

ORSTOM

R.

ETUDE DU DEVENIR DE L'ACIDE CITRIQUE DANS UN POZZOL ET UN SOL  
BRUN LESSIVE AU MOYEN DU  $^{14}\text{C}$  ET DES METHODES RESPIROMETRIQUES

---

Mémoire présenté à la FACULTE des SCIENCES de  
l'UNIVERSITE de NANCY pour obtenir le diplôme  
d'Etudes Approfondies de PEDDLOGIE.

par Pierre ROGER

OCTOBRE 1968

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire  
N° : 28752  
Cote : B Ex 1

ETUDE DU DEVENIR DE L'ACIDE CITRIQUE DANS UN PODZOL ET UN SOL  
BRUN LESSIVE AU MOYEN DU  $^{14}\text{C}$  ET DES METHODES RESPIROMETRIQUES

---

Parmi les acides organiques libérés par les litières végétales, l'acide citrique occupe une place prépondérante. BRUCKERT et JACQUIN (1967) ont pu montrer que le matériel résineux libère par hectare et par an 14 fois plus d'acide citrique que le matériel feuillu et que, d'autre part, le coefficient de disparition de cet acide étant de 95 % dans le mull et au plus, de 50 % dans le mor, l'horizon A<sub>2</sub> d'un podzol reçoit 140 fois plus d'acide citrique que l'horizon A<sub>2</sub> d'un sol lessivé.

Comme suite à ce travail, il semblait donc intéressant d'étudier le devenir de l'acide citrique dans les sols et ce, suivant deux optiques : la première, au moyen de méthodes respirométriques, nous conduisant à étudier la vitesse de dégradation ; la deuxième, au moyen des éléments marqués, nous permettant de caractériser les transformations et l'incorporation dans les différentes fractions du sol.

A - CHOIX ET ANALYSE DES SOLS UTILISES (Planche I)

Pour cette étude, nous nous sommes limités aux horizons les plus caractéristiques d'un sol brun lessivé (AI) et d'un podzol humo-ferrugineux (AI, Bh).

Le sol brun lessivé a été prélevé sur la station de la Grande Fraize (forêt de Haye, Meurthe et Moselle) ; le podzol humo-ferrugineux a été prélevé à TAINTRUX (Vosges). Ces deux sols ont été respectivement décrits par BRUCKERT et JACQUIN (1967) et par DOMMARGUES et DUCHAUFOR (1966).

Les caractéristiques physico-chimiques des horizons utilisés sont résumées dans le tableau ci-après.

B - SCHEMA GENERAL DE L'EXPERIENCE (Planches 2, 3, 4)

1. Expérience préliminaire :

Pour chacun des trois horizons, quatre échantillons de 50 g sont mis à incuber à 23° C. Deux sont enrichis par une solution apportant 5 pour mille d'acide citrique en poids, deux servent de témoin.

Une mesure journalière du CO<sub>2</sub> dégagé permet par différence, d'évaluer la vitesse de dégradation de l'acide citrique dans ces horizons.

D'autre part, cette expérience nous a permis de déterminer la date la plus favorable (5 jours) pour l'incubation avec citrique marqué.

2. Expérience avec acide citrique marqué :

a) Pour chaque horizon, deux échantillons enrichis par une solution apportant 5 pour mille d'acide citrique en poids et une activité de 8 micro-curies / 50 g sont mis à incuber à 23° C pendant cinq jours. Une mesure journalière de 14 CO<sub>2</sub> dégagé est effectuée.

Après incubation, on prélève dans chaque échantillon deux fractions de 5 grammes. La première sert à mesurer l'humidité. La deuxième est utilisée pour mesurer le pH puis est reprise pour mesurer la teneur totale en 14 C.

pH	matière organique %	Carbone %	Azote %	C/N	acides Fulviques C %	acides humiques C %	V	humidité avant expérience %
Sol Brun lessivé - Grande Fraize - Horizon A1								
6	—	2.68	0,25	10,7	—	—	73.2	47
Podzol humo-Ferrugineux . Taintrux - Horizon A1 : première ligne Horizon Bh : deuxième ligne								
3,4	28,8	14,4	0,39	37	0,54	1,89	6	53
~ 4	2,8	1,6	0,05	32	1,01	1,46	3	45

— Analyse des sols —

Les échantillons sont ensuite réunis deux à deux et subissent une extraction des hydrosolubles par trois agitations et centrifugations successives.

b) Etude de la fraction hydrosoluble

La solution est amenée à pH 8.2 ce qui, tout en permettant de mesurer l'acidité titrable, sert à obtenir une meilleure séparation sur résine.

Par passage sur résine cationique et anionique puis élution de ces résines, les hydrosolubles sont séparés en fractions neutres, alcalines et acides.

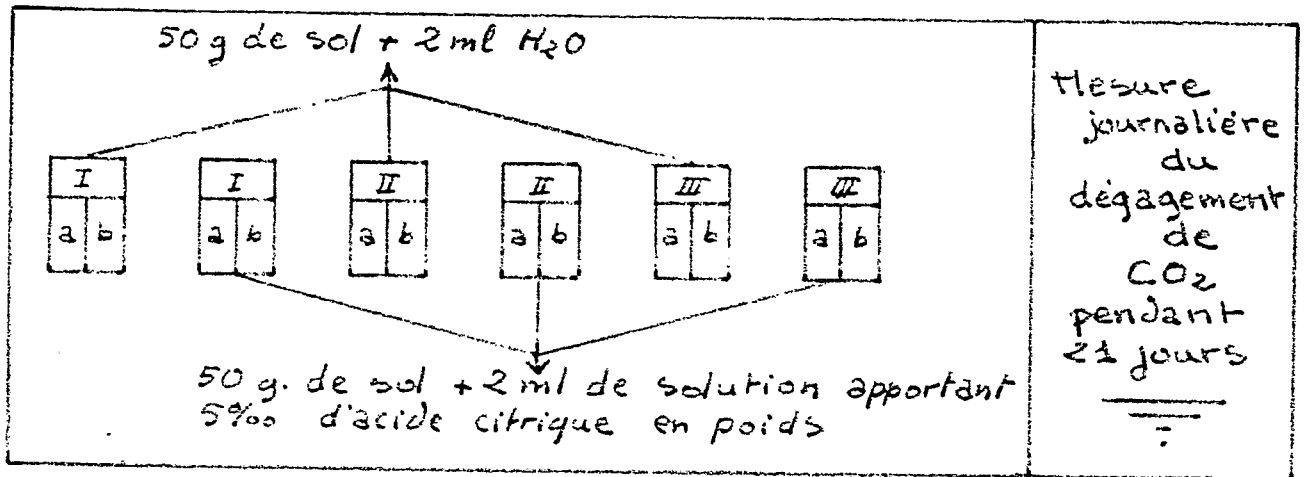
Ces différentes fractions sont alors amenées par évaporation au "Rotavapor" à des volumes les plus faibles possibles. Leur étude est ensuite effectuée au moyen de déposes sans migration ou de chromatographies sur papier suivis d'autoradiographie, d'autre part, une fraction aliquote est brûlée pour déterminer la teneur en  $^{14}\text{C}$ .

c) Etude du culot

Sur ce culot, on effectue deux extractions à la soude 0.1 N permettant d'extraire les acides humiques et fulviques qui sont ensuite séparés. Une fraction aliquote est ensuite brûlée permettant de déterminer la teneur en  $^{14}\text{C}$  de l'humine et des acides fulviques et humiques.

