

CARACTERISATION DES MATIERES ORGANIQUES DES SOLS PAR LA SPECTROPHOTOMETRIE UV

Antoine KHALIL – Société OvinAlp – Le Plan – 05300 RIBIERS

Elie DUNAND – Société Cybèle agro - 1271 Avenue des Marches - 84200 CARPENTRAS

I- Introduction

Les matières organiques des sols ont 3 rôles importants : énergétique, physique et nutritionnel.

Afin de prévoir si ces matières organiques peuvent participer activement (ou pas) à la nutrition des plantes, il est indispensable de déterminer l'activité microbienne du sol, son taux de matières organiques et surtout la nature de ces matières organiques.

Les matières organiques des sols sont historiquement classées en 3 fractions : facilement, moyennement et difficilement biodégradables.

La connaissance de la répartition des matières organiques au sein de ces 3 fractions est indispensable pour préconiser la matière fertilisante la mieux adaptée à chaque contexte agropédologique.

L'activité microbienne d'un sol et son taux de matière organique totale sont facilement déterminés. La mesure de l'activité microbienne est axée sur la détermination de la quantité de dioxyde de carbone libérée ou de l'oxygène consommée par les micro-organismes responsables de la biodégradation de la matière organique. Néanmoins, l'identification de la nature de ses matières organiques repose sur des techniques d'extractions assez complexes et les méthodes de caractérisation des matières organiques des matières fertilisantes organiques (Tr^{CMB} , ISB, ISMO), ne sont ni adaptées, ni adaptables, aux sols. En effet, les taux de matière organique (MO) des sols sont faibles en comparaison des taux de MO des matières fertilisantes organiques. C'est pourquoi, il est devenu indispensable d'utiliser d'autres méthodes de caractérisation, quantitatives et beaucoup plus sensibles, telle la spectrophotométrie UV qui fait l'objet de ce document.

L'utilisation de la spectrophotométrie UV-visible pour la caractérisation de la matière organique de plusieurs milieux (eau, effluents, composts, sols...) a été étudiée par de nombreux auteurs (Prudent et al, 1995 ; Thomas et al ; 1993 ; Domeizel et al, 2004 ; Khalil, 2005 ; Khalil et al, 2008). En effet, l'absorption des composés organiques dans l'UV-visible s'explique par la présence de chromophores dont les plus connus dans les composés humiques sont les doubles liaisons C=C, C=O et -N=N ou encore le groupement -NO₂. L'absorption des radiations de longueurs d'ondes comprises entre 250 et 300 nm est caractéristique des doubles liaisons présentes dans les composés aromatiques, principaux constituants des substances humiques (Khalil, 2005). Notre objectif, dont la priorité n'est pas la caractérisation structurale et intrinsèque des substances humiques, est principalement axé sur la quantification de ces substances humiques et des différentes fractions (acides humiques, fulviques et fraction non humique) dans la matière organique totale des sols.

II- Matériels et méthodes

II-1- Description des sols étudiés et du mode de prélèvement opéré :

Dans le cadre de cette étude, 475 échantillons de terres représentatives des zones agricoles de la région PACA (Figure 1) ont été prélevés selon un protocole inspiré de la norme NFU X31-100 (1992).

Les prélèvements des sols ont été opérés au moins 1 mois après l'apport d'un engrais et 3 mois après l'apport d'un amendement.

La moitié des prélèvements a été opérée dans la partie 5-20cm des sols et le reste à 3 profondeurs différents : 5-10 cm, 10-20 cm et 20-30 cm. L'objectif consiste à étudier l'effet de la profondeur sur la composition de la matière organique.

Les cultures concernées par cette étude sont la viticulture, l'arboriculture et le maraîchage, et selon les 2 modes de conduites : conventionnelle et biologique.



Figure 1 : Départements concernés par cette étude (source : mezel.fr)

Les échantillons prélevés ont été tamisés à 2 mm, puis séchés à 45 °C dans une étuve pendant 24 heures minimum.

