



HAL
open science

Mécanisme de rétention du cuivre sur de la tourbe végétalisée

Anthony Matynia

► **To cite this version:**

Anthony Matynia. Mécanisme de rétention du cuivre sur de la tourbe végétalisée. Géochimie. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2009. Français. NNT: . tel-00491360v1

HAL Id: tel-00491360

<https://theses.hal.science/tel-00491360v1>

Submitted on 11 Jun 2010 (v1), last revised 15 Jun 2010 (v3)

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

OBSERVATOIRE DE GRENOBLE
et
LABORATOIRE DE GEODYNAMIQUE DES CHAINES ALPINES

THESE

présentée par

Anthony Matynia

pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université Joseph Fourier - Grenoble I
Spécialité : Terre-Solide

Mécanisme de rétention du cuivre sur de la tourbe végétalisée

Soutenue publiquement le **12 mai 2009**
Au Laboratoire de Géodynamique des Chaînes Alpines
devant le jury composé de :

Dr. Marc F. BENEDETTI	Professeur, IPGP, Paris	<i>Rapporteur</i>
Dr. Emmanuel GUILLON	Professeur, GRECI, Reims	<i>Rapporteur</i>
Dr. Philippe BEHRA	Professeur, INPT, Toulouse	<i>Examineur</i>
Dr. Jean-Luc JAFFREZO	Chargé de recherche, LGGE, Grenoble	<i>Examineur</i>
M. Thierry JACQUET	PDG, PHYTORESTORE, Paris	<i>Membre invité</i>
Dr. Alain MANCEAU	Directeur de recherche, LGCA, Grenoble	<i>Directeur de thèse</i>

Table des matières

Remerciement	7
Liste des abréviations	9
Introduction	11
Concepts utilisés	15
1 La tourbe	17
1.1 Définition et formation de la tourbe	17
1.2 Caractéristiques physiques et chimiques de la tourbe	17
1.3 Utilisation industrielle des propriétés d'adsorption de la tourbe	19
2 Les substances humiques	21
2.1 De la tourbe aux substances humiques	21
2.2 Définition des substances humiques	21
2.3 Caractéristiques physiques et chimiques des substances humiques	22
2.4 Mécanisme de formation des substances humiques	25
2.4.1 La voie ligneuse (voie 1)	26
2.4.2 La voie polyphénolique (voies 2 et 2')	26
2.4.3 La voie de condensation amino-saccharéuse (voie 3)	26
2.5 Modèles structuraux des substances humiques	28
2.5.1 Modèles structuraux de l'acide humique	28
2.5.2 Modèles structuraux de l'acide fulvique	33
2.6 Définition de la matière organique dissoute	35
3 Mécanisme de rétention des éléments traces sur les substances humiques en milieu aqueux	37
3.1 Généralités	37
3.1.1 Définition du point isoélectrique	37
3.1.2 Définition de la sphère d'hydratation	38
3.2 Les trois grands mécanismes de rétention des éléments traces sur les substances humiques	39
3.2.1 La complexation en sphère interne	39
3.2.2 L'échange d'ions en sphère externe	39
3.2.3 La précipitation de surface	40

4	Le modèle NICA-Donnan	41
4.1	Généralités	41
4.2	Présentation du modèle NICA-Donnan	42
4.2.1	Présentation du modèle de NICA	42
4.2.2	Présentation du modèle de Donnan	42
4.3	Paramètres d'ajustement du modèle NICA-Donnan	44
	 Mécanisme de rétention du cuivre sur de la tourbe : approche chimique	 47
5	Titration potentiométrique	49
5.1	Introduction	49
5.2	Matériel et méthode	50
5.2.1	Extraction des fractions humiques, fulviques, dissoutes et inorganiques des tourbes	50
5.2.1.1	Extraction des acides humiques et fulviques	50
5.2.1.2	Extraction de la matière organique dissoute	51
5.2.1.3	Extraction de la matière inorganique	51
5.2.2	Caractérisation physique et chimique des deux tourbes et de leurs fractions	51
5.2.2.1	Composition élémentaire	51
5.2.2.2	Mesure de la distribution granulométrique	52
5.2.2.3	Résonance magnétique nucléaire du ^{13}C	52
5.2.3	Titration potentiométrique	52
5.2.3.1	Protocole expérimental	53
5.2.3.2	Traitement des résultats	54
5.2.3.3	Détermination de l'incertitude de nos mesures	54
5.2.3.4	Analyse de sensibilité de l'électrode pH	55
5.2.4	Modélisation des titrages potentiométriques	55
5.2.4.1	Modélisation avec le modèle DNEM	55
5.2.4.2	Modélisation avec le modèle NICA-Donnan	56
5.3	Résultats	57
5.3.1	Caractérisation des deux tourbes et de leurs fractions	57
5.3.1.1	Distribution fractale et composition chimique des deux tourbes	57
5.3.1.2	Distribution granulométrique des deux tourbes	59
5.3.1.3	Résultat de la résonance magnétique nucléaire du ^{13}C	59
5.3.1.4	Conclusion	62
5.3.2	Titration potentiométrique	62
5.3.2.1	Analyse de sensibilité de nos mesures	62
5.3.2.2	Mise en évidence du phénomène d'hystérésis	63
5.3.2.3	Titration de différentes fractions granulométriques de SP	66
5.3.2.4	Titration des tourbes blondes et noires et de leurs fractions	66
5.3.2.5	Conclusion	69
5.3.3	Modélisation des titrages potentiométriques	69
5.3.3.1	Modélisation par le modèle DNEM	69
5.3.3.2	Modélisation par le modèle NICA-Donnan : Matynia et al. (2009)	71
5.4	Conclusion	114

6	Modélisation des courbes de titrage en suivant la procédure de Lenoir et al. (2009) et de la RMN ^{13}C	115
6.1	Introduction	115
6.2	Matériel et méthode	115
6.2.1	Modélisation par la procédure de Lenoir et al. (2009)	115
6.2.2	Modélisation par la procédure de la RMN ^{13}C	117
6.3	Résultats	117
6.3.1	Modélisation par la procédure de Lenoir et al. (2009)	117
6.3.2	Modélisation par la procédure de la RMN ^{13}C	119
6.4	Conclusion	120
7	Isotherme d'adsorption du cuivre	123
7.1	Introduction	123
7.2	Matériel et méthode	123
7.2.1	Rétention du cuivre sur la matière organique	123
7.2.1.1	Cinétique d'adsorption	123
7.2.1.2	Isothermes d'adsorption	124
7.2.1.3	Modélisation des isothermes par le modèle NICA-Donnan	124
7.3	Résultats	125
7.3.1	Rétention du cuivre sur la matière organique	125
7.3.1.1	Cinétique d'adsorption	125
7.3.1.2	Isothermes d'adsorption	125
7.3.2	Modélisation des isothermes par le modèle NICA-Donnan	126
7.4	Conclusion	130
	Mécanisme de rétention du cuivre sur de la tourbe : approche spectroscopique	133
8	Spectroscopie EXAFS	135
8.1	Introduction	135
8.2	Principe et utilisation	135
8.3	Formulation mathématique	136
8.4	Analyse des données expérimentales	137
8.4.1	Extraction des spectres EXAFS et transformée de Fourier	137
8.4.2	Détermination de la structure locale de l'atome absorbeur	138
8.4.2.1	Simulation numérique	138
8.4.2.2	Analyse par Composante Principale	138
9	The nature of Cu Bonding to Natural Organic Matter	141
	Mécanisme de rétention du cuivre sur de la tourbe végétalisée : approche micro-spectroscopique	185
10	Formes géochimiques du cuivre dans le casier à tourbe	187
10.1	Introduction	187
10.2	Matériel et méthode	187
10.2.1	Préparation des échantillons pour l'analyse par rayons X	187

10.2.1.1	Préparation des échantillons pour la micro-absorption X	188
10.2.1.2	Préparation des échantillons pour l'absorption X de poudre	188
10.2.2	Analyse des échantillons par rayons X	188
10.2.2.1	Micro-fluorescence X	188
10.2.2.2	Micro-absorption X et absorption X de poudre	188
10.2.2.3	Extraction et analyse des données EXAFS et μ -EXAFS	189
10.3	Résultats	189
10.3.1	Distribution spatiale du Cu et du Zn dans le filtre à tourbe par micro-fluorescence X	189
10.3.2	Détermination par μ -XANES du degré d'oxydation du cuivre dans les trois associations géochimiques	191
10.3.3	Étude microscopique des trois associations géochimiques par μ -EXAFS et EXAFS	192
10.3.3.1	Étude du spot #1	192
10.3.3.2	Étude du spot #2	194
10.3.3.3	Étude du spot #3	198
10.4	Conclusion	199
 Conclusion Générale		201
 Perpective		203
 Listes des figures		203
 Bibliographie		207
 Résumé		217

Remerciement

Comme le veut la tradition, je vais tenter de satisfaire au difficile exercice de la page des remerciements. Non qu'exprimer ma gratitude envers les personnes en qui j'ai trouvé un soutien soit contre ma nature, bien au contraire. La difficulté tient plutôt dans le fait de n'oublier personne. C'est pourquoi, je remercie par avance ceux dont le nom n'apparaît pas dans cette page et qui m'ont aidé d'une manière ou d'une autre. Ils se reconnaîtront.

La première personne que je tiens à remercier est Alain Manceau, The Boss, qui a su me laisser la liberté nécessaire à l'accomplissement de mes travaux, tout en y gardant un IJil critique et avisé. Nos oppositions, contradictions et confrontations ont sûrement été la clé de notre travail commun.

Plus qu'un encadrant, je crois avoir trouvé en Lorenzo Spadini un ami qui m'a aidé aussi bien dans le travail que dans la vie. Que de souvenir ces longues et interminables journées chez lui à travailler tout en buvant un vin plus ou moins raffiné ;-)

Je tiens également à remercier Phytoystore et plus particulièrement Thierry Jacquet pour avoir accepté de financer ce projet de recherche. Je tiens également à remercier le LGIT et son équipe dirigeante, Dominique Jault et Fabrice Cotton pour m'avoir donné la chance de réaliser ce projet de recherche à Grenoble. Je veux remercier l'équipe administrative du LGIT Christine Bigot, France Blanc, Cecile Cretin De Palo Karine, Jean-Marc Nicole et Jacques Pellet pour m'avoir aidé à résoudre tous ces petits tracas administratifs. Je remercie Marc Benedetti et Emmanuel Guillon de m'avoir fait l'honneur d'être les rapporteurs de cette thèse. J'éprouve un profond respect pour leur travail et leur parcours, ainsi que pour leurs qualités humaines. Le regard critique, juste et avisé qu'ils ont porté sur mes travaux ne peut que m'encourager à être encore plus perspicace et engagé dans mes recherches. Merci à Jean-luc JAFFREZO d'avoir accepté de faire partie de mon jury.

Mention spéciale à Phillipe Behra, qui, après m'avoir supporté à l'ENSIACET et en DEA, a accepté de faire partie de mon jury. Je me rappelle encore le jour où il m'a parlé de l'opportunité de réaliser une thèse au LGIT avec Alain Manceau, ce qui je dois dire après coup à changer ma vie.

Je tiens également à remercier tous les ingénieurs de l'équipe géochimie de l'environnement Nicolas Geoffroy, Martine Lanson, Florian Molton et Delphine Tisserand, de l'ALS à Berkeley, Matthew Marcus et Syrielle Fakra et de l'ESRF, Olivier Proux et Jen-Louis Hazemann pour leur gentillesse et leur précieuse aide. J'en profite également pour remercier toute l'équipe de Géochimie de l'environnement Laurent Charlet, Rolland Hellman, Marie-Pierre Isaure, Bruno Lanson, et bien évidemment Géraldine Sarret pour leur temps, leur disponibilité et leur conseil. Je remercie aussi tous les stagiaires qui m'ont aidé pendant cette thèse, Clarisse, Nahtalie et bien évidemment Christelle, la seule vraie a7ienne!!!

Mais ma thèse n'aurait pas été aussi passionnante et enrichissant sans mes quatre supers collègues. En Benjamin et Matthieu Causse, Thomas Lenoir et Régis Perrier plus que des collègues j'y ai trouvé de véritables amis, avec qui j'ai pu échangé des " pacman contest ", des cafés à Eve et de bonnes tranches de rigolade faisant de nous de véritables " intermittents de la science ".

Je veux également remercier mes superbes collègues du LGIT, Nadège, Stéphanie et Aloè Vera pour m'avoir supporté durant mes interminables allées et venues dans leur bureau!!!

Je tiens également à remercier tous les thésard du LGIT, Bastien, Romain, Fabien, Ivy, Gwenaëlle, Dimitri, Agathe, Clara, Matthieu, Bérénice, Thomas, Yvi Soline, Laura, Mathilde, Alejandro et j'en oublie, pour m'avoir supporté durant les repas du midi!!!

Pour avoir un esprit sain, il faut un corps sain. Je tiens donc à remercier toute l'équipe de foot du LGIT, Shok, Manuel, les deux Phillippes, Fabrice, Jean-Robert, Christophe, Nicolas, Manu, Patrick, Remy, Pierre, Seiji et Maxime pour ces mercredis de foot endiablés.

Je tiens à remercier ma petite chérie pour m'avoir accompagné et surtout supporté durant ces trois ans. Enfin, je remercie toute ma famille pour m'avoir soutenu tout au long de ma vie grenobloise. Une part de moi vient de s'achever. Je garderai, une vision mélancolique de cette thèse, qui aura été, à la date d'aujourd'hui, l'une des meilleurs périodes de ma vie.

Liste des abréviations

CP	Carex peat ou tourbe noire
DOM	Matière organique dissoute
FA	Acide fulvique
HA	Acide humique
MO	Matière organique
SH	Substance humique
SP	Sphagum peat ou tourbe blonde

Introduction

Cadre du projet

Ce projet de recherche a été mené dans le cadre d'un contrat CIFRE entre le LGIT (Laboratoire de Géophysique Interne et Tectonophysique), le LGCA (Laboratoire de Géodynamique des Chaînes Alpines) et la société Phytorestore. L'objectif de ce projet a été de réunir les compétences scientifiques de ces centres de recherche et de cette société afin de comprendre les mécanismes de rétention du cuivre sur de la tourbe végétalisée via l'étude d'un procédé de traitement des eaux usées développé par la société Phytorestore.

Les activités humaines liées aux évolutions industrielles du XIX^e et XX^e siècle ont déversé des quantités importantes d'éléments traces (ET) dans les compartiments liquides, solides et gazeux de la terre augmentant ainsi leur concentration dans le milieu naturel. Les ET sont définis comme l'ensemble des éléments présents dans l'un de ces compartiments au niveau du ppm. Lorsque cette concentration excède le seuil de toxicité, des effets nocifs pour les êtres vivants, comme par exemple la mort de poissons dans les rivières, ou encore le jaunissement de la flore, sont observés. Il est donc indispensable d'épurer les eaux usées avant leurs rejets dans le milieu naturel.

De nos jours la précipitation est la technique la plus employée pour purifier les eaux usées. Cependant, avec cette technique il n'est pas possible d'obtenir des concentrations en ET inférieures à leur produit de solubilité. Or, ces valeurs sont le plus souvent supérieures aux normes en vigueur. Fort de ce constat, des techniques alternatives ont été mises au point. Cependant, ces nouvelles techniques sont souvent chères (extraction liquide-liquide, électrolyse) et certaines difficiles à mettre en oeuvre (osmose inverse). D'autres, comme l'adsorption et/ou l'échange d'ion sur une surface sont peu onéreuses et efficaces. C'est notamment le cas de la complexation des ET sur de la tourbe (Brown et al., 2000).

Le procédé étudié au cours de ce projet de recherche est celui des Jardins FiltrantsTM, alternative écologique et économique à l'enfouissement et à l'incinération, développé par la société Phytorestore (<http://www.phytorestore.com/>). Le traitement des sols pollués s'effectue selon deux étapes successives :

1. Les sols contaminés sont mis en dépôt dans des casiers rhizofiltrants où sont appliqués des traitements physico-chimiques. La végétalisation des casiers assure l'action combinée des plantes et des microorganismes présents dans la rhizosphère, ce qui améliore la lixiviation des métaux, transforme la fraction résiduelle sous des formes peu solubles et maintient la fertilité du sol.
2. Les filtrats, chargés en métaux lourds et issus de ces premiers casiers, sont récupérés par des drains et alimentent un casier central (Figure 1) planté généralement de roseaux (*Phragmites australis*, P.a.) et rempli d'un mélange de tourbe noire (CP), de tourbe blonde (SP) et de limon. Les ET contenus dans le filtrat sont fixés sur les particules de tourbe et à l'interface

tourbe/racine par phytoséquestration.

Un site pilote a été mis en place en 2002 à Avrigny dans l'Oise par la société Phytorestore. Il comporte 5 casiers expérimentaux creusés dans le sol : quatre casiers rhizofiltrants traitent chacun environ 3 tonnes de sol contaminé et un casier central phytoséquestrant assure en permanence la collecte des eaux de drainage sur un lit de tourbe/limon (Figure 1). Le sol contaminé est issu de la zone maraîchère de la plaine de Pierrelaye. Ce périmètre de terre agricole d'environ 100 km² a été pollué par des ET (principalement Cu, Zn et Pb) suite à l'irrigation par des eaux usées non clarifiées de la ville de Paris pendant près d'un siècle.

Une première étude, réalisée dans le cadre de la thèse de Tatiana Kirpichtchikova, visait à optimiser les traitements physico-chimiques dans les casiers rhizofiltrants du site pilote et à améliorer la lixiviation des ET. Notre étude s'intéresse au traitement des filtrats issus des casiers rhizofiltrants, à travers la compréhension des mécanismes de rétention des ET, et plus particulièrement du cuivre et du zinc, dans le casier central (appelé par la suite filtre à tourbe ou casier à tourbe) et plus particulièrement par les particules de tourbe et à l'interface tourbe/racines des roseaux.



FIGURE 1 Casier à tourbe de la station d'épuration de Honfleur (France, 2005).

Objectifs du projet de recherche

Ce projet de recherche a trois objectifs principaux.

1. Le premier objectif est commercial. Il s'agit d'améliorer l'efficacité et la longévité du traitement des filtrats dans le casier central en mesurant la capacité de rétention du cuivre des deux tourbes. Il est alors possible de déterminer le taux de renouvellement de la tourbe afin que le procédé conserve son efficacité au fil du temps.
2. Le deuxième objectif relève d'un caractère plus fondamental. En effet, aujourd'hui il y a un large consensus parmi la communauté scientifique pour croire que le risque pour les organismes vivants associé à la présence d'ET est déterminé en large partie par la nature du complexe ET-phase porteuse et non par la concentration de l'ET. Il est donc important de déterminer la nature du complexe ET - phase porteuse afin d'évaluer l'impact du déversement d'ET vers l'écosystème. Parmi toutes les phases porteuses connues et identifiées, les substances humiques (SH), présents en large quantité dans la tourbe, jouent un rôle prépondérant dans la mobilité et la toxicité des ET dans le sol. Ces polymères naturels issus de l'activité biologique portent de nombreux groupements fonctionnels capables de fixer les ET. Il est donc essentiel de déterminer

en particulier la nature du complexes ET - SH afin d'évaluer la biotoxicité et la mobilité des ET dans les sols organiques.

3. Le troisième objectif de ce projet est d'estimer le potentiel de valorisation du cuivre et du zinc retenus par la tourbe dans le casier en déterminant la nature des complexes d'adsorption. En effet, si un de ces éléments est accumulé de façon quantitative sous une forme exploitable dans le casier central, il serait récupérable. C'est le principe du " biomining ", qui consiste à extraire la fraction exploitable bioaccumulée, et de l'utiliser comme matière première.

Moyens mis en oeuvre

Le caractère novateur de notre étude tient en la mise en oeuvre de techniques physico-chimiques et de la spectroscopie X d'absorption sur rayonnement synchrotron.

La technique physico-chimique utilisée mesure les isothermes d'adsorption. Cette mesure caractérise **macroscopiquement** l'affinité et la capacité de rétention des deux tourbes vis-à-vis du cuivre et du zinc.

La spectroscopie des rayons X détermine **microscopiquement** la nature des complexes d'adsorption. Elle nécessite l'utilisation de rayonnement synchrotron généré par des électrons accélérés à une vitesse proche de la lumière dans un anneau de stockage. Ces instruments de mesure sont modernes et très performants.

Plan

Afin d'atteindre les objectifs proposés, ce rapport de thèse se divisera en 4 grandes parties. La première partie de ce projet visera à faire un état des connaissances de la chimie des SH et de leur comportement vis à vis du cuivre. La deuxième partie portera sur une étude chimique des mécanismes de rétention du cuivre par les tourbes noires et blondes via des expériences de titrage et d'isotherme d'absorption. Ces expériences estiment *in fine* la quantité et les constantes d'équilibre protonique et du cuivre pour les groupements fonctionnels des deux tourbes. La troisième partie s'intéressera à l'étude spectroscopique des mécanismes de rétention du cuivre par les SH via des expériences d'absorption des rayons X. Ces expériences permettent d'évaluer l'environnement atomique immédiat du cuivre dans des échantillons synthétisés au laboratoire. Enfin, la quatrième et dernière partie portera sur l'étude de la spéciation du cuivre et du zinc dans le casier à tourbe, c'est-à-dire dans des conditions naturelles.

Première partie

Concepts utilisés

Chapitre 1

La tourbe

1.1 Définition et formation de la tourbe

La tourbe se définit comme le produit de la fossilisation de débris végétaux par des microorganismes (bactéries, anthropodes, champignons, microfaune) dans des milieux humides et pauvres en oxygène que l'on appelle tourbière sur un intervalle de temps compris entre 1 000 et 7 000 ans. Si la tourbe est soumise à des conditions particulières de pression et de température causées par son enfouissement, elle se transforme, au bout d'une période de l'ordre du million d'années, en charbon. Habituellement, on classe la tourbe en trois grandes catégories selon le type de végétaux supérieurs dont elle est issue.

La tourbe blonde (ou SP pour *Sphagnum peat*) provient de la transformation des sphaignes (figure 1.1). Elle est riche en fibre de cellulose et en carbone. Sa texture est fibrique. Ses autres traits essentiels sont sa faible densité, sa forte teneur en eau et sa faible teneur en cendre minérale car elle est souvent jeune (2 000 ans). Cette tourbe est l'une des deux tourbes utilisées dans le procédé des Jardins FiltrantsTM.

La tourbe brune provient de la transformation de débris végétaux ligneux (arbres) et d'éricacées. Elle est composée de fibres mélangées à des éléments plus fins, provenant d'une dégradation plus poussée des végétaux, lui donnant une texture mésique. Elle est plus âgée (5 000 ans) que la précédente.

La tourbe noire (ou CP pour *Carex peat*) provient de la transformation des cypréracées (*Carex*, figure 1.2). Elle est riche en particules minérales et organiques fines. Sa texture est saprique, c'est-à-dire que la tourbe est plastique et moins fibreuse. Visuellement, la tourbe noire se distingue facilement de la tourbe blonde par sa couleur foncée (figure 1.3). Une tourbe blonde très ancienne tend à se rapprocher, par certains caractères, de la tourbe noire. Cette tourbe est l'une des deux tourbes utilisées dans le procédé des Jardins FiltrantsTM.

1.2 Caractéristiques physiques et chimiques de la tourbe

La composition physique et chimique de la tourbe dépend de nombreux facteurs comme la nature de la végétation, le climat régional, l'acidité de l'eau et le degré de diagenèse. La tourbe est constituée majoritairement d'eau et de cendre (entre 80 et 90 %). La tourbe sèche est constituée très

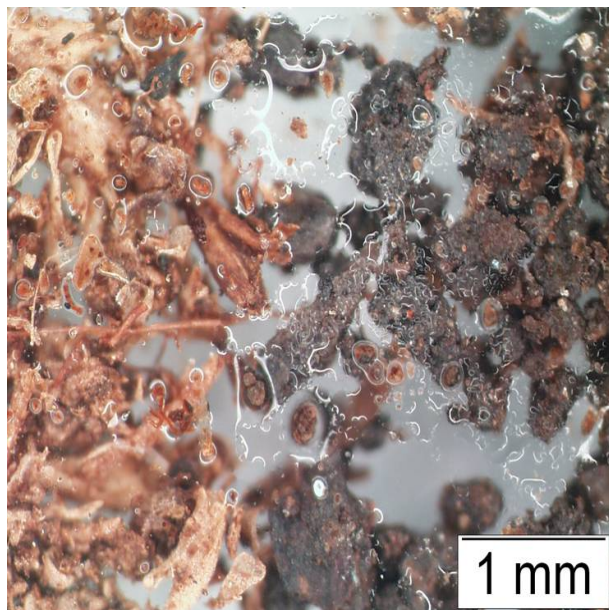


FIGURE 1.1 *Sphagnum sp.*



FIGURE 1.2 *Carex halleriana.*

FIGURE 1.3 Observation microscopique de tourbe blonde (gauche) et noire (droite).



majoritairement de MO (tableau 1.1).

Cette MO est principalement constituée de cellulose et de lignine. Ces deux constituants sont généralement considérés comme inertes aux réactions d'adsorption (Stevenson, 1994). Cette MO contient également des SH qui ont un fort pouvoir absorbant. Ces SH portent en effet des groupements polaires comme des groupements carboxyliques, alcools, aldéhydes, cétones et éthers capables de fixer les ET. D'où l'idée d'utiliser la tourbe comme absorbant pour la purification des eaux usées.

Tableau 1.1 *Caractéristiques physiques et chimiques des trois types de tourbes de Baupte (Manche, France) d'après Manneville (1999).*

Type de tourbe	Végétaux constitutifs	texture	densité	% C ^a	% H ₂ O ^b	pH	% de cendres
Blonde	Sphaignes	Fibrique	0.048	58.3	95	3.8	4
Brune	Ericacées arbres divers	Mésique à fibrique	0.091	54.6	88	5.6	4
Noire	Cypéracées ou roseaux	Mésique à saprique	0.118	55.4	87	5.0	18.5

^a% par rapport à la masse sèche; ^b % par rapport à la masse totale

1.3 Utilisation industrielle des propriétés d'adsorption de la tourbe

Autrefois utilisée comme combustible de cheminée ou comme matières premières à la construction de logement, la tourbe est aujourd'hui utilisée comme adsorbant possible au traitement des eaux usées. La présence des groupements polaires ayant une grande affinité vis-à-vis des ET permet cette utilisation. Le tableau 1.2 présente une liste non exhaustive des études menées sur la capacité de rétention des tourbes vis à vis des ET. Il est aujourd'hui admis que la tourbe est un sorbant capable de retenir Ag, Al, Ba, Ca, Cd, Cu, Cr, Co, Cr, Fe, Hg, La, Mn, Mg, Na, Ni, Pb, Sb et Zn, soit la majorité des ET rencontrés dans les sols et les eaux. C'est pour cette raison que la société Phytorestore utilise industriellement la tourbe dans son procédé de Jardins FiltrantsTM.

Comme, les SH sont les constituants réactifs de la tourbe. S'intéresser aux propriétés d'adsorption de la tourbe passe par la connaissance approfondie des SH.

Tableau 1.2 *Quelques références bibliographiques sur l'adsorption des métaux par de la tourbe.*

Auteur	Element étudié
Aho et Tummavori (1984)	Cu(II)
Bencheikh-Lehocine (1989)	Zn(II)
Bloom et McBride (1979)	Mn(II), Fe(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), La(III)
Boyd et al. (1981)	Cu(II), Fe(II)
Brown (1993)	Cu, Cd, Zn, Pb, Al
Boulanger (1989)	Cr(VI)
Chen et al. (1990)	Cu(II)
Chaney et Hundemann (1979)	Cd
Chistova et al. (1990)	Fe(III), Cu(II), Cr(II), Zn(II), Ni(II), Pb(II), Ba(II)
Coupal et Lalancette (1976)	Hg, Cd, Zn, Cu, Fe, Ni, Cr(VI), Cr(III), Ag, Pb, Sb
Crist et al. (1996)	Mg, Mn, Ca, Ni, Zn, Cd, Cu, Pb
Dissanayake et Weerasooriya (1981)	Cu
Gamble et al. (1970)	Cu(II)
Gamble et al. (1976)	Mn(II)
Gardea-Torresdey et al. (1996)	Cu(II)
Gosset et al. (1986)	Cu(II), Cd(II), Zn(II), Ni(II)
Ho et al. (1995)	Ni
Horacek et al. (1994)	Cu, Pb, Zn
Maslennikov et Kiselva (1989)	Cu(II), Zn(II), Fe(II), Ca(II)
McKay et Porter (1997)	Cu, Cd, Zn
Sharma et Forster (1993)	Cr(IV)
Shiskowski et Viraraghavan (1993)	Cr
Spinti et al. (1995)	Fe, Al, Pb, Cu, Cd, Zn, Ca, Mn, Mg, Na
Trujillo et al. (1991)	Al, Cd, Zn, Ca, Mn, Mg
Viraraghavan et Dronamraju (1993)	Cu, Ni, Zn
Wolf et al. (1977)	Pb, Cd, Cu, Zn

Chapitre 2

Les substances humiques

Les substances humiques (SH) sont des amas polyélectrolytiques de structure complexe et variée. Malgré cette complexité et cette diversité, il est possible d'obtenir des informations structurales générales sur ce matériel grâce à l'utilisation de méthodes analytiques appropriées.

2.1 De la tourbe aux substances humiques

La tourbe, et plus généralement les sols, sont un système complexe constitué de différents constituants, vivants ou non, qui peuvent interagir les uns avec les autres. Ces constituants se divisent en deux grandes fractions : une fraction minérale (dont les propriétés ne seront pas exposées ici) et une fraction organique. Comme nous l'avons vu précédemment, la distribution relative de ces deux fractions dépend principalement du type de végétaux poussant sur la tourbe mais également des conditions pédoclimatiques (pH, température, humidité et aération du sol) régnant lors la formation de la tourbe.

La fraction organique se divise elle-même en deux constituants (figure 2.1). Le premier constituant est la matière organique (MO) vivante qui englobe la totalité de la biomasse animale (microfaune, organismes vivants), végétale (végétaux supérieurs et inférieurs, microflore), fongique (champignons) et bactérienne en activité. Le deuxième constituant de la fraction organique est la MO morte qui englobe la totalité de la nécromasse animale (déjections, cadavres), végétale (résidus végétaux, exsudats), fongique (champignons morts) et bactérienne (bactéries morts). La nécromasse fraîchement déposée constitue la litière de l'horizon supérieur du sol. Une fois dans le sol, cette nécromasse est consommée par différents organismes décomposeurs du sol (arthropodes, champignons, bactéries) qui permettent leur fragmentation, leur digestion et leur incorporation dans le sol. Cette décomposition se fait selon deux processus :

1. La minéralisation qui aboutit à la décomposition de la MO morte en substances non humiques (ions, CO_2 , H_2O).
2. L'humification qui aboutit à la formation des SH.

2.2 Définition des substances humiques

Les SH sont des polymères naturels constitués principalement de C, H, O et accessoirement de N, P et S qui proviennent de l'humification de la nécromasse. Les SH peuvent se diviser en trois fractions en fonction de leur solubilité et de leur poids moléculaire :

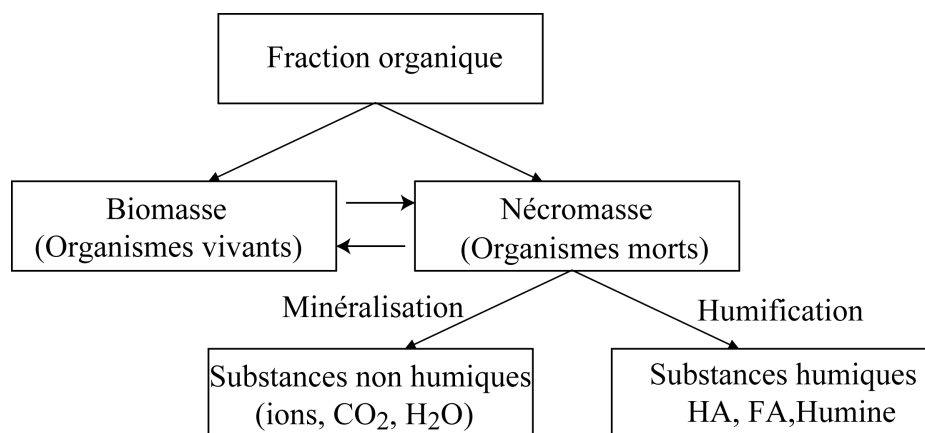


FIGURE 2.1 *Devenir de la fraction organique dans les sols.*

1. Les acides fulviques (FA) sont solubles pour toutes conditions de pH. De couleurs jaunes, ils ont une masse moléculaire qui varie de 500 à 5 000 Da ou g.mol^{-1} .
2. Les acides humiques (HA) ne sont solubles que pour un pH supérieur à 2. De couleur noire, leur masse moléculaire varie de 10 000 à 300 000 Da ou g.mol^{-1} .
3. L'humine est insoluble pour toute condition de pH. Sa masse moléculaire est de 100 000 à 1 000 000 Da ou g.mol^{-1} . Sa structure est assez mal connue.

Les SH peuvent être extraites à partir de sols, de sédiments, de tourbe, d'eau de rivière, de mer, de lac ou même de boue de station d'épuration. Comme les méthodes d'extraction sont innombrables, l'International Humic Substance Society (IHSS) a défini un protocole standard, maintenant largement adopté, qui permet de comparer les différentes SH étudiées (Swift, 1996). Nous avons suivi ce protocole d'extraction des HA et des FA dans ce travail.

2.3 Caractéristiques physiques et chimiques des substances humiques

Les caractéristiques physiques et chimiques moyennes des trois grandes fractions définies ci-dessus sont données dans le tableau 2.1 et la figure 2.2. Physiquement, les SH se différencient aisément par leur couleur sous incidence solaire. Tandis que les FA sont de couleur jaune-orangés, les HA et l'humine présentent une couleur plus foncée, proche du noir.

Chimiquement, les SH sont des macromolécules polyfonctionnelles contenant 50 à 70 % de composés phénoliques et benzènes carboxyliques, et de 30 à 50% de chaînes peptidiques et de polysaccharides. Généralement, les HA ont une teneur en C plus élevée que les FA (55% vs. 45%) mais une teneur en O plus faible (35% vs. 45%). La teneur en N décroît quand la masse moléculaire décroît. Les teneurs en H et S sont semblables quelle que soit la fraction. Les rapports O/C, N/C et S/C sont supérieurs pour les FA que pour les HA. Ce résultat suggère que les FA contiennent plus de groupements fonctionnels par atome de carbone que les HA (Dudal et Gerard, 2004).

Les SH se singularisent des autres constituants organiques par leur polyfonctionnalité. Elles contiennent en effet de nombreux groupements fonctionnels oxygénés (-COOH et -OH), et, dans une moindre mesure, des groupements azotés (amide, NH_2) et soufrés (thiol, acide sulfonique)(tableau

2.2 et figure 2.3). La nature et la distribution de ces groupements varient selon la nature des SH. Généralement, la densité de sites fonctionnels est plus grande chez les FA que chez les HA.

Tableau 2.2 Abondance des principaux groupements fonctionnels dans les acides humiques et fulviques (mmol.g^{-1}), d'après *Steelnik (1985)*.

Groupement	Acide Humique	Acide Fulvique
Acidité totale	5.6-7.7	6.4-14.2
-COOH	1.5-5.7	6.1-11.2
-OH phénolique	2.1-5.7	0.3-5.7
-OH alcool	0.2-4.9	2.6-9.5
C=O quinonique	1.4-2.6	0.3-2.0
-C=O cétonique	0.3-1.7	1.6-2.7
-O-CH	0.3-0.8	0.3-1.2








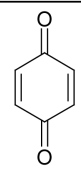
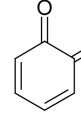
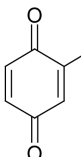





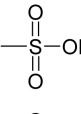
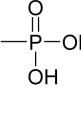
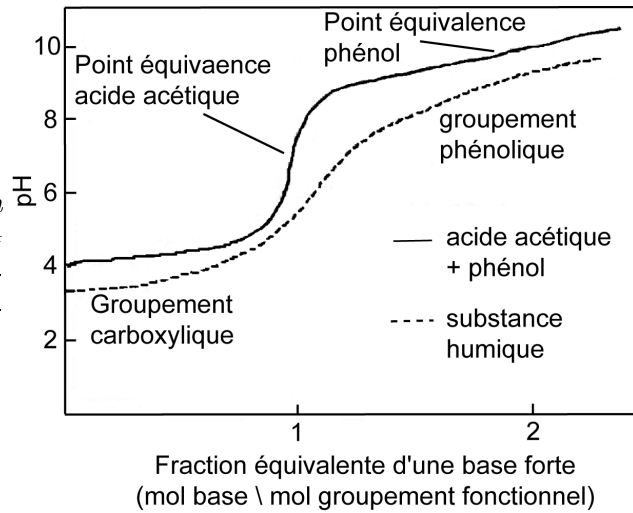
Groupes oxygénés aliphatiques	Groupes oxygénés aromatiques	Groupes azotés	Groupes sulfurés et phosphatés
 Aldéhyde  Ether  Cétone  Enol  Carboxylique  Ester  Alcool	 Quinone  Quinone  Hydroxyquinone  Phénol	 -NH ₂ Amine primaire  =NH Imine  Amide	 -SH Thiol  Acide sulfonique  Acide phosphorique

FIGURE 2.3 Principaux groupements fonctionnels présents dans les substances humiques.

Ces groupements fonctionnels sont à l'origine des propriétés acides et complexantes des SH. Si l'on compare la courbe de titrage de HA ou de FA avec celui d'un mélange équimolaire d'acide acétique ($\text{pK}_a = 4.8$) et phénolique ($\text{pK}_a = 10$), on remarque de grandes similitudes (figure 2.4). Cependant, la courbe des HA et FA est beaucoup plus plate. En effet, comme la constante d'acidité de chaque groupement est fonction de son environnement chimique et que celui-ci varie en raison des substitutions chimiques et de la structure non périodique de la MO, il en résulte un continuum de constantes d'acidités, centré sur deux valeurs ($\text{pK}_a = 3-5$ et $8-10$), qui correspondent aux groupements carboxyliques et phénoliques. Ces deux types de groupements sont à l'origine de la plupart des propriétés complexantes des SH.

FIGURE 2.4 Courbe de titrage d'une solution équimolaire (10^{-4} M) d'acide acétique ($pK_a = 4.8$) et de phénol ($pK_a = 10$) et d'un acide humique contenant environ 10^{-4} mol.g $^{-1}$ de groupements carboxyliques (Stevenson, 1994).



2.4 Mécanisme de formation des substances humiques

La structure et la composition des SH dépend de leur condition de synthèse qui est fonction de la nature du sol (nature originelle de la MO, activité biologique de la microflore) et des conditions environnementales (pH, température, humidité). La grande variabilité de ces deux facteurs contribue à la diversité des mécanismes de formation des SH. La connaissance de ces mécanismes présente des intérêts non négligeables. En effet, connaître les mécanismes de formation des SH nous donne (i) une indication sur leur structure et leur composition chimique, (ii) une meilleure compréhension du cycle du carbone et (iii) une meilleure connaissance des changements qui s'opèrent lors de la dégradation de la MO par les organismes vivants. Trois grandes voies coexistent quant-à l'origine des SH (Figure 2.5).

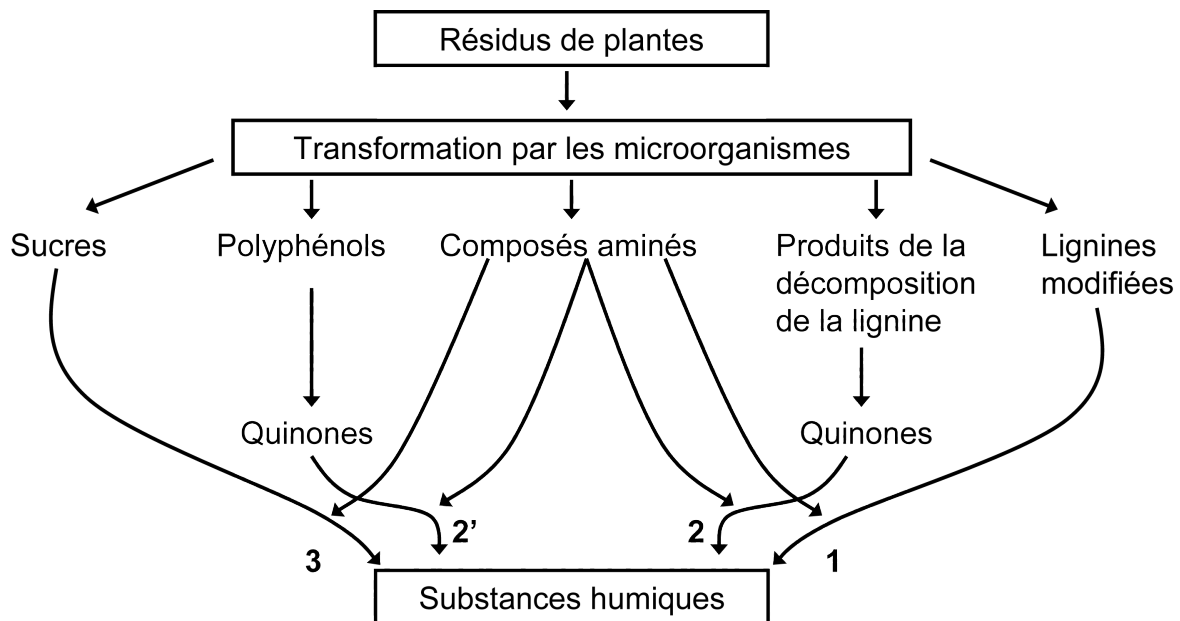
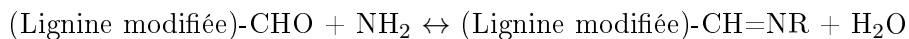


FIGURE 2.5 Les trois voies de synthèse hypothétiques des substances humiques (Stevenson, 1994). Les voies 1, 2 (et 2') et 3 correspondent respectivement aux voies ligneuses, phénoliques et de condensation aminosaccharose.

2.4.1 La voie ligneuse (voie 1)

Au début du siècle, de nombreux auteurs (Fischer et Schrader, 1921; Waksman, 1938) ont popularisé l'idée que les SH se forment à partir de lignine modifiée. La lignine (figure 2.6) est, avec la cellulose, un des principaux composants des végétaux. Chimiquement, elle est représentée sous forme d'une macromolécule constituée d'un assemblage de trois monomères : l'alcool coniferylique, l'alcool p-coumarylique et l'alcool sinapylique reliés entre eux par des liaisons C-C et ether-oxydes (figure 2.7). La proportion relative de chacun de ces trois monomères dans la composition de la lignine dépend de la nature de la plante dont elle est issue. Par exemple, tandis que la lignine des plantes herbacées contient autant des trois alcools, celle des conifères renferme une quantité relativement plus importante d'alcool sinapylique.

Dans la voie ligneuse, la lignine est dans un premier temps dégradée par les microorganismes. Au cours de sa dégradation, elle subit des transformations incluant (i) la perte de ses groupements méthoxy (-OCH₃) au profit de groupements -COOH et (ii) l'oxydation de chaînes aliphatiques terminales au profit de groupement -COOH et -CHO. Les fonctions -CHO formées réagissent ensuite avec des composés azotés de type protéique (composés aminés) synthétisés par les microorganismes selon une réaction du type :



Les produits obtenus sont des molécules enrichies en groupement -COOH et en groupement -OH et présentant un haut poids moléculaire : ce sont des humines (Felbeck, 1971). Leur oxydation et leur fragmentation produira par la suite des HA puis des FA.

2.4.2 La voie polyphénolique (voies 2 et 2')

Depuis les années 80, une autre voie de synthèse des SH a été proposée : la voie polyphénolique. A la différence de la voie ligneuse où la lignine n'est que partiellement dégradée, dans la voie polyphénolique la lignine (voie 2), ou/et les autres résidus non ligneux issus des végétaux supérieurs, comme par exemple la cellulose (voie 2'), sont totalement dégradés par les microorganismes et les champignons pour former une unité structurale monomérique : les o-polyphénols. Cette attaque microbienne est suivie d'une oxydation des groupements -OH, -COOH, -OCH₃ et -CHO par des enzymes spécifiques comme la polyphénoloxydase. Il se forme alors des quinones. Ces quinones s'autopolymérisent ou se recombinaient avec des composés azotés pour former des FA. Si cette polymérisation se poursuit, les HA puis l'humine se forment.

La différence fondamentale entre ces deux voies provient dans la chronologie de formation des SH. Tandis que la voie ligneuse forme dans un premier temps l'humine, puis les HA puis les FA, la voie polyphénolique forme dans un premier temps les FA puis les HA et enfin l'humine.

2.4.3 La voie de condensation amino-saccharose (voie 3)

Au début du siècle, une autre voie a été proposée pour expliquer la formation des SH : la voie de condensation amino-saccharose. A la différence des deux précédentes voies, celle-ci ne fait pas intervenir la lignine. Pour Maillard (1913), ce sont les polysaccharides et les acides aminés qui sont convertis en SH. Ces sucres réducteurs et ces acides aminés issus du métabolisme microbien et/ou de la dégradation des MO se polymérisent par condensation abiotique et subissent une polymérisation non enzymatique pour former des polymères azotés bruns (Jokic et al., 2001). Il se forme alors des

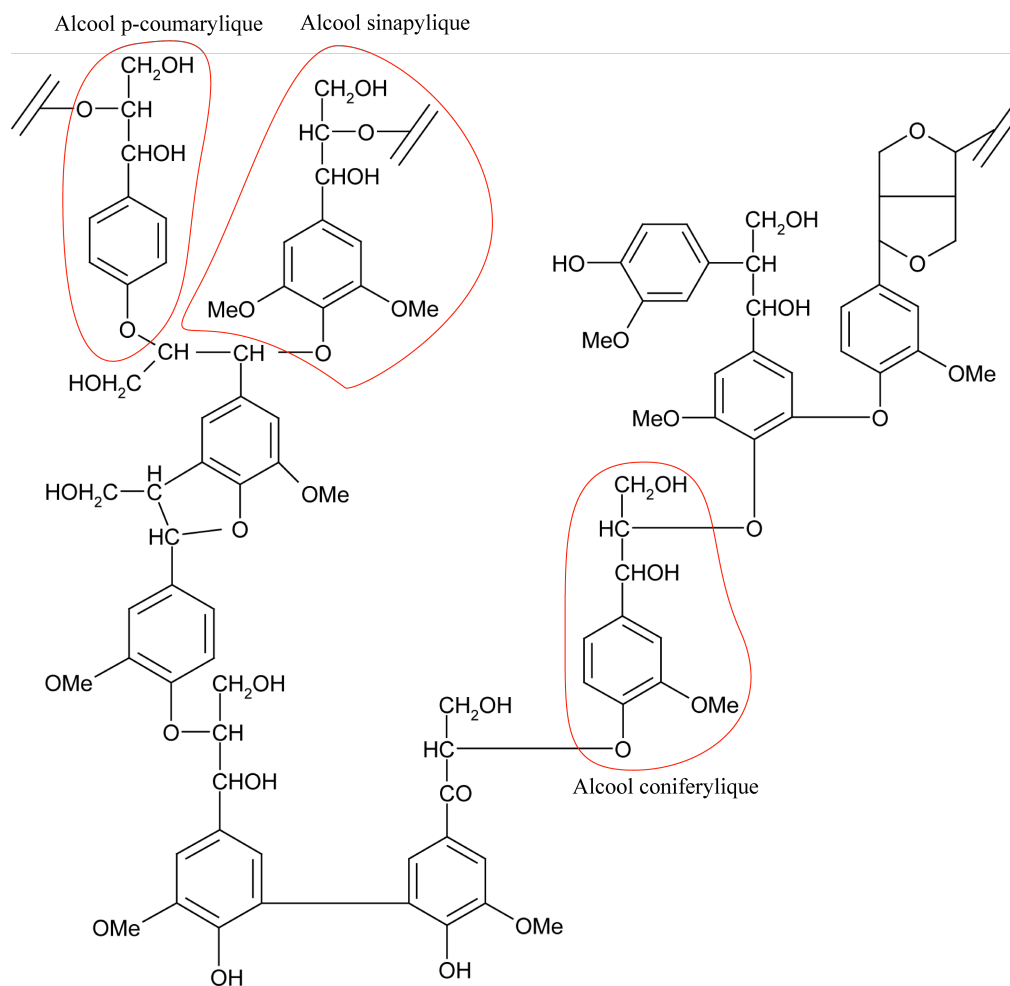


FIGURE 2.6 Représentation schématique de la lignine (Merdy et al., 2002).

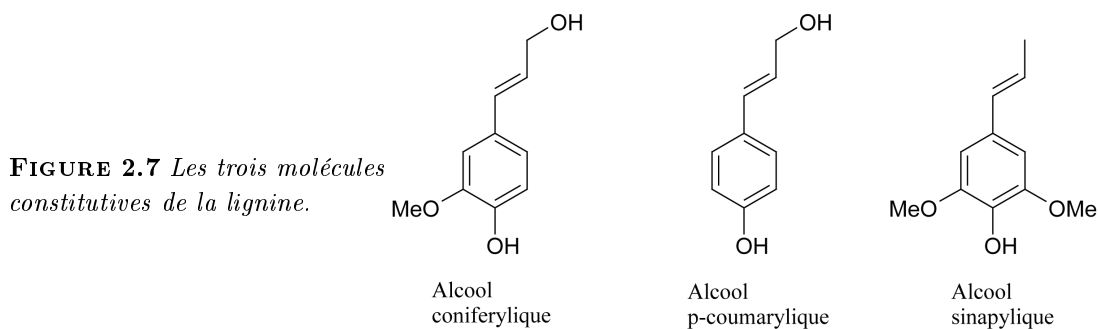


FIGURE 2.7 Les trois molécules constitutives de la lignine.

SH aliphatiques. Cette voie de synthèse est intéressante puisqu'elle permet d'expliquer la formation des SH dans les environnements où la lignine et ses produits de dégradation ne sont disponibles qu'en quantité limitée.

Ces trois voies de synthèse peuvent être considérées comme des voies probables de formation des SH. Ces mécanismes interviennent à des degrés divers dans les sols. Aussi, [Schnitzer et Khan \(1978\)](#) soulignent la difficulté de privilégier une voie plutôt qu'une autre. Par exemple, la voie ligneuse est très prépondérante dans les sols humides (type marais ou tourbière) alors que la voie polyphénolique est facilitée dans les sols forestiers aérés. Au contraire, les fluctuations fréquentes de température et d'humidité facilitent la condensation amino-saccharéuse. Aucune de ces voies n'est complètement satisfaisante et la synthèse des SH résulte très probablement de l'action conjointe de ces trois voies. En définitive, les mécanismes de formation des SH sont relativement peu connus au même titre que la structure précise des molécules qui les composent ([MacCarthy et al., 1990](#)).

2.5 Modèles structuraux des substances humiques

Au cours du XXème siècle, de nombreux chercheurs ont tenté de percer le mystère de la structure des SH. L'apparition de nouvelles techniques analytiques dans les années 80 comme la spectroscopie de masse, la résonance magnétique nucléaire, la pyrolyse à ionisation de champ et l'infra-rouge, a amélioré la connaissance sur la structure chimique des SH et a abouti à l'émergence de nombreux modèles structuraux. Tous ces modèles aident à la représentation conceptuelle des SH mais aucun d'entre eux n'est définitif. Ils constituent une représentation hypothétique simplifiée de macromolécules possédant une structure tridimensionnelle et fournissent une bonne représentation des propriétés chimiques moyennes des SH.

Dans cette partie, on se propose de faire la liste non exhaustive des principaux modèles proposés au cours des 100 dernières années. Tous ces modèles tiennent compte de la nature hétéropolycondensée, aromatique et phénolique des SH. Ces modèles diffèrent principalement par la distribution et l'arrangement des groupements fonctionnels. Les caractéristiques chimiques sont comparés dans le tableau 2.3.

2.5.1 Modèles structuraux de l'acide humique

[Fuchs \(1931\)](#) propose un modèle de HA dans lequel onze cycles à 6 carbones sont reliés entre eux par des arêtes (figure 2.8). Les carbones sont majoritairement aliphatiques ($\frac{C_{\text{aro}}}{C_{\text{ali}}} = 0.15$). Tous les groupements carboxyliques (-COOH) et la majorité des groupements phénoliques sont fixés sur des carbones aliphatiques ($\frac{OH_{\text{aro}}}{OH_{\text{ali}}} = 0.20$).

Le modèle de HA de [Dragunov et al. \(1948\)](#) est constitué des noyaux aliphatiques cycliques et aromatiques reliés entre eux par des ponts -C-O-C-, -C-N-C- et -C-C- (figure 2.9). Le seul groupement carboxylique et la majorité des groupements phénoliques sont liés à des carbones aliphatiques ($\frac{OH_{\text{aro}}}{OH_{\text{ali}}} = 0.33$).

Le modèle de HA de [Flaig \(1960\)](#) présente de noyaux aliphatiques cycliques (6 carbones) et aromatiques reliés entre eux par des ponts -C-O-C-, -C-N-C- et -C-C- (figure 2.10). Comme pour [Dragunov et al. \(1948\)](#) les deux seuls groupements -COOH sont reliés à des carbones aliphatiques. Cependant, la plupart des groupements -OH est liée à des carbones aromatiques ($\frac{OH_{\text{aro}}}{OH_{\text{ali}}} = 4$).

Tableau 2.3 Caractéristiques chimiques des modèles d'acides humiques de *Fuchs (1931) (HA-F)*, de *Dragunov et al. (1948) (HA-D)*, de *Flaig (1960) (HA-FL)*, de *Stevenson (1994) (HA-S)* et de *Schulten et Schnitzer (1993) (HA-SS)* et des modèles d'acides fulviques de *Buffle (1977) (FA-B)*, de *Leenheer et Rostad (2004) (FA-L)* et de *Alvarez-Puebla et al. (2006) (FA-A)*.

	O	C _{aro}	COOH _{aro}	OH _{aro}	COOH _{aro}	OH _{aro}	COOH _{tot}	OH _{aro}
	C	C _{ali}	COOH _{ali}	OH _{ali}	C _{aro}	C _{aro}	C _{tot}	C _{tot}
HA-F								
C ₄₆ H ₃₄ O ₁₉	0.41	0.15	-	0.2	-	0.17	0.11	0.13
HA-D								
C ₅₅ H ₆₃ N ₃ O ₁₆	0.29	0.28	-	0.33	-	0.08	0.018	0.19
HA-FL								
C ₈₁ H ₇₅ NO ₂₅	0.31	0.8	-	1.75	0.095	0.17	0.068	0.15
HA-S								
C ₇₃ H ₄₉ N ₃ O ₃₂	0.44	1.36	4.0	-	0.095	0.19	0.068	0.11
HA-SS								
C ₃₆₈ H ₅₀₁ N ₂₃ O ₈₉	0.24	0.57	4.8	1.14	0.078	0.06	0.078	0.021
FA-B								
C ₂₇ H ₂₆ O ₁₈	0.66	0.59	2.0	1.0	0.40	0.20	0.22	0.074
FA-L								
C ₂₉ H ₂₄ O ₁₆	0.55	0.71	-	2.0	-	0.69	0.14	0.10
FA-A								
C ₃₇ H ₃₅ NO ₃₂ S	0.86	0.32	0.2	0.50	0.083	0.33	0.16	0.11

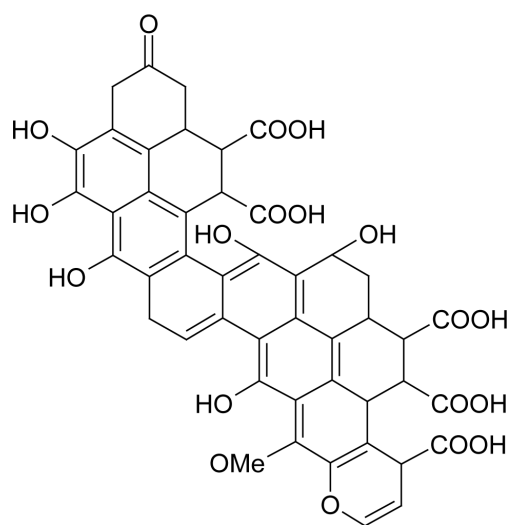


FIGURE 2.8 Modèle de HA de *Fuchs (1931)*.

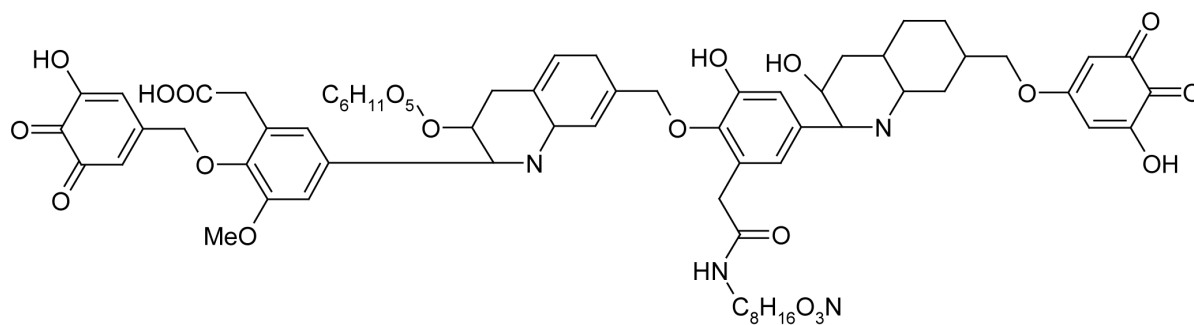


FIGURE 2.9 Modèle de HA de *Dragunov et al. (1948)*.

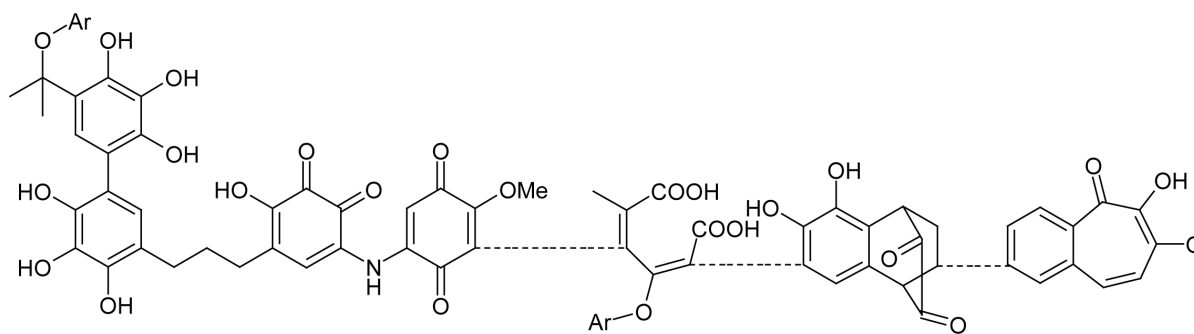


FIGURE 2.10 Modèle de HA de *Flaig (1960)*.

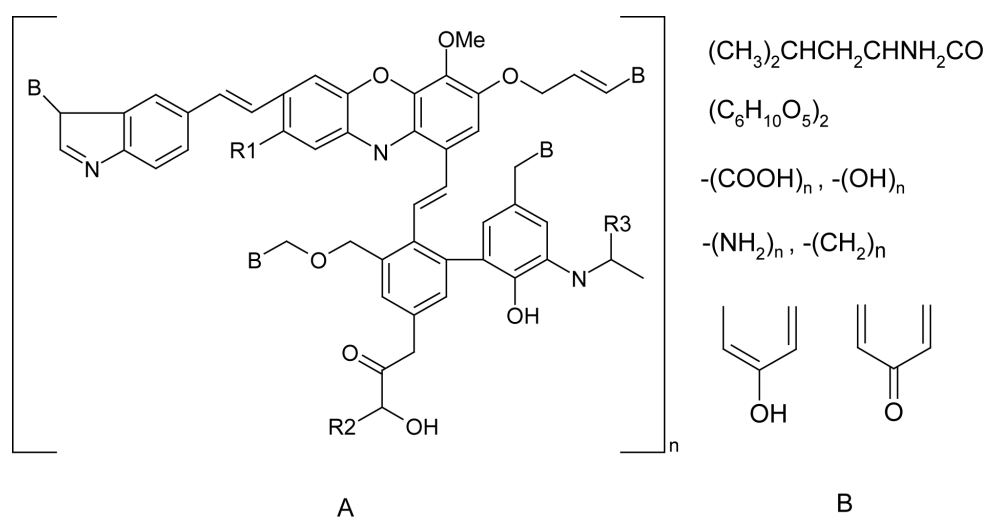
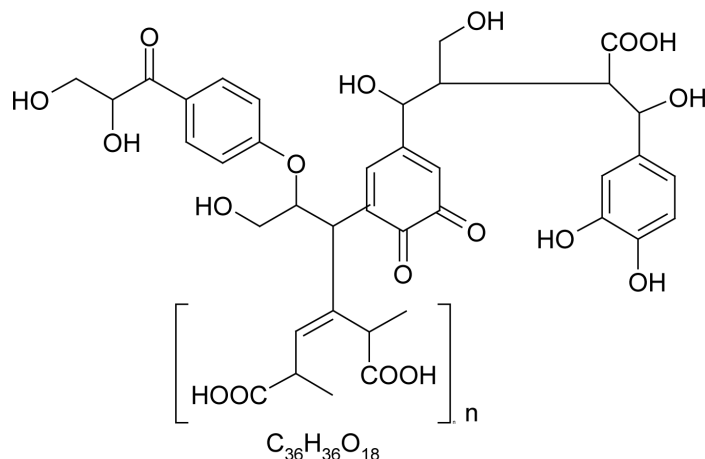
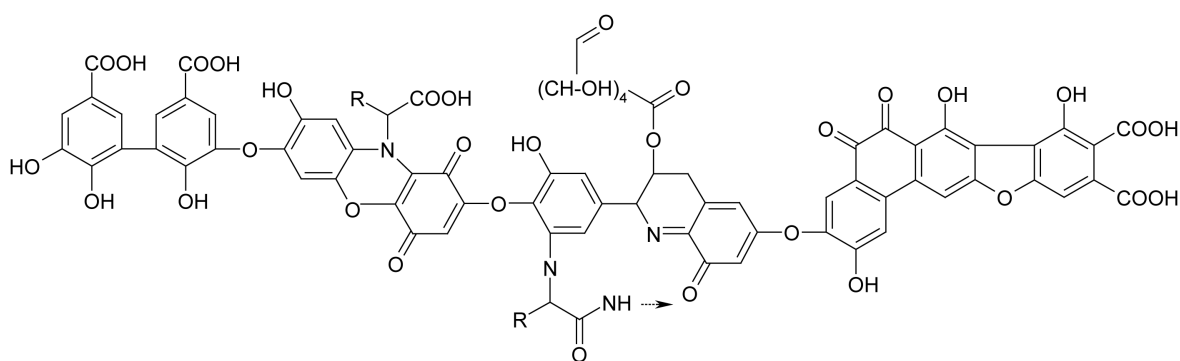


FIGURE 2.11 Modèle de HA de *Orlov (1985)*. A :Noyau ; B : partie périphérique.


 FIGURE 2.12 Modèle de HA de *Steelnik* (1985).

 FIGURE 2.13 Modèle de HA de *Stevenson* (1994).

Le modèle de HA de *Orlov* (1985) est une structure polymérique où chaque monomère possède une partie centrale identique à tous les HA (figure 2.11, partie A) et une partie périphérique différente selon les HA (figure 2.11, partie B). La partie centrale est composée de noyaux aliphatiques (5 ou 6 atomes) et aromatiques reliés entre eux soit par des arêtes soit par des ponts -C-O-C-, -C-N-C- et -C-C-. La majorité des groupements fonctionnels est située à la périphérie, et donc le coeur est relativement inerte.

Steelnik (1985) propose un modèle de HA divisé en deux parties : la partie centrale est composée de cycles aromatiques reliés entre eux par des chaînes aliphatiques et la partie polymérique est composée d'un monomère constitué exclusivement de carbones aliphatiques (figure 2.12). La totalité des groupements -COOH et la majorité des groupements -OH sont placés sur les carbones aliphatiques. Comme le modèle précédent, cet auteur met en avant le caractère polymérique des HA.

Schulten et Schnitzer (1993) ont développé une macromolécule contenant 368 carbones. Elle comprend des noyaux aromatiques et naphthaléniques reliés entre eux par de longues chaînes carbonées (figure 2.15). Les carbones sont majoritairement aliphatiques ($\frac{C_{\text{aro}}}{C_{\text{ali}}} = 0.57$). Les groupements carboxyliques sont majoritairement liés à ces carbones aromatiques ($\frac{COOH_{\text{aro}}}{COOH_{\text{ali}}} = 4.8$) tandis que les groupements -OH sont liés aussi bien à des carbones aromatiques qu'à des carbones aliphatiques ($\frac{OH_{\text{aro}}}{OH_{\text{ali}}} = 1.14$).

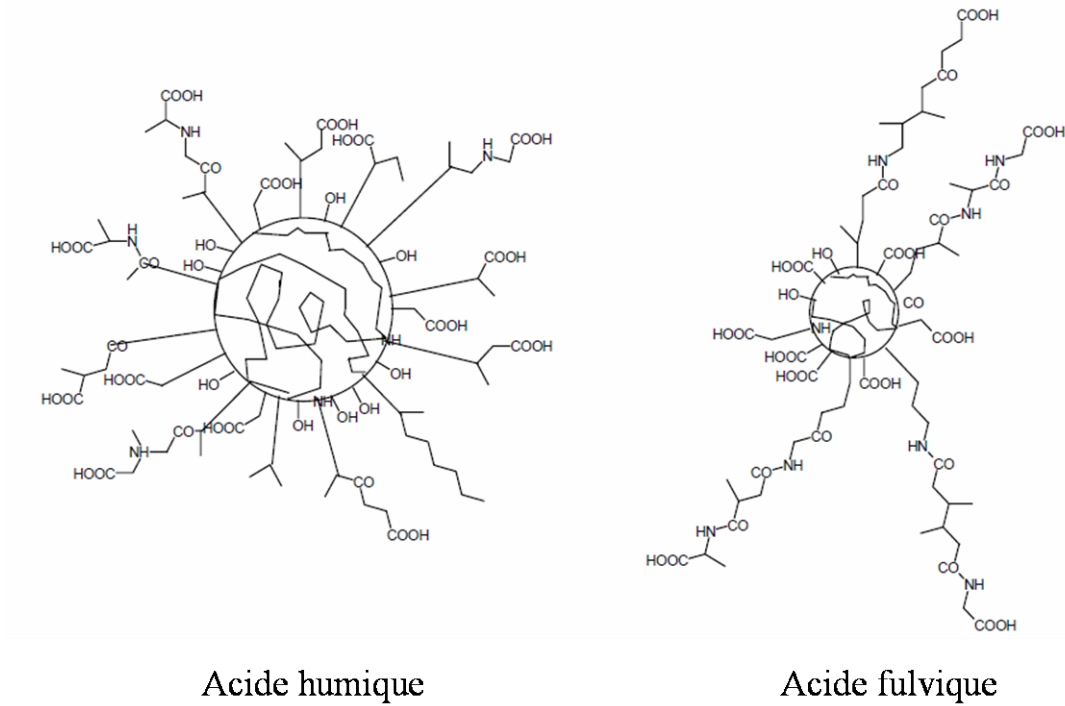


FIGURE 2.14 Modèle de HA et de FA de *Andreux et Munier-Lamy (1994)*.

