

SPECTROSCOPIE U.V.-VISIBLE DES ACIDES HUMIQUES NON FRACTIONNÉS ET DE CERTAINES DE LEURS FRACTIONS OBTENUES SUR GELS DE DEXTRANES

par JEAN-RENÉ BAILLY

Laboratoire de Pédologie, Université Paul Sabatier
et Ecole Nationale Supérieure Agronomique
145, Avenue de Muret, 31 – Toulouse, France

RESUME

Les acides humiques extraits d'un Tchernozème (horizon A superficiel et horizon A profond), d'un Sol Gris Forestier (horizons A₁ et A₂) et d'un Podzol (horizon A₁) ont été étudiés par spectroscopie de 800 à 225 m μ .

Ces acides humiques sont par ailleurs fractionnés par chromatographie sur 'Sephadex' (2). On a tracé pour les cinq échantillons, le spectre de la fraction n° III qui correspond aux faibles poids moléculaires, et pour le seul Tchernozème horizon profond, le spectre de chacune des fractions obtenues. Ces spectres ont été tracés jusqu'à 205, parfois même 200 m μ .

Les résultats essentiels sont:

- L'existence d'un 'effet de dilution' visible aux courtes longueurs d'ondes pour les acides humiques non fractionnés, et qui existe probablement au moins chez certaines fractions.
- La similitude d'aspect entre tous ces tracés, et donc la ressemblance des structures chimiques correspondantes.
- La constance, au moins relative, de la quantité de fraction III chez les divers échantillons.

De nombreux articles ont été consacrés à l'étude des acides humiques par spectroscopie U.V.-visible: Kononova⁵, Welte¹², Sokolov *et coll.*¹¹, Jacquin⁴, Lindquist⁸, Ladd⁷, Butler and Ladd³, etc. . .

Mais en général, les auteurs se sont contentés d'examiner les spectres aux grandes longueurs d'onde: Jacquin: $\lambda > 420$ m μ , Lindquist: $\lambda > 400$ m μ , et ils ont le plus souvent étudié des acides humiques non fractionnés.

Dans ce travail, on a examiné d'une part le spectre des acides humiques non fractionnés jusqu'à 225 m μ , d'autre part les spectres

de certaines fractions obtenues par séparation sur gel de dextrane 'Sephadex*', spectres que l'on a pu tracer jusqu'à 205, parfois même 200 m μ .

I - ÉCHANTILLONS, EXTRACTION DES ACIDES HUMIQUES. FRACTIONNEMENT

Les échantillons de sol ont été mis gracieusement à notre disposition par le Musée Williams de Moscou. Il s'agit de:

Tchernoziome ordinaire	horizon A,	0 – 16 cm
	horizon A,	20 – 35 cm
Sol Gris Forestier	horizon A ₁ ,	0 – 12 cm
	horizon A ₂ ,	16 – 20 cm
Sol Podzolique Prairial	horizon A ₁ ,	0 – 6 cm

Les dosages concernant des échantillons ont été publiés dans une note précédente ² de même que l'extraction des acides humiques ^{1 2}. Les acides humiques sont finalement en solution dans NaOH 0,1 N. Les teneurs en C de ces solutions sont données dans ².

Une portion de chacune de ces solutions, ramenée à la concentration adéquate par dilution par NaOH 0,1 N a été utilisée pour obtenir le spectre des acides humiques non fractionnés.

Une autre portion subit le fractionnement sur 'Sephadex' ². On a examiné par spectroscopie d'une part la fraction n° III correspondant aux cinq échantillons, d'autre part chacune des fractions correspondant au Tchernoziome inférieur.

II – EXPÉRIMENTATION

A. Acides humiques non fractionnés

On n'a pas étudié ici les acides humiques de l'horizon superficiel du Podzol car la solution présente très rapidement un précipité; cela nécessite, avant le passage au spectrophotomètre, une filtration, c'est-à-dire un fractionnement.

La concentration initialement choisie était celle indiquée par Kononova, reprise par Jacquin ⁴, à savoir 136 mg C/litre.

Cette concentration n'est évidemment utilisable qu'aux grandes λ ; au dessous de 550 m μ , l'absorption est si forte qu'on ne peut plus

* Sephadex: marque déposée appartenant à Pharmacia Fine Chemical, Suède.

procéder à des lectures directes, ainsi que l'indique Jacquin ⁴ pour le Tchernozioime.

Ceci a nécessité, surtout pour les courtes λ , l'utilisation de dilutions, dilution optique par réduction du trajet optique d'une part, dilution de la solution par NaOH 0,1 N d'autre part.

La limite de 225 m μ vers les λ courtes est imposée par NaOH 0,1 N qui absorbe fortement la lumière aux λ inférieures.

Conditions techniques de spectroscopie:

Spectrophotomètre à double faisceau, à réseau, Beckman DK-2A

Cuves de quartz apairées

Cuve de référence contenant la NaOH même qui a été utilisée pour préparer la solution humique et ses dilutions.

Enregistrements en D.O.

Vitesse de défilement du spectre: lente

Photomultiplicateur: $\times 1$ pour $\lambda > 248$, $\times 20$ pour $\lambda < 248$ m μ .

Energie disponible: surveillée et suffisante.

Concentrations et trajets optiques:

136 mg C/l sous 1 cm pour les grandes λ .