II-2- Fractionnement et Caractérisation des matières organiques des échantillons de terre prélevés

Dans le cadre de cette étude, la méthode utilisée pour l'extraction et le fractionnement des matières organiques des sols est inspirée de la méthode de l'IHSS « International Humic Substances Society » (Khalil et al, 2008 ; Khalil, 2005 ; Domeizel et al, 2004 ; Watanabe et al, 2001 ; Swift, 1996 ; Watanabe and Kuwatsuka, 1991 ; De Nobili et al, 1990 ; Thurman and Malcolm, 1981). Elle consiste à fractionner la matière organique totale des sols (nommée les substances humiques totales : SHT), en 3 fractions (Figure 2) :

1- Les acides humiques (AH), qui sont par définition, la fraction des substances humiques, insoluble dans l'eau à pH acide ($\text{pH} < 2$). Ils sont solubles dans l'eau à pH basique ($\text{pH} \geq 13$). Les acides humiques qui sont des macromolécules de poids moléculaires élevés (> 200000 Da) représentent la fraction difficilement biodégradable des substances humiques totales.

2- Les acides fulviques (AF) qui sont des macromolécules moins évoluées que les acides humiques. Ils représentent la fraction des substances humiques soluble dans l'eau à tout pH. Ils représentent la fraction de la matière organique moyennement biodégradable.

3- La fraction non humifiée (FNH), qui est formée de petites molécules qui possèdent des structures moléculaires identifiées, à l'inverse des acides humiques et fulviques. Ses différents constituants sont des sucres, des lipides et des acides aminés. Elle représente la fraction de la matière organique la plus réactive (à l'exception des lipides saturés et des sucres synthétisés par les micro-organismes du sol pour leur métabolisme) (Lichtfouse et al, 1998).

