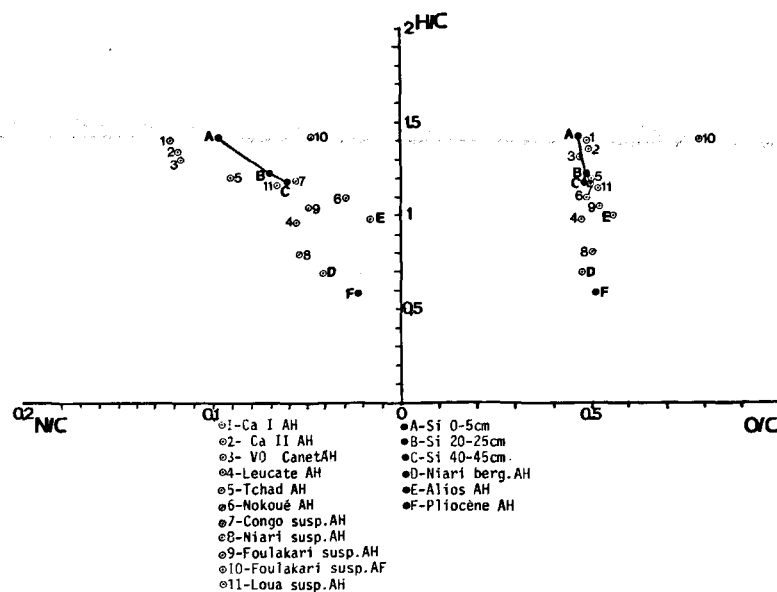


Figure 6

Valeurs des rapports atomiques H/C, N/C et O/C d'acides fulviques et humiques : influence des conditions de milieu et de la diagenèse.

Atomic ratios H/C, N/C and O/C of fulvic and humic acids: influence of environmental conditions and diagenesis.

d'émergence qui réduisent considérablement le caractère aliphatique (38%) et la ramification des chaînes aliphatiques (CH_3 : 6%). Les rapports H/C et N/C sont également affectés (1,20 et 0,090 respectivement).

En terme de domaines géographiques, des différences apparaissent entre les sédiments marins et lagunaires d'une part, les alluvions fluviales d'autre part, principalement en rapport avec l'importance du matériel organique ligneux inclus dans ces dernières.

Ainsi, dans les dépôts fluviaux du Congo et de ses affluents (Niari, Foulakari, Loua), l'aromaticité des acides humiques est relativement forte (de 40 à 60%), en rapport avec l'abondance du matériel ligneux. Par ailleurs, les proportions de polysaccharides sont élevées (de 25 à 51%), traduisant par là la résistance relative des tissus celluloseux des végétaux supérieurs. Il faut également noter le faible degré de ramification des chaînes aliphatiques (rapport $\text{CH}_3/\text{CH}_2 < 1$; tab. 4; fig. 5).

Ces diverses particularités se trouvent soulignées par les résultats de l'analyse élémentaire: rapports H/C et N/C relativement bas, respectivement de l'ordre de 1,15 et 0,060.

Les quelques analyses réalisées sur les acides fulviques correspondants (Foulakari) montrent toujours une plus forte aliphatité, généralement en rapport avec une proportion élevée de polysaccharides, résultats qui s'accordent avec les données des auteurs (Thurman, 1985). Il faut également noter la prédominance des groupements CH_2 sur les groupements CH_3 (rapport CH_3/CH_2 de l'ordre de 0,1).

Les matières humiques d'un des affluents du Congo (Loua) montrent un certain enrichissement en groupements aliphatiques et en polysaccharides (aliphatité 68%; polysaccharides 35%), comparativement aux sols podzoliques dont elles sont issues pour partie par lessivage (alios; fig. 5).

Tableau 5

Pourcentages respectifs des fractions aliphatiques et aromatiques dans les acides humiques extraits de diverses classes granulométriques (dépôts lagunaires: Canet-Leucate).

Percentages of aliphatic and aromatic protons with respect to the total amount of protons present in humic acids from different grain-size classes (lagoonal deposits: Canet-Leucate).