136 mg C/l sous 0,1 cm pour la dilution optique. On utilise alors des cales de silice apairées de 0,9 cm.

136 mg C/l dilué au 1/2, 1/4, 1/8, 1/16 sous 1 cm pour les dilutions par NaOH 0, 1 N. Ces dilutions sont réalisées avec la même NaOH que les solutions initiales.

Les spectres sont présentés sur les figures n° 1 (dilution par NaOH) et n° 2 (dilution optique).

B. Etude de la fraction n° III des divers échantillons.

Après le fractionnement sur Sephadex G 25 F décrit dans ^{1 2}, la spectroscopie U.V.-visible paraissait être une méthode de choix pour juger de la similitude ou de la différence entre les fractions obtenues car il est techniquement possible d'étudier directement les solutions fournies par la chromatographie sur gel.

Par ailleurs, on pouvait présumer que les fractions III constituées de molécules relativement petites, auraient les spectres les moins complexes.

Dans un premier temps, on a étudié seulement la sous-fraction correspondant à la zone centrale du pic obtenu ², c'est-à-dire les 4 ml les plus intensément colorés à 2 537 Å, et on a tracé le spectre de 750 à 205 m μ .

Conditions techniques de spectroscopie

Spectrophotomètre à double faisceau, à réseau, Beckman DB-G.

Cuves de quartz apairées.

Trajet optique: 1 cm

Cuve de référence contenant de l'eau distillée.

Les enregistrements sont faits de 750 à 205 m μ , la limite inférieure étant imposée par les caractéristiques du spectrophotomètre.

La concentration en C n'est pas connue. Cependant, il a fallu procéder à des dilutions 1/2, 1/4, 1/8 afin que le tracé obtenu reste significatif, cela surtout aux courtes λ .

La reproductibilité a été contrôlée en traçant plusieurs fois les spectres correspondant à chacun des horizons de Tchernozème, à partir de fractions III provenant de séparations différentes.

Les résultats sont représentés sur les figures n° 4 et 4 bis.

Dans un deuxième temps, on a étudié l'ensemble de la fraction III après avoir rassemblé toutes les portions de solutions qui la constituent, y compris la zone centrale ci-dessus étudiée et ses dilutions, et avoir ramené le tout à un volume connu.

Conditions techniques de spectroscopie

Spectrophotomètre à double faisceau, à réseau, Beckman DK-2A.

Cuves de quartz apairées.

Trajet optique: 1 cm.

Cuve de référence contenant de l'eau distillée.

Enregistrement en D.O.

Vitesse de défilement du spectre: lente.

Photomultiplicateur: $\times 1$ jusqu'à 205, $\times 20$ pour $\lambda < 205$ m μ .

Les enregistrements ont été faits de 350 à 200 m μ .

La quantité d'énergie disponible a été constamment surveillée. Elle est convenable jusqu'à 200 m μ , d'où la limite inférieure.

Les solutions examinées ici sont peu colorées et les D.O. pour $\lambda > 300$ m μ sont trop basses pour être précises. Vu les résultats obtenus à partir de la zone centrale des fractions III, on n'a pas jugé utile de concentrer secondairement ces solutions, d'où la limite vers les grandes λ .

Les résultats sont présentés sur la figure n° 5.

C. Etude des différentes fractions d'acides humiques de Tchernozème inférieur².

Cette étude a été faite uniquement sur la portion centrale de chacune des fractions ci-après: II, III, IV A, IV B, V, VI, VII, VIII,

IX, X B, où on a examiné les 4 ml pour lesquels la D.O. à 2537 Å est maximum.

Les conditions techniques de spectroscopie sont celles qui ont été décrites à propos des portions centrales des fractions III.

Les spectres sont représentés sur les figures 4 (fraction III) et 6 et 7. Ils ne sont valables que jusqu'à 205 m μ .

III – DISCUSSION

A. Acides humiques non fractionnés

Les 4 spectres Tchernoziome supérieur et inférieur, Sol Gris Forestier supérieur et inférieur) (fig. 1 et fig. 2) sont très semblables entre eux. Il y a une augmentation régulière de la D.O. de 750 à 230 m μ , sans rupture de pente ni accident important. Cela montre,