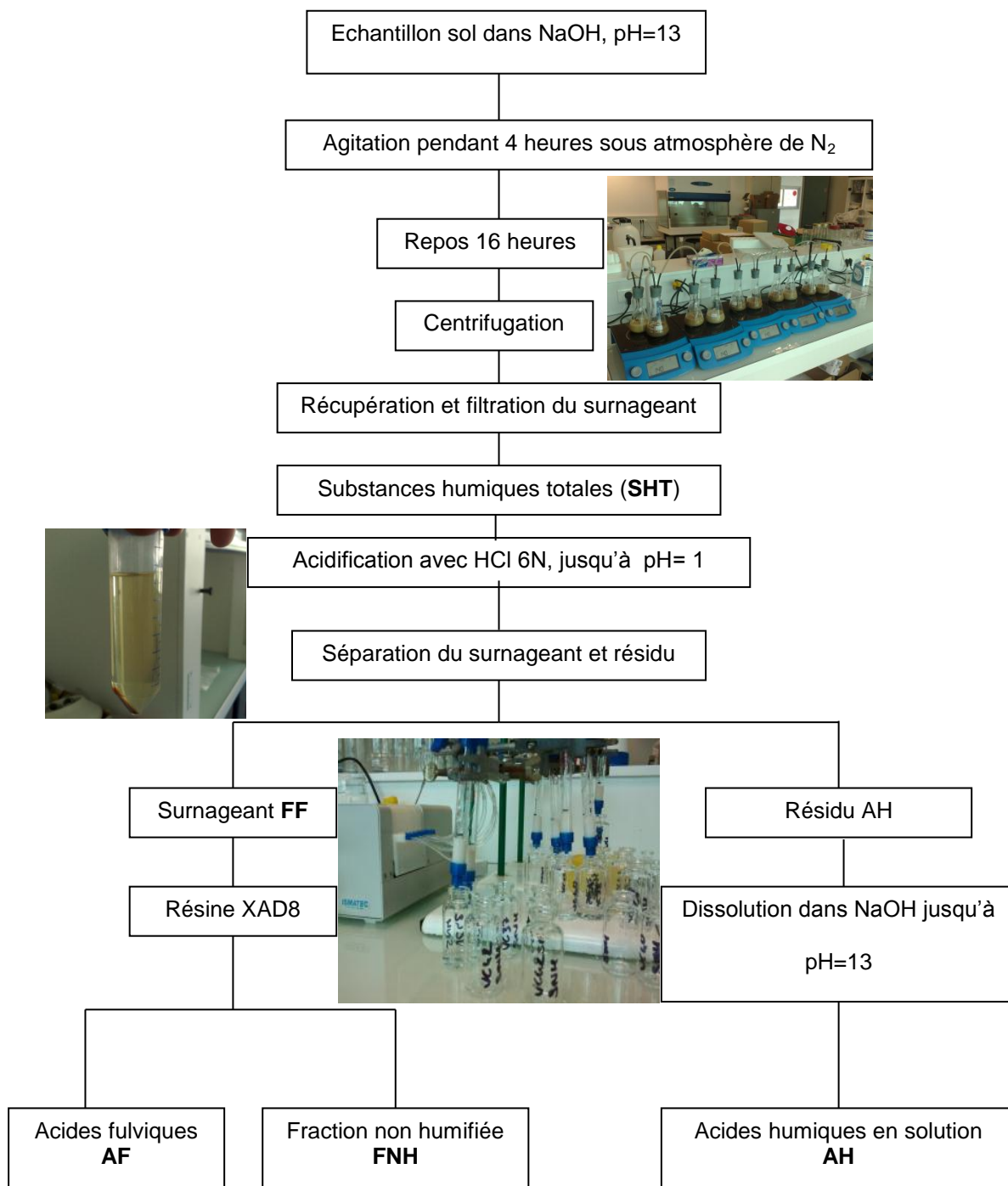


Figure 2 : Protocole d'extraction et de séparation des substances humiques totales (SHT), des acides humiques (AH), des acides fulviques (AF) et de la fraction non humifiée (FNH) (Khalil, 2005 ; Domeizel et al, 2004).

Après l'extraction de toutes les fractions citées ci-dessus, le carbone organique total (COT) a été mesuré à l'aide d'un analyseur de carbone organique total « SHIMADZU TOC – L CSN (200-240V) » et les spectres UV ont été tracés entre 200 et 350 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS « S2 UV Line 9400 », sur chacune des fractions.

II-3- Modélisation de la relation entre les substances humiques totales (SHT) et les différentes fractions humiques (AH, AF et FNH)

La méthode de déconvolution des spectres UV des substances humiques totales, des acides humiques, des acides fulviques et de la fraction non humifiée a été utilisée dans cette étude pour modéliser la relation entre les substances humiques totales (SHT) d'une part et les acides humiques (AH), fulviques (AF) et fraction non humifiée (FNH) d'autre part.

Le but de cette modélisation consiste à obtenir à partir de la simple réalisation du spectre UV des substances humiques totales une quantification précise des acides humiques, fulviques et de la fraction non humifiée, contenus dans ces substances humiques totales.

Le principe de la déconvolution spectrale consiste à considérer chaque spectre échantillon, noté SI, comme une combinaison linéaire de plusieurs spectres de références, notés SR (Réf 1, ..., Réf p) (Thomas et al, 1993). Ces spectres caractérisent un état donné ou des composés spécifiques présents dans les extraits de la matière organique totale selon la relation suivante :

$$SI = \sum_{i=1}^p a_i \cdot SR_i \pm r$$

Où : a_i et r sont respectivement le coefficient de contribution du i ème spectre de référence dans la combinaison linéaire et l'erreur admise.

Dans cette étude, compte tenu du protocole d'extraction des fractions humiques, les spectres de référence seront choisis d'une manière statistique et automatique. Les spectres UV des substances humiques totales (SHT) sont une combinaison linéaire des spectres UV des acides humiques (AH), des acides fulviques (AF) et de la fraction non humifiée (FNH), selon la relation suivante :

$$S_{SHT} = a_1 S_{AH} + a_2 S_{AF} + a_3 S_{FNH} \pm r$$

Où : a_1 , a_2 , a_3 et r sont respectivement les coefficients de contribution des acides humiques (AH), des acides fulviques (AF), de la fraction non humifiée (FNH) et l'erreur admise.