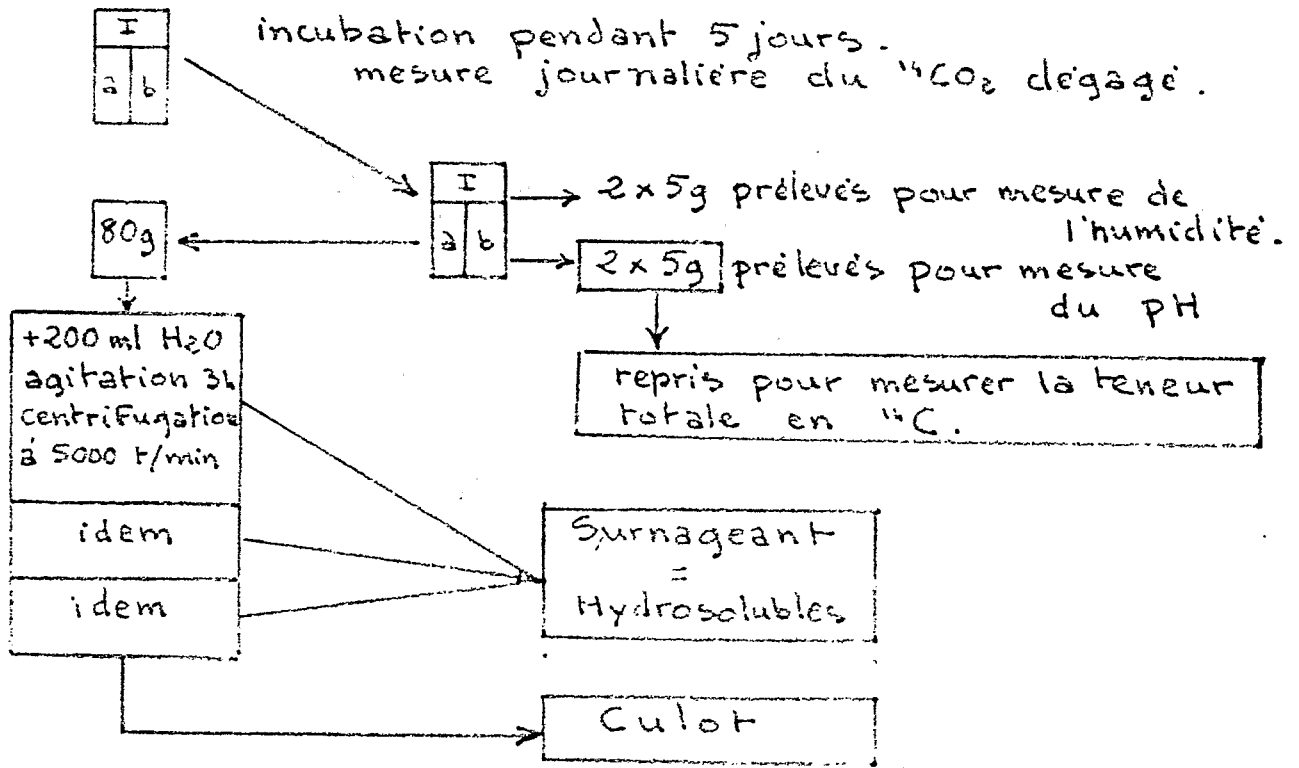
- Schéma général de l'expérience -

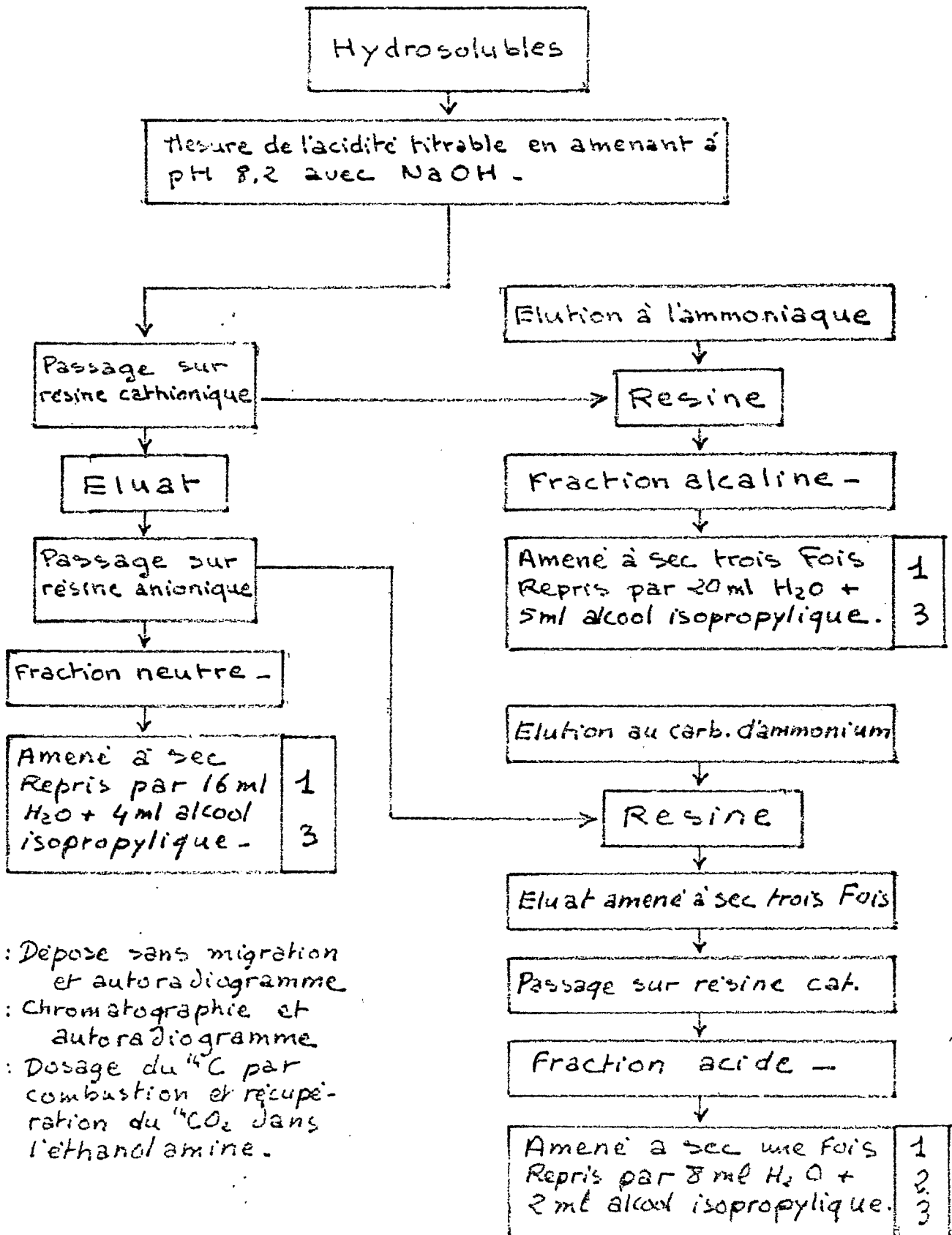
Expérience préliminaire :



Permet de déterminer la vitesse approximative de dégradation de l'acide citrique et la date d'arrêt la plus favorable pour l'incubation avec acide citrique marqué -

Expérience avec acide citrique marqué : (schématisé pour 100g)

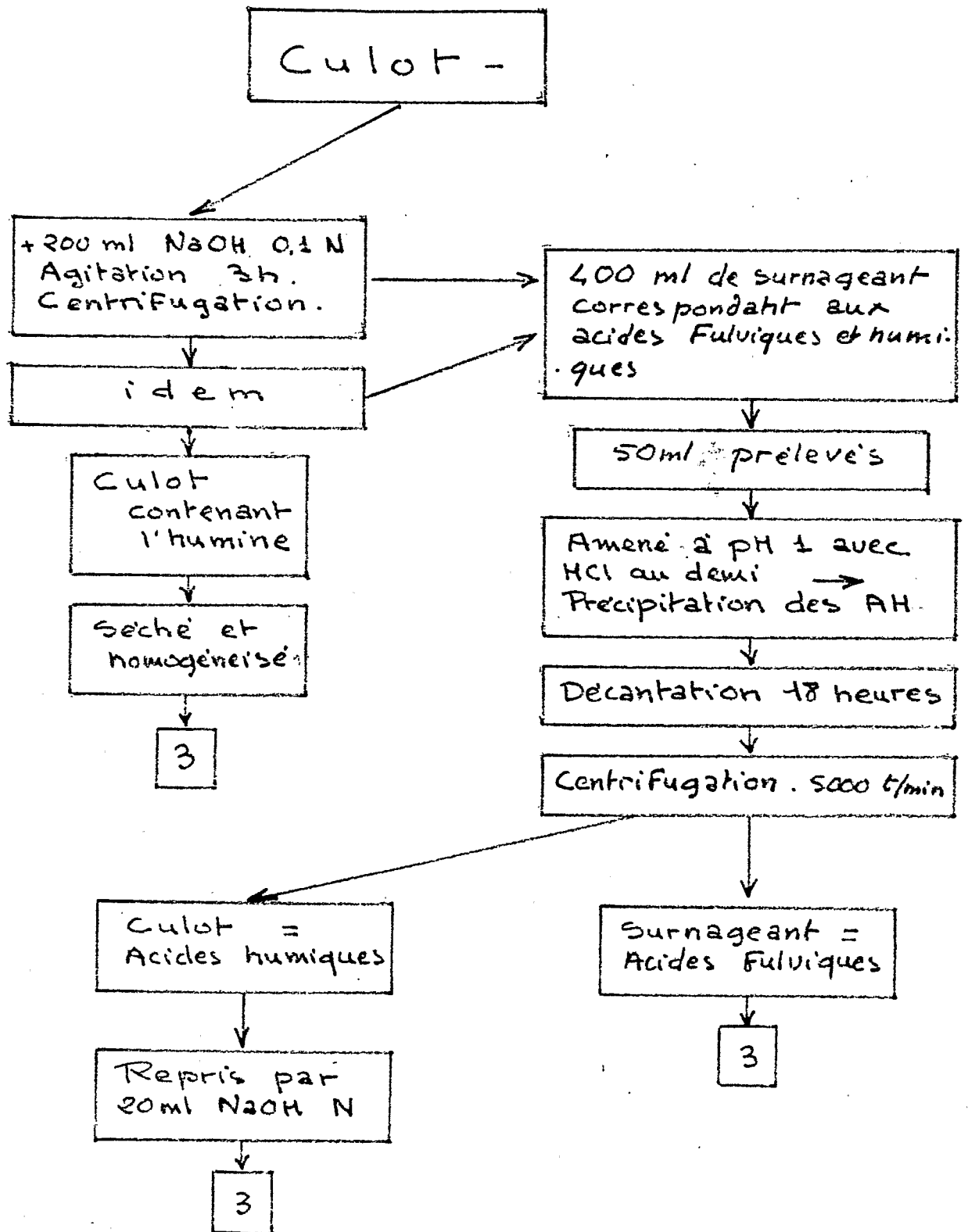




- 1: Dépose sans migration et autoradiogramme
- 2: Chromatographie et autoradiogramme
- 3: Dosage du <sup>14</sup>C par combustion et récupération du <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> dans l'éthanolamine.



Planche 4



II - ETUDES RESPIROMETRIQUES

A. Préparation des échantillons de sol

B. Préparation de la solution d'arrosage

C. Montage respirométrique

D. Dosage du CO<sub>2</sub> dégagé

E. Résultats

1. Expérience préliminaire
  2. Expérience avec acide citrique marqué
  3. Tentative d'explication de la disparité des courbes de dégagement de CO<sub>2</sub> et C<sup>14</sup>O<sub>2</sub>.
-

#### A - PREPARATION DES ECHANTILLONS DE SOL

Les sols ont été prélevés sur le terrain cinq jours avant la mise en route de l'expérience.