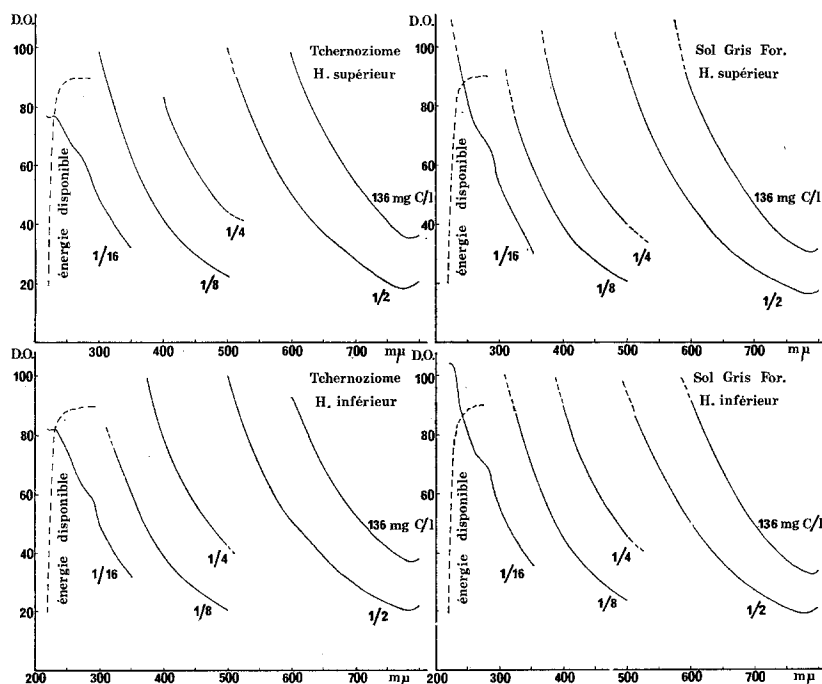


Fig. 1. Spectres des acides humiques non fractionnés et dilués par NaOH 0,1 N. La concentration initiale est de 136 mg C/l. On utilise ensuite des dilutions, successivement au 1/2, 1/4, 1/8, 1/16. Trajet optique: 1 cm. Spectrophotomètre Beckman DK-2A.

aux grandes λ surtout, la ressemblance des acides humiques extraits de différents horizons de ces deux sols.

Les spectres obtenus ont la même allure que ceux publiés par Lindquist ⁸ ou Jacquin ⁴. Il faut surtout noter l'absence de tout maximum important aux courtes λ tel qu'aurait pu le faire envisager l'allure des courbes aux grandes λ .

Pour les longueurs d'onde où la comparaison est possible ($\lambda > 450 \text{ m}\mu$), les D.O. sont très proches de celles que donne Jacquin ⁴ pour le Tchernozïome. Il en va de même pour le rapport de Welte ¹²: D.O. 472/D.O. 665 $\text{m}\mu$ (tableau 1).

TABLEAU 1

Acides humiques non fractionnés; rapport de Welte (D.O. 472 $\text{m}\mu$ /D.O. 665 $\text{m}\mu$). Concentration: 136 mg C/litre.

Nature de l'échantillon	Horizon	Profondeur en cm	Rapport de Welte	
			Avec trajet optique de 1 cm	Avec trajet optique de 0.1 cm
Tchernozïome ordinaire	A	0-16	3,1	3,2
	A	20-35	3,1	3,2
Sol Gris Forestier	A ₁	0-12	3,2	3,4
	A ₂	16-29	3,6	3,6

D'après la valeur absolue des D.O., en se référant aux travaux de Kononova et coll. ⁶ et de Sokolov et coll. ¹¹, qui admettent une relation entre D.O. et niveau de polymérisation, on peut déduire que les acides humiques non fractionnés de ces quatre échantillons ont à peu près le même niveau de polymérisation, et que ce niveau est élevé. On peut également considérer, vu la faiblesse du rapport de Welte, en accord avec cet auteur ¹², que ces acides humiques ont de fortes teneurs en azote.

Ce n'est que vers les courtes λ que l'on voit apparaître de légères différences entre les 4 spectres étudiés ici.

Les courbes obtenues à partir des dilutions 1/16 par NaOH 0,1 *N* présentent aux environs de 280 $\text{m}\mu$, des ondulations assez larges. Mais celles-ci n'ont ni la même intensité (ϵ), ni exactement la même λ max. pour les quatre échantillons (exactement 270 $\text{m}\mu$ pour le Tchernozïome supérieur; 285 $\text{m}\mu$ pour le Tchernozïome inférieur; 285 $\text{m}\mu$ pour le Sol Gris Forestier supérieur, 280 $\text{m}\mu$ pour le Sol Gris Forestier inférieur.

Il faut évidemment rapprocher cela du maximum que présente la lignine à 280 m μ ^{9 10}. Le pic de la lignine est certes beaucoup plus accentué, mais Ziechmann ¹³ met en évidence, dans les extraits de chêne pourri, la diminution de ce pic qu'il attribue à un groupement guaïacyl, c'est-à-dire un cycle benzénique portant un —OH proche d'un groupement —OCH₃.

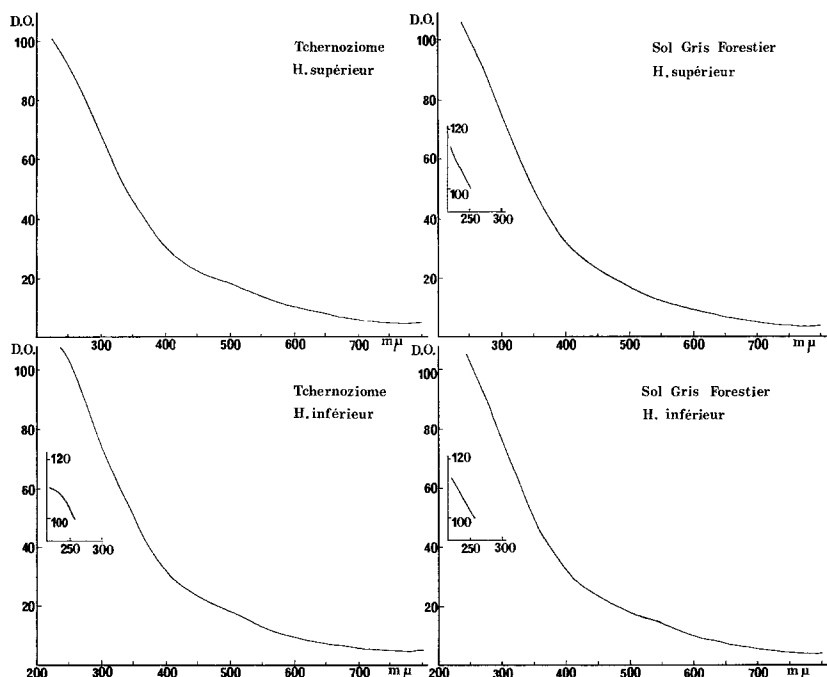


Fig. 2. Spectres des acides humiques non fractionnés obtenus après dilution optique. Concentration: 136 mg C/l. Trajet optique: 0,1 cm. Spectrophotomètre Beckman DK-2A.