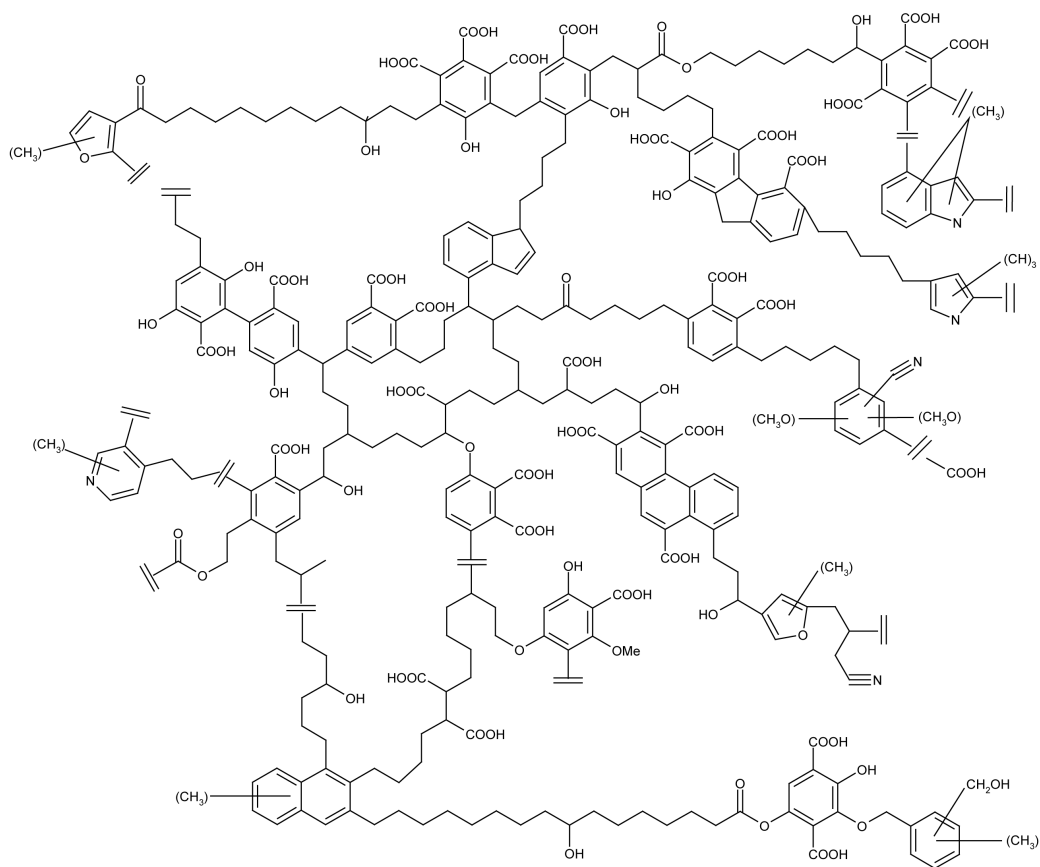


FIGURE 2.15 Modèle de HA de *Schulten et Schnitzer (1993)*.

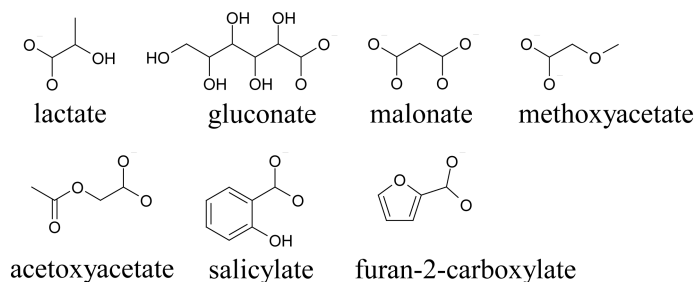


FIGURE 2.16 Modèle de SH de Hay et Myneni (2007) et de Deshmukh et al. (2007).

Le modèle de HA proposé par Stevenson (1994) est un modèle basé sur la voie ligneuse (figure 2.13). Les cycles aliphatiques (constitués de 5 ou 6 atomes) et aromatiques sont soit reliés par des arêtes communes, soit par des ponts -C-O-C-, -C-N-C- et -C-C-. Contrairement aux autres modèles, les carbones sont majoritairement aromatiques ($\frac{C_{\text{aro}}}{C_{\text{ali}}} = 1.36$). La majorité des groupements carboxyliques et phénoliques est associée à des carbones aromatiques ($\frac{COOH_{\text{aro}}}{COOH_{\text{ali}}} = 4$ et $\frac{OH_{\text{aro}}}{OH_{\text{ali}}} = 1.75$).

La représentation de Andreux et Munier-Lamy (1994) des HA et FA comporte un noyau aromatique central sur lequel sont fixées des chaînes latérales aliphatiques ramifiées. La globalité de la réactivité se trouve dans les chaînes aliphatiques ramifiées et non dans le noyau aromatique (figure 2.14)

Dans tous les modèles précédents, les HA étaient décrits comme des macromolécules constituées principalement de groupements -COOH et -OH. *A contrario*, Piccolo et al. (1993) estiment que la structure des HA n'est pas polymérique mais supramoléculaire, et qu'elle correspond à l'assemblage de petites molécules associées par des liaisons faibles (Van der Waals, $\pi - \pi$).

Hay et Myneni (2007) et Deshmukh et al. (2007) ont montré par des techniques spectroscopiques, comme la spectroscopie infra-rouge et la résonance magnétique nucléaire, que les SH contiennent des acides aliphatiques à faible poids moléculaire substitués en α par des groupements hydroxyles (similaire au D-Lactate, gluconate et malonate), ester/ether (e.g. methoxyacétate et acétoxyacétate) ou carboxylates (malonate), des acides aromatiques (acide salicylique) et des acides hétérocycliques (furanocarboxylate) (figure 2.16).

2.5.2 Modèles structuraux de l'acide fulvique

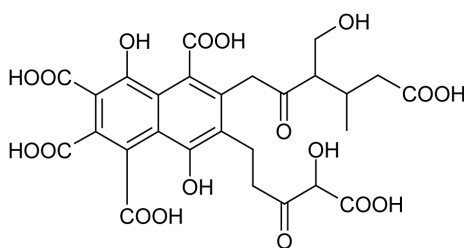


FIGURE 2.17 Modèle de FA de Buffle (1977).

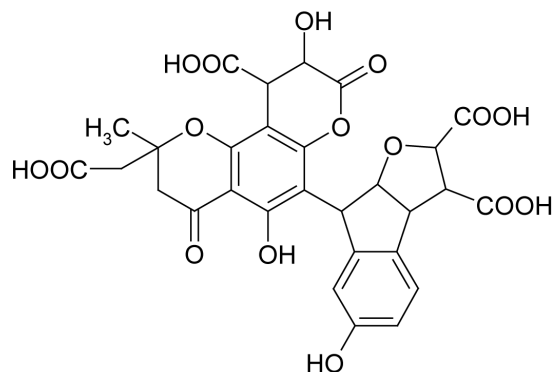


FIGURE 2.18 Modèle de FA de *Leenheer et Rostad (2004)*.

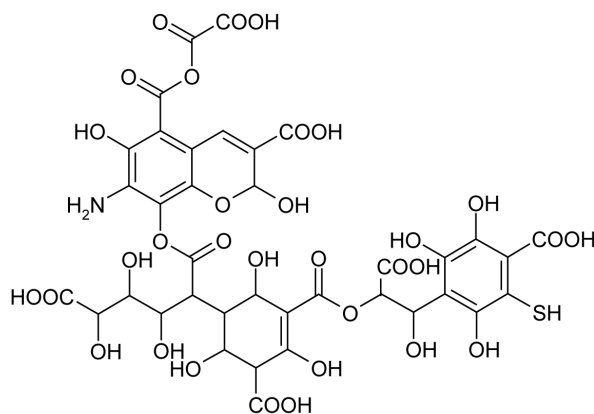


FIGURE 2.19 Modèle de FA de *Alvarez-Puebla et al. (2006)*.

Buffle (1977) propose une structure de FA composée de noyaux naphthalènes totalement substitués par des groupements $-COOH$ et $-OH$ (figure 2.17) et par deux chaînes aliphatiques terminées par des groupements $-COOH$.

Leenheer et Rostad (2004) proposent une structure de FA composée de deux ensembles de trois noyaux hétérocycliques (5 et 6 atomes) (figure 2.18). Ces deux ensembles sont reliés entre eux par un pont $-C-C-$. Les trois noyaux hétérocycliques sont substitués par des groupements $-COOH$ et $-OH$ et reliés entre eux par des arêtes.

Alvarez-Puebla et al. (2006) proposent un modèle de FA basé sur le modèle TNB de *Sein et al. (1999)* et sur la composition chimique élémentaire des FA (figure 2.19). La principale originalité dans ce modèle est la présence de groupements $-NH_2$ et $-SH$ sur les groupements aromatiques. De plus, ce modèle est caractérisé par une large proportion de chaînes aliphatiques ($\frac{C_{aro}}{C_{ali}}=0.32$) sur lesquelles la majorité des groupements fonctionnels sont liés ($\frac{COOH_{aro}}{COOH_{ali}}=0.2$ et $\frac{OH_{aro}}{OH_{ali}}=0.44$).

Tous les modèles de HA et de FA prennent en compte la densité des sites réactifs. Les modèles de FA sont ainsi globalement plus riches en groupements $-COOH$ et $-OH$ que les modèles HA. Ce résultat est en accord avec la littérature (*Stevenson, 1994; Milne et al., 2001; Ritchie et Perdue, 2003*). De plus, les modèles de FA sont plus riches en O que les modèles de HA. Ce résultat est également en accord avec la composition chimique moyenne des HA et des FA (tableau 2.1).

Comme cette section le montre, la recherche sur la structure des HA et des FA est un domaine de recherche riche et encore ouvert. Le vieux rêve d'une structure unique des HA et FA qui expliquerait l'ensemble des propriétés physiques et chimiques a été abandonné.

2.6 Définition de la matière organique dissoute

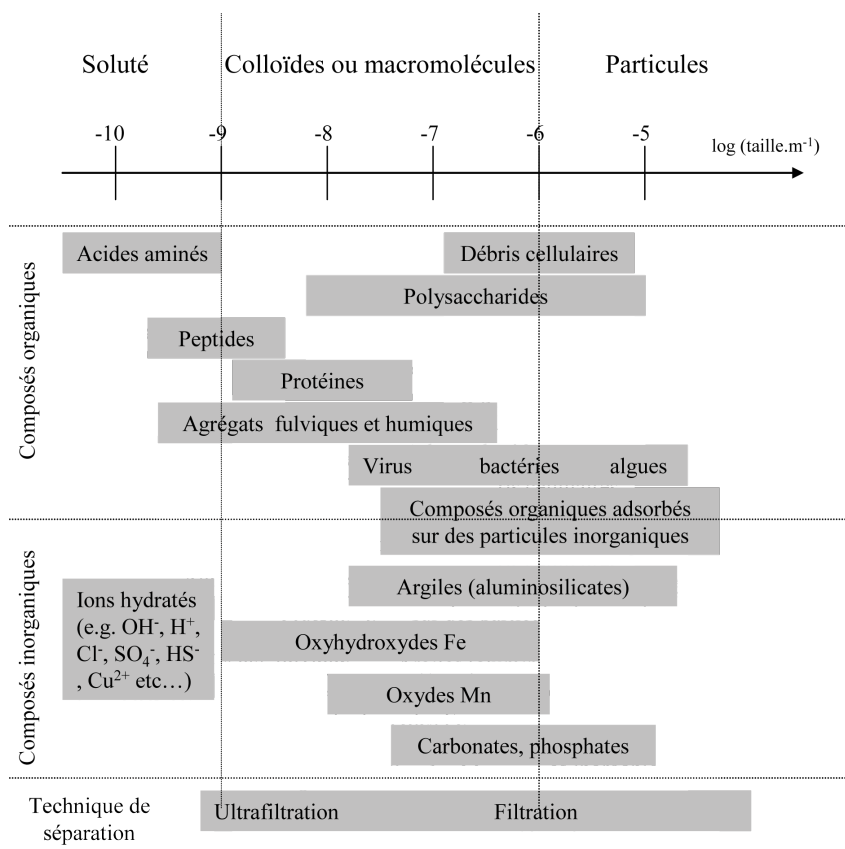


FIGURE 2.20 Distribution en taille des colloïdes et des particules organiques et inorganiques en milieu aqueux. D'après [Lead et Wilkinson \(2006\)](#).

En milieu aqueux, une partie de la MO et des SH peut passer en solution. La figure 2.20 présente la distribution en taille des particules, des colloïdes et des solutés organiques ou inorganiques ([Lead et Wilkinson, 2006](#)). Selon cette figure, la limite en taille séparant le dissout (soluté) du non-dissout (colloïdes et macromolécules) est de 1 nm. Or, la limite utilisée par [Karlsson et al. \(2006\)](#) et par nous a été fixée à 10 μm . Le terme "dissout" utilisé au cours de ce projet de recherche est donc un abus de langage. Il désigne les particules de tailles inférieures à 10 μm c'est-à-dire les particules de petites tailles, les colloïdes et les solutés.

La matière organique dissoute (DOM) joue un grand rôle dans la mobilité et la biodisponibilité des ET ([Citeau, 2004](#); [Cabaniss et al., 2000](#)). C'est pour cette raison qu'une partie de notre étude a porté sur cette fraction.

Chapitre 3

Mécanisme de rétention des éléments traces sur les substances humiques en milieu aqueux

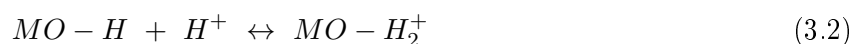
3.1 Généralités

Les mécanismes de rétention des ET sur les surfaces solides sont nombreux et incluent la complexation, la substitution, la précipitation, l'adsorption de surface et l'inclusion (Manceau et al., 2002). L'existence d'un débat au sein de la communauté scientifique sur la nature du mécanisme mis en jeu dans le cas des SH montre la difficulté et la complexité du phénomène. Les recherches faites dans ce domaine aboutissent assez souvent à des contradictions. De plus, comme le type de SH utilisé (HA, FA, tourbe), leur mode de préparation, et la nature de l'ET complexé diffèrent d'une étude à l'autre, la comparaison entre les résultats est difficile.

L'émergence de nouvelles techniques de spectroscopie dans les années 80, comme la spectrométrie infra-rouge et la spectrométrie de résonance de spin électronique ont permis de montrer que se sont majoritairement les groupements -COOH et ph-OH qui sont impliqués dans la fixation des ET (Schulten et Leinweber, 1996; Piccolo et Stevenson, 1982). Dans une moindre mesure, certains auteurs (Guiné et al., 2006) ont mis en évidence l'importance des groupements thiols (-SH) dans la rétention de ces ET dont l'électronégativité est faible à moyenne (Zn^{2+} , Hg^+ , Pb^{2+} ...).

3.1.1 Définition du point isoélectrique

Les groupements fonctionnels de type -COOH, -OH, -NH₂ et -SH présents dans la MO et les SH peuvent entrer en réaction avec les ions OH⁻ et les ions H⁺ de l'eau selon les deux réactions suivantes :



Il se forme alors une charge surfacique négative ou positive selon le pH. Cette charge de surface est accessible expérimentalement par des titrages potentiométriques ou par la mesure de la mobilité électrophorétique (vitesse des particules dans un champ électrique). Le pH pour lequel la somme des charges négatives compense la somme des charges positives est appelé le point de charge nulle et est noté pH_{PCN}. Ce pH est d'un intérêt tout particulier, car il situe la limite entre la charge nette

positive et la charge nette négative d'une surface.

La figure 3.1 présente la charge de surface de quelques colloïdes en fonction du pH. Leur pH_{PCN} est toujours supérieur à 2. Au contraire, les SH ont toujours un pH_{PCN} inférieur à 2 (Gjessing, 1976). Comme nos conditions expérimentales ne descendent jamais en dessous de pH 2, sous peine de dénaturer les SH, la charge nette des SH est toujours négative. L'existence de cette charge implique donc l'existence d'un effet électrostatique entre les ET, chargés positivement ou négativement, et les SH. Cet effet sera d'autant plus grand que la différence de charge entre l'ET et la surface est élevée.

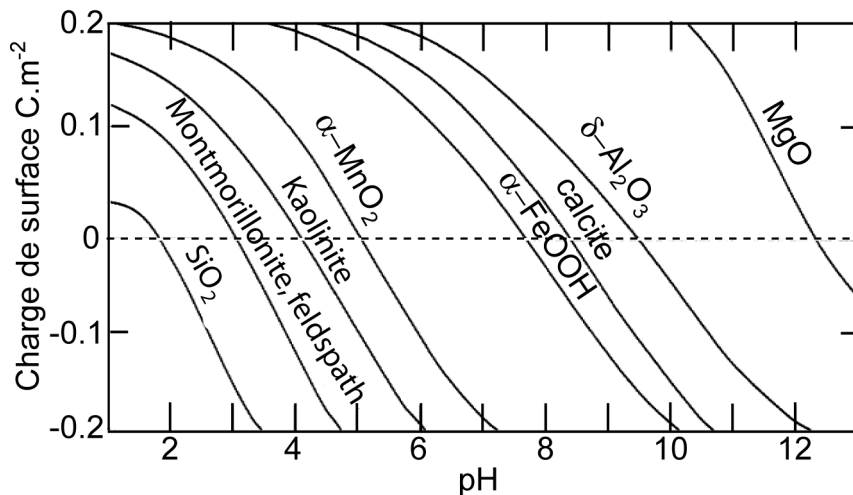


FIGURE 3.1 Influence du pH sur la charge de surface de quelques colloïdes représentatifs. D'après Sigg et al. (2000).

3.1.2 Définition de la sphère d'hydratation

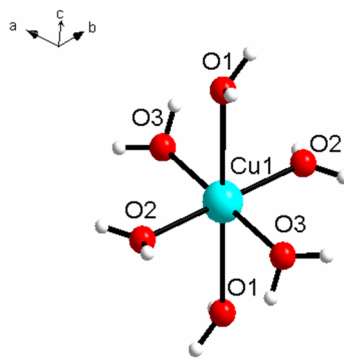


FIGURE 3.2 Sphère d'hydratation de Cu(II).

L'oxygène d'une molécule d'eau possède deux doublets non-liants d'électrons qu'il partage avec les ET pour former une liaison faible. Par ce mécanisme, chaque ET monoatomique en milieu aqueux se trouve entouré de plusieurs molécules d'eau dont les atomes d'oxygène sont orientés vers lui : c'est la sphère d'hydratation (figure 3.2). Elle est formée généralement de six molécules d'eau pour les ET monovalents et divalents, et de huit molécules d'eau pour les cations trivalents (Limou-sin et al., 2007). La figure 3.2 présente la sphère d'hydratation de Cu^{2+} . Cette sphère est composée

de 4 molécules d'eau à courte distance formant un plan carré, et de 2 molécules d'eau à plus grande distance et situées de part et d'autre de ce plan. Cette asymétrie provient de l'effet Jahn-Teller lié à la configuration électronique de l'ion Cu^{2+} .

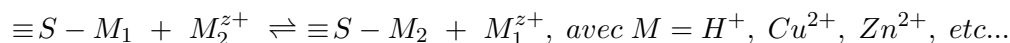
3.2 Les trois grands mécanismes de rétention des éléments traces sur les substances humiques

Si on exclut les mécanismes d'incorporation des ions à l'intérieur de la phase solide (inclusion et diffusion dans le solide), la complexation en sphère interne, l'échange d'ions en sphère externe et la précipitation de surface sont les trois principaux mécanismes de rétention surfacique des cations inorganiques.

3.2.1 La complexation en sphère interne

Dans ce mécanisme, l'ET adhère à la surface des SH par des liaisons iono-covalentes. La complexation en sphère interne (ou chimisorption) s'accompagne d'une profonde modification de la répartition des charges électroniques des molécules adsorbées et par la perte d'au moins une molécule d'eau de la sphère d'hydratation. Des électrons sont échangés entre les ions de la surface et l'ET adsorbé. Les forces mises en jeu sont du même type que celles qui sont impliquées lors de la formation des liaisons chimiques. Cette liaison est forte c'est-à-dire qu'elle est difficilement réversible. Cette liaison est également spécifique, c'est-à-dire qu'elle n'est possible qu'entre éléments ayant une configuration électronique adaptée (Sigg et al., 2000). Sharma et Forster (1993), en étudiant la sorption de Cr^{6+} sur de la tourbe, ont montré que, même en présence de base forte (1M de NaOH), moins de 50 % de Cr^{6+} peut être désorbé. Il en conclut donc que les liaisons intervenant sont fortes et que le mécanisme mis en jeu est de la chimisorption.

Il a été montré que le mécanisme de complexation en sphère interne s'accompagne quasiment toujours d'un échange d'ions. Dans ce cas, l'ET réagit avec les groupements carboxyliques et/ou phénoliques présents à la surface des SH qui en échange libèrent un proton H^+ ou, à haut pH, un métal préalablement fixé sur la MO (Crist et al., 1996). L'équation bilan de ce mécanisme peut alors s'écrire :



Ce processus a été mis en évidence par Ho et al. (1995). Il a montré, en étudiant le nickel, que plus la concentration en Ni augmente plus le pH d'équilibre de la réaction d'adsorption diminue. Il en conclut donc que la fixation de Ni s'accompagne de la libération d'un ou plusieurs protons. Ce mécanisme est donc dépendant du pH. Sa durée est très variable (de quelques minutes à quelques jours) et la désorption est généralement nettement plus lente que l'adsorption.

3.2.2 L'échange d'ions en sphère externe

L'échange d'ions en sphère externe (ou physisorption) est attribuable à l'effet électrostatique qui attire les charges positives (i.e. ET) à la surface des SH chargés négativement. Dans ce processus les électrons restent sur leurs atomes respectifs. Les ET adsorbés conservent totalement leur sphère

d'hydratation, on parle alors de complexation de sphère externe. Plusieurs couches d'atomes ou de molécules peuvent être nécessaires pour écranter la charge de surface.

Chen et al. (1990) ont observé, en étudiant l'adsorption et la désorption de CuNO_3 sur les SH, que la quantité de cuivre fixée est plus importante que la quantité de cuivre relarguée. Il a également observé qu'une quantité non négligeable de NO_3^{2-} se fixe sur les SH. L'excès de charge négative est alors contrebalancé par la fixation réversible d'une fraction des ions Cu^{2+} à la surface des SH. Il attribue ce phénomène à de la physisorption de surface.

3.2.3 La précipitation de surface

L'attraction d'un ion vers les SH entraîne une augmentation locale de sa concentration. Si cette concentration locale dépasse le produit d'activité ionique de précipitation, une nouvelle phase précipite à la surface du solide, alors même que le produit d'activité ionique de précipitation en solution (loin de la phase solide) n'est pas atteint. Ce processus s'appelle la précipitation de surface. C'est un mécanisme lent, d'une durée comprise entre quelques heures à plusieurs mois. Il n'est souvent pas pris en compte dans les modèles géochimiques, et en particulier dans le modèle NICA-Donnan.

Chapitre 4

Le modèle NICA-Donnan

4.1 Généralités

L'amélioration des connaissances sur la structure et la composition chimique des SH et les mécanismes de rétention intervenant dans la fixation d'un ET sur les SH a abouti à l'émergence de modèles géochimiques permettant de décrire et de prévoir la fixation d'un cation sur des SH. Habituellement, les modèles géochimiques se divisent en deux grandes catégories :

1. **les modèles discrets** : les sites réactifs sont distribués discrètement autour de deux valeurs $\log K_{H,i}$ moyennes où i représente les sites carboxyliques et les sites phénoliques ([Tipping, 1998](#)).
2. **les modèles continus** : les sites réactifs sont distribués de façon continue autour de deux valeurs $\log K_{H,i}$ moyennes où i représente les sites carboxyliques et les sites phénoliques ([Benedetti et al., 1996](#); [De Wit et al., 1993](#))

Actuellement, deux grands modèles tiennent le haut de l'affiche pour la qualité de leurs résultats. Le modèle discret WHAM (Windemere humic aqueous acid model IV-VI) décrit par [Tipping \(1998\)](#) et le modèle continu NICA-Donnan défini par [Benedetti et al. \(1996\)](#). Une comparaison entre les deux modèles a montré que les modèles continus donnent moins d'erreurs systématiques que le modèle discontinu ([Hering et Morel, 1988](#)). Pour cette raison, seul le modèle NICA-Donnan a été utilisé au cours de ce projet. Dans ces deux modèles, l'adsorption des ET sur les SH est décrite par deux termes : un terme intrinsèque et un terme électrostatique. Le terme intrinsèque (interaction non coulombienne) prend en compte le mécanisme de chimisorption de surface (ou complexation en sphère interne). Elle décrit le comportement spécifique d'un ion à se fixer sur la MO. Afin de mieux expliquer ce concept, considérons les ions Cu^{2+} et Zn^{2+} . Ces deux ions possèdent la même charge (i.e. +II) mais des études ont montré que Cu^{2+} a une plus grande affinité pour la MO que Zn^{2+} ([Brown et al., 2000](#)). Cet exemple illustre le comportement spécifique d'un ET vis-à-vis des SH.

Le terme électrostatique prend en compte la physisorption de surface (ou l'échange d'ion en sphère externe). Il traduit l'interaction coulombienne qu'il existe entre la surface d'une SH, chargée négativement, et d'un ET, chargé positivement. Cependant, comme le potentiel électrostatique qui contrôle cette interaction n'est pas accessible à la mesure, il est nécessaire de le modéliser par des hypothèses de calcul.

4.2 Présentation du modèle NICA-Donnan

Le modèle NICA-Donnan est la combinaison de deux modèles : le modèle de NICA, qui modélise la complexation de surface en sphère interne (terme intrinsèque) et le modèle de Donnan, qui modélise l'échange d'ions en sphère externe (terme électrostatique).

4.2.1 Présentation du modèle de NICA

Le modèle de NICA, dans sa forme non consistente, décrit l'affinité spécifique d'un cation sur les SH. Ce modèle est basé sur une distribution quasi-Gaussienne de l'affinité intrinsèque d'un cation sur les sites carboxyliques (COOH) et phénoliques (ph-OH). Mathématiquement, cela se traduit par l'équation de Henderson-Hasselbalch (equation 4.1) qui décrit la fixation locale d'un cation j dans le volume de Donnan.

$$\begin{aligned}
 Q_{j,tot} = & Q_{COOH} \times \frac{(K_{j,COOH} C_{Dj})^{n_{j,COOH}}}{\sum_j (K_{j,COOH} C_{Dj})^{n_{j,COOH}}} \times \frac{\left[\sum_j (K_{j,COOH} C_{Dj})^{n_{j,COOH}} \right]^{p_{COOH}}}{1 + \left[\sum_j (K_{j,COOH} C_{Dj})^{n_{j,COOH}} \right]^{p_{COOH}}} \\
 + & Q_{ph-OH} \times \frac{(K_{j,ph-OH} C_{Dj})^{n_{j,COOH}}}{\sum_j (K_{j,ph-OH} C_{Dj})^{n_{j,ph-OH}}} \times \frac{\left[\sum_j (K_{j,ph-OH} C_{Dj})^{n_{j,ph-OH}} \right]^{p_{ph-OH}}}{1 + \left[\sum_j (K_{j,ph-OH} C_{Dj})^{n_{j,ph-OH}} \right]^{p_{ph-OH}}}
 \end{aligned} \tag{4.1}$$

avec j le type de cation (Cu^{2+} ou H^+) ; COOH et ph-OH respectivement les sites carboxyliques et phénoliques ; $K_{j,COOH}$ et $K_{j,ph-OH}$ les constantes d'équilibre intrinsèque médianes de l'atome j ; Q_{COOH} et Q_{ph-OH} la densité des sites ; $Q_{j,tot}$ la quantité totale de cations j liée à la SH ; p_{COOH} et p_{ph-OH} ($1 \geq p \geq 0$) l'hétérogénéité intrinsèque des sites ; $n_{j,COOH}$ et $n_{j,ph-OH}$ le comportement non idéal ($n \neq 1$) de l'atome j sur le site carboxylique et phénolique ; $C_{j,D}$ la concentration de l'atome j dans le volume de Donnan.

Il est important de noter que les sites carboxyliques et les sites phénoliques ne sont pas les seuls sites réactifs. Les SH contiennent également des autres sites, comme par exemple des sites amines ($-\text{NH}_2$) ou des sites soufrés ($-\text{SH}$), capables de fixer également des cations. Comme ces autres sites réactifs ne sont présents qu'en faible quantité dans les SH, et interviennent peu dans la complexation des ions Cu^{2+} et Zn^{2+} , par abus de langage, nous utiliserons indistinctement les termes "site acide" ou "site carboxylique" pour décrire les sites dont les $\log K_{H,i}$ sont inférieurs à 6.5 et les termes "site basique" ou "site phénolique" pour décrire des sites de $\log K_{H,i}$ supérieur à 7.5

4.2.2 Présentation du modèle de Donnan

Au début des années 1990, les SH étaient perçues comme des sphères rigides et compactes (Tipping et al., 1990; Bartschat et al., 1992; De Wit et al., 1993). La charge négative induite par les groupements carboxyliques et phénoliques était alors localisée à la surface de la particule tandis que les ions neutralisant cette charge négative étaient situés sur la couche de diffusion à l'extérieur de la particule (figure 4.1). Le potentiel électrique à la surface s'obtenait en résolvant l'équation de Poisson-Boltzmann pour cette géométrie. Cependant, considérer les SH comme des sphères rigides

et imperméables n'est pas une approche physiquement correcte, puisque les SH sont des structures tridimensionnelles nanoporeuses ayant des propriétés comparables à celles des gels spongieux et polyfonctionnels (Chen et Schnitzer, 1989). D'où l'idée de décrire les particules de SH en solution comme des gels perméables.

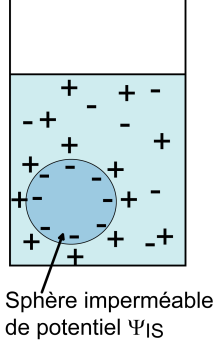


FIGURE 4.1 Représentation schématique du modèle de sphère imperméable.

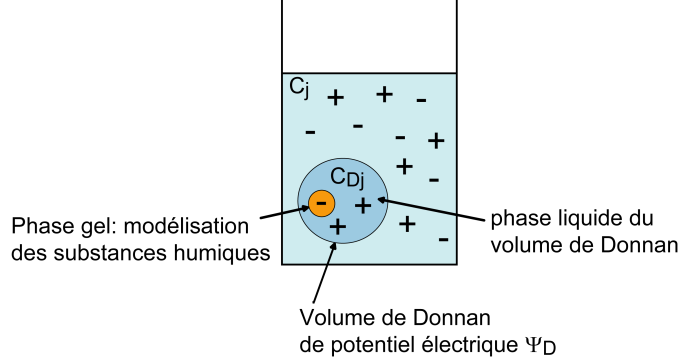


FIGURE 4.2 Représentation schématique du modèle de Donnan.

Le modèle de Donnan considère qu'une particule de SH, baignant dans un électrolyte, a un volume V_D , appelé volume de Donnan (figure 4.2). Ce volume contient deux phases : une phase gel, qui modélise la SH et une phase liquide possédant des propriétés chimiques différentes de l'électrolyte.

Benedetti et al. (1996) ont montré que le volume de Donnan V_D suit une loi empirique donnée par l'équation :

$$\log(V_D) = b(1 - \log I) - 1 \quad (4.2)$$

où b est le paramètre de Donnan qui dépend du type de SH, et I la force ionique.

La phase gel dans le volume de Donnan contient les sites carboxyliques et phénoliques. La présence de ces sites induit l'existence d'un potentiel de surface négatif. La phase liquide dans le volume de Donnan, qui contient les ions j à une concentration c_{Dj} , est chargée positivement, puisque le potentiel négatif du gel attire, par effet électrostatique, préférentiellement des cations. Comme le volume de Donnan baigne dans un électrolyte dont les ions ont une concentration c_j , le bilan électrique de ce système est donné par l'équation d'électronéutralité :

$$\frac{q}{V_D} + \sum_j z_j c_{Dj} - \sum_j z_j c_j = 0 \quad (4.3)$$

où c_j est la concentration molaire de l'ion j dans l'électrolyte, q la charge nette de la substance humique (exprimée en meq.kg^{-1}), V_D le volume de Donnan (L.kg^{-1}), z_j le nombre de charge de l'ion j , et c_{Dj} la concentration molaire de l'ion j dans le volume de Donnan.

Comme le potentiel électrique Ψ_D à l'intérieur du volume de Donnan peut être considéré comme constant, il est possible de relier c_{Dj} et c_j par le facteur de Boltzmann selon l'équation :

$$c_{Dj} = c_j \times \exp\left(\frac{-z_j F \Psi_D}{RT}\right) \quad (4.4)$$

où le terme exponentiel est le facteur de Boltzmann, F la constante de Faraday (C.mol^{-1}), R la constante des gaz parfaits ($\text{J.mol}^{-1}.\text{kg}^{-1}$) et T la température (K).

En combinant les équations 4.3 et 4.4, il est alors possible de calculer le potentiel Ψ_D de Donnan si la charge nette q et le volume V_D sont connus. La charge nette peut être mesurée par titrage potentiométrique tandis que le volume V_D peut être estimé expérimentalement par chromatographie d'exclusion stérique.

4.3 Paramètres d'ajustement du modèle NICA-Donnan

Dans le cas où il n'y a pas de compétition entre les ions comme dans le cas des titrages potentiométriques où seuls les ions H^+ se fixent aux SH, [Benedetti et al. \(1995\)](#) ont montré qu'il est possible de réduire le nombre de paramètres ajustables en posant :

$$m_{H,i} = p_i * n_{H,i} \quad (4.5)$$

où i représente les sites carboxyliques ou phénoliques.

Grâce à l'équation 4.5, il est possible de réduire le nombre de paramètres ajustables à huit. Six paramètres décrivent le terme intrinsèque (Q_{COOH} , $m_{H,COOH}$, $K_{H,COOH}$, Q_{ph-OH} , $m_{H,ph-OH}$, $K_{H,ph-OH}$) et un paramètre décrit le terme électrostatique (b). A ces sept paramètres s'ajoute un paramètre offset Q_0 , représentant la charge des SH à l'état initial. Ce dernier terme peut être artificiellement omis en normalisant toutes les courbes de titrage.

Dans le cas où il y a compétition entre deux cations, cas de la plupart des isothermes d'adsorption, où Cu^{2+} entre en compétition avec H^+ , il n'est plus possible de considérer l'équation 4.5. Dans ce cas le nombre de paramètres ajustables est de 12 : 10 paramètres pour le terme intrinsèque (Q_{COOH} , $n_{H,COOH}$, $K_{H,COOH}$, Q_{ph-OH} , $n_{H,ph-OH}$, $K_{H,ph-OH}$, p_{COOH} , p_{ph-OH} , $K_{Cu,COOH}$ et $K_{Cu,ph-OH}$), un paramètre pour le terme électrostatique (b) et un autre pour Q_0 .

Deuxième partie

Mécanisme de rétention du cuivre sur de la tourbe : approche chimique

Chapitre 5

Titration potentiométrique

5.1 Introduction

Le but de cette partie est (i) de quantifier les sites réactifs acides et basiques et (ii) de déterminer les constantes d'équilibre de H^+ pour les tourbes blondes (SP) et noires (CP) et pour leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM).

Il existe une littérature abondante sur la quantification des sites réactifs et la détermination des constantes d'équilibre acide-base. Les méthodes analytiques utilisées sont soit séparatives (chromatographie, ultrafiltration, échange ionique sur résine, dialyse) ou soit non-séparatives (électrode sélective voltamétrie, fluorescence, résonance magnétique). Toutes ces méthodes ne sont pas équivalentes et des écarts importants entre les résultats peuvent être observés (Saar et Weber, 1980).

Actuellement, l'outil analytique le plus répandu utilise une électrode pH qui mesure la concentration libre des protons en solution et qui permet d'obtenir des courbes de titrage. Jusqu'à très récemment, les constantes d'équilibre potentiométrique étaient conditionnelles, c'est-à-dire valables pour une force ionique donnée. Benedetti et al. (1996) ont combiné le modèle de distribution continue d'affinité protonique NICA (Non-Ideal Competitive Adsorption) de De Wit et al. (1993) avec le modèle électrostatique de Donnan au cas des protons. Ce modèle NICA-Donnan, applicable dans une gamme de pH bien définie (généralement entre pH 3 et 10), permet d'estimer les constantes intrinsèques recherchées. Il est actuellement largement utilisé pour modéliser les courbes de titrage.

Parmi tous les sites présents dans la MO, il est aujourd'hui admis, de part leur forte densité, que les sites carboxyliques (-COOH) d'un côté, et phénoliques de l'autre (ph-OH), participent activement à la fixation des ET, et notamment du cuivre (Brown et al., 2000). Les autres sites réactifs, comme par exemple les sites thiols (-SH) et amines (-NH₂), bien que possédant une forte affinité pour certains ET ne concourent globalement que faiblement à la rétention des ET (hormis dans le cas de Hg où -SH concoure à 100 % de sa rétention dans l'environnement) puisqu'ils ne sont présents qu'en faible quantité. Dans ce chapitre, on propose de déterminer par titration potentiométrique suivi de leur modélisation les densités de site et les constantes d'équilibre acide-base des sites carboxyliques et phénoliques en utilisant le modèle NICA-Donnan et un modèle non électrostatique simple .

5.2 Matériel et méthode

Le sol contenu dans le casier central d'Avrigny est un mélange à 50 % de limon et d'écorce et à 50 % de tourbe. Il provient de l'entreprise "Tourbières de France". La composition physique fournie par le fabricant indique que ce sol est composé à 25 % de tourbe blonde (SP pour *Sphagnum peat*), à 30 % de tourbe noire (CP pour *Carex peat*), à 35 % d'écorces (de 0 à 5 mm) et de limon et enfin à 10 % de fibres de bois. Etant donné que l'écorce, la fibre de bois et le limon sont quasiment inertes vis-à-vis des réactions d'adsorption, seules les propriétés complexantes des particules de tourbe ont été étudiées. Le producteur nous a fourni sur demande SP et CP non mélangés.

5.2.1 Extraction des fractions humiques, fulviques, dissoutes et inorganiques des tourbes

Comme cela a été mentionné dans la partie précédente, les fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) sont les trois principales fractions réactives de la MO. La compréhension du mécanisme de rétention des ET sur la tourbe passe obligatoire par la compréhension du mécanisme de rétention des ET sur ces trois fractions. Il faut donc les extraire afin de les étudier.

5.2.1.1 Extraction des acides humiques et fulviques

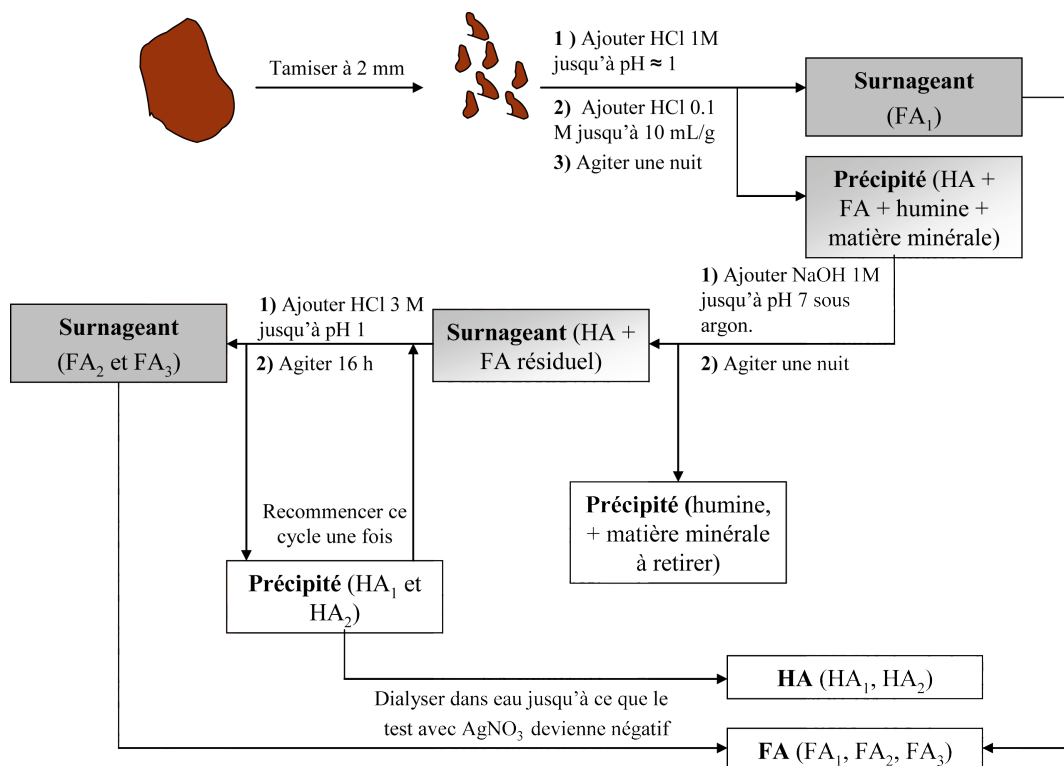


FIGURE 5.1 Protocole d'extraction des acides humiques (HA) et des acides fulviques (FA) (Swift, 1996).

Les HA et les FA ont été extraits de SP et CP en suivant le protocole d'extraction proposé par Swift (1996) (figure 5.1). Brièvement, une masse connue de CP ou de SP bruts préalablement lyophilisés et tamisés à 2 mm, a été acidifiée jusqu'à pH=1 grâce à une solution de HCl à 1 M puis avec une solution HCl à 0.1 M jusqu'à ce que le rapport $\frac{V_{HCl}}{m_{tourbe}}$ soit égal à 10. Cette attaque acide a abouti à la formation de deux phases. La phase liquide (surnageant), qui contient FA (FA₁), a

été récupérée. La phase solide (précipité), qui contient HA, FA résiduel et l'humine, a été attaquée par une solution basique de NaOH à 1 M sous atmosphère inerte (argon) jusqu'à un pH de 7. Cette attaque basique a abouti à la formation de deux phases : une phase solide, qui contient l'humine et une phase liquide, qui contient HA et FA. Cette phase liquide a alors subi une nouvelle attaque acide (HCl à 3 M) jusqu'à pH=1. Cette attaque a abouti à la formation d'une phase liquide (FA₂) et d'une phase solide (HA₁). Le précipité obtenu a été une nouvelle fois attaqué par une solution acide (HCl à 3 M) qui donne les fractions FA₃ et HA₂. L'ensemble des fractions FA (FA₁ + FA₂ + FA₃) d'un côté, et des fractions HA (HA₁ + HA₂) de l'autre côté, ont été regroupées, dialysées à 3500 daltons afin d'éliminer Cl⁻ et Na⁺, lyophilisées et stockées à l'abri de la lumière. Les séparations des phases liquides et solides durant cette extraction ont toutes été réalisées par centrifugation à 4500 tours.min⁻¹ pendant 30 min (Beckman, JA-14). En fin d'extraction, nous avons pesé les fractions HA et FA pour obtenir la distribution en substance humique (SH) des deux tourbes.

5.2.1.2 Extraction de la matière organique dissoute

La DOM, définie ici comme les particules de HA et FA de taille inférieure à 10 µm, a été extraite en suivant le protocole proposé par [Karlsson et al. \(2006\)](#). 85 g de tourbe, préalablement lyophilisées et tamisées à 2 mm, 12 g de résine échangeuse d'ions (Chelex 100, Biorad) et 200 mL d'eau milli-Q ont été mélangés dans un bêcher de 250 mL. Après 24h d'équilibre, la solution a été centrifugée à 11 000 tours.min⁻¹ pendant 5 min. Le surnageant a été ainsi séparé du précipité. Ce surnageant a été ensuite filtré à 10.0 µm. La phase liquide, qui correspond à la DOM, a été récupérée, lyophilisée et stockée à l'abri de la lumière.

5.2.1.3 Extraction de la matière inorganique

Afin de quantifier l'influence de la matière inorganique (MI) dans la rétention des ET, nous avons extrait la matière inorganique (MI) de CP en suivant le protocole d'extraction de [Agbenin et Olojo \(2004\)](#). Comme CP doit contenir plus de MI, cette tourbe a tout naturellement été choisie pour cette extraction. 100 g de CP, préalablement lyophilisés et tamisés à 2 mm, ont été agités pendant 30 jours dans 1 L de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) à 40 °C dans un bêcher fermé afin d'éviter l'évaporation du peroxyde d'hydrogène. Au bout des 30 jours, la solution obtenue a été filtrée à 10 µm. La phase solide, qui correspond à la MI, a enfin été récupérée, lyophilisée et stockée à l'abri de la lumière.

5.2.2 Caractérisation physique et chimique des deux tourbes et de leurs fractions

5.2.2.1 Composition élémentaire

La composition élémentaire de CP et SP et de leurs fractions HA, FA et DOM a été mesurée par le Service Central d'Analyse de Vernaison (SCA, USR-59/CNRS, France) :

- La détermination de C, H, N et S a été réalisée par combustion totale de l'échantillon à 1050 °C (pour C, H et N) ou à 1350 °C (pour S) sous flux d'oxygène ou d'hélium/oxygène. C, H, N et S sont respectivement transformés en dioxyde de carbone, en eau, en oxyde d'azote et en oxyde d'azote. Toutes ces molécules sont ensuite quantifiées par des détecteurs spécifiques infrarouges et/ou cellule thermoélectrique (catharométrie).
- La détermination du résidu à sec a été réalisée par combustion totale de l'échantillon à 900 °C sous courant gazeux. La quantification des cendres s'effectue par différence de pesées.
- La détermination de Cu, Zn, Pb et Hg a été effectuée par minéralisation des échantillons grâce à un mélange H₂SO₄ / HNO₃. Cu et Zn d'un côté et Hg et Pb de l'autre ont été quantifiés

respectivement par ICP-AES et ICP-MS.

5.2.2.2 Mesure de la distribution granulométrique

La distribution granulométrique des particules de CP et SP a été mesurée par deux méthodes :

- La première méthode utilise un granulomètre laser gracieusement prêté par le LTHE (CNRS, France). Le protocole d'analyse consiste en la mise en solution d'une masse m de CP et SP, préalablement lyophilisée et tamisée à 2 mm, et à son analyse par granulomètre laser.
- La deuxième méthode utilise une juxtaposition de tamis. Une masse connue de tourbe, préalablement lyophilisée et tamisée 2 mm, a été placée durant 4h sous agitation dans un bêcher contenant de l'eau distillée à une concentration de 10 g.L^{-1} . La solution a ensuite été versée sur un empilement de tamis de maille de libération décroissante (2 mm, 1 mm, 600 μm , 300 μm , 100 μm et 50 μm). La masse de tourbe dans les différents tamis a été récupérée, lyophilisée et puis pesée. La distribution granulométrique a été calculée en divisant la masse récupérée dans les tamis par la masse initiale.

5.2.2.3 Résonance magnétique nucléaire du ^{13}C

La résonance magnétique nucléaire du ^{13}C (RMN ^{13}C) à l'état solide de CP et SP et de leurs fractions HA, FA et DOM a été enregistrée par le Service Central d'Analyse de Vernaison (SCA, USR-59/CNRS, France). Cette analyse utilise le Bruker AMX 300 à 75.5 Mhz. Ce spectrophotomètre utilise la technique du *cross-polarization magic angle spinning polarisation* avec une vitesse de rotation de 5 kHz. Le *contact time* et le *pulse delay* sont de 1 ms et 3 s, respectivement. Au moins 12 000 scans ont été enregistrés pour chaque échantillon. La référence utilisée pour calculer le déplacement chimique est la glycine.

En suivant les recommandations de l'Internationnal Humic Substances Society (Thorn et al., 1989), les spectres obtenus ont été divisés en plusieurs régions correspondant à différents types de carbone : C-alkyl (0-45 ppm), C-Oalkyl (45-110 ppm), C-aromatique (110-160 ppm), C-ph-OH (140-160 ppm), C-COOH(160-185 ppm), C-carbonyle (185-220 ppm). L'intensité relative de ces régions est déterminée en divisant l'aire de la région correspondante par l'aire totale du spectre. La concentration des groupements carboxyliques et phénoliques a été estimée en utilisant l'équation suivante (Ritchie et Perdue, 2008) :

$$Q_{H,i} = \% C * \frac{1}{M_{\text{mol}} C} * \frac{\text{Aire des sites } i}{\text{Aire totale}} * 1000 \quad (5.1)$$

où $Q_{H,i}$ est la densité protonique des sites i en mol.kg^{-1} , $\% C$ la teneur en carbone dans le matériau, $M_{\text{Mol}} C$ est la masse molaire du carbone (12 g.mol^{-1}), i le type de site (COOH ou ph-OH).

5.2.3 Titration potentiométrique

Les densités et les constantes acide-base des sites carboxyliques (ou acides) et phénoliques (ou basiques) ont été estimées par titrage potentiométrique. Dans la pratique, il existe deux approches pour titrer la MO. L'approche indirecte (Brooks et Sternhell, 1957; Schnitzer, 1965) présente l'avantage d'être simple à mettre en oeuvre. Elle consiste en un titrage en retour avec $\text{Ba}(\text{OH})_2$ ou $\text{Ca}(\text{OAC})_2$, à pH fixé, après une période d'équilibre de 24h. Cependant, cette méthode comporte certaines limites (Perdue et al., 1984). Le titrage directe (Ritchie et Perdue, 2003; Drexel, 2002; Guiné et al., 2006), où le pH est suivi continuellement tout au long du dosage, donne plus d'informations sur

la thermodynamique des liaisons entre les protons et la MO. Cette deuxième méthode a donc tout naturellement été retenue dans le cadre de notre étude.

5.2.3.1 Protocole expérimental

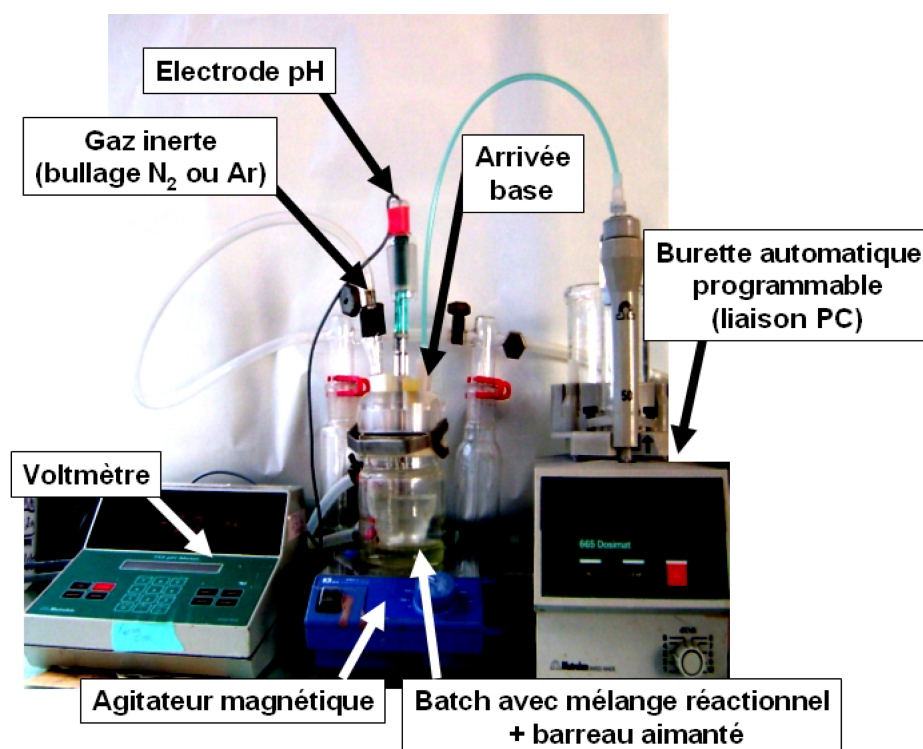


FIGURE 5.2 Montage expérimental pour la mesure des courbes de titrage (Causse et al., 2008).

0.1 ± 0.0001 g de matériel (CP, SP, HA, FA, DOM, MI et humine), préalablement lyophilisé et tamisé à 2 mm, a été agité pendant trois heures dans 50 mL d'une solution de HNO_3 à 0.001 M (ou de NaOH à 0.001 M pour les "titrages retour") dans NaNO_3 à 0.1 M. Cette durée correspond au temps d'hydratation de la MO (Flogeac et al., 2004). NaNO_3 permet de garder la force ionique constante pendant tout le titrage à 0.1 M. Durant tout le titrage, la température a été maintenue à 25 ± 0.1 °C et un flux continu d'argon évite la réaction de dissolution du CO_2 ($\text{CO}_2 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HCO}_3^-$). NaOH à 0.005 M (ou HNO_3 à 0.005 M pour les "titrages retour") dans 0.1 M de NaNO_3 , placé dans une burette (Metrohm, titrino 665), a été ensuite ajouté successivement à la solution initiale avec des pas de 0.1 mL. L'ajout suivant d'un volume de 0.1 ml est conditionné par une dérive du potentiel de l'électrode pH qui doit être inférieure à $\pm 0.1 \text{ mV} \cdot \text{min}^{-1}$ avec une durée maximale de 15 min. Avant chaque ajout, nous avons enregistré le potentiel E de la solution grâce à une électrode pH. Ce potentiel E est relié à la concentration des protons libres en solution ($[\text{H}^+]$) par l'équation de Nernst ($[\text{H}^+] = 10^{\frac{E - E^\circ}{k}}$). Les valeurs de E° et k ont été préalablement estimées avant chaque titrage par une calibration de l'électrode pH sur au moins 10 points de mesure. Dans ces conditions, la durée moyenne de chaque expérience est de 12h. Selon le type matériel, 5, 4, 2 ou 1 titrages ont été effectués.

5.2.3.2 Traitement des résultats

La concentration des protons relâchés par la surface vers la solution est donnée par la concentration $[H_S]$ définie par l'équation (Guiné et al., 2006) :

$$[H^+] = \frac{v \times [H_0]}{v_0 + v} + \frac{v \times [OH^-]_{burette}}{v_0 + v} + \frac{v \times [H_S]}{v_0 + v} + \frac{k_w}{[H^+]} + [H_S]_{initial} \quad (5.2)$$

où $[H^+]$ est la concentration libre de protons dans la solution en mol.L⁻¹ mesurée expérimentalement par l'électrode pH ; $[H_0]$ la concentration initiale de protons H⁺ ajoutée au réacteur avant le titrage (i.e. 0.001 M pour les titrages aller et -0.001 M pour les titrages retour) ; $[OH^-]_{burette}$ la concentration en ions hydroxyl dans la burette (i.e. 0.005 M pour les titrages aller et -0.005 pour les titrages retour) ; $[H_S]$ la concentration de protons relâchés par la MO vers la solution (i.e. grandeur cherchée) ; k_w la constante d'autoprotolyse de l'eau ($k_w=10^{-13.7}$ mol².L⁻²) ; $[H_S]_{initial}$ représente la concentration de sites protonés initialement sur la surface, malheureusement, cette concentration n'est pas accessible ; v_0 le volume initial dans le réacteur en L (i.e. 50 mL) ; v le volume de titrant ajouté dans le réacteur.

A partir de l'équation 5.2, il est possible d'obtenir point par point les valeurs de $[H_S]$ en fonction du pH.

Comme I est gardé à 0.1 M durant tout le titrage, le coefficient d'activité γ_{H^+} est constant. De ce fait, l'équation de Nernst donne :

$$E = E^{\circ} + k \times \log(H^+) = E^{\circ} + k \times \log(\gamma_{H^+}) + k \times \log([H^+]) = E^{\circ} + k \times \log([H^+]) \quad (5.3)$$

avec $(H^+) = \gamma_{H^+} \times [H^+]$

Tous les pH reportés dans cette étude réfèrent donc à la concentration de protons ($\log [H^+]$) et non à l'activité de protons ($\log (H^+)$).

Toutes les courbes de titrage des tourbes brutes ont été normalisées par rapport à la proportion de MO. Autrement dit, si x est la proportion de MI de la tourbe, alors $[H_S] = \frac{[H_S]_{mesure}}{1-x}$. Cela revient à considérer la MI comme inerte. Les densités $[H_S]$ seront donc données en mmol par gramme de matière organique et non par gramme de matière totale. Cette normalisation affecte faiblement la courbe de titrage de SP brut mais plus fortement celle de CP brut, qui est connue pour être riche en MI. Enfin, afin de s'affranchir de $[H_S]_{initial}$ non mesurable, nous avons fixé arbitrairement $[H_S]=0$ M à pH 3.5 pour toutes les fractions. Cela permet de comparer plus facilement la réactivité des différentes fractions.

5.2.3.3 Détermination de l'incertitude de nos mesures

Les incertitudes d'un résultat expérimental, pouvant être liées aux instruments de mesure et/ou à l'expérimentateur, doivent être estimées afin d'évaluer la précision de ce résultat. En pratique, il existe deux façons pour évaluer l'incertitude d'un résultat liée à des mesures. La première méthode utilise le calcul différentiel et nécessite une connaissance de l'erreur Δx de chaque grandeur x mesurée. La deuxième méthode consiste à enregistrer un nombre important de mesures et à calculer la valeur moyenne des mesures ainsi que leur écart-type. Comme l'estimation des Δx est très difficile dans notre cas, nous avons opté pour la deuxième méthode.

Pour minimiser les repliquats, cinq expériences de titrage de CP et quatre de SP ont tout d'abord été effectuées. A partir de ces répliquats, il a été possible de déterminer une valeur moyenne et une erreur expérimentale δ à certains pH. Sur les courbes où un seul titrage est disponible (HA, FA et DOM), l'erreur expérimentale est alors posée égale à 2δ .

5.2.3.4 Analyse de sensibilité de l'électrode pH

Le calcul de $[H_S]$ nécessite la mesure de la concentration $[H^+]$ des protons libres en solution (équation 5.2). Or, $[H^+]$ est relié au potentiel E par l'équation de Nernst ($[H^+] = 10^{\frac{E-E^\circ}{k}}$). Cette fonction puissance implique qu'une petite erreur de E donnera une erreur beaucoup plus importante sur $[H_S]$. Cette situation risque de restreindre le domaine de validité de nos mesures.

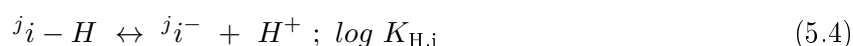
Afin d'estimer ce domaine, nous avons imposé trois couples ($k; E^\circ$) dans la fourchette de l'erreur expérimentale de la calibration. Nous avons ensuite calculé les valeurs de $[H_S]$ pour ces trois couples. Les trois courbes obtenues ont ensuite été comparées.

5.2.4 Modélisation des titrages potentiométriques

La détermination des constantes d'équilibre acide-base et des densités de sites acides et basiques a été réalisée en utilisant la modélisation des courbes de titrage grâce à deux modèles : un modèle non électrostatique simple et le modèle NICA-Donnan.

5.2.4.1 Modélisation avec le modèle DNEM

Afin de bien comprendre le principe des modélisations, nous avons mis au point un modèle chimique simple. Le modèle conçu est appelé Discret Non-Electrostatic Model (DNEM). Ce modèle est une version simplifiée du modèle discret de [Tipping \(1998\)](#). Cependant, notre modèle ne tient pas compte de l'effet électrostatique. Dans notre modèle, les sites réactifs sont définis par la réaction :



où i représente le groupement fonctionnel, j l'indice du groupement fonctionnel et $\log K_{H,i}$ la constante de dissociation intrinsèque de H^+ sur le groupement i .

Dans le DNEM, la distribution des sites d'affinité est représentée par trois sites acides ($i=1$ COOH, 2 COOH, 3 COOH) et trois sites basiques ($i=4$ ph-OH, 5 ph-OH, 6 ph-OH). Les sites acides sont considérés comme essentiellement composés de groupements carboxyliques tandis que les sites basiques sont essentiellement constitués de groupements phénoliques (d'où leur notation). Les deux valeurs $\log K_{H,2\text{COOH}}$ et $\log K_{H,5\text{ph-OH}}$ sont les valeurs moyennes des affinités des groupements acides et basiques et seront notées $\log K_{H,\text{COOH}}$ et $\log K_{H,\text{ph-OH}}$. Les deux autres $\log K_{H,1\text{COOH}}$ et $\log K_{H,3\text{COOH}}$ d'un côté, et $\log K_{H,4\text{ph-OH}}$ et $\log K_{H,6\text{ph-OH}}$ de l'autre, entourent symétriquement les deux valeurs moyennes. Cela revient à poser les équations suivantes :

$$\text{Pour } i = 1 - 3 : \log K_{H,i\text{COOH}} = \log K_{H,\text{COOH}} + (i - 2) \times \Delta \log K_{H,\text{COOH}} \quad (5.5)$$

$$\text{Pour } i = 4 - 6 : \log K_{H,i\text{ph-OH}} = \log K_{H,\text{ph-OH}} + (i - 5) \times \Delta \log K_{H,\text{ph-OH}} \quad (5.6)$$

La formulation de ces deux équations permettent de réduire la complexité de la distribution des sites acides et basiques à quatre paramètres : $\log K_{H,\text{COOH}}$, $\log K_{H,\text{ph-OH}}$, $\Delta \log K_{H,\text{COOH}}$ et Δ

$\log K_{H,ph-OH}$.

La densité des sites carboxyliques ($Q_{H,COOH}$) et phénoliques ($Q_{H,ph-OH}$) sont définies par les équations suivantes :

$$\text{Pour } i = 1 - 3 : Q_{H,COOH}^i = \frac{Q_{H,COOH}}{4} + |3 - i| |1 - i| \frac{Q_{H,COOH}}{4} \quad (5.7)$$

$$\text{Pour } i = 4 - 6 : Q_{H,ph-OH}^i = \frac{Q_{H,ph-OH}}{4} + |6 - i| |4 - i| \frac{Q_{H,ph-OH}}{4} \quad (5.8)$$

où $Q_{H,COOH}$ et $Q_{H,ph-OH}$ sont les densités de site totales des sites acides et basiques exprimées en mmol.g^{-1} .

L'ensemble des considérations précédentes est résumé dans la figure 5.3.

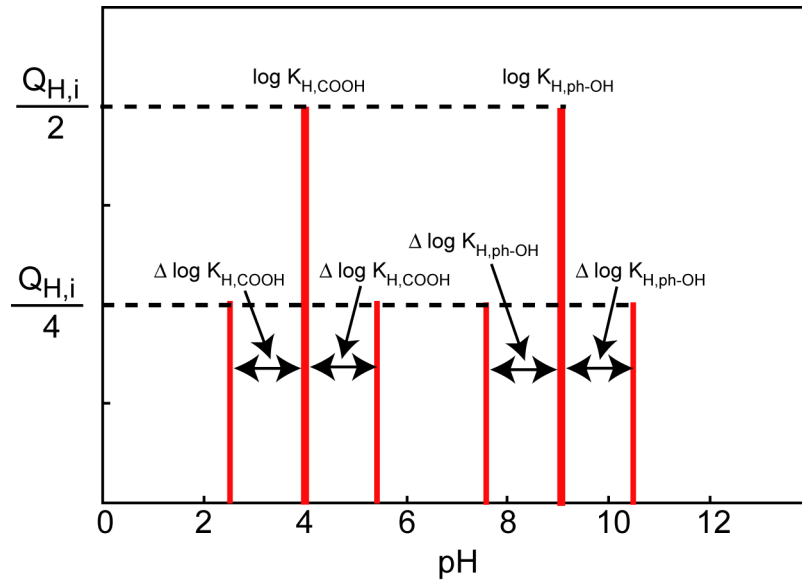


FIGURE 5.3 Schématisation du modèle DNEM.

Au final, sept paramètres sont nécessaires pour modéliser les courbes de titrage : $\log K_{H,COOH}$, $\log K_{H,ph-OH}$, $\Delta \log K_{H,COOH}$, $\Delta \log K_{ph-OH}$, $Q_{H,COOH}$, $Q_{H,ph-OH}$ et l'offset Q_0 . Q_0 est un offset constant exprimé mol.g^{-1} qui permet de faire coïncider les valeurs de $[H_S]$ du modèle avec les valeurs $[H_S]$ expérimentales.

La modélisation de l'équilibre acide-base a été réalisée par le logiciel de modélisation GRFIT (Ludwig, 1992).

5.2.4.2 Modélisation avec le modèle NICA-Donnan

Rappel sur le modèle NICA-Donnan

Pour rappel, dans le modèle NICA-Donnan les distributions des sites acides et basiques sont modélisées par deux fonctions quasi-Gaussienne continues auxquelles s'ajoute un terme électrostatique. Au final, huit paramètres sont nécessaires pour modéliser les courbes de titrage : les deux paramètres de densité de sites carboxyliques ($Q_{H,COOH}$) et phénoliques ($Q_{H,ph-OH}$), les deux paramètres d'affinités intrinsèques ($\log K_{H,COOH}$ et $\log K_{H,ph-OH}$) qui représente les constantes d'équilibre acide-base,

les deux paramètres d'hétérogénéité spécifiques des sites ($m_{\text{H,COOH}}$ et $m_{\text{H,ph-OH}}$), l'offset (Q_0) et enfin le terme électrostatique (b).

La qualité des ajustements a été numériquement évaluée par le calcul du coefficient de corrélation donné par l'équation :

$$R^2 = 1 - \frac{\sum_i (\hat{y}_i - y_i)^2}{\sum_i (y_i - \bar{y}_i)^2} \quad (5.9)$$

où \hat{y}_i est la valeur calculée par ajustement, y_i la valeur expérimentale et \bar{y}_i sa valeur moyenne. Pour de plus amples informations sur le modèle NICA-Donnan, le lecteur pourra se reporter au chapitre 4.

Protocole de la modélisation

Le protocole de modélisation des courbes de titrage est décrit dans l'article [Matynia et al. \(2009\)](#). Brièvement, la première étape de la modélisation a été de déterminer les $\log K_{\text{H,COOH}}$ et $\log K_{\text{H,ph-OH}}$ théoriques de quatre modèles structuraux de HA et FA présentés dans le chapitre 2. Pour cela, nous avons divisé chacune de ces quatre macromolécules en sous-unités structurales appelées "reactive structural unit" (RSU). Chacune de ces RSU contient au moins un groupement COOH ou ph-OH. Les constantes d'équilibre acide-bases moyennes de chaque RSU ont ensuite été, soit estimées grâce à la base de données de NIST ([Martell et Smith, 2004](#)), soit calculées à partir d'hypothèses chimiques simples. En calculant la moyenne des $\log K_{\text{H,i}}$ de l'ensemble des RSU d'un même modèle structural, il est possible d'accéder aux valeurs numériques théoriques des constantes $\log K_{\text{H,COOH}}$ et $\log K_{\text{H,ph-OH}}$ de ce modèle structural.