Aussitôt ramenés, au Laboratoire, ils sont grossièrement triés et laissés à ressuyer pendant deux heures.

Ils sont ensuite forcés à travers les mailles d'un tamis de 2 mm puis placés dans des sacs de plastique d'une température de 0° C en attendant la mise en incubation.

#### B - PREPARATION DE LA SOLUTION D'ARROSAGE

Sa composition est la suivante :

- . 12.5 ml d'eau distillée ;
- . acide citrique marqué sur le 1er et le 5ème carbone correspondant à une activité de 50 microcuries (on en néglige le poids) ;
- . 1.5625 grammes d'acide citrique non marqué.

2 ml de cette solution apportés dans 50 g de sol correspondent donc à une teneur de cinq pour mille d'acide citrique en poids et à une activité de 8 microcuries.

0.5 ml de cette solution sont utilisés pour faire des déposes sur papier Whatman afin d'obtenir des témoins pour les autoradiographies, les combustions et les comptages au scintillateur.

Lors de l'expérience préliminaire, la composition de la solution d'arrosage est la même, exception faite de l'acide citrique marqué qui n'a pas été ajouté.

#### C - MONTAGE RESPIROMETRIQUE

Ce montage est composé de six unités doubles (Planche 5) permettant de traiter simultanément douze échantillons.

Ces six unités sont reliées à une pompe pulsante à faible débit du type des pompes pour oxygénation de l'eau des aquariums.

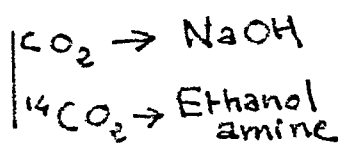
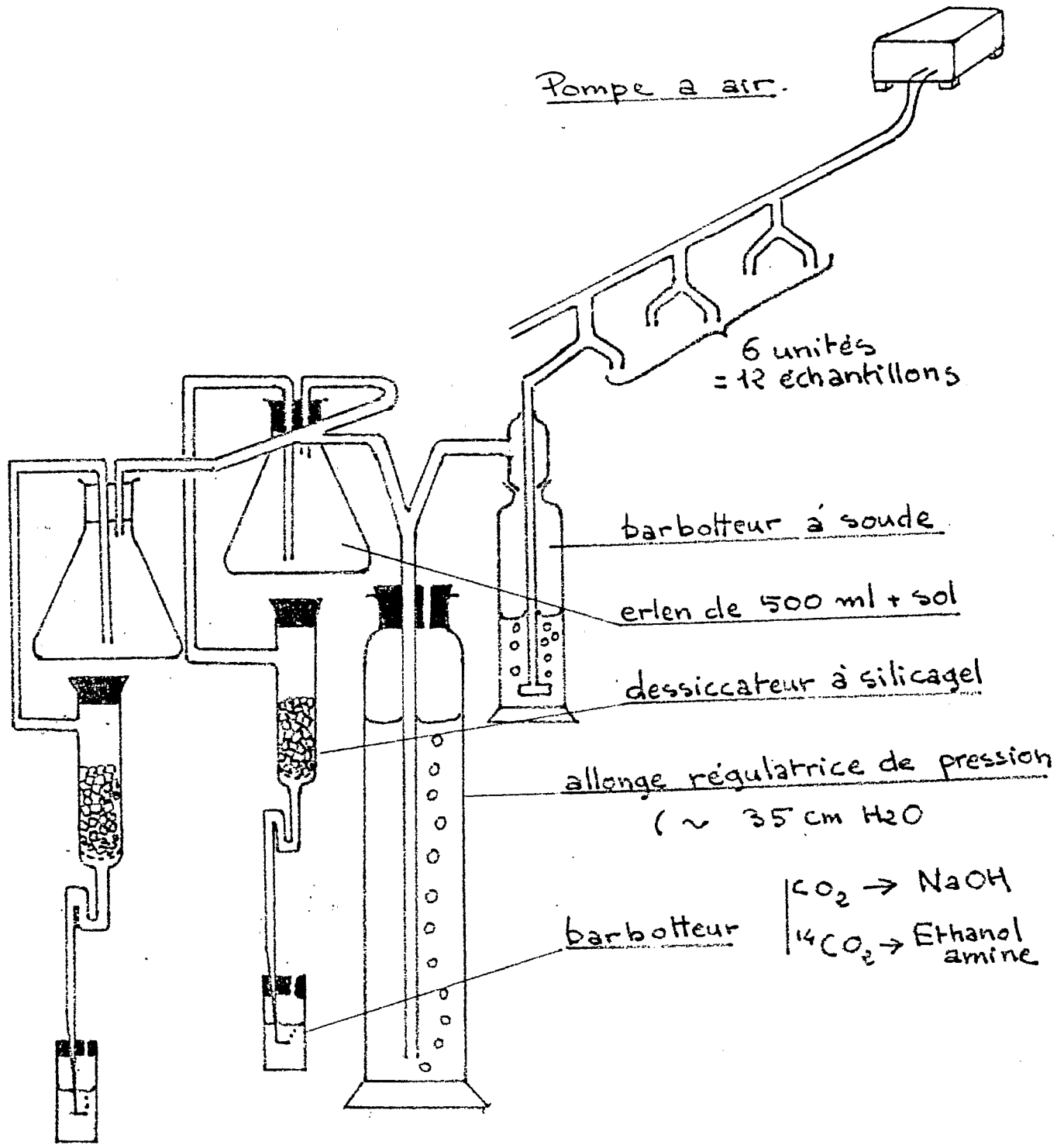


Schéma d'une unité respirométrique

L'air renouvelant l'atmosphère des Erlenmeyers est privé de gaz carbonique par barbotage dans la soude demi-normale contenant un indicateur coloré permettant de mettre en évidence la carbonatation. D'autre part, lors du barbotage, cet air se charge de vapeur d'eau, ce qui évite la dessiccation des échantillons de sol.

La présence des allonges régulatrices de pression et de pinces à vis, permet un débit pratiquement identique au niveau des différents tubes capillaires plongeant dans les flacons barboteurs.

Les dessiccateurs à silicogel servent, dans l'expérience avec 14 C, à empêcher la vapeur d'eau de venir au contact de l'éthanol - amine qui est très hygroscopique et la fixerait en entraînant ainsi des erreurs de mesure en scintillation.

Ce montage permet de renouveler l'atmosphère des Erlenmeyers en une heure et demie environ (mesure réalisée en remplissant les Erlenmeyers de 500 ml de  $\text{CO}_2$  et en le caractérisant à sa sortie au moyen d'eau de baryte).

En pratique, par mesure de sécurité, nous avons fait fonctionner la pompe pendant deux heures et demie lors de chaque mesure.

#### D - DOSAGE DU $\text{CO}_2$ DEGAGE

##### 1. Acide citrique non marqué

Le gaz carbonique est récupéré dans 10 ml de soude normale placée dans les flacons barboteurs.

On verse la soude carbonatée dans un Erlenmeyer de 100 ml. Le flacon barboteur est lavé avec environ 40 ml d'eau distillée.

Puis on verse dans chaque Erlenmeyer 4 ml de chlorure de Baryum à 20 % et on ajoute 2 gouttes de thymolphtaléine à 0.2 %.

On dose alors en faisant couler lentement  $\text{HCl}$  N/5 à l'aide d'une burette jusqu'à disparition de la couleur bleue.

Un témoin est effectué en incubant un échantillon de sol sans acide citrique.

La quantité de soude carbonatée est égale à la différence entre la quantité de soude dosée à partir de l'échantillon enrichi, et celle du témoin.

sol	mesure ml C/H N	jours										
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
I A, SBL	journ.	2,75	6,65	4,1	2,7	1,35	1,35	0,95	0,75	0,55	0,65	0,65
	cum.	2,75	9,40	13,50	16,20		18,90	19,85	20,60	21,15		22,45
II A, Podzol	journ.	0,7	1,7	2,4	2,9	1,87	1,87	2,65	2,35	2,05	1,35	1,35
	cum.	0,7	2,40	4,80	7,70		11,44	14,09	16,44	18,49		21,19
III Bh Podzol	journ.	0,05	2,10	3,75	3,85	2,67	2,67	2,00	1,15	1,20	0,57	0,57
	cum.	0,05	2,15	5,90	9,75		15,09	17,09	18,24	19,44		20,58

sol	mesure ml C/H N	jours									
		12	13	14	15	16	17	18	19	20	21
I A, SBL	journ.	0,53	0,53	0,53	0,20	0,20	0,25	0,25	0,30	0,30	0,30
	cum.			24,05		24,45		24,95			25,85
II A, Podzol	journ.	1,05	1,05	1,05	0,80	0,80	0,67	0,67	0,15	0,15	0,15
	cum.			24,34		25,94		27,28			27,73
III Bh Podzol	journ.	0,65	0,65	0,65	0,50	0,50	0,37	0,37	0,14	0,14	0,14
	cum.			22,53		23,33		24,07			24,49

CO<sub>2</sub> dégagé par 50g de sol enrichi en acide citrique moins CO<sub>2</sub> endogène. (1ml HCl N/5 correspond à 4,4 mg de CO<sub>2</sub>)