Par ailleurs, on a comparé les spectres obtenus d'une part à partir de la dilution optique au 1/10^e (fig. 2), d'autre part à partir des dilutions par NaOH 0,1 N (fig. 1). Pour cela, on relève les D.O. obtenues avec les dilutions et on les multiplie par les coefficient adéquat pour obtenir les D.O. correspondant à la concentration initiale.

Les écarts absolus et les pourcentages d'écart sont rassemblés sur la figure 3.

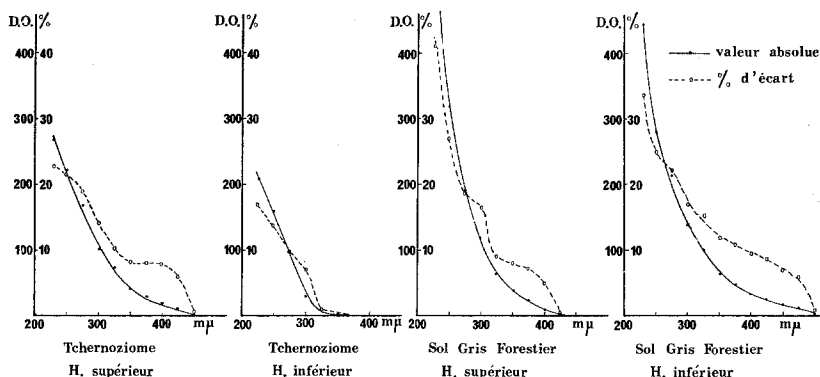


Fig. 3. Etude des acides humiques non fractionnés. Différence entre les spectres obtenus par dilution par NaOH 0,1 N et par dilution optique (valeur absolue et %).

De 800 à 475 $m\mu$, les deux séries de valeurs sont identiques. Dans cette portion du spectre, les acides humiques obéissent à la loi de Beer-Lambert: $D.O. = K$ (Concentration), et il n'existe pas d'effet de dilution'. Dans cette bande de λ , le spectre des acides humiques est indépendant de la teneur en C des solutions, et lorsque K est connu, on peut doser un acide humique par simple mesure de D.O.

Par contre pour $\lambda < 475 m\mu$, plus ou moins rapidement et plus ou moins intensément, mais nettement chez les 4 échantillons examinés, on voit augmenter l'écart entre les deux séries de valeurs, ce qui indique l'existence d'un 'effet de dilution'. Les structures chimiques actives à ces λ se modifient lors d'une dilution importante.

Les larges ondulations que l'on a signalées au voisinage de 280 $m\mu$ sur les tracés obtenus à partir des dilutions au 1/16 par NaOH 0,1N (fig. 1), confirment l'existence de cet effet de dilution car elles sont absentes dans le cas de tracés réalisés à partir de dilutions optiques (fig. 2).

Compte tenu de la région du spectre où ils se produisent, ces phénomènes pourraient traduire l'individualisation de $=O$, $-OH$ et $-COOH$ fixés sur des cycles benzéniques, de groupements gâiacyl, et peut-être, par effet bathochrome, d' $-OH$ alcool, tous plus ou moins masqués à l'état concentré. Cela peut être la conséquence soit du déploiement de chaînons moléculaires précédemment repliés, soit de la séparation de molécules ou de micelles préalablement liées.

Il en résulte de toute façon que pour $\lambda < 475 \text{ m}\mu$, le tracé, les pentes des courbes dépendent, parfois dans une large mesure, de la concentration des solutions et que la loi de Beer ne s'applique pas.

B. Etude de la fraction n° III des divers échantillons

1 – Spectres obtenus pour les portions centrales des fractions III (fig. 4).

On remarque immédiatement une très grande ressemblance d'allure générale entre les tracés des cinq échantillons. Il y a toujours une augmentation de densité optique, lente et régulière, de 750 à 205 $\text{m}\mu$, sans accident important.

On peut en conclure que ces fractions d'acides humiques présentent entre elles une très grande ressemblance de structure chimique, qu'elles proviennent de l'horizon supérieur d'un Tchernozème ou de celui d'un Podzol.

Si on compare ces courbes avec celles qu'a obtenues Jacquin⁴ entre 720 et 420 $\text{m}\mu$, ou avec celles trouvées par Lindquist⁸ entre 660 et 440 $\text{m}\mu$, ou encore avec celles données ci-dessus de 800 à 225 $\text{m}\mu$, on constate une grande ressemblance d'allure générale. Cela laisse à penser qu'il n'y a pas de différence de structure chimique entre les éléments de petite dimension moléculaire et ces mélanges plus ou moins complexes.

Cependant, une comparaison plus attentive montre que les D.O. des acides humiques des fractions III sont particulièrement basses.