Dans une deuxième étape, nous avons modélisé les courbes de titrage de deux façons. La première façon a été de fixer les paramètres $\log K_{\text{H,COOH}}$ et $\log K_{\text{H,ph-OH}}$ aux deux valeurs numériques théoriques déterminées précédemment. La deuxième façon a été de fixer les paramètres $\log K_{\text{H,COOH}}$ et $\log K_{\text{H,ph-OH}}$ aux valeurs recommandées par [Milne et al. \(2001\)](#) dans son modèle générique ($\log K_{\text{H,COOH}} = 2.34$ pour FA et 2.93 pour HA et $\log K_{\text{H,ph-OH}} = 8.60$ pour FA et 8.00 pour HA). Dans les deux approches, le paramètre b a été fixé aux valeurs proposées par [Milne et al. \(2001\)](#) ($b = 0.57$ pour FA et 0.49 pour HA). Tous les autres paramètres ont été ajustés. Dans les deux cas, le degré de liberté est le même (5).

5.3 Résultats

5.3.1 Caractérisation des deux tourbes et de leurs fractions

5.3.1.1 Distribution fractale et composition chimique des deux tourbes

La figure 5.4 présente la composition massique des tourbes blondes et noires en HA, en FA, en humine et en MI. Le tableau 5.1 présente la composition chimique élémentaire de CP et SP, et de leurs fractions fulviques (FA), humiques (HA) et dissoutes (DOM).

SP est composé de 26.4 % de HA, de 2.9 % de FA, de 1.5 % de MI et donc, par différence, de 69.2 % d'humine. Les teneurs en MI et en FA sont très faibles dans cette tourbe. CP est composé de 33.1 % de HA, de 2.2 % de FA, de 34.5 % de MI et de 30.2 % d'humine. Comme ce qui est attendu, cette tourbe est riche en MI. Dans les deux cas, la teneur en FA est très faible alors que cette fraction est souvent considérée comme la fraction la plus réactive de la tourbe.

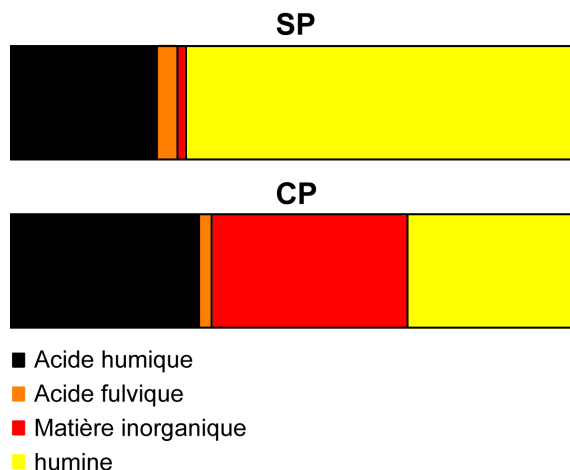


FIGURE 5.4 Proportions massiques en acide humique, en acide fulvique, en matière inorganique et en humine des tourbes blondes (SP) et brunes (CP).

Tableau 5.1 Composition élémentaire des tourbes noires (CP) et blondes (SP), et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM).

	CP	SP	HACP	HASP	FACP	FASP	DOMCP	DOMSP
Couleur	Noire	Blonde	Noire	Noire	Marron	Marron	Noire	Noire
pH	4.4	4.1	3.5	3.5	3.4	2.9		
OM^{1,2}	65.5	98.5						
C²	47.2	48.0	44.6	50.7	45.6	48.6	29.6	43.59
H²	6.21	6.0	4.5	5.36	2.92	4.41	4.0	5.16
N²	2.18	0.94	2.86	1.7	1.01	4.21	2.0	2.5
S²	1.78	0.62	1.37	0.63	0.64	0.48	1.5	1.13
P³	590	160						
Zn³	47	10	27	14	43	19	31	78
Cu³	37	7	79	< 20	40	< 20	36	25
Pb³	16	13	12	9	115	11	10	7
Hg⁴	90	20						
HA²	33.1	26.4						
FA²	2.2	2.9						
RES^{2,5}	34.5	1.5						

¹ Matière organique, ² %, ³ ppm, ⁴ ppb, ⁵ Résidu à sec

La concentration en C, H, N et S organique est, dans quasiment tous les échantillons, en accord avec la gamme préconisée par [Steelnik \(1985\)](#) (tableau 2.1). Seul DOMCP présente une teneur faible en C (29.6 %). DOMCP contiendrait donc de nombreux colloïdes non organiques. La teneur en soufre dans chaque fraction de CP est toujours supérieure à celle de la fraction SP correspondante. CP possède donc plus de sites thiols (-SH). Cependant, leur faible concentration devrait les rendre invisibles lors des titrages.

La concentration en ET de toutes les fractions est conforme à la gamme de concentration du fond géologique : 1-100 ppm pour Cu, Zn, Pb et de 1-100 ppb pour Hg ([Darmentail et al., 2000](#); [Kabata-Pendias, 2000](#)). Les teneurs en ET sont toujours supérieures dans les fractions CP que dans les fractions SP correspondantes. Ces dissimilitudes sont attribuées à la différence de conditions de formation de ces deux types de tourbes ([Bohlin et al., 1989](#)). Ainsi, les CP se forment essentiellement dans des fens. Les fens sont des tourbières alimentées par des eaux de surface et/ou des nappes phréatiques souterraines riches en éléments nutritifs. Ce type de tourbe est donc riche en ET, en MI et en soufre. Au contraire, les SP se forment essentiellement dans des tourbières alimentées par des eaux de pluie pauvre en nutriments. Elles sont donc plus pauvre en ET, en MI et en soufre.

5.3.1.2 Distribution granulométrique des deux tourbes

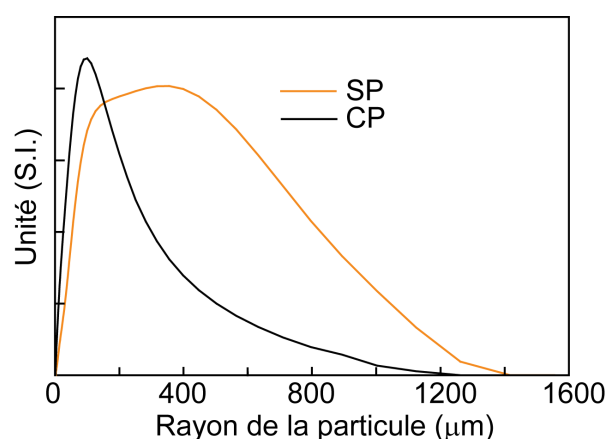


FIGURE 5.5 Distribution granulométrique des particules de tourbe par granulométrie laser.

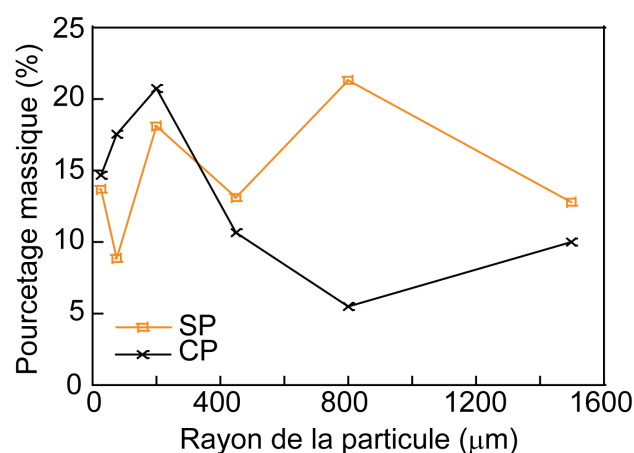


FIGURE 5.6 Distribution granulométrique des particules de tourbe par tamisage.

La figure 5.5 donne la distribution granulométrique mesurée par granulométrie laser tandis que la figure 5.6 celle mesurée par tamisage. Dans les deux méthodes utilisées, on observe que CP est constituée de particules plus fines que SP et qu'il possède une distribution en taille moins importante. Si on considère que la réactivité est en relation avec la surface spécifique accessible aux ET, ce résultat implique que CP est plus réactive que SP. On peut donc supposer que la densité de site totale Q_{tot} de CP sera supérieure à la densité de SP.

5.3.1.3 Résultat de la résonance magnétique nucléaire du ^{13}C

La figure 5.7 et le tableau 5.2 présentent respectivement la proportion des atomes de carbone et la densité de sites carboxyliques, phénoliques et totaux dans les tourbes noires et blondes et dans leurs fractions humiques, fulviques et dissoutes mesurées par RMN ^{13}C à l'état solide.

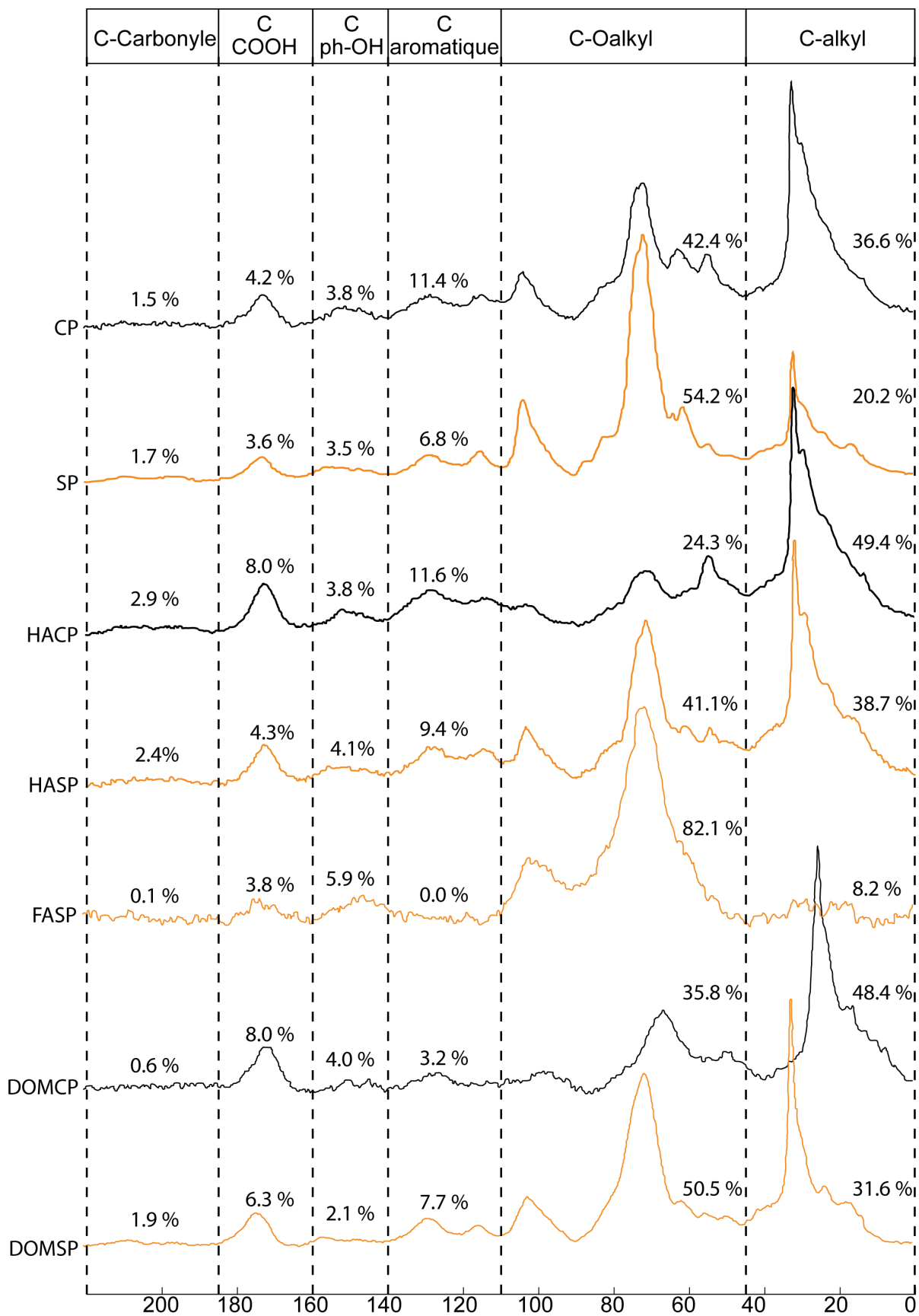


FIGURE 5.7 Proportion relative des carbones dans les tourbes noires (CP) et blondes (SP), et dans leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) mesurées par RMN ^{13}C à l'état solide.

Tableau 5.2 Densité des sites (mmol.g^{-1}) carboxyliques (Q_{COOH}), phénoliques ($Q_{\text{ph-COOH}}$) et totaux (Q_{tot}) des tourbes noires (CP) et blondes (SP), et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) mesurées par RMN ^{13}C à l'état solide.

Nom de l'échantillon	$Q_{\text{H,COOH}}^*$	$Q_{\text{H,ph-OH}}^*$	Q_{tot}^*
CP	1.65	1.48	3.12
SP	1.45	1.39	2.84
HACP	2.97	1.40	4.37
HASP	1.81	1.73	3.54
FACP	/	/	/
FASP	1.53	2.38	3.91
DOMCP	1.96	1.00	2.96
DOMSP	2.27	0.76	3.03

* mmol.g^{-1}

Comme ce qui est habituellement observé (Stevenson, 1994), les deux principaux types de carbone dans tous les échantillons sont les carbones C-alkyl (0 - 45 ppm) et les carbones C-Oalkyl (45 - 110 ppm). La teneur en carbone aliphatique (C-alkyl + C-Oalkyl) est donc supérieure à la teneur en carbone aromatique. Les données obtenues montrent également des proportions en types de carbone très différentes selon les fractions. Cela renforce l'idée selon laquelle les SH sont des matériaux hétérogènes.

En entrant dans le détail, on remarque que les fractions CP ont une proportion supérieure en C-aromatique (à l'exception des DOM), en C-COOH et en C-ph-OH (à l'exception des HA) que les fractions SP correspondantes. Les fractions CP ont cependant une proportion inférieure en C-alkyl + O-alkyl, à l'exception des DOM. Autrement dit, les fractions CP sont relativement plus riches en carbone aromatique que les fractions SP, et inversement pour les carbones aliphatiques. A titre individuel, on remarque que la fraction CP contient plus de C alkyl (36.6 % vs. 20.2 %) et moins de O alkyl (42.4 % vs. 54.2 %). Ceci suggère que SP est plus riche en humine que CP puisque l'humine est connue pour contenir une majorité de carbone O-alkyl (Stevenson, 1994). Ce résultat est en accord avec les proportions d'humine calculées à partir des extractions des fractions HA et FA (figure 5.4). On notera enfin que les HA sont plus riches en carbone aromatique que les FA pour une même tourbe. Ce résultat est conforme aux précédentes études (Stevenson, 1994). A noter que pour des raisons indépendantes de notre volonté, le spectre de RMN ^{13}C de FACP n'a pas pu être obtenu.

A fraction semblable, la densité totale des sites dans CP est soit semblable (2.96 pour DOMCP vs. 3.03 mmol.g^{-1} pour DOMSP) soit supérieure (3.12 pour CP vs. 2.83 mmol.g^{-1} pour SP ; 4.37 pour HACP vs. 3.53 mmol.g^{-1} pour HASP) à la densité totale des sites des SP. Autrement dit, CP et ses fractions sont plus réactives que SP et ses fractions correspondantes. Ce résultat conforte le résultat trouvé par granulométrie où CP possédait plus de sites que SP. La densité totale des fractions HA et FA est supérieure à la densité des sites des fractions brutes et DOM. HA et FA sont bien les fractions les plus réactives dans les tourbes. FASP possède plus de sites réactifs que la fraction HASP. Ce résultat est en accord avec la littérature qui considère que FA possède plus de

sites que HA (Milne et al., 2001). Hormis FASP, tous les autres échantillons ont une densité de sites carboxyliques supérieure à la densité de sites phénoliques. Ce résultat est également en accord avec la littérature (Milne et al., 2001), qui considère que les sites carboxyliques sont plus nombreux que les sites phénoliques.

Si on compare les densités mesurées par RMN ^{13}C avec des données utilisant une technique similaire (Gondar et al., 2005), on remarque que nos densités de sites sont plus faibles. Tandis que Gondar et al. (2005) proposent une valeur minimale de Q_{tot} de 7.18 mmol.g^{-1} pour FA, la valeur trouvée pour FASP est de 3.91 mmol.g^{-1} . De même, la valeur minimale trouvée par Gondar et al. (2005) est 4.71 mmol.g^{-1} pour les HA alors que notre valeur maximale, obtenu pour HACP, est de 4.37 mmol.g^{-1} . Nos densités de sites sont également inférieures aux valeurs issues des titrages (7.74 mmol.g^{-1} pour FA et 5.70 mmol.g^{-1} pour HA ; Milne et al., 2001). Cette différence est d'autant plus surprenante que la RMN ^{13}C ne différencie pas les carbones esters (R-COO-R) des carbones carboxyliques. Les carbones de type esters sont ainsi comptabilisés avec les carbones carboxyliques ce qui augmente artificiellement le nombre de carbone carboxyliques et donc Q_{tot} . On devrait s'attendre à comptabiliser plus de sites avec la RMN ^{13}C . Nos résultats s'interprètent donc soit comme une démonstration de la grande hétérogénéité des SH, soit comme une très grande incertitude dans les résultats donnés par la RMN ^{13}C . En effet, en plus du problème des carbones esters, la présence de MI, présente en plus ou moins grande quantité selon les fractions, implique la présence possible d'espèces inorganiques paramagnétiques, comme Fe^{3+} . Ces espèces peuvent masquer la réponse des carbones ^{13}C . Il est résulte donc une erreur dans la quantification des groupes carbonés.

5.3.1.4 Conclusion

La caractérisation des tourbes noires et blondes et de leurs fractions humiques, fulviques et dissoutes, par l'analyse chimique élémentaire, par distribution granulométrique et par résonance magnétique nucléaire donne des informations précieuses sur la réactivité de ces matériaux :

1. D'après l'étude par granulométrie et par RMN ^{13}C , la densité de sites réactifs de CP est supérieure à la densité de sites de SP.
2. D'après l'étude par RMN ^{13}C , toutes les fractions sont plus riches en carbone aliphatique qu'en carbone aromatique.
3. D'après l'étude par RMN ^{13}C , la densité de sites réactifs des fractions HA et FA est supérieure à la densité de sites des fractions brutes et dissoute.

5.3.2 Titration potentiométrique

5.3.2.1 Analyse de sensibilité de nos mesures

La figure 5.8 présente trois droites de régression associées à trois couples (E°, k) déterminés lors du calibrage de l'électrode pH. Ces trois droites de régression linéaire se situent dans la fourchette de l'erreur expérimentale et ne sont pas discernables à l'oeil. L'impact des trois couples (E°, k) sur $[\text{H}_\text{S}]$ dans le cas de SP est donné par la figure 5.9. Comme attendu, la quantité $[\text{H}_\text{S}]$ de protons relargués de SP vers la solution augmente quand le pH augmente. Quelles que soient les valeurs (E°, k) , les trois courbes de titrage $[\text{H}_\text{S}] = f(\text{pH})$ présentent trois zones :

1. *entre pH 3 et 5* : Augmentation forte de $[\text{H}_\text{S}]$ correspondant à la déprotonation des groupements COOH présents en forte quantité à la surface de la tourbe.

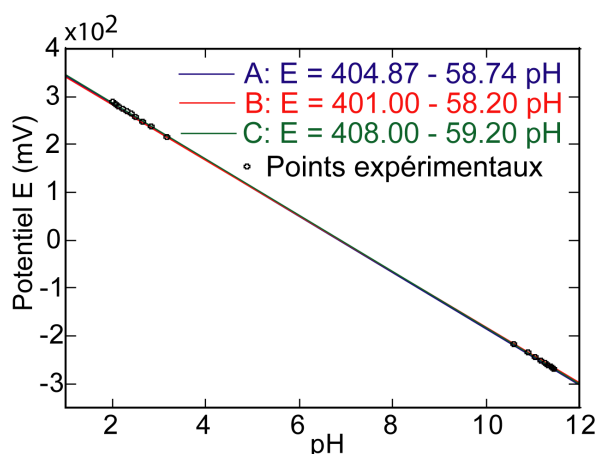


FIGURE 5.8 Points expérimentaux du calibrage de l'électrode pH (symbole) et trois régressions linéaires (ligne continue) pour trois couples (E° , k) dans la fourchette de l'incertitude expérimentale de ses points.

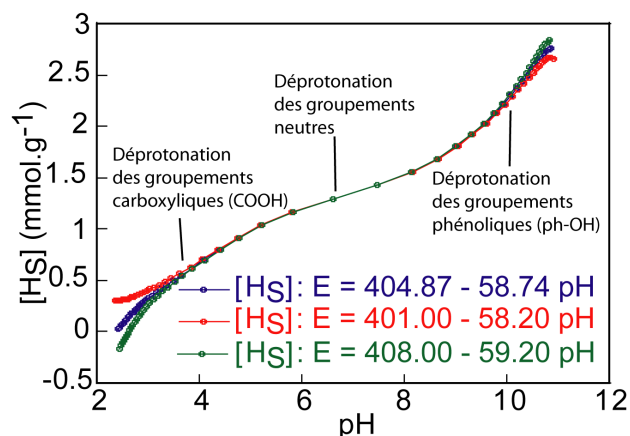


FIGURE 5.9 Titration unique de SP pour les trois couples (E° , k) dans la fourchette de l'incertitude expérimentale.

- entre pH 5 et 8 : Augmentation faible de $[HS]$ correspondant à la déprotonation des groupements neutres (comme par exemple les groupements $ph-NH_2$ ou $ph-SH$) présents en faible quantité à la surface de la tourbe.
- entre pH 8 et 11 : Augmentation forte de $[HS]$ correspondant à la déprotonation des groupements $ph-OH$ présents en forte quantité à la surface de la tourbe.

Comme les constantes d'acidité de chaque groupement sont fonction de son environnement chimique, et que celui-ci varie en raison des substitutions chimiques et de la structure non-périodique de la MO, les différents groupements carboxyliques d'un côté, et phénoliques de l'autre, ne déprotonent pas tous au même pH. Il n'y a donc pas de saut marqué de $[HS]$ à un pH donné ; les courbes sont lissées (figure 2.4).

Entre pH 3.5 à 10, les trois titrages sont quasiment superposés. En revanche, à $pH < 3.5$ et à $pH > 10$, les mesures sont significativement différentes. A pH 2.5, les deux courbes les plus éloignées (courbe rouge et verte) diffèrent de 0.5 mmol.g^{-1} , ce qui représente une variation de 20 % du $\Delta[HS]$ entre pH 2.5 et 10. Ce $\Delta[HS]$ s'obtient en calculant la valeur absolue de la différence entre $[HS]$ à pH 2.5 et $[HS]$ à pH 10 et donne, en première approche, une bonne estimation de la densité totale Q_{tot} .

La variation de courbure à haut et à bas pH nécessite de réduire le domaine d'étude en pH des courbes de titrage afin de minimiser l'erreur induite par l'électrode pH. Si on considère que les deux courbes les plus éloignées ne doivent pas différer de plus de 5 %, il est nécessaire de réduire l'intervalle d'étude en pH des courbes de titrage entre 3.5 et 10. Toutes les mesures effectuées en dehors de ce domaine pH seront par la suite considérées comme imprécises.

5.3.2.2 Mise en évidence du phénomène d'hystéresis

Les réactions d'échange de protons en solution entre un acide et une base de Brønsted sont en principe des réactions extrêmement rapides, s'approchant du contrôle par diffusion (Bell, 1973). Cependant, lors des titrages, il est apparu clairement une dérive du potentiel E (et donc du pH)

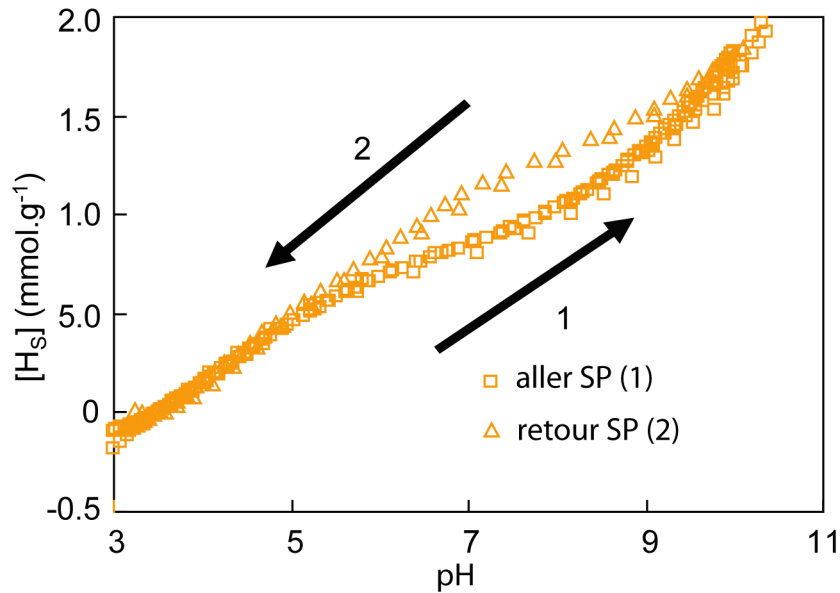


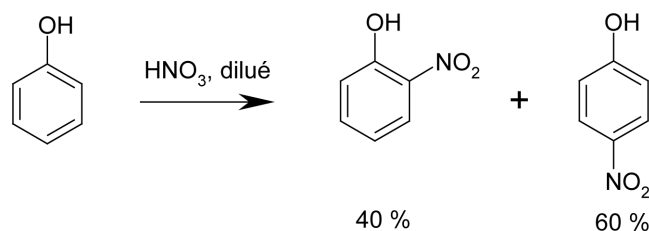
FIGURE 5.10 Concentration des protons relâchés $[H_S]$ de la tourbe blonde (SP) pour un titrage aller et retour en fonction du pH : mise en évidence du phénomène d'hystérésis.

qui tendait à augmenter lentement après chaque ajout de base. Ce phénomène implique une non-réversibilité des réactions acide-bases appliquées aux SH. Afin de mieux comprendre ce phénomène et d'optimiser les conditions expérimentales, nous avons décidé de titrer SP en retour (des hauts pH vers les bas pH).

La figure 5.10 montre un titrage aller (pH variant entre 3.5 et 10) et un titrage retour (pH variant entre 10 et 3.5) de SP. A bas pH (pH < 5.5), les pentes des titrages aller et retour coïncident. Dans ce domaine pH, les valeurs $\log K_{H,COOH}$ et $Q_{H,COOH}$ aller et retour sont donc identiques. Le mode opératoire n'influe pas sur la réactivité apparentes des groupements carboxyliques. En revanche, entre pH 5 et 10, les pentes des titrage aller et retour ne coïncident plus : il se forme un phénomène d'hystérésis conduisant à des constantes $\log K_{H,pH-OH}$ différentes entre les titrages aller et retour. A pH 10, les deux courbes se rejoignent. Ce chevauchement implique que le $\Delta[H_S]$ entre pH 10 et 3.5 ne change pas selon le mode opératoire. Autrement dit, la densité totale des sites Q_{tot} est identique dans les deux cas.

De nombreux auteurs (Gregor et Powell, 1987; Marshall et al., 1995; Paxéus et Wedborg, 1985; Santos, 1995; Ritchie et Perdue, 2003) ont également mis en évidence ce phénomène d'hystérésis. Son origine n'est pas connue et trois hypothèses ont été proposées. La première hypothèse suppose que ce phénomène est d'origine biologique puisque l'utilisation de SH stérilisées annule le phénomène d'hystérésis (Børggaard, 1974). La deuxième hypothèse suppose un changement de la conformation des SH induit par une augmentation des répulsions électrostatiques à haut pH (Marshall et al., 1995; Paxéus et Wedborg, 1985). Une augmentation de l'intervalle de temps entre deux ajout de titrant devrait alors compenser ce non équilibre. Enfin, la troisième hypothèse suppose que ce phénomène est la conséquence de réactions secondaires, comme par exemple l'hydrolyse des fonctions esters, générant une acidité additionnelle au milieu et conduisant à une diminution du pH (ou augmentation de E) après un ajout de base (Gregor et Powell, 1987; Ritchie et Perdue, 2003; Sierra, 2003). Une diminution de l'intervalle entre deux ajouts de titrant devrait empêcher ces réactions secondaires.

Afin de mieux comprendre l'hystérésis, nous avons réalisé trois titrages successifs aller (1) puis retour puis aller (2) de SP. La figure 5.11 présente les résultats obtenus. Entre pH 3.5 et 5, les trois courbes se superposent. Entre pH 5 et 10, les trois courbes ne se superposent plus : elles s'écartent (hystérésis). La courbe aller (2) se positionne ainsi quasiment au milieu des courbes aller (1) et retour, avec une tendance à se rapprocher de la courbe retour. A pH 10, les trois courbes se rejoignent. Le phénomène d'hystérésis ne semble donc pas être le fait de réaction secondaire ajoutant des sites au milieu réactionnel puisque dans ce cas les courbes ne se rejoindraient pas à pH 10. Ce phénomène ne semble pas non plus lié à un non équilibre des réactions acide-bases, puisque dans ce cas les courbes aller (1) et (2) devraient être strictement identiques. Enfin, l'utilisation de tourbe lyophilisée, et donc en partie stérilisée, est en désaccord avec l'hypothèse de [Børggaard \(1974\)](#). Dans notre cas, on pourrait imaginer des réactions secondaires affectant non pas les fonctions ph-OH directement mais l'environnement chimique immédiat de ces groupements, comme par exemple des réactions de nitration des phénols induit par l'ajout de HNO_3 lors de titrage aller selon l'équation suivante ([Arnaud, 1985](#)) :



Bien qu'hypothétique, ce type de réaction pourrait en partie expliquer ce phénomène. A ce jour, il n'y a pas de réponse simple, et une compréhension approfondie de ce phénomène nécessiterait des mesures complémentaires. N'étant pas le but premier de ce projet de recherche, nous ne nous sommes pas davantage intéressés à ce phénomène, qui reste de ce fait en suspens.

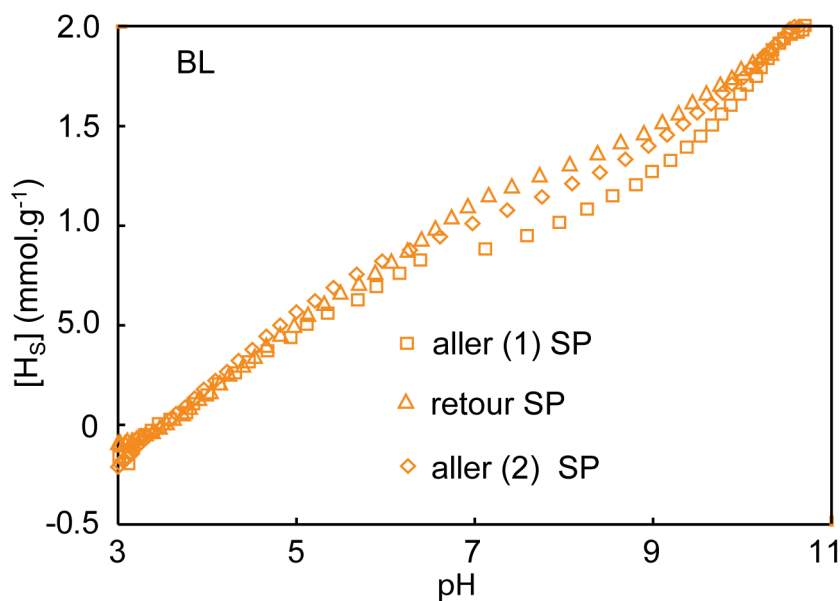


FIGURE 5.11 Concentration des protons relâchés $[\text{H}_s]$ de la tourbe blonde (SP) pour un titrage aller (1), retour et aller (2) en fonction du pH.

5.3.2.3 Titrage de différentes fractions granulométriques de SP

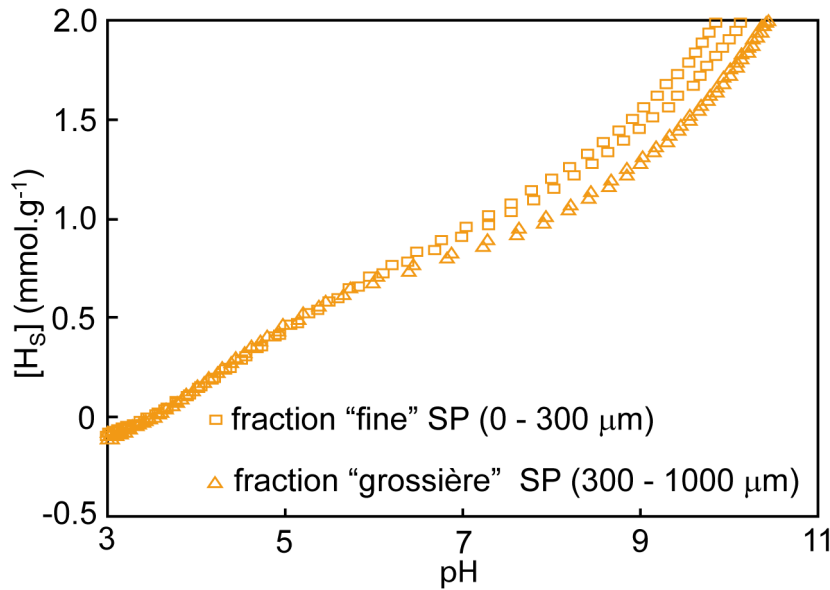


FIGURE 5.12 Concentration des protons relâchés $[H_S]$ de deux tailles granulométriques de la tourbe blonde (SP) en fonction du pH.

La figure 5.12 présente le titrage acide-base de particules de SP de tailles granulométriques différentes : une fraction fine (0 - 300 μm) et une fraction grossière (300 - 1000 μm). Comme ce qui est attendu, la fraction fine, qui a une surface réactive théoriquement plus grande, est 10 % plus réactive que la fraction grossière. Si l'on considère que le nombre de sites réactionnels est proportionnel à la surface exposée, la fraction fine devrait posséder 5 fois plus de sites protonés que la fraction grossière, ce qui n'est pas le cas.

Les réactions acide-bases sur les particules des tourbes ne semblent pas se limiter uniquement aux surfaces externes. La texture spongieuse de la tourbe offre une immense surface réactive intérieure. La dimension fractale des agrégats de tourbe expliquerait la faible différence observée entre les deux fractions granulométriques. Considérer la tourbe comme un gel spongieux (modèle de NICA-Donnan) et non comme un gel imperméable semble se justifier.

5.3.2.4 Titrage des tourbes blondes et noires et de leurs fractions

La figure 5.13 présente les titrages de CP et SP (figure 5.13a), de leurs fractions humiques (HA, figure 5.13b), fulviques (FA, figure 5.13c), dissoutes (DOM, figure 5.13d), inorganiques (MI, figure 5.13 e) et humines (figure 5.13f). Le tableau 5.3 donne le $\Delta[H_S]$ calculé entre pH 3.5 et 9. Le nombre $[H_S]$ de protons relâchés par la surface réactive augmente quand le pH augmente puisque que les groupements fonctionnels surfaciques déprotonent quand le pH augmente (cf précédemment). La densité de site $\Delta[H_S]$ entre pH 3.5 et 9 diminue de la façon suivante (tableau 5.3) :

$$\text{FACP} \approx \text{HACP} > \text{CP} > \text{HASP} \approx \text{FASP} > \text{SP} > \text{DOMSP} > \text{DOMCP} > \text{humineSP} > \text{MICP}.$$

Toutes les fractions CP ont un $\Delta[H_S]$ supérieur à la fraction SP correspondante. Autrement dit, la densité de sites déprotonables entre pH 3.5 et 9 est, par cette approche, supérieure pour les fractions CP que pour les fractions SP correspondantes. Ceci est en accord avec la granulométrie et

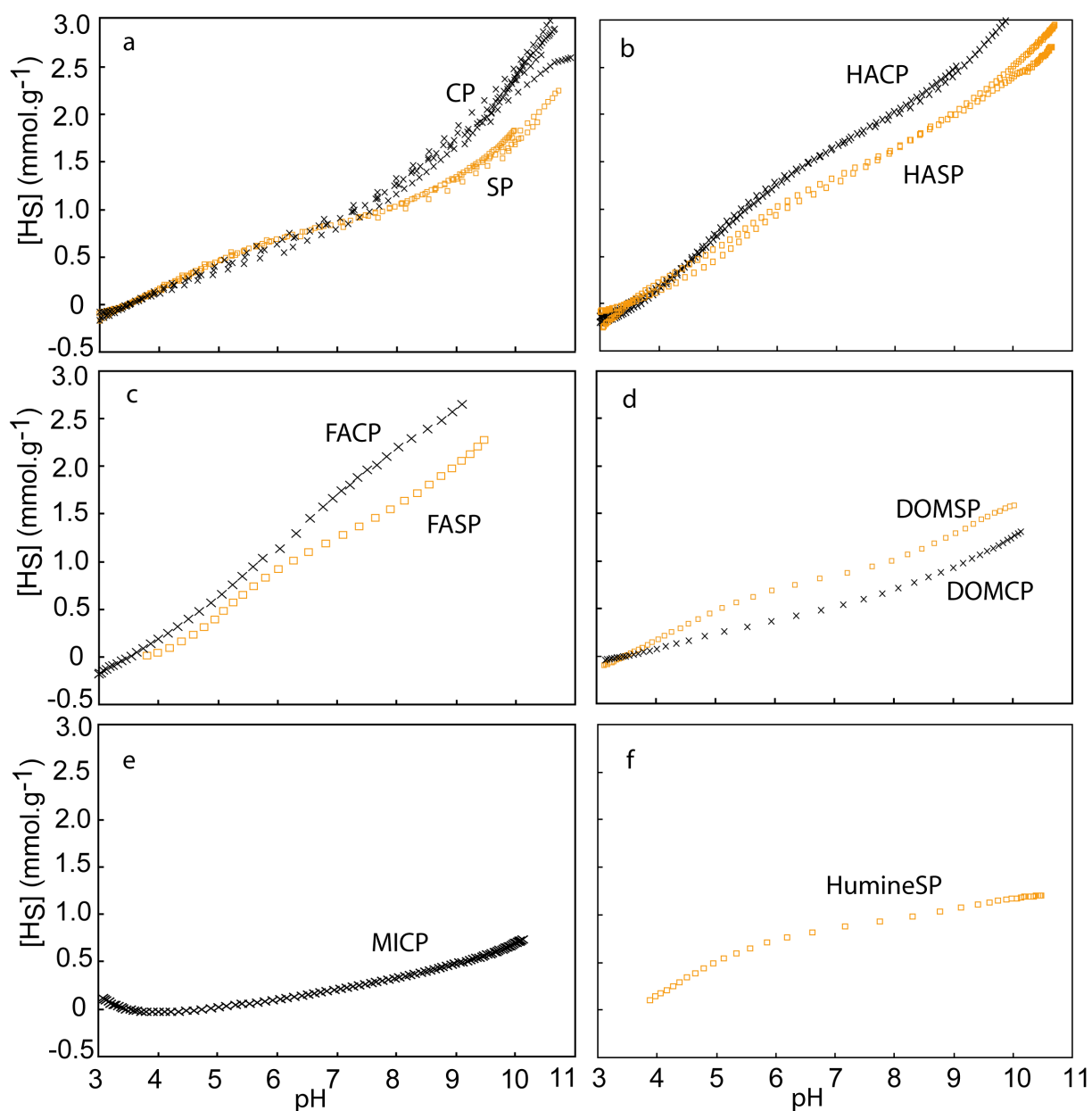
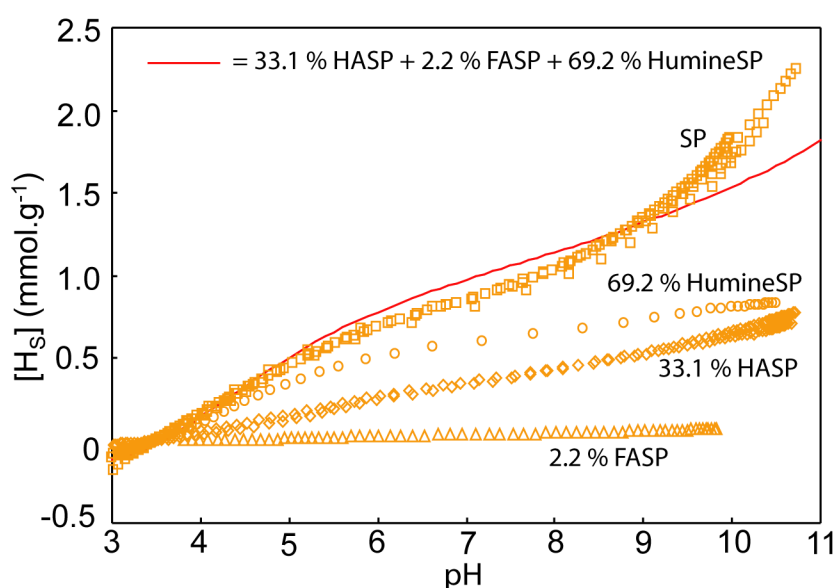


FIGURE 5.13 Concentration des protons relâchés $[H_S]$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blondes (SP, couleur orange), et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA), dissoutes (DOM), inorganiques (MI) et humines en fonction du pH. $I=0.1$.

Tableau 5.3 $\Delta[H_S]$ ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) entre pH 3.5 et 9 des tourbes noires (CP) et blondes (SP) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA), dissoutes (DOM), inorganiques (MI) et humines.

$\Delta[H_S]$ ($\text{mmol}\cdot\text{g}^{-1}$) entre pH 3.5 et 9.0	CP	SP
Brute	2.37	1.69
HA	2.50	2.05
FA	2.60	2.01
DOM	0.93	1.28
MI	0.50	/
humine	/	1.00

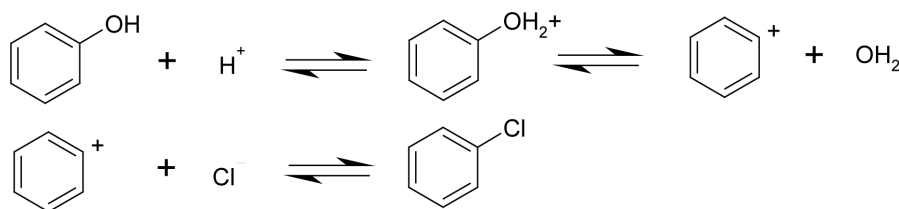
**FIGURE 5.14** Concentration des protons relâchés $[H_S]$ de la tourbe blonde (SP) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et humines normalisés à leurs proportions relatives massiques en fonction du pH. $I=0.1$.

la RMN ^{13}C . Les deux fractions les plus réactives sont les fractions FA et HA. La DOM est relativement peu réactive. Ce résultat est en accord avec la RMN ^{13}C . Avec un $\Delta[H_S]$ de $0.5 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$, la fraction inorganique est la moins réactive. Enfin, l'humine SP a une réactivité relativement faible, proche de celle des DOM.

Normalisée par rapport à la réactivité totale de CP (i.e. fraction minérale incluse), la réactivité de MI représente 10 % ($\frac{0.5 \cdot 0.345}{0.5 \cdot 0.345 + 0.655 \cdot 2.37} = 10 \%$) de la réactivité totale de CP et 0.4 % de SP. L'hypothèse de travail selon laquelle la MI est peu réactive se justifie totalement pour SP et en partie pour CP. Si on calcule la réactivité de CP en soustrayant la quantité de MI (34.5 %), le $\Delta[H_S]$ obtenu, entre pH 3.5 et 9, est de $1.72 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$ ($Q_{\text{tot}} = 0.345 \cdot 0.5 + 0.655 \cdot 2.37 = 1.72 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$). Cette réactivité est comparable à la réactivité de SP ($1.69 \text{ mmol}\cdot\text{g}^{-1}$).

Afin de connaître l'importance relative de la réactivité de chaque fraction dans la réactivité totale des tourbes et d'apprécier l'impact éventuel du protocole d'extraction des HA et des FA sur leur réactivité, nous avons normalisé (figure 5.14) les titrages des fractions de SP par rapport à leurs

proportions massiques données dans la figure 5.4. En première approche, on remarque que la somme des titrages de HASP, FASP et humineSP (courbe rouge) reproduit très bien le titrage de la fraction SP (symbole carré). Autrement dit, le protocole d'extraction ne semble pas avoir dégradé de façon notable les sites carboxyliques. Cependant, à partir de pH 9, la courbe rouge s'éloigne de manière significative de SP. Le protocole d'extraction semble donc dégrader les HA, les FA et l'humine en diminuant leur nombre de sites phénoliques par rapport à la tourbe initiale. La faute incomberait aux substitutions nucléophiles aromatiques. Ces réactions plutôt très rares, sont dans notre cas favorisées par la présence combinée des ions H^+ et Cl^- (ajout de HCl lors de l'extraction) qui réagirait avec les groupements ph-OH selon la réaction ci dessous (Arnaud, 1985) :



Ce type de réaction réduirait le nombre de sites ph-OH et pourrait expliquer la différence observée.

La proportion importante d'humine dans SP (69.2 %) compense sa faible réactivité (1.0 mmol.g^{-1}). De ce fait, l'humine et HA sont les deux principales fractions réactives de SP. FA ne représente qu'une faible partie de la réactivité totale de SP.

5.3.2.5 Conclusion

La première approche de l'analyse des courbes de titrage par le calcul du $\Delta[H_S]$ montre que :

1. Le phénomène d'hystérésis, dont l'origine reste à déterminer, est inhérent aux courbes de titrage. Les moyens d'action pour limiter ce phénomène sont faibles.
2. La tourbe est un matériel spongieux.
3. Les particules de tourbe noire contiennent plus de sites réactifs que les particules de tourbe blonde. Cependant, vu que CP contient 34.5 % de matière minérale, au total les deux tourbes brutes ont des réactivités semblables.
4. Le protocole d'extraction modifie la structure des groupements ph-OH.

Par la suite, les courbes de titrage seront modélisées par l'approche DNEM puis NICA-Donnan du projet de recherche sera de modéliser les courbes de titrage obtenues de différentes façons.

5.3.3 Modélisation des titrages potentiométriques

5.3.3.1 Modélisation par le modèle DNEM

La figure 5.15 et le tableau 5.4 donnent les résultats de la modélisation DNEM. Les modélisations obtenues par ce modèle reconstruisent assez bien les courbes expérimentales ($R^2 < 0.991$). Les valeurs $\log K_{H,COOH}$ et $\log K_{H,OH}$ sont peu dispersées. Elles varient respectivement entre 3.4 et 4.7 et entre 8.0 et 8.9. Pour les fractions brutes, HA et DOM, ces constantes sont incluses dans la gamme de valeurs proposées dans la littérature (tableau 5.5). Ceci n'est pas le cas des FA qui ont notamment un $\log K_{H,COOH}$ supérieur aux valeurs de la littérature. Ainsi, l'acidité supérieure des FA comparée au HA rapportée dans la littérature n'est pas observée dans ce modèle. La non prise en

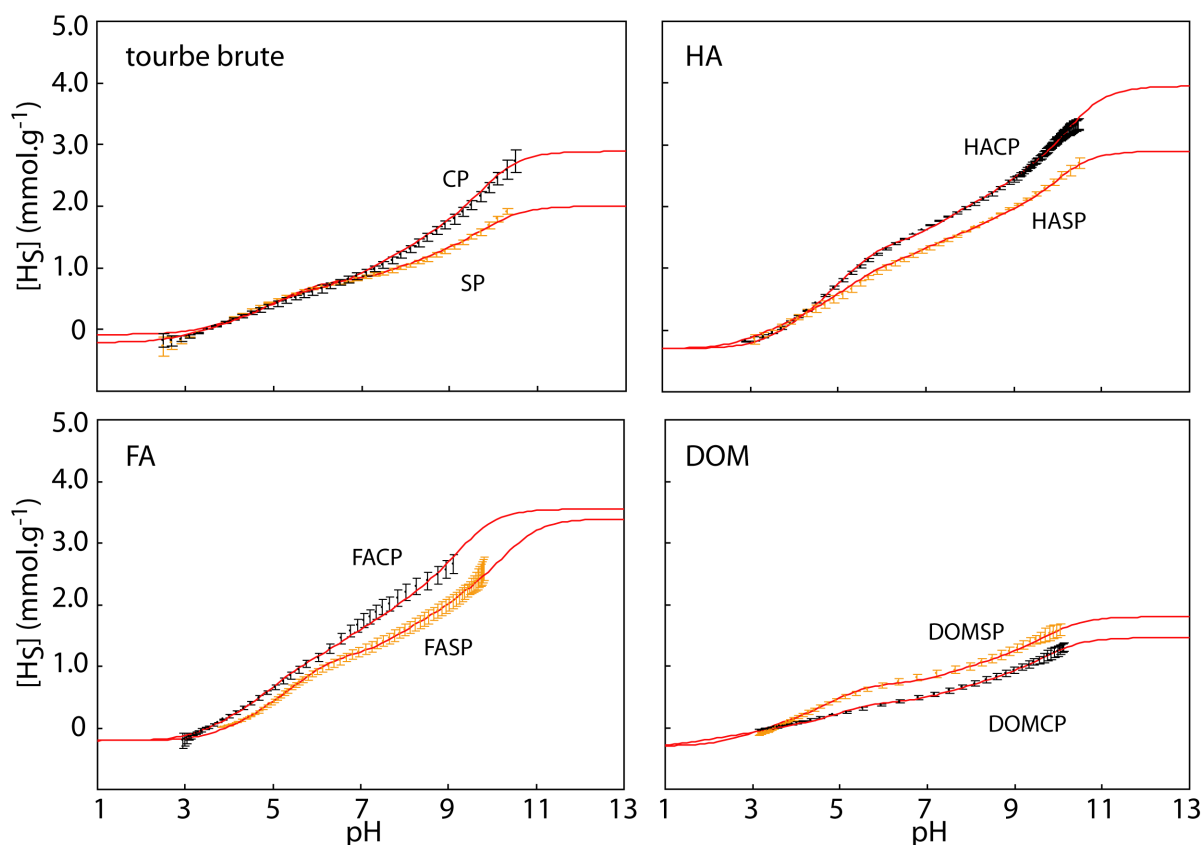


FIGURE 5.15 Concentration des protons relâchés $[H_S]$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blondes (SP, couleur blonde) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) en fonction du pH. Les symboles et les lignes rouges représentent respectivement les points expérimentaux et les ajustements obtenus par le modèle DNEM. $I=0.1$.

Tableau 5.4 Paramètres du modèle DNEM des tourbes noires (CP) et blondes (SP) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM).

	$*Q_{H,COOH}$	$\Delta \log K_{H,COOH}$	$\log K_{H,COOH}$	$*Q_{H,ph-OH}$	$\Delta \log K_{H,ph-OH}$	$\log K_{H,ph-OH}$	$*Q_{tot}$	R^2
CP	0.9	1.0	4.1	2.2	1.3	8.5	3.1	0.991
SP	0.9	0.9	4.5	1.2	1.1	8.8	2.1	0.995
HACP	1.8	0.8	4.5	2.5	1.4	8.9	4.3	0.998
HASP	1.4	1.1	4.2	1.8	1.5	8.5	3.2	0.998
FACP	1.4	0.8	4.4	2.4	1.3	8.0	3.8	0.996
FASP	1.1	0.7	4.7	2.2	1.6	8.3	3.3	0.997
DOMCP	0.7	1.6	3.4	1.0	1.2	8.6	1.7	0.998
DOMSP	1.0	1.2	3.7	1.1	1.2	8.6	2.1	0.998

* mmol.g⁻¹

compte de l'effet électrostatique peut en partie expliquer ces différences. On observe également que les valeurs $\log K_{H,COOH}$ et $\log K_{H,ph-OH}$ de SP et de ses fractions sont soit égales, soit supérieures, aux valeurs de CP et de ses fractions. La tourbe blonde serait donc moins acide que la tourbe noire.

Les fractions HA et FA ont une densité totale de sites réactifs supérieure aux fractions brutes et DOM. A fraction identique, CP possède une densité totale de sites réactifs plus élevée que SP. Ce résultat est en accord avec les résultats issus de la RMN ^{13}C , de la granulométrie et de l'approche par $\Delta[H_S]$. Cependant, une étude plus précise de ces densités de sites montre que, contrairement à la RMN ^{13}C qui suggère l'existence d'un plus grand nombre de sites carboxyliques que phénoliques, dans le modèle DNEM, $Q_{H,COOH}$ est inférieur à $Q_{H,ph-OH}$ pour tous les échantillons hormis les DOM. La non-différenciation entre les carbones esters et les carbones carboxyliques dans le cas de la RMN ^{13}C et l'interférence des cations paramagnétiques peut expliquer cette différence. Enfin, le résultat par le modèle DNEM est comparable avec 4 des 8 modèles structuraux de HA et de FA où le rapport $\frac{COOH_{tot}}{C_{tot}}$ est inférieur au rapport $\frac{OH_{tot}}{C_{tot}}$ (tableau 2.3).

5.3.3.2 Modélisation par le modèle NICA-Donnan : Matynia et al. (2009)

Tableau 5.5 Quelques valeurs des constantes $\log K_{H,i}$ proposées dans la littérature.

		$\log K_{H,COOH}$	$\log K_{H,ph-OH}$	$Q_{H,COOH}$	$Q_{H,ph-OH}$	Methode
Tipping (1998)	HA	4.1 ± 0.4	8.8 ± 0.6	3.3 ± 0.5	1.7 ± 0.30	Titration
	FA	3.2 ± 0.4	9.4 ± 1.8	4.8 ± 0.7	2.4 ± 0.35	
Avena et al. (1999)	HA	4.0 ± 0.5	8.0 ± 0.5	-	-	Titration
Milne et al. (2001)	HA	3.09 ± 0.51	7.98 ± 0.96	3.17 ± 0.89	2.66 ± 1.37	Titration
	FA	2.65 ± 0.43	8.60 ± 1.06	5.66 ± 1.25	2.57 ± 1.94	
Ritchie et Perdue (2003)	HA	4.38 ± 0.26	9.72 ± 0.46	7.97 ± 3.11	1.31 ± 0.50	Titration
	FA	3.80 ± 0.22	9.78 ± 0.96	13.6 ± 1.60	1.23 ± 0.38	
Average ^a	HA	3.89 ± 0.56	8.62 ± 0.83	-	-	Titration
	FA	3.22 ± 0.58	9.26 ± 0.61	-	-	
Average ^b	HA	4.16 ± 0.20	8.84 ± 0.86	-	-	Titration
	FA	3.50 ± 0.43	9.59 ± 0.27	-	-	
Cabaniss et McVey (1995)	HA	3.4 ± 0.1	-	-	-	Spectroscopie infra rouge
	FA					

^a Moyenne des données de Tipping (1998), Avena et al. (1999), Milne et al. (2001), et Ritchie et Perdue (2003). ^b Moyenne, sans les données de Milne et al. (2001). Q en mmol/g_{dw}.

Résumé de l'article

Les constantes d'acidité moyennes des protons $K_{H,i}$ pour des modèles structuraux d'acides humiques et fulviques ont été estimées semi-empiriquement en scindant ces macromolécules organiques en unités structurales réactives (RSU), et en calculant les valeurs $K_{H,i}$ de ces RSU à partir de constantes connues. Les log théoriques de $K_{H,COOH}$ et de $K_{H,ph-OH}$ sont de 3.73 ± 0.13 et 9.83 ± 0.23 pour HA, et 3.80 ± 0.20 et 9.87 ± 0.31 pour FA. Ces valeurs sont en accord avec les titrages potentiométriques utilisant le Model VI (Tipping, 1998), la sphère imperméable (Avena et al., 1999) et le modèle Henderson-Hasselbach (Ritchie et Perdue, 2003) (4.16 ± 0.20 et 8.84 ± 0.86 pour HA, et 3.50 ± 0.43 et 9.59 ± 0.27 pour FA, tableau 5.5), mais différentes d'une unité log des valeurs obtenues par le modèle NICA-Donnan (3.09 ± 0.51 et 7.98 ± 0.96 pour HA, et 2.65 ± 0.43 et 8.60 ± 1.06 pour FA ; Milne et al., 2001). Pour clarifier cette ambiguïté, nous avons modélisé les titrages des tourbes SP et CP, et leur fractions HA, FA et DOM, en utilisant d'un côté les constantes calculées à partir des RSU, et de l'autre les constantes génériques du modèle NICA-Donnan. Les données sont

dans les deux cas très bien décrites ($R^2 \geq 0.991$) montrant ainsi que le modèle NICA-Donnan est sur-paramétré. Afin d'avancer sur cette question, il est impératif de connaître le nombre de paramètres indépendants contenus dans une courbe de titrage.

Semi-empirical proton binding constants for natural organic matter

Anthony Matynia^{1,2}, Thomas Lenoir¹, Benjamin Causse^{3,4}, Lorenzo Spadini³, Thierry Jacquet², and
Alain Manceau¹

¹ Mineralogy & Environments Group, LGCA, Université Joseph Fourier and CNRS, 38041
Grenoble cedex 9 France

² Phytorestore – Site et Concept, 7 impasse Milord, 75018 Paris, France

³ Environmental Geochemistry Group, LGIT, Université Joseph Fourier and CNRS, 38041
Grenoble Cedex 9 France

⁴ LSE-ENTPE, Université de Lyon, 69518 Vaulx en Velin cedex, France

Running Head: Proton binding constants for NOM

Index terms: Proton binding constants, acid-base titration, NICA-Donnan, organic matter, lignin,
peat, humic acid, fulvic acid

Abstract

Average proton binding constants ($K_{H,i}$) for structure models of humic (HA) and fulvic (FA) acids were estimated semi-empirically by breaking down the macromolecules into reactive structural units (RSU) and calculating $K_{H,i}$ values of the RSUs from known constants. Predicted $\log K_{H,COOH}$ and $\log K_{H,ph-OH}$ are 3.73 ± 0.13 and 9.83 ± 0.23 for HA, and 3.80 ± 0.20 and 9.87 ± 0.31 for FA. These values agree reasonably well with results from potentiometric titrations analyzed using Model VI, the Impermeable Sphere (IS), and the Henderson-Hasselbalch models (4.16 ± 0.20 and 8.84 ± 0.86 for HA, and 3.50 ± 0.43 and 9.59 ± 0.27 for FA; Tipping, 1998; Avena et al., 1999; Ritchie and Perdue, 2003), but differ by about one log unit from those obtained with the NICA-Donnan model (3.09 ± 0.51 and 7.98 ± 0.96 for HA, and 2.65 ± 0.43 and 8.60 ± 1.06 for FA; Milne et al., 2001). To clarify this ambiguity, a *Carex* and a *Sphagnum* peat, and their HA, FA and dissolved organic matter fractions, were titrated between pH 3.5 and 10 and the eight curves modeled with both the predicted equilibrium constants and the recommended generic constants from the NICA-Donnan model. The data are described equally well with the two sets of values ($R^2 > 0.99$), meaning that the NICA-Donnan model is overparameterized. Correlations between NICA-Donnan parameters are discussed, but progress is impeded by the unknown number of independent parameters needed to reconstruct titration curves. If one excludes $\log K_{H,i}$ values from the NICA-Donnan model (3.09 ± 0.51 for HA, and 2.65 ± 0.43 for FA), the consistency between predicted (3.76 ± 0.13 for HA, and 3.87 ± 0.14 for FA) and experimental (4.16 ± 0.20 for HA, and 3.50 ± 0.43 for FA) constants gives faith in the proposed semi-empirical approach, and its usefulness to assess the plausibility of proton stability constants derived from the simulations of titration data.

1. INTRODUCTION

Humic (HA) and fulvic (FA) acids, the two most reactive solid fractions of natural organic matter, play a key role in the retention and bioavailability of metal ions in the environment (Stevenson, 1982). They are complex and heterogeneous assemblages of dominantly carboxyl (COOH) and phenol (ph-OH) polyelectrolyte groups issued from the breakdown of bacterial, algal, and higher plant organic material. The acid-base equilibria of these groups, which controls their ion binding properties, is measured usually by potentiometric titration and occasionally by infrared spectroscopy, and expressed numerically by the two proton binding constants $\log K_{H,COOH}$ and $\log K_{H,ph-OH}$ (Table 1). The mean proton binding constants derived from titration curve fitting are $\log K_{H,COOH} = 3.89 \pm 0.56$ for HA and 3.22 ± 0.58 for FA, and $\log K_{H,ph-OH} = 8.62 \pm 0.83$ for HA and 9.26 ± 0.61 for FA. From infrared spectroscopy, $\log K_{H,COOH} = 3.4 \pm 0.1$ for both HA and FA (Cabaniss and McVey, 1995). The 0.67 difference in $\log K_{H,COOH}$ values for HA and FA obtained

by titration either is real and results from the difference in composition and functionality of the two types of humic substances (HS), in which case titration is more sensitive than infrared spectroscopy, or is within uncertainty and accuracy of titration, in which case this method is less precise. To address this question, average $\log K_{H,COOH}$ and $K_{H,ph-OH}$ values were calculated semi-empirically from structure models of FA and HA, then used to simulate titration data, and the quality of the simulations compared to those obtained with the best-fit experimental $\log K_{H,i}$ values reported in the literature.

2. STRUCTURE MODELS FOR HA AND FA

Four main structure models have been proposed over the last 32 years (Fig. 1). Their main chemical characteristics are given in Table 2 and summarized below.

2.1 HA model of Stevenson (HA-S; Stevenson, 1982)

This model is based on the “modified lignin theory” (Waksman, 1938), which considers humic substances to be degradation products of lignin. The structure is characterized by a high polycyclic nature (atomic ratio of aromatic to aliphatic carbons $C_{aro}/C_{ali} = 1.36$), the majority of carboxyl ($COOH_{aro}/COOH_{ali} = 4.0$) and all hydroxyl groups branching off aromatic rings. The aromatic rings are linked by C-C, C-O-C, and C-N-C bonds.

2.2 HA model of Schulten and Schnitzer (HA-SS; Schulten and Schnitzer, 1993)

This model is derived from ^{13}C -NMR, analytical chemistry, pyrolysis, and oxidative degradation data. The macromolecular unit contains 368 C atoms compared to 73 in the HA-S model, but it counts a lower proportion of aromatic carbons ($C_{aro}/C_{ali} = 0.57$), which are now linked by aliphatic chains. Consistent with the lower C_{aro}/C_{ali} atomic ratio, HA-SS has relatively fewer phenolic groups ($OH_{aro}/C_{tot} = 0.021$ vs 0.11) and hydroxyls are almost evenly distributed between aliphatic and aromatic carbons ($OH_{aro}/OH_{ali} = 1.14$). The molar ratio of COOH to total carbon ($COOH/C_{tot}$) is similar in the two models (0.078 vs. 0.068), and carboxyl groups still are dominantly attached to aromatic rings ($COOH_{aro}/COOH_{ali} = 4.8$).

2.3 FA model of Buffle (FA-B; Buffle, 1977)

With only 27 carbons, this is the smallest macromolecule. It consists of a naphthalene core substituted by COOH and OH groups, and branched with two aliphatic chains terminated by a carboxyl. This molecule has the highest $\text{COOH}_{\text{tot}}/\text{C}_{\text{tot}}$ (0.22) and $\text{COOH}_{\text{aro}}/\text{C}_{\text{aro}}$ (0.4) ratios, with almost one in two aromatic C-H bonds substituted by a COOH.

2.4. FA model of Alvarez-Puebla et al. (FA-A; Alvarez-Puebla et al., 2006)

This FA-model is characterized by a high proportion of chain aliphatic and alicyclic carbon ($\text{C}_{\text{aro}}/\text{C}_{\text{ali}} = 0.32$), to which the majority of functional groups are connected ($\text{OH}_{\text{aro}}/\text{OH}_{\text{ali}} = 0.50$; $\text{COOH}_{\text{aro}}/\text{COOH}_{\text{ali}} = 0.2$). This model is the only one to incorporate in its structure sulfhydryl (-SH) and amine (-NH₂) functional groups.

2.5. Comparison between the HA and FA models

The HA models have a higher proportion of aromatic carbons than the FA models: $\text{C}_{\text{aro}}/\text{C}_{\text{ali}} = 1.36$ and 0.57 for HA-S and HA-SS, vs. 0.59 and 0.32 for FA-B and FA-A, respectively. However, the FA models have a higher proportion of COOH to total carbon (0.16 - 0.22 vs. 0.068 - 0.078), and thus a higher acidity with site density ($Q_{\text{H,COOH}}$) values of 6.8 to 9.4 vs. 3.4 to 4.5 mmol/g. Although the distinction is less conclusive for phenolic hydroxyls ($Q_{\text{H,ph-OH}}$), FA have a total proton-reactive site density (Q_{tot}) well above that of HA: 12.1 ± 0.5 vs. 7.0 ± 1.3 mmol/g (Table 2). Overall, the nature and amounts of reactive sites in structure models are in good agreement with pH-based estimates from titration (Table 1).

2.6. Carboxyl structures (NOM model of Myneni and co-authors)

Previously, HA and FA were represented as arbitrary hydrocarbon macromolecules substituted by carboxyl and hydroxyl groups. Currently, the tendency is to represent HA and FA as assemblies of well-defined chemical entities. Using total reflection Fourier-transform infrared spectroscopy and aliphatic and aromatic carboxylate model reference materials, the following generic types of carboxyl environments have been identified in natural organic matter (NOM) by Hay and Myneni (2007): aliphatic acids containing a hydroxyl (similar to lactate, malate, gluconate), ether/ester (-O-/O-CO-, e.g., methoxyacetate and acetoxyacetate) or carboxylate (e.g., malonate) substituent on the α -carbon, aromatic acids (e.g., salicylate), and O-heterocycle acids (e.g., furancarboxylate). Aliphatic carboxyls with -OH, -OR, or -COOH for H substitution on the α -carbon, and furan-type and salicylate-type aromatic carboxylates functionalities were confirmed by two-dimensional NMR

spectroscopy (Deshmukh et al., 2007). This technique also highlighted the importance of α -substituted alicyclic carboxyls, which are indistinguishable from α -substituted aliphatic carboxyls in infrared spectroscopy.

3. CALCULATION OF SEMI-EMPIRICAL $\log K_{H,I}$

3.1. Method

Empirical proton binding constants were calculated in three steps. First, each structure model was broken down to chemically characterizable entities, called reactive structural units (RSUs). Second, $K_{H,i}$ values of the RSUs were taken from the NIST thermodynamic database (Smith and Martell, 2004), or calculated using basic chemical concepts. Third, the average $K_{H,i}$ value of the whole macromolecule was calculated as the weighted sum of all individual values. Calculations were performed at an ionic strength of $I = 0.1$ M because the NIST database contains more entries for this value. The RSUs were defined as follows:

(i) Each RSU contains only aliphatic or aromatic hydrocarbons, and at least one acid-base functionality.