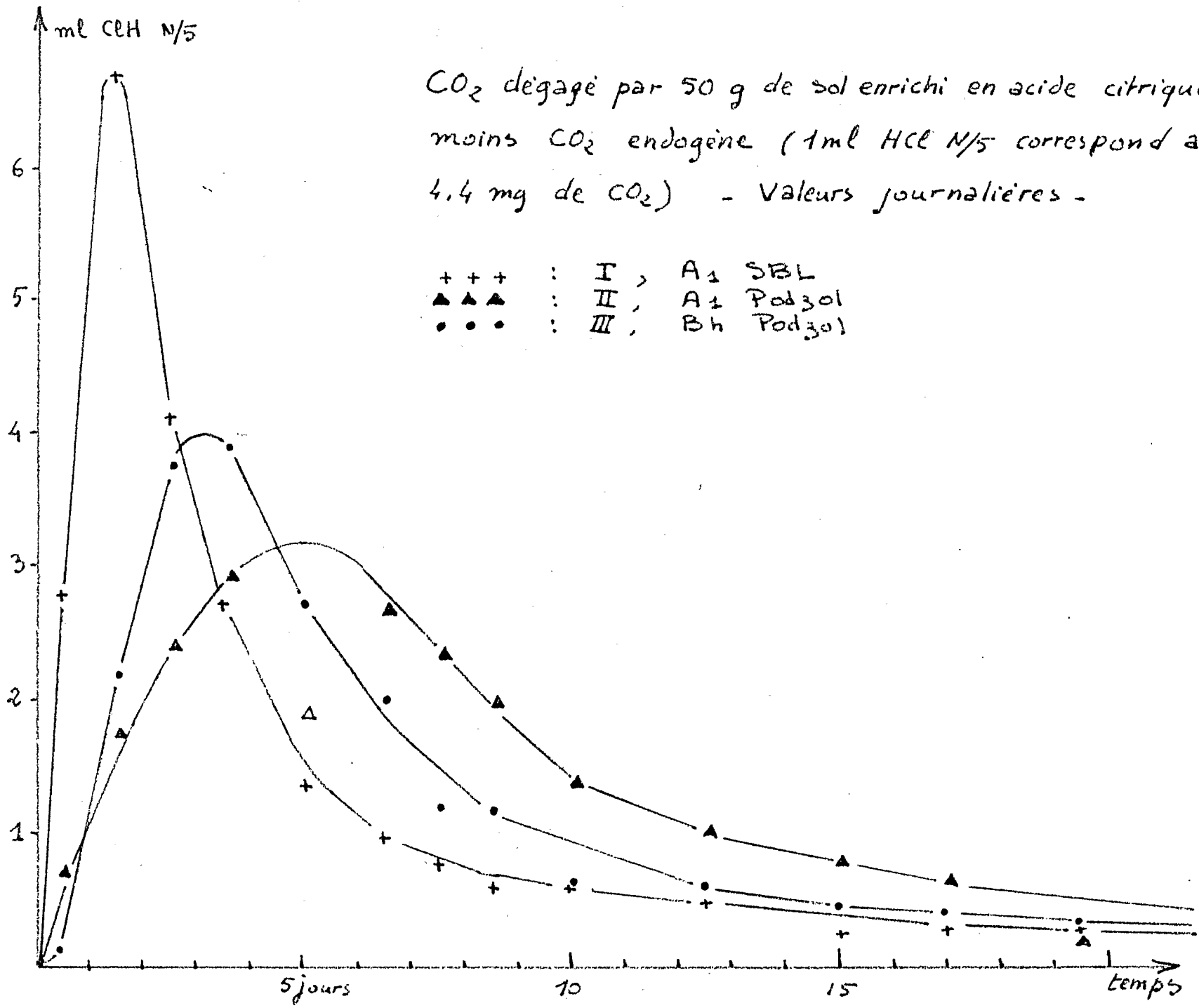


Planche 7

Sol	nb de coups par minute	Temps				
		1 <sup>er</sup> jour	2 <sup>ème</sup> jour	3 <sup>ème</sup> jour	4 <sup>ème</sup> jour	5 <sup>ème</sup> jour
I A <sub>1</sub> SBL	valeur journalière	622.256	<u>710.127</u>	687.787	451.053	236.242
	valeur cumulée	622.256	1.342.383	2.030.170	2.481.213	2.717.455
II A <sub>1</sub> Podzol	valeur journalière	80.822	233.150	324.743	<u>342.184</u>	299.518
	valeur cumulée	80.822	313.972	638.715	980.899	1.280.417
III Bh Podzol	valeur journalière	134.913	713.282	<u>722.506</u>	684.758	449.803
	valeur cumulée	134.913	848.195	1570.701	2.255.459	2.705.262

<sup>14</sup>CO<sub>2</sub> dégagé par 50 grammes de sol - θ = 22°C -



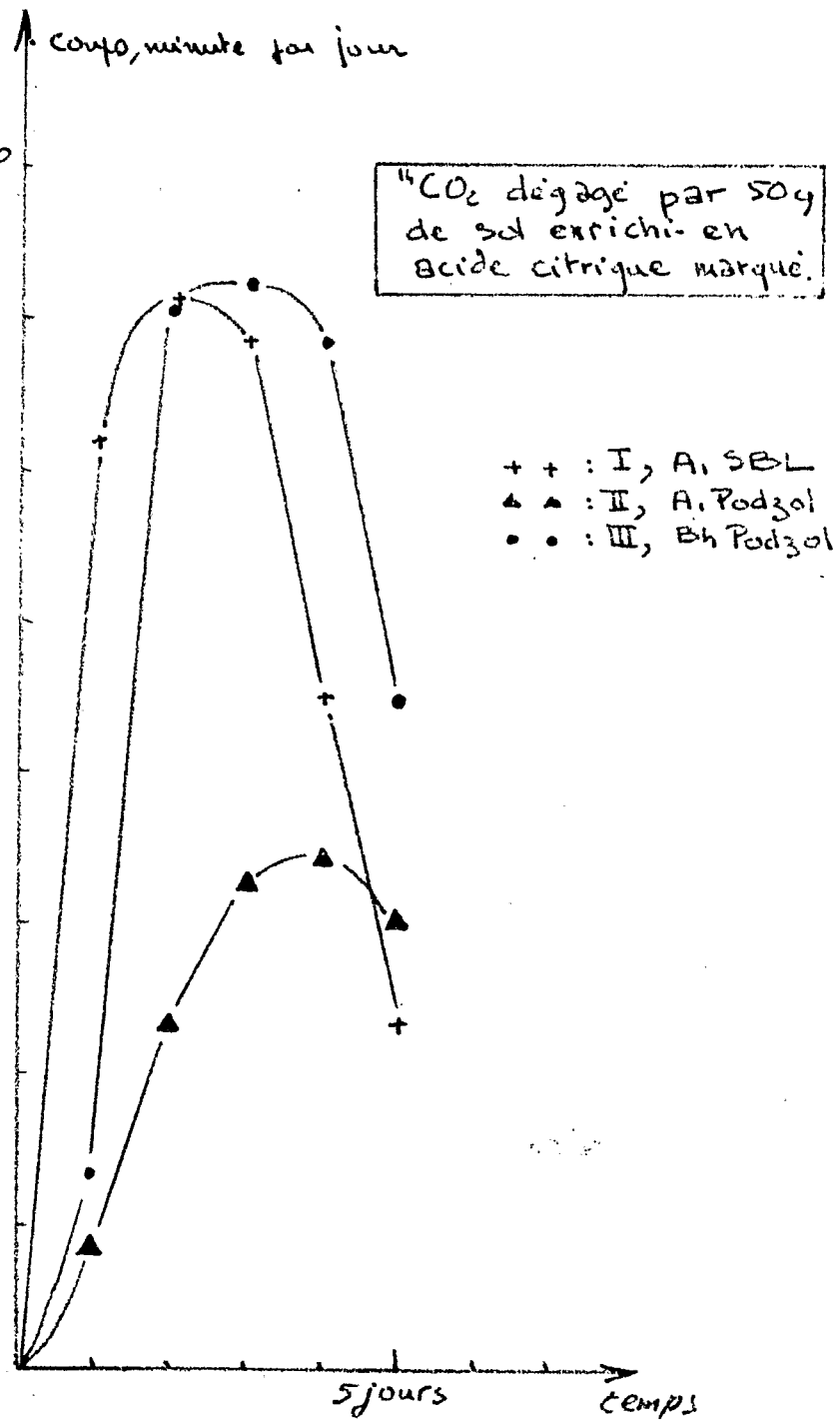
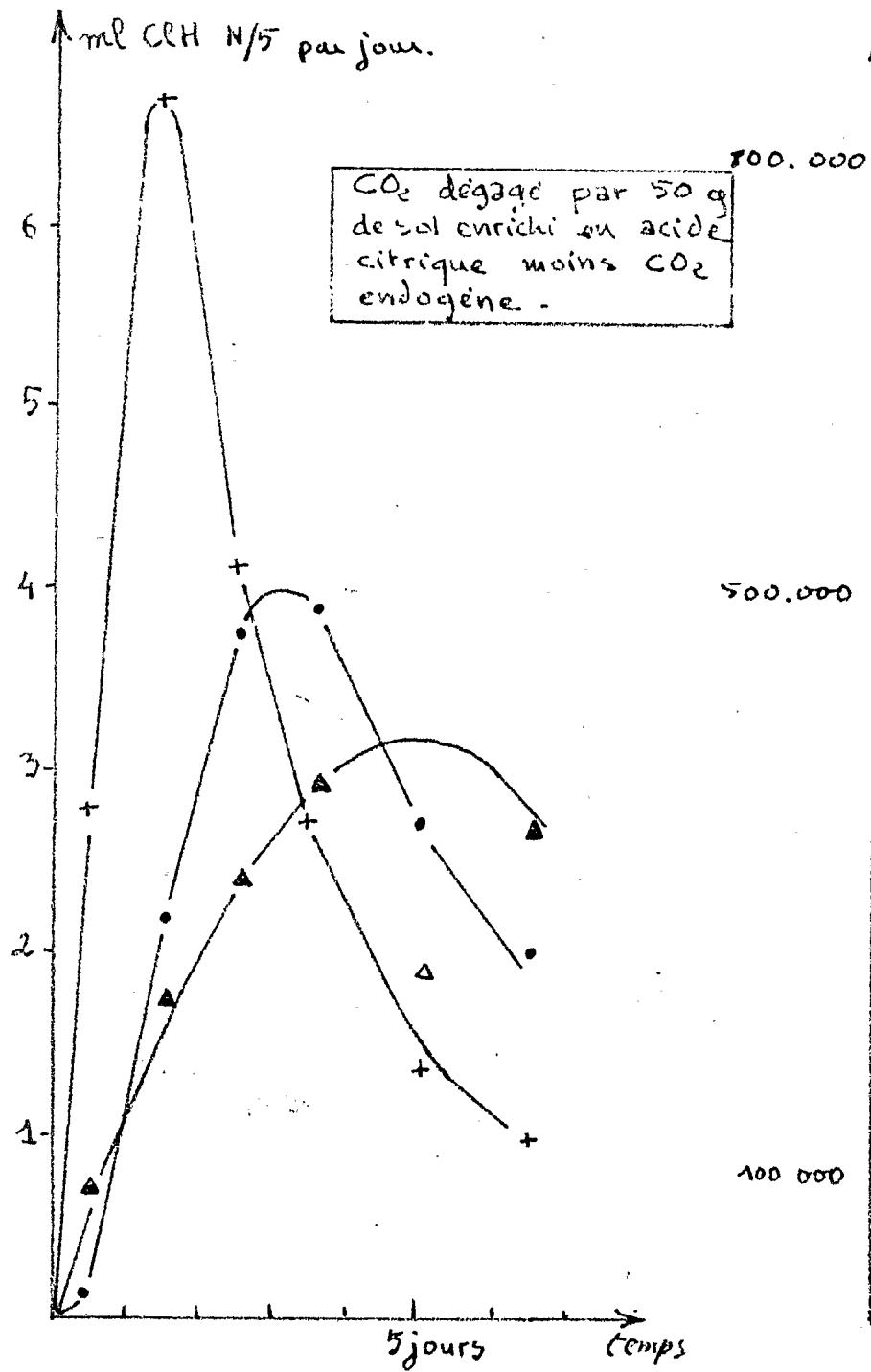