III- Résultats et Discussions

Une base de référence composée de 3 spectres représentatifs de l'ensemble des spectres des AH, AF et FNH a été calculée par déconvolution spectrale (Figure 3).

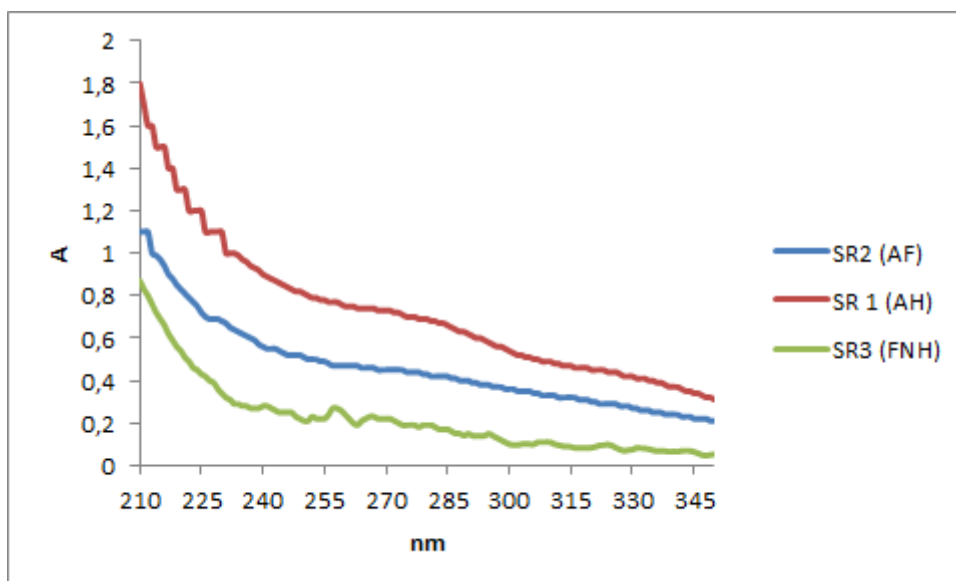


Figure 3 : base de référence calculée par déconvolution spectrale à partir des spectres des différentes fractions humiques (acides humiques, acides fulviques et fraction non humique)

La corrélation entre la concentration en carbone organique total dissous calculée et celle mesurée en laboratoire, obtenue à l'aide de cette base référence est significative (Figure 4).

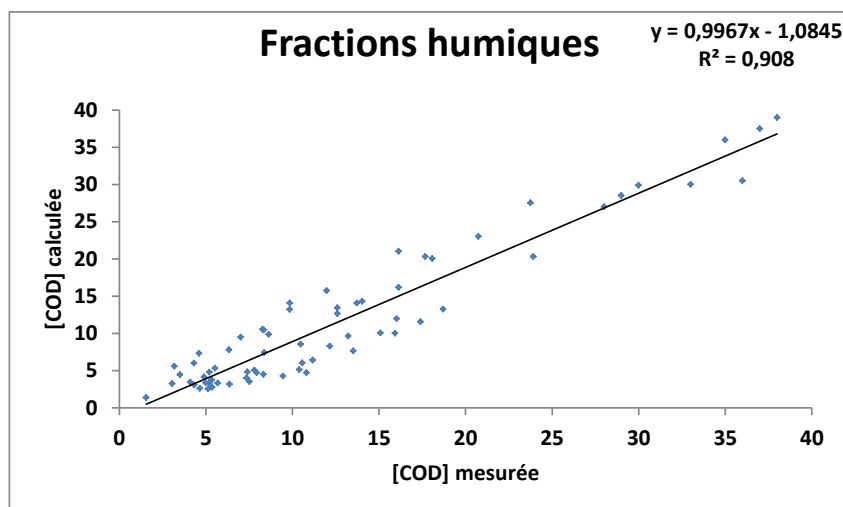


Figure 4 : corrélation entre la concentration en carbone organique total dissous mesurée sur les différentes fractions humiques (acides humiques, acides fulviques et substances non humiques) et celle calculée à l'aide de la base de référence obtenue par déconvolution spectrale.