(ii) Unreactive naphthalene and fluorene cores, aliphatic chains, and phenyl groups on aromatics were replaced by $-\text{CH}_3$ (denoted Me). This chemical substitution is supported by the similarities of $\log K_{H,\text{COOH}}$, (i), for 3-(2methyl-2-propyl)benzoic acid (4.20) and 3-methylbenzoic (4.27) and, (ii), for 1-naphthoic acid (3.67) and 2,3-methylbenzoic acid (3.76).

(iii) Ester groups on aromatics (ph-CO-O-R) were replaced by $-\text{CH}_3$. This substitution is justified by the similarity of $\log K_{H,\text{ph-OH}}$ for 2-acetylphenol (9.94) and 2-methylphenol (10.09).

(iv) Ether groups (R-O-R) were replaced by methoxy groups ($-\text{O}-\text{CH}_3$, denoted OMe). This substitution is supported by the similarity of $\log K_{H,\text{COOH}}$ for 3-phenoxybenzoic acid (3.95) and 3-methoxybenzoic acid (3.82).

(v) Secondary amines on aromatics (ph-NH-R) were considered to be primary amines (ph-NH₂). This approximation is justified by the similarity of $\log K_{H,\text{COOH}}$ for 2-aminobenzoic acid (4.78) and 2-(2-hydroxyethylamino)benzoic acid (4.82).

3.2 The RSUs

The nature and number of RSUs generated in all structure models are represented in Table 3. HA-S can be decomposed into eight RSUs (Fig. 1). The two first RSUs (RSU1 and RSU2) are molecular remnant of lignin, from which the model is derived. HA-SS can be described by

seventeen RSUs. All RSUs contain at least one COOH group, and half of them contain at least two. Thus, none contains only hydroxyls, in contrast to RSU3, RSU5, RSU6, and RSU7 in HA-S. Acetic acid is the most abundant RSU; it is repeated three times. FA-B is described by four RSUs, two small aliphatic acids (acetic acid and lactic acid), and two substituted benzene-type rings. FA-A can be described by seven RSUs, five non-aromatic and two benzene-type aromatic. A proton is replaced by NH₂ in one aromatic ring, and by SH in the other. Hence, more RSUs are needed to describe HA than FA, and apart from acetic and lactic acids, each RSU occurs in one model only. The limited number of common structural elements among the first four structure models highlights the complexity and diversity of humic substances.

Eight RSUs were used for the NOM model: lactic acid, gluconic acid, malic acid, malonic acid, methoxyacetic acid, acetoxyacetic acid, salicylic acid, and 2-furoic acid (also named furan-2-carboxylic acid).

3.3. log $K_{H,i}$ values of the RSUs

Ten RSUs out of the thirty-four defined previously are referenced in the NIST database: acetic and lactic acid, glycine, 2-oxopropanoic acid (FA-A_RSU1), acrylic acid (FA-A_RSU3), methoxyacetic acid (FA-A_RSU7), 3-hydroxypropanoic acid (FA-A_RSU6), but-1,4-dicarboxylic acid (HA-SS_RSU16), and the two aromatic HA-SS_RSU6 and HA-SS_RSU11 (Table 3). The log $K_{H,i}$ values of the other RSUs were calculated by taking the known constant of the closest structural analog and adding to this value the $\Delta \log K$ offset induced by the chemical substituents present in the RSU but absent in the analog. The inductive modification of the chemical properties of organic molecules by substituents is described conceptually as a mesomeric or resonance effect. Details of the calculations are given in Electronic Annex, and results reported in Table 3. The method is illustrated below with HA-SS_RSU17, a benzene molecule substituted by two para-COOH (noted COOH¹ and COOH²), one ortho-OH, and two (3,5)-O-CH₃ (noted OMe) (Fig. 2).

The proton binding constant of this benzenedicarboxylate can be calculated from the log $K_{H,i}$ values of 2-hydroxybenzoic acid (2.80) and 3-hydroxybenzoic acid (3.99), corrected by the dissociation offset induced by the addition of two OMe and a second COOH group on the ring (Fig. 2). Starting from 2-hydroxybenzoic acid, the $\Delta \log K$ offset due to the two OMe substituents in (3,5) C positions on the benzene ring is two times the difference between the log $K_{H,COOH}$ for 3-methoxybenzoic acid and benzoic acid : $2 \times (3.82 - 4.01) = -0.38$. The shift in log $K_{H,i}$ induced by a second COOH can be obtained from the binding constants (one per hydroxyl) of benzene-1,4-dicarboxylic acid: $3.38 + 4.15$. The $\Delta \log K$ associated with this substituent is $0.5 \times (4.15 + 3.38) -$

$4.01 = -0.25$. Thus, (OMe,COOH)-substituted 2-hydroxybenzoic acid has a calculated $\log K_{\text{COOH}}$ of $2.80 - 0.38 - 0.25 = 2.17$.

Similarly, the $\log K_{\text{COOH}}$ of (OMe,COOH)-substituted 3-hydroxybenzoic acid is obtained from the difference in proton binding constants of 2-methoxybenzoic acid and benzoic acid ($3.87 - 4.01 = 0.14$), and the difference in the mean binding constant of benzenedicarboxylate and benzoic acid (-0.25). Note that 2-methoxybenzoic acid has to be taken instead of 3-methoxybenzoic acid because the two OMe substituents are now in (2,6) C positions relative to the carboxyl group (Fig. 2). Completing the algebra yields $\log K_{\text{COOH}} = 2.82$ for RSU17. Calculated and experimental constants generally coincide within 0.1 to 0.2 log units (SI).

3.4. Results

The $\log K_{\text{H,COOH}}$ values calculated by the substituent approach at 0.1 M ionic strength are 3.64 (HA-S), 3.81 (HA-SS), 3.97 (FA-B), and 3.63 (FA-A). The average is 3.73 ± 0.13 for HA, and 3.80 ± 0.20 for FA. The $\log K_{\text{H,ph-OH}}$ values are 9.67 (HA-S), 9.99 (HA-SS), 10.08 (FA-B), and 9.65 (FA-A), and the averages are 9.83 ± 0.23 (HA) and 9.87 ± 0.31 (FA). Their dependence on ionic strength (I) can be estimated, (i), experimentally from the variation of pK_a with I for model compounds or, (ii), empirically from the Davies equation (Davies, 1962; Stumm and Morgan, 1996):

$$\text{pK}_a(I) = \text{pK}_a(I=0) + 2 \log \gamma_I$$

$$\log \gamma = -AZ^2 \left(\frac{\sqrt{I}}{1+\sqrt{I}} - BI \right)$$

where γ is the activity coefficient, A the Debye-Hückel constant (0.49 at 298 K), Z the ion charge, and B an adjustable parameter between 0.2 and 0.3. Fig. 3a shows that experimental pK_a varies by 0.28 for carboxylates and 0.35 for phenol in the $0 \leq I \leq 2.0$ interval, and is a minimum at $I = 0.5$.

The Davies equation gives the same result (Fig. 3b). From these results:

$$\log K_{\text{H},I} = \log K_{\text{H},I}^{\text{RSU}(I=0.1\text{M})} \pm 0.2$$

The uncertainty is small relative to the heterogeneity of binding properties of humic substances, and the validity of models (e.g., Donnan, Impermeable Sphere; Avena et al., 1999) used to describe electrostatic interactions in titration measurements.

The predicted proton binding constants of carboxylic groups are essentially the same for the four HS models, differing only by a few tenths of log units. In our calculation, the NOM-My model has a lower constant (3.4), but this value should be considered cautiously, if it is even meaningful, because the proportions of the constitutive RSUs in this model are unknown. Also, the RSUs from NOM-My are short-chain carboxylates with higher O/C ratios (0.84 on average) than those in the four macromolecular models (Table 2). This excess of electron acceptor increases the acidity of the

acid-base reactive sites, as shown with gluconic acid (3.44) and its oxygen-depleted analog hexanoic acid (4.63), and with acetoxyacetic (2.81) and methoxyacetic (3.32) acids, and their oxygen-depleted analog acetic acid (4.56). The RSUs identified by IR and NMR are connected in humic and fulvic acids by unsubstituted aliphatic and alicyclic chains (Hay and Myneni, 2007), with the consequence of lowering the O/C ratio of the whole molecule, and thus the acidity of carboxyl groups. The relationship between the O/C ratio and acidity of carboxylates is consistent with the higher measured acidity of FA relative to HA (Table 1). However, this difference is not confirmed by the structural approach since HA has a predicted $\log K_{H,COOH}$ of 3.73 ± 0.13 and FA 3.80 ± 0.20 .

The average predicted acidity of carboxylic groups (3.77 ± 0.20) agrees remarkably well with the average experimental value of 3.83 ± 0.47 for HA+FA calculated from the data by Tipping (1998), Avena et al. (1999), and Ritchie and Perdue (2003) (Table 1). In contrast, the HA (3.09 ± 0.51) and FA (2.65 ± 0.43) values derived from the NICA-Donnan titration model for proton binding to HS (Milne et al., 2001) are abnormally much lower, and thus likely underestimated.

The average predicted basicity of hydroxyl groups (9.85 ± 0.33) coincides with average values reported in the literature (8.84 ± 0.86 for HA, 9.59 ± 0.27 for FA; Table 1), largely because their uncertainty is in most cases at least two times higher than the uncertainty of those for carboxyl groups. The average values derived from the NICA-Donnan model (7.98 ± 0.96 and 8.60 ± 1.06) are again lower. To clarify the reasons for the discrepancy between the NICA-Donnan and predicted $\log K_{H,i}$ values, potentiometric titration data were acquired and simulated separately with the two sets of constants.

4. SIMULATION OF TITRATION DATA

Acid-base titration measurements were performed at $I = 0.1$ M for a *Carex* (CP) and a *Sphagnum* (SP) peat, and their humic acids (HA), fulvic acids (FA), and dissolved organic matter (DOM) fractions. The HA and FA were extracted as proscribed by the International Humic Substance Society (IHSS; Swift, 1996) and DOM according to the method described by Karlsson et al. (2006). The physical and chemical characteristics of the peat samples and the titration experiments are described in the Electronic Annex.

In the NICA-Donnan model, the distribution of proton binding constants resulting from structural heterogeneity of carboxylic and phenolic groups is represented by two pseudo-Gaussians (Benedetti et al., 1996; Kinniburgh et al., 1996; Koopal et al., 2005). In total, titration data are simulated with seven parameters: the two proton binding constants ($\log K_{H,COOH}$, $\log K_{H,ph-OH}$) and their associated distribution widths ($m_{H,COOH}$, $m_{H,ph-OH}$), the densities of proton-binding sites

($Q_{\text{H,COOH}}$, $Q_{\text{H,ph-OH}}$), and an empirical parameter b , which accounts for the dependence of the Donnan volume on ionic strength.

In a first simulation (hereafter referred to as 'Gen' simulation) data were fit by fixing $\log K_{\text{H,COOH}}$, $\log K_{\text{H,ph-OH}}$, and b to their recommended generic values from the NICA-Donnan model (Milne et al., 2001), and optimizing the four other parameters with the FIT code (Kinniburgh et al., 1999). For HA, the three generic constants are 2.93, 8.00, 0.49, and for FA 2.34, 8.60, 0.57, respectively. The DOM data were fit with the HA values because this fraction is 15 times (CP) and 9 times (SP) more abundant than the FA fraction, suggesting that the extracted DOM is predominantly composed of HA. However, using either set of values yielded essentially the same results, thus not changing our conclusions. This first fit strategy provided reasonably good agreement between data and theory, with R^2 values of ≥ 0.991 (Figure 4, Table 4). In a second simulation (referred to as 'Stru' simulation), $\log K_{\text{H,COOH}}$ and $\log K_{\text{H,ph-OH}}$ were fixed to their predicted values (3.73 for HA and 3.83 for FA, and 9.83 for HA and 9.87 for FA), b to its generic value, and the four other parameters best-fit. Thus, the numbers of adjustable parameters were the same in the two approaches. All these fits also gave $R^2 \geq 0.991$.

All datasets are reproduced equally in the two approaches, with all coefficients of determination at least as good and sometimes better than in the original article on the generic NICA-Donnan model ($0.982 \leq R^2 \leq 1.0$; Milne et al., 2001). The $Q_{\text{H},i}$ values are systematically lower in DOM than in HA and FA by a factor of approximately two. If one considers that all fractions have similar proportions of high and low energy binding sites, then DOM has a lower retention capacity than the two solid fractions, meaning that metals are dominantly retained in peat rather than leached out in solution.

There is also a factor of approximately two between $Q_{\text{H},i}$ values of the Gen and Stru simulations since $1.12 < Q_{\text{H,COOH}}(\text{Gen}) < 3.06$, $0.62 < Q_{\text{H,COOH}}(\text{Stru}) < 2.27$, $0.93 < Q_{\text{H,ph-OH}}(\text{Gen}) < 3.70$, and $2.62 < Q_{\text{H,ph-OH}}(\text{Stru}) < 5.99$. However, $Q_{\text{H,COOH}}(\text{Gen}) > Q_{\text{H,COOH}}(\text{Stru})$, but $Q_{\text{H,ph-OH}}(\text{Gen}) < Q_{\text{H,ph-OH}}(\text{Stru})$. This inversion is not observed for $\log K_{\text{H},i}$ as proton binding constants are always higher in the Stru simulations. Thus, the results seem to follow a pattern in the two approaches, with systematic trends among the results from the eight independent titration curves. What is the reason? Conceptually, increasing the difference between the two $\log K_{\text{H},i}$ values causes the fully protonated and deprotonated calculated curves to move apart, and consequently increases Q_{tot} . In other words, $\log K_{\text{H},i}$ and $Q_{\text{H},i}$ are highly correlated in the NICA-Donnan model, as shown in Fig. 5a. Since $\log K_{\text{H},i}$ values were fixed during the Gen and Stru simulations, and the values from the Stru model are closer to literature data (Table 1), the $Q_{\text{H},i}(\text{Stru})$ values are probably more realistic.

The $Q_{\text{tot}}(\text{Stru})$ values for CP-HA (7.63 mmol/g) and SP-HA (6.24 mmol/g) compare well to values predicted from the two HA structure models (5.7 and 8.2 mmol/g, Table 2), whereas the

$Q_{\text{tot}}(\text{Stru})$ values for CP-FA (7.77 mmol/g) and SP-FA (6.51 mmol/g) are much lower than the predicted FA values (12.5 and 11.6 mmol/g, Table 2). This inconsistency can be fixed by increasing b in the fit of FA, because this parameter is highly correlated to Q_{tot} , as shown in Fig. 5b. However, the $Q_{\text{H,COOH}} / Q_{\text{H,ph-OH}}$ ratio is independent of b .

5. CONCLUSION

Predicted proton binding constants derived from the semi-empirical chemical substituent method are consistent with titration data, and more reliable than the recommended generic values from the NICA-Donnan model. Since predicted constants are meaningful, the structure models from which they are derived must be realistic. The RSU approach developed in this work can be applied to other polymers. An example is presented in Figure 6 with lignin, a precursor of humic substances, which has predicted acidity constants of 4.0 and 9.8 in close proximity to those for HA and FA. A major difference between the two types of natural polymers is the absence of aromatic carboxyls in the structure model of lignin, and the predominance of phenolic groups, which are many times more numerous than carboxylic groups (Merdy et al., 2002).

Results also show that the same dataset can be fit with the NICA-Donnan model using variable combinations of $\{\log K_{\text{H},i}, Q_{\text{H},i}\}$ numerical values. Therefore, differences in proton affinities and site densities reported in the literature (Table 1) result partly from the heterogeneity in composition and functionality of HS, and partly from the use of loosely constrained data fits, which obviously differ among studies. Knowing the number of independent parameters in a titration curve is mandatory to make progress on the robustness of acid-base chemical parameters for amphoteric compounds obtained by this technique.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank Tourbières de France (<http://www.tourbieres.com/>) for providing the peat samples. This research was funded by the Association Nationale de la Recherche Technique (ANRT) through the awarding of a Ph.D. fellowship to A. Matynia, and the Région Ile-de-France through the ARITT program (Aide Régionale Ile-de-France à l'Innovation et aux Transferts de Technologie).

APPENDIX A. SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data associated with this article can be found, in the online version, at XXX

REFERENCES

- Alvarez-Puebla R. A., Valenzuela-Calahorro C. and Garrido J. J. (2006) Theoretical study on fulvic acid structure, conformation and aggregation: A molecular modelling approach. *Sci. Tot. Environ.* **358**, 243-254.
- Avena M. J., Koopal L. K. and van Riemsdijk W. H. (1999) Proton binding to humic acids: electrostatic and intrinsic interactions. *J. Coll. Interf. Sci.* **217**, 37-48.
- Benedetti M. F. van Riemsdijk W. H. and Koopal L. K. (1996) Humic substances considered as a heterogeneous Donnan gel phase. *Environ. Sci. Technol.* **30**, 1805-1813.
- Buffle J. A. E. (1977) Les substances humiques et leurs interactions avec les ions minéraux. *Conference Proceedings de la Commission d'Hydrologie Appliquée de l'A.G.H.T.M*, Université d'Orsay.
- Cabaniss S. E. and McVey L. F. (1995) Aqueous infrared carboxylate absorbances: aliphatic monocarboxylates. *Spectrochim. Acta Part A* **51**, 2385-2395.
- Davies C. W. (1962) *Ion Association*. Butterworths.
- Deshmukh A. P., Pacheco C., Hay M. B. and Myneni S. C. B. (2007) Structural environments of carboxyl groups in natural organic molecules from terrestrial systems. Part 2: 2D NMR spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta* **71**, 3533-3544.
- Hay M. B. and Myneni S. C. B. (2007) Structural environments of carboxyl groups in natural organic molecules from terrestrial systems. Part 1: Infrared spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta* **71**, 3518-3532.
- Karlsson T., Persson P. and Skyllberg U. (2006) Complexation of copper(II) in organic soils and in dissolved organic matter - EXAFS evidence for chelate ring structures. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 2623-2628.
- Kinniburgh D. G., Milne C. J., Benedetti M. F., Pinheiro J. P., Filius J., Koopal L. K. and van Riemsdijk W. H. (1996) Metal ion binding by humic acid: application of the NICA-Donnan model. *Environ. Sci. Technol.* **30**, 1687-1698.
- Kinniburgh D. G., van Riemsdijk W. H., Koopal L. K., Borkovec M., Benedetti M. F. and Avena M. J. (1999) Ion binding to natural organic matter: competition, heterogeneity, stoichiometry and thermodynamic consistency. *Coll. Surf. A* **151**, 147-166.
- Koopal L. K., Saito T., Pinheiro J. P. and van Riemsdijk W. H. (2005) Ion binding to natural organic matter: General considerations and the NICA-Donnan model. *Coll. Surf. A* **265**, 40-54.
- Milne C. J., Kinniburgh D. G. and Tipping E. (2001) Generic NICA-Donnan model parameters for proton binding by humic substances. *Environ. Sci. Technol.* **35**, 2049-2059.

- Merdy P., Guillon E., Dumonceau J. and Aplincourt M. (2002) Characterisation of a wheat straw cell wall residue by various techniques. A comparative study with a synthetic and an extracted lignin. *Anal. Chim. Acta*, **459**, 133–142
- Ritchie J. D. and Perdue E. M. (2003) Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter. *Geochim. Cosmochim. Acta* **67**, 85-96.
- Schulten H. R. and Schnitzer M. (1993) A state of the art structural concept for humic substances. *Naturwissenschaften* **80**, 29-30.
- Smith S. M. and Martell A. E. (2004) Critically selected stability constants of metal complexes database. Standard reference database 46, version 8.0, NIST, Gaithersburg.
- Stumm W. and Morgan J.J. (1996) *Aquatic Chemistry*, 3rd edn, Wiley Interscience, New York.
- Stevenson F. J. (1982) *Humus Chemistry: Genesis, composition, reactions*. New York.
- Swift R. S. (1996) Organic Matter Characterization. In *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison.
- Tipping E. (1998) Humic ion-binding model VI: An improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances. *Aquatic. Geochem.* **4**, 3-48.
- Waksman S. A. (1938) *Humus: Origin, chemical compositions, and importance in nature*. Williams and Wilkins, Baltimore.

FIGURE CAPTION

Fig. 1. Structure models for humic and fulvic acids. Circled areas delimit the reactive structural units (RSUs).

Fig. 2. Calculation of the predicted proton binding constant for HA-SS RSU17. Calculations for the other RSUs are given in electronic annex.

Fig. 3. a) Dependence of pK_a on ionic strength as calculated with the Davies equation ($pK_a = 4.0$ at $I = 0$ and $B = 0.27$). b) pK_a for simple organic acids in the $0 \leq I \leq 2.0$ interval from the NIST database. The points are experimental values and the lines are the Davies equations calculated for $b = 0.27$ and the pK_a value of each organic acid at $I = 0$. The experimental dependence of pK_a values on ionic strength is well reproduced theoretically by the Davies equation. In both cases (i.e., theory and measurement), the acidity constant is minimum for $I = 0.5$ and $\Delta pK_a = 0.28$, except for ΔpK_{exp} for phenol (0.35). ph stands for benzene ring.

Fig. 4. Acid-base titration results of *Carex* (CP) and *Sphagnum* (SP) peat, and their humic acids (HA), fulvic acids (FA), and dissolved organic matter (DOM) fractions. Continuous lines are fits with the generic (Gen) and structure (Stru) models. For clarity, data are represented by their standard deviations from independent replicates (i.e., from several aliquots of the same sample).

Fig. 5. Correlations between Q_{tot} and $\log K_{\text{H},i}$ (a), and between Q_{tot} and b (b) in the NICA-Donnan model.

Fig. 6. Calculation of the predicted proton binding constant for lignin. Structure model after Merdy et al. (2002). Circled areas delimit the reactive structural units (RSUs).

Table 1. Compilation of proton binding constants ($\log K_{H,i}$) and site densities ($Q_{H,i}$) for humic and fulvic acids.

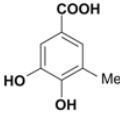
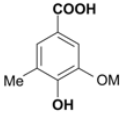
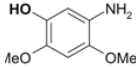
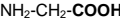
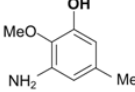
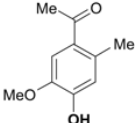
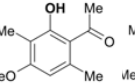
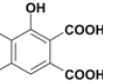
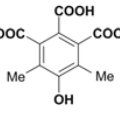
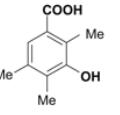

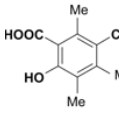
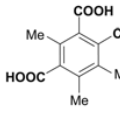
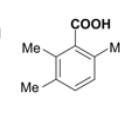
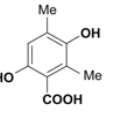
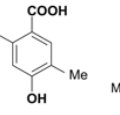
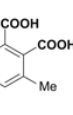
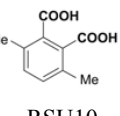
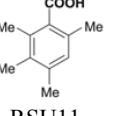
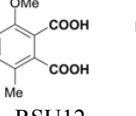
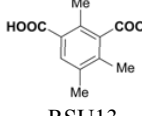
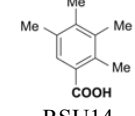
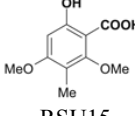
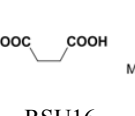
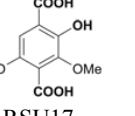
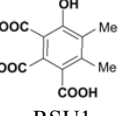
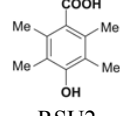

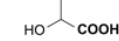
		$\log K_{H,COOH}$	$\log K_{H,ph-OH}$	$Q_{H,COOH}$	$Q_{H,ph-OH}$	Method
Tipping (1998)	HA	4.1 ± 0.4	8.8 ± 0.6	3.3 ± 0.5	1.7 ± 0.30	Titration
	FA	3.2 ± 0.4	9.4 ± 1.8	4.8 ± 0.7	2.4 ± 0.35	
Avena et al. (1999)	HA	4.0 ± 0.5	8.0 ± 0.5	-	-	Titration
Milne et al. (2001)	HA	3.09 ± 0.51	7.98 ± 0.96	3.17 ± 0.89	2.66 ± 1.37	Titration
	FA	2.65 ± 0.43	8.60 ± 1.06	5.66 ± 1.25	2.57 ± 1.94	
Ritchie and Perdue (2003)	HA	4.38 ± 0.26	9.72 ± 0.46	7.97 ± 3.11	1.31 ± 0.50	Titration
	FA	3.80 ± 0.22	9.78 ± 0.96	13.6 ± 1.60	1.23 ± 0.38	
Average ^a	HA	3.89 ± 0.56	8.62 ± 0.83	-	-	Titration
	FA	3.22 ± 0.58	9.26 ± 0.61	-	-	
Average ^b	HA	4.16 ± 0.20	8.84 ± 0.86	-	-	Titration
	FA	3.50 ± 0.43	9.59 ± 0.27	-	-	
Cabaniss and McVey (1995)	HA	3.4 ± 0.1	-	-	-	Infrared spectroscopy
	FA					


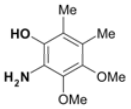


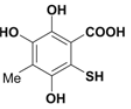



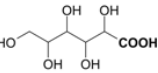


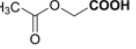


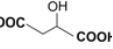
^a Average from all data by Tipping (1988), Avena et al. (1999), Milne et al. (2001), and Ritchie and Perdue (2003). ^b Average, without data by Milne et al. (2001). Q values have units of mmol/g_{dw}.

Table 2. Chemical characteristics of structure models for humic and fulvic acids.

	$\frac{O}{C}$	$\frac{C_{\text{aro}}}{C_{\text{ali}}}$	$\frac{COOH_{\text{aro}}}{COOH_{\text{ali}}}$	$\frac{OH_{\text{aro}}}{OH_{\text{ali}}}$	$\frac{COOH_{\text{aro}}}{C_{\text{aro}}}$	$\frac{OH_{\text{aro}}}{C_{\text{aro}}}$	$\frac{COOH_{\text{tot}}}{C_{\text{tot}}}$	$\frac{OH_{\text{aro}}}{C_{\text{tot}}}$	$Q_{\text{H,COOH}}$ mmol/g	$Q_{\text{H,ph-OH}}$ mmol/g	Q_{tot} mmol/g
HA-S											
$C_{73}H_{49}N_3O_{32}$	0.44	1.36	4.0	-	0.095	0.19	0.068	0.11	3.4	4.8	8.2
HS-SS											
$C_{368}H_{501}N_{23}O_{89}$	0.24	0.57	4.8	1.14	0.179	0.06	0.078	0.021	4.5	1.2	5.7
FA-B											
$C_{27}H_{26}O_{18}$	0.66	0.59	2.0	1.0	0.40	0.20	0.22	0.074	9.4	3.1	12.5
FA-A											
$C_{37}H_{35}NO_{32}S$	0.86	0.32	0.2	0.50	0.083	0.33	0.16	0.11	6.8	4.8	11.6

Table 3. Reactive structural units and calculated proton binding constants at 0.1 M ionic strength of the structure models for humic and fulvic acids.

HA-S (Stevenson, 1982)									
									
	RSU1	RSU2	RSU3	RSU4	RSU5	RSU6	RSU7	RSU8	
$\log K_{H,COOH}$	4.45	4.33	NC	2.33 ^a	NC	NC	NC	3.45	
$\log K_{H,OH}$	9.07	9.47	10.18	NC	10.32	8.35	10.61	14.7 ^b	
Multiplicity	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	$\log K_{H,COOH}=3.64$				$\log K_{H,OH}=9.67$				
HA-SS (Schulten and Schnitzer, 1993)									
									
	RSU1	RSU2	RSU3	RSU4	RSU5	RSU6	RSU7	RSU8	RSU9
$\log K_{H,COOH}$	4.32	3.99	4.56 ^a	3.07	3.51	3.31 ^a	2.97	4.35	4.08
$\log K_{H,OH}$	9.472	10.72	NC	13.47 ^b	NC	NC	11.28 ^b	9.78	NC
Multiplicity	1	1	3	1	1	1	1	1	1
									
	RSU10	RSU11	RSU12	RSU13	RSU14	RSU15	RSU16	RSU17	
$\log K_{H,COOH}$	3.82	3.47 ^a	3.76	3.61	4.00 ^a	2.99	4.62 ^a	2.82	
$\log K_{H,OH}$	NC	NC	NC	NC	NC	13.23 ^b	NC	13.59 ^b	
Multiplicity	1	1	1	1	1	1	1	1	
Average	$\log K_{H,COOH}=3.81$				$\log K_{H,OH}=9.99$				
FA-B (Buffle, 1977)									
									
	RSU1	RSU2	RSU3	RSU4					

$\log K_{H,COOH}$	3.87	3.76	4.56 ^a	3.67 ^a				
$\log K_{H,OH}$	13.17 ^b	10.08	NC	NC				
Multiplicity	1	1	1	1				
Average		$\log K_{H,COOH}=3.97$		$\log K_{H,OH}=10.08$				
FA-A (Alvarez-Puebla et al., 2006)								
								
	RSU1	RSU2	RSU3	RSU4	RSU5	RSU6	RSU7	
$\log K_{H,COOH}$	2.26 ^a	NC	4.09 ^a	3.67 ^a	2.37	4.40 ^a	3.32 ^a	
$\log K_{H,SH}$	NC	NC	NC	NC	8.96	NC	NC	
$\log K_{H,OH}$	NC	10.86 ^b	NC	NC	10.33	NC	NC	
$\log K_{H,NH2}$	NC	5.27	NC	NC	NC	NC	NC	
Multiplicity	1	1	1	1	1	1	1	
Average		$\log K_{H,COOH}=3.63$		$\log K_{H,OH}=9.65$				
NOM-My (Deshmukh and Myneni, 2007; Hay and Myneni, 2007)								
								
	Lactic acid	Gluconic acid	Malonic acid	methoxyacetic acid	Acetoxyacetic acid	Salicylic acid	2-furoic acid	Malic acid
$\log K_{H,COOH}$	3.67	3.44	3.96 ^c	3.32	2.81	2.80	2.98	3.96 ^c
$\log K_{H,OH}$	NC	NC	NC	NC	NC	13.4 ^b	NC	NC
Multiplicity	1	1	1	1	1	1	1	1
Average		$\log K_{H,COOH}= 3.37$		$\log K_{H,OH}= NC$				

^a Reference from NIST database (Smith and Martell, 2004). ^b Value excluded from the calculation. The cutoff for $\log K_{H,OH}$ was set at 10.80. For this value, one third of hydroxyl groups are deprotonated at pH 10.5, which is the upper limit of titration measurements. ^c Average of the $\log K_{H,COOH}$ for the two groups. NC: Not calculated.

Table 4. Optimal parameter values from titration data.

	Model	b^a	$Q_{H,COOH}$	$\log K_{H,COOH}^b$	$m_{H,COOH}$	$Q_{H,ph-OH}$	$\log K_{H,ph-OH}^b$	$m_{H,ph-OH}$	R^{2c}	Q_{tot}
CP	Stru	0.49	2.00	3.73	0.19	4.81	9.83	0.29	0.991	6.81
	Gen		3.06	2.93	0.15	1.72	8.00	0.64	0.991	4.78
SP	Stru	0.49	0.96	3.73	0.76	3.74	9.83	0.36	0.997	4.70
	Gen		1.66	2.93	0.38	1.12	8.00	0.70	0.997	2.78
CP-HA	Stru	0.49	1.64	3.73	0.87	5.99	9.83	0.26	0.997	7.63
	Gen		2.00	2.93	0.32	2.45	8.00	0.35	0.997	4.45
SP-HA	Stru	0.49	1.44	3.73	0.46	4.80	9.83	0.24	0.999	6.24
	Gen		3.03	2.93	0.36	2.14	8.00	0.53	0.999	5.17
CP-FA	Stru	0.57	2.27	3.80	0.32	5.50	9.87	0.20	0.996	7.77
	Gen		3.00	2.34	0.25	3.50	8.60	0.22	0.996	6.50
SP-FA	Stru	0.57	1.80	3.80	0.41	4.71	9.87	0.23	0.996	6.51
	Gen		2.10	2.34	0.31	3.70	8.60	0.24	0.996	5.80
CP-DOM	Stru	0.49	0.62	3.73	0.45	2.62	9.83	0.28	0.999	3.24
	Gen		1.12	2.93	0.27	0.93	8.00	0.57	0.999	2.05
SP-DOM	Stru	0.49	0.98	3.73	0.75	2.87	9.83	0.32	0.999	3.85
	Gen		1.47	2.93	0.45	1.09	8.00	0.54	0.999	2.56

^a All values fixed to those of the generic NICA-Donnan model. ^b Values fixed to those of the structure (Stru) or generic (Gen) model. ^c Merit of fit as in Kinniburgh et al. (1999). $b = (\log V_D)/(1-\log I)$, with V_D the Donnan volume (Kinniburgh et al., 1996). $m_{H,i}$ is a measure of the apparent distribution of $K_{H,i}$ values. $Q_{H,i}$, the site densities, have units of mmol_c/g_{dw}.

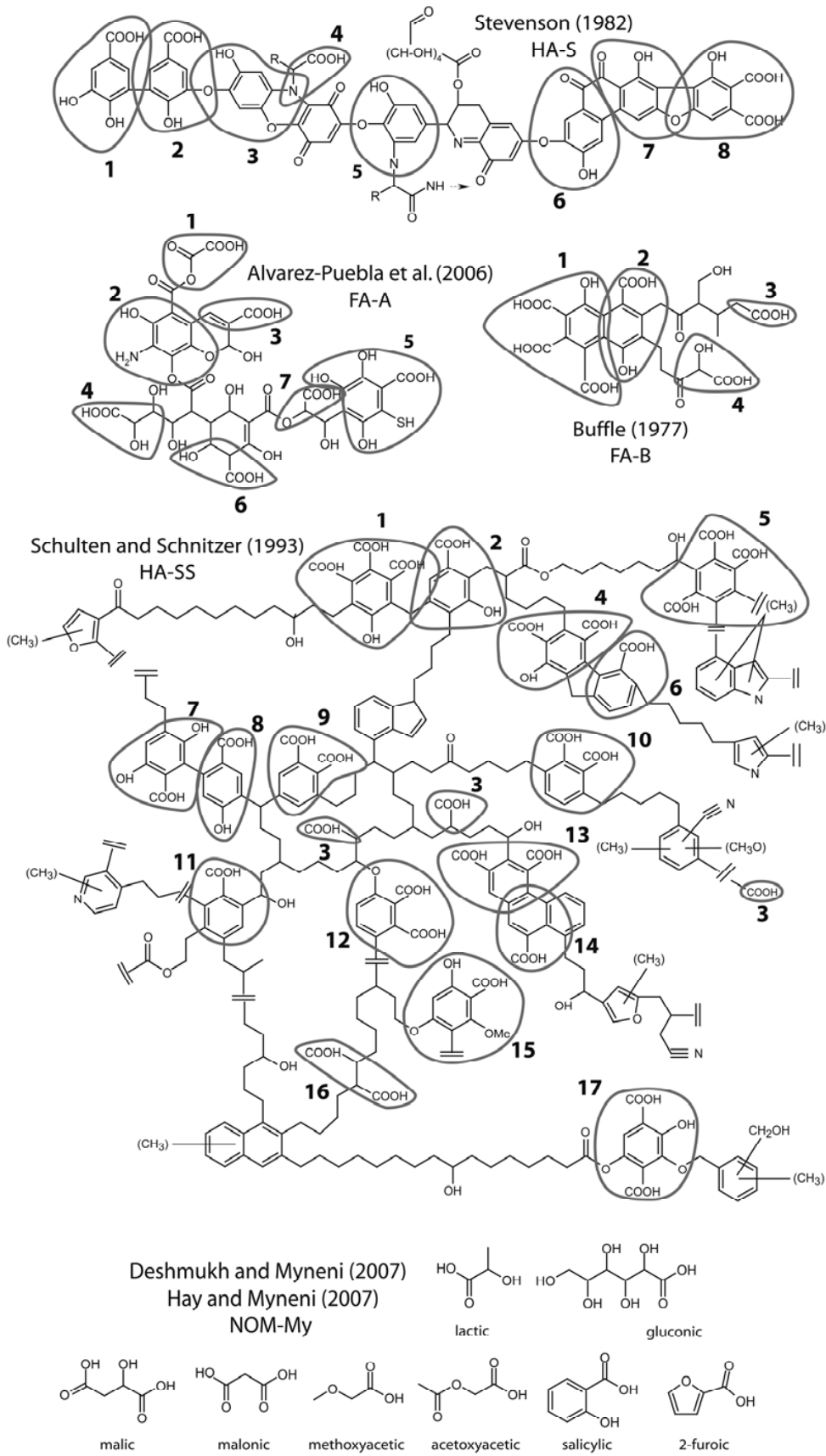


Figure 1

3

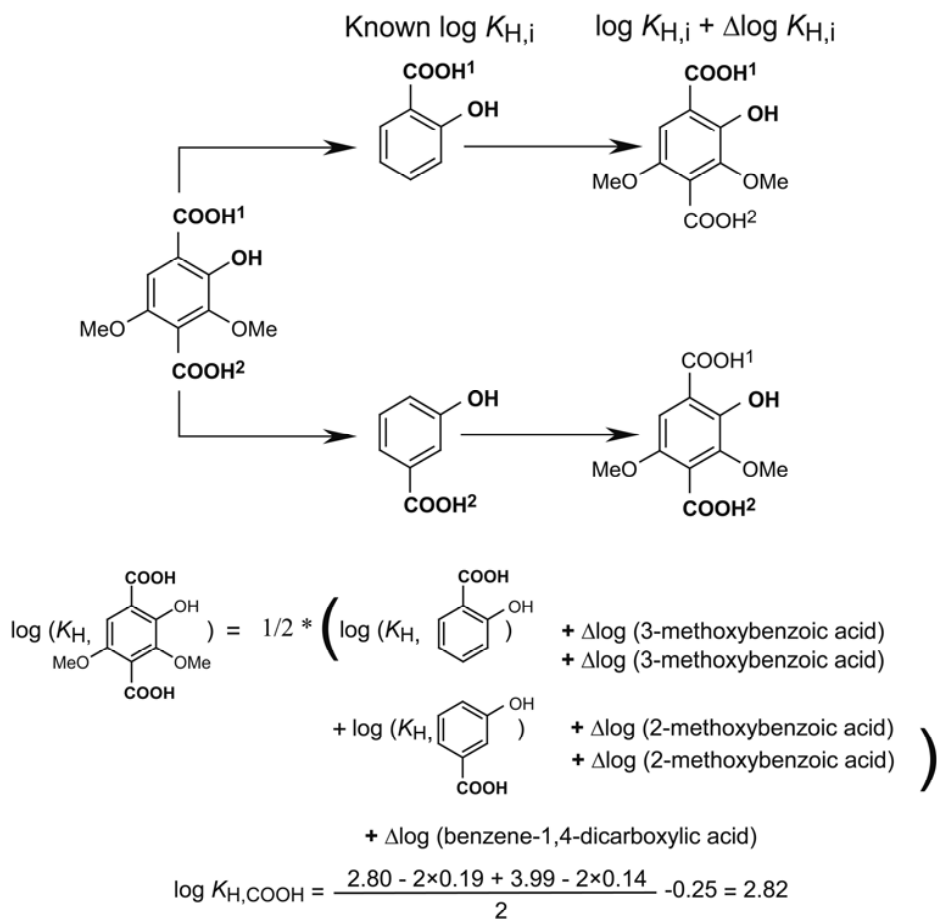


Figure 2

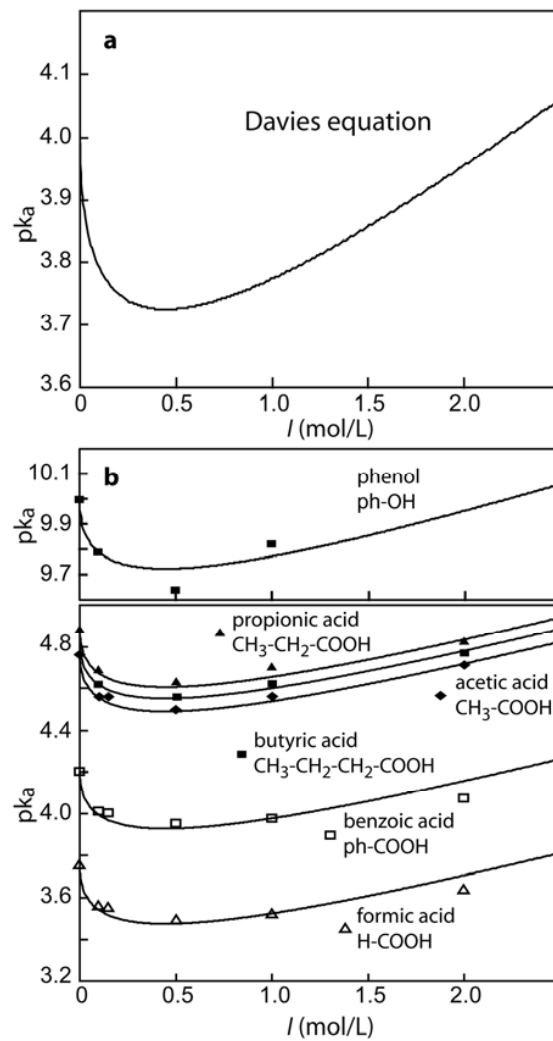


Figure 3

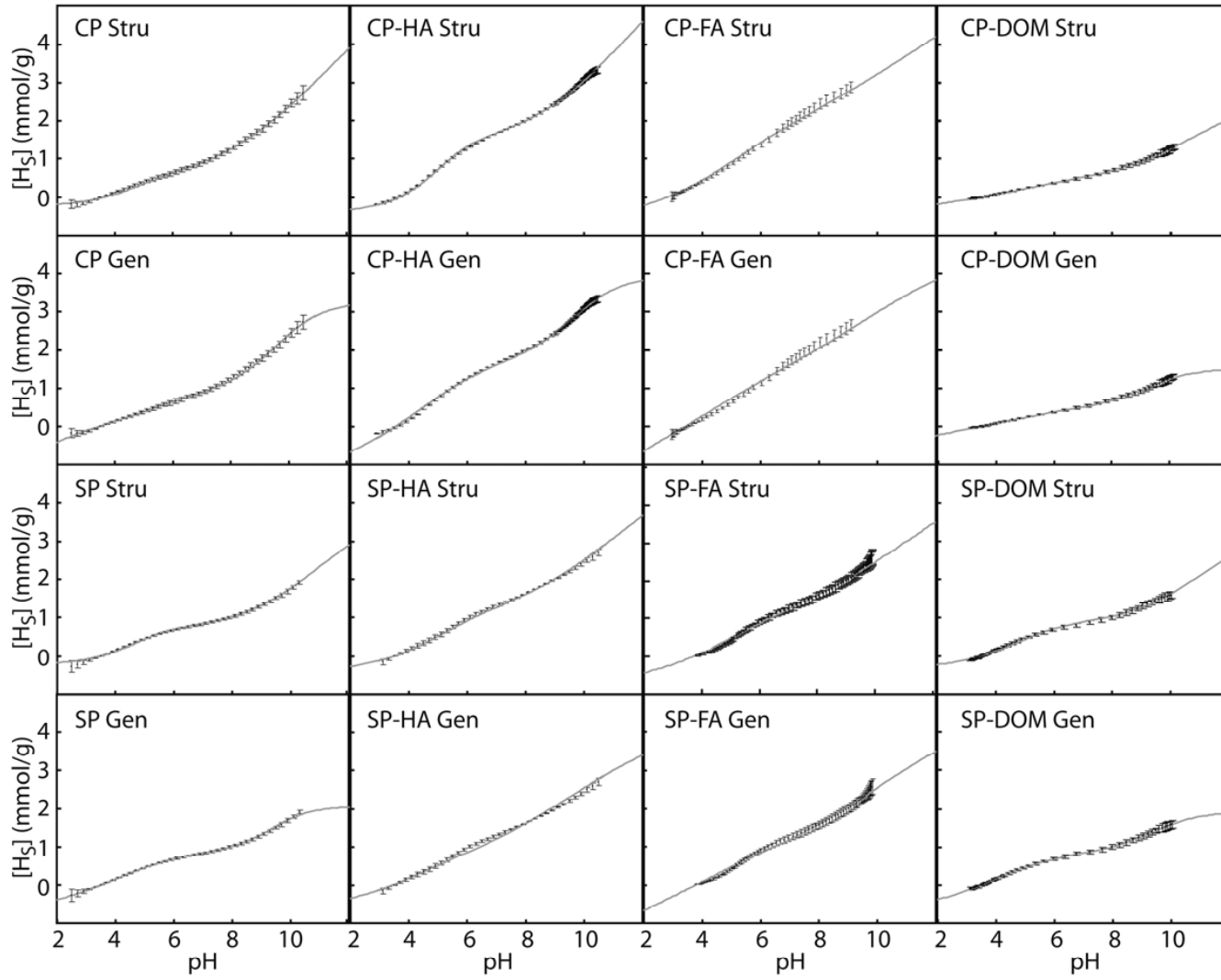


Figure 4

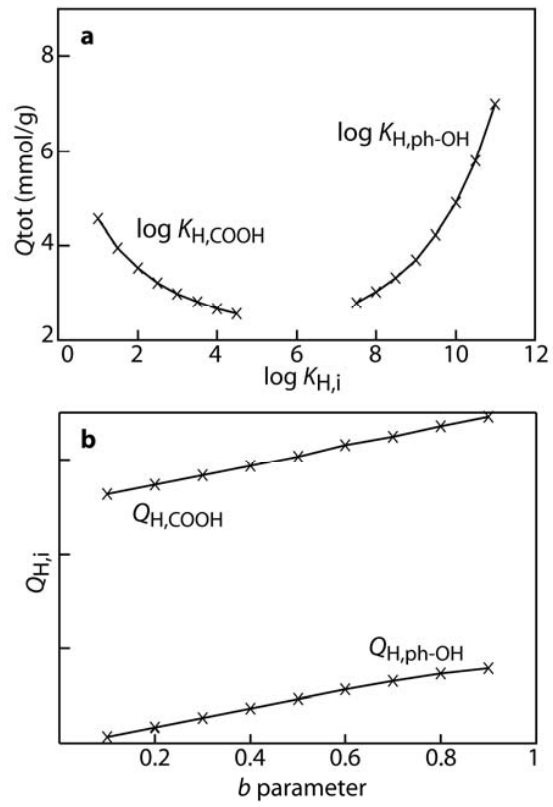


Figure 5

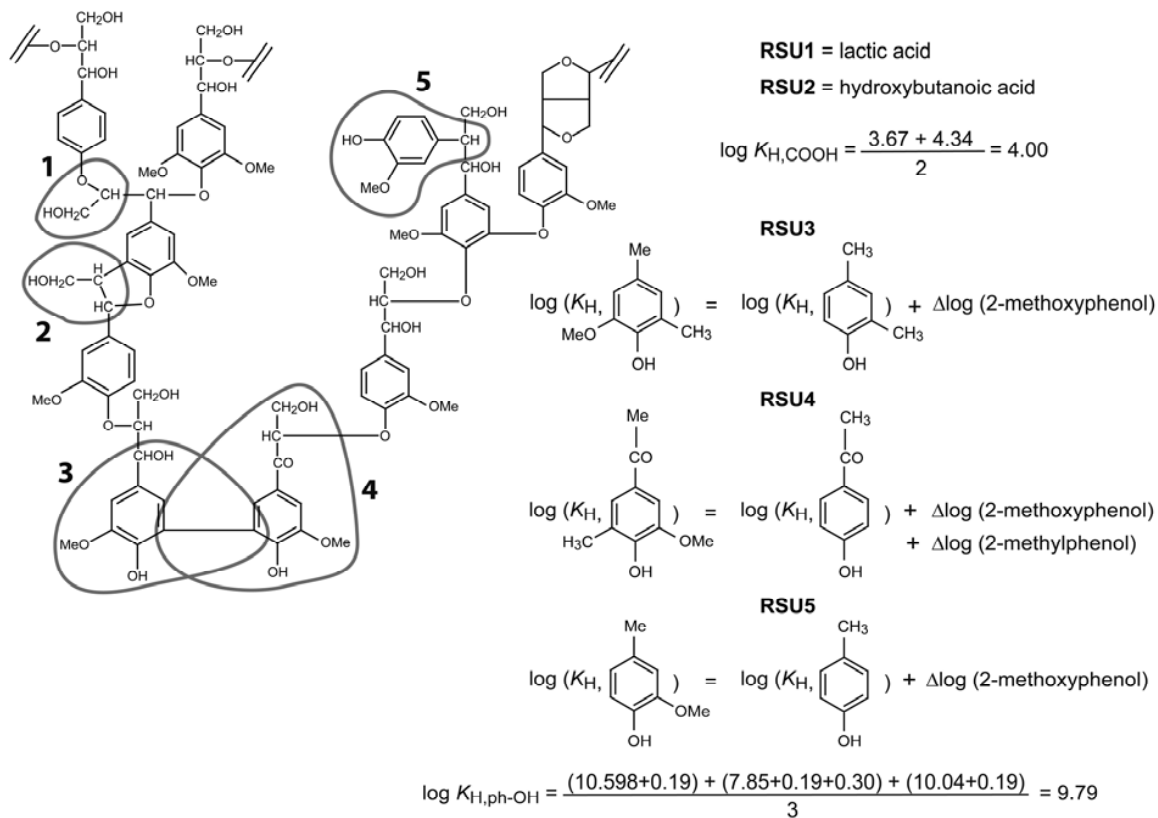


Figure 6

Electronic Annex

Semi-empirical proton binding constants for natural organic matter

Anthony Matynia^{1,2}, Thomas Lenoir¹, Benjamin Causse^{3,4}, Lorenzo Spadini³, Thierry Jacquet², and
Alain Manceau¹

¹ Mineralogy & Environments Group, LGCA, Université Joseph Fourier and CNRS, 38041
Grenoble Cedex 9 France

² Phytorestore – Site et Concept, 7 impasse Milord, 75018 Paris, France

³ Environmental Geochemistry Group, LGIT, Université Joseph Fourier and CNRS, 38041
Grenoble cedex 9 France

⁴ LSE-ENTPE, Université de Lyon, 69518 Vaulx-en-Velin cedex, France

1. CALCULATION OF $\Delta \text{LOG } K_{H,i}$

This calculation quantifies mesomeric and inductive effects of a substituent on the $\log K_{H,i}$ of a six-carbon aromatic ring. It varies with the type and position of the substituent on the ring. Adjusted values were calculated for carboxyl, hydroxyl, methoxy, methyl, amine, and thiol functional groups attached in ortho, meta, and para positions on the ring, and then combined to calculate the unknown proton dissociation constants of the reactive structural units (RSUs).

1.1. Carboxyl group

The $\Delta \log K_{H,\text{COOH}}$ value for substituent A (A = hydroxyl, methoxy, and methyl) was obtained by subtracting the constant of benzoic acid ($\log K_{H,\text{COOH}} = 4.01$) from that of the A-substituted species (Table EA-1).

(i) Hydroxyl substituent. The $\log K_{H,\text{COOH}}$ of 2-, 3-, and 4-hydroxybenzoic acids are shifted by -1.21, -0.02, and 0.36 log units relative to benzoic acid, respectively. Consideration of chemically

complex ligands, with known acidity constants, show that $\Delta \log K_{H,COOH}$ values can be approximated as additive. For example, $\log K$ for 2, 3, 4-trihydroxybenzoic is 3.02, and the predicted value obtained by adding $\Delta \log K_{H,COOH}$ for 2-, 3- and 4-hydroxybenzoic acid to $\log K_{H,COOH}$ of benzoic acid is $4.01 - 1.21 - 0.02 + 0.36 = 3.14$.

(ii) Methoxy (ph-O-CH₃) substituent. The $\log K_{H,COOH}$ of 2-, 3-, and 4-methoxybenzoic acids are shifted by -0.14, -0.19 and 0.25 log units relative to benzoic acid, respectively. The additivity rule also applies for this substituent. For example, the acidity constant of 2,3-dimethoxybenzoic acid is 3.50, and the predicted value obtained by adding $\Delta \log K_{H,COOH}$ for 2- and 3- methoxybenzoic acid to $\log K_{H,COOH}$ of benzoic acid is $4.01 - 0.14 - 0.19 = 3.68$.

(iii) Methyl substituent. The $\log K_{H,COOH}$ for 2- or 3- or 4-methylbenzoic acids are shifted by -0.10, 0.27, and 0.37 log units relative to benzoic acid, respectively. Predicted and experimental constants for benzoic acids with several -CH₃ substituents differ by more than 0.2 log units. From the cross-comparison with more complex ligands, the values retained for this substituent are -0.40, 0.15, and 0.25. With these values, 2,3,4,6- tetramethylbenzoic acid has an experimental constant of 3.47 and a predicted constant of $4.01 - 0.40 + 0.15 + 0.25 - 0.40 = 3.61$. Deviation from the additivity rule for this substituent has little impact on the predicted acidity constants of HA and FA because most methyl-substituted benzoic acid reactive structural units are referenced in the NIST database.

(iv) Carboxyl substituent. Since di- and tri-carboxylates are polyacids, their mean acidities were used in the calculations. The shift for 1,2- and 1,3-di-carboxylic acids is $3.84 - 4.01 = -0.17$ relative to benzoic acid, and for 1,4-di-carboxylic acid is $3.76 - 4.01 = -0.25$ log units. The validity of the additivity rule for a second carboxyl substituent can be verified only with 4-methylbenzene-1,2-dicarboxylic acid, because the NIST database contains only one acid with four dicarboxylates. Its average acidity constant is 4.15 and the predicted constant is $4.01 - 0.17 + 0.25 = 4.09$. The known constants of the three tricarboxylic acid isomers (1,2,3; 1,2,4; 1,3,5) are 3.99, 3.71, and 3.74, and their $\Delta \log K_{H,COOH}$ values -0.02, -0.30, and -0.27 log units (Table EA-1).

1.2. Other functional groups (-OH, -NH₂ or -SH)

The $\Delta \log K_{H,OH}$, $\Delta \log K_{H,NH_2}$, and $\Delta \log K_{H,SH}$ values were calculated by taking phenol ($\log K_{H,OH} = 9.79$), aniline ($\log K_{H,NH_2} = 4.64$) and benzenethiol ($\log K_{H,SH} = 6.46$) as references.

Table EA-1. $\Delta \log K_{H,i}$ values used for the calculation of proton binding constants by the chemical substituent approach.

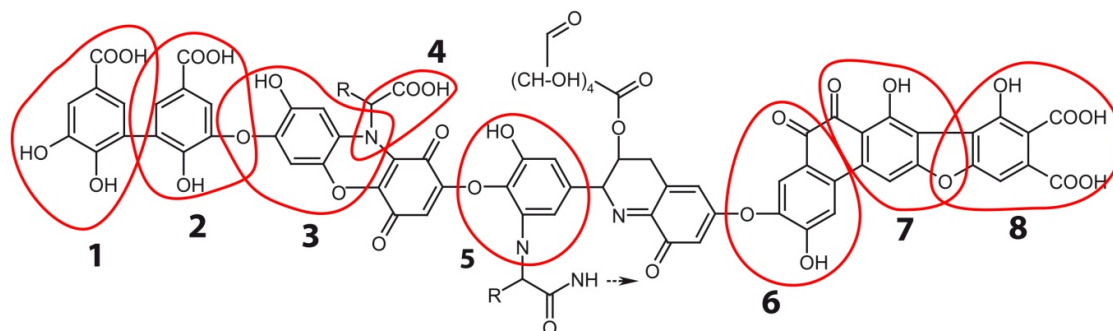
Missing substituent	$\Delta \log K_{H,COOH}$	Missing substituent	$\Delta \log K_{H,OH}$
2-hydroxybenzoic acid	-1.21	2-methylphenol	0.30
3-hydroxybenzoic acid	-0.02	3-methylphenol	0.30
4-hydroxybenzoic acid	0.36	4-methylphenol	0.25
2-methoxybenzoic acid	-0.14	2-hydroxyphenol ^a	-0.53
3-methoxybenzoic acid	-0.19	3-hydroxyphenol ^b	0.39
4-methoxybenzoic acid	0.25	4-hydroxyphenol ^b	0.83
2-methylbenzoic acid	-0.40	2-carboxylicphenol ^c	3.61
3-methylbenzoic acid	0.15	3-carboxylicphenol	-0.17
4-methylbenzoic acid	0.25	4-carboxylicphenol	-0.81
Benzene-1,2-dicarboxylic acid	-0.17	2-methoxyphenol	0.19
Benzene-1,3-dicarboxylic acid	-0.17	3-methoxyphenol	0.07
Benzene-1,4-dicarboxylic acid	-0.25	4-methoxyphenol	0.17
Benzene-1,2,3-tricarboxylic acid	-0.02	2-mercaptobenzoic	-0.55
Benzene-1,2,4-tricarboxylic acid	-0.30	2-aminophenol	0.08
Benzene-1,3,5-tricarboxylic acid	-0.27	3-aminophenol	0.03
		1,2,4-trihydroxyphenol ^d	0.41
		2-acetylphenol	0.15
		4-acetylphenol	-1.94

Missing substituent	$\Delta \log K_{H,SH}$	Missing substituent	$\Delta \log K_{H,NH2}$
2-methoxybenzenethiol	0.43	2-hydroxyaniline	0.10
3-methoxybenzenethiol	-0.08	3-methylaniline	0.26
4-methoxybenzenethiol	0.32	2-methoxyaniline	0.08
3-carboxylicbenzenethiol	1.63	3-methoxyaniline	-0.26

^a Only one binding constant has been considered, because the second is questionable (13.3). ^b Average of the two binding constants. ^c This value is questionable (occurs in parenthesis in the NIST database), thus the effect of adjacent COOH on the acidity of OH was dismissed. ^d Two constants considered, because the third is questionable.

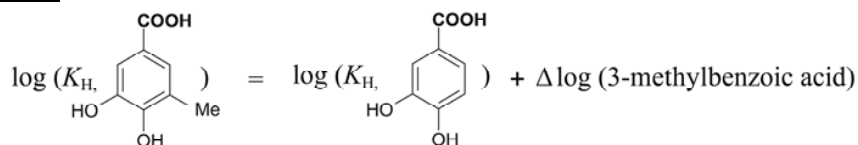
2. CALCULATIONS OF $\log K_{H,i}^{RSU}$ VALUES

2.1. HA-S model



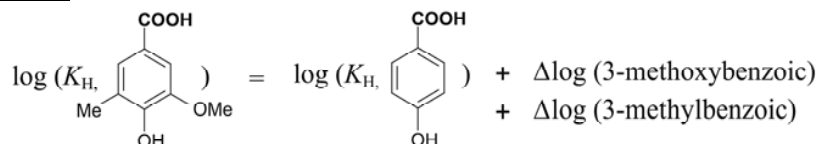
2.1.1. $\log K_{H,COOH}$

RSU1



$$\log K_{H, \text{COOH}} = 4.30 + 0.15 = 4.45$$

RSU2

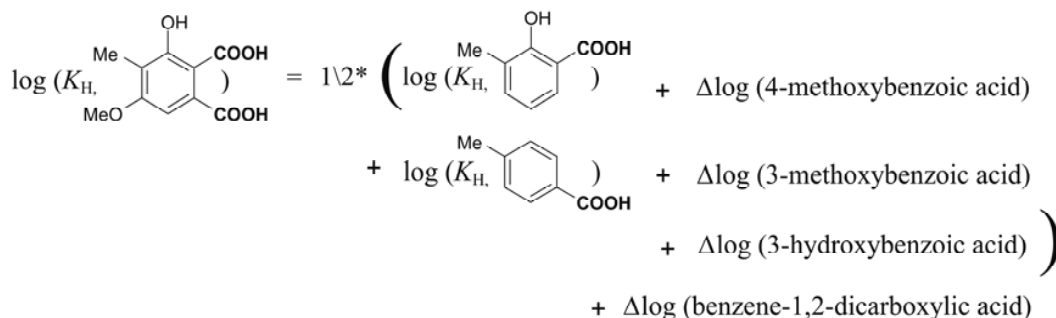


$$\log K_{H, \text{COOH}} = 4.37 - 0.19 + 0.15 = 4.33$$

RSU4

Same structure as glycine (2.33).

RSU8



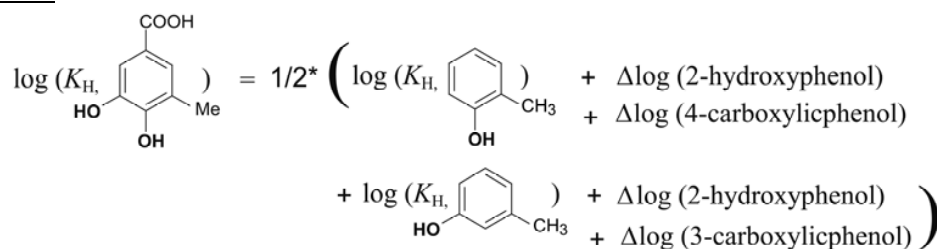
$$\log K_{H, \text{COOH}} = \frac{2.83 + 0.25 + 4.37 - 0.19 - 0.02}{2} - 0.17 = 3.45$$

Average

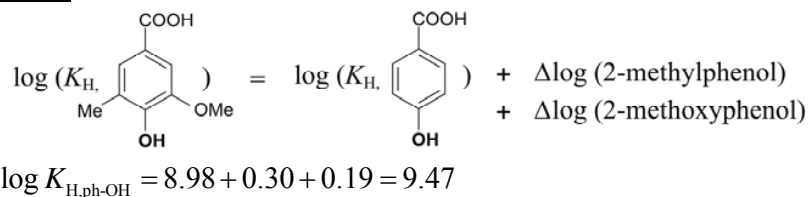
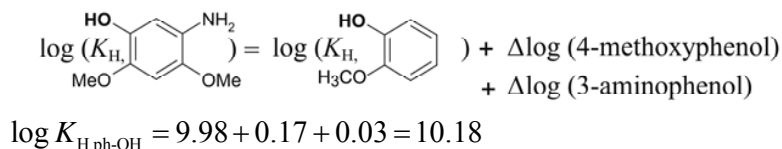
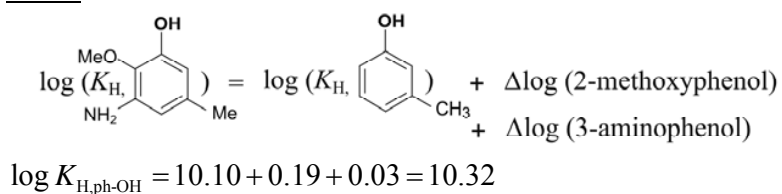
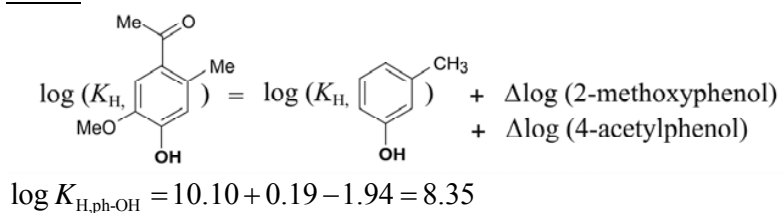
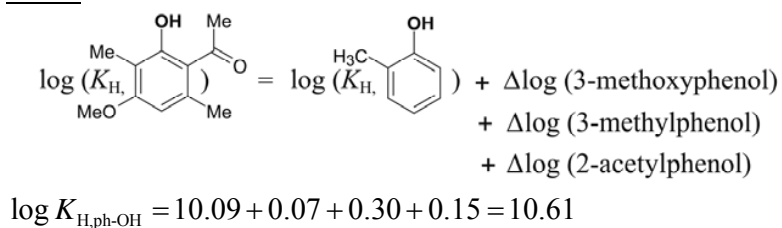
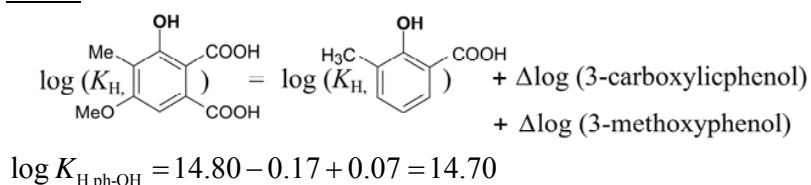
$$\log K_{H, \text{COOH}} = \frac{4.45 + 4.33 + 2.33 + 3.45}{4} = 3.64$$

2.1.2. log $K_{H, \text{ph-OH}}$

RSU1



$$\log K_{H, \text{ph-OH}} = \frac{10.09 - 0.53 - 0.81 + 10.10 - 0.53 - 0.17}{2} = 9.07$$

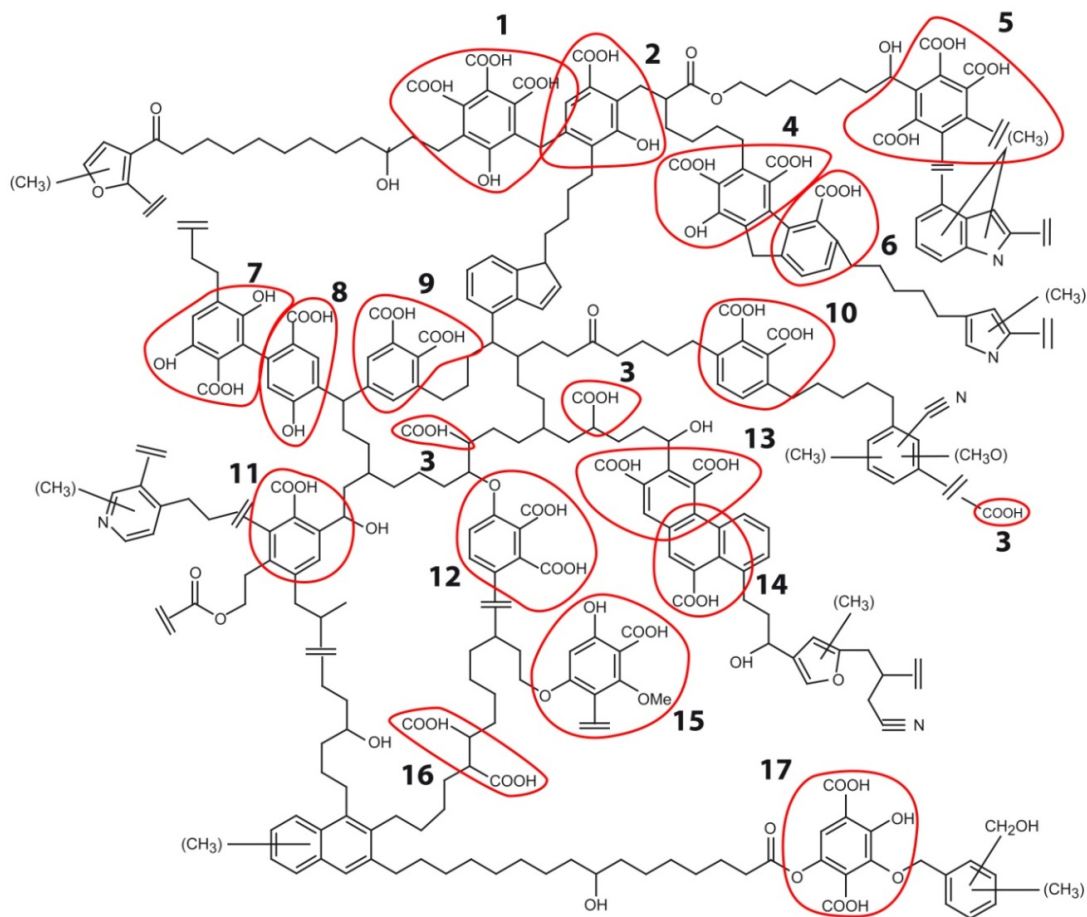
RSU2

RSU3

RSU5

RSU6

RSU7

RSU8


This value is too high (i.e., above the cutoff set at 10.80) and was dismissed in the calculation of the average.