Planche 5

1 ml HCl N/5 correspond à 4.4 mg CO<sub>2</sub>.

## 2. CO<sub>2</sub> marqué

Le flacon barboteur est rempli avec un mélange composé de 2 ml d'éthanol-amine + 8 ml cellosolve + 10 ml de scintillateur.

Après barbotage, le flacon est placé pendant une nuit à 0° C, on peut ensuite le passer au compteur de scintillation.

A la valeur trouvée, il convient de retrancher 40 coups par minute correspondant au bruit de fond mesuré sur dix témoins.

## E - RESULTATS

### 1. Expérience préliminaire (Planches 6 et 7)

a) Les courbes obtenues montrent une activité prépondérante du AI du sol brun lessivé avec un maximum au deuxième jour ; le B<sub>h</sub> de podzol (maximum au troisième jour) a une activité supérieure à celle du AI de ce même sol (maximum entre le quatrième et le cinquième jour). Au bout de 21 jours, on n'observe plus que de très faibles différences entre les échantillons enrichis et les témoins.

b) Au bout de 5 jours le pourcentage du CO<sub>2</sub> total dégagé est respectivement de 68 % pour le AI SBL ; 38.5 % pour le AI de podzol et de 50 % pour le B<sub>h</sub> de podzol.

Ce temps d'incubation nous a paru le plus favorable pour l'expérience avec acide citrique marqué. En effet, tout en étant assez long, pour permettre une attaque suffisante de substrat, il permet d'en retrouver une fraction encore non décomposée.

### 2. Expérience avec acide citrique marqué (Planches 8 et 9)

On retrouve une grande activité du AI de sol brun lessivé (maximum au 2ème jour) et l'activité minimale pour l'horizon AI de podzol (maximum entre le 4ème et le 5ème jour). Comme dans l'expérience préliminaire, le rapport des maximums pour ces deux horizons est de l'ordre de deux.

Par contre, on observe une forte augmentation apparente de l'activité du B<sub>h</sub> de podzol dont le maximum atteint au troisième jour, arrive à une valeur ~~de~~ du même ordre de grandeur que celle du AI de sol brun lessivé.

3. Tentative d'explication de la disparité des courbes de dégagement de CO<sub>2</sub> et de 14 CO<sub>2</sub>

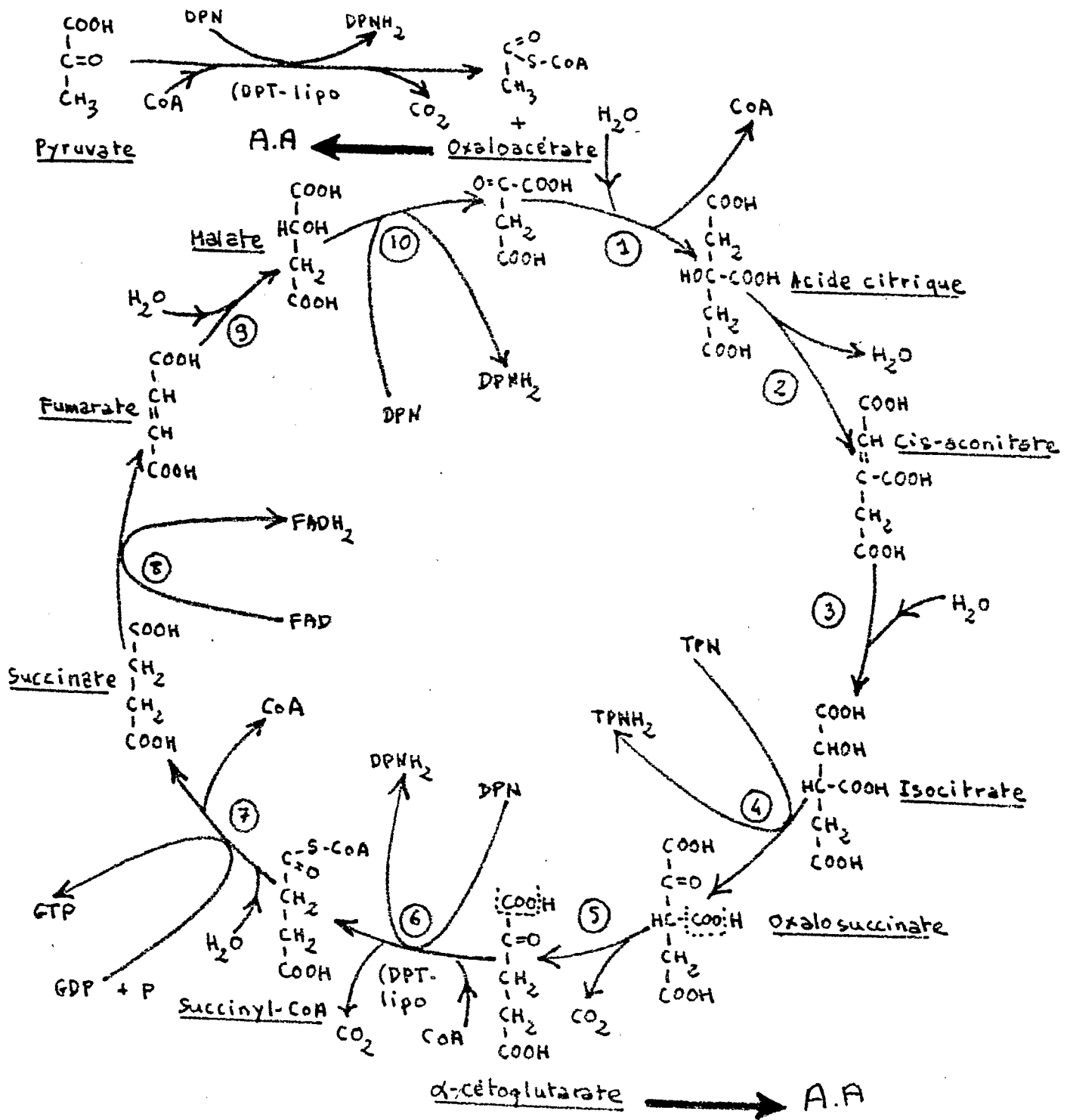
L'acide citrique utilisé lors de la deuxième expérience étant marqué seulement sur deux carbones (1-5) il est impossible à priori de calculer le poids de CO<sub>2</sub> dégagé en fonction du nombre de coups par minute, mesurés. Toutefois, on pourrait s'attendre à ce que le rapport entre le poids de CO<sub>2</sub> dégagé au bout de 5 jours lors de l'expérience à blanc et le nombre de coups par minute mesuré lors de la seconde expérience soit un rapport constant. Or, on constate que ceci n'est vérifié que pour les horizons I et II. Cette disparité est avant tout due au fait que la première expérience mesure le dégagement total du CO<sub>2</sub> à partir de l'acide citrique ajouté, alors que la seconde mesure uniquement le passage à l'état de 14 CO<sub>2</sub> des carbones I et 5 de l'acide citrique marqué. Or, il est fort probable<sup>2</sup> que les cycles et les termes de la dégradation varient suivant les horizons étudiés. L'étude de la répartition de la radioactivité dans les différentes fractions du sol après incubation montre une incorporation deux fois plus forte dans le B<sub>h</sub> de podzol que dans le mull, et ceci, pour une quantité d'acide citrique dégradé du même ordre de grandeur. On peut donc penser que la molécule est moins dégradée dans le B<sub>h</sub> de podzol que dans le mull. Dans ces conditions, il n'y a plus la même proportionalité dans les trois horizons entre le nombre de carbones marqués passant sous forme de 14 CO<sub>2</sub> et le CO<sub>2</sub> total dégagé. En effet, si l'on considère le cycle de KREBS, on constate que, suivant le nombre de carbones libérés, le coefficient de proportionalité  $14C + 12C/14C$  varie. D'autre part, l'existence du shunt glyxalique est susceptible de modifier la position des carbones marqués en en faisant passer un en position 6 (Planches A et B).