Cette corrélation permet d'utiliser cette base de référence (Figure 3) afin de calculer à partir du spectre UV des SHT, la quantité du carbone organique total dissous ainsi que sa répartition entre les 3 fractions : AH, AF et FNH (Figure 5).

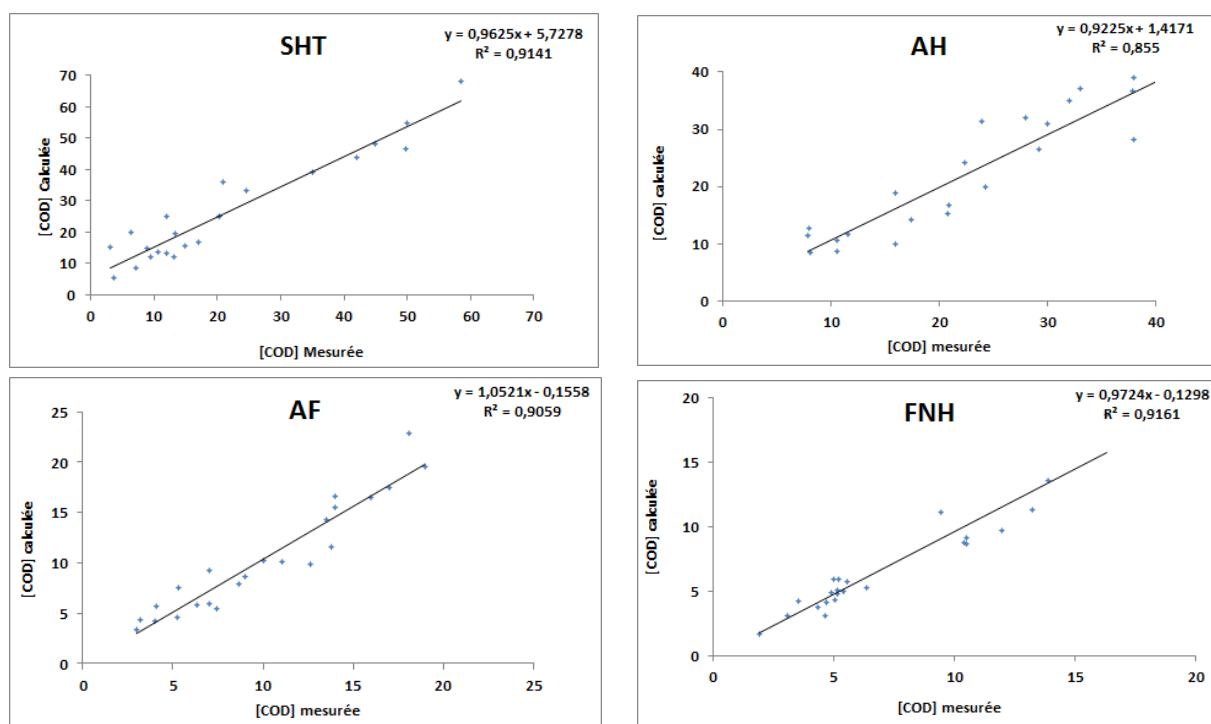


Figure 5 : corrélations entre les concentrations en carbone organique dissous mesurées et calculées, établies pour les substances humiques totales et les différentes fractions humiques (acides humiques, acides fulviques et fraction non humifiée).

IV- Conclusions et Perspectives

L'estimation de la quantité des substances humiques totales (SHT) et de leur répartition entre les acides humiques (AH), acides fulviques (AF) et les substances non humifiées (FNH), par déconvolution spectrale ont pu être réalisées pour les sols étudiés. Les résultats obtenus montrent des coefficients de corrélations satisfaisants entre les quantités des différentes fractions humiques calculées et mesurées.