Certes, cela peut être dû à la faible teneur en acides humiques de ces solutions. Mais, bien qu'on ne dispose pas de valeurs chiffrées pour le confirmer, il semble bien qu'il y ait lieu de considérer le 2^{ième} facteur actif sur la hauteur des courbes, à savoir le niveau de polymérisation. Or, la fraction III, d'après sa position sur les diagrammes de fractionnement², est constituée de molécules de faible P.M. Les très faibles D.O. rencontrées dans la région 720 – 420 $\text{m}\mu$ paraissent à première vue en accord avec ce phénomène, contrairement aux résultats de⁷.

Pour les longueurs d'ondes plus courtes ($\lambda < 420 \text{ m}\mu$), on ne dispose plus de points de comparaison. Les D.O. augmentent toujours, mais beaucoup plus rapidement.

Cela pouvait, à priori, être imputé à la présence de silicates, et en particulier de silicates de soude. Aussi en a-t-on tracé sommairement le spectre. Il en résulte qu'on ne peut leur accorder une légère

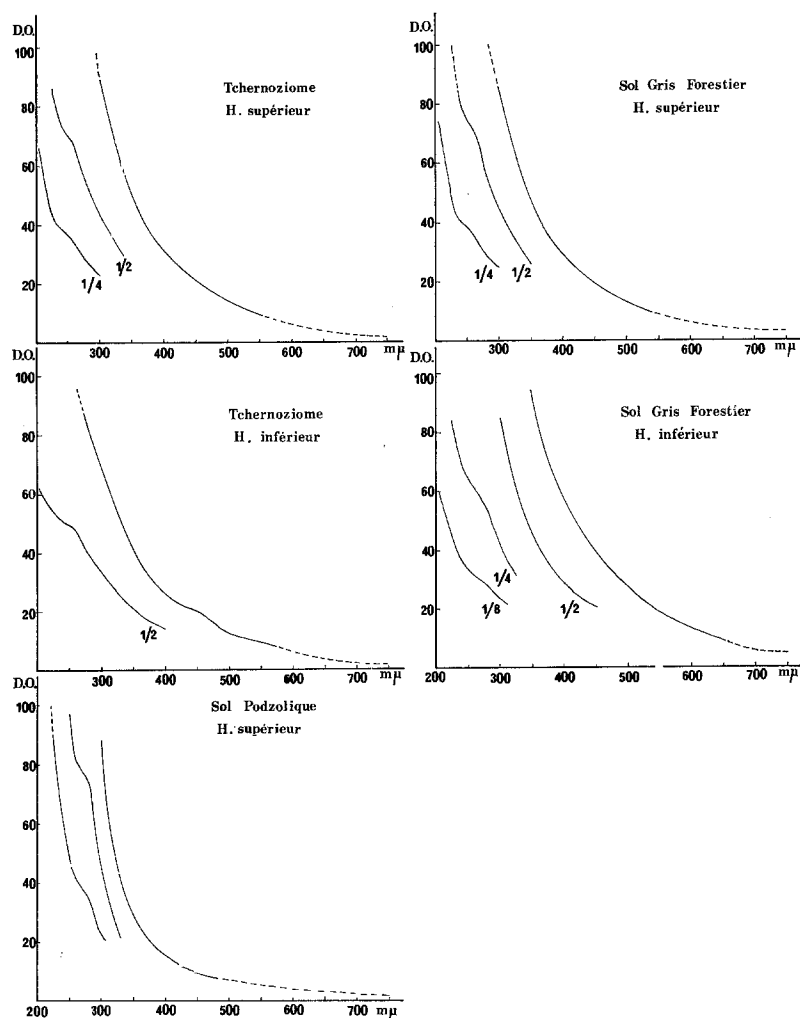


Fig. 4. Spectres de la portion centrale de la fraction III obtenue par chromatographie des acides humiques sur gel de dextrane 'Sephadex G 25 F, (2) Spectrophotomètre Beckman DB-G.

importance que pour $\lambda < 250 \text{ m}\mu$ et un rôle considérable que pour $\lambda < 225 \text{ m}\mu$. La présence éventuelle de silicates n'est donc pas une explication suffisante des fortes pentes observées dès $350 \text{ m}\mu$.

Par contre, il est vraisemblable, quoiqu'on n'ait pas étudié à fond ce phénomène, qu'il y a lieu de considérer également un 'effet de dilution'.

Pour un étude plus poussée des spectres, trois éléments sont traditionnellement considérés: la hauteur des courbes, leur pente, les accidents secondaires.

La hauteur des courbes n'a de signification précise que si elle est associée à la teneur en C des solutions, qui n'a pu être dosé ici. On n'y insistera donc pas.

Pour apprécier la pente des courbes, le rapport de Welte ¹² ne peut être employé ici car les D.O. à 665 m μ sont trop faibles pour être significatives. On a donc utilisé D.O. 300 m μ /D.O.450 m μ , ces valeurs pouvant être mesurées avec une précision convenable (tableau 2).

TABLEAU 2

Etude de la fraction III, zone centrale

Nature de l'échantillon	Profondeur en cm	D.O. 300 m μ	Pic Z: λ max	Autre pic: λ max
		D.O. 450 m μ		
Tchernoziome ordinaire	0-16	4,2	262	462
	20-35	3,9	262	
Sol Gris Forestier	0-12	4,1	262	462
	16-29	5,3	274	
Sol Podzolique	0- 6	8,8	278	

La fraction III du Podzol, horizon supérieur, avec un rapport de 8,8 se distingue nettement des autres. On peut donc penser que les acides humiques constituant ces fractions III, quoique homologues entre les échantillons et assez voisines, ne sont pas pour autant totalement identiques.