Dans l'étude présente, il ne paraît pas possible d'établir la corrélation entre les deux courbes obtenues qui traduisent deux phénomènes entre liés mais très différents, l'un étant la mesure du CO<sub>2</sub> total dégagé à partir d'acide citrique et, l'autre, le passage à l'état de CO<sub>2</sub> des carbones I et 5 de la molécule de ce même acide.

---

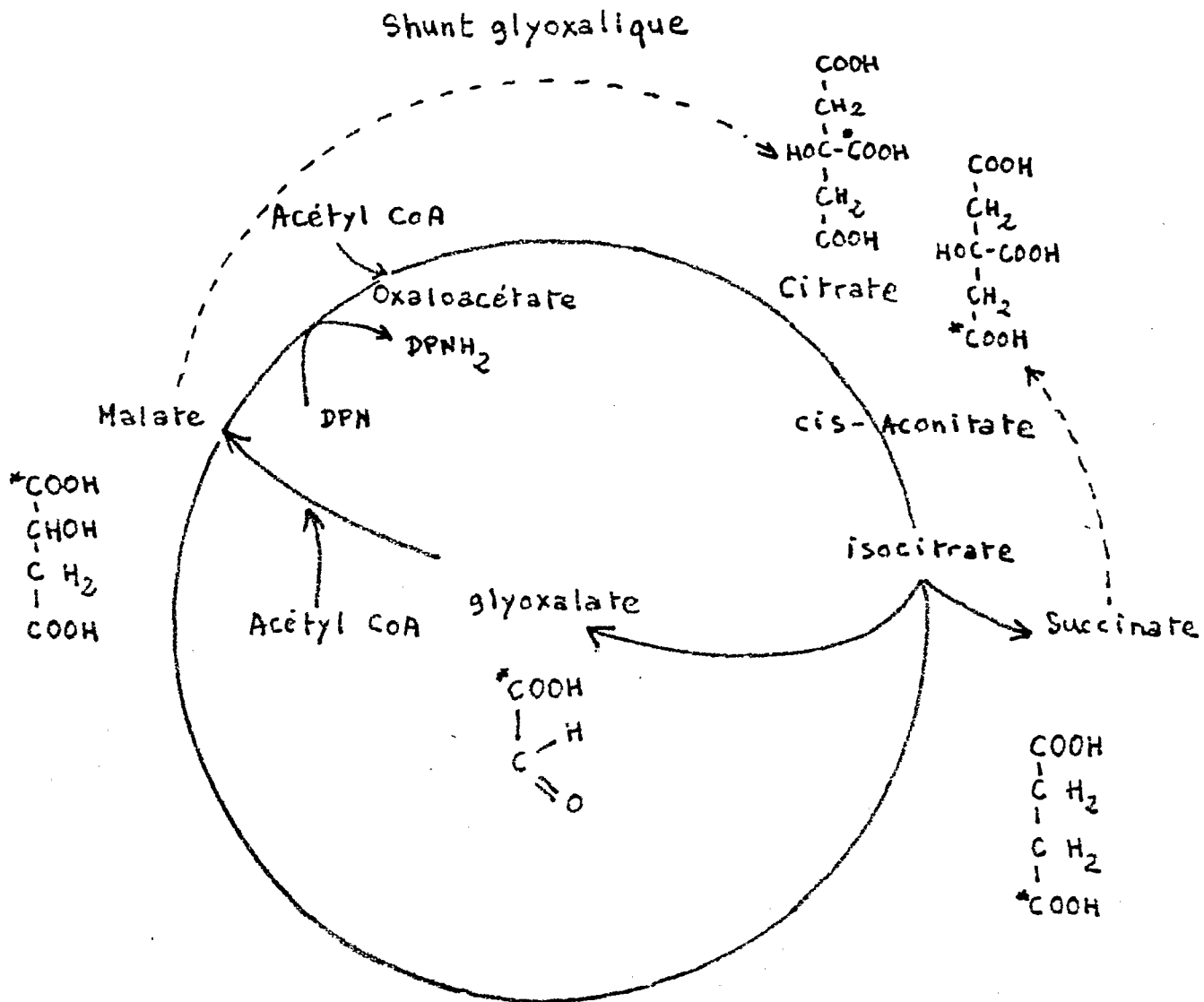
# Planche A

## CYCLE DE KREBS

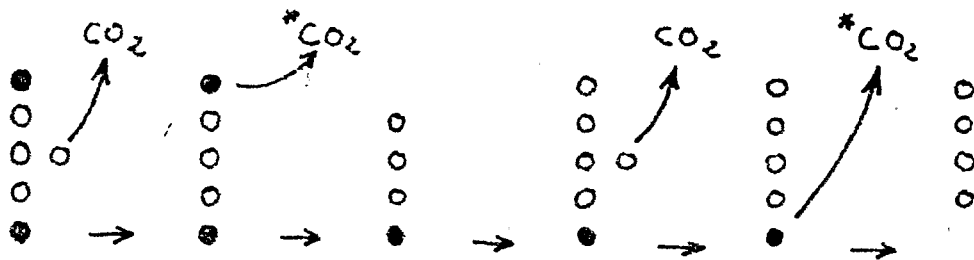


- 1 - Enzyme de condensation.
- 2 - Aconitase
- 3 - Aconitase
- 4 - Isocitrico-déshydrogénase
- 5 - Oxalosuccino-décarboxylase

- 6 - α-cétoglutarique déshydrogénase
- 7 - Succinyl-CoA-synthétase
- 8 - Succino-déshydrogénase
- 9 - Fumarase
- 10 - Malate-déshydrogénase



Ordre de disparition des carbonnes marqués dans le cycle de Krebs



III - ETUDES BIOCHIMIQUES

A. Introduction

B. Etude de la fraction acide

1. Séparation des acides aliphatiques
2. Autoradiographie
3. Résultats

C. Répartition de la radioactivité dans les différentes fractions

1. Principe de la méthode
  2. Description du montage de combustion
  3. Réalisation des combustions
  4. Résultats
-

A - INTRODUCTION

Après incubation le sol est repris. On effectue ensuite sur les échantillons une extraction des hydrosolubles qui sont séparés sur résines en fractions neutres, acides et basiques. Des déposes des différentes fractions sont effectuées sur papier Whatmann puis à partir de ces déposes, on effectue des autoradiogrammes. La teneur en  $^{14}\text{C}$  des différentes fractions est déterminée par combustion, récupération du  $^{14}\text{CO}_2$  et comptage en scintillation. La fraction acide est étudiée d'une façon plus approfondie par chromatographie et autoradiographie.

Après extraction des hydrosolubles, le sol est repris pour extraction des acides fulviques et humiques. Par combustion on détermine alors la teneur en  $^{14}\text{C}$  de l'humine et des acides fulviques et humiques.

B - ETUDE DE LA FRACTION ACIDE

1. Séparation des acides aliphatiques

Leur séparation est obtenue par chromatographie sur papier Whatmann n° 1 en migration ascendante au moyen des solvants suivants :

- a) éthylméthylcétone - acétone - eau - acide formique  
80/4/12/2                      V/V                      5 h
- b) alcool éthylique - eau - ammoniac  
16/3/1                              V/V                      9 h

Le premier solvant est utilisé pour les chromatographes unidimensionnelles. Les deux sont utilisés pour les chromatographes bidimensionnelles.

La révélation est effectuée par pulvérisation de bleu de bromophénol à P.5 g pour mille dans l'éthanol à 95% ajusté à pH 7.5 par NaOH 0.4 N. Cette première pulvérisation peut être suivie par celle d'une solution aqueuse de sulfate de cuivre à 2% destinée à assurer une meilleure conservation de la chromatographie. Dans ces conditions, les taches apparaissent en jaune sur fond bleu.

Les chromatographies ont été effectuées à chaque fois, soit en doubles déposes sur une même feuilles dans le cas des monodimensionnelles, soit en simple dépose sur deux feuilles dans le cas des sidimensionnelles. Cecci, afin de disposer d'un exemplaire à révéler et d'un exemplaire pour autoradiographie.

Cette méthode nous a permis de mettre en évidence dans les trois horizons étudiés les quatre acides suivants :

- . succinique : Rf 79, concentration faible
- . malique : Rf 59, concentration très faible
- . citrique : Rf 55, concentration très forte
- . oxalique : traînée, concentration faible

## 2. Autoradiographie

Cette méthode sert à caractériser la présence d'une substance radioactive sur un cchromatogramme ou une dépose sur papier. Le chromatogramme est mis en contact avec un film radiographique sensible au rayon  $\beta$ . Puis le film est révéler et fixé. On obtient une image satisfaisante pour un flux de  $10^6$  bêta/cm<sup>2</sup>, d'où la nécessité d-e prolonger plus ou moins longtemps l'exposition suivant l'activité de la dépose. Les temps d'exposition utilisés ont varié suivant les cas de quelques heures (déposes témoin), quelques jours (déposes sans migration) à un mois ((chromatographies mono- et bidimensionnelles). Les films utilisés sont des films Kodirex, le révélateur et le fixateur sont ceux fournis habituellement par la maison KODAK avec ces films.