Il est à noter que la précision des informations obtenues à l'aide de la déconvolution spectrale, s'explique par le fait que la spectrophotométrie UV permet d'avoir une approche globale de la structure chimique des molécules, et en particulier de leurs structures aromatiques. En effet, l'épaule entre 250 et 300 nm est essentiellement dû aux composés aromatiques, caractéristiques de l'humification. Cette approche globale de la structure ne peut pas être apportée par une simple mesure des concentrations de carbone.

Le protocole analytique qui permet d'extraire les substances humiques totales est nettement plus rapide et plus facile à mettre en œuvre, que le protocole d'extraction des acides humiques, fulviques et des substances non humifiées. Ainsi, à partir d'un seul spectre de substances humiques, les coefficients associés à chacun des spectres de références peuvent être calculés, et par la suite les teneurs en acides humiques, acides fulviques et en fraction non humifiée.

L'utilisation de cette méthode analytique peut donc être envisagée pour la caractérisation des matières organiques des sols.

L'objectif à court terme consiste à étudier l'impact de la nature des matières organiques des sols sur leur vie microbienne, puis à moyen et long terme, de reproduire ce modèle sur d'autres régions, afin d'établir un modèle valable pour les sols agricoles français.

V- Références bibliographiques

AFNOR - NF X 31-100, 1992. Qualité des sols – échantillonnage – Méthode de prélèvement d'échantillons de sols.

De Nobili, M., G. Bragato, J.M. Alcaniz, A. Puigbo, and L. Comellas. 1990. Characterization of electrophoretic fractions of humic substances with different electrofocusing behavior. *Soil Sci.* 150:763-770.

Domeizel, M., Khalil, A., Prudent, P., 2004. UV spectroscopy: a tool for monitoring humification and for proposing an index of the maturity of compost. *Bioresour. Technol.* 94: 177-184.

Khalil, A., Domeizel, M., Prudent, P., 2008. Monitoring of the green waste composting process based on the redox potential. *Bioresource Technology*, 99 (14): 6037-6045.

Khalil A. Etude de la biodégradabilité et du compostage de déchets verts de la région méditerranéenne: proposition de paramètres de terrain pour le suivi de l'évolution de la matière organique. Phd at Université de Provence, Marseille France, 2005.

Lichtfouse, E., Chenu, C., Baudin, F., Leblond, C., Da Silva, M., Behar, F., Derenne, S., Largeau, C., Wehrung, P., Albrecht, P., 1998. A novel pathway of soil organic matter formation by selective preservation of resistant straight-chain biopolymers : chemical and isotop evidence. *Org. Geochem.* 28 (6): 411-415.

Prudent, P., Domeizel, M., Massiani, C., Thomas, O., 1995. Gel chromatography separation and UV spectroscopie characterization of humic substances in urban compost. *The Science of the Total Environment.* 172: 229-235.

Swift, R.S. 1996 Organic matter characterization (chap 35). pp. 1018-1020. In D.L. Sparks et al. (eds) *Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods.* Soil Sci. Soc. Am. Book Series: 5. Soil Sci. Soc. Am. Madison, WI

Thomas, O., Theraulaz, F., Domeizel, M., Massiani, C., 1993. UV spectral deconvolution, a valuable tool for wastewater quality determination. *Environ. Technol.* 4: 1187-1192.

Thurman, E.M., and R.L. Malcolm. 1981. Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.* 15:463-466.

Watanabe, A., and S. Kuwatsuka. 1991. Fractionation of soil fulvic acids using polyvinyl-pyrrolidone and their ionization difference spectra. *Soil Sci. Plant Nutr.* 37:611-617.

Watanabe, A., Sarno-Rumbanraja, J., Tsutsuki, K., Kimura, M., 2001. Humus composition of soils under forest, coffee and arable cultivation in hilly areas of south Sumatra, Indonesia. *European Journal of Soil Science.* 52: 599-606.