On a aussi effectué les rapports D.O. 212 m μ /D.O. 300 m μ . Mais deux phénomènes peuvent ici se superposer: la présence de silicates, dont on a déjà signalé qu'ils absorbent fortement pour $\lambda < 225$ m μ , et un possible effect de dilution, ce qui rend ce rapport peu exploitable, et même peu reproductible expérimentalement.

Deux accidents de deuxième ordre peuvent être relevés sur les spectres.

Le premier, situé vers 462 m μ , ne se trouve que sur la courbe correspondant en Tchernoziome inférieur dont il constitue une particularité marquante. Il est évidemment bien difficile de l'interpréter. Cependant, il confirme la non identité des fractions homologues.

Le deuxième accident (pic Z), situé dans la région 250–300 $m\mu$, est présent chez tous les échantillons, mais λ_{\max} dérive quelque peu vers les grandes λ lorsqu'on passe du Tchernozïome au Podzol (tableau 2).

Cet accident ne paraît pas dû à la présence de silicates car il lui correspondrait alors, aux courtes λ , une pente bien plus forte que celle que l'on observe.

L'alumine pouvait également être soupçonnée. Mais on a constaté expérimentalement que dans cette région du spectre, cette substance n'absorbe que dans une bande relativement étroite autour de 223 $m\mu$, valeur à laquelle ces spectres d'acides humiques ne présentent pas d'accident. L'alumine n'est donc pas présente en quantité repérable dans les solutions étudiées.

C'est pourquoi il semble bien que ce pic Z doive être rapproché de l'accident similaire que présentent, vers 280 $m\mu$, les dilutions au 1/16 de acides humiques non fractionnés (fig. 1). La signification chimique des deux séries d'accidents est probablement identique. Ceci montre que les acides humiques constituant la fraction III sont très proches de ces acides humiques non fractionnés, et au contraire éloignés de la lignine qui présente, dans cette région du spectre, un pic très accusé.

Malgré leur poids moléculaire relativement faible, les acides humiques constituant la fraction III sont donc parfaitement humifiés.

2 – Spectres obtenus avec la totalité de la fraction III (fig. 5)

Ces spectres sont valables jusqu'à 200 $m\mu$, et il faut souligner qu'aucun phénomène particulier n'apparaît entre 205 et 200 $m\mu$.

Les courbes ont la même allure que celles obtenues ci-dessus. Elles sont plus basses à cause de la moindre concentration, et ceci atténue les accidents signalés précédemment. De même, l'étude des pentes ne pourrait se faire que sur D.O. 212 $m\mu$ /D.O. 300 $m\mu$ et on a vu combien cela était aléatoire.

Par contre, on voit apparaître, vers 225 $m\mu$, sur certains enregistrements (Tchernozïome horizon inférieur, Sol Gris Forestier horizon inférieur, Podzol horizon inférieur), et de façon occasionnelle, un léger accident qui est bien proche de la bande d'absorption de l'alumine indiquée ci-dessus.

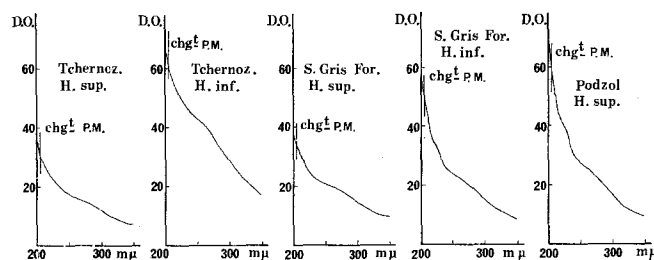


Fig. 5. Spectres U.V. de la totalité de la fraction n° III séparée par chromatographie des acides humiques sur gel de dextrane 'Sephadex' G 25 F (2) – Spectrophotomètre Beckman DK-2A.

Cela confirme en tout cas l'opinion émise² selon laquelle le pic III dans son ensemble n'est pas homogène.

Le volume des solutions étant connu ici, on a calculé les 'quantités de couleur' correspondant à la fraction III en effectuant le produit :

$$\text{D.O. à } 300 \text{ m}\mu \times \text{Volume en ml.}$$

Les résultats sont présentés dans le tableau 3.

TABLEAU 3

Etude de la fraction III, totalité

Nature de l'échantillon	Profondeur en cm	Quantité de C de la prise initiale (2) en mg	Volume de la fraction III en ml	D.O. à 300 mμ	Quantité de couleur à 300 mμ	Quantité de couleur à 300 mμ par mg C initial
Tchernoziome ordinaire	0-16	5,2	150	12	1 800	344
	20-35	4,7	50	29	1 450	308
		2,3	50	15	750	326
Sol Gris Forestier	0-12	4,4	100	14	1 400	318
	16-29	4,8 pertes	55	15	—	—
Sol Podzolique	0-6	4,6	100	14,7	1 470	316

Pour un même échantillon, la comparaison entre 'les quantités de couleur' obtenues pour des fractionnements différents montre qu'il existe une assez bonne reproductibilité et ceci d'autant plus que, le volume final étant identique, un effet de dilution n'entre pas en jeu.