Mode opératoire : Toutes les manipulations sont faites à la lumière inactinique. Le cchromatogramme non révéler est placé au contact du film Kodirex à l'intérieure d'une pochette en papier noir entourée d'une feuille d'aluminium. Les différentes pochettes sont ensuite placées sous une presse pendant toute la durée de l'exposition.

Le temps de révélation est fonction de la température du bain :

Température du bain	:	18	19	20	21	22	23	24°
Temps de révélation	:	6'	5.5'	5'	4.5'	4'	3.5'	3'

Après la révélation on lave le film pendant une minute à l'eau courante. Le temps de fixation doit être au moins égal à 8 mn. Après fixation, le film est lavé à grande eau puis mis à sécher.



### 3. Résultats

Cette méthode permet une mise en évidence qualitative de la radioactivité, par contre, les mesures quantitatives (que l'on peut effectuer par les méthodes photométriques) sont délicates à mener et peu précises. Pour cette raison, nous avons préféré utiliser la méthode de combustion pour mesurer la répartition de la radioactivité dans les différentes fractions.

Les autoradiogrammes effectués nous ont permis de tirer les conclusions suivantes en ce qui concerne la fraction hydrosoluble :

- . Présence d'une faible radioactivité dans les fractions neutres et alcalines ;
- . Présence d'une forte radioactivité dans la fraction acide ;
- . dans les fractions acides, la radioactivité se trouve pratiquement uniquement au niveau de l'acide citrique ;
- . en ce qui concerne la répartition quantitative les intensités relatives des taches sont en concordance avec les résultats obtenus lors de mesures par combustion et scintillation.

#### C - REPARTITION DE LA RADIOACTIVITE DANS LES DIFFERENTES FRACTIONS

##### 1. Principe de la méthode

Une partie aliquote de chaque fraction est prélevée et séparée dans une nacelle en platine (0.6 ml pour les fractions liquides, 0.1 à 0.3 g pour les sols).

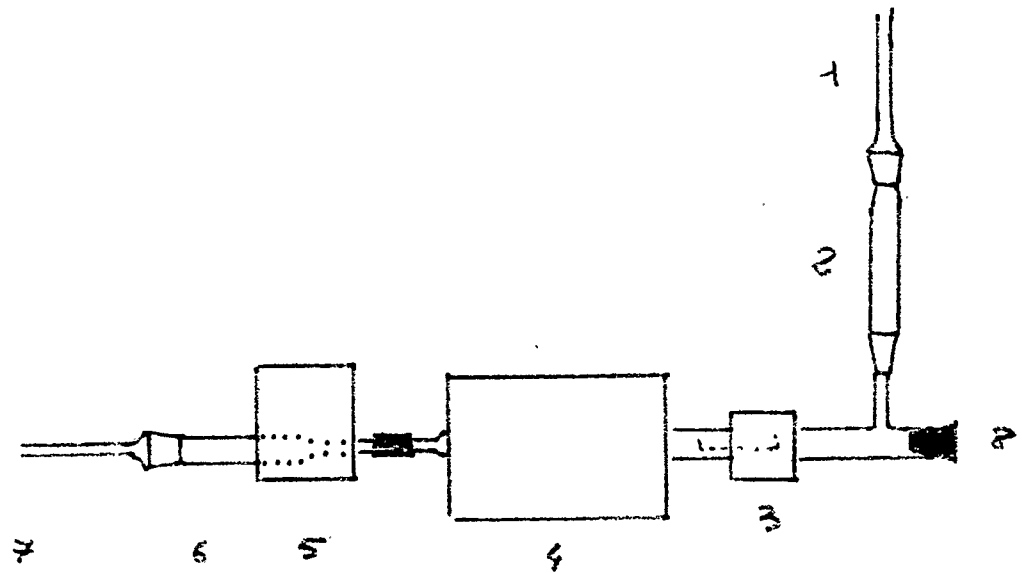
Les fractions liquides sont séchées à l'étuve à 40° jusqu'à complète dessiccation. La nacelle est ensuite placée dans le tube à combustion d'un banc de micro analyse "JOUAN". Le gaz carbonique résultant de cette combustion est récupéré dans un flacon barboteur à éthanolamine, du même type que ceux utilisés lors des mesures respirométriques. Ce flacon est ensuite repris et passé au comptage en scintillation.

Cette méthode a l'avantage d'être rapide ; par contre, elle reste quelque peu précise en raison de la faible quantité de produit que l'on peut introduire dans la nacelle.

##### 2. Description du montage de combustion

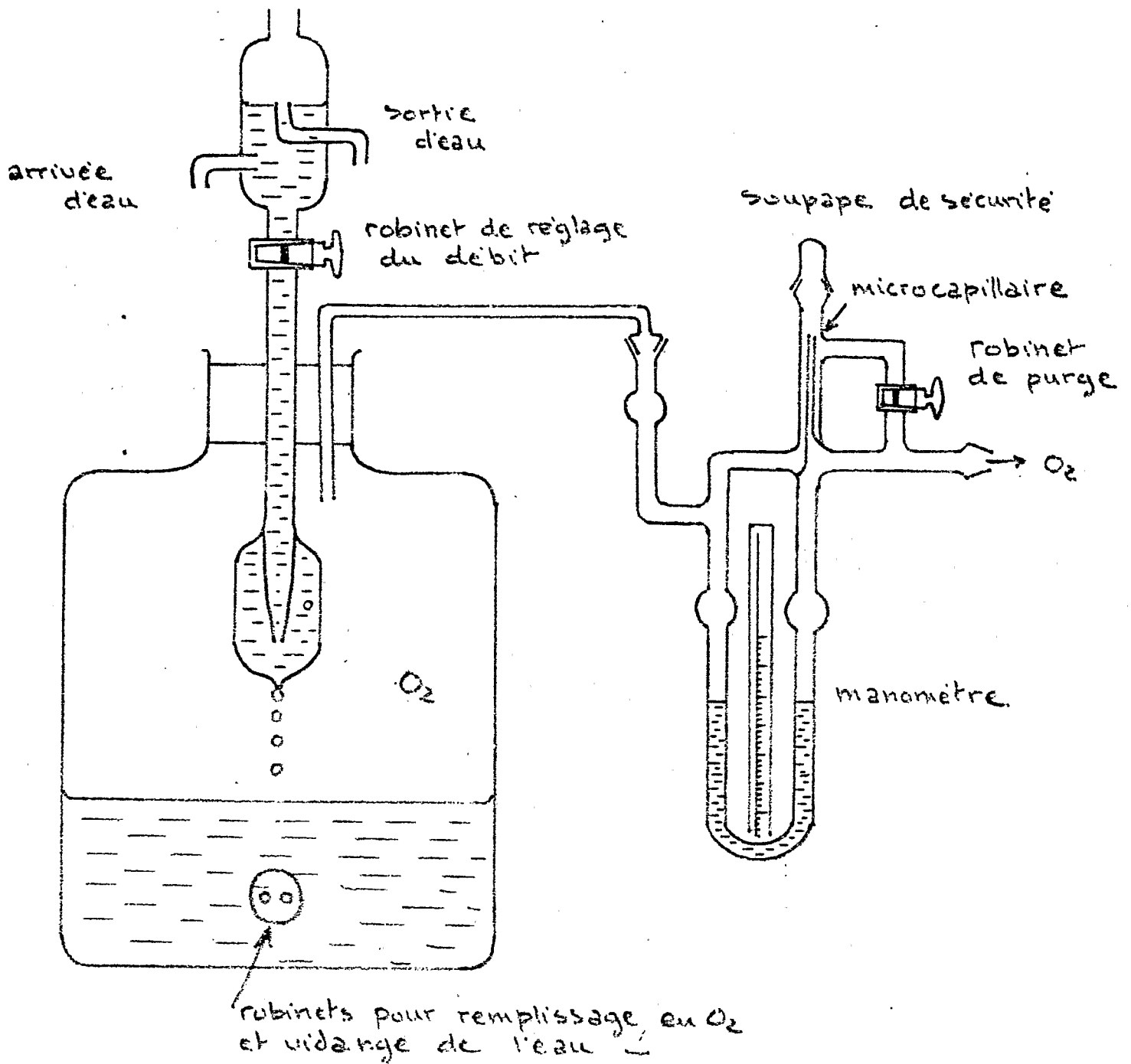
Ce montage comporte trois parties :

- . un dispositif d'alimentation en oxygène ;
- . le four à combustion proprement dit ;
- . un barboteur du type de ceux utilisés lors des mesures respirométriques pour récupération du  $^{14}\text{CO}_2$ .



- 1: arrivée d'oxygène
- 2: dessiccateur
- 3: Four mobile au niveau de la nacelle
- 4: Four fixe
- 5: système de réchauffage
- 6: dessiccateur
- 7: Sortie vers le barboteur à éthanol amine
- 8: tube à combustion en silice -

- Schéma du dispositif de combustion -



Dispositif d'alimentation en O<sub>2</sub>

Le dispositif d'alimentation (Planche 10) est constitué :

- d'un vaste récipient que l'on peut remplir d'oxygène au moyen d'une bouteille de gaz comprimé ;
- d'un système de goutte à goutte chassant l'oxygène vers le four à combustion.

Le four à combustion (Planche II) est essentiellement constitué d'un tube à combustion en silice, d'un four mobile se déplaçant au niveau de la nacelle de platine et d'un four fixe assurant la transformation totale des produits obtenus lors de la combustion dans le four mobile.

Le mélange gazeux sortant du tube à combustion est débarrassé de sa vapeur d'eau par un dessiccateur.

### 3. Réalisation des combustions

Le déplacement du four mobile est assuré automatiquement. Après avoir réglé le débit d'oxygène (2 gouttes à la seconde environ), le banc de microanalyse est mis en route. Il s'arrête automatiquement à la fin de la combustion. Cette dernière terminée, on purge l'appareil pendant cinq minutes au moyen d'un courant d'oxygène plus important (ouverture du robinet de purge).