Average

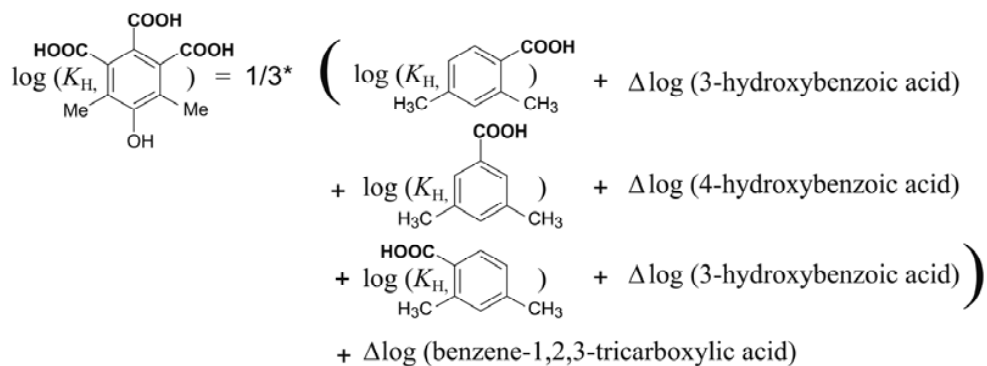
$$\log K_{H,ph-OH} = \frac{9.07 + 9.47 + 10.18 + 13.32 + 8.35 + 10.61}{6} = 9.67$$

2.2. HA-SS model

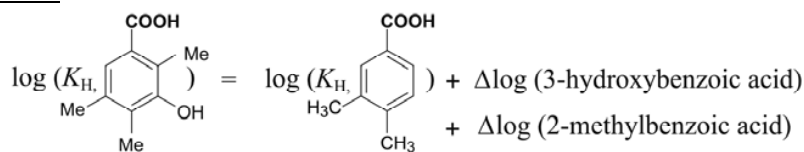


2.2.1. $\log K_{H,COOH}$

RSU1



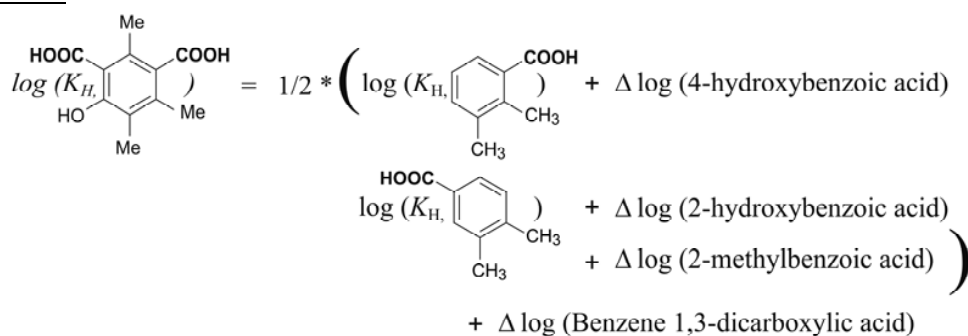
$$\log K_{H,COOH} = \frac{4.20 - 0.02 + 4.31 + 0.36 + 4.20 - 0.02}{3} - 0.02 = 4.32$$

RSU2


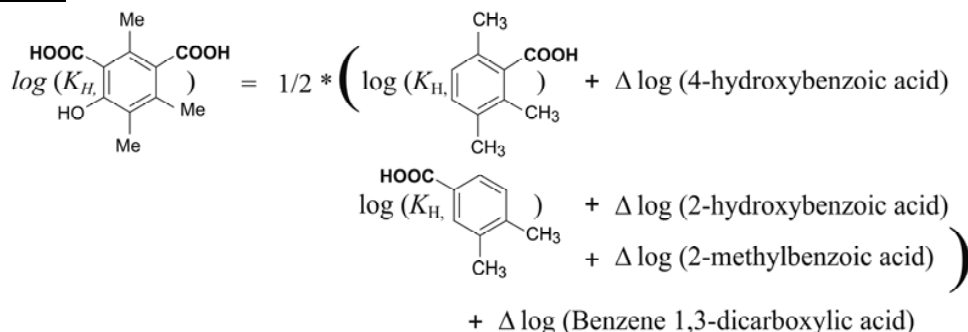
$$\log K_{H, \text{COOH}} = 4.41 - 0.40 - 0.02 = 3.99$$

RSU3

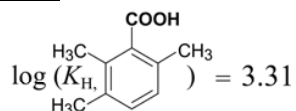
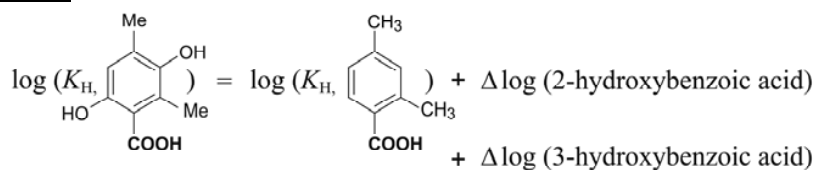
Same structure as acetic acid (4.56)

RSU4


$$\log K_{H, \text{COOH}} = \frac{3.31 + 0.36 + 4.41 - 0.40 - 1.21}{2} - 0.17 = 3.07$$

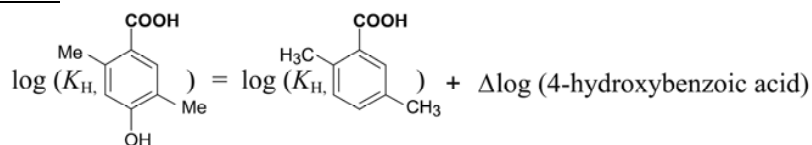
RSU5


$$\log K_{H, \text{COOH}} = \frac{3.73 + 0.15 + 3.99 + 0.25 + 3.31}{3} - 0.30 = 3.51$$

RSU6

RSU7


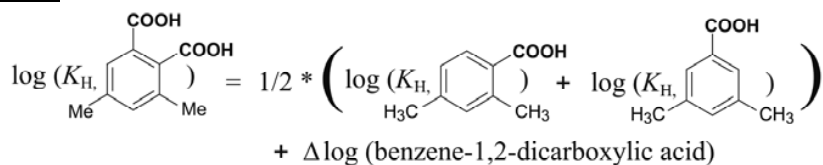
$$\log K_{H,COOH} = 4.20 - 1.21 - 0.02 = 2.97$$

RSU8



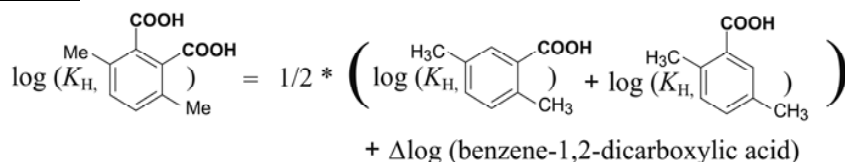
$$\log K_{H,COOH} = 3.99 + 0.36 = 4.35$$

RSU9



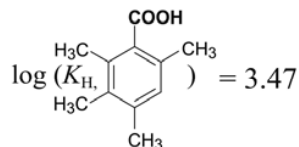
$$\log K_{H,COOH} = \frac{4.31 + 4.20}{2} - 0.17 = 4.08$$

RSU10

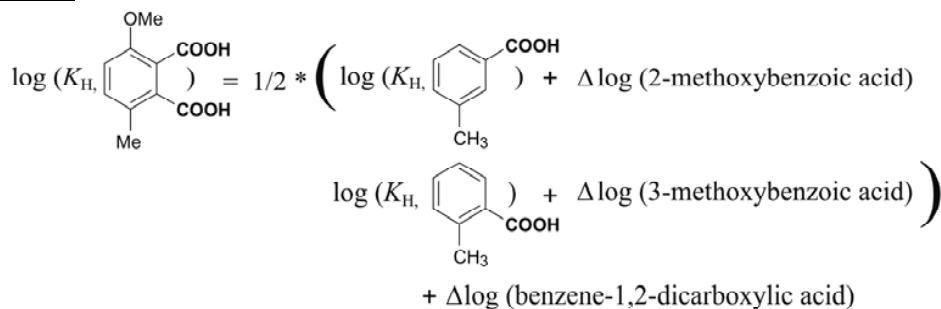


$$\log K_{H,COOH} = \frac{3.99 + 3.99}{2} - 0.17 = 3.82$$

RSU11

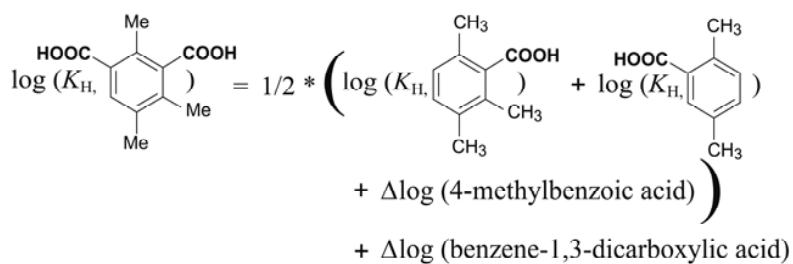


RSU12

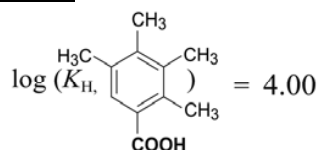
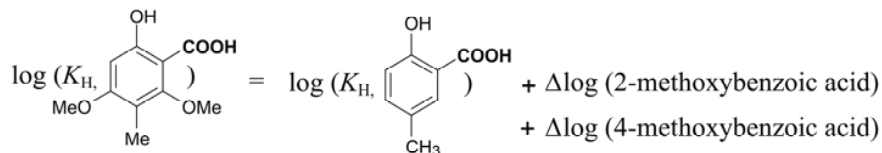


$$\log K_{H,COOH} = \frac{4.27 - 0.14 + 3.91 - 0.19}{2} - 0.17 = 3.76$$

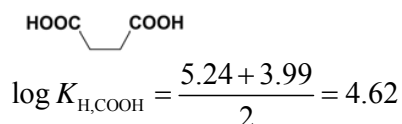
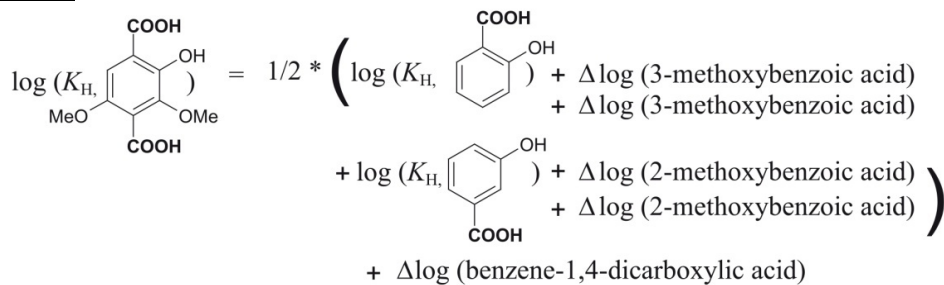
RSU13



$$\log K_{H, \text{COOH}} = \frac{3.31 + 3.99 + 0.25}{2} - 0.17 = 3.61$$

RSU14

RSU15


$$\log K_{H, \text{COOH}} = 2.88 - 0.14 + 0.25 = 2.99$$

RSU16

RSU17


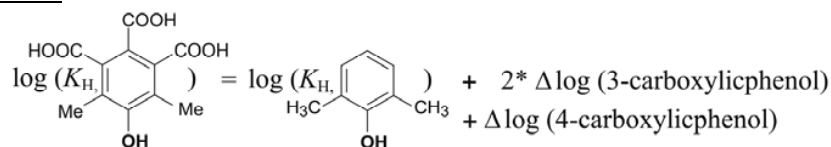
$$\log K_{H, \text{COOH}} = \frac{2.80 - 0.19 - 0.19 + 3.99 - 0.14 - 0.14}{2} - 0.25 = 2.82$$

Average

$$\log K_{H, \text{COOH}} = \frac{4.32 + 3.99 + 4.56 \times 3 + 4.62 + 3.07 + 3.51 + 3.31 + 2.97 + 4.35 + 4.08 + 3.82 + 3.47 + 3.76 + 3.61 + 4.00 + 2.99 + 2.82}{19} = 3.81$$

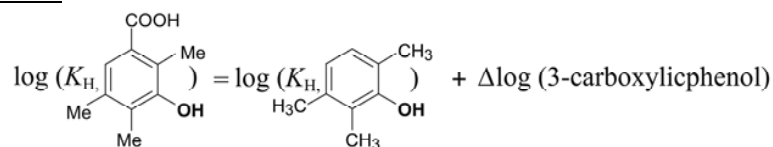
2.2.2. $\log K_{H,ph-OH}$

RSU1



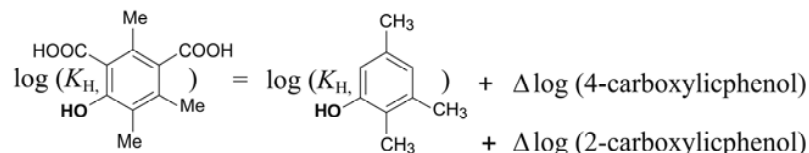
$$\log K_{H,ph-OH} = 10.62 - 2 \times 0.17 - 0.81 = 9.47$$

RSU2



$$\log K_{H,ph-OH} = 10.89 - 0.17 = 10.72$$

RSU4

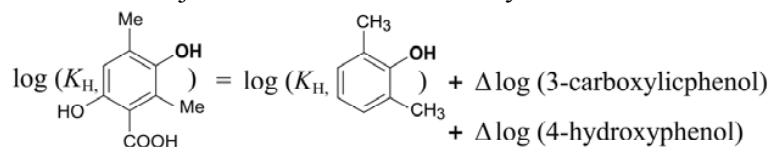


$$\log K_{H,ph-OH} = 10.67 - 0.81 + 3.61 = 13.47$$

This value was dismissed.

RSU7

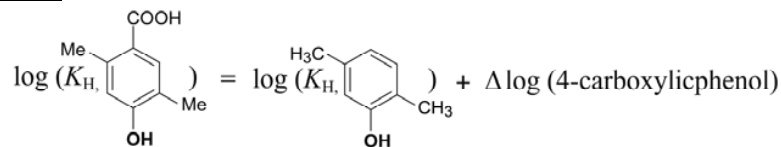
The effect of adjacent COOH on the acidity of OH was not considered.



$$\log K_{H,ph-OH} = 10.62 - 0.17 + 0.83 = 11.28$$

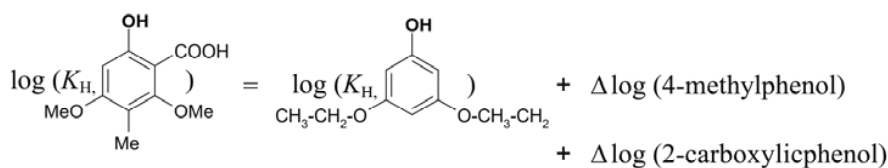
This value was dismissed.

RSU8



$$\log K_{H,ph-OH} = 10.60 - 0.81 = 9.79$$

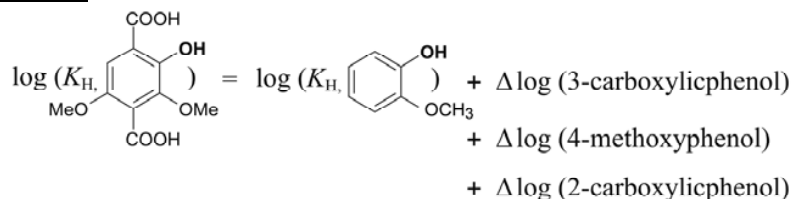
RSU15



$$\log K_{H, \text{ph-OH}} = 9.37 + 0.25 + 3.61 = 13.23$$

This value was dismissed.

RSU17

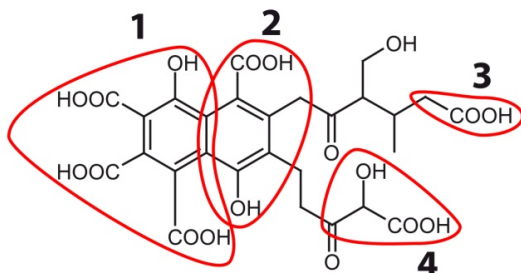


$$\log K_{H, \text{ph-OH}} = 9.98 - 0.17 + 0.17 + 3.61 = 13.59$$

Average

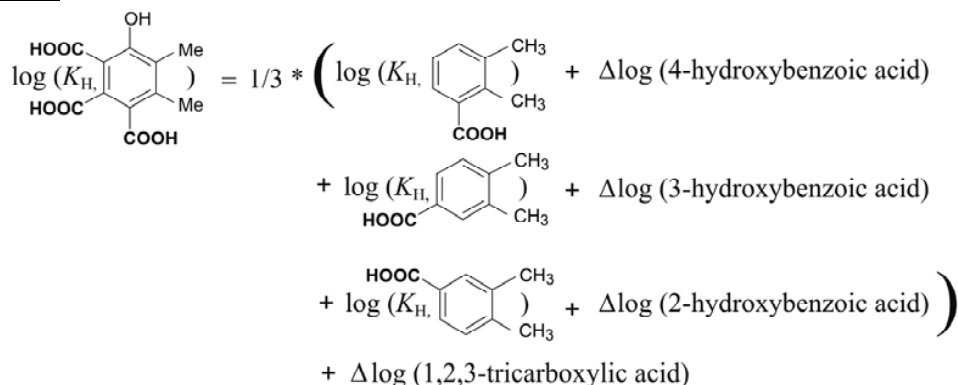
$$\log K_{H, \text{ph-OH}} = \frac{9.47 + 10.72 + 9.79}{3} = 9.99$$

2.3. Calculation of $\log K_{H,i}$ for FA-Buffle



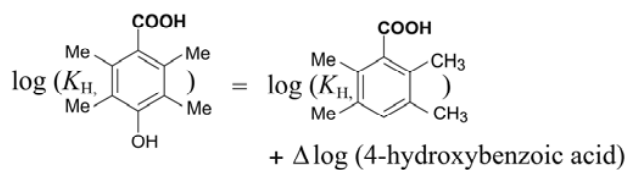
2.3.1. $\log K_{H, \text{COOH}}$

RSU1



$$\log K_{H, \text{COOH}} = \frac{3.73 + 0.36 + 4.41 - 0.02 + 4.41 - 1.21}{3} - 0.02 = 3.87$$

RSU2



$$\log K_{H, \text{COOH}} = 3.40 + 0.36 = 3.76$$

RSU3

Same structure as acetic acid (4.56).

RSU4

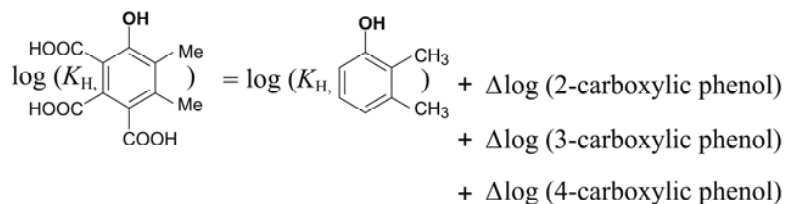
Same structure as lactic acid (3.67).

Average

$$\log K_{H, \text{COOH}} = \frac{3.87 + 3.76 + 4.56 + 3.67}{4} = 3.97$$

2.3.2. log $K_{H, \text{ph-OH}}$

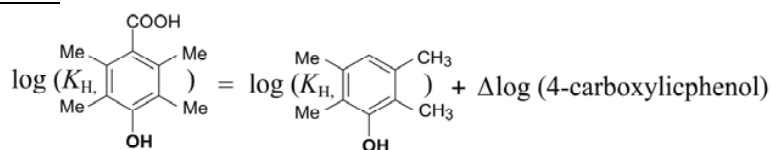
RSU1



$$\log K_{H, \text{ph-OH}} = 10.54 + 3.61 - 0.17 - 0.81 = 13.17$$

This value was dismissed.

RSU2

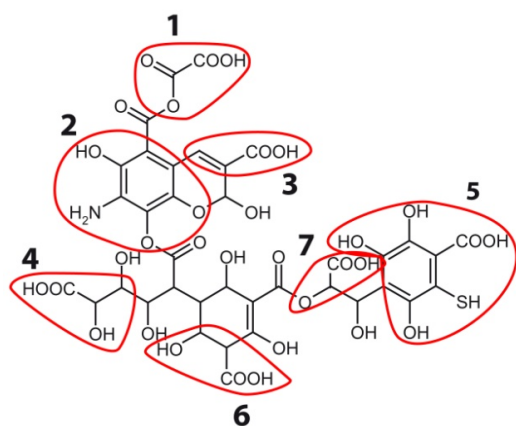


$$\log K_{H, \text{ph-OH}} = 10.89 - 0.81 = 10.08$$

Average

$$\log K_{H, \text{ph-OH}} = 10.08$$

2.4. FA-A model



2.4.1. $\log K_{H,COOH}$

RSU1

Structure similar to pyruvic acid (2.26).

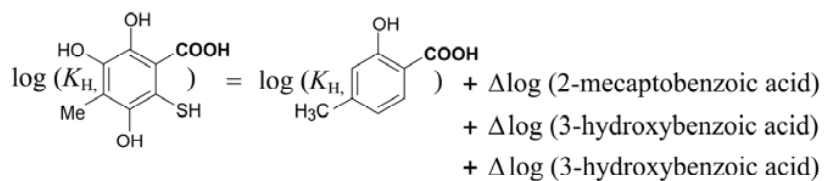
RSU3

Same structure as acrylic acid (4.09)

RSU4

Same structure as lactic acid (3.67).

RSU5



$$\log K_{H,COOH} = 2.96 - 2 \times 0.02 - 0.55 = 2.37$$

RSU6

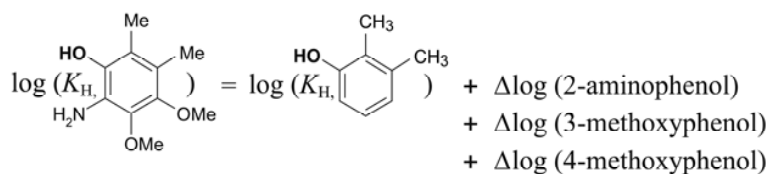
Same structure as 3-hydroxypropanoic acid (4.40)

RSU7

Same structure as methoxyacetic acid (3.32)

2.4.2. $\log K_{H, \text{ph-OH}}$

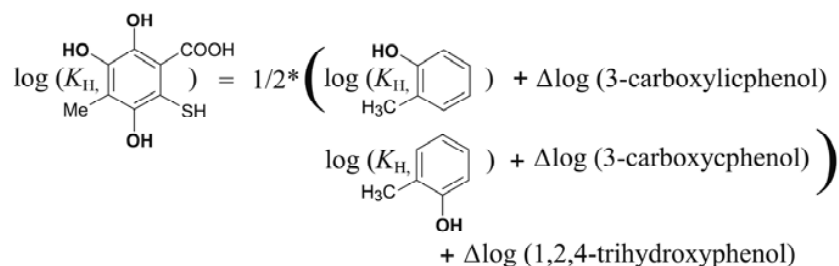
RSU2



$$\log K_{H, \text{ph-OH}} = 10.54 + 0.08 + 0.07 + 0.17 = 10.86$$

RSU5

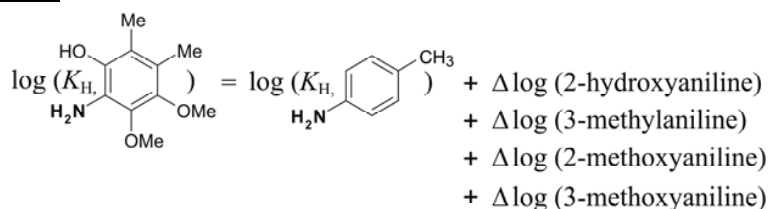
The acidity of SH could not be calculated because some of the binding constants are unknown. The OH group next to COOH deprotonates at $\text{pH} \geq 13$.



$$\log K_{H, \text{ph-OH}} = \frac{10.09 - 0.17 + 10.09 - 0.17}{2} + 0.41 = 10.33$$

2.4.3. $\log K_{H, \text{NH}_2}$

RSU2

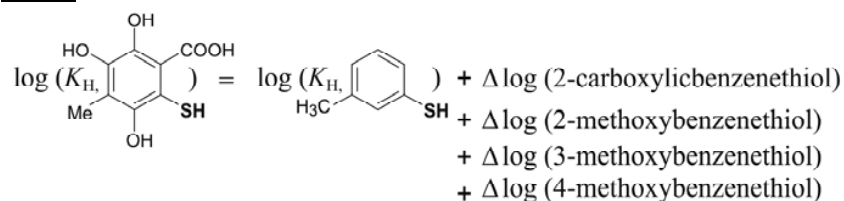


$$\log K_{H, \text{NH}_2} = 5.09 + 0.10 + 0.26 + 0.08 - 0.26 = 5.27$$

This value was included in the calculation of the average value of $\log K_{H, \text{COOH}}$.

2.4.4. $\log K_{H, \text{SH}}$

RSU5



$$\log K_{\text{H,SH}} = 6.66 + 1.63 + 0.43 - 0.08 + 0.32 = 8.96$$

The OH groups were replaced by OMe, because the constants of the methylated species are known. The average value was included in the total calculation of $\log K_{\text{H,ph-OH}}$.

Average

$$\log K_{\text{H,COOH}} = \frac{2.26 + 4.40 + 4.09 + 3.67 + 3.32 + 2.37 + 5.27}{7} = 3.63$$

$$\log K_{\text{H,ph-OH}} = \frac{10.33 + 8.96}{2} = 9.65$$

3. MATERIAL

The *Carex* (CP, originating essentially from *Carex* plant) and *Sphagnum* peats (SP, originating essentially from *Sphagnum* moss) were provided by the company Tourbières de France. The HA and FA fractions were extracted following the International Humic Substances Society protocol (Swift, 1996). Dissolved organic matter (DOM) was extracted using the method described by Karlsson et al. (2006). A mass of 85 g peat and 12 g of technical grade ion-exchange resin in Na form (Chelex 100, Bio rad) were mixed in 200 mL Milli-Q water. After 24 h of equilibration, the suspension was centrifuged at 11,000 rpm for 5 min. The supernatant was collected and the DOM separated by filtration at 10 μm . All samples were freeze-dried and stored in the dark before use.

Chemical compositions are given in Table EA-2. Organic carbon, hydrogen and nitrogen were measured by combustion with an elemental analyzer (Perkin-Elmer, 2400 CHN). Total sulfur was measured on a LECO sulfur analyzer (LECO Corp., MI). Copper and zinc were analyzed by ICP-AES, and lead and mercury by ICP-MS.

The C, H, N, and S contents are typical of peats (Steelnik, 1985), except for DOM-CP which has a low C content (29.6 % w/w) indicative of inorganic colloids. The *Carex* peat has higher nitrogen, sulfur and ash concentrations than the *Sphagnum* peat (Bohlin et al., 1989; Ringqvist and Oborn, 2002). The concentrations of trace elements fall in the ranges of geochemical background values for natural peats: 1-100 ppm for Cu, Zn, and Pb, and 1-100 ppb for Hg (Kabata-Pendias, 2000). The *Carex* peat is also richer in trace metals, because this type of peat most often forms in nutrient-rich fens drained by surface and subsurface waters, whereas *Sphagnum* peats generally occur in nutrient poor bogs with rainfalls being the main source of water (Bohlin et al., 1989).

Table EA-2. Analytical data of humics (% w/w).

	CP	SP	CP-HA	SP-HA	CP-FA	SP-FA	CP-DOM	SP-DOM
pH (in H ₂ O)	4.4	4.1	3.5	3.5	3.4	2.9	-	-
% Organic matter ¹	65.5	98.5	-	-	-	-	-	-
C ²	47.2	48.0	44.6	50.7	45.6	48.6	29.6	43.6
H ²	6.21	6.00	4.50	5.36	2.92	4.41	4.00	5.16
N ²	2.18	0.94	2.86	1.70	1.01	4.21	2.00	2.50
S ²	1.78	0.62	1.37	0.63	0.64	0.48	1.50	1.13
P ³	590	160	-	-	-	-	-	-
Zn ³	47	10	27	14	43	19	31	78
Cu ³	37	7	79	<20	40	<20	36	25
Pb ³	16	13	12	9	115	11	10	7
Hg ⁴	90	20	-	-	-	-	-	-
% HA	33.1	26.4	100	100	0	0	-	-
% FA	2.2	2.9	0	0	100	100	-	-
Q _{H,COOH} ⁵	1.65	1.45	2.97	1.81	-	1.53	1.96	2.27
Q _{H,ph-OH} ⁵	1.48	1.39	1.40	1.73	-	2.38	1.00	0.76
Q _{tot} ⁵	3.12	2.83	4.37	3.53	-	3.91	2.95	3.30

¹ Measured by ignition at 900°C for 5 hours. The difference to 100 % is the ash fraction (34.5 %). This fraction is subtracted from the elemental analyses of CP. The proportion of humin, taken as the difference between the proportions of HA, FA and ash, is 69.2 % in SP and 30.2% in CP. ² % w/w, dry weight. ³ ppm, dry weight. ⁴ ppb, dry weight. ⁵ mmol/g. Measured by solid-state ¹³C NMR.

4. TITRATION MEASUREMENTS

The amount of protons exchanged between each peat sample and solution was measured by potentiometric acid-base titration, as described previously (Guine et al., 2006). Briefly, titrations were performed at 25°C ± 0.1 °C in a closed vessel under argon positive pressure. A mass of 0.1 ± 0.0001 g of NOM was suspended in 50 mL of 0.001 M HNO₃ (titration from low to high pH) or 0.001 NaOH M (reverse titration) and 0.1 ± 0.001 M NaNO₃, and stirred for three hours to hydrate the NOM (Flogeac et al., 2004). Increments of 0.1 mL 0.005 M NaOH (pH ~3.5 to 10.5) or 0.005 M HNO₃ (pH ~10.5 to 3.5) in 0.1 M NaNO₃ were added (Metrohm Titrino 665). At each step, equilibration was considered to be reached when the drift in potential of the combined pH electrode (Metrohm Aquatrode 6.0253.100) was less than ± 0.1 mV/min. Each experiment lasted about 12 h.

The concentration of protons [H_s] released from each NOM sample was calculated from the following proton mass balance equation:

$$[H^+] = \frac{v[H_I]}{v_0 + v} + \frac{v[H_B]}{v_0 + v} + \frac{v_0[H_S]}{v_0 + v} + [OH^-]$$

where [H⁺] is the free proton concentration; [H_I] is the concentration of strong acid (positive value) or base (negative value) added to the reactor before the beginning of titration; [H_B] is the

concentration of acid/base titrant added; $[\text{OH}^-]$ is the concentration of hydroxyls generated from water dissociation; v_0 is the initial volume of the sample and v the titrant volume added in the reactor. In our experiments, $[\text{H}_2\text{S}]$ was arbitrarily scaled to the initial pH of the reaction suspension. Since the ionic strength was kept constant, the activity coefficient γ_{H^+} did not vary, differences in proton concentration $[\text{H}^+]$, as measured experimentally, are identical to differences in proton activities (H^+). $[\text{H}_2\text{S}]$ is equivalent to Q .

5. REFERENCES

- Bohlin E., Hamalainen M. and Sunden T. (1989) Botanical and chemical characterization of peat using multivariate methods. *Soil Sci.*, **147**, 252-263.
- Flogeac K., Guillon E. and Aplincourt M. (2004) Surface complexation of copper(II) on soil particles: EPR and XAFS studies. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 3098-3103.
- Guine V., Spadini L., Sarret G., Muris M., Delolme C., Gaudet J. P. and Martins, J. M. F. (2006) Zinc sorption to three gram-negative bacteria: Combined titration, modeling, and EXAFS study. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 1806-1813.
- Kabata-Pendias A. (2000) *Trace Element in Soils and Plants*. 3rd ed, CRC Press, New York.
- Karlsson T., Persson P. and Skyllberg U. (2006) Complexation of copper(II) in organic soils and in dissolved organic matter - EXAFS evidence for chelate ring structures. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 2623-2628.
- Ringqvist L. and Oborn I. (2002) Copper and zinc adsorption onto poorly humified Sphagnum and Carex peat. *Water Research*, **36**, 2233-2242.
- Steelnik C. (1985) Implication of Elemental Characteristics of Humic Substances. In *Humic Substances in Soil, Sediment, and Water*, Wiley, New York.
- Swift R. S. (1996) Organic Matter Characterization. In *Methods of Soil Analysis. Part 3. Chemical Methods*. Soil Science Society of America and American Society of Agronomy, Madison.

5.4 Conclusion

Quel que soit le modèle choisi, le constat est le même : on arrive toujours à reconstruire les courbes de titrage quand une force ionique est disponible. C'est donc la question de la légitimité des valeurs des constantes trouvées qui se pose.

Comme ce chapitre s'est forcé de le montrer, le choix du modèle et de la procédure de modélisation affecte directement les valeurs des constantes cherchées quand les titrages à une force ionique sont disponible. Il est donc nécessaire de choisir judicieusement le modèle et la procédure. Étant donnée l'aspect spongieux de la tourbe et la grande hétérogénéité des sites réactifs, le modèle NICA-Donnan semble le mieux adapté pour modéliser le comportement de la MO vis à vis des protons. Cependant, comme cela a été démontré, ce modèle n'est pas assez contraint. Il est donc nécessaire d'établir une procédure de modélisation afin de mieux contraindre le modèle et d'obtenir *in fine* un seul et unique jeu de paramètres.

La suite de notre projet de recherche a été d'établir un protocole de modélisation permettant de mieux contraindre le modèle NICA-Donnan dans le but d'obtenir une et une seule solution au système. Cette recherche a donné lieu à la rédaction d'un article scientifique ([Lenoir et al., 2009](#)). Le paragraphe suivant propose de comparer deux procédures permettant de contraindre les paramètres d'ajustement des titrages par le modèle NICA-Donnan.

Chapitre 6

Modélisation des courbes de titrage en suivant la procédure de [Lenoir et al. \(2009\)](#) et de la RMN ^{13}C

6.1 Introduction

La procédure de [Lenoir et al. \(2009\)](#) est détaillée dans un article scientifique en préparation. Brièvement, en partant du constat qu'une même courbe de titrage pouvait être modélisée par des jeux de paramètres différents, nous avons cherché à trouver combien de paramètres libres étaient nécessaires pour reconstruire les courbes de titrage. Une analyse par composantes principales d'un jeu de 44 courbes de titrage publiées a montré que seuls 6 paramètres suffisaient. Cette valeur est bien inférieure aux 8 paramètres ajustables du modèle NICA-Donnan. Fort de ce constat, nous avons mis au point une procédure de modélisation des courbes de titrage qui contraigne les variables d'ajustement et limite les divergences lors de la minimisation (équation 5.9).

Dans ce chapitre, on propose d'appliquer la procédure de [Lenoir et al. \(2009\)](#) à nos données expérimentales afin de valider cette procédure. En parallèle, nous avons contraint les paramètres d'entrée du modèle NICA-Donnan aux valeurs obtenues par RMN ^{13}C .

6.2 Matériel et méthode

6.2.1 Modélisation par la procédure de [Lenoir et al. \(2009\)](#)

Cette procédure considère les deux constantes apparentes $\log K_{\text{H,COOHapp}}$ et $\log K_{\text{H,ph-OHapp}}$. Contrairement aux deux constantes intrinsèques ($\log K_{\text{H,COOH}}$ et $\log K_{\text{H,ph-OH}}$), les constantes apparentes dépendent de l'effet électrostatique. Thermodynamiquement, ces constantes apparentes se définissent comme la somme des enthalpies libres de réaction de l'adsorption intrinsèque et de l'effet électrostatique à T et P fixé :

$$\Delta_r G_{T,P,\text{apparent}} = \Delta_r G_{T,P,\text{intrinsèque}} + \Delta_r G_{T,P,\text{électrostatique}}$$

or

$$\Delta_r G_{T,P} = \Delta_r G_T^0 + RT \log K_{H,i}$$

donc

$$\log K_{H,i,\text{app}} = \log K_{H,i} + \text{terme électrostatique}$$

où i représente les sites carboxyliques ou phénoliques et $\Delta_r G_T^0$ est l'enthalpie libre standard de réaction .

La procédure de modélisation décrite par Lenoir et al. (2009) est basée sur l'hypothèse de départ selon laquelle à $\text{pH} = \log K_{\text{H,COOHapp}}$ et à $\text{pH} = \log K_{\text{H,ph-OHapp}}$ la moitié des sites carboxyliques et phénoliques, respectivement, sont déprotonés. La première étape dans la procédure consiste donc à interpoler, les courbes de titrage par un polynôme $P(\text{pH})$ de degré 6 afin d'estimer $\log K_{\text{H,COOHapp}}$ et $\log K_{\text{H,COOHapp}}$. Lenoir et al. (2009) ont montré que ce degré 6 est le mieux adapté pour l'interpolation des courbes expérimentales de titrage. La deuxième étape consiste à déterminer les deux points d'inflexion du polynôme ce qui revient à déterminer les racines de la dérivée seconde du polynôme $P(\text{pH})$. Mathématiquement, cela se traduit par le résolution de l'équation :

$$P(\text{pH})'' = \frac{d^2 P(\text{pH})}{d\text{pH}^2} = 0 \quad (6.1)$$

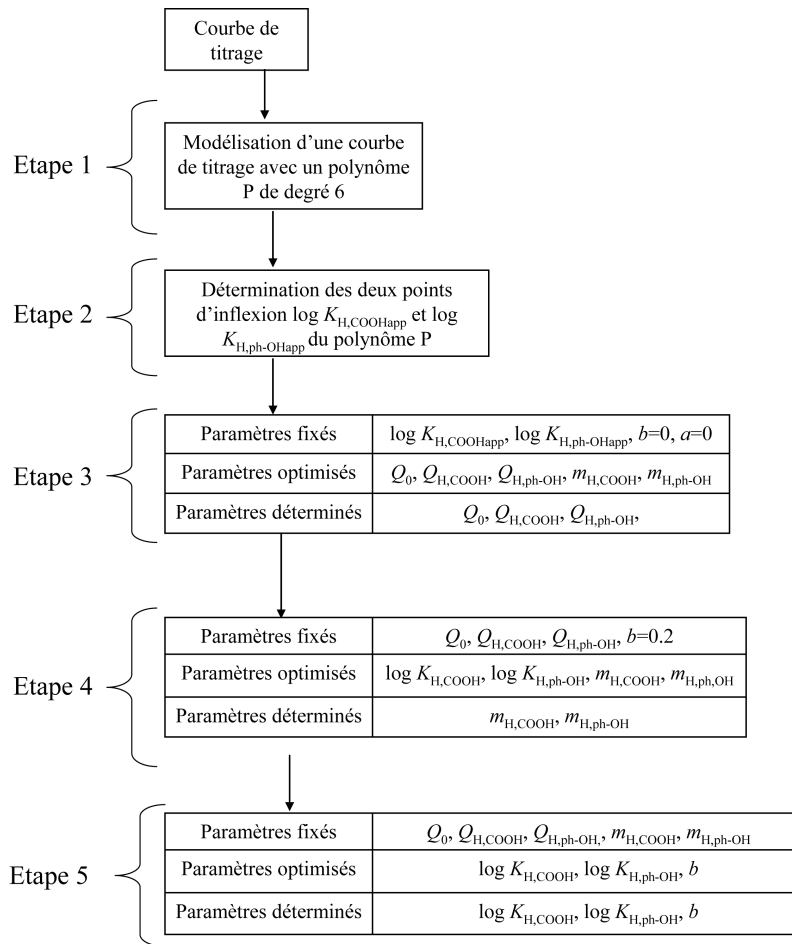


FIGURE 6.1 Schéma de la procédure de modélisation de Lenoir et al. (2009) par le modèle NICA-Donnan.

Les racines réelles de cette équation correspondent aux valeurs de $\log K_{\text{H,COOHapp}}$ et $\log K_{\text{H,ph-OHapp}}$. Si le deuxième point d'inflexion est en dehors de la fenêtre de mesure, la détermination de $\log K_{\text{H,ph-OHapp}}$ est alors impossible : on ne peut donc pas utiliser cette procédure. La troisième étape de la méthode consiste à ajuster les paramètres $m_{\text{H,COOH}}$, $m_{\text{H,ph-OH}}$, Q_0 , $Q_{\text{H,COOH}}$ et $Q_{\text{H,ph-OH}}$ pour $\log K_{\text{H,COOH}}$ et $\log K_{\text{H,ph-OH}}$ fixés aux valeurs $\log K_{\text{H,COOHapp}}$ et $\log K_{\text{H,ph-OHapp}}$ et pour une influence électrostatique nulle. Une option dans le programme FIT permet d'annuler cet effet. Ce

premier ajustement fixe les paramètres $Q_{H,COOH}$, $Q_{H,ph-OH}$ et Q_0 . La quatrième étape consiste à ajuster de nouveau les paramètres $m_{H,COOH}$, $m_{H,ph-OH}$, $\log K_{H,COOH}$ et $\log K_{H,ph-OH}$ pour $b = 0.2$ et pour $Q_{H,COOH}$, $Q_{H,ph-OH}$ et Q_0 fixés aux valeurs trouvées dans l'étape 3. Cet ajustement doit être effectué à la force ionique du titrage, c'est à dire à 0.1 M dans notre cas. Ce deuxième ajustement fixe les paramètres $m_{H,COOH}$ et $m_{H,ph-OH}$. La cinquième et dernière étape de la méthode consiste à ajuster les paramètres $\log K_{H,COOH}$, $\log K_{H,ph-OH}$ et b avec tous les autres paramètres fixés aux valeurs trouvées dans les étapes précédentes. Un résumé de cette procédure est donné dans la figure 6.1.

En suivant cette procédure, [Lenoir et al. \(2009\)](#) ont montré qu'il est alors possible d'obtenir des paramètres chimiques et physiques tous réalistes.

6.2.2 Modélisation par la procédure de la RMN ¹³C

La détermination des densités de sites par RMN ¹³C permet de contraindre les paramètres d'entrée du modèle NICA-Donnan. Dans cette deuxième procédure, on propose de fixer dans un premier temps les paramètres $Q_{H,COOH}$ et $Q_{H,ph-OH}$ aux valeurs de densité de sites déterminées par la RMN ¹³C (tableau 5.2) et d'ajuster les paramètres $m_{H,COOH}$, $m_{H,ph-OH}$, $\log K_{H,COOH}$, $\log K_{H,ph-OH}$ et Q_0 pour une influence électrostatique nulle. Ce premier ajustement détermine Q_0 qui sera ensuite fixé avec $Q_{H,COOH}$ et $Q_{H,ph-OH}$. On suit alors la procédure de [Lenoir et al. \(2009\)](#).

6.3 Résultats

6.3.1 Modélisation par la procédure de [Lenoir et al. \(2009\)](#)

La figure 6.2 présente l'interpolation polynomial des données de titrage et les valeurs $\log K_{H,COOHapp}$ et $\log K_{H,ph-OHapp}$. Les fonctions polynomiales de degré 6 sont toutes comprises dans l'intervalle de précision de nos mesures. Les constantes $\log K_{H,COOHapp}$ et $\log K_{H,ph-OHapp}$ sont toujours supérieures à 4 et à 9, respectivement. Il n'est pas possible d'accéder aux $\log K_{H,ph-OHapp}$ de FACP, FASP et DOMCP. Ces trois titrages ne peuvent donc pas être modélisés par cette méthode et seront exclus par la suite.

La figure 6.3 et le tableau 6.1 associé présentent les résultats de la modélisation de CP et SP, et de leurs fractions HA, FA et DOM. A part CP, les modélisations reproduisent très bien les titrages ($R^2 \geq 0.998$). Les valeurs $\log K_{H,COOH}$ sont comprises entre 3.48 et 4.20 et les valeurs $\log K_{H,OH}$ entre 8.10 et 9.38. Cette gamme de valeurs est incluse dans la gamme des constantes décrites dans la littérature (tableau 5.5).

La densité de site totale varie de la façon suivante :

$$HACP > CP > HASP > SP > DOMSP$$

D'après cette modélisation, à fraction identique, la densité de sites réactifs est supérieure pour CP que pour SP. Ce résultat est comparable avec l'étude faite par RMN ¹³C et par granulométrie. Cependant, si on prend en compte les 34.5 % de MI qui composent la fraction CP, sa densité totale de sites tombe à 3.64 mmol.g⁻¹ ($Q_{tot} = 5.56 * 0.655 = 3.64$ mmol.g⁻¹). CP est alors moins réactifs que SP. Ce résultat est alors comparable aux résultats trouvés par [Bergner et al. \(2000\)](#) qui a comparé les tourbes de carex et les tourbes de sphaignes en terme de densité de sites. La fraction HA reste la fraction la plus réactive. On peut enfin noter que les paramètres b , $m_{H,COOH}$, et $m_{H,ph-OH}$ sont

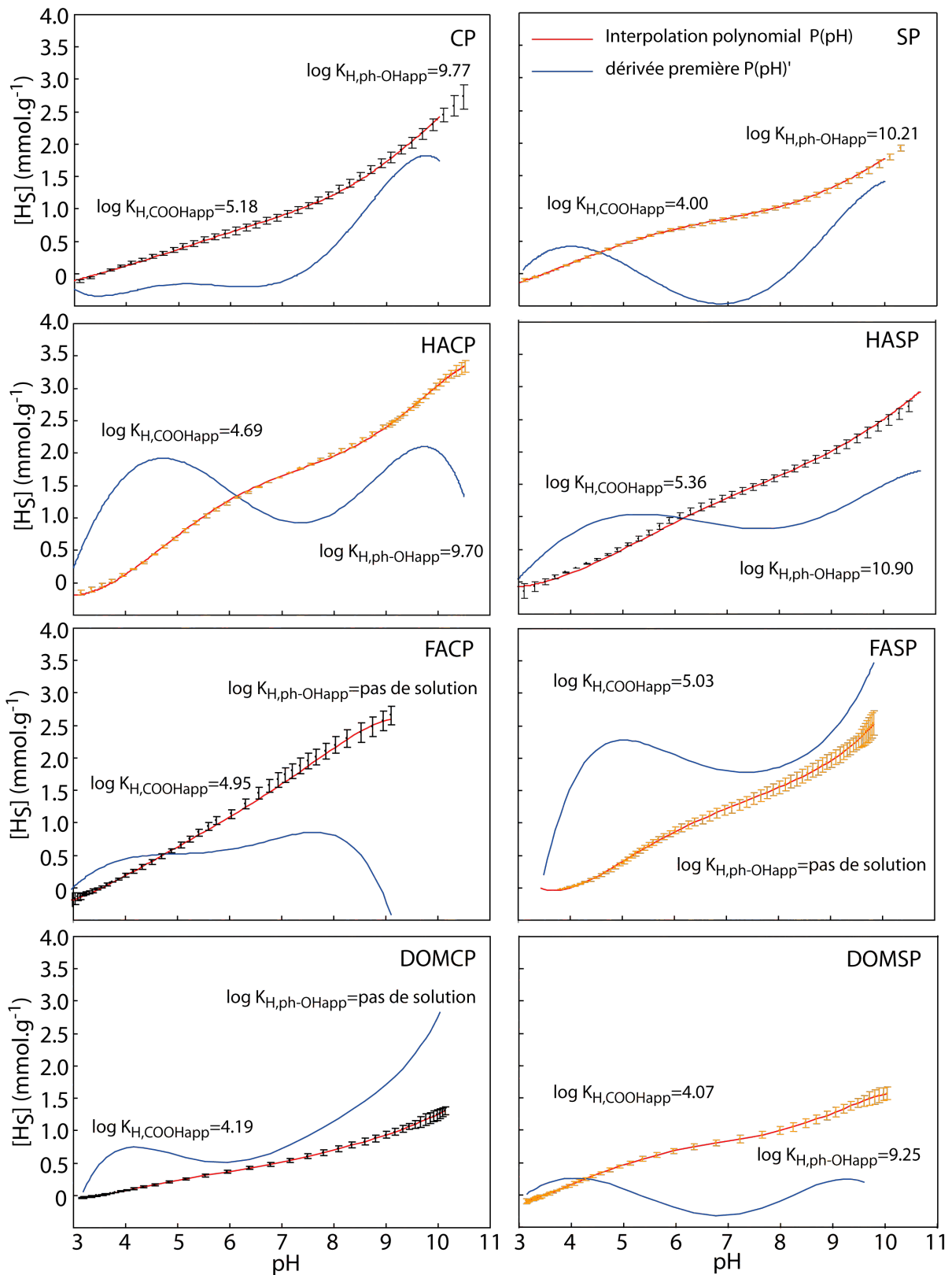


FIGURE 6.2 Interpolation polynomiale de degré 6 (trait rouge) et sa dérivée première (bleu) des courbes de titrages des tourbes brunes (CP) et blondes (SP) et de leur fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM). Les valeurs des constantes apparentes $\log K_{H,iapp}$ sont données dans les graphiques.

dans la gamme de valeurs trouvées par Milne et al. (2001).

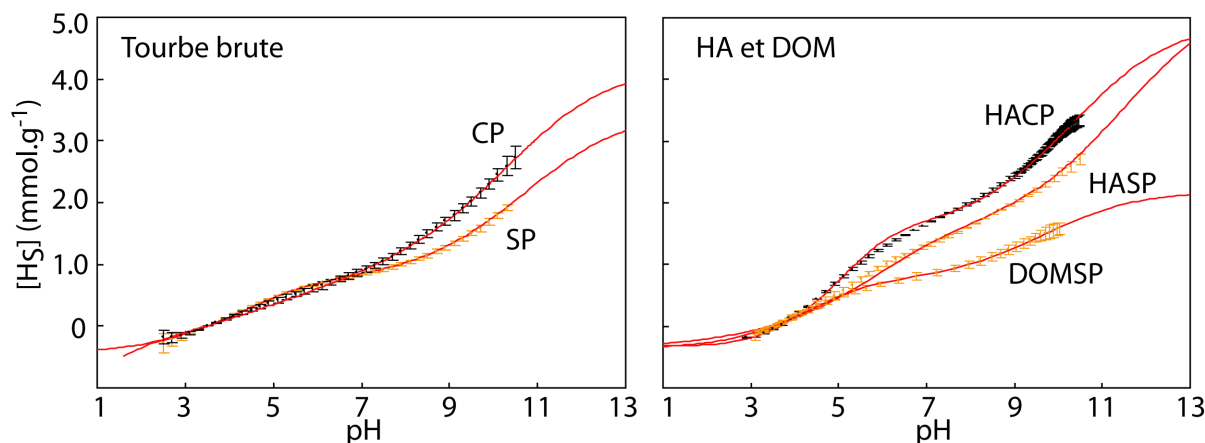


FIGURE 6.3 Quantité de protons libérés $[H_S]$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blondes (SP, couleur blonde) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) en fonction du pH selon la procédure de Lenoir et al. (2009). Les symboles et les lignes continues représentent respectivement les points expérimentaux et les ajustements obtenus par le modèle NICA-Donnan. $I=0.1$.

Tableau 6.1 Paramètres du modèle NICA-Donnan des tourbes noires (CP) et blondes (SP) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) selon la procédure de Lenoir et al. (2009).

	b	$Q_{H,COOH}$	$m_{H,COOH}$	$\log K_{H,COOH}$	$Q_{H,OH}$	$m_{H,OH}$	$\log K_{H,OH}$	$Q_{H,tot}$	R^2
CP	0.17	3.18	0.13	3.68	2.38	0.43	8.10	5.56	0.991
SP	0.57	1.18	0.57	3.48	2.70	0.40	9.38	3.88	0.998
HACP	0.20	2.00	0.44	3.96	3.70	0.40	9.29	5.70	0.999
HASP	0.62	1.91	0.84	4.20	3.34	0.41	9.04	5.25	0.999
FACP	\	\	\	\	\	\	\	\	\
FASP	\	\	\	\	\	\	\	\	\
DOMCP	\	\	\	\	\	\	\	\	\
DOMSP	0.60	1.08	0.69	3.62	1.44	0.43	8.53	2.52	0.999

* mmol.g⁻¹

6.3.2 Modélisation par la procédure de la RMN ¹³C

La figure 6.4 et le tableau 6.2 donnent les résultats de la modélisation par la méthode de la RMN ¹³C. L'ensemble des modélisations reproduisent les données de titrages ($R^2 \geq 0.998$). Les valeurs de $m_{H,COOH}$, $m_{H,OH}$ et b sont dans la gamme des valeurs définies par Milne et al. (2001). Les valeurs $\log K_{H,COOH}$ et $\log K_{H,COOH}$ sont comprises dans une large gamme (entre 2.05 et 5.46 pour $\log K_{H,COOH}$ et entre 7.79 et 9.86 pour $\log K_{H,ph-OH}$), suggérant, une plus grande hétérogénéité des échantillons. Les valeurs très élevées de $\log K_{H,COOH}$ pour CP (5.46) et pour HACP (5.34) ne sont pas en accord avec la gamme des valeurs proposées dans la littérature (tableau 5.5). Si on compare ces valeurs avec les $\log K_{H,COOH}$ de molécules connues et potentiellement présentes dans la MO

(Hay et Myneni, 2007; Deshmukh et al., 2007), on remarque que les $\log K_{\text{H,COOH}}$ des composés connus n'ont aucune valeur supérieure à 5.00 (tableau 6.3). Les valeurs obtenues par ces simulations ne semblent pas avoir de sens chimique.

Ces différences entre les valeurs obtenues par modélisation et attendues semblent venir du fait que la RMN ^{13}C ne distingue pas les carbones appartenant à une fonction ester (R-COO-R) de ceux appartenant à une fonction carboxylique, et que les cations paramagnétiques présents dans les tourbes peuvent brouiller le signal RMN. De ce fait, les valeurs $Q_{\text{H,COOH}}$ calculées par RMN ^{13}C ne sont donc pas suffisamment précises. De plus, la relation linéaire entre l'aire des types de carbones et la quantité de ces carbones n'a jamais été totalement mise en évidence. Ainsi, contrairement à ce que suggère Gondar et al. (2005) et Ritchie et Perdue (2008), il semblerait que les valeurs obtenues par RMN ^{13}C ne peuvent pas être utilisées pour modéliser les courbes de titrage.

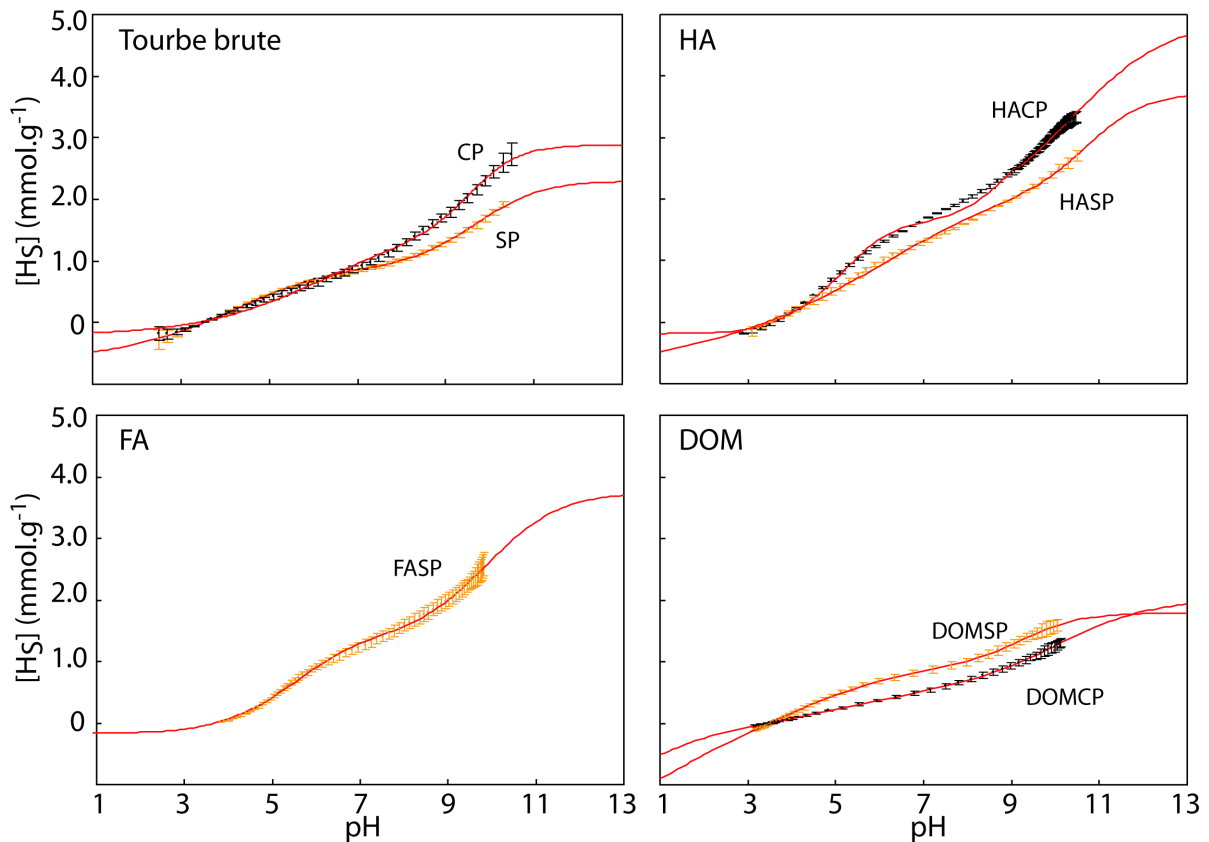


FIGURE 6.4 Quantité de protons libérés $[\text{H}^+]$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blondes (SP, couleur orange) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) en fonction du pH selon la procédure de la RMN ^{13}C . Les symboles et les lignes continues représentent respectivement les points expérimentaux et les ajustements obtenus par le modèle NICA-Donnan. $I=0.1$.

6.4 Conclusion

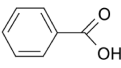
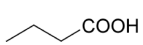
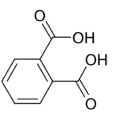
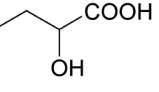
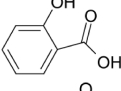
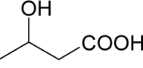
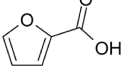
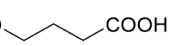
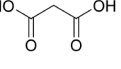
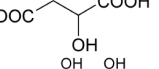
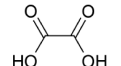
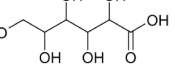
Les valeurs des paramètres obtenues par la procédure de modélisation de Lenoir et al. (2009) donnent des résultats comparables à celle de la littérature. Cette procédure donne une solution. Les valeurs obtenues seront donc considérées dans la suite comme les "vrais" valeurs. Cependant, cette procédure nécessite des titrages dans une gamme pH large variant au minimum entre pH 3 et 10.5. En comparaison, la procédure utilisant les valeurs données par la RMN ^{13}C , comme le préconisent

Tableau 6.2 Paramètres du modèle NICA-Donnan des tourbes noires (CP) et blondes (SP) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) selon la procédure de la RMN ¹³C.

	<i>b</i>	* <i>Q</i> _{H,COOH}	<i>m</i> _{H,COOH}	log <i>K</i> _{H,COOH}	* <i>Q</i> _{H,OH}	<i>m</i> _{H,OH}	log <i>K</i> _{H,OH}	* <i>Q</i> _{tot}	<i>R</i> ²
CP	0.68	1.65	0.40	5.46	1.48	0.90	9.05	3.12	0.996
SP	0.65	1.45	0.45	3.53	1.39	0.63	8.63	2.84	0.999
HACP	0.83	2.97	0.27	5.34	1.40	0.75	9.86	4.37	0.998
HASP	0.64	1.81	0.97	4.32	1.73	0.83	7.90	3.54	0.996
FACP	\	\	\	\	\	\	\	\	\
FASP	0.63	1.53	0.73	4.77	2.38	0.58	8.67	3.91	0.999
DOMCP	0.60	1.96	0.14	3.54	1.00	0.51	9.01	2.96	
DOMSP	0.47	2.27	0.28	2.05	0.76	0.73	7.79	3.03	0.999

* mmol.g⁻¹

Tableau 6.3 Constantes log *K*_{H,COOH} de quelques composés de référence présents dans la matière organique (Martell et Smith, 2004).

Nom du composé	Formule chimique	log <i>K</i> _{H,COOH}	Nom du composé	Formule chimique	log <i>K</i> _{H,COOH}
Acide benzoïque		4.01	Acide butanoïque		4.62
Acide phthalique		2.76, 4.92	Acide 2-hydroxybutanoïque		3.67
Acide salicylique		2.80	Acide 3-hydroxybutanoïque		4.34
Acide Furoic		2.98	Acide 4-hydroxybutanoïque		4.54
Acide oxalique		1.2, 3.80	Acide Malic		3.24, 4.68
Acide malonique		5.27, 2.65	Acide gluconique		3.44

certain auteurs, donne en sortie des paramètres physiquement irréalistes. Les densités de sites données par le modèle RMN ^{13}C semblent ne pas être justes.

L'utilisation de la procédure proposée par [Lenoir et al. \(2009\)](#) permet de mieux contraindre les données et d'obtenir *in fine* des paramètres physiquement corrects. La définition d'une procédure unique dans la détermination des constantes de complexation et des densités de sites est indispensable si l'on désire comparer les données de titrage entre les différents laboratoires. En l'absence de procédure établie, toute tentative de comparaison des constantes de complexations semble inutile.

Dans la suite du projet de recherche, nous aborderons les comportements de la matière organique en présence de cuivre en utilisant l'approche modélisatrice proposée par [Lenoir et al. \(2009\)](#).

Chapitre 7

Isotherme d'adsorption du cuivre

7.1 Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons caractérisé par titrage potentiométrique la réactivité protonique des fractions brutes, humiques, fulviques et dissoutes des tourbes blondes et noires. Bien qu'essentiel dans la compréhension des mécanismes de rétention du cuivre, ces mesures ne sont pas suffisantes pour connaître la réactivité relative des tourbes et de leurs fractions vis-à-vis d'un métal et notamment du cuivre. Il est donc nécessaire de mesurer également les isothermes d'adsorption du cuivre.

Les constantes de complexation $\log K_{\text{Cu,COOH}}$ et $\log K_{\text{Cu,ph-OH}}$ ont été obtenues avec le modèle NICA-Donnan puis comparées avec les constantes de composés connus pour estimer la nature des sites de complexation.

7.2 Matériel et méthode

7.2.1 Rétention du cuivre sur la matière organique

7.2.1.1 Cinétique d'adsorption

La mesure des isothermes d'adsorption du cuivre nécessite de connaître au préalable le temps d'équilibre de la réaction d'adsorption du cuivre sur la MO. Ce temps peut être estimé grâce à des expériences de cinétique d'adsorption. Ces expériences consistent en un suivi de la concentration libre de cuivre en solution en fonction du temps de réaction.

2.00 g de SP, préalablement lyophilisés et tamisés à 2 mm, ont été mis en solution dans un réacteur de 500 ml de NaNO_3 (Sigma-Aldrich) à 0.1 M. Le réacteur a été protégé de l'action du CO_2 grâce à un flux continu d'argon. La température du réacteur a été maintenue constante à 25 ± 0.1 °C. Un pH_{stat} (718 Stat Titrimo, Metrohm) maintient le pH de la solution à une valeur fixe de 4.5 ± 0.1 par ajout d'un volume connu de NaOH (Fixanal, Sigma-Aldrich) à 0.10 M à chaque fois que cela est nécessaire. Ce pH bas est peu favorable à l'adsorption de Cu sur les SH. Il devrait donc donner la cinétique d'adsorption la moins favorable. A $t=0$ min, 5.00 ml d'une solution de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ à 0.10 M (Fisher Scientific Labosi) ont été ajoutés au réacteur afin d'obtenir une concentration initiale de 1 mmol.l^{-1} dans le réacteur. Dans ces conditions, la quantité maximale de cuivre pouvant être adsorbé par SP est de 16 000 ppm. Cette valeur correspond à la valeur maximale de cuivre adsorbé lors des isothermes d'adsorption. La quantité de cuivre libre en solution ($[\text{Cu}^{2+}]_{\text{aq}}$) a été

suivie au cours du temps grâce à une électrode spécifique au cuivre (ISE, Metrohm 6.0502.140) et une électrode de référence (Metrohm, Ag/AgCl). Avant chaque expérience, ces deux électrodes ont été calibrées sur au moins 10 points de mesure. Dans ces conditions, il a été alors possible de tracer le pourcentage de cuivre en solution ($\frac{[\text{Cu}^{2+}]_{\text{aq}}}{[\text{Cu}^{2+}]_{\text{initial}}}$) en fonction du temps.

7.2.1.2 Isothermes d'adsorption

0.2 g de MO, préalablement lyophilisé et tamisé à 2 mm, a été mis en solution dans un réacteur de 500 ml de NaNO_3 (Sigma-Aldrich) à 0.1 M. Le réacteur a été protégé de l'action du CO_2 grâce à un flux continu d'argon. La température du réacteur a été maintenue constante à 25 ± 0.1 °C. Un pH_{stat} (718 Stat Titrino, Metrohm) conserve le pH de la solution à une valeur fixe de 4.5 ± 0.1 ou 5.5 ± 0.1 en ajoutant un volume connu de NaOH (Fixanal, Sigma-Aldrich) à 0.10 M au réacteur à chaque fois que cela est nécessaire. Des volumes connus d'une solution de $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, de concentration en $[\text{Cu}^{2+}]$ variant entre 1.10^{-3} M et 0.1 M, ont été successivement ajoutés. Après équilibre, dont la durée a été déterminée par nos expériences de cinétique, la concentration en cuivre libre ($[\text{Cu}^{2+}]_{\text{aq}}$) a été mesurée avec une électrode spécifique au cuivre (ISE, Metrohm 6.0502.140) et une électrode de référence (Metrohm, Ag/AgCl). Avant chaque expérience, ces deux électrodes ont été calibrées avec au moins 10 points de mesure. Deux ou trois réplicats ont été effectués pour chaque fraction.