Échantillon	% CH ₃	% CH ₂	% H α	% O-CH ₃	% polysaccharides	% Σ aliphatiques	% Σ aromatiques	Σ aliphatiques Σ aromatiques
Canet								
500-1 000 μ m	32	16	11	4	25	88	12	7,3
40-500 μ m	21	14	9	3	26	73	27	2,7
5-40 μ m	21	20	11	3	25	80	20	4
0-5 μ m	20	21	11	3	19	74	26	2,8
Leucate								
500-1 000 μ m	25	14	9	3	29	80	20	4
40-500 μ m	3	2	0	0	5	10	90	0,1
0-5 μ m	14	15	13	5	27	74	26	2,8

L'analyse des composés humiques après fractionnement des dépôts en diverses classes granulométriques souligne les particularités et différences retrouvées en milieu naturel pour des sédiments de diverses granulométries, des vases aux sables (tab. 5).

Ainsi, deux dépôts lagunaires (Canet et Leucate) offrent au niveau des acides humiques extraits de diverses classes granulométriques des différences marquées, indice d'une grande hétérogénéité dans la distribution et la nature des matières organiques incluses dans les dépôts (tab. 5).

Dans le cas de Leucate, si les classes de 0 à 5 μ m et de 50 à 1 000 μ m présentent une forte aliphaticité (de 73 à 80%), associée à une teneur relativement élevée en polysaccharides, la fraction de 40 à 500 μ m offre, par contre, un très fort caractère aromatique et une teneur en polysaccharides inexistante. Pour le dépôt de Canet, les différences sont moins marquées à l'exception de la fraction la plus grossière de 500 à 1 000 μ m, renfermant des substances plus aliphatiques et de caractère plus ramifié.

Ces différences de nature se trouvent soulignées par les rapports H/C et N/C qui varient respectivement de 1,30 à 1,60 et de 0,09 à 0,11 pour Canet et de 1,40 à 1,60 et de 0,08 à 0,10 pour Leucate (Gadel *et al.*, 1983; tab. 4).

Ces exemples soulignent bien l'hétérogénéité de composition des dépôts quant à la nature de la matière organique incluse dans les diverses classes granulométriques (Stephan, 1984). Les résultats obtenus sur le sédiment brut ne représentent donc toujours que des valeurs moyennes qui ne rendent absolument pas compte de cette hétérogénéité.

EFFETS DIAGÉNÉTIQUES

Avec l'enfouissement, les effets de la diagenèse tendent à affecter les caractères chimiques des composés organiques, qui résultent au préalable de la nature du matériel organique initial et de l'influence des conditions de milieu dans la masse liquide. La mise en évidence de tels effets est alors difficile, et nécessite des conditions de sédimentation continues sans changements majeurs. A l'interface eau-sédiment et dans les dépôts superficiels, les transformations résultent de l'influence du

milieu aquatique susjacent et des processus en rapport avec l'activité biologique, les bioturbations et les effets catalytiques de la matrice minérale (Bordovskiy, 1965; Brown *et al.*, 1972; Shindo, Whang, 1984).

A titre d'exemple, des sédiments prélevés par carottage dans une lagune méditerranéenne rendent compte de tels processus. Dans la lagune de Sigean, une coupe réalisée dans des dépôts sous litière de phanérogames (ruppaciées) fait apparaître une légère baisse de l'aliphaticité avec la profondeur de 82 à 78% sur 50 cm (tab. 7; Si; fig. 7). La ramification des chaînes aliphatiques décroît également comme le taux de protons attribuables aux protéines. Toutefois, les teneurs en polysaccharides semblent conservées, indice de la bonne résistance biochimique à la dégradation du matériel

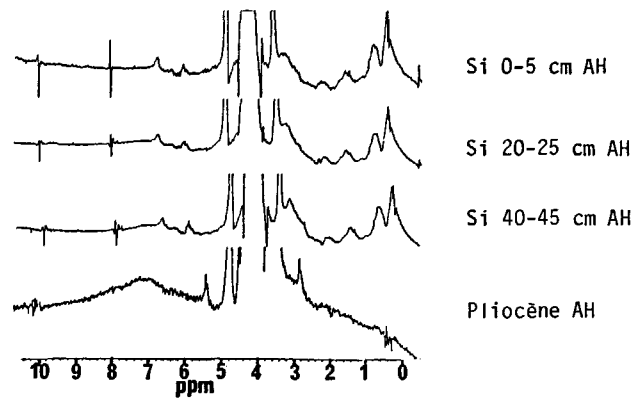


Figure 7 Spectres de résonance magnétique nucléaire du proton d'acides humiques: influence de la diagenèse.