On peut en conclure que le fractionnement sur gel Sephadex G 25 F met en évidence une limite réelle parmi les acides humiques du mélange initial.

On a ensuite rapporté ces 'quantités de couleur' au mg C des acides humiques initialement introduit sur le Sephadex pour le fractionnement. Pour tous les échantillons (excepté celui où il y a eu des pertes), on a trouvé des valeurs du même ordre (à 20 pour cent près).

La loi de Beer

$$\text{D.O.} = K \times \text{Concentration}$$

peut aussi s'écrire:

$$\text{Volume} \times \text{D.O.} = K \times \text{Poids}$$

Si on applique cette formule à la portion de fraction III correspondant à 1 mg de carbone mis sur Sephadex, le premier terme de l'équation est donc du même ordre de grandeur pour les divers échantillons.

Quant au coefficient K, il a été montré³ que, dans l'intervalle 720–470 m μ , il est en relation directe avec le niveau de polymérisation des acides humiques. Il n'est pas aberrant, vu l'allure des courbes, d'extrapoler cela à 300 m μ . Or, ici, il s'agit uniquement des fractions III qui, par leur mode d'obtention même, ont un niveau de polymérisation très voisin. On peut donc admettre que le coefficient K, s'il n'est pas identique, est au moins du même ordre pour les diverses fractions III. Cela est d'autant plus concevable que les volumes ne varient que dans le rapport 1 à 3, ce qui réduit considérablement l'incidence d'un effet de dilution.

Il en résulte que la proportion des petites molécules d'acides humiques dans l'extraction par NaOH 0,1 N² est du même ordre de grandeur, quel que soit l'échantillon considéré.

C. Etude des différentes fractions d'acides humiques du Tchernozème inférieur².

Sur les figures 4 (fraction III), 6 et 7, on remarque en premier lieu la similitude d'allure générale des ces spectres et de ceux qui ont été obtenus ci-dessus.

Ceci implique une grande ressemblance entre les structures chimiques des diverses fractions obtenues par séparation sur Sephadex.

Les hauteurs des courbes ne sont pas utilisables puisque la teneur en carbone n'est pas connue et que, de plus, le niveau de polymérisation varie.

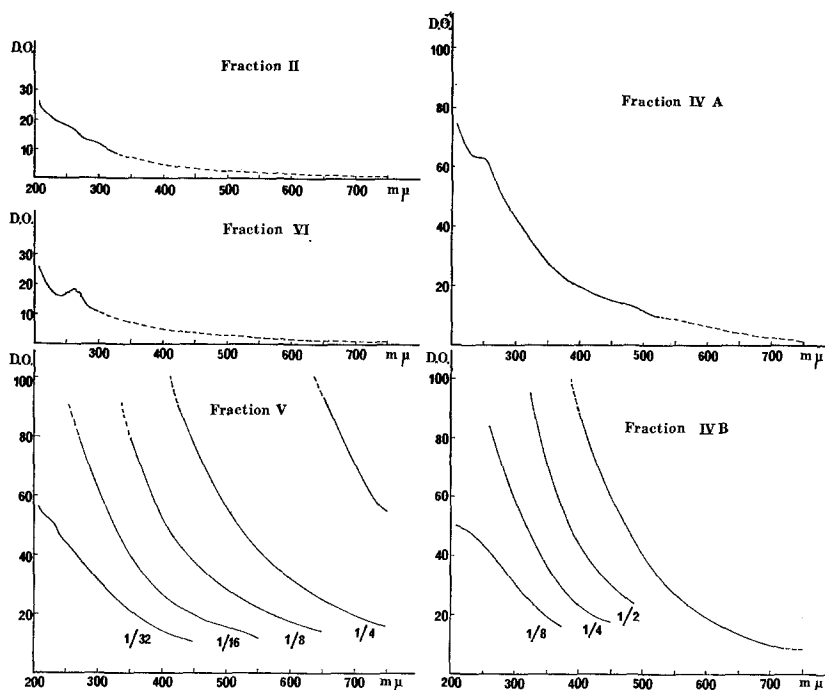


Fig. 6. Spectres de la portion centrale des fractions II, IV A, IV B, V et VI obtenues par chromatographie des acides humiques sur divers gels de dextrane 'Sephadex'²

La pente des courbes est peu exploitable aux grandes λ à cause des faibles valeurs de D.O. et aux courtes λ à cause de la multiplicité des facteurs susceptibles d'influer sur ces D.O. Seuls, de légers accidents de 2ème ordre sont susceptibles de singulariser quelque peu certains spectres ainsi qu'on peut le voir sur les figures.

On a déjà mentionné l'accident situé vers $460 \text{ m}\mu$ pour la fraction III.

La fraction VI présente vers $260 \text{ m}\mu$ une série d'ondulations très caractéristiques et que l'on n'a pas retrouvées ailleurs. Ceci confirme l'individualité de cette fraction VI, malgré sa faible importance quantitative².