Connaissant à chaque pas la quantité totale de cuivre ajoutée et la quantité de cuivre libre en solution, il est possible de calculer par différence la quantité de cuivre adsorbé sur les fractions organiques :

$$[\text{Cu}^{2+}]_{\text{ads}} = [\text{Cu}^{2+}]_{\text{ajout}} - [\text{Cu}^{2+}]_{\text{aq}}$$

où $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{ads}}$ est la concentration de cuivre adsorbé en mmol.g^{-1} ; $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{aq}}$ est la concentration libre de cuivre en solution en mol.L^{-1} ; $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{ajout}}$ la concentration du cuivre ajouté dans le réacteur.

Il est alors possible de tracer $\log [\text{Cu}^{2+}]_{\text{ads}} = f(\log [\text{Cu}^{2+}]_{\text{aq}})$.

7.2.1.3 Modélisation des isothermes par le modèle NICA-Donnan

Comme cela est expliqué dans la partie I, dans le cas d'une compétition entre deux cations, 14 paramètres sont nécessaires pour modéliser les courbes de titrage : 8 paramètres des protons ($Q_{\text{H,COOH}}$, $n_{\text{H,COOH}}$, $\log K_{\text{H,COOH}}$, $Q_{\text{H,ph-OH}}$, $n_{\text{H,ph-OH}}$, $\log K_{\text{H,ph-OH}}$, Q_0 et b) et 6 paramètres induits par la présence de cuivre ($\log K_{\text{Cu,COOH}}$, $n_{\text{Cu,COOH}}$, p_{COOH} , $\log K_{\text{Cu,ph-OH}}$ et $n_{\text{Cu,ph-OH}}$), $p_{\text{ph-OH}}$. $\log K_{\text{Cu,COOH}}$ et $\log K_{\text{Cu,ph-OH}}$ représentent les constantes d'équilibre intrinsèque médianes du cuivre sur les sites carboxyliques et phénoliques tandis que $n_{\text{Cu,COOH}}$ et $n_{\text{Cu,ph-OH}}$ représentent le comportement non idéal du cuivre sur les sites carboxyliques et phénoliques.

Pour la modélisation des isothermes, les 8 premiers paramètres ont été fixés soit aux valeurs déterminées par la procédure de Lenoir et al. (2009) (cas de CP, SP, HACP et HASP) soit aux valeurs déterminées par la procédure de la RMN ^{13}C (FASP et DOMCP). Bien que nous ayons émis des doutes sur la justesse des paramètres obtenus par la procédure de la RMN ^{13}C , ces résultats sont les seuls disponibles pour ces deux échantillons. Les 6 paramètres nouveaux ont été ajustés en minimisant les moindres carrés (equation 5.9). A noter que les paramètres p_{COOH} , $p_{\text{ph-OH}}$, $n_{\text{H,COOH}}$ et $n_{\text{H,ph-OH}}$ sont contraints par l'équation :

$$m_{H,i} = n_{H,i} \times p_i$$

7.3 Résultats

7.3.1 Rétention du cuivre sur la matière organique

7.3.1.1 Cinétique d'adsorption

La figure 7.1 présente l'évolution du rapport $\frac{[\text{Cu}^{2+}]_{\text{aq}}}{[\text{Cu}^{2+}]_{\text{initial}}}$ en fonction du temps d'équilibre pour un pH de 4.5. Comme ce qui est attendu, ce rapport diminue rapidement en fonction du temps. Cette diminution est attribuée à la complexation du cuivre libre dans la solution par SP. En moins de 20 min, 85 % du cuivre ajouté au réacteur est fixé par la MO. Durant les 4h suivantes, ce taux d'adsorption ne varie presque plus indiquant que l'équilibre est quasiment atteint. Comme l'indique [Flogeac et al. \(2004\)](#) et [Brown et al. \(2000\)](#), la fixation du cuivre sur la tourbe est un mécanisme rapide dont la durée n'excède pas 30 min. Ce laps de temps a été désormais choisi comme temps d'attente entre l'ajout de deux volumes successifs de cuivre dans le réacteur lors des isothermes d'adsorption.

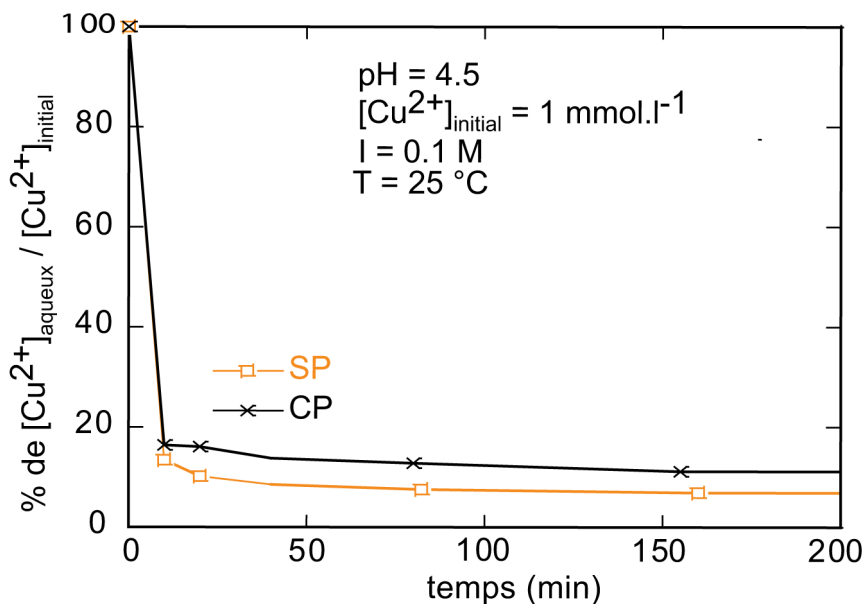


FIGURE 7.1 Cinétique d'adsorption du cuivre sur la tourbe blonde (SP, couleur orange) et la tourbe noire (CP, couleur noire).

7.3.1.2 Isothermes d'adsorption

Les isothermes d'adsorption du cuivre sur les deux tourbes et leur fractions humiques, fulviques et dissoutes sont présentées en échelle log-log dans la figure 7.2. Comme attendu, la quantité de cuivre adsorbée ($[\text{Cu}^{2+}]_{\text{abs}}$) augmente quand la quantité de cuivre libre en solution ($[\text{Cu}^{2+}]_{\text{aq}}$) augmente. A haute concentration en $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{aq}}$ ($\geq 10^{-4} \text{ M}$), les isothermes présentent une tendance à la saturation. Cette saturation s'explique par le fait que tous les groupements pouvant complexer des cations portent déjà un atome cuivre : il n'y a donc plus de sites disponibles et l'excès de $[\text{Cu}^{2+}]_{\text{ajouté}}$ reste en solution.

La comparaison des isothermes à pH 4.5 et 5.5 montre clairement que la quantité de cuivre adsorbée, pour une même fraction, augmente avec le pH. Ce phénomène résulte d'une augmentation

de la force électrostatique d'attraction d'un cation sur la SH résultant d'une augmentation de la charge surfacique de cette SH (plus de groupements déprotonés) quand le pH augmente, et d'une plus faible compétition proton-métal quand le pH augmente (moins de protons sur les sites de complexation).

A pH 4.5, le cuivre est plus fortement fixé sur les tourbes brutes que sur les fractions HA et FA. Cela vient du fait qu'à ce pH, les constantes $\log K_{H,COOH}$ de CP (3.68) et SP (3.48) sont plus acides que ceux de HA (3.96 pour HACP et 4.20 pour HASP) et FA (4.77 pour FASP). Comme les sites carboxyliques de HA et FA ne sont pas tous déprotonés contrairement à SP et CP, ces derniers ont une plus grande affinité avec le cuivre. Par contre, à pH 5.5 quand la majorité des sites carboxyliques sont déprotonés, la tendance s'inverse ; le cuivre est plus fortement fixé sur les HA et les FA que sur les tourbes brutes. Ce résultat est alors en accord avec les données de titrage qui avaient montré que la densité de sites des HA et des FA était supérieure à celle des tourbes brutes. En effet, on peut considérer que la densité de site influe sur l'affinité. La DOM est la fraction possédant le moins d'affinité avec le cuivre. La mobilité du cuivre vers les horizons profonds d'un sol est donc un mécanisme moins important que sa rétention dans les horizons de surface.

A fraction identique pour les deux tourbes et à faible concentration en $[Cu^{2+}]_{aq}$ ($\leq 10^{-5}$ M), il s'avère que le cuivre est fixé de façon quasi-comparable. Cependant, à forte concentration en $[Cu^{2+}]_{aq}$ ($\geq 10^{-4}$ M), la quantité de cuivre adsorbée par SP et ses fractions est supérieure à CP. Ce résultat est semblable aux résultats trouvés par [Fattahpour Sedeh et al. \(1996\)](#) qui avaient montré que SP adsorbait plus de cuivre que CP. Cependant, les titrages ont montré que les fractions CP contiennent plus de sites protoniques que les fractions SP correspondantes. La fixation du cuivre sur la MO ne dépend donc pas uniquement de la densité totale de sites protoniques mais aussi de la structure chimique de la MO. La présence de groupements carboxyliques ou phénoliques adjacents à un groupement carboxylique aromatique, comme des fonctions phthaliques ou salicylatiques, peuvent en effet former un complexe fort avec le cuivre. Il semblerait donc que ces types de sites soient plus nombreux dans les fractions SP que dans les fractions CP correspondantes.

7.3.2 Modélisation des isothermes par le modèle NICA-Donnan

La figure 7.3 et le tableau 7.1 présentent les résultats de la modélisation des isothermes d'adsorption par le modèle NICA-Donnan.

Une étude de sensibilité de $\log K_{Cu,ph-OH}$, $n_{Cu,ph-OH}$ et $p_{Cu,ph-OH}$ a montré que ces trois paramètres ne modifient pas le résultat des modélisations. En effet, à pH 4.5 et 5.5, quasiment aucun groupement ph-OH n'est déprotoné. Par conséquent, les groupements ph-OH n'interviennent pas dans la fixation du cuivre. Ces trois paramètres n'ont donc pas été ajustés ce qui diminue le nombre de variables lors des modélisations.

L'ensemble des modélisations obtenues sont de bonne qualité et reproduisent assez bien les mesures expérimentales. Les valeurs $\log K_{Cu,COOH}$ de HA (2.50 pour HACP et 3.82 HASP) et de FA (3.21 pour FASP) sont supérieures aux valeurs $\log K_{Cu,COOH}$ des fractions brutes (1.30 pour CP et 1.71 pour SP) et des DOM (1.4 pour DOMCP). Autrement dit, les fractions HA et FA ont une meilleure affinité pour le cuivre que les fractions brutes et DOM. Si on compare les deux tourbes, les fractions SP ont une meilleure affinité pour le cuivre que les fractions CP. Comme ce qui avait été dit précédemment, l'environnement immédiat des sites potentiellement accepteur de cuivre joue

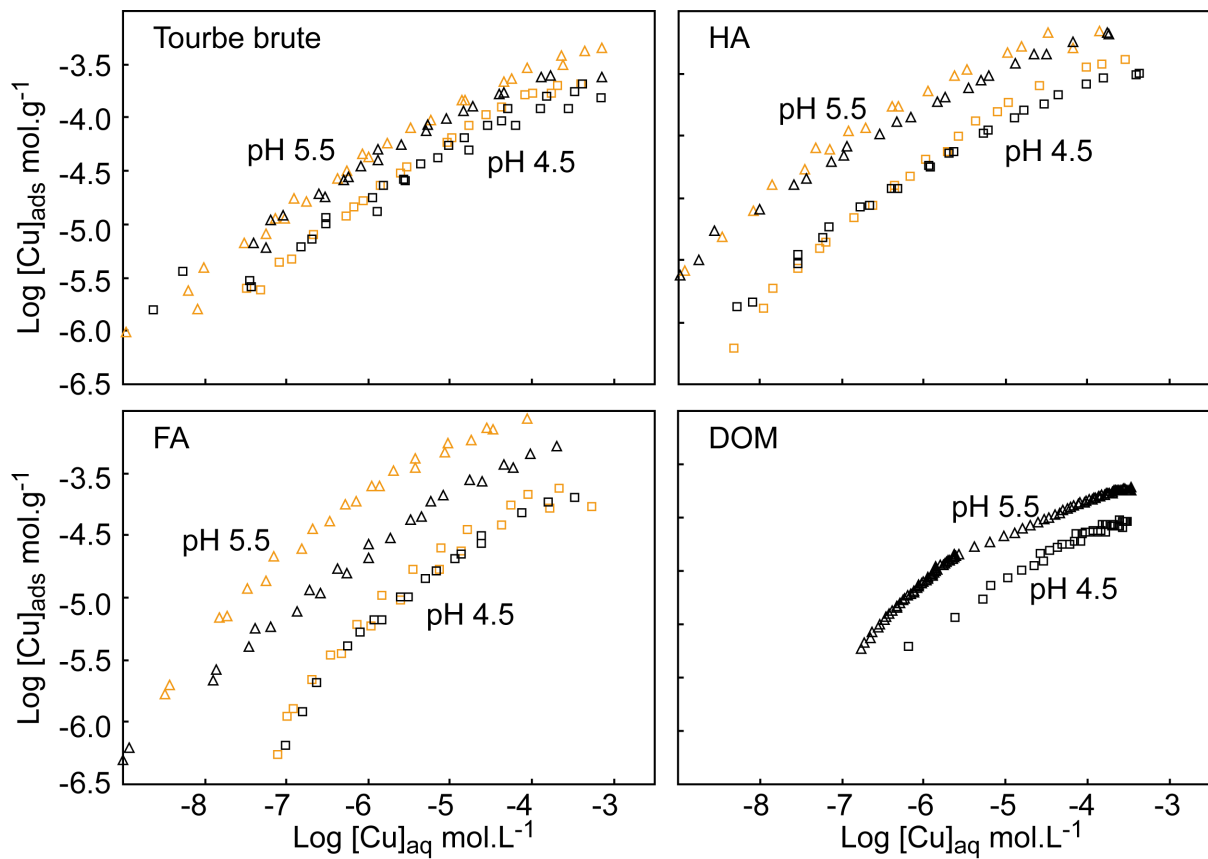


FIGURE 7.2 Concentration du cuivre adsorbé $[Cu^{2+}]_{ads}$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blonde (SP, couleur orange) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissous (DOM) en fonction du cuivre libre en solution $[Cu^{2+}]_{aq}$ pour $pH = 4.5$ (carré) et 5.5 (triangle).

un rôle important dans sa fixation.

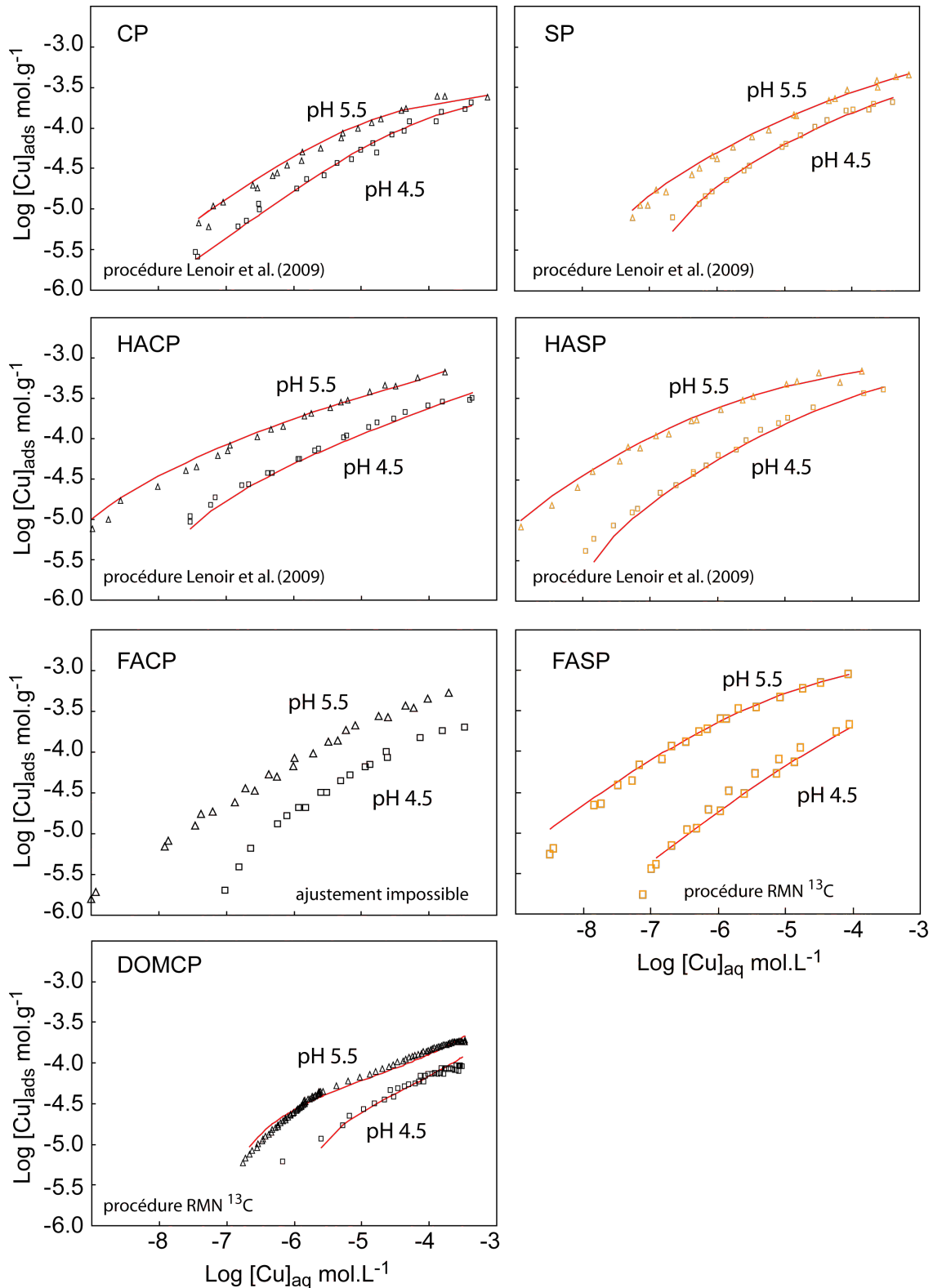


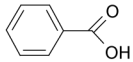
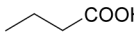
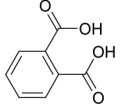
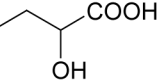
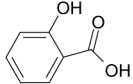
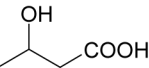
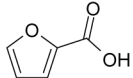
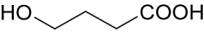
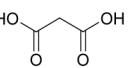
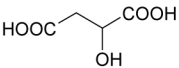
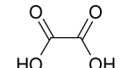
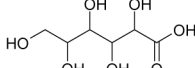
FIGURE 7.3 Concentration du cuivre adsorbé $[Cu^{2+}]_{ads}$ sur les tourbes noires (CP) et blondes (SP) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) en fonction du cuivre libre en solution $[Cu^{2+}]_{aq}$ pour $pH = 4.5$ et 5.5 . Les symboles et les lignes continues représentent respectivement les points expérimentaux et les ajustements obtenus par le modèle NICA-Donnan. $I=0.1$ M.

Si on compare les valeurs $\log K_{Cu,COOH}$ des fractions organiques avec les $\log K_{Cu,COOH}$ de

Tableau 7.1 Paramètres du modèle NICA-Donnan des tourbes noires (CP) et blondes (SP) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM).

	p_{COOH}	$n_{\text{Cu,COOH}}$	$\log K_{\text{Cu,COOH}}$	procédure
CP	0.21	0.60	1.30	Lenoir et al. (2008)
SP	0.86	0.46	1.71	Lenoir et al. (2008)
HACP	0.55	0.35	2.50	Lenoir et al. (2008)
HASP	0.70	0.49	3.82	Lenoir et al. (2008)
FACP	/	/	/	
FASP	0.85	0.61	3.21	RMN ^{13}C
DOMCP	0.50	0.11	1.4	RMN ^{13}C
DOMSP	/	/	/	

Tableau 7.2 Constantes $\log K_{\text{Cu,COOH}}$ de quelques composés de référence présents dans la matière organique pour $I=0.1\text{ M}$ et $^aI=2.0\text{ M}$ (Martell et Smith, 2004).

Nom du composé	Formule chimique	$\log K_{\text{Cu,COOH}}$	Nom du composé	Formule chimique	$\log K_{\text{Cu,COOH}}$
Acide benzoïque		1.60	Acide butanoïque		1.70
Acide phthalique		3.22	Acide 2-hydroxybutanoïque		2.66 ^a
Acide salicylique		2.22	Acide 3-hydroxybutanoïque		1.82 ^a
Acide Furoic		1.10	Acide 4-hydroxybutanoïque		1.52 ^a
Acide oxalique		4.85	Acide malique		3.63
Acide malonique		5.04	Acide gluconique		2.51

composés de structure connue (tableau 7.2), en supposant que les groupements carboxyliques sont totalement déprotonés autrement dit que le pH est supérieur à 6, il est possible d'expliquer la différence d'une unité log observée entre les HA et FA d'un côté, et les fractions brutes et DOM de l'autre. Les constantes $\log K_{\text{Cu,COOH}}$ de HA et FA sont en effet proches d'acides aromatiques et aliphatiques possédant un groupement -OH ou -COOH en α (acide salicylique, acide phthalique, acide 2-hydroxybutanoïque, acide malique). Au contraire, les constantes $\log K_{\text{Cu,COOH}}$ des fractions brutes et des DOM sont proches de la constante de l'acide benzoïque et d'acide aliphatique possédant un groupement -OH en β ou γ (acide 3 et 4-hydroxybutanoïque). Il semblerait donc que le cuivre se fixe préférentiellement sur les groupements de type salicylique, phthalique et malique dans le cas des HA et des FA. Au contraire, le cuivre se fixerait principalement sur les groupements de type acide benzoïque et acide 3- et 4-hydroxybutanoïque dans les fractions brutes et des DOM.

Les résultats précédents sont comparables à ceux déjà observés. Selon certains auteurs, les ligands fixant préférentiellement le cuivre sont les ligands dicarboxylates et les carboxylates substitués en α par des groupements OH ou NH_2 . Cette interprétation est en accord avec la spectroscopie infrarouge et la RMN ^{13}C à deux dimensions (Hay et Myneni, 2007; Deshmukh et al., 2007) qui ont montré que les carboxylates substitués en α par -COOH, -OH et -OR sur une chaîne aliphatique constituent la majorité des structures carboxyliques. Les ligands aromatiques mono et dicarboxylates et les carboxylates aromatiques substitués en α par des groupements -OH ne représentent qu'une faible proportion de toutes les fonctions carboxyliques. On en conclut donc que les structures du type malonate, malate, gluconate et les amino-acides joueraient un rôle prépondérant dans la chélation de Cu(II).

7.4 Conclusion

Les constantes d'équilibre peuvent être ainsi utilisées pour prédire les structures a-priori des complexes Cu(II)-MON. Cependant, ces constantes d'équilibre ne peuvent pas donner des informations univoques sur le véritable environnement du cuivre dans la MON. En effet, les méthodes potentiométriques donnent des $\log K_{\text{Cu,COOH}}$ moyens et non des $\log K_{\text{Cu,COOH}}$ à très faible concentration en cuivre. De ce fait, certains sites, comme les sites oxaliques ou maloniques, possédant une très forte affinité pour le cuivre ne peuvent pas être "vus" par cette méthode. Il est donc nécessaire de compléter les titrages et les isothermes par des techniques analytiques plus précises permettant de déterminer à l'échelle atomique l'environnement immédiat du cuivre. Dans la suite de ce projet de recherche, la spectroscopie EXAFS, qui a déjà montré son efficacité pour ce type d'étude, sera utilisée pour appréhender la nature exacte des complexes formés entre le Cu(II) et les ligands organiques.

Troisième partie

Mécanisme de rétention du cuivre sur de la tourbe : approche spectroscopique

Chapitre 8

Spectroscopie EXAFS

8.1 Introduction

La spectroscopie EXAFS (Extended X-ray Absorption Fine Structure) est une technique analytique moderne de spectrométrie des rayons X qui sonde l'environnement structural d'un atome absorbeur jusqu'à une distance pouvant aller jusqu'à environ 5-6 Å. De plus, cette technique analytique permet d'estimer l'état de valence de l'atome absorbeur, mais aussi, pour chaque couche atomique proche, le nombre de coordinence, le type d'atome et leurs distances par rapport à l'atome absorbeur.

Les oscillations EXAFS ont été observées pour la première fois en 1920 par Fricke et Hertz. Mais il a fallu attendre les années 1970 pour que [Sayers et al. \(1971\)](#) établissent les premiers modèles mathématiques, reflétant la réalité physique de ces oscillations. Cette technique a connu un développement important ces 30 dernières années suite à l'apparition dans les années 1980 du rayonnement synchrotron. Le rayonnement synchrotron est un rayonnement électromagnétique émis par des électrons ou positrons tournant dans un anneau de stockage.

Les applications de la spectroscopie EXAFS sont multiples en chimie, en physique des matériaux et des surfaces, en catalyse et en biologie. Aujourd'hui, cette technique analytique est considérée comme un outil indispensable pour la détermination précise de la spéciation des ET dans les matrices naturelles.

L'objet de ce chapitre n'est pas de détailler toute la théorie de l'absorption X, mais de donner au lecteur les clés nécessaires pour comprendre le principe et la mise en oeuvre de cette méthode. Pour de plus amples informations, le lecteur pourra se reporter aux monographies, dont celui de [Teo \(1986\)](#).

8.2 Principe et utilisation

L'absorption d'un photon incident X par un atome absorbeur (Cu ou Zn dans notre cas) à une énergie E proche de l'énergie K (noté E_0) de l'atome absorbeur éjecte un des deux électrons de coeur de l'atome absorbeur vers le continuum interatomique situé au dessus du niveau Fermi. De par la dualité onde-particule, l'électron sortant peut être vu comme une onde électronique sphérique. Cette onde est alors diffusée par les atomes environnants, qui, d'après le principe de Huygens-Fresnel, vont émettre à leur tour une onde sphérique qui va interférer avec l'onde incidente. L'interférence qui en

résulte module le coefficient d'absorption $\mu(E)$ de l'atome émetteur :

$$\mu(E) = \ln \frac{I_0(E)}{I_t(E)} = \frac{I_f(Kd)}{I_0(E)} \quad (8.1)$$

où $I_0(E)$ l'intensité du faisceau incident à l'énergie E , $I_t(E)$ l'intensité de rayonnement transmis à l'énergie E , et $I_f(E)$ l'intensité du rayonnement fluorescé à l'énergie Kd .

La mesure de $\mu(E)$ en fonction de l'énergie incidente E au voisinage du seuil K d'absorption donne le spectre d'absorption des rayons X. Le spectre EXAFS est contenu dans le spectre d'absorption X et extrait par un traitement mathématique.

En pratique, on définit trois régions caractéristiques :

1. *Quand $E < E_0$* : la transition d'un électron du niveau de coeur vers des niveaux externes n'est pas encore possible. Le coefficient d'absorption mesuré décroît de façon monotone jusqu'à ce que l'énergie du photon X atteigne la valeur de seuil E_0 .
2. *Quand $E \approx E_0$* : le coefficient d'absorption augmente de façon brutale. Ce pic correspond au passage d'un électron de coeur vers des états vides situés au dessus du niveau de Fermi. Ce domaine est appelé XANES (X-Ray Absorption Near Edge Structure).
3. *Quand $E > E_0$* : l'énergie du photon incident est assez grande pour éjecter un électron vers le continuum interatomique avec l'énergie cinétique $E_c = E - E_0$. Le coefficient d'absorption mesuré comporte des modulations d'amplitude décroissante correspondant aux interactions entre l'onde électronique qui sort de l'atome émetteur et les ondes électroniques diffusées par les atomes voisins. Ces oscillations vont alors s'amortir jusqu'à ce que le coefficient d'absorption redevienne monotone. Ce domaine est appelé EXAFS (Extended X-Ray Absorption Fine Structure)

Dans un milieu hétérogène, la spectroscopie d'absorption X est un outil sensible à l'ordre local ($\approx 5 \text{ \AA}$) ; elle ne permet pas d'accéder à l'ordre moyen et donc aux distances $> 6 \text{ \AA}$ à cause du libre parcours moyen limité de l'électron éjecté. Contrairement à la diffraction, cet outil analytique est bien adapté à l'étude des composés amorphes et mal cristallisés. Cette technique est également spécifique d'un élément, ce qui est très avantageux pour l'étude des systèmes naturels polymétalliques et polycristallins. De ce fait, on considère souvent l'EXAFS comme une sonde locale chimiquement sélective ([Manceau et al., 2002](#)).

8.3 Formulation mathématique

Les oscillations EXAFS sont extraites d'un spectre d'absorption X par la formule :

$$\chi(E) = \frac{\mu(E) - \mu_0(E)}{\mu_0(E) - \mu_c(E)} \quad (8.2)$$

où $\mu(E)$ est le coefficient d'absorption totale à l'énergie d'absorption E ; $\mu_0(E)$ le coefficient d'absorption atomique de l'atome absorbeur, c'est à dire l'absorption qu'aurait cet atome en l'absence de voisins ; $\mu_c(E)$ le coefficient d'absorption avant seuil ou fond continu dû aux autres atomes constitutifs de l'échantillon. Dans la pratique, $\mu_c(E)$ s'obtient en extrapolant l'absorption linéaire mesurée avant seuil par une fonction polynomiale. $\mu_0(E)$ est déterminé en simulant l'absorption atomique après seuil par une fonction spline, constituée par des polynômes du troisième degré adjacents.

Les paramètres structuraux sont déduits de la fonction d'interférence $\chi(E)$ à partir de la Règle d'Or de Fermi. Cette règle relie le coefficient d'absorption $\mu(E)$ aux paramètres structuraux dans une transition dipolaire. Cette relation est donnée par la formule :

$$\mu(E) = \frac{4\pi n e^2}{\hbar c} \times \sum \left| \langle i | |\vec{E} \cdot \vec{r}| | f \rangle \right|^2 \times \delta(E_i + \hbar \omega - E_f) \quad (8.3)$$

où n est la densité d'atomes considérés ; $|i\rangle$ la fonction d'onde de l'électron dans l'état initial ; $|f\rangle$ la fonction d'onde de l'électron dans son état final ; $|\vec{E} \cdot \vec{r}|$ l'hamiltonien d'interaction rayonnement-matière ; e la charge de l'électron ($-1.60217653 \times 10^{-19}$ C) ; c la vitesse de la lumière.

Dans un deuxième temps, on convertit l'énergie E en vecteur d'onde k par la relation :

$$k = \sqrt{\frac{2m_e}{\hbar^2}(E - E_0)} \quad (8.4)$$

où m_e est la masse de l'électron ($9.10938215 \times 10^{-31}$ kg) ; E l'énergie du photon incident ; E_0 l'énergie K du seuil de l'atome absorbeur ; \hbar la constante de Planck réduite (1.054×10^{-34} J.s).

Finalement, en combinant les équations 8.2, 8.3 et 8.4, il est possible de relier les oscillations EXAFS $\chi(k)$ aux paramètres structuraux, dans le formalisme d'onde sphérique et de diffusion simple :

$$\chi(k) = -S_0^2 \sum_i \frac{N_i}{k R_i^2} |f_i(\pi, k)| e^{-2\sigma_i^2 k^2} e^{\frac{-2R_i}{\lambda(k)}} \sin[2kR_i + \varphi_i(k) + 2\delta_C(k)] \quad (8.5)$$

où S_0^2 le terme de réduction d'amplitude dû aux effets multi-électroniques ; N_i le nombre de voisins de type i situés à la distance R_i ; $|f_i(\pi, k)|$ l'amplitude de rétrodiffusion de l'atome i ; σ_i le facteur Debye-Waller dans l'approximation d'une distribution Gaussienne des distances interatomiques, ce terme comprend un terme de désordre statique (distribution des distances) et dynamique (agitation thermique) ; λ le libre parcours moyen de l'électron, ce terme prend en compte les processus de diffusion inélastique du photoélectron par les électrons de valence ; $\delta_C(k)$ la fonction de déphasage de l'atome central ; $\varphi_i(k)$ la fonction de déphasage de l'atome rétrodiffuseur.

8.4 Analyse des données expérimentales

8.4.1 Extraction des spectres EXAFS et transformée de Fourier

L'extraction d'un spectre EXAFS à partir d'un spectre d'absorption se fait selon la procédure décrite ci-dessus. On peut noter que pour comparer un même jeu de données, il est important de choisir la même valeur E_0 pour tous les spectres. De plus, dans certains cas il est intéressant de multiplier la fonction $\chi(k)$ par k^n ($n = 1, 2$ ou 3) selon la région du spectre que l'on veut privilégier.

Une transformée de Fourier peut être appliquée à la fonction $k^n \chi(k)$ afin de passer de l'espace réciproque en Å^{-1} à l'espace réel en Å . Comme le domaine en k de $\chi(k)$ est limité ($2 \text{ Å}^{-1} \leq k \leq 14 \text{ Å}^{-1}$) alors que le domaine d'intégration de la transformée s'étend de $0 \leq k \leq +\infty$, les effets de coupure entraînent la présence de lobes sur le module de la transformée de Fourier qui n'ont pas de signification structurale. Pour atténuer ces pics parasites, on pondère $\chi(k)$ par une fenêtre d'apodisation minimisant les effets de coupure. La fenêtre de Kaiser est le plus souvent utilisée. La fonction de distribution radiale (FDR) ainsi obtenue, qui est le module des parties réelles et imaginaires de la TF, permet de visualiser la distribution des couches atomiques autour de l'atome absorbeur. Il

faut noter que les distances que l'on obtient sur la FDR sont décalées par rapport aux distances réelles à cause des termes de déphasages φ_i et δ_C (équation 8.5). Ce décalage (ΔR) est fonction de la distance, et surtout de la nature de chaque voisin, puisque φ_i dépend de la nature de la couche atomique.

8.4.2 Détermination de la structure locale de l'atome absorbeur

Dans la pratique, il existe deux méthodes pour déterminer les paramètres structuraux d'une espèce géochimique à partir de son spectre EXAFS.

8.4.2.1 Simulation numérique

La première méthode consiste à simuler numériquement la fonction $\chi(k)$ expérimentale par son expression théorique. Cette simulation donne accès à la nature et au nombre de voisins, aux distances interatomiques réelles R et aux facteurs de Debye-Waller σ_i de chaque couche atomique. Cependant, pour utiliser cette méthode, il est indispensable de connaître les libres parcours moyens $\lambda(k)$ pour chaque couche atomique, les fonctions d'amplitude de rétrodiffusion $|f_i(\pi, k)|$ et de déphasage $\varphi_i(k)$ de chaque atome i , et la fonction de déphasage de l'atome central $\delta_C(k)$. Ces termes peuvent être soit extraits à partir de spectres de composés de référence, soit calculés de façon théorique grâce au programme FEFF8 qui calcule *ab initio* tous ces paramètres.

Le plus souvent, la simulation numérique ne se fait pas sur le spectre total, mais sur seulement une partie ($R \leq 6 \text{ \AA}$). Pour cela, la contribution $\chi_i(k)$ de chaque couche atomique est filtrée par TF. Le nombre de paramètres ajustés ne doit pas dépasser le nombre de points indépendants P_i donné par la formule de Nyquist :

$$P_i = \frac{2\Delta k \Delta R}{\pi} \quad (8.6)$$

où Δk et ΔR sont les fenêtres de filtrage par TF dans l'espace réciproque (Δk) et réel (ΔR) pour la couche considérée.

8.4.2.2 Analyse par Composante Principale

La deuxième méthode utilise l'analyse par composante principale. Le faisceau des rayons X arrivant sur un échantillon a , selon la ligne de lumière utilisée, un diamètre compris entre $5 \text{ }\mu\text{m}$ (on parle alors micro-absorption X) et $300 \text{ }\mu\text{m}$ (on parle alors d'EXAFS de poudre). Or, les associations géochimiques ont souvent une taille proche du micron. Par conséquent, le spectre EXAFS de poudre est la somme de spectres d'espèces individuelles. Les spectres de ces espèces peuvent être obtenus en analysant par composante principale un ensemble de spectres dans lesquels le pourcentage des espèces individuelles varie.

Brièvement, l'ACP est une méthode mathématique d'algèbre linéaire qui consiste à décomposer une matrice $m \times n$ dans un espace orthonormé appelé espace propre constitué de n vecteurs propres. Le nombre de pôles permettant de reconstruire les n spectres initiaux est égal au nombre minimal (j) de vecteurs propres indispensables (dans un sens à définir) à la reconstruction de tous les spectres initiaux. Une fois le nombre j de pôles choisi, il s'agit d'identifier leur nature. Une méthode consiste à enregistrer les spectres EXAFS de ces pôles et à les tester par Target Transformation, c'est-à-dire de vérifier s'ils appartiennent bien à l'espace initial. Pour de plus amples informations sur l'utilisation de l'ACP en spectroscopie EXAFS, le lecteur pourra se reporter aux publications suivantes : [Wasserman et al. \(1999\)](#) et [Manceau et al. \(2002\)](#).

Ensuite, les spectres EXAFS expérimentaux sont reconstruits par une combinaison linéaire des spectres de références identifiés par Target Transformation. *In-fine*, on obtient la proportion, généralement à 10 % près, des espèces pures contenues dans chacun des n spectres EXAFS. Cette méthode nécessite de posséder une grande base de données de spectres EXAFS de composés de références.

Chapitre 9

The nature of Cu Bonding to Natural Organic Matter

Résumé de l'article

Pour des raisons encore assez obscures, la biogéochimie du cuivre est en grande partie contrôlée par ses interactions avec la matière organique (MO). L'affinité du cuivre pour les composés carbonés proviendrait de la formation de chélates avec un groupement carboxyle terminal et un groupement carboxyle, amine ou hydroxyle porté par un carbone en position α . Ces chélates seraient semblables au complexe planaire $\text{Cu}(\text{glatamate})_2$, dans lequel le cuivre est coordonné à l'oxygène carboxylique et à l'azote aminé de la molécule $\text{NH}_2\text{-R-COOH}$ avec une distance de liaison moyenne de 1.94 Å. Ce modèle a été affiné par spectroscopies XANES et EXAFS, complétées par des calculs d'équilibre thermodynamique et des considérations structurales et stériques. A faible concentration (entre 100 - 300 ppm de cuivre), le chélate Cu- MO ressemble davantage au complexe $\text{Cu}(\text{malate})_2$ (OH-R-COOH) qu'au complexe $\text{Cu}(\text{glatamate})_2$, et à haute concentration (> 300 ppm), le meilleur accord avec les données a été obtenu avec le complexe $\text{Cu}(\text{malonate})$ (COOH-R-COOH). Le malate est un meilleur complexant que le malonate car il forme avec le cuivre un cycle à 5 atomes au lieu de 6 avec les acides dicarboxyliques. Ces deux types de chélates sont en accord avec les modèles récents de structure des MO obtenus par spectroscopies infrarouge et RMN. Dans les modèles proposés, les fonctions COOH et OH sont portées majoritairement par des carbones aliphatiques et non aromatiques du type salicylate, phthalate et benzoate.

The Nature of Cu Bonding to Natural Organic Matter

Alain Manceau and Anthony Matynia^{1,2}

¹ Mineralogy & Environments Group, LGCA, Université Joseph Fourier and CNRS, 38041
Grenoble cedex 9 France

² Phytorestore – Site et Concept, 7 impasse Milord, 75018 Paris, France

Article in draft. Version: February 6, 2009

Index terms: EXAFS, Copper, PCA, organic matter, peat, humic acid, fulvic acid

Abstract

Copper biogeochemistry is largely controlled by its bonding to natural organic matter (NOM) for reasons not well understood. Formation of chelate-type complexes with carboxyl, and amine or hydroxyl groups attached to an α carbon, has been demonstrated recently, and modeled with $\text{Cu}(\text{glutamate})_2$, a five-membered chelate ring amino acid with square planar coordination of $\text{Cu}(\text{II})$ and a mean bond length of 1.94 Å. Using XANES and EXAFS spectroscopy, along with supporting thermodynamic equilibrium calculations and structural and steric considerations, we show evidence for five-membered $\text{Cu}(\text{malate})_2$ -like ring chelate at 100-300 ppm Cu concentration, and six-membered $\text{Cu}(\text{malonate})$ -like ring chelate at higher concentration. A "structure fingerprint" is defined for the 5.0 - 7.0 Å⁻¹ EXAFS region which is indicative of the ring size and number (i.e., mono- vs. bis-chelate), and the distance and bonding of axial oxygens (O_{ax}) perpendicular to the plane formed by the four equatorial oxygens (O_{eq}) at 1.94 Å. The weaker malonate-type chelate is a C₃ dicarboxylate, and the stronger malate-type chelate a C₄ dicarboxylate. The malate-type chelate owes its superior binding strength to an -OH for -H substitution on the α carbon, thus offering additional binding possibilities. The two new model structures are consistent with the majority of carboxyl groups being clustered and α -OH substitutions common in NOM, as shown by recent infrared and NMR studies. The high affinity of NOM for $\text{Cu}(\text{II})$ is explained by the abundance and geometrical fit of the two types of structures to the size of the equatorial plane of $\text{Cu}(\text{II})$. The weak binding abilities of functionalized aromatic rings also is explained because malate-type and malonate-type structures are present only on aliphatic chains. For example, salicylate is a monocarboxylate like malate, but it forms a six-membered chelate instead of a five-membered because the OH substitution is in β position. Similarly, phthalate is a dicarboxylate forming an unfavorable high strained seven-membered chelate.

Five-membered $\text{Cu}(\text{II})$ chelates can be anchored by a thiol α -SH substituent instead of an alcohol α -OH, as in thio-carboxylic acids. This type of chelate is seldom present in NOM, but forms rapidly when $\text{Cu}(\text{II})$ is photoreduced to $\text{Cu}(\text{I})$ at room temperature under the X-ray beam. When the sample is wet, exposure to the beam can reduce $\text{Cu}(\text{II})$ to $\text{Cu}(\text{0})$. Chelates with an α -amino substituent were not detected, suggesting that malate-like α -OH dicarboxylates are stronger ligands than amino acids, in agreement with the strong electronegativity of the COOH clusters. However, aminocarboxylate $\text{Cu}(\text{II})$ chelates may form after saturation of the strongest sites, and could be observed in NOM fractions enriched in proteinaceous material. Our results support the following propositions:

- The ligand strength follows this order: oxalate-type C₂ dicarboxylate > citrate-type C₆ tricarboxylate with α -OH > malate-type C₄ dicarboxylate with α -OH > malonate-type C₃ dicarboxylate > succinate-like C₄ dicarboxylate \approx phthalate-like C₄ dicarboxylate > salicylate-like monocarboxylate with β -OH > furancarboxylate-like monocarboxylate.

- Most stable Cu-NOM chelates are formed with closely-spaced carboxyl groups and hydroxyl donors in α position; oxalate-type ring chelates are not observed.

- Cu(II) bonds carboxyl oxygens to the heuristic distance of 1.94 ± 0.01 Å, compared to 1.97 Å in water. This shortening increases the ligand field strength, and hence the covalency of the Cu-O_{eq} bond and stability of the chelate.

- The chelate is further stabilized by the bonding of axial oxygens with intra- or intermolecular carboxyl groups.

- Steric hindrances in NOM are the main reason for the absence of Cu-Cu interactions, which otherwise are common in carboxylate coordination complexes.

1. INTRODUCTION

The biogeochemistry of copper is largely controlled by its interactions with natural organic matter (NOM), not so much because of its abundance and polyfunctional character, as because of its remarkable affinity towards Cu(II) relative to other divalent cations (BENEDETTI et al., 1996; HERING and MOREL, 1988; KINNIBURGH et al., 1999; KOGUT and VOELKER, 2001; LEENHEER et al., 1998; MCBRIDE et al., 1997; MCLAREN et al., 1983; RAMOS et al., 1994; SANTOS-ECHEANDIA et al., 2008; TOWN and POWELL, 1993). The strong binding ability of NOM for Cu(II) likely results from the excellent size-match between the cupric ion and one or several ligands. The copper ligands should be well-defined structurally and chemically, and also numerous because NOM has a high sorption capacity and selectivity for Cu(II) over a large concentration range (COVELO et al., 2004; GAO et al., 1997). Since carboxylate moieties make the large majority of reactive sites below pH 7 in NOM, and can form a vast number of synthetic coordination complexes with Cu(II) (MELNIK et al., 1998a; MELNIK et al., 1999; MELNIK et al., 1998b), the strongest bonds should be with carboxyl ligands (BOYD et al., 1981; SPOSITO et al., 1979). The predominance of oxygen ligands does not exclude other electron donors from being involved in Cu bonding, such as nitrogen as suggested by electron spin resonance (ESR) spectroscopy (BOYD et al., 1983; LUSTER et al., 1996; SENESI et al., 1985; SENESI and SPOSITO, 1984). From potentiometric titration the most likely ligands are dicarboxylate (malonate, $\log K = 5.04$), mixed alcohol-carboxylate (citrate, malate, $\log K = 3.70$ and 3.63), and amino-carboxylate (glutamate, $\log K = 8.32$) groups attached to aliphatic chains (Fig. 1, Table 1) (CROUÉ et al., 2003; GREGOR et al., 1989a; GREGOR et al., 1989b; TOWN and POWELL,

1993). Aromatic dicarboxylate (phthalate, $\log K = 3.22$), alcohol-carboxylate (salicylate, $\log K = 2.22$ for $\text{pH}=5$), and furan carboxylate (furanate, $\log K = 1.10$) ligands are less likely, because they have weaker binding strengths than aliphatic ligands. This interpretation is reinforced by infrared spectroscopy and two-dimensional NMR which showed that carboxylate moieties with -COOH, -OH, or -OR substituents on the α carbon from aliphatic chains constitute the majority of carboxyl structures, with the less reactive salicylate and furan-carboxylate aromatic structures (DESHMUKH et al., 2007; HAY and MYNENI, 2007). Therefore, malonate, citrate/malate, and amino acid structures most likely play an important role in Cu(II) chelation. Although stability constants can be used to predict the a priori nature of Cu(II)-NOM complexes, they do not provide unequivocal information on the true bonding environment of the metal in real natural systems. They are, however, extremely valuable to make educated choice from geochemical calculations on the relevance of model compounds used in structural studies.

Using XANES and EXAFS spectroscopy, and Cu-glutamate as best-fit structural analog, Karlsson et al. (2006) showed that Cu(II) forms a five-membered chelate ring with one amino nitrogen ($\alpha\text{-NH}_2$) or alcohol oxygen ($\alpha\text{-OH}$) and one carboxylate oxygen from an α -substituted aliphatic carboxylic structure (Fig. 1). Copper is bridged to four O/N ligands (CuL₂ complex) in a square-planar geometry at low metal concentration, and to two (CuL complex) at higher concentration. Today the glutamate-like model is the most detailed, but despite its own merit the topic is far from being exhausted. Here are some remaining open questions, which are addressed in this article:

. Is it possible to distinguish oxygen from nitrogen ligands, at least at low Cu concentration when heterogeneity is minimum?

. What are the limits of the glutamate model? Does it always provide an adequate fit to EXAFS data? Since NOM contains several well-defined types of carboxyl structures with specific protonation constants, the coordination mode of Cu(II) should vary with pH, metal to ligand ratio, and chemical composition of the NOM.

. At medium and high Cu concentration, can the data be modeled by a mixture of discrete ligands, and how many are needed?

Handling these questions rests upon three foundations, (i), being able to detect small variations of the local structure about Cu atoms up to approximately 4 Å (i.e., second C atomic shell), and over two orders of magnitude in concentration (i.e., Cu/C ratio), (ii), to determine from a large dataset of multicomponent spectra the number of independent patterns (or "principal components", PCs), which represents the number of identifiable Cu binding environments (i.e., species) present in the

set of spectra, (iii), and to have a spectral database of references of known identity and structure, which includes all distinct binding environments seen by EXAFS and plausibly present in NOM.

The first requirement was met by recording the data at liquid helium (LHe) temperature to enhance the signal from higher atomic shells by reducing the lability of organics, and using a high-flux spectrometer at the European Synchrotron Radiation Facility (ESRF) equipped with a 30-element Ge detector for the study of highly diluted samples (concentration range 100 - 6500 mg/kg) (PROUX et al., 2006). The significant number of independent patterns accounting for 90–95 % of variance in the dataset was determined with principal component analysis (PCA) (MANCEAU et al., 2002; RESSLER et al., 2000; WASSERMAN et al., 1999). Here, linear algebra can be used for quantification because the EXAFS response from a multispecies sample is the weighted-superposition of the response of each species present in the sample (MANCEAU et al., 1996). The PCs obtained from the PCA do not resemble real spectra, but the single species spectra which make up the multicomponent spectra in the dataset are linear combinations of PCs. Thus, the spectra of all unknown species contained in the sample can be identified from a database by target transformation, provided the unknown is present in the library of reference spectra. Target transformation can be regarded as an advanced fingerprint approach. It goes beyond the usual fingerprint approach because all the dataset is analyzed at once in a statistically meaningful way. In total, eight crystalline Cu-organic compounds were synthesized and their purity verified by X-ray diffraction, and six Cu-organic aqueous complexes were prepared and their spectra recorded as liquid or frozen solutions. The database contained all plausible Cu(II) species discussed in the literature.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Sample preparation

2.1.1. Sample from the laboratory

All samples from laboratory were synthesized following the same protocol. A known mass (\approx 0.1 g) of humic acid (HA), fulvic acid (FA) and dissolved organic matter (DOM) from *sphagnum* peat (SP) and *carex* peat (CP) peat were agitated for 4h in 50 mL of NaNO₃ (0.1 M) at 293 K. A known volume of CuSO₄ solution (1 – 100 ppm) were then added. After equilibration (3h), the solid matrices were separated from the solution by filter paper (10 μ m). The solids were lyophilised and stored in darkness. Total copper in each sample was determined by ICP-AES.

2.1.2. Reference

The references were synthesis by following the protocol given in the articles (figure 1). Each crystal obtained was checked by diffraction.

2.2. EXAFS Analysis

Powder Cu K-edge EXAFS spectra were measured at 10 K or at room temperature 10 K on beamline FAME at the European Synchrotron Radiation Facility (ESRF, Grenoble, France) in fluorescence mode using a 30-element solid-state Ge detector (Canberra) for the least concentrated samples ($[Cu] < 10\ 000\ \text{mg kg}^{-1}$). Radiation damage was minimized by moving the sample by 300 μm along the direction of the sample to access fresh material for every scan. Caution was taken that all individual spectra averaged out before summing to improve statistics. The spectra presented are the sum of 2-12 scans of about 40 min each, depending on Cu concentration.

3. RESULTS

3.1. XANES

3.1.1. References

When Cu is monovalent and coordinated to O (e.g., Cu_2O), a well-defined absorption feature from the 1s to $4p_{x,y}$ transition occurs at 8982 eV (KAU et al., 1987) (Fig. 2a). This feature is less salient when Cu(I) is coordinated to S (e.g., CuS), because of the filling of the Cu 4p orbitals by electrons from the ligand 3s orbitals (3s-4p mixing). When S is bonded to Cu(II) (e.g., CuS) instead of Cu(I), it occurs at higher energy (8986 eV) because of the chemical shift of the 1s core level of Cu(II) relative to Cu(I). The high degree of covalency of the Cu-S bonds in these two sulfurs produces spectra with similar shapes. Divalent Cu coordinated to six (4+2) O/N in tetragonal configuration (Jahn-Teller distortion; Cotton et al., 1999) gives an intense absorption maximum ('white line') at 8996 eV from the 1s to continuum transition, and two weak features at 8978 eV from the 1s to 3d transition and ~ 8988 eV from the 1s to $4p_z$ transition with simultaneous ligand-metal charge-transfer shakedown transition (e.g., malachite $\text{Cu}_2(\text{OH})_2\text{CO}_3$) (BAIRD and AL., 1982; GRUNES, 1983; HAHN et al., 1982; KOSUGI et al., 1984). Since the $4p_z$ orbital is oriented along the elongation axis of the Cu(II) pseudo-octahedron, this transition can be used to estimate the extend of the tetragonal distortion caused by the Jahn-Teller effect (DUPONT et al., 2002; FRENKEL et al., 2000). When Cu is bonded to both S and O, as in thiolactate, the covalent Cu-S bond contributes intensity at 8982 eV and at higher energy with absorbance intermediate between the Cu-S and Cu-O

references. All these results are consistent with earlier studies and for more detailed analysis of Cu XANES spectra in terms of symmetry of the Cu-O and Cu-S bonds, the reader can consult the article by Kau et al. (1987).

3.1.2. Samples

Except for a few cases, all samples have a XANES typical of Cu(II) with a six-fold coordination by O/N donors (regardless their protonation) in a tetragonally-distorted environment, as illustrated in Figure 2b with SPDOM10 and ESHA200. The splitting of the 4p orbitals is 5.5 eV (Fig. 3), corresponding to an apical Cu-O bond length of about 2.35 Å compared to about 1.95 Å for the equatorial distances (DUPONT et al., 2002). Distinctive coordination environment was identified in the SP peat samples SP10 and SP13 (Fig. 2c). Their spectra is characterized by a sharp peak at 8983 eV, an absorbance in the rising part of the edge shifted in direction of thiolate, and an edge maximum ~0.5 eV below the maximum of the Cu(II)-O complexes. These two spectra look composite and could be reproduced with linear combinations of 50% SPDOM10 + 50% thiolacte (SP10) and 55% SPDOM10 + 45% thiolacte (SP13). Sulfur bonds also were detected in the air-dried DOM and HA fractions of the SP peat, but only at low concentration and room temperature (SPDOM10_RT, SPDOM30_RT, and SPHA20_RT) (Figs. 2d, 3). The proportion of the Cu-S pairs increased with time during measurements at RT, while the spectra for these samples were essentially immune to exposure time at 10° K. Thus, these pairs were not present in the initial samples and formed under the beam. Divalent copper has a low standard electrode potential, and thus can be easily reduced in solution to Cu(I) and even elemental Cu by free electrons, radicals, H₂, and other species derived from the radiolysis of water by ionizing X-rays (MESU et al., 2006). Here, the Cu-S bonds were probably generated subsequently to the production of Cu(I) because this species has a high thiophilicity similar to Hg(II) (DANCE, 1986; WRIGHT et al., 1990). The two DOM samples have a higher proportion of Cu-S bonds than SPHA20_RT, consistent with the higher hygroscopic properties of these small water-soluble humic-like organics, and with the higher amount of sulfur in this fraction (1.13 vs. 0.26 wt. %, Table 2).

To test this hypothesis, the two most damageable SPDOM10 and SPDOM30 samples were analyzed in moist state and a two-times higher flux density with micro-XANES spectroscopy (MARCUS et al., 2004). Under this intense beam, Cu(II) to Cu(I) reduction in SPDOM10 began after a few minutes of exposure time, and the amount of Cu-S bonds increased during the first two hours of measurements (Fig. 2f). Longer dwells led to the apparition of Cu⁰. In SPDOM30, Cu(II) was reduced directly to Cu⁰ within minutes, without evidence for intermediate formation of Cu(I) (Fig.

2g). After several scans on the same spot, small displacement of the sample in the X-ray spot and reexamination showed little reduction, indicating that the effect was limited to the X-ray footprint. SPHA20 was examined also by micro-XANES, but in dried state. Some Cu(I) formed after ~30 minutes exposure time, but the kinetics of reduction was much lower than with SPDOM and never was Cu⁰ detected. Overall, these results show that Cu(II) bound to organics does not survive under high-flux conditions, the reduction rate and nature of the end-product are variable and related among other factors to exposure time, sample humidity, Cu/S ratio, and total Cu. In a study on the binding of Cu(II) to aquatic humic substances, Frenkel et al. (2000) observed at low Cu/C ratio an intriguing feature at about 8979 eV, which they assigned to Cu-N bonds. The same feature was reported by Karlsson et al. (2006) on low-Cu DOM prepared as wet paste, also providing suggestive evidence for the involvement of N-containing functional groups in the first coordination shell of Cu(II). From our results, this feature is most likely an adverse effect.

3.2. EXAFS

3.2.1 References

Copper(II) carboxylates is a large and structurally diverse class of compounds comprising monomeric, dimeric, and polymeric structures, and occasionally amine nitrogen and thiolate sulfur ligands in addition to the predominant carboxyl ligands (Melnik, 1998a, b, 1999). In addition, carboxyl anions can act as monodentate and bidentate ligand, and five-, six- or higher membered ring chelate (Fig. 4). For steric reasons, the first C shell (C1) is closest to Cu in bidentate complex. From the survey of crystallographic data, this atomic shell is at 2.6 to 2.7 Å for this complex, and from 2.8 to ~3.3 Å in monodentate complex and ring chelates (*Table 3 in preparation*). In five-membered rings, the C1 shell counts two atoms at the split distance of 2.7-2.8 Å (C1a) and 2.8-2.9 Å (C1b), except in the highly symmetrical β -CuC₂O₄•0.4H₂O oxalate complex where the two C atoms are at 2.70 Å. In six-membered rings, the C1a and C1b atoms are at 2.8-3.0 Å, and the third ring-forming C atom (C2) forms a distinct shell at 3.2-3.3 Å. This Cu-C distance is diagnostic of this type of environment, because the second C shell is at ~4.1 Å in bidentate and 3.7 – 5.0 Å in monodentate complexes. Therefore, monodentate, bidentate, and five- and six-membered coordination modes can be identified by EXAFS from the distances of the C1 and C2 shells. When a ring complex contains more than six atoms (i.e., more than 3 C), its dimension is too large to be distinguished from two monodentate complexes.

Practically, these complexes can be discerned by comparing the magnitude and imaginary parts of the Fourier transform (FT) from the EXAFS signal in the $[1.9 - 3.0 \text{ \AA}] R + \Delta R$ interval ($\Delta R \sim -0.4 \text{ \AA}$), as illustrated in Figure 4 with seven model compounds:

- Cu(II) bis(hydrogen o-phthalate)dihydrate ($\alpha\text{-Cu}(\text{C}_8\text{H}_5\text{O}_4)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (BARTL and KÜPPERS, 1980; CINGI et al., 1969; GOETA et al., 1993), a bis-bidentate complex, denoted as Cu[Bid]₂.
- Cu(II) bis(hydrogen o-phthalate)dinitrate dihydrate ($\text{Cu}(\text{C}_{16}\text{H}_8\text{O}_8)\text{Na}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, (CHEN et al., 2003), a bis-monodentate-bidentate complex, denoted as Cu[MonoBid]₂.
- Cu(II) di-malate in solution ($\text{Cu}(\text{malate})_2$), a bis-five-membered carboxyl complex, with a Cu bonding environment similar to the solid analog $\text{Cu}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_5)_2(\text{H}_2\text{O})_2$ (ZHANG, 2007a). This complex is denoted as Cu[5-O-ring]₂.
- bis-L-histidinecopper(II) dinitrate dihydrate ($\text{Cu}(\text{C}_6\text{H}_9\text{O}_2\text{N}_3)_2 \cdot 2(\text{NO}_3, \text{H}_2\text{O})$; (EVERTSSON, 1969), a bis-five-membered amino acid complex, denoted as Cu[5-O/N-ring]₂.
- Cu(II) di(hydrogen malonate) dihydrate ($\text{Cu}(\text{C}_6\text{H}_{10}\text{O}_{10})$, $\text{Cu}(\text{malonate})_2$) (LENSTRA and KATAEVA, 2001), a bis-six-membered carboxyl complex, denoted as Cu[6-O-ring]₂.
- Cu(II) bis-citrate ammonium ($\text{Cu}(\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7)_2(\text{NH}_4)_4$, (BOTT et al., 1991)), a bis-five-six-membered carboxyl complex, denoted as Cu[5/6-O-ring]₂.
- Cu(II) di-thiolactate in solution, a bis-five-membered sulfydryl/carboxyl complex, with a Cu bonding environment similar to that in Cu(II) ethylthioacetate (OGAWA et al., 1982). It is denoted as Cu[5-O/S-ring]₂.

The $>0.1 \text{ \AA}$ separation of the C1 distances in bidentate and monodentate/five-ring complexes is shown in Fig. 4a with the FTs of Cu[Bid]₂ and Cu[5-O-ring]₂. When the two coordinations coexist in the same structure, as in Cu[MonoBid]₂, then the second FT peak is a doublet, and its imaginary part and the EXAFS spectrum are intermediate between those of Cu[Bid]₂ and Cu[5-O-ring]₂ (Fig. 4b). Cu[6-O-ring]₂ has a peak at $2.8 \text{ \AA} R + \Delta R$, which is the signature of the C2 shell at $R \sim 3.32 \text{ \AA}$ (Fig. 4c). Citrate ion is a tridentate ligand, which acts as a 5-membered and 6-membered chelate by bridging Cu through two carboxyl O and one $\alpha\text{-OH}$. This configuration is characterized by an intense second peak and a C2 shell at 3.47 \AA (Fig. 4d). Divalent copper also forms stable five-membered heterocyclic complexes with N/O and S/O coordinating ligands, as in proteins (GAZO et al., 1976; OGAWA et al., 1982). Here, histidine was used as a representative of Cu(II) binding to amino N and carboxyl COOH groups. Since the Cu-N distance is on average slightly longer ($\sim 2.00 \text{ \AA}$) than the Cu-O distance ($\sim 1.95\text{-}1.96 \text{ \AA}$) (FREEMAN et al., 1964; ORPEN et al., 1994), the EXAFS frequency for this complex is shifted to the left and the position of the first FT peak to the right relative to Cu[6-O-ring]₂ (arrows in Fig. 4e). However, detecting Cu – N bonds in the presence of Cu – O interactions is generally difficult, because O and N have similar sizes and phase and

amplitude functions in EXAFS (CARRERA et al., 2004; D'ANGELO et al., 1998). Also, this EXAFS spectrum is from a single species (i.e., unique bonding environment), whereas in NOM it is from multiple binding configurations with a predominance of O ligands, at least at intermediate and high Cu concentration. When Cu is bonded to both O and S atoms, the shift in frequency of the EXAFS signal and position of the first FT peak is much higher, in virtue of the bigger size of S and stronger scattering properties (Fig. 4f). This coordination fingerprint is illustrated here with thiolactate, a thiolate-carboxylate bifunctional ligand like L-cysteine in proteins (BRIAND et al., 2004). Similarly to α -OH and α -NH₂ substituted carboxylates, thiolactate is a five-membered heterocyclic imposed by the α -SH substitution.

Thus, FTs exhibit shapes in the [1.9 – 3.0 Å] $R + \Delta R$ interval characteristic of the type, number and arrangement of atoms in the three first coordination shells of Cu(II) in carboxylates, giving a "structural fingerprint". This concept arises because the EXAFS is dominated in this interval by single scattering events, allowing deduction of $R + \Delta R$ distances of the O/N, C, and S shells directly from peak positions. Three-body Cu-O1-C1 multiple scattering (MS) contributions with effective path lengths of 3.1-3.4 Å are negligible because the scattering angle is always lower than 160° (D'Angelo et al., 1998). The other significant paths, such as O1-Cu-O1 in all planar complexes and Cu-C1-O2 in five-membered chelates, have a path length of ~3.9 Å, thus producing a FT peak at 4.4 Å $R + \Delta R$ outside the fingerprint window. The three-body contributions from monodentate, bidentate (Cu-C1-C2), and six-membered (Cu-C1-O3) complex have even higher path length, and seem to be too distant to give a distinctive peak on FTs.

3.2.2. Cu bonding in NOM

3.2.2.1. Number of identifiable structural configurations

Since NOM is a polyfunctional complexant, Cu is bonded likely to more than one functional group in proportions that may vary with the metal concentration, the complexation pH, and the chemical composition of organic matter, and thus its origin and extracted fraction. The EXAFS spectra of NOM are a weighted average of all Cu bonding environments present, and the weight of each separate spectrum from a given Cu-NOM complex likely vary from a sample to another. The number of Cu-NOM complexes identifiable by EXAFS spectroscopy in the sample series were evaluated by principal component analysis (PCA, also known as abstract factor analysis, (MALINOWSKI, 1991; MANCEAU et al., 2002; RESSLER et al., 2000; WASSERMAN et al., 1999), using three criteria:

- The amplitude of each component weighted by eigenvalues, which is directly related to how much of the signal the PC represents (i.e., % of variance).
- The variation of the fit total (normalized sum-square total, NSS-Tot) by successively including the next component to the reconstruction of the dataset.
- The indicator value (IND parameter) of each component, which is supposed to reach a minimum for the least significant component.

The PCA was performed in the [2.0 - 11.6 Å⁻¹] *k* interval on the complete set of EXAFS spectra from NOM collected at helium and room temperature (27 in total). The output parameters, including eigenvalues, the variance, IND, and NSS-Tot and its marginal variation for the six most significant abstract components are given in Table 4. The component spectra (i.e., the orthonormal eigenvectors) are shown in Figure 5, and the best linear reconstruction of all sample spectra with the two main components (PCs) in Figure S1. From visual inspection of all PCs, only the two first, and perhaps the third, have sufficient weight to appear EXAFS-like. The two first account for 94 + 4 = 98 % of the variance in the data, and deviations between data and reconstructions based on two components were very small with normalized sum-square (NSS) values from 0.01 to 0.081, and a NSS-Tot of 0.038. Inclusion of PC#2 to the one-component fit reduced NSS-Tot by 52 %, inclusion of PC#3 improved the two-component fit by 26 %, and inclusion of PCs #4, 5 and 6 improved the fit by a smaller and similar margin (12 to 14 %), indicating statistical noise only. Also, the decline of the eigenvalues from the PCA, which rank PCs according to their importance to reproduce a dataset, is discontinuous, decreasing steadily from the first to the second, and second to the third, component, and slowly afterwards reaching a quasi-plateau. The IND parameter also suggests three PCs, but this indicator is less reliable than the marginal decline of the eigenvalues and variance with the number of PCs (SARRET et al., 2004). Based on our experience, the two last parameters are less sensitive to spectral noise and provide better clear-cut discrimination among real and fictitious components. In summary, the 27 sample spectra can be reconstructed within errors with only three independent components, two being major and one minor, suggesting that the NOMs can be described quantitatively by variable amounts of essentially two to three well-defined and distinct bonding environments. The three generic configurations of Cu bonding to NOM are identified next by target transformation.