La nacelle est ensuite ressortie. Si elle présente un dépôt carbonneux, on effectue un second passage (dans le cas des sols deux passages ont été effectués systématiquement).

### 4. Résultats (Planches 12 - 13 - 14)

#### a) Dégagement de $14 \text{ CO}_2$

Le mull et le  $B_h$  de podzol dégagent à peu près autant de  $14 \text{ CO}_2$  en cinq jours alors que le  $A_1$  de podzol en dégage environ deux fois moins.

#### b) Hydrosolubles :

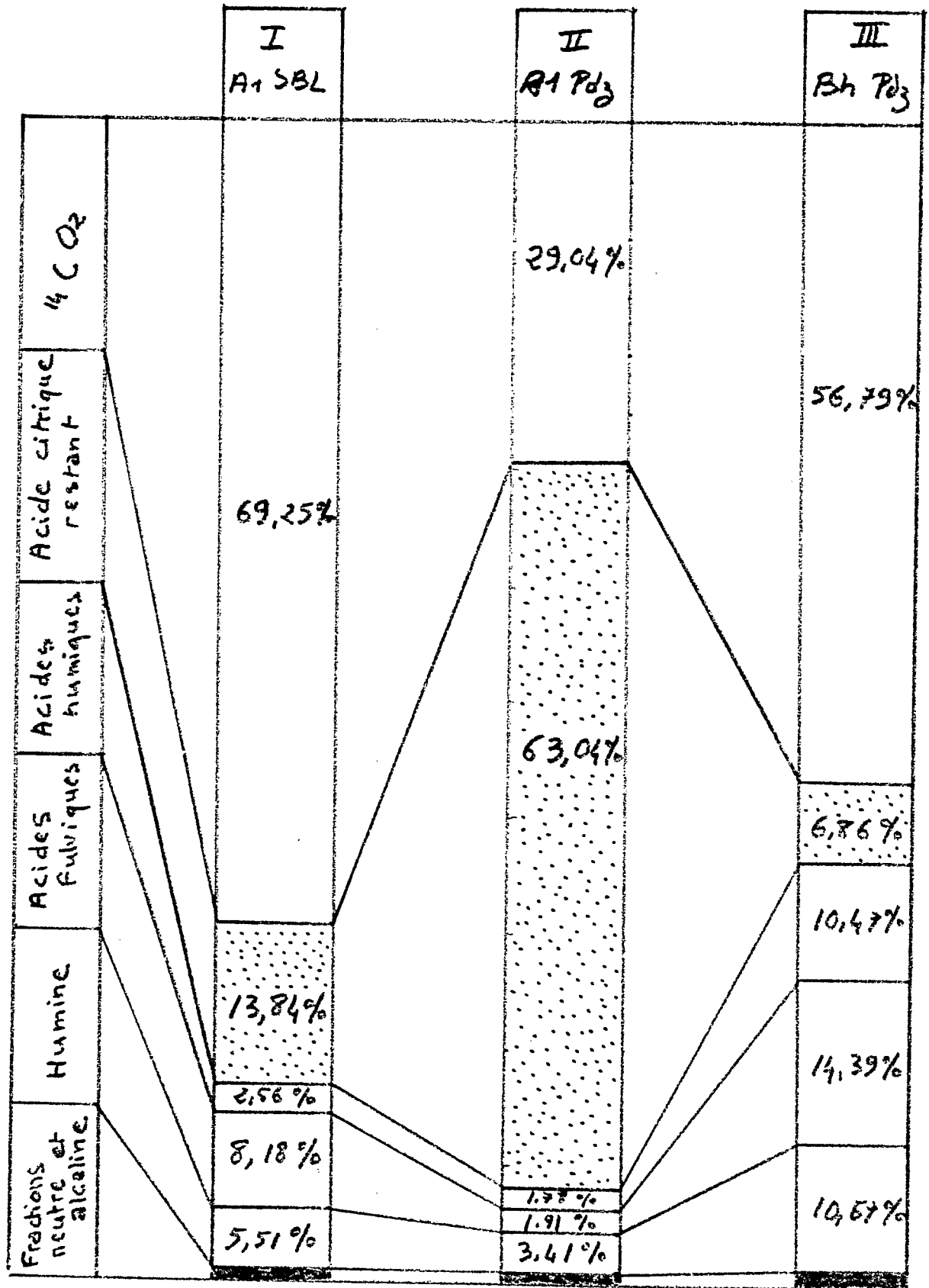
La radioactivité se retrouve au niveau de l'acide citrique restant, les autres acides n'étant pour ainsi dire, pas radioactifs et les fractions neutres et alcalines ayant une radioactivité pratiquement négligeable.

#### c) Fraction humique totale (AF + AH + Humine)

L'incorporation des carbones marqués au sein de cette fraction varie nettement suivant les horizons. Le  $B_h$  de podzol en incorpore environ deux fois plus que le mull et quatre fois plus que le  $A_1$  de podzol.

- Bilan rapporté à 100 g de sol sec -

SOL	I A. SBL	I A. SBL	II A. Podzol	II A. Podzol	III Bh Podzol	III Bh Podzol
Fraction	Valeur absolue	Pourcentage	Valeur absolue	Pourcentage	Valeur absolue	Pourcentage
$^{14}CO_2$	7.663.223	69,25%	3.790.034	29,04%	7.574.734	56,79%
Fraction acide acide citrique	1.531.098	13,84%	8.228.615	63,04%	915.541	6,86%
Fraction neutre	45.515	0,41%	36.608	0,28%	72.451	0,54%
Fraction alcaline	86.417	0,78%	69.356	0,53%	35.600	0,27%
Acides Humiques	283.879	2,56%	282.605	1,78%	1.397.200	10,47%
Acides Fulviques	905.044	8,18%	250.058	1,91%	1.919.750	14,39%
Humine	560.450	5,51%	445.314	3,41%	1.422.462	10,67%
Σ Fractions humiques	1.739.373	16,34%	927.977	7,11%	4.739.412	35,53%
Somme	11.065.626		13.052.590		13.337.738	



- Bilan rapporté à 100 g de sol sec -

	I	II	III
	A. SBL	A. Podzol	Bh Podzol
Poids de CO <sub>2</sub> dégagé en 5 jours par 50 g de sol humide (en mg)	77,22	42,11	54,65
Nombre de coups par minute obtenus dans les mêmes conditions ( <sup>14</sup> CO <sub>2</sub> dégagé)	42,0	19,8	41,80
rapport mg CO <sub>2</sub> / coups par min.	~ <u>1,8</u>	~ <u>2,1</u>	~ 1,3
<sup>14</sup> C dégagé en 5 jours pour 100 g de sol sec CPM	7.663.223	3.790.034	7.574.734
<sup>14</sup> C incorporé en 5 jours dans les mêmes conditions CPM	1.739.373	927.977	1.739.412
rapport <sup>14</sup> C dégagé / <sup>14</sup> C incorporé	~ <u>4,4</u>	~ <u>4,1</u>	~ 1,6

Etude, pour les trois horizons des rapports:

$$\frac{\text{CO}_2 \text{ dégagé}}{^{14}\text{C O}_2 \text{ dégagé}} \quad \text{et} \quad \frac{^{14}\text{C dégagé}}{^{14}\text{C incorporé}}$$

#### IV - CONCLUSION

La présente étude permet de tirer diverses conclusions, mais il ne faut pas perdre de vue en les formulant, qu'elles renseignent lorsqu'il s'agit de mesures de radioactivité, non pas proprement dit, sur le devenir de la molécule, d'acide citrique, mais plus particulièrement sur les carbones 1 et 5 de cette molécule. En effet, les mesures respirométriques nous ont montré que l'on ne peut admettre qu'il y a proportionnalité entre le nombre de coups minute et le nombre de carbones incorporés à une fraction donnée.

Trois facteurs peuvent servir à caractériser les horizons étudiés :

1. la vitesse de disparition de l'acide citrique ;
2. le dégagement de gaz carbonique à partir de ce substrat ;
3. l'incorporation à la fraction humique.

Le mull est caractérisé par une disparition rapide de l'acide citrique, un dégagement important de  $\text{CO}_2$  et relativement peu d'incorporation.

Le  $A_1$  de podzol est caractérisé par une attaque très faible de l'acide citrique, un dégagement de  $\text{CO}_2$  peu important, mais une incorporation relative par rapport au  $14 \text{CO}_2$  identique à celle du mull.

Le  $B_h$  de podzol, enfin, est caractérisé par l'attaque la plus rapide de l'acide citrique, un dégagement de  $\text{CO}_2$  moins important que pour le mull, et l'incorporation relative la plus élevée.

Si, d'autre part, on s'intéresse aux rapports  $\text{CO}_2$  total dégagé sur  $^{14}\text{C}$  dégagé, et  $^{14}\text{C}$  dégagé sur  $^{14}\text{C}$  incorporé, on constate que ces rapports sont respectivement du même ordre de grandeur pour les horizons  $A_1$  de sol brun lessivé et  $A_1$  du podzol, alors qu'ils varient fortement pour le  $B_h$  du podzol.

Ces constatations pourraient peut-être amener à penser qu'il existe deux modes de dégradation de l'acide citrique : le premier caractérisé par une incorporation relativement faible par rapport au  $\text{CO}_2$  dégagé, le second par une incorporation relative nettement plus élevée.

Le  $B_h$  du podzol serait caractérisé par le mode de dégradation avec forte incorporation.

Le mode d'incorporation faible se retrouverait dans le mull et dans le  $A_1$  de podzol, avec dans ce dernier horizon, une activité nettement ralentie.

-----