Les fractions II, III, IV région postérieure (IV A), VIII, XB présentent un accident vers $262 \text{ m}\mu$, tandis que IV région antérieure (IV B), V, VII, IX ne présentent pas cet accident. Cependant, si on se reporte à l'étude des acides humiques non fractionnés, on voit que

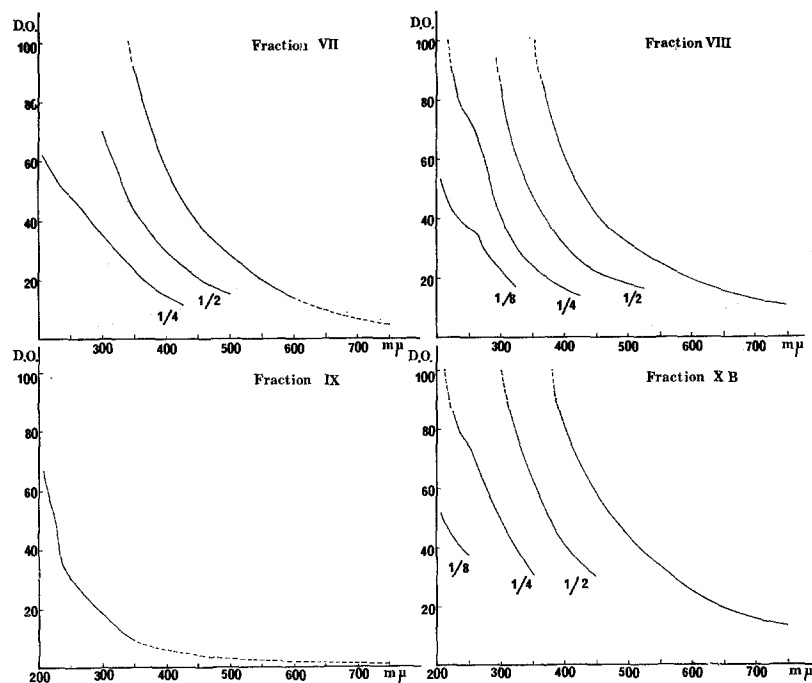


Fig. 7. Spectres de la portion centrale des fractions VII, VIII, IX et X B obtenues par chromatographie des acides humiques sur divers gels de dextrane 'Sephadex'².

cette distinction peut être liée à un effet de dilution. Toutefois, ce phénomène n'explique pas tout. Par exemple, la fraction VII a une D.O. moindre que celle de VIII et donc pourrait être plus diluée. Or, VII ne présente pas cet accident.

On a vu ci-dessus quelle pouvait être la signification chimique d'un pic situé dans cette région du spectre.

Enfin, le spectre de la fraction IX (fig. 7) présente une rupture de pente vers $240 m\mu$, un accident entre 235 et $210 m\mu$ et enfin une pente assez forte aux courtes λ . Il est possible que cela soit dû à une plus grande abondance, dans cette fraction d'acides humiques, de groupements organiques actifs dans cette région du spectre (doubles liaisons conjuguées, fonctions acides), mais cela peut tout autant indiquer la présence d'alumine et de silicates plus ou moins liés aux acides humiques.

Reçu le 18^{me} janvier, 1972

BIBLIOGRAPHIE

- 1 Bailly, J.-R. et Margulis, H., Etude de quelques acides humiques sur gel de dextrane. *Plant and Soil* **29**, 343-361 (1968).
- 2 Bailly, J.-R. et Titttonel, E., Etude de quelques acides humiques sur gel de dextrane (II). *Plant and Soil* **37**, 000-000 (1972).
- 3 Butler, J. H. A., and Ladd, J. N., 57-80 *Australian J. Soil Research* **7**, 229-239, (1969).
- 4 Jacquin, F., Contribution à l'étude des processus de formation et d'évolution de divers composés humiques. Th. Doc. Sci. Nat., Nancy (1963).
- 5 Kononova, M. M., L'Humus du Sol et les Problèmes Actuels de son Etude. Acad. Sc. U.R.S.S., Moscou (1951).
- 6 Kononova, M. M., and Belchikova, N. P., Humus der Böden der U.D.S.R.R. seine Natur und Rolle in Bodenbildungsprozessen, VI^e Congr. Intern. Sci. Soil., Paris, II, 22, p. 557-565, cité d'après 4.
- 7 Ladd, J. N., The extinction coefficient of soil humic acids fractionnated by 'Sephadex' gel filtration, *Soil Sci.* **107**, 303-305, (1969).
- 8 Lindquist, I., On the Extraction and Fractionnation of Humic Acids, *Lantbruks-högsk. Ann.* **34**, 377-389, (1968).
- 9 Robert-Géro, M., Vidal, G., Hardisson, C., Le Borgne, L., et Pochon, J., Etude biogénétique des polymères humiques. Relation entre polymères humiques naturels, d'origine microbienne, et lignine. *Ann. Inst. Pasteur* **113**, 911-921, Déc. 1967.
- 10 Shubert, W. J., *Lignin Biochemistry*. Academic Press, 17 (1965).
- 11 Sokolov, D. F., et Sudnicyna, T. N., (en russe) Composition et propriétés optiques des acides humiques de certains sols forestiers. *Dokl. Akad. Nauk.*, **138**, 931-934, 1961, d'après *Soils and Fertilizers*, **XXIV** (23-69).
- 12 Welte, E., Neue Ergebnisse der Humus Forschung, *Z. Angew. Chem.* **67**, 5, 153-155, (1955).
- 13 Ziechmann, W., Spectroscopic investigations of lignin, humic substances and peat, *Geochem. et Cosmochem A.* **28**, 1555-1566, (1964).