3.2.2.2. Types of structural configurations

In target transformation, a reference spectrum is tested by removing from it all signal not describable as a linear combination of the PCs (MANCEAU et al., 2002). The degree to which the

target transformed candidate really resembles the original reference spectrum is given by the SPOIL value. A high SPOIL means that the reference being tested cannot be described as a sum of the PCs and is therefore not a likely component of the dataset. Usually, references with SPOIL values < 1.5 are considered excellent, $1.5 - 3$ good, $3 - 4.5$ fair, $4.5 - 6$ poor and >6 unacceptable (MALINOWSKI, 1978). However, these limits are indicative only because the SPOIL value of a spectrum depends on the k interval of the calculation. In contrast to sum-sq, SPOIL increases when k_{\max} is diminished, which is counter intuitive. In fact the SPOIL parameter is more complicated than just a sum-sq. It tries in particular to take into account such things as the number of degrees of freedom, which changes with the length of the dataset, and the failure of the reconstruction, which is easier to detect at low k because in this region the residual is smooth and nearly noiseless (Fig. 6). To give an inkling of the variation of SPOIL with k_{\max} , its value was calculated in the extended [$2.0 - 11.6 \text{ \AA}^{-1}$] and reduced [$2.0 - 10.0 \text{ \AA}^{-1}$] k intervals for the seven references described previously and for CuS and oxalate. None of them fell into the SPOIL category excellent, but two in the good to fair category: Thiolactate (Cu[5-O/S-ring]₂; 1.9 - 2.3), and malonate (Cu[6-O-ring]₂; 2.9 - 4.2). Histidine (Cu[5-O/N-ring]₂; 4.2 - 5.7) and malate (Cu[5-O-ring]₂; 4.5 - 5.6) ranked just behind, suggesting the occurrence of some five-ring chelates in addition to the six-ring chelates. This interpretation is consistent with the fifth score obtained by citrate (5.1 - 6.0), because the two ring chelates coexist in this molecule (Fig. 4). Bidentate complexation (Cu[Bid]₂) is unlikely (7.5-11.3), but a same Cu atom may be monodentally and bidently coordinated to two separate ligands (Cu[MonoBid]₂; 5.8-7.8). With SPOIL values of 13.0 - 16.5 and 14.7 - 18.5, CuS and oxalate are clearly not a good structural models for the complexation of Cu on NOM.

3.2.2.3. Six-O-ring chelate

This bonding environment is the only one detected at intermediate and high Cu concentration, because it is by far the most abundant. The weighted-average EXAFS signal is dominated by this species, yielding a considerable similarity with the spectrum of malonate (Fig. 7a).

3.2.2.4. Five-O-ring chelate

This environment, suggested by the PCA, was identified in the three DOM samples (SPDOM10, SPDOM30, CPDOM30) at low temperature (Fig. 7b). The 5-O-ring spectrum differs in subtle but systematic and telling way from the 6-O-ring spectra in the [$5.2 - 7.4 \text{ \AA}^{-1}$] interval: the maximum amplitude is shifted to higher k values by 0.05 \AA^{-1} and the left side of the oscillation

contains a strong shoulder, instead of a faint hump in Cu[6-O-ring]₂ chelates (Fig. 8a). Analysis of CuL and CuL2 carboxylic complexes shows that the absorption shoulder at 5.8 Å⁻¹ is characteristic of 5-O-ring complex, and is more pronounced, dipping out at ~6.0 Å⁻¹, when Cu(II) is bridged to two rings vs. one, as in Cu(citrate)₂ and Cu(citrate) (Fig. 8b-f). This spectral fingerprint was reported previously for mono and bis α-amino acid complexes (OZUTSUMI et al., 1991). Data analysis by Fourier filtering shows that this wave beating results from the interference between SS (Cu ↔ Oeq and Cu ↔ Oax) and MS (Oeq ↔ Cu ↔ Oeq, Oax ↔ Cu ↔ Oax, Cu→C1→O3) paths within the 5-O-ring complex (Fig. 8g,h) (D'ANGELO et al., 1998). The SS and MS paths have a near-zero amplitude at ~5.8 Å⁻¹ and interfere destructively apart this value causing a small local beat pattern. In 5-O-ring complexes, the non-bonded O3 atom from the carboxyl group is nearly aligned with the Cu-C1 pair (Cu-C1-O3 angle ~160°), and thus its scattering amplified by a 'focusing effect' (FITTS et al., 1999). This path has about the same effective distance as the Oax ↔ Cu ↔ Oax path (3.9-4.0 Å), and they both add up. The Oeq ↔ Cu ↔ Oeq path is also intense because the two axial oxygens are perpendicular and equidistant from the equatorial plane formed by the two carbon rings. Data simulation showed that the Oax atoms are consistently at 2.33 +/- 0.02 Å from Cu in DOM and bis-ring chelates, and ~2.60 Å in bis-bidentate chelate (Cu[Bid]₂).

In reciprocal space, the Oax shell is phenomenologically reflected by the 0.05 Å⁻¹ shift of the maximum of the second EXAFS oscillation mentioned previously (Fig. 8a). The structure fingerprint of the Cu-Oax bond at ~2.33 Å appears even more clearly when the data are Fourier filtered between [1.0 - 2.7 Å], and simulated with the Oeq and C1 shells, the Oeq shell being excluded from the fit (Figure S2). In real space, the presence of two symmetric Cu-Oax pairs on both sides of the equatorial plane increases the signal amplitude at $R + \Delta R = 2.0-2.5$ Å (SS) and ~4.0 Å (MS, Fig. 7c). Shown also in this figure is the absence of C2 peak at 2.8 Å in 5-O-ring vs. 6-O-ring complex.

3.2.2.5. Five-(O,S)-ring chelate

Thiolactate-like Cu-NOM bonds were detected at low concentration in four samples: SP10, SP13, SPDOM10_RT, and SPDOM30_RT (Fig. 9a). None of these spectra were from pure species. The two LHe spectra were best fit with a linear combination of ~1/3 thiolactate + 2/3 malonate, and the two RT with ~1/2 thiolactate and 1/3 malonate (Fig. 9b, c). Since the two component spectra have about the same amplitude, the precision on each species is about 10 % total Cu (SARRET et al., 2004).

4. DISCUSSION

4.3.1. Nature of the five- and six-O-ring chelates

Despite the polyfunctional character of NOM and the many possibilities of binding sites and coordination geometries, all samples can be described with variable ratios of only three key model ligands, all single metal ring chelates: malate, malonate, and thiolactate. There was no hint under our experimental conditions for a dimerization of Cu, as observed for some phthalate, benzoate, acetate, and succinate molecular complexes (BROWN and CHIDAMBARAM, 1973; CINGI et al., 1970; CINGI et al., 1977; CINGI et al., 1978a; CINGI et al., 1978b; CINGI et al., 1979; DE MEESTER et al., 1973; KOIZUMI et al., 1963; O'CONNOR and MASLEN, 1996; PROUT et al., 1971; RODRIGUES et al., 1999). All experimental data could be fitted perfectly by assuming only mononuclear complex formation, in agreement with previous studies of NOM (ALCACIO et al., 2001; DAVIES et al., 1997; KARLSSON and SKYLLBERG, 2006; KORSHIN et al., 1998; LEE et al., 2005; STRAWN and BAKER, 2008; XIA et al., 1997). Today, the most elaborate structural model for the binding of Cu to NOM has been proposed by Karlsson et al. (2006). In this model, Cu(II) is bonded ideally to one 5-(O/N)-ring in soil organic matter, and two in DOM in virtue of the higher flexibility and adaptable conformation (i.e. lower sterical hindrance) of this organic imparted by its lower molecular weight. The (bis)chelate was assumed to be similar to Cu(glutamate)₂, an amino-acid which supposedly coordinates Cu through its amino and carboxyl groups forming a Cu[5-O/N-ring]₂ chelate like Cu(histidine)₂ (Fig. 1). It is unclear how unique was the glutamate model in the previous study because its spectrum was not shown, nor was its real structure discussed. Instead, Cu(II)-*N*-(phosphonomethyl) glycine (Cu(II)-PMG), a Cu[5/6-O-ring]₂ chelate containing a phosphate ligand, was used as a reference. Our data show that the binding environment of Cu(II) is more akin to that of α -OH substituted carboxylates than α -NH₂ substituted. The ambiguity on the nature of the ring-forming functional group (i.e., Cu[5-O/N-ring]₂ vs. Cu[5/6-O-ring]₂) can be clarified by examining the structure of the Cu-(glutamate)₂ complex postulated by Karlsson et al. (2006) as best-fit model for NOM. The structure of this complex was derived by EXAFS (FITTS et al., 1999) from a solution containing a mixture of glutamic acid and copper nitrate at pH 7.5, in which the bis(aminocarboxylato)copper(II)_{aq} isomer was assumed to be dominant. Evidence is given below that Cu(II) was likely coordinated to oxygen ligands only, not to oxygen and nitrogen as inferred in Fitts et al. (1999).

The Cu-O_{eq} and Cu-N structural distances of Cu-(glutamate)_{2aq} are unknown, but in the solid state they are 1.97 Å and 2.00 Å, respectively (GRAMACCIOLI and MARSH, 1966; MIZUTANI et

al., 1998). These values are typical for Cu(II) binding to amino acid crystals (ORPEN et al., 1994). For example, they are 1.95-1.96 Å and 1.98- 2.02 Å in Cu-(glycine)_{2(s)} (FREEMAN et al., 1964), 1.95 Å and 2.00 Å in Cu-aspartate_(s) (CALVO et al., 1993), 1.93-1.99 Å and 1.98-2.00 Å in Cu-(histidine)_{2(s)} (EVERTSSON, 1969). On average, the first shell O/N crystallographic distance is 1.98 Å. The same mean value was measured by EXAFS for CuL_{2aq}, with L = alanine, serine, threonine, proline, hydroxyproline, and histidine (OZUTSUMI et al., 1991). Therefore, the bond distances measured by diffraction on crystals and EXAFS on solutions are in close proximity, implying that they should be close to 1.97 Å and 2.00 Å in Cu-(glutamate)_{2aq}. Distinctive of aminocarboxylates, the Cu-O_{eq} crystallographic distances average out to 1.94 Å in the α -OH substituted carboxylates salicylate (HALL et al., 1965), malonate (LENSTRA and KATAEVA, 2001), malate (ZHANG, 2007b), lactate (PROUT et al., 1968), and gluconate (YODOSHI et al., 2006). Consequently, the mean first shell distance is 1.98 - 1.94 = 0.04 Å shorter in 5-O-ring (1.94 Å) than in 5-(O,N)-ring complexes (1.98 Å), thus allowing unambiguous discrimination between the two types of binding environments. However, and unexpectedly, 1.94 Å was also the value measured by EXAFS for Cu-(glutamate)_{2aq}, suggesting that Cu was coordinated to OH donors only, and the bis(aminocarboxylato)copper(II) isomer not the dominant species in the solution studied by Fitts et al. (1999). Therefore, the 1.94 Å Cu-ligand distance determined in this study, and previously by Karlsson (2006) and earlier investigators (ALCACIO et al., 2001; KORSHIN et al., 1998; LEE et al., 2005; XIA et al., 1997) is more consistent with a chelation by α -OH substituted carboxylate groups than amino acids. The accuracy of this heuristic value is probably as good as 0.01 Å because the same Cu-(H₂O)_{aq} bond length (1.97 Å) was used for calibration in the studies by Korshin et al. (1998), Fitts et al. (1999), and Karlsson et al. (2006).

Karlsson et al. (2006) found fewer C1 atoms in SOM than in DOM, which they interpreted as a decrease of the number of ring chelates from 2 to 1 (i.e., CuL₂ to CuL complex). In addition to the loss of C neighbors, the shoulder at $k = 5.8 \text{ \AA}^{-1}$ weakened, as confirmed here. Although reasonable, this interpretation does not account for the C2 shell at $R = 3.1 - 3.2 \text{ \AA}$ detected at LHe temperature in SOM at medium and high Cu concentration. These data are better described with a 6-O-ring model, as shown by the remarkable similarity between the spectra for malonate and SOM (Fig. 7a).

The 5-O-ring and 6-O-ring structures agree with the latest models of humics derived from infrared and NMR spectroscopy (DESHMUKH et al., 2007; HAY and MYNENI, 2007; LEENHEER et al., 1998; SIMPSON et al., 2001; STRATHMANN and MYNENI, 2004). Structural heterogeneity seems smaller than previously thought, since the majority of chelating structures consists of terminal

aliphatic carboxyl groups with –OH or –COOH for -H substitution on the carbon in α -position. Chelation with an α -OH yields a 5-membered ring, and chelation with an α -COOH a 6-membered ring (Fig. 4). Phthalate and salicylate structures, once assumed to be present in large quantities, are now considered fewer than previously imagined. In addition, aromatic carboxylic acids are weaker complexant than α -substituted aliphatic acids (Table 1), and thus unlikely ligands at low concentration, in agreement with the SPOIL values of the two Cu-phthalate references Cu[Bid]₂ (7.5-11.3) and Cu[MonoBid]₂ (5.8-7.8) (Fig. 6).

4.3.2. Thermodynamic stability of the O-ring chelates

Thermodynamic stability constants were used to evaluate the relative stabilities of monocarboxylate (lactate, malate, salicylate, furan-2-carboxylate), dicarboxylate (oxalate, malonate, succinate, phthalate) and amino acid (alanine, glutamate) ligands from their a priori concentrations in solution (Table 1). In addition, calculations were carried out for the following carboxylic acids to estimate the relative stabilities of five- and six-O-ring chelates:

- The α -OH isomer of lactic acid, a 5-O-ring C₃ monocarboxylate
- The β -OH isomer of lactic acid, a 6-O-ring C₃ monocarboxylate
- The α -OH isomer of hydroxybutanoic acid, a 5-O-ring C₄ monocarboxylate
- The β -OH isomer of hydroxybutanoic acid, a 6-O-ring C₄ monocarboxylate
- The γ -OH isomer of hydroxybutanoic acid, a 7-O-ring C₄ monocarboxylate
- Oxalate, a 5-O-ring C₂ dicarboxylate
- Malonate, a 6-O-ring C₃ dicarboxylate
- Succinate, a 7-O-ring C₄ dicarboxylate

For the same types of ligands, the stability decreases when the ring size increases from 5 to 7 (Table 1), consistent with coordination chemistry concepts (BELL, 1977; BURGESS, 1988; LAURIE, 1995). The number of alkyls in the chain is not a critical parameter, as long as the chelate structure is the same. Oxalate (4.85) and malonate (5.04) have log $K_{Cu,COOH}$ larger than those of α -, β -, and γ -OH hydroxybutanate, respectively, meaning that a second carboxyl is a better ligand than an hydroxyl. The gap in stability between malonate (dicarboxylate) and lactate (monocarboxylate) can be reduced by adding a second carboxyl in β position of the α -OH lactate isomer. This compound is malate. Thus, Cu-malate is a five-membered chelate, further stabilized by a second carboxyl, as in citrate (Fig. 4).

Still, speciation calculations predict that malonate is a better complexant than malate, since 60 % of malate and 85 % of malonate are predicted to be complexed to Cu(II) at pH 4.5 when $[M]/[L] = 0.01$. Therefore, the preference of Cu(II) for malate-type over malonate-type structures observed by EXAFS at low concentration in DOM does not follow the trend expected from potentiometric titration. This finding agrees with Strathmann and Myneni (2004) who showed using infrared spectroscopy that the stability of Ni chelates follows the order oxalate (strongest) > malate = citrate > malonate > lactate (weakest). Malonate may be over-predicted or malate under-predicted by speciation calculations. The complexing ability of malate was explained by the formation of a tridentate [5/6-O-ring] chelate with the hydroxyl oxygen and two donor oxygens from the two carboxyls of the same molecule, as in citrate (STRATHMANN and MYNENI, 2004). This coordination is theoretically possible in NOM because carboxyl clusters separated by one alkyl carbon and one alcohol carbon are common structures (HAY and MYNENI, 2007; LEENHEER et al., 1995). They can be viewed as α -OH substituted succinate moieties, or a malonate sequence with a COH add-in: HOOC-C-[COH]-COOH. However, the citrate-like model is inconsistent with EXAFS results: the spectra for Cu-malate and Cu-citrate differ significantly, and the C shell is not at the correct distance. The C atom shared by the 5- and 6-rings is at 2.98 Å in citrate, a distance typical of 6-ring structures; only one C is at the nominal 2.80 Å distance for a 5-ring (Fig. 4). The Cu-C EXAFS distances of 2.80 Å in malate and 2.78 Å in DOM match up with a 5-O-ring structure, not a double (5,6)-O-ring structure. Thus, EXAFS data are more consistent with a 5-Oeq-ring structure and the two Oax atoms linked to carboxyl or amine groups from other chains. This model is also consistent with ESR results, which were interpreted by the formation of chelate-like Cu-Oeq-R bonds in the equatorial plane and Cu-N-R bonds perpendicularly (BOYD et al., 1983). For steric reasons resulting from the complexity and heterogeneity of NOM molecules, the two Cu-O/Nax-R bonds are likely intermolecular or with more distant carboxyls than β . Although citrate-like clusters of COOH groups were identified in NOM, the likelihood to have Cu(II) bonded anti-symmetrically to two identical or similar chelates seems low.

As mentioned previously, aromatic moieties are weaker chelates, for their inability to form 5-ring malate-type and 6-ring malonate-type structures. Furancarboxylate, which has only one carboxyl group, is predicted to complex less than 2 % Cu at pH 4.5 when $[M]/[L] = 0.01$. With a β -OH on the C3 carbon, salicylate is analogous to β -OH 3-lactate and 3-hydroxybutanate, and exhibits similar binding strength (5 % Cu complexed). Phthalate has two carboxyls, but they are separated by two C atoms (7-O-ring) with no α -OH substituents, in contrast to malate. It is predicted to complex 30 % Cu. Thus, Cu(II) is not expected to be bonded to any aromatics at low concentration, despite the relative abundance of O-heterocycles in NOM (HAY and MYNENI, 2007; LEENHEER et

al., 1995). Substituting a α -NH₂ for a α -OH group increases the thermodynamic stability of Cu(II), as indicated by log *K* values, that increase by 5 log units from lactate to alanine. Under the same conditions, more than 60 % of lactate and 80 % of alanine are predicted to be complexed to Cu(II). Therefore, amino acid-like sites may be as strong ligands as C₃ dicarboxylate clusters. Complexation of Cu(II) to amino acid ligands was suggested in DOM fraction enriched in proteinaceous material containing 11.9 % N (CROUÉ et al., 2003). These chelates were never dominant in our experimental conditions, perhaps because the DOM samples were a mixture of dominant humic (high C/N ratio) and minor nonhumic (low C/N) fractions, or the sorption pH (4.5 and 5.5) was not high enough, since N ligands were inferred by ESR in leaf litter at and above pH 6 (SPOSITO and HOLTZCLAW, 1988).

4.3.3. Structural stability of the O-ring chelates

The most stable complex is formed by a metal ion with polyfunctional molecules where the match in ionic radius and site or cavity of the metal ion is closest (HANCOCK, 1989). The strain energy, which is a measure of the size-match fit, is a function of the bond-length and bond-angle deformation, the torsional strain of the chelate, and van der Waals interactions between nonbonded atoms. Divalent Cu has a preference for square (bi)pyramidal coordinations, as a result of its d⁹ electronic configuration and, by analogy with its coordination chemistry in crown ethers, the torsional strength is minimum when it lies in the plane formed by two ring chelates (MELSON, 1979). The strain from bond-length deformation, U_B , is a simple Hooke's law expression, $U_B = 1/2K(r^\circ - r)^2$, where r° is the ideal bond length, r is the observed bond length, and K is the force constant for the particular type of bond (BRUBAKER and JOHNSON, 1984). Strain-free metal-donor lengths generally are derived from crystal structures. The mean Cu(II)-O_{eq} distance calculated over 197 structures is $r = 1.679 + 0.37\ln(0.5) = 1.94 \text{ \AA}$ (BROWN and ALTERMATT, 1985), the heuristic value for NOM. Malonate represents a low strain energy situation in that the coordination is nearly perfectly square-planar (bond distances of 1.94 Å and 1.97 Å and O_{eq}-Cu-O_{eq} angles of 93°), the torsion angles of the chelate are comprised between ± 13°, and the carbon is sp² hybridized with O-C-C and C-C-C angles (123°) in close proximity to benzene (120°) (Fig. 10). The two bonding oxygens are closer in malate (2.57 Å) than in malonate (2.85 Å), since the ring counts two instead of three carbons, causing the two O_{eq}-Cu-O_{eq} angles to decrease from 93° to 83°. The slight departure from the square-planar symmetry is compensated energetically by an increase in ligand field through a reduction of the Cu(II)-O_{eq} distances from 1.94-1.97 Å to 1.91-1.95 Å (BOYD et al., 1983). The range of the torsion angles is unchanged (-12° to -10°), and the mean O-C-C bond angle is 112°, a value close to 109.5° for an sp³ hybridized carbon atom. Thus, the difference in strain

energy of Cu-malate and Cu-malonate seems weak, but with one hydroxyl ligand close to one carboxyl and two carboxyls with the same separation in distance as in malonate, malate offers more bonding opportunities.

The low-strain steric requirement is also met in salicylate: the two Oeq are at 1.90 Å and 1.96 Å from Cu, they are 2.84 Å apart, the Oeq-Cu-Oeq angle is 94°, and the torsion angles between $\pm 13^\circ$ (HALL et al., 1965). From a structural standpoint, salicylate should have the same affinity for Cu as malonate since the two molecules have the same chelate backbone. The 2.82 orders of magnitude difference in their stability constants results from the more electronegative character of carboxyls, making them better ligand donors than alcohol groups. However, when the alcohol group is next to a carboxylate group, it acquires more acidic character and becomes more prone to stabilizing the metal complex by acting as a "supporting" donor group in concert with the adjacent carboxylate (STRATHMANN and MYNENI, 2004).

When the open-chain ligand contains four carbons and no α -substituent, as in succinate, the separation between the two nearest carboxyl oxygens is 3.71 Å, a too long distance to accommodate Cu(II) without inducing a strong steric constrain (ZHENG and LIN, 2000). If the molecule is not folded, the Oeq-Cu-Oeq angle of the 7-O-ring chelate is 146°, and the Cu-Oeq-C angle 17° (Fig. 10). Also, when the ring size has more than three carbons, the chelate is no longer planar, as seen in Figure 10 with succinate. The unfavorable 7-O-ring chelate structure of phthalate has a chair form, with torsion angles between -51° and 61° , thus inducing a strong rise in strain energy (Fig. 10) (CINGI et al., 1978c). When phthalate acts as a bis(bidentate) ligand, as in the Cu[Bid]₂ reference (BARTL and KÜPPERS, 1980; CINGI et al., 1969), it is also unfit for binding strongly Cu (Fig. 10). The coordination about Cu defined by the two planar carboxyl groups is a parallelogram, one O atom from each carboxyl group forming the short diagonal and the second the long diagonal. The short diagonal is $2 \times 1.92 = 3.84$ Å in length, the long diagonal $2 \times 2.63 = 5.26$ Å, and the complementary angles are 69° and 111° . In comparison, the four coplanar carboxyl groups from the bis(malate) complex bridge Cu nearly in square-planar geometry, thus approaching the favorable D_{4h} point group tetragonal symmetry.

Therefore, from geometrical considerations, the best-fit size and square (bi)pyramid geometry with four metal-oxygen distances at 1.94 Å are obtained in NOM with α OH-substituted COOH structures and C₃ dicarboxylates. Adding one α -OH group to a C₄ dicarboxylate provides more complexing abilities. Oxalate-type C₂ dicarboxylate structures are even stronger chelates, but they are seldom present in NOM.

4.3.4. The 5-(O,S)-ring chelates

Based on the hard–soft metal classification, Cu(II) is an intermediate metal, and thus may form Cu–S bonds and at the same time coordinate with carboxyls in NOM (PEARSON, 1973). In addition, the hydroxyl and amino functionalities on the α carbon are relatively weak Lewis donors, thus a thiolate functionality can behave as an anchor to Cu(II) to balance the softness of the Cu(II)-carboxyl bond to form a 5-(O,S)-ring complex. In this context, conjugates of thio-carboxylic acids, containing a combination of thiolate and carboxylate functionalities, such as thiolactate and thioacetate, are plausible model ligands. The likelihood of this type of complex in NOM is supported also by the favorable five-membered arrangements typically observed for bifunctional thiolate-anchored ligands, and the poor reconstruction of the data with CuS (SPOIL =6.6 - 8.6).

Overall, cysteinyl sulfur and α -SH substituted aliphatic carboxylic structures do not seem to play an important role in Cu(II) chelation, in contrast to oxygen donors. Thiolactate-like complex were detected in SP only, not in its humic, fulvic and DOM fractions, although DOM contains two-times more S (Table 2). This increase does not mean that the sample has more reduced sulfur groups because oxidized sulfur is preferentially extracted in hydrophilic water-soluble fractions (PRIETZEL et al., 2007). However, with 1.1 wt. % S, there should be a large excess of Sred ligands for SPDOM to bind 100 ppm Cu(II) (sample SPDOM10) (KARLSSON et al., 2005). Confirming evidence comes from the conversion of Cu(II)-O to Cu(I)-S bonds by radiation damage in the two SPDOM samples. The formation of strong metal-sulfur bonds following the photoreduction of divalent Cu is consistent with the hard metal character of Cu(I) (PEARSON, 1973), and suggests that the softness of Cu(II) is the main reason for the limited role of -SH ligands in the binding of Cu(II) in NOM. The detection by EXAFS of Cd-S bonds in SOM and DOM (KARLSSON et al., 2005) also can be explained with the hard and soft metal concept, since Cd(II) is slightly harder than Cu(II). However, in terms of electronegativities metals ranks as follows: Au(I) > Ag(I) > Hg(II) ~ Cu(I) > Pb(IV) > Pb(II) > Cu(II) > Cd(II) > Co(II) > Ni(II) > Fe(II) > Mn(II), suggesting that Cu(II) and Cd(II) have similar thiophilicity (STUMM, 1993). These considerations do not take into account the relative stability of the complexes, which depends (among other factors) of the conformation of the chelate and the inter- and intramolecular packing forces and interactions of the metal with other moieties (e.g., hydrogen bonds).

REFERENCES

- Alcacio, T. E., Hesterberg, D., Chou, J. W., Martin, J. D., Beauchemin, S., and Sayers, D. E., 2001. Molecular scale characteristics of Cu(II) bonding in goethite-humate complexes. *Geochim. Cosmochim. Acta* **65**, 1355-1366.
- Baird, A. K. and al., e., 1982. Chemical composition of Martian fines. *J. Geoph. Res.* **87**, 10059-10067.
- Bartl, H. and Küppers, H., 1980. Neutronenbeugungsuntersuchung der extrem kurzen wasserstoffbrücke in kupfer-dihydrogen-diphthalat-dihydrat. *Zeit. Krist.* **152**, 161-167.
- Bell, C. F., 1977. *Principles and Applications of Metal Chelation*. Clarendon Press.
- Benedetti, M. F., VanRiemsdijk, W. H., Koopal, L. K., Kinniburgh, D. G., Gooddy, D. C., and Milne, C. J., 1996. Metal ion binding by natural organic matter: From the model to the field. *Geochim. Cosmochim. Acta* **60**, 2503-2513.
- Bott, R. C., Sagatys, D. S., Lynch, D. E., Smith, G., Kennard, C. H. L., and Mak, T. C. W., 1991. The preparation and crystal structure of ammonium bis[citrato(3-)]cuprate(II). *Aust. J. Chem.* **44**, 1495-1498.
- Boyd, S. A., Sommers, L. E., and Nelson, D. W., 1981. Copper(II) and iron(III) complexation by the carboxylate group of humic acid. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **45**, 1241-1242.
- Boyd, S. A., Sommers, L. E., Nelson, D. W., and West, D. X., 1983. Copper(II) binding by humic acid extracted from sewage sludge: An electron spin resonance study. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **47**, 43-46.
- Briand, G. G., Burford, N., Eelman, M. D., Aumeerally, N., Chen, L., Cameron, T. S., and Robertson, K. N., 2004. Identification, isolation, and characterization of cysteinate and thiolactate complexes of bismuth. *Inorg. Chem.* **43**, 6495-6500.
- Brown, G. M. and Chidambaram, R., 1973. Dinuclear copper(II) acetate monohydrate: a redetermination of the structure by neutron-diffraction analysis. *Acta Cryst.* **B29**, 2393-2403.
- Brown, I. D. and Altermatt, D., 1985. Bond-Valence Parameters Obtained from a Systematic Analysis of the Inorganic Crystal Structure Database. *Acta Cryst.* **B41**, 244-247.
- Brubaker, G. R. and Johnson, D. W., 1984. Molecular mechanics calculations in coordination chemistry. *Coordination Chemistry Reviews* **53**, 1-36.
- Burgess, J., 1988. *Ions in solution. Basic principles of chemical interactions*. Ellis Horwood Limited, Chichester, UK.

- Calvo, R., Steren, C. A., Piro, O. E., Rojo, T., Zuniga, F. J., and Castellano, E. E., 1993. Crystal structure and magnetic properties of diaqua(L-aspartato)copper(II). *Inorg. Chem.* **32**, 6016-6022.
- Carrera, F., Sanchez Marcos, E. S., Merklings, P. J., Chaboy, J., and Munoz-Paez, A., 2004. Nature of metal binding sites in Cu(II) complexes with histidine and related N-coordinating ligands, As studied by EXAFS. *Inorg. Chem.* **43**, 6674-6683.
- Chen, X. Y., Shi, W., Cheng, P., Chen, J. T., Yan, S. P., Liao, D. Z., and Jiang, Z. H., 2003. Multi-dimensional copper(II) coordination polymers via self-assembly induced by sodium ions. *Z. Anorg. Allg. Chem.* **629**, 2034-2039.
- Cingi, M. B., Guastini, C., Musatti, A., and Nardelli, M., 1970. The crystal and molecular structure of diammine-(*o*-phthalato)copper (II). *Acta Cryst.* **B26**, 1836-1843.
- Cingi, M. B., Guatini, C., Musatti, A., and Nardelli, M., 1969. The crystal and molecular structure of bis(hydrogen *o*-phthalato)diaquocopper(II). *Acta Cryst.* **B25**, 1833-1840.
- Cingi, M. B., Lanfredi, A. M. M., Camellini, A. T., and Camellini, M. T., 1977. Influence of the alkaline cation on the structures of polymeric *o*-phthalatoeuprate(II). 1. The crystal structures of dilithium catena-di-*m*-(*o*-phthalato)-cuprate(II) tetrahydrate and dirubidium catena-di-*m*-(*o*-phthalato)-cuprate(II) dihydrate. *Acta Cryst.* **B33**, 659-664.
- Cingi, M. B., Lanfredi, A. M. M., Camellini, A. T., and Camellini, M. T., 1978a. The crystal and molecular structure of *o*-phthalatocopper(II) dihydrate. *Acta Cryst.* **B34**, 134-137.
- Cingi, M. B., Lanfredi, A. M. M., Camellini, A. T., and Camellini, M. T., 1978b. The crystal and molecular structures of magnesium di-*o*-phthalatocuprate(II) dihydrate and strontium di-*o*-phthalatocuprate(II) trihydrate. *Acta Cryst.* **B34**, 406-411.
- Cingi, M. B., Lanfredi, A. M. M., Camellini, A. T., and Camellini, M. T., 1979. Polymeric chains of tetranuclear hydroxo-*o*-phthalatocuprate(II) units and silver(I)-aromatic interactions in the crystal structure of $\text{Ag}[\text{Cu}_2(\text{C}_8\text{H}_4\text{O}_4)_2(\text{OH})] \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. *Acta Cryst.* **B35**, 312-316.
- Cingi, M. B., Lanfredi, A. M. M., Tiripicchio, A., and Camellini, M. T., 1978c. The crystal and molecular structures of barium diaquadi(*o*-phthalato)cuprate(II) dihydrate. An example of the chelating behavior of the *o*-phthalate anion. *Acta Cryst.* **B34**, 774-778.
- Covelo, E. F., Couce, M. L. A., and Vega, F. A., 2004. Competitive adsorption and Desorption of cadmium, chromium, copper, nickel, lead, and zinc by humic umbrisols. *Commnications in soil Science and Plant Analysis* **35**, 2709-2729.
- Croué, J. P., Benedetti, M. F., Violleau, D., and Leenheer, J. A., 2003. Characterization and copper binding of humic and nonhumic organic matter isolated from the South Platte River: evidence for the presence of nitrogenous binding site. *Environ. Sci. Technol.* **37**, 328-336.

- D'Angelo, P., Bottari, E., Festa, M. R., Nolting, H. F., and Pavel, N. V., 1998. X-ray absorption study of copper(II)-glycinate complexes in aqueous solution. *J. Phys. Chem. B.* **102**, 3114-3122.
- Dance, I. G., 1986. The structural chemistry of metal thiolate complexes. *Polyhedron* **5**, 1037-1104.
- Davies, G., Fataftah, A., Cherkasskiy, A., Ghabbour, E. A., Radwan, A., Jansen, S. A., Kolla, S., Paciolla, M. D., Sein, L. T., Buermann, W., Balasubramanian, M., Budnick, J., and Xing, B., 1997. Tight metal binding by humic acids and its role in biomineralization. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.*, 4047-4060.
- de Meester, P., Fletcher, S. R., and Skapski, A. C., 1973. Refined crystal structure of tetra-m-acetato-bis-aquodiccoper(II). *J. Chem.Soc. Dalton*, 2575-2578.
- Deshmukh, A. P., Pacheco, C., Hay, M. B., and Myneni, S. C. B., 2007. Structural environments of carboxyl groups in natural organic molecules from terrestrial systems. Part 2: 2D NMR spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta* **71**, 3533-3544.
- Dupont, L., Guillon, E., Bouanda, J., Dumonceau, J., and Aplincourt, M., 2002. EXAFS and XANES studies of retention of copper and lead by a lignocellulosic biomaterial. *Environ. Sci. Technol.* **36**, 5062-5066.
- Evertsson, B., 1969. The crystal structure of bis-L-histidinecopper(II) dinitrate dihydrate. *Acta Cryst.* **B25**, 30-41.
- Fitts, J. P., Persson, P., Brown, G. E. J., and Parks, G. E., 1999. Structure and bonding of Cu(II)-glutamate complexes at the g-Al₂O₃-water interface. *J. Coll. Interf. Sci.* **320**, 133-147.
- Freeman, H. C., Snow, M. R., Nitta, I., and Tomita, K., 1964. A refinement of the structure of bisglycinocopper(II) monohydrate, Cu(NH₂CH₂COO)₂.H₂O. *Acta Cryst.* **17**, 1463-1470.
- Frenkel, A. I., Korshin, G. V., and Ankudinov, A. L., 2000. XANES study of Cu²⁺-binding sites in aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.* **34**, 2138-2142.
- Gao, S. A., Walker, W. J., Dahlgren, R. A., and Bold, J., 1997. Simultaneous sorption of Cd, Cu, Ni, Zn, Pb, and Cr on soils treated with sewage sludge supernatant. *Water Air and Soil Pollution* **93**, 331-345.
- Gazo, J., Bersuker, I. B., Garaj, J., Kabesova, M., Kohot, J., Langfelderova, H., Melnik, M., Serator, M., and Valach, F., 1976. *Coord. Chem. Rev.* **19**, 253-297.
- Goeta, A. E., Rigotti, G., Sileo, E. E., and Blesa, M. A., 1993. Structure and reactivity of copper(II) carboxylates II. Copper(II) bis(hydrogen o-phthalate)dihydrate. *Solid State Ionics* **62**, 159-165.
- Gramaccioli, C. M. and Marsh, R. E., 1966. The crystal structure of copper glutamate dihydrate. *Acta Cryst.* **21**, 594-600.

- Gregor, J. E., Powell, H. K. J., and Town, R. M., 1989a. Evidence for aliphatic mixed-mode coordination in copper(II)-fulvic acid complexes. *J. Soil Sci.* **40**, 661–673.
- Gregor, J. E., Powell, H. K. J., and Town, R. M., 1989b. Metal-fulvic acid complexing: evidence supporting an aliphatic carboxylate mode of coordination. *Sci. Total Environ.* **81**, 597–606.
- Grunes, L. A., 1983. *Phys. Rev. B.* **27**, 2111-2131.
- Hahn, J. E., Scott, R. A., Hodgson, K. O., Doniach, D., DeJardins, S. E., and Solomon, E. I., 1982. Observation of an electric quadrupole transition in the X-ray absorption spectrum of a Cu(II) complex. *Chemical Physics Letters* **88**, 595-598.
- Hall, D., McKinnon, A. J., and Waters, T. N., 1965. The colour isomerism and structure of copper coordination compounds. Part VIII. The crystal structure of a second crystalline form of bis-salicylaldehydato-copper(II). *J. Chem. Soc.*, 425-430.
- Hancock, R. D., 1989. Ligand design for selective complexation of metal ion in aqueous solution. *Chem. Rev.* **89**, 1875-1914.
- Hay, M. B. and Myneni, S. C. B., 2007. Structural environments of carboxyl groups in natural organic molecules from terrestrial systems. Part 1: Infrared spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta* **71**, 3518-3532.
- Hering, J. G. and Morel, F. M. M., 1988. Humic-acid complexation of calcium and copper. *Environ. Sci. Technol.* **22**, 1234-1237.
- Karlsson, T., Persson, P., and Skyllberg, U., 2005. Extended X-ray absorption fine structure spectroscopy evidence for the complexation of cadmium by reduced sulfur groups in natural organic matter. *Environ. Sci. Technol.* **39**, 3048-3055.
- Karlsson, T. and Skyllberg, U., 2006. Complexation of copper(II) in organic soils and in dissolved organic matter - EXAFS evidence for chelate ring structures. *Environ. Sci. Technol.* **40**, 2623-2628.
- Kau, L. S., Spira-Solomon, D. J., Penner-Hahn, J. E., Hodgson, K. O., and Solomon, E. I., 1987. X-ray absorption edge determination of the oxidation state and coordination number of copper: Application to the type 3 site in *Rhus vernicifera* Laccase and its reaction with oxygen. *J. Am. Chem. Soc.* **109**, 6433-6442.
- Kinniburgh, D. G., van Riemsdijk, W. H., Koopal, L. K., Borkovec, M., Benedetti, M. F., and M.J., A., 1999. Ion binding to natural organic matter: competition, heterogeneity, stoichiometry and thermodynamic consistency. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **151**, 147-166.
- Kogut, M. B. and Voelker, B. M., 2001. Strong copper-binding behavior of terrestrial humic substances in seawater. *Environ. Sci. Technol.* **35**, 1149-1156.

- Koizumi, H., Osaki, K., and Watanabe, T., 1963. Crystal structure of cupric benzoate trihydrate $\text{Cu}(\text{C}_6\text{H}_5\text{COO})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$. *J. Phys. Soc. Japan* **18**, 117-124.
- Korshin, G. V., Frenkel, A. I., and Stern, E. A., 1998. EXAFS study of the inner shell structure in copper(II) complexes with humic substances. *Env. Sci. Technol.* **32**, 2699-2705.
- Kosugi, N., Yokoyama, T., Asakura, K., and Kuroda, H., 1984. Polarized Cu K-edge XANES of square planar CuCl_4^{2-} ion. Experimental and theoretical evidence for shake-down phenomena. *Chemical Physics* **91**, 249-256.
- Laurie, S. H., 1995. *Handbook of Metal-Ligand Interactions in Biological Fluids-Bioinorganic Chemistry* Marcel Dekker: New York, Vol. 2, p 603.
- Lee, Y. J., Elzinga, E. J., and Reeder, R. J., 2005. Cu(II) adsorption at the calcite-water interface in the presence of natural organic matter: kinetic studies and molecular-scale characterization. *Geochim. Cosmochim. Acta* **69**, 49-61.
- Leenheer, J. A., Brown, G. K., MacCarthy, P., and Cabaniss, S. E., 1998. Models of metal binding structures in fulvic acid from the Suwannee River, Georgia. *Environ. Sci. Technol.* **32**, 2410-2416.
- Leenheer, J. A., Wershaw, R. L., and Reddy, M. M., 1995. Strong-acid, carboxyl-group structures in fulvic acid from the Suwannee river, georgia. 2. Major structures. *Environ. Sci. Technol.* **29**, 399-405.
- Lenstra, A. T. H. and Kataeva, O. N., 2001. Structures of copper(II) and manganese(II) di(hydrogen malonate) dihydrate; effects of intensity profile truncation and background modelling on structure models. *Acta Cryst.* **B57**, 497-506.
- Luster, J., Lloyd, T., and Sposito, G., 1996. Multi-wavelength molecular fluorescence spectrometry for quantitative characterization of copper(II) and aluminum(III) complexation by dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.* **30**, 1565-1574.
- Malinowski, E. R., 1978. Theory of error for target factor analysis with applications to mass spectrometry and nuclear magnetic resonance spectrometry. *Analytica Chimica Acta.* **103**, 359-354.
- Malinowski, E. R., 1991. *Factor Analysis in Chemistry*. John Wiley, New York.
- Manceau, A., Boisset, M. C., Sarret, G., Hazemann, J. L., Mench, M., Cambier, P., and Prost, R., 1996. Direct determination of lead speciation in contaminated soils by EXAFS spectroscopy. *Environmental Science & Technology* **30**, 1540-1552.
- Manceau, A., Marcus, M. A., and Tamura, N., 2002. Quantitative speciation of heavy metals in soils and sediments by synchrotron X-ray techniques. In: Fenter, P. A., Rivers, M. L., Sturchio, N. C., and Sutton, S. R. Eds.), *Applications of Synchrotron Radiation in Low-*

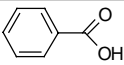
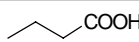
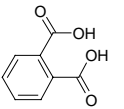
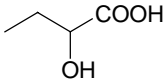
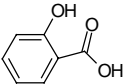
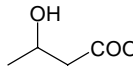
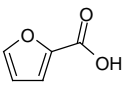
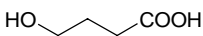
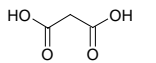
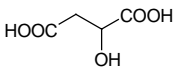
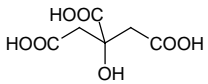
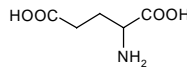
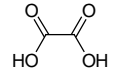
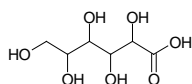
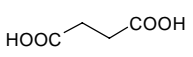
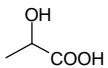
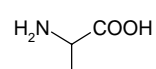
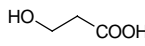
Temperature Geochemistry and Environmental Science. Mineralogical Society of America, Washington, DC.

- Marcus, M. A., MacDowell, A. A., Celestre, R., Manceau, A., Miller, T., Padmore, H. A., and Sublett, R. E., 2004. Beamline 10.3.2 at ALS: a hard X-ray microprobe for environmental and materials sciences. *J. Synch. Rad.* **11**, 239-247.
- McBride, M. B., Sauve, S., and Hendershot, W., 1997. Solubility control of Cu, Zn, Cd, and Pb in contaminated soils. *Eur. J. Soil Sci.* **48**, 337-346.
- McLaren, R. G., Williams, J. G., and Swift, R. S., 1983. Some observations on the desorption and distribution behaviour of copper with soil components. *J. Soil Sci.* **34**, 325-331.
- Melnik, M., Kabesova, M., Koman, M., Macaskova, L., Garaj, J., Holloway, C. E., and Valent, A., 1998a. Copper(II) coordination compounds: classification and analysis of crystallographic and structural data. III. Dimeric compounds. *J. Coord. Chem.* **45**, 147-359.
- Melnik, M., Kabesova, M., Koman, M., Macaskova, L., and Holloway, C. E., 1999. Copper(II) coordination compounds: classification and analysis of crystallographic and structural data. IV. Trimeric and oligomeric compounds. *J. Coord. Chem.* **48**, 271-374.
- Melnik, M., Kabesova, M., Macaskova, L., and Holloway, C. E., 1998b. Copper(II) coordination compounds: classification and analysis of crystallographic and structural data. II. Mononuclear-, hexa-, hepta- and octacoordinate compounds. *J. Coord. Chem.* **45**, 31-145.
- Melson, G. A., 1979. *Coordination chemistry of macrocyclic compounds*. New York: Plenum Press.
- Mesu, J. G., Beale, A. M., de Groot, F. M. F., and Weckhuysen, B. M., 2006. Probing the influence of x-rays on aqueous copper solutions using time-resolved in situ combined video/x-ray absorption near-edge/ultraviolet-visible spectroscopy. *J. Phys. Chem. B.* **110**, 17671-17677.
- Mizutani, M., Maejima, N., Jitsukawa, K., Masuda, H., and Einaga, H., 1998. An infinite chiral single-helical structure formed in Cu(II)-L-/D-glutamic acid system. *Inorg. Chim. Acta* **283**, 105-110.
- O'Connor, B. H. and Maslen, E. N., 1996. The crystal structure of Cu(II) succinate dihydrate. *Acta Cryst.* **20**, 824-835.
- Ogawa, T., Shimoi, M., and Ouchi, A., 1982. Structure and properties of diaquabis(ethylthioacetato)copper(II), [Cu(C₄H₇SO₂)₂(H₂O)₂]. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **55**, 126-129.
- Orpen, A. G., Brammer, L., Allen, F. K., Kennard, O., Watson, D. G., and Taylor, R., 1994. *Structure Correlation, vol. 2*. VCH, New York.
- Ozutsumi, K., Miyata, Y., and Kawashima, T., 1991. EXAFS and spectrophotometric studies on the structure of mono- and bis(aminocarboxylato) copper (II) complexes in aqueous solution. *J. Inorg. Biochem* **44**, 97-108.

- Pearson, R. G., 1973. *Hard and soft acids and bases*. Dowden Hutchinson and Ross, Inc, Stroudsburg, PA.
- Prietzl, J., Thieme, J., Salome, M., and Knicker, H., 2007. Sulfur K-edge XANES spectroscopy reveals differences in sulfur speciation of bulk soils, humic acid, fulvic acid, and particle size separates. *Soil Biol. Biochem.* **39**, 877-890.
- Prout, C. K., Armstrong, R. A., Carruthers, J. R., Forrest, J. G., Murray-Rust, P., and Rossotti, F. J. C., 1968. Structure and stability of carboxylate complexes. Part I. The crystal and molecular structures of copper(II) glycollate, DL-lactate, 2-hydroxy-2-methylpropionate, methoxyacetate, and phenoxyacetate. *J. Am. Chem. Soc.*, 2791-2813.
- Prout, C. K., Carruthers, J. R., and Rossotti, F. J. C., 1971. Structure and stability of carboxylate complexes. Part IX. Crystal and molecular structure of copper(II) phthalate monohydrate. *J. Chem. Soc. A.*, 3350-3354.
- Proux, O., Nassif, V., Prat, A., Ulrich, O., Lahera, E., Biquard, X., Menthonnex, J. J., and Hazemann, J. L., 2006. Feedback system of a liquid-nitrogen-cooled double-crystal monochromator: design and performances. *J. Synch. Rad.* **13**, 59-68.
- Ramos, L., Hernandez, L. M., and Gonzalez, M. J., 1994. Sequential fractionation of copper, lead, cadmium and zinc in soils from or near Donana National Park. *J. Env. Qual.* **23**, 50-57.
- Ressler, T., Wong, J., Roos, J., and Smith, I., 2000. Quantitative speciation of Mn-bearing particulates emitted from autos burning (methylcyclopentadienyl)manganese tricarbonyl-added gasolines using XANES spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.* **34**, 950-958.
- Rodrigues, B. L., Costa, M. D. D., and Fernandes, N. G., 1999. Diaquabis(hydrogen phthalato)copper(II), a new phase. *Acta Cryst.* **C55**, 1997-2000.
- Santos-Echeandia, J., Laglera, L., Prego, R., and van den Berg, C., 2008. Copper speciation in continental inputs to the Vigo Ria: Sewage discharges versus river fluxes. *Marine Poll. Bull.* **56**, 308-317.
- Sarret, G., Balesdent, J., Bouziri, L., Garnier, J. M., Marcus, M. A., Geoffroy, N., Panfili, F., and Manceau, A., 2004. Zn speciation in the organic horizon of a contaminated soil by micro X-ray fluorescence, micro and powder EXAFS spectroscopy and isotopic dilution. *Environ. Sci. Technol.* **38**, 2792-2801.
- Senesi, N., Bocian, D. F., and Sposito, G., 1985. Electron spin resonance investigation of copper(II) complexation by soil fulvic acid. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **49**, 114-119.
- Senesi, N. and Sposito, G., 1984. Residual copper(II) complexes in purified soil and sewage sludge fulvic acids: Electron spin resonance study. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **48**, 1247-1253.

- Simpson, A. J., Burdon, J., Graham, C. L., Hayes, M. H. B., Spencer, N., and Kingery, W. L., 2001. Interpretation of heteronuclear and multidimensional NMR spectroscopy of humic substances. *Eur. J. Soil Sci.* **52**, 495-509.
- Sposito, G. and Holtzclaw, K. M., 1988. Fluorescence quenching and copper complexation by a chestnut leaf litter extract: Spectroscopic evidence. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **52**, 632-636.
- Sposito, G., Holtzclaw, K. M., and LeVesque-Madore, C. S., 1979. Cupric ion complexation by fulvic acid extracted from sewage sludge-soil mixtures. *Soil Sci. Soc. Amer. J.* **43**, 1148-1155.
- Strathmann, T. J. and Myneni, S. C. B., 2004. Speciation of aqueous Ni(II)-carboxylate and Ni(II)-fulvic acid solutions: Combined ATR-FTIR and XAFS analysis. *Geochim. Cosmochim. Acta* **68**, 3441-3458.
- Strawn, D. and Baker, L. L., 2008. Speciation of Cu in a contaminated agricultural soil measured by XAFS, m-XAFS, and m-XRF. *ES&T* **42**, 37-42.
- Stumm, W., 1993. *Chemistry of the solid-water interface*. John Wiley & Sons, New York.
- Town, R. M. and Powell, H. K. J., 1993. Ion-selective electrode potentiometric studies on the complexation of copper(II) by soil-derived humic and fulvic-acids. *Anal. Chim. Acta* **279**, 221-233.
- Wang, X. Y., Deng, X. T., and Wang, C. G., 2006. Bis(acetato- k^2O,O')diaquacopper(II). *Acta Cryst.* **E62**, 3573-3579.
- Wasserman, S. R., Allen, P. G., Shuh, D. K., Bucher, J. J., and Edelstein, N. M., 1999. EXAFS and principal component analysis: a new shell game. *J. Synch. Rad.* **6**, 284-286.
- Wright, J. G., Natan, M. J., McDonnell, F. M., Ralston, D. M., and O'Halloran, T. V., 1990. In: Lippard, S. J. (Ed.), *Prog. Inorg. Chem.* John Wiley and Sons:.
- Xia, K., Blean, W., and Helmke, P. A., 1997. Studies of the nature of Cu^{2+} and Pb^{2+} binding sites in soil humic substances using X-ray absorption spectroscopy. *Geochimica Cosmochimica Acta* **61**, 2211-2221.
- Yodoshi, M., Odoko, M., and Okabe, N., 2006. Aqua(di-2-pyridylamine- k^2N^2,N^2')(D-gluconato- k^2O,O')copper(II) trihydrate. *Acta Cryst.* **E62**, 2021-2023.
- Zhang, X. Y., 2007a. Diaquabis(malato- k^2O^1,O^2)copper(II). *Acta Cryst.* **E63**, 1254-1255.
- Zhang, X. Y., 2007b. Diaquabis(malato- k^2O^1,O^2)copper(II). *Acta Cryst.* **E63**, m1254-m1255.
- Zheng, Y. Q. and Lin, J. L., 2000. Crystal structure of disodium disuccinatocuperate octahydrate, $Na_2Cu(C_4H_4O_4)_2 \cdot H_2O$. *Zeit. Kristal.* **215**, 165-166.

Table 1. Stability constants for Cu organic complexes. I=0.1 M.

Name of the compound	Formula	log $K_{Cu,COOH}$	Name of the compound	Formula	log $K_{Cu,COOH}$
Benzoate		1.60	Butanoate		1.70
Phthalate		3.22	2-hydroxybutanoate (α -OH)		2.66 ^a
Salicylate		2.22	3-hydroxybutanoate (β -OH)		1.82 ^a
Furanate		1.10	4-hydroxybutanoate (γ -OH)		1.52 ^a
Oxalate		4.85	Malate		3.63
Citrate		3.70	Glutamate		8.32
Malonate		5.04	Gluconate		2.51
Succinate		2.70	Lactate (α -OH)		2.52 ^b
Alanine		8.11	Lactate (β -OH)		3.62 ^b

^a I=2.0 M; ^b I=0.5M; source: Martell et Smith (2004)

Table 2. Samples names and chemical compositions.

Samples	[Org-C] (g/kg)	[S] (g/kg)	[N] (g/kg)	[Cu] (mg/kg)	[Cu/C]*10 ³ (mol/mol)
SP10	480	6.2	9.4	100	0.04
SP13 ^b	480	6.2	9.4	130	0.05
SP110	480	6.2	9.4	1100	0.43
SP290	480	6.2	9.4	2900	1.14
SP300 ^b	480	6.2	9.4	3000	1.18
SPHA20	507	6.3	17.0	200	0.07
SPHA20_RT	507	6.3	17.0	200	0.07
SPHA30 ^b	507	6.3	17.0	300	0.11
SPHA260 ^b	507	6.3	17.0	2600	0.97
SPHA470	507	6.3	17.0	4700	1.75
SPHA470_RT	507	6.3	17.0	4700	1.75
SPFA30	486	4.8	42.1	300	0.12
SPFA310 ^b	486	4.8	42.1	3100	1.20
SPFA650	486	4.8	42.1	6500	2.52
SPDOM10	436	11.3	25.0	100	0.04
SPDOM10_RT	436	11.3	25.0	100	0.04
SPDOM30	436	11.3	25.0	300	0.13
SPDOM30_RT	436	11.3	25.0	300	0.13
CP32	472	17.8	21.8	320	0.13
CP230	472	17.8	21.8	2300	0.92
CPHA20	446	13.7	28.6	200	0.08
CPHA160	446	13.7	28.6	1600	0.68
CPFA34	456	6.4	10.1	340	0.14
CPFA490	456	6.4	10.1	4900	2.03
CPDOM30	296 ^a	15.0	20.0	300	0.19
ESHA200	-	-	-	2000	-
FPHA200	-	-	-	2000	-

^a This fraction contains inorganic colloids. ^b Sorption samples prepared at pH 5.5. All others were prepared at pH 4.5. Organic carbon and nitrogen were measured by combustion with an elemental analyzer (Perkin-Elmer, 2400 CHN), and total sulfur with a LECO sulfur analyzer (LECO Corp., MI). Copper was analyzed by ICP-AES. The ash fraction was determined by ignition at 900°C for 5 hours. It amounts to 1.5 % w/w in SP and 34.5 % w/w in CP. This fraction is subtracted from the elemental analyses of CP. All EXAFS spectra were recorded at 10° K, except those labelled with the RT extension.

Table 3. *In preparation*
Table 4. Results from the PCA in the [2.0 - 11.6 Å⁻¹] *k* interval.

PC# ^a	Eigenvalue ^b	% of variance ^c	IND x 10 ^{3d}	NSS-Tot x 10 ^{2e}	% of variation ^f
1	149	94	12.7	7.9	-
2	31.5	4	9.7	3.8	52
3	15.8	1	9.2	2.8	26
4	9.4	0.4	9.5	2.4	14
5	9.0	0.3	9.9	2.1	12
6	7.9	0.2	10.4	1.8	14

^a Principal component number (i). ^b Values of the diagonal matrix in the PCA. Eigenvalues rank PCs according to their importance to reproduce data. ^c Calculated from the first 6th components. ^d Malinowski (1977) indicator value. ^e Normalized sum-square total = $\sum_{\text{spectra}} \sum_n [k^3 \chi(k_n)_{\text{exp}} - k^3 \chi(k_n)_{\text{reconst}}]^2 / \sum_{\text{spectra}} \sum_n [k^3 \chi(k_n)_{\text{exp}}]^2$. This parameter is the normalized sum-sq (NSS) residual of the entire set of data, taken as one. ^f $[(\text{NSS-Tot})_{i+1} - (\text{NSS-Tot})_i] / (\text{NSS-Tot})_{i+1}$

FIGURE CAPTION

Fig. 1. Structure of Cu organic complexes.

Fig. 2. Normalized Cu K-edge XANES spectra of samples and references.

Fig. 3. Derivative of XANES spectra showing the splitting of the 4p orbitals resulting from the Jahn-Teller distortion (ESHA200, SPDOM10), and the formation of Cu-S bonds at room temperature (SPHA20_RT, SPDOM10_RT).

Fig. 4. EXAFS spectra and Fourier transforms (FTs) of model compounds. Cu[Bid]₂ = bidentate complex with phthalate (powder, RT); Cu[MonoBid]₂ = monodentate and bidentate complex with phthalate (powder, RT); Cu[5-O-ring]₂ = five-membered complex with malate (solution frozen at 10 K); Cu[5-O/N-ring]₂ = five-membered complex with histidine (powder, RT); Cu[6-O-ring]₂ = six-membered complex with malonate (powder, RT); Cu[5/6-O-ring]₂ = five- and six-membered complex with citrate (2:1 complex, solution at RT); Cu[5-O/S-ring]₂ = five-membered complex with thiolactate (binding environment analog to ethylthioacetate) (2:1 complex, solution frozen at 10 K). The FTs are uncorrected for phase shift, resulting in FT distances approximately 0.4 Å smaller than the actual interatomic distances reported in *Table in preparation*.

Fig. 5. First six abstract components weighted by eigenvalues (λ) of the $k^3\chi(k)$ spectra for the 27 spectra presented in Figure S1. For clarity, the amplitudes of the 2nd, 3rd, 4th, 5th, and 6th components have been multiplied by 4.5, 6, 10, 12, and 14, respectively.

Fig. 6. Target transformations (dotted lines) of the $k^3\chi(k)$ spectra for model compounds (solid lines). SPOIL values were calculated in the [2.0 - 11.6 Å⁻¹] and [2.0 - 10.2 Å⁻¹] intervals. The citrate reference is a 1:1 complex. The 2:1 complex (Cu(citrate)₂ = Cu[5/6-O-ring]₂) has SPOIL values of 6.4 and 8.6.

Fig. 7. EXAFS spectra and Fourier transforms for Cu complexed to carboxyl groups at low Cu concentration (DOMHe), and intermediate to high concentration (MidHe), with references. The DOMHe spectrum is the average of SPDOM10, SPDOM30, CPDOM30, and MidHe is the average of CPHA160, CPFA490, SPHA470, SPFA650, and SPFA30.

Fig. 8. (a-f) Second oscillation of the EXAFS spectrum for Cu complexed to carboxyl groups at low Cu concentration (DOMHe) with references. This indicator region is sensitive to the size (5-membered vs. 6-membered) and number (mono- vs. bis-chelate) of carbon rings bridged to Cu. Cu(citrate) and Cu(citrate)₂ were recorded in aqueous solution at room temperature, Cu(lactate)₂ and Cu(malate)₂ at 10° K in frozen solution, and gluconate as crystalline powder. (g) EXAFS signal for DOMHe filtered in the [1.0 - 2.7 Å] $R + \Delta R$ interval (SS paths), [3.1 - 4.5 Å] interval (MS paths), and [1.0 - 4.5 Å] interval. (h) Schematic representation of the various MS scattering paths (arrowed thick lines).

Fig. 9. (a) EXAFS spectra showing the presence of Cu-(O,S) bonds in SP (SP10 and SP13) and their formation at room temperature due to the reduction of Cu(II) to Cu(I) under the X-ray beam (SPHA20_RT, SPDOM10_RT). (b,c) Reconstructions of SP13 and SPHA20_RT with linear combinations of MidHe and thiolactate references.

Fig. 10. Top- and lateral-views of the geometry of Cu carboxylate complexes.