¹H nuclear magnetic resonance spectra of humic acids: influence of diagenesis.

Tableau 6

Rapports atomiques H/C, N/C et O/C des acides humiques extraits de diverses classes granulométriques (dépôts lagunaires: Canet-Leucate).

Atomic ratios H/C, N/C and O/C of humic acids from different grain-size classes (lagoonal deposits: Canet-Leucate).

Échantillon	H/C	N/C	O/C
Canet			
500-1 000 μ m	1,50	0,106	0,602
40-500 μ m	1,30	0,093	0,533
5-40 μ m	1,34	0,093	0,546
0-5 μ m	1,31	0,094	0,482
Leucate			
500-1 000 μ m	1,49	0,092	0,554
40-500 μ m	1,41	0,097	0,516
5-40 μ m	1,51	0,103	0,502
0-5 μ m	1,52	0,096	0,485

Tableau 7

Pourcentages respectifs des fractions aliphatiques et aromatiques dans les acides humiques extraits de dépôts : influence de la diagenèse.
Percentages of aliphatic and aromatic protons with respect to the total amount of protons present in humic acids from deposits: influence of diagenesis.

Échantillon	% CH ₃	% CH ₂	% H α	% O-CH ₃	% polysaccharides	% Σ aliphatiques	% Σ aromatiques	Σ aliphatiques Σ aromatiques
Si AH 0-5 cm	17	17	12,1	8	28	82	18	4,6
Si AH 20-25 cm	17	18	12	2	30	79	21	3,8
Si AH 40-45 cm	13	18	11,8	6	31	78	22	3,5
Pliocène Roussillon AH	0	0	0	12	-	12	88	0,1

organique d'origine phanérogamique. Le caractère réducteur du milieu peut également expliquer cet état de fait.

Cette évolution avec la profondeur se trouve soulignée par celle des valeurs des rapports H/C et N/C, de 1,42 à 1,17 et de 0,096 à 0,060 respectivement (fig. 6).

Dans le lac Grevelingen (Hollande), les conditions plus oxygénées en surface dans les dépôts du dôme sableux semblent accentuer ces processus. Une baisse de l'aliphaticité intervient en effet vers la profondeur dans les dépôts superficiels (de 89 à 70%); la ramification des chaînes aliphatiques tend également à diminuer. Ces effets semblent plus atténués dans les sédiments réduits du chenal.

Dans un autre domaine géographique, dans les sols de berges de fleuves africains affluents du Congo (Niari), les effets de lessivage lors des crues et de la pédogenèse se traduisent par une baisse de l'aliphaticité (30-40%) et des polysaccharides (15-20%), moins forte toutefois que dans les alios environnants (tab. 4). Ces mécanismes sont confirmés par l'analyse élémentaire (H/C=0,70; N/C=0,041; fig. 6).

Les processus dépendant de la diagenèse précoce tendent donc à réduire le degré d'aliphaticité et le caractère azoté des acides humiques, mais également les proportions de polysaccharides, si tant est qu'ils ne présentent pas une grande résistance biochimique. Le taux de ramification des chaînes aliphatiques (importance des groupements CH₃) se trouve également affecté, comme les proportions des protons attribuables aux protéines.

Comme exemple d'évolution extrême en rapport avec l'âge du matériel (plusieurs millions d'années), ceci pour des conditions de milieu voisines (domaine lagunolacustre), les acides humiques d'un dépôt pliocène du bassin du Roussillon offrent une très forte diminution de l'aliphaticité (aliphaticité/aromaticité: 0,1); les polysaccharides sont inexistantes (fig. 7). L'aliphaticité n'est attribuable qu'aux protons des chaînes greffées sur les cycles aromatiques. Cette forte évolution affecte également les rapports H/C et N/C qui sont très bas (0,58 et 0,022 respectivement (tab. 7).

CONCLUSION

L'analyse en spectrométrie de résonance magnétique nucléaire du proton, couplée avec d'autres méthodes d'étude et les données sédimentologiques, apporte un complément très utile à la connaissance de la nature

des substances humiques. L'influence des trois facteurs majeurs qui conditionnent leurs caractères physico-chimiques: origine du matériel organique, conditions de milieu, diagenèse, se trouve en effet précisée par les résultats de l'analyse.

En terme d'origine du matériel organique, les composés humiques issus de la dégradation d'algues présentent toujours une aliphaticité supérieure à ceux provenant de phanérogames de caractère plus aromatique. La matière organique d'origine alguaire se caractérise par une grande abondance de groupements méthyles, indice d'une forte ramification des chaînes aliphatiques. Les protons attachés aux chaînes azotées sont également en proportions plus grandes.

Les polysaccharides par contre semblent plus abondants dans l'humus issu de phanérogames, par suite probablement de la plus grande résistance biochimique du complexe ligno-cellulosique des végétaux supérieurs. Si ces différences sont conservées au niveau des acides fulviques, l'on observe par rapport aux acides humiques un très net enrichissement en polysaccharides et, au contraire, un appauvrissement en protons appartenant aux groupements azotés et aromatiques.

Dans les dépôts lagunaires, en particulier, la nature des substances humiques dépend de la prédominance plus ou moins forte dans le milieu soit des populations algaires ou phytoplanctoniques, soit des phanérogames. Comparativement à la matière organique des sédiments marins ou extraite des eaux du large qui présente un caractère aliphatique et azoté marqué, les dépôts et suspensions fluviales se trouvent enrichis en composés aromatiques issus de la lignine; la ramification des chaînes aliphatiques est faible, les polysaccharides abondants.

Les effets des conditions de milieu dépendent principalement du degré d'oxygénation. Ainsi une forte oxygénation introduit une baisse de l'aliphaticité, une plus faible proportion de protons attachés aux composés azotés, une diminution de la ramification des chaînes aliphatiques et, à un degré moindre, des polysaccharides.

Avec l'enfouissement enfin, les effets de la diagenèse précoce se traduisent par une baisse de l'aliphaticité, des proportions de protons attachés aux groupements azotés, de la ramification des chaînes aliphatiques et des polysaccharides. Pour ces derniers composés, la résistance biochimique est fonction de leur origine, alguaire, planctonique ou phanérogamique. Les poly-

saccharides issus de la dégradation des phanérogames semblent plus résistants (complexe ligno-cellulosique).

Ces processus s'accroissent encore dans les dépôts actuels soumis à une très forte oxygénation, notamment

lors de leur remise en suspension et du brassage par le vent. L'évolution à l'échelle géologique accentue considérablement ces processus. Il en résulte une très forte réduction de l'aliphatité et une baisse marquée des composés azotés et des polysaccharides.

RÉFÉRENCES

- Bordovskiy O. K., 1965. Accumulation and transformation of organic substances in marine sediments. Special issue: organic matter in marine sediments, *Mar. Geol.*, **3**, 3-114.
- Brown F. S., Baedecker M. J., Nissenbaum A., Kaplan I. R., 1972. Early diagenesis in a reducing fjord, Saanich inlet, British Columbia. III: Changes in organic constituents of sediment, *Geochim. Cosmochim. Acta.*, **36**, 1185-1203.
- Debyser Y., Gadel F., 1979. Géochimie des kérogènes dans les sédiments, in: *Géochimie organique des sédiments marins profonds. Orgon III. Mauritanie, Sénégal, îles du Cap Vert*, Ed. CNRS, Paris, 375-403.
- Debyser Y., Gadel F., Leblond C., Martinez M. J., 1977. Étude géochimique des composés humiques et des kérogènes, in: *Géochimie organique des sédiments marins profonds. Mission Orgon II Atlantique-Nord Est Brésil*, Ed. CNRS, Paris, 339-356.
- Degens E. T., 1965. *Geochemistry of sediments: a brief survey*, Prentice Hall Inc., Englemond Cliffs, New Jersey, 342 p.
- Dereppe J.-M., Moreaux C., Debyser Y., 1980. Investigation of marine and terrestrial humic substances by ^1H et ^{13}C nuclear magnetic resonance and infrared spectroscopy, *Org. Geochem.*, **2**, 117-124.
- Gadel F., 1980. Géochimie des composés humiques dans les dépôts superficiels, in: *Biogéochimie de la matière organique à l'interface eau-sédiment marin*, Coll. inter. CNRS, Marseille, 45-60.
- Gadel F., Martin R., Dumas J.-P., 1983. Origine, distribution et évolution de la matière organique dans les dépôts de deux écosystèmes lagunaires méditerranéens, *Rapp. Comm. Inter. Mer Médit.*, **28**, 7, 115-119.
- Haider K., Martin J.-P., Filip A. D., 1975. Humus biochemistry, in: *Soil biochemistry*, edited by E. A. Paul et A. McLaren, Marcel Dekker New York, 195-244.
- Harvey G. R., Boran D. A., Chesal L. A., Tokar J.-M., 1983. The structure of marine fulvic and humic acids, *Mar. Chem.*, **12**, 119-132.
- Hatcher P. G., Rowan R., Mattingly M. A., 1980. ^1H and ^{13}C NMR of marine humic acids, *Org. Geochem.*, **2**, 77-85.
- Lentz H., Ludemann H. D., Ziechmann W., 1977. Proton resonance spectra of humic acids from the solum of a podzol, *Geoderma*, **18**, 325-328.
- Manskaya S. M., Drozdova T. V., 1968. *Geochemistry of organic substances*, Shapiro and Breger Ed., Pergamon Press.
- Massicot J., Zonszajn F., 1967. Étude par RMN de la réaction d'échange des protons aromatiques des phénols en milieu alcalin (NaOD). II: Cinétique de la réaction dans le cas du pyrogallol et du naphthol-2, *Bull. Soc. Chim. Fr.*, 2206-2210.
- Neyroud J. A., Schnitzer M., 1974. The chemistry of high molecular weight fulvic acid fractions, *Can. J. Chem.*, **52**, 4123-4132.
- Painter T. J., 1983. Carbohydrate origin of aquatic humus from plant, *Carbohydr. Res.*, **124**, 22-26.
- Rashid M. A., King C. H., 1970. Major oxygen containing functional groups present in humic and fulvic acid fractions isolated from contrasting marine environments, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **34**, 193-202.
- Ruggiero P., Interesse F. S., Sciacovelli O., 1979. (^1H) and (^{13}C) NMR studies on the importance of aromatic structures in fulvic and humic acids, *Geochim. Cosmochim. Acta.*, **43**, 1771-1775.
- Ruggiero P., Interesse F. S., Sciacovelli O., 1980. ^1H NMR evidence of exchangeable aromatic protons in fulvic and humic acids, *Soil Biol. Biochem.*, **12**, 297-299.
- Sciacovelli O., Senesi N., Solinas V., Testini C., 1977. Spectroscopic studies on soil organic fractions. I: IR and NMR spectra, *Soil Biol. Biochem.*, **9**, 287-293.
- Schnitzer M., Khan S. U., 1972. *Humic substances in the environment*, New York, Marcel Dekker Inc., 327 p.
- Shindo H., Huang P. M., 1984. *The roles of short range ordered Mn (IV), Fe (III), Al and Si oxides in the abiotic synthesis and the subsequent retention of model humic substances*, 2nd. Inter. Conf. International Humic substances Society, edited by M. H. B. Hayes et R. S. Swift, Birmingham, 15-17.
- Sieburth H. J. McN., Jensen A., 1968. Studies on algal substances in the sea. I: Gelbstoff (humic material) in terrestrial and marine waters, *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.*, **2**, 17-189.
- Stephan C., 1984. Matières organiques de quatre sédiments récents: caractérisation et essai d'interprétation en fonction de l'environnement sédimentaire, *Thèse 3^e cycle, Univ. Nancy*, 89 p.
- Stuermer D. H., Payne J. R., 1976. Investigation of seawater and terrestrial humic substances with carbon-13 and proton nuclear magnetic resonance, *Geochim. Cosmochim. Acta*, **40**, 1109-1114.
- Thurman E. M., 1985. *Organic geochemistry of natural waters*, Martinus. Nishoff/DM W. Junk Publ., 488 p.
- Wilson M. A., 1981. Application of nuclear magnetic resonance spectroscopy to the study of the structure of soil organic matter, *J. Soil. Sci.*, **32**, 167-186.
- Wilson M. A., Goh K. H., 1977. Proton decoupled pulse Fourier transform ^{13}C magnetic resonance of soil organic matter, *J. Soil. Sci.*, **28**, 645-652.