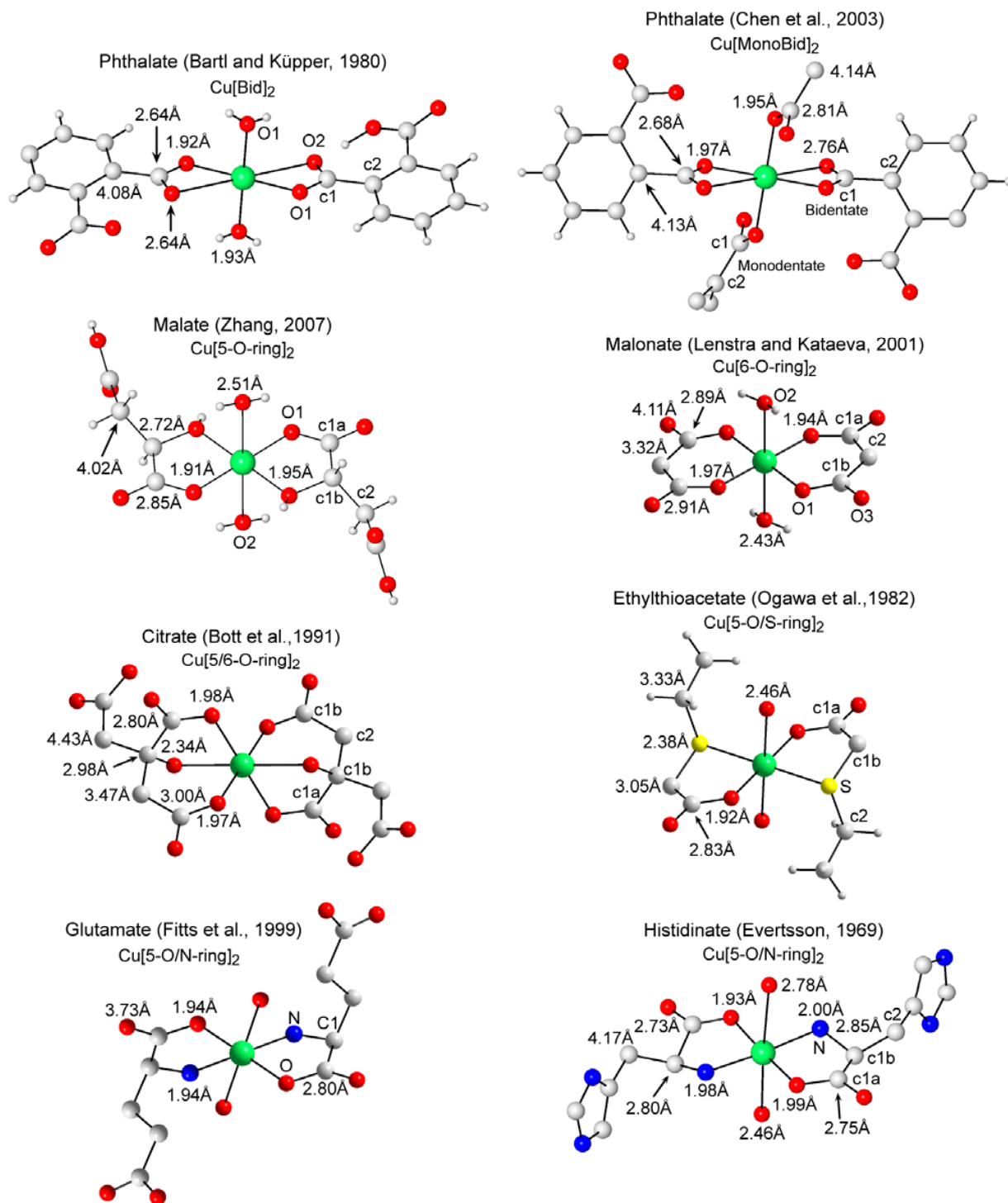


Figure 1

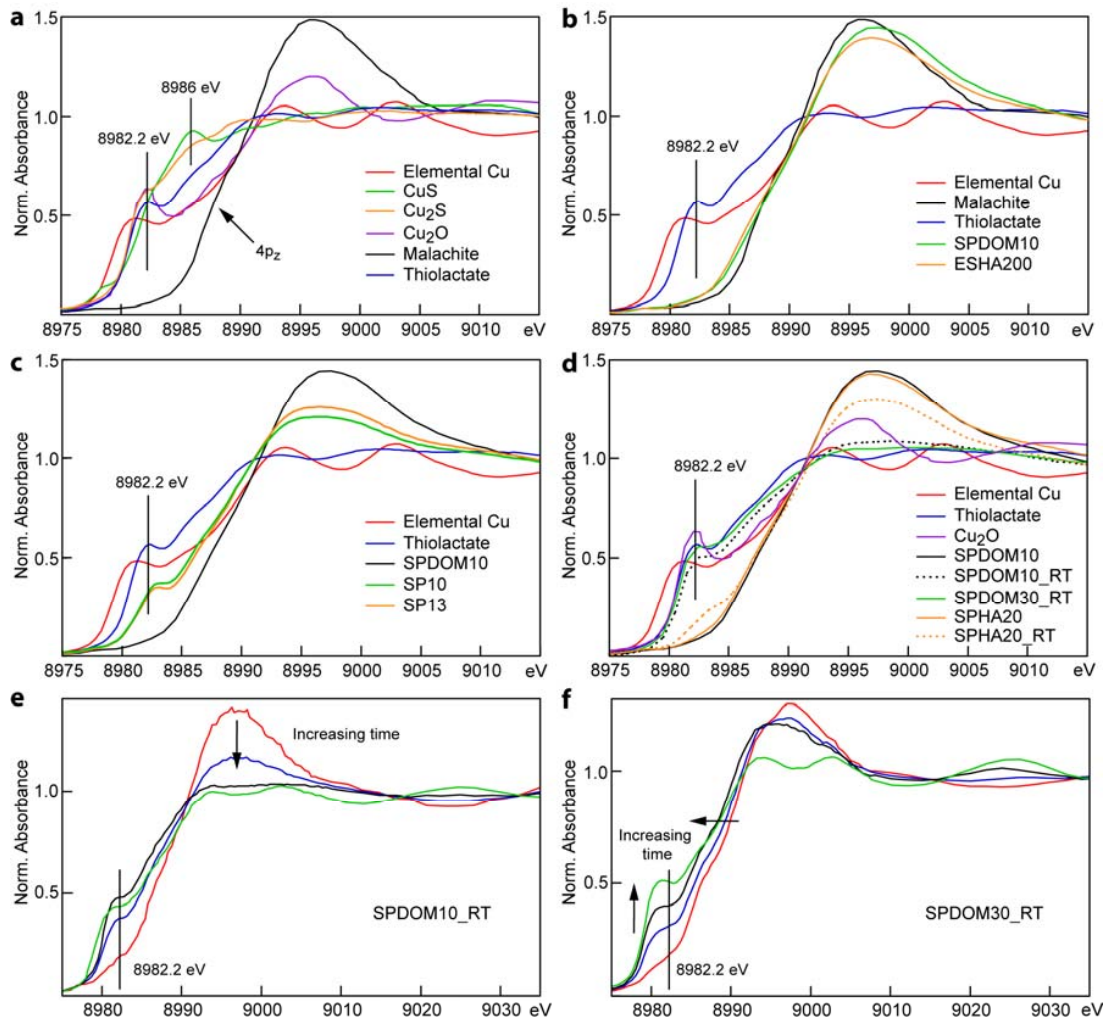


Figure 2

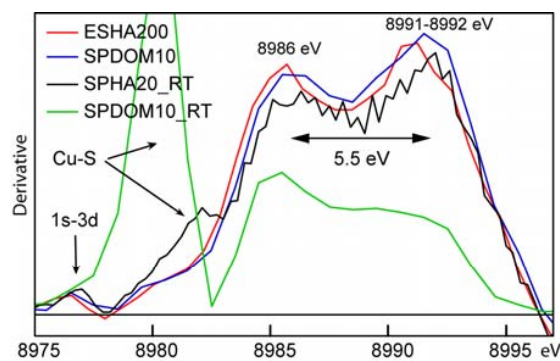


Figure 3

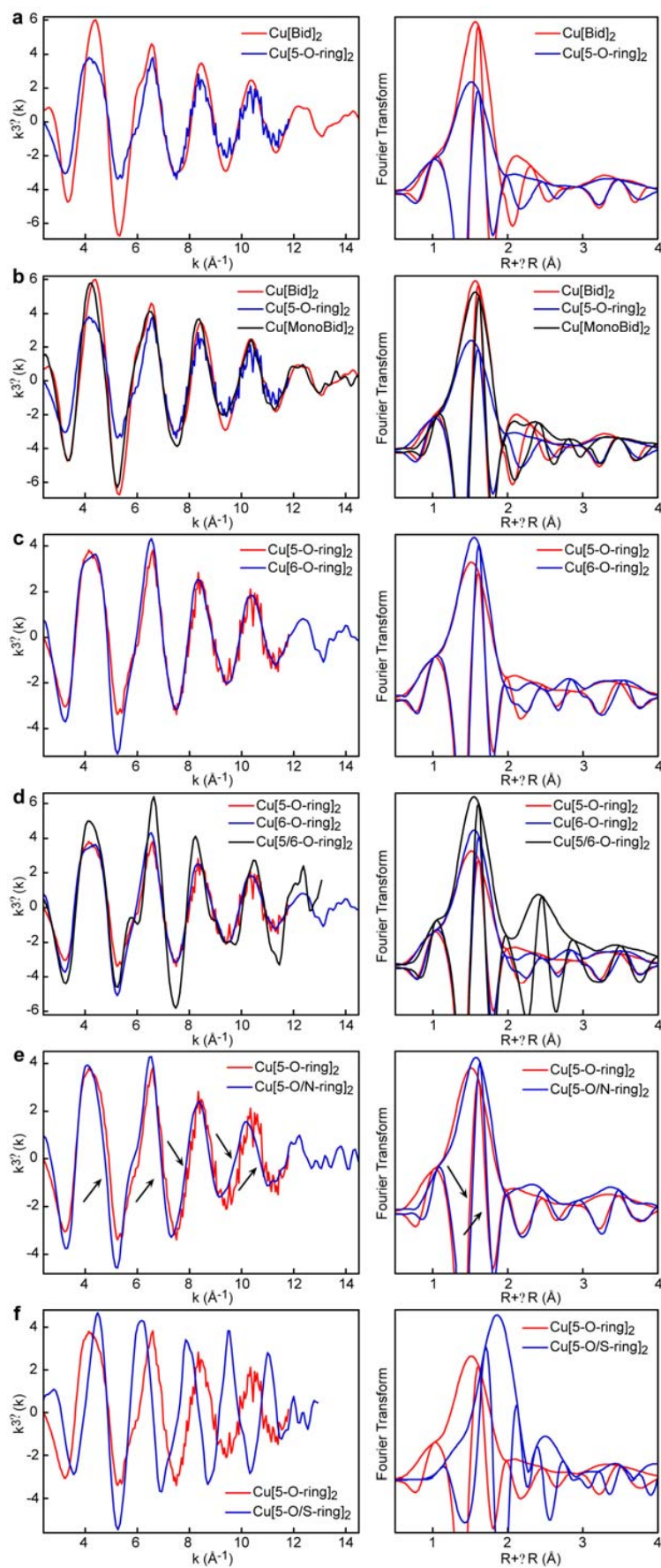


Figure 4

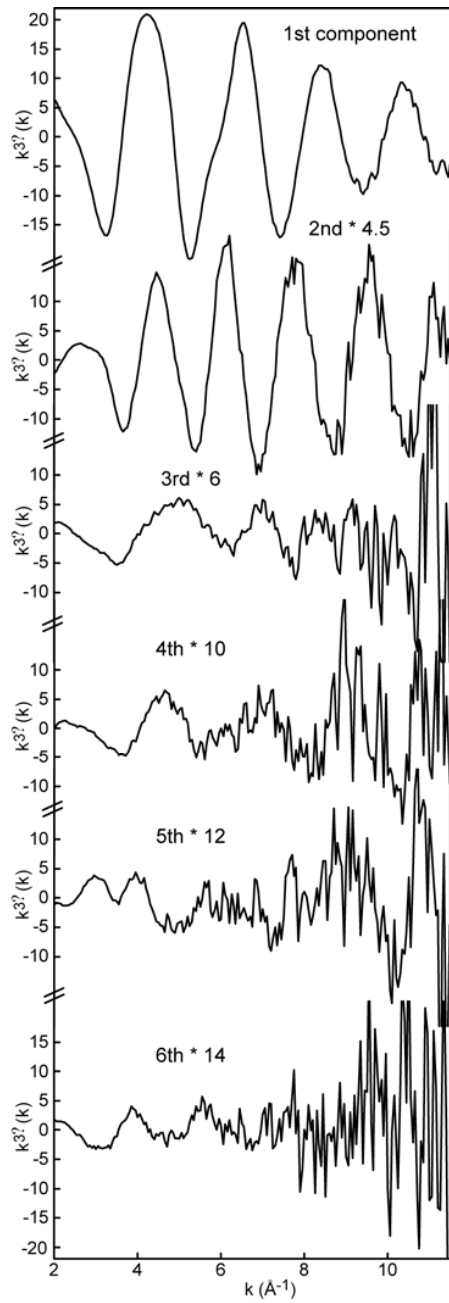


Figure 5

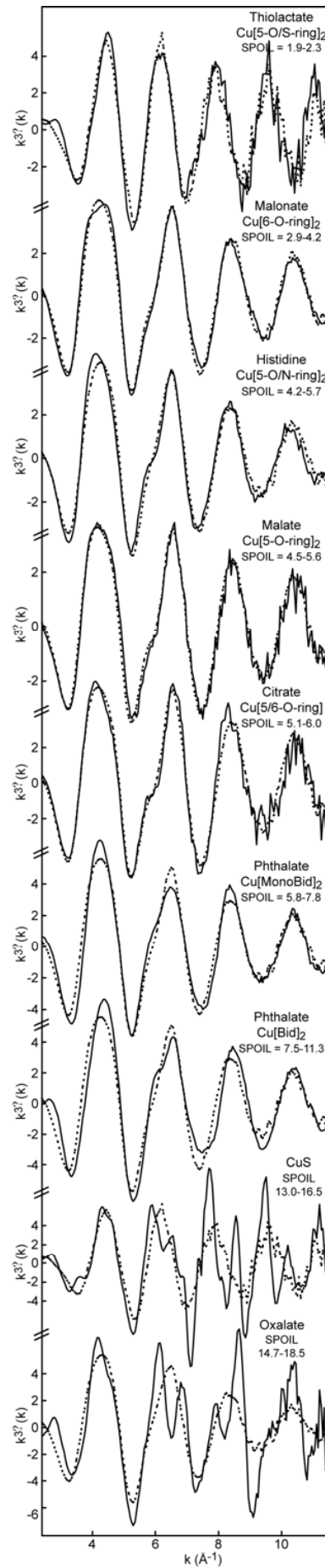


Figure 6

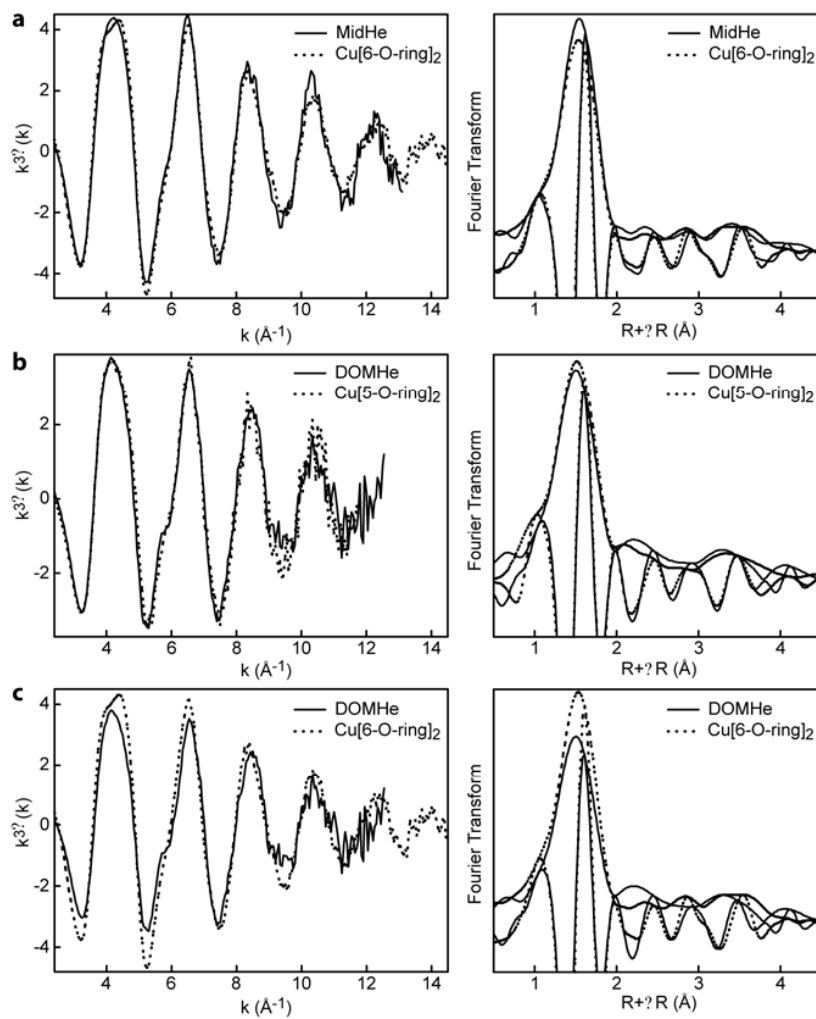


Figure 7

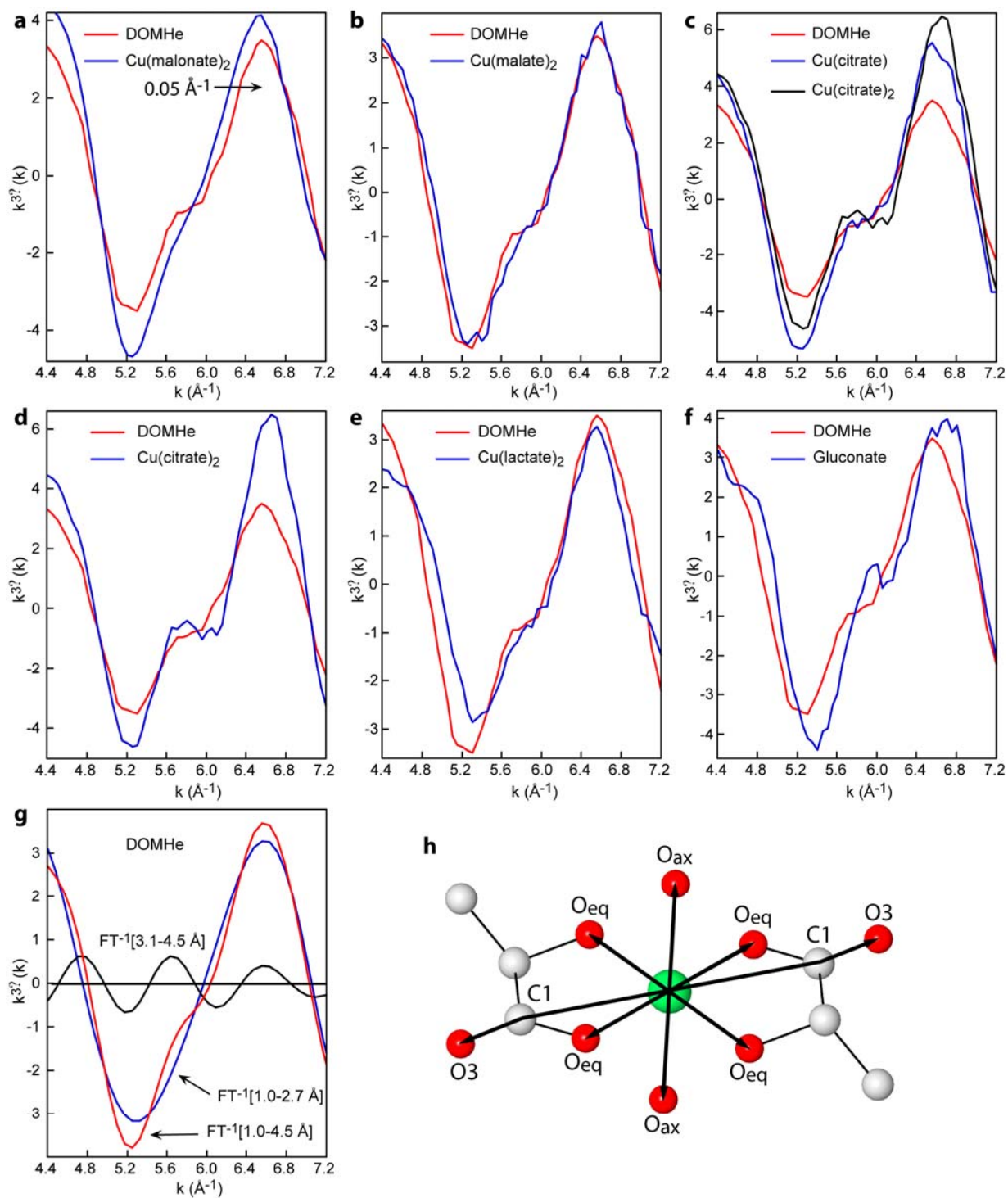


Figure 8

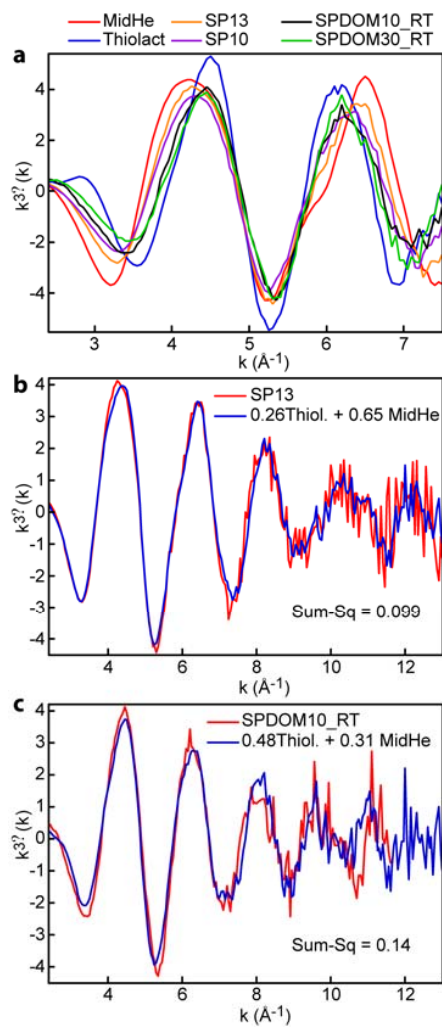


Figure 9

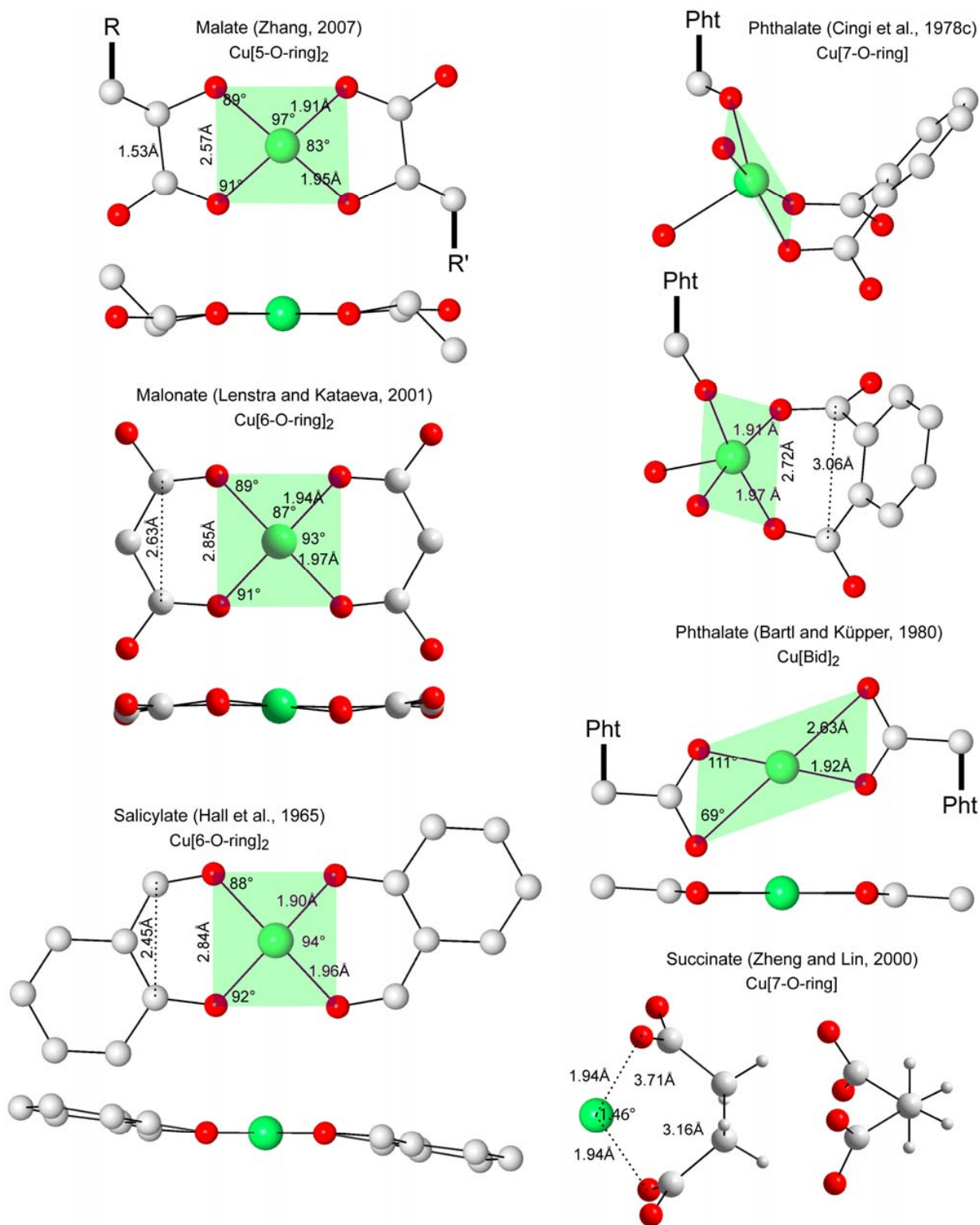


Figure 10

Electronic Annex

Fig. S1. EXAFS spectra of Cu-NOM samples (red lines) and their reconstructions with linear combinations of the two first abstract components shown in Figure 5 (blue lines). Sum-Sq is the sum of the squares of the residuals, normalized to the sum of the squares of the data values.

Fig. S2. Fourier filtered EXAFS spectra in the $[1.0 - 2.7 \text{ \AA}] R + \Delta R$ interval (red lines) and simulations with two shells (Oeq and C1) and three shells (Oeq, Oeq, and C1) (blue lines). When the Oeq shell is at $\sim 2.6 \text{ \AA}$, as in the Cu[Bid]₂ chelates citrate dihydrate (WANG et al., 2006) and phthalate (BARTL and KÜPPERS, 1980; CINGI et al., 1969), omitting this shell in the fit shifts the calculated curve to the right at 6.5 \AA^{-1} relative to data (arrow). In contrast, the calculated curve is shifted to the left when the Oeq shell is at $\sim 2.3 \text{ \AA}$, as in Cu[5-O-ring]₂ (DOMHe, malate, histidine) and Cu[6-O-ring]_{1,2} (malonate, MidHe) chelates.

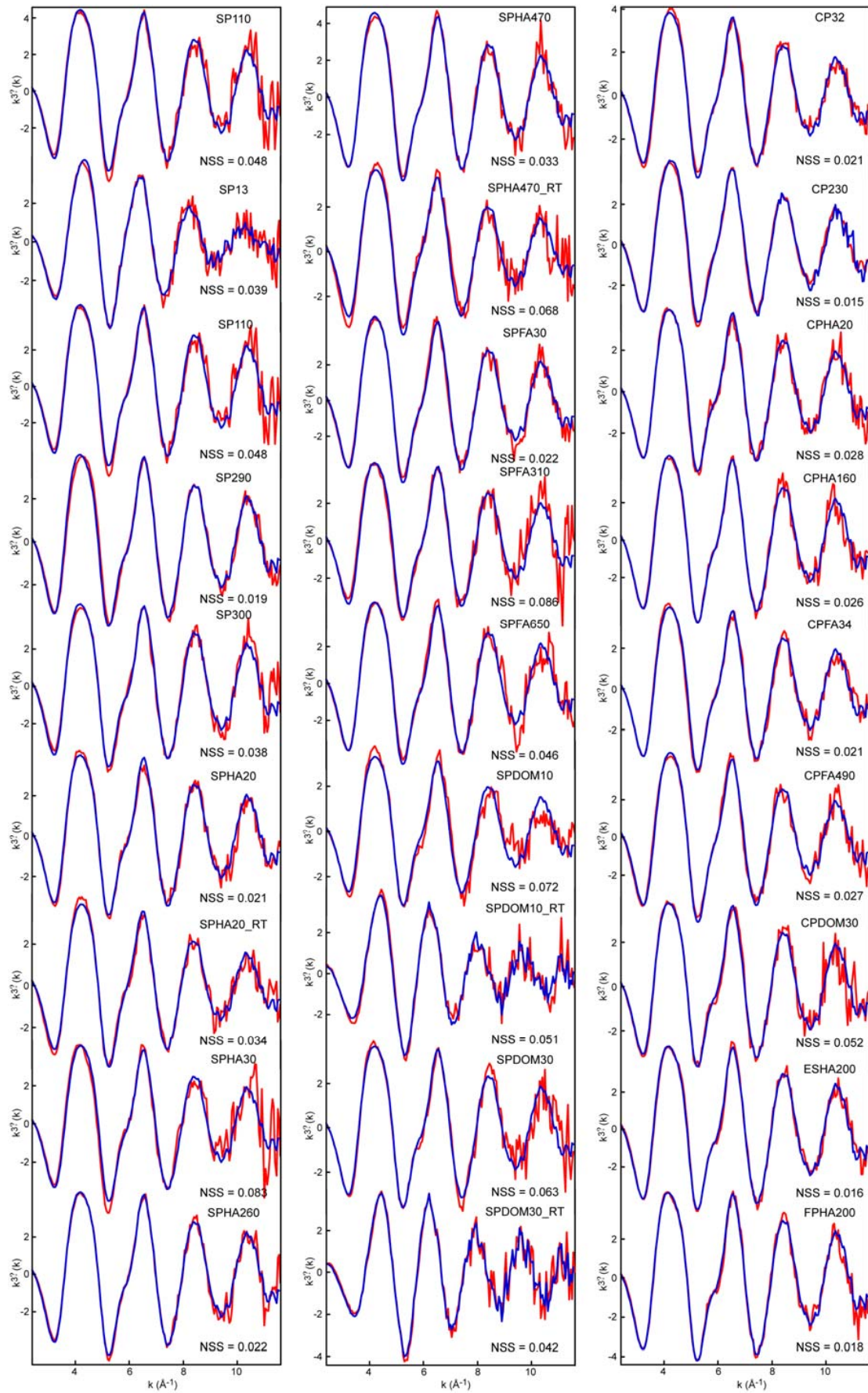


Figure S1

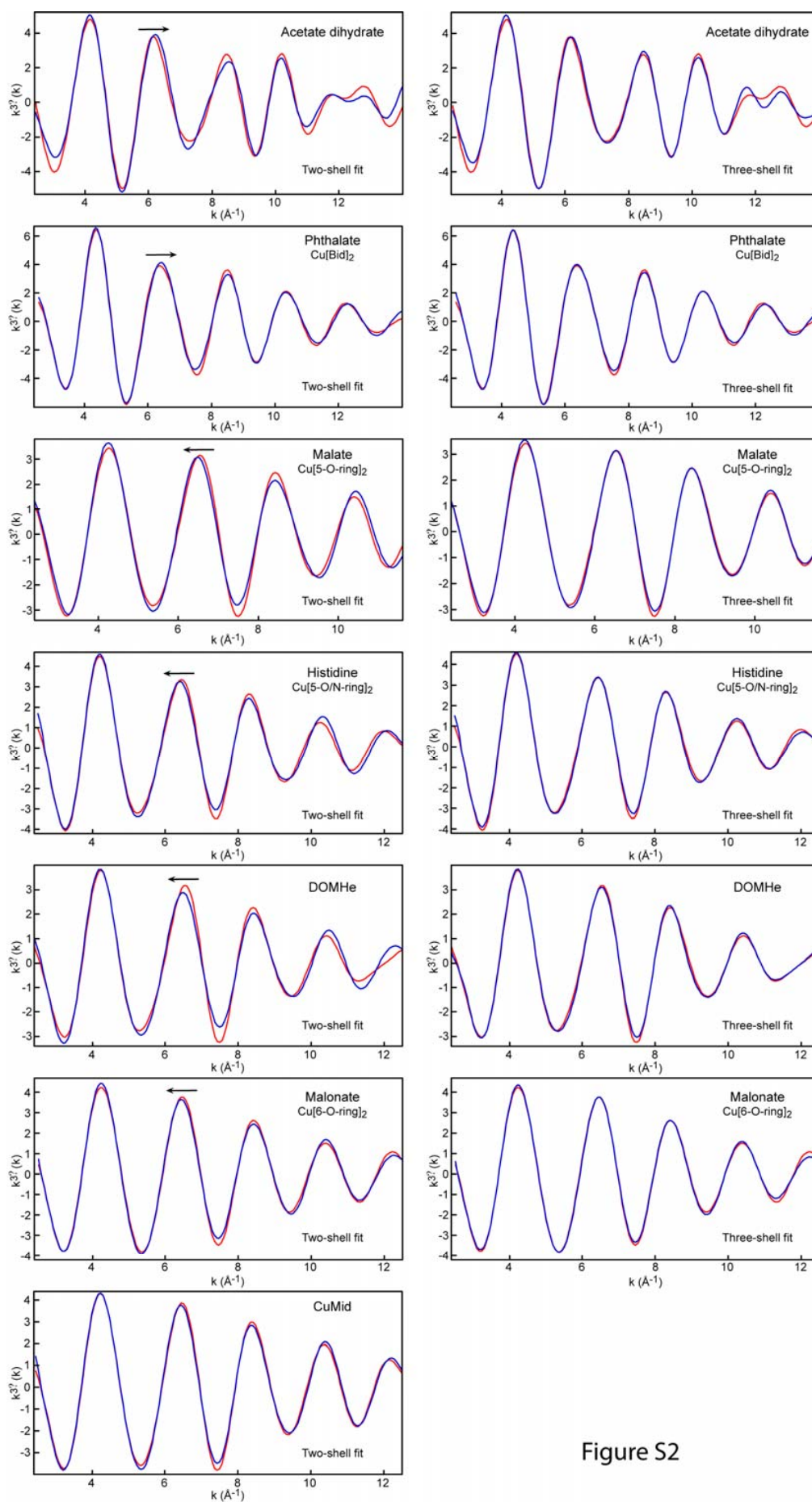


Figure S2

Quatrième partie

Mécanisme de rétention du cuivre sur de la tourbe végétalisée : approche micro-spectroscopique

Chapitre 10

Formes géochimiques du cuivre dans le casier à tourbe

10.1 Introduction

Comme cela a été mentionné dans la partie précédente, les acides carboxyliques aliphatiques substitués en α par des groupements OH et COOH sont les ligands fixant majoritairement le cuivre sur des échantillons synthétisés au laboratoire. La question est maintenant de savoir quelle est l'influence de la végétation sur la nature des espèces cuprifères. Pour répondre à cette question, des échantillons de rhizosphère du casier à tourbe ont été examinés par micro-fluorescence X (μ -XRF), par micro-XANES (μ -XANES), par micro-EXAFS (μ -EXAFS), par XANES de poudre et par EXAFS de poudre.

La première étape de la procédure d'analyse de échantillons utilise la μ -XRF. Cette technique image la distribution spatiale du cuivre et du zinc et identifie les spots de cuivre intéressants. Vu la faible taille du faisceau ($\approx 5 \mu\text{m}$), on peut supposer que ces spots ne contiennent qu'une seule espèce de cuivre. La deuxième étape de la procédure consiste à enregistrer les spectres μ -EXAFS et μ -XANES de chaque spot au seuil du cuivre et/ou du zinc dans le but de connaître le degré d'oxydation et l'environnement immédiat de ces éléments à cette échelle. Enfin, la troisième étape de la procédure évalue l'hétérogénéité de l'échantillon à l'échelle de la centaine de micromètres. Pour cela, les spectres μ -EXAFS des espèces pures ou pseudo-pures sont comparés avec le spectre EXAFS moyen mesuré sur une poudre. Ceci permet d'évaluer la proportion de chaque espèce dans l'échantillon massif. L'application de cette procédure donne de très bons résultats quant-à l'étude de la spéciation des ET dans les sols ([Kirpichtchikova et al., 2006](#)).

10.2 Matériel et méthode

Les échantillons analysés proviennent tous de la rhizosphère de *Phragmites australis* du casier à tourbe du site pilote d'Avrigny.

10.2.1 Préparation des échantillons pour l'analyse par rayons X

Selon que l'on est en micro-absorption X ou en absorption X de poudre, les échantillons ne sont pas préparés de la même manière.

10.2.1.1 Préparation des échantillons pour la micro-absorption X

Les mesures sont effectuées sur des lames minces. Leur fabrication comporte trois étapes. La première consiste à solidifier l'échantillon grâce à une résine puis à les coller sur une lame de verre. Enfin, l'épaisseur de la préparation est ramenée à 30 μm par abrasion.

10.2.1.2 Préparation des échantillons pour l'absorption X de poudre

Les échantillons massifs ont été lyophilisés, puis broyés pour obtenir une poudre homogène. Cette poudre a ensuite été pressée sous forme de pastilles de 0.5 cm de diamètre. Pour les références, du téflon a été ajouté à la poudre pour diminuer la concentration en cuivre dans l'échantillon à une valeur inférieure à 6 000 ppm (mesurés par fluorescence X).

10.2.2 Analyse des échantillons par rayons X

10.2.2.1 Micro-fluorescence X

L'association, la distribution et la localisation des éléments lourds ($Z \geq 18$) dans les échantillons ont été obtenues par μ -XRF à 13.05 keV. Cette analyse a été réalisée sur la ligne de lumière 10.3.2 de l'Advanced Light Source (ALS, Berkeley, USA). Les régions "grossières" ont été scannées avec des pas de 10 μm et une taille de faisceau de 10 (H) \times 7 (V) μm^2 , tandis que les régions détaillées ont été scannées avec des pas de 5 μm et une taille de faisceau de 5 (H) \times 5 (V) μm^2 . Le temps de comptage pour chaque pixel a été de 200 ms. Cette vitesse est assez rapide pour prévenir l'altération des espèces originelles de cuivre sous faisceau. De plus amples détails sur la ligne de lumière et le traitement des données de fluorescence X peuvent être trouvés dans [Marcus et al. \(2004\)](#).

10.2.2.2 Micro-absorption X et absorption X de poudre

Les formes chimiques de Cu et Zn ont été déterminées par spectroscopies XANES et EXAFS appliquées à l'échelle microscopique (μ -XANES et μ -EXAFS) et à l'échelle macroscopique (XANES et EXAFS moyen). Les spectres de μ -XANES et μ -EXAFS au seuil K du cuivre et du zinc sur les espèces géochimiques intéressantes (spot) ont été enregistrés sur la ligne de lumière 10.3.2 à l'ALS. La taille du faisceau a été ajustée en fonction de l'hétérogénéité de l'échantillon et du spot analysé. Les spectres XANES et EXAFS moyen au seuil du cuivre ont été enregistrés sur la ligne de lumière FAME à l'European Synchrotron Radiation Facility (ESRF, Grenoble, France) en utilisant un multidécteur solide (Canberra) comportant 30 cristaux de Ge et une taille de faisceau de 300 (H) \times 100 (V) μm^2 .

Dans les deux cas, l'échantillon a été orienté à 45 ° du faisceau X incident et du détecteur. L'évolution des espèces de cuivre organique causée par l'instabilité de la matière organique sous radiation des rayons X a été minimisée en déplaçant l'échantillon de 15 μm (μ -EXAFS) à 300 μm (EXAFS de poudre) après chaque scan dans la direction de la particule de tourbe. Ceci permet d'accéder à un matériel "frais" entre chaque scan. Selon la quantité de cuivre contenue dans l'échantillon, de 4 à 15 scans ont été sommés. Les enregistrements ont été effectués soit à température ambiante (293 K) soit à froid (10 K). L'avantage majeur de travailler à froid par rapport à la température ambiante est de réduire la contribution du terme d'agitation thermique du facteur Debye-Waller (équation 8.5) et d'obtenir une plus grande stabilité des espèces photosensibles. Les oscillations EXAFS sont également moins atténuées et donc les spectres obtenus sont de meilleure qualité. Enfin, les composés de cuivre organique ont été enregistrés par détection de fluorescence tandis que les composés

contenant du cuivre métallique ont été enregistrés en transmission.

10.2.2.3 Extraction et analyse des données EXAFS et μ -EXAFS

Les données μ -EXAFS et EXAFS ont été extraites des spectres bruts selon la procédure décrite dans le chapitre précédent.

Les paramètres structuraux des espèces de cuivre ont été, selon le cas, déterminés par deux méthodes exposées au chapitre 8. La première méthode consiste à reconstruire les spectres μ -EXAFS et EXAFS avec un ou plusieurs spectres EXAFS de composés de référence simples de structure et de composition connues. Les reconstructions sont optimisées en ajustant la proportion de chaque référence.

La deuxième méthode consiste à simuler les spectres EXAFS pour déterminer la nature, le nombre et la distance des proches voisins atomiques autour de l'atome central (Cu ou Zn). Les calculs ont été effectués avec les programmes WinXAS et FEFF8.

10.3 Résultats

10.3.1 Distribution spatiale du Cu et du Zn dans le filtre à tourbe par micro-fluorescence X

La figure 10.1 présente les cartes de μ -XRF du cuivre et du zinc au niveau d'une racine, de l'interface racine/sol et d'une particule de tourbe. Le cuivre (couleur verte) et le zinc (couleur rouge) sont répartis de manière hétérogène dans l'ensemble des trois échantillons donnant à l'ensemble une teinte orangée (mélange de cuivre et de zinc). L'étude approfondie de ces cartes de μ -XRF (et d'autres non présentées dans le manuscrit) a permis de mettre en évidence trois espèces géochimiques contenant chacune du cuivre et/ou du zinc.

La première espèce géochimique (spot #1) se présente sous forme de grains de quelques microns de diamètres. Leur couleur jaune-orangé laisse supposer qu'ils sont composés d'un mélange de cuivre et de zinc. Ce résultat est confirmé par l'enregistrement du spectre de μ -XRF à 10 eV (figure 10.2). Dans cette figure, chaque pic correspond à une raie de fluorescence X d'un élément particulier présent dans le spot analysé. Les pics à 8000 eV et 8600 eV sont caractéristiques respectivement des raies K_{α} du cuivre et du zinc.

La deuxième espèce (spot #2) se présente sous forme d'agrégats de quelques microns à quelques dizaines de microns. Leur couleur exclusivement verte laisse supposer qu'ils sont composés exclusivement de cuivre. La présence d'un pic unique à 8000 eV dans le spectre de μ -XRF confirme cette hypothèse. Dans la suite du texte, ces petites particules seront dénommées nanoparticules de cuivre.

La troisième espèce (spot #3) se présente sous forme d'un agrégat millimétrique. Sa couleur jaune-orangée laisse supposer que cette espèce est composée de cuivre et de zinc, hypothèse vérifiée par les raies de fluorescence à 8000 eV et à 8600 eV. Cependant, contrairement à l'espèce #1, cette région donne également un pic vers 3800 eV caractéristique de la raie K_{α} du calcium. Or cet élément se trouve majoritairement dans la matière organique. Cette 3^{ème} espèce correspond donc à du cuivre et du zinc formant un complexe Cu ou Zn - MO.

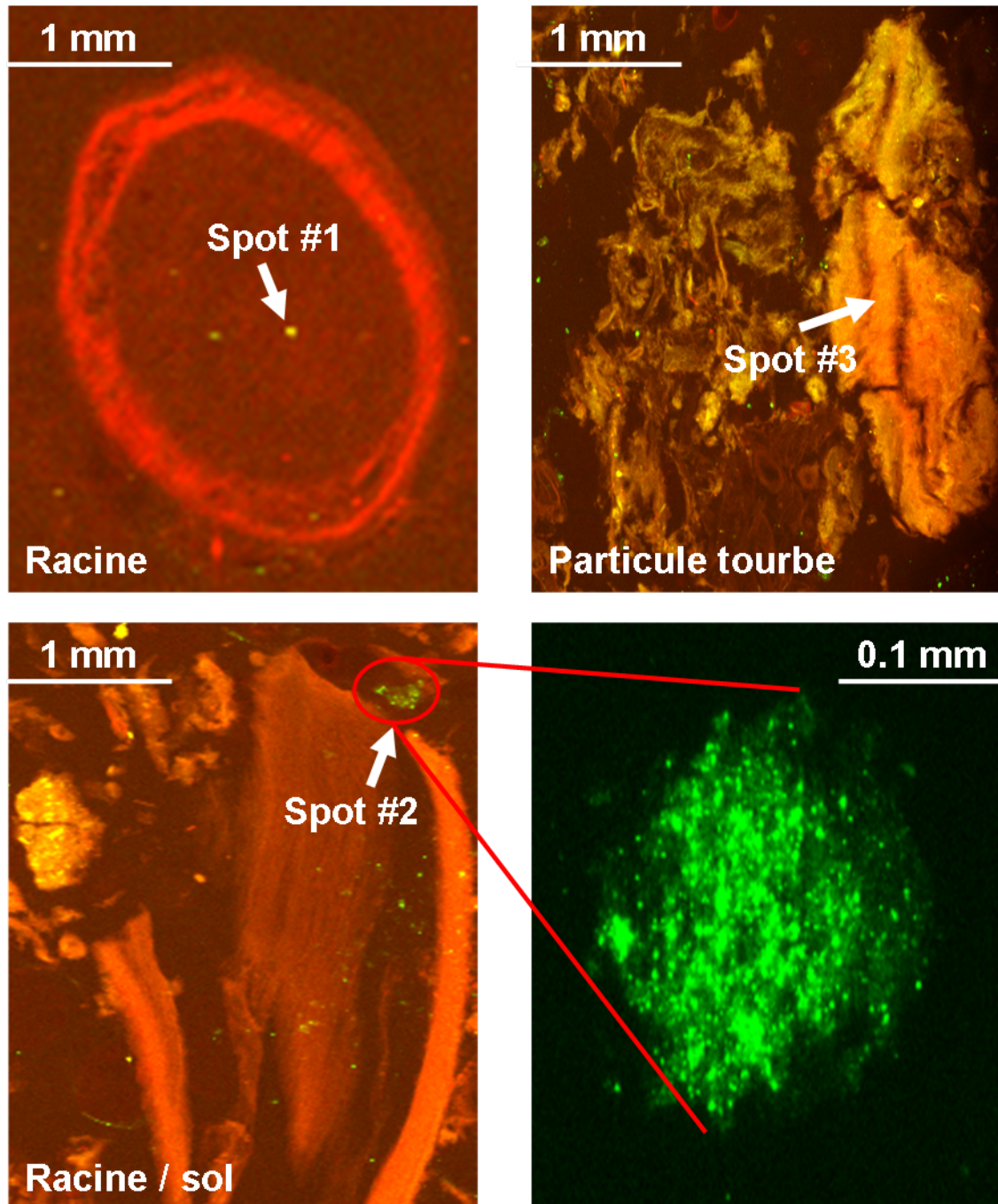


FIGURE 10.1 Carte de micro-fluorescence X du cuivre (vert) et du zinc (rouge) au niveau d'une racine de *Phragmites australis*, de l'interface racine/sol et au niveau d'une particule de tourbe à $T = 293$ K.

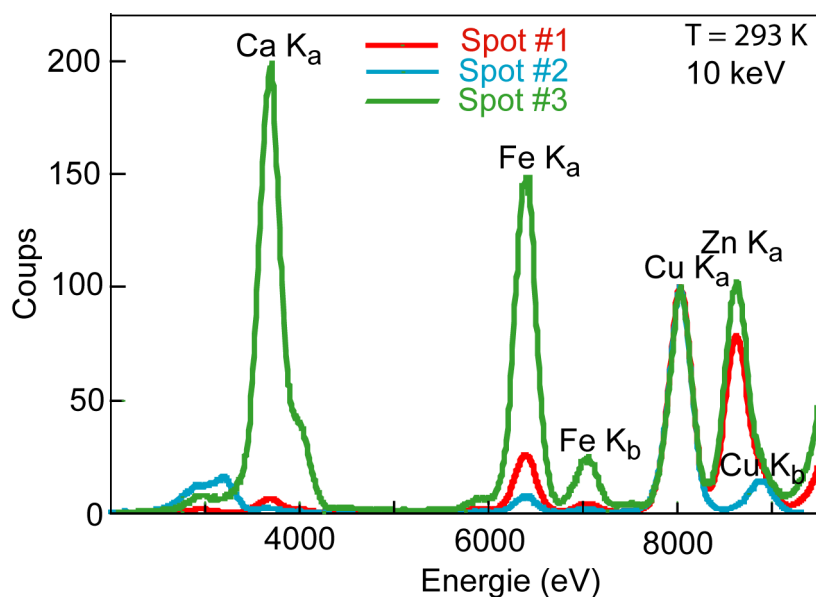


FIGURE 10.2 Spectre de fluorescence à 10 keV des spots #1, #2 et #3 à $T=293$ K.

La μ -XRF a permis de mettre en évidence l'existence de trois associations géochimiques. Le degré d'oxydation du cuivre et la symétrie de son environnement ont été précisés par μ -XANES.

10.3.2 Détermination par μ -XANES du degré d'oxydation du cuivre dans les trois associations géochimiques

La figure 10.3 compare les spectres XANES (figure 10.3a) des spots #1, #2 et #3 et leurs dérivés (figure 10.3b) avec ceux du cuivre métallique. Les XANES des spots #1 et #2 présentent de grandes similitudes avec celui du cuivre métallique et leurs seuils d'absorption sont situés à la même valeur en énergie (8980 eV). Au contraire, le seuil d'absorption du spot #3 est décalé de quelques eV vers les hautes énergies (8982 eV). Ce décalage est caractéristique d'une augmentation de l'état d'oxydation du cuivre (Kraft et al., 1996). Etant donné que dans nos conditions le Cu(I) n'est pas stable, on en déduit donc que le spot #3 a un degré d'oxydation de +II tandis que les spots #1 et #2 ont un degré d'oxydation de 0. On en conclut donc directement que (i) le réseau cristallin du spot #2 est comparable à celui du cuivre métallique, c'est-à-dire cubique face-centrée et, (ii), le Cu(II) dans le spot #3 présente selon toute vraisemblance une configuration octaédrique (Karlsson et al., 2006). Dans le cas du spot #1, une étude du spectre EXAFS sera nécessaire pour conclure puisque ce spot contient du zinc, en plus du cuivre métallique.

Dans le cas du spot #3, la dérivée première du spectre μ -XANES donne des informations plus précises sur l'environnement des atomes du Cu(II) (Flogeac et al., 2004). L'absence de structure avant seuil, appelée généralement pré-pic, à plus basse énergie que la transition notée α sur la figure 10.3, est typique d'un environnement centrosymétrique (Kosugi et al., 1984). Autrement dit, si on considère que le complexe Cu(II)-MO est situé au milieu d'un octaèdre allongé comme le proposent Karlsson et al. (2006), les 4 atomes d'oxygène du plan (O_{eq}) sont équidistants de l'atome de Cu(II). Le pic α vers 8982 eV correspond probablement à une transition $1s \rightarrow 4s$. Entre 8987 eV et 8995 eV, on observe un pic large dédoublé (transitions β et γ , figure 10.3b). Le premier pic (β) correspond à la transition $1s \rightarrow 4p_z$ tandis que le deuxième pic (γ) correspond à la transition $1s \rightarrow 4p_{x,y}$. Autrement dit, les niveaux 4p normalement dégénérés en symétrie purement octaédrique sont séparés.

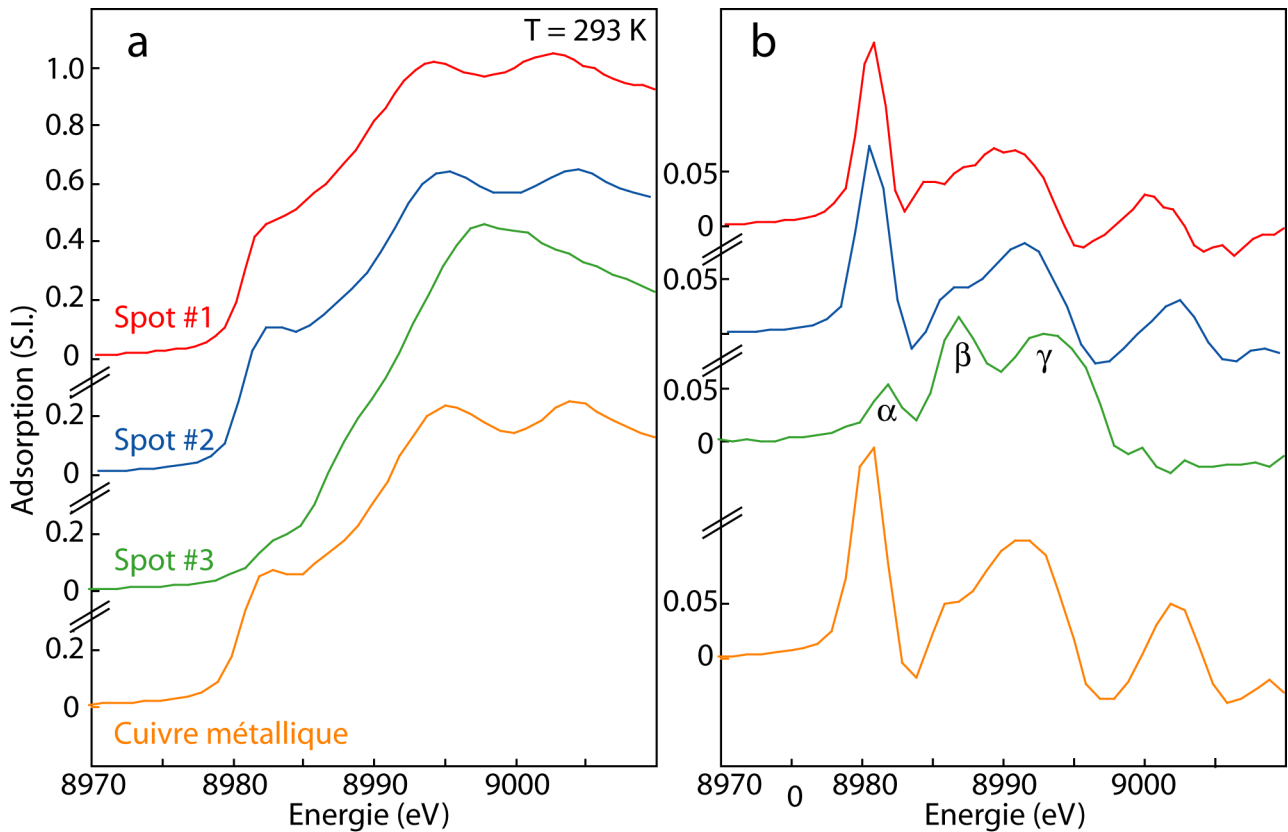


FIGURE 10.3 μ -XANES (a) et dérivés (b) au seuil du cuivre des spots #1 (rouge), #2 (bleu), #3 (vert) et du cuivre métallique (orange) à $T = 293$ K.

Structuralement, cela provient d'une différence entre les distances Cu(II) - O équatoriaux ($d_{\text{Cu-O}_{\text{eq}}}$) et Cu(II) - O axiaux ($d_{\text{Cu-O}_{\text{ax}}}$). Ce phénomène est l'effet Jahn Teller.

Pour bien comprendre l'effet Jahn Teller, il est nécessaire de revenir aux orbitales moléculaires. Dans un champ de ligands octaédriques, les cinq orbitales 3d du cuivre se subdivisent en deux groupes d'orbitales : les orbitales triplement dégénérées T_{2g} (d_{xy} , d_{xz} et d_{yz}) et les orbitales doublement dégénérées E_g ($d_{x^2-y^2}$ et d_{z^2} , figure 10.4). L'ion Cu(II) étant de configuration $3d^9$, l'orbitale E_g (de plus haute énergie) contient un électron célibataire. Cet électron célibataire peut alors se placer dans l'un ou l'autre des niveaux $d_{x^2-y^2}$ et d_{z^2} , entraînant la levée de leur dégénérescence. L'électron célibataire de l'ion Cu(II) occupe le niveau $d_{x^2-y^2}$, dont les orbitales sont dirigées vers les oxygènes équatoriaux. Donc, $d_{\text{Cu-O}_{\text{eq}}} < d_{\text{Cu-O}_{\text{ax}}}$.

10.3.3 Étude microscopique des trois associations géochimiques par μ -EXAFS et EXAFS

10.3.3.1 Étude du spot #1

La figure 10.5 compare le spectre μ -EXAFS du spot #1 avec celui du laiton α aux seuils du cuivre (Figure 10.5a) et du zinc (Figure 10.5b). Les deux spectres étant semblables à chacun des seuils, le spot #1 est du laiton α .

Le laiton est un alliage de cuivre et de zinc métallique, aux proportions variables, largement

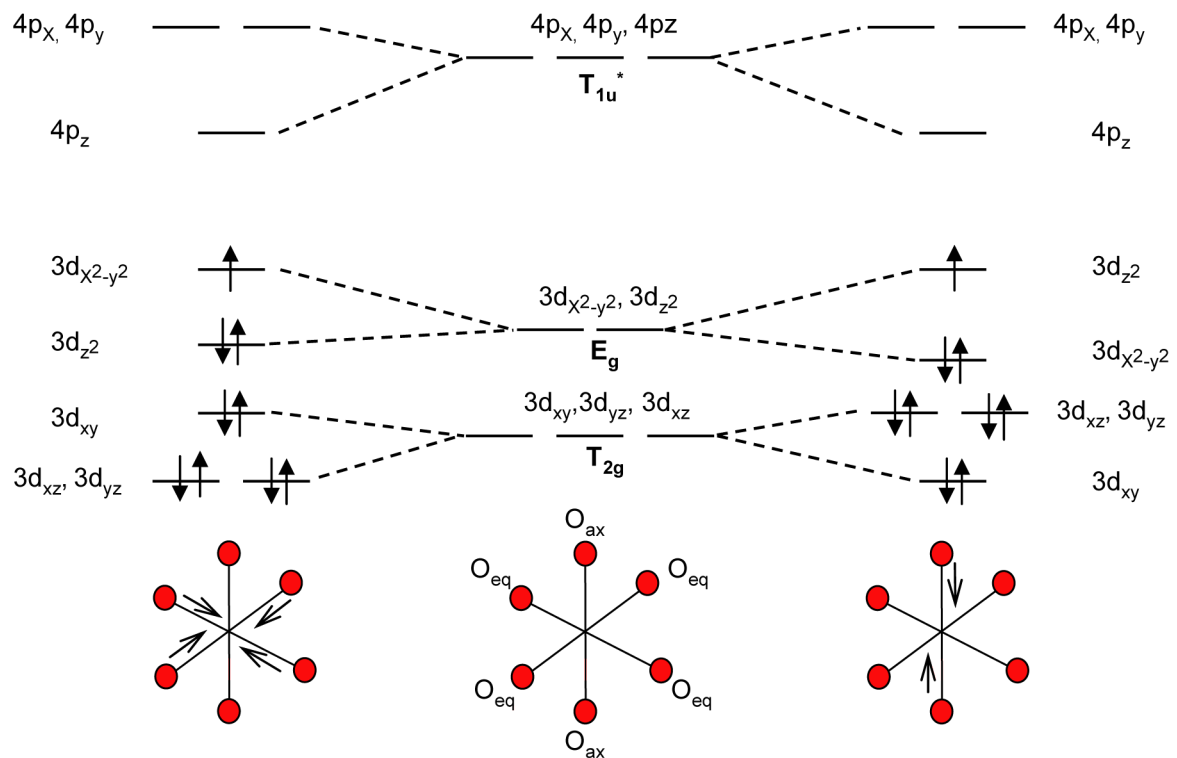


FIGURE 10.4 Orbitales moléculaires 3d et 4p du Cu(II) en coordination octaédrique : effet Jahn-Teller.

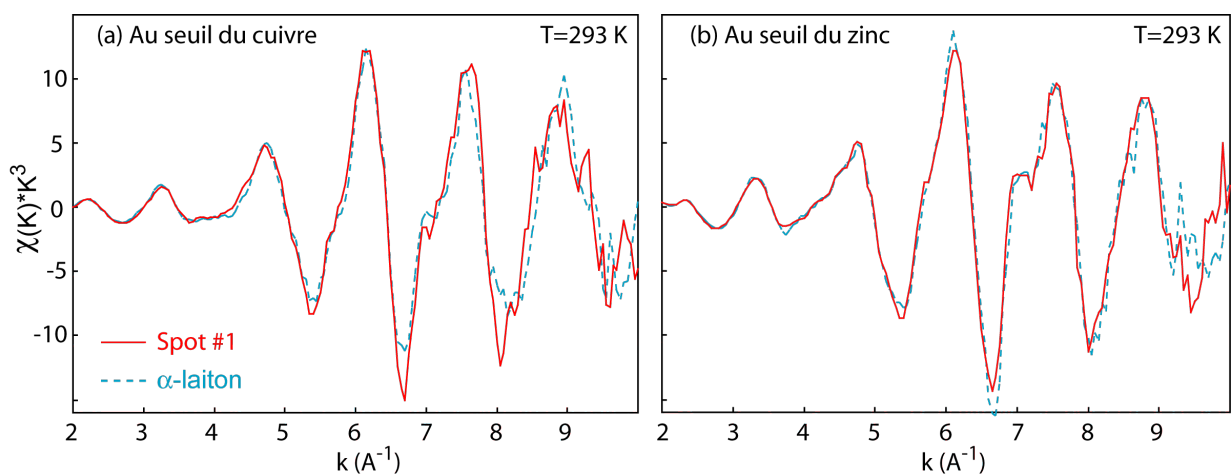


FIGURE 10.5 Spectre EXAFS du spot #1 et du laiton α (a) au seuil du cuivre et (b) au seuil du zinc à $T = 293\text{ K}$.

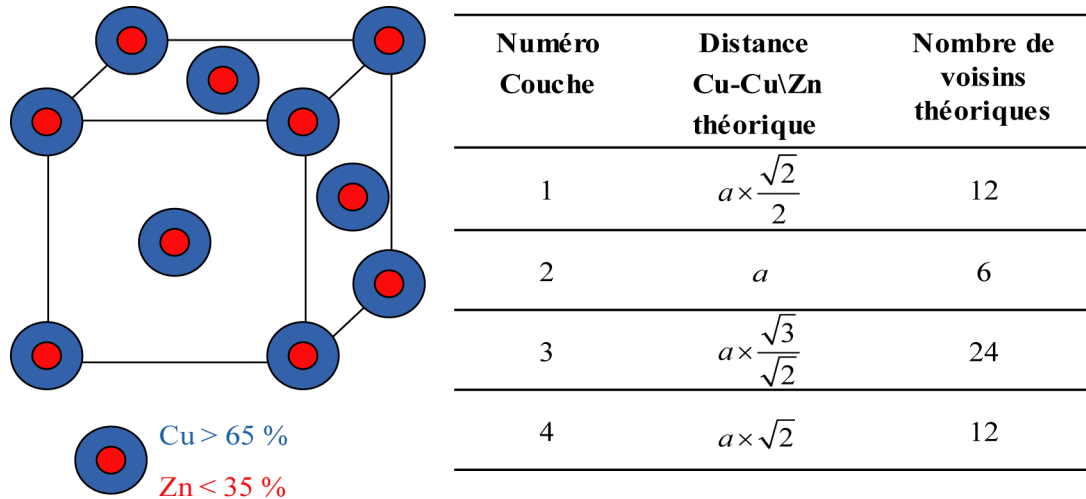


FIGURE 10.6 Représentation schématique de la structure du spot #1 et distance et nombre de voisins théoriques entre les atomes (tableau).

répandu à travers le monde depuis le néolithique. Cet alliage existe sous différentes formes cristallines. Ces formes sont fonction de la concentration en zinc. Parmi toutes ces formes, le laiton α , qui présente l'avantage de pouvoir être travaillé à froid, est la forme la plus répandue. Sa teneur en zinc est au maximum de 35 % et sa structure cristalline est cubique face-centrée (figure 10.6). Théoriquement, chaque atome d'une structure CFC possède 12 voisins à une distance de $a \times \frac{\sqrt{2}}{2}$, 6 voisins à une distance de a , 24 voisins à une distance de $a \times \frac{\sqrt{3}}{\sqrt{2}}$ et 12 voisins à une distance de $a \times \sqrt{2}$. Il est donc tout à fait possible de simuler le spectre du laiton α avec 4 paires atomiques Cu-Cu ou 4 paires atomiques Cu-Zn au seuil du cuivre. Étant donné que les atomes Cu et Zn sont adjacents dans le tableau périodique, l'EXAFS n'a pas la sensibilité nécessaire pour différencier ces deux éléments. Les paires Cu-Zn ne sont donc pas prises en compte dans les simulations et sont remplacées par des paires Cu-Cu. Au final, 4 couches atomiques sont *a-priori* suffisantes pour reproduire le spectre EXAFS. La figure 10.7 compare le spectre EXAFS du spot #1, du laiton α et du cuivre métallique avec leurs simulations FEFF8 à 4 couches Cu-Cu. Les paramètres de structure sont donnés dans le tableau 10.1. Pour les trois espèces, les simulations à 4 couches reconstruisent assez bien les spectres EXAFS et les transformées de Fourier. Les facteurs de Debye-Waller (σ^2) sont tous inférieurs à 0.012 \AA^2 . Ces valeurs sont comparables à celles de Girardeau et al. (1988) et de Manceau et al. (2008).

Les nombres de voisins (N) obtenus en EXAFS et en diffraction sont proches. Les distances des 3 premières couches du spot #1, de la référence laiton α et de Cu(0) sont proches à $\pm 0.10 \text{ \AA}$ des distances Cu-Cu déterminées par diffraction. Les distances pour la 4^{ième} couche du spot #1 et de la référence du laiton sont quant-à elles supérieures de 0.3 \AA par rapport à celle de Cu(0). La présence de Zn dans le laiton, dont le rayon atomique est supérieur à celui du cuivre explique cette différence. De plus, la 4^{ième} couche Cu-Cu du spot #1 est inférieure à celle du laiton. Ceci suggère que la proportion de zinc dans le spot #1 est inférieure à celle du laiton α , qui est de 35 %. Malheureusement, la teneur en zinc des grains de laiton dans la rhizosphère n'a pu être directement déterminée par une technique indépendante, comme par exemple la microsonde électronique.

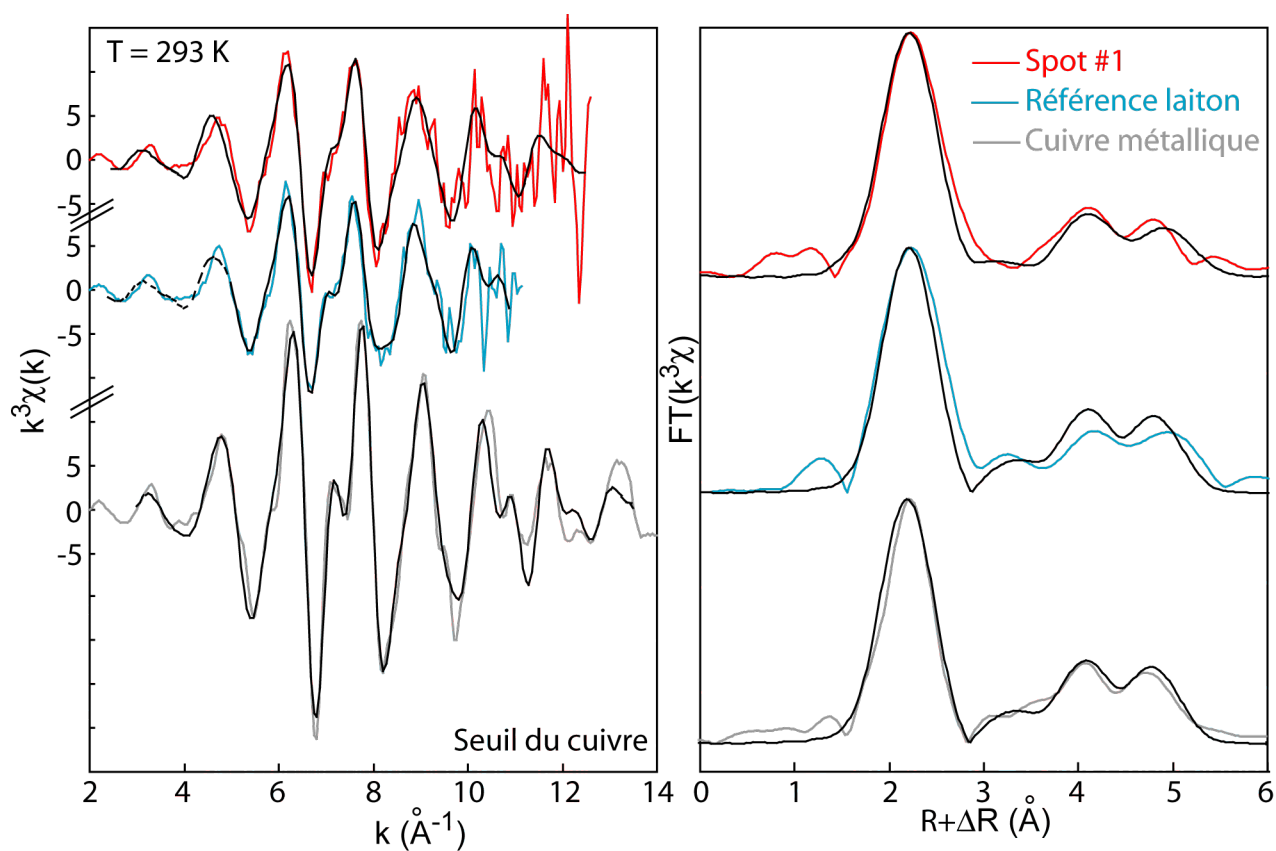
10.3.3.2 Étude du spot #2

La figure 10.8 compare le spectre EXAFS du cuivre métallique avec les spectres EXAFS de différents spots semblables au spot #2. La phase des spectres des spots #2 est très proche de celle

Tableau 10.1 Comparaison entre les paramètres structuraux du spot #1, de la référence de laiton α et du cuivre métallique obtenus par EXAFS et par diffraction des rayons X.

	Couche 1 Cu-Cu			Couche 2 Cu-Cu			Couche 3 Cu-Cu			Couche 4 Cu-Cu		
	R	N	σ^2	R	N	σ^2	R	N	σ^2	R	N	σ^2
Spot #1	2.56	14.2	1.1	3.51	1.8	1.1	4.48	15.3	1.1	5.34	20.3	1.1
Laiton référence	2.56	12.7	1.2	3.59	4.1	1.2	4.50	12.5	1.2	5.40	25.3	1.2
Cuivre métallique	2.54	20.5	1.1	3.58	6.3	1.1	4.39	28.1	1.1	5.14	12	1.1
Cuivre Métallique (Diffraction)	2.57	12	/	3.61	6	/	4.42	24	/	5.11	12	/

R : distance interatomique (Å); N : Nombre de coordination; σ^2 : 10^2 *facteur de Debye-Waller (Å²). Pour toutes les simulations, le facteur d'amplitude est égal à 0.7. Les erreurs sur R et N sont respectivement de 0.02 Å et 20 %.


FIGURE 10.7 Simulation des grains de laiton et du cuivre métallique.

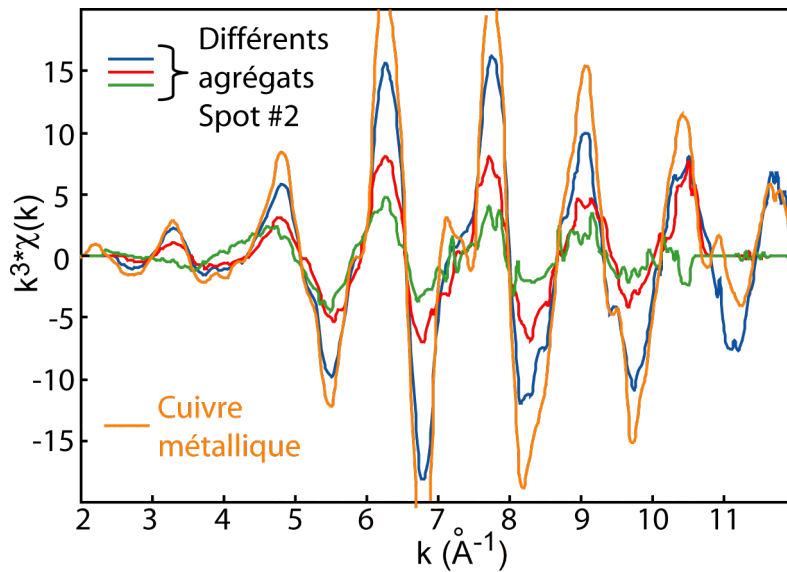


FIGURE 10.8 Comparaison entre le spectre EXAFS du cuivre métallique (référence) et les spectres EXAFS de différents spots de type #2.

de Cu(0). L'épaule vers 7.3 \AA^{-1} caractéristique du cuivre métallique est présente dans tous les spectres du casier. La structure cristalline des nanoparticules de cuivre est donc proche de celle du cuivre métallique. Cependant, l'amplitude de Cu(0) est supérieure à celle des nanoparticules. Cette différence d'amplitude ne semble pas venir d'un effet d'épaisseur car tous les spectres ont été enregistrés en transmission : elle est bien réelle. Si on compare maintenant les spectres des nanoparticules entre eux, on observe une variation d'amplitude des oscillations EXAFS. Celle-ci est caractéristique d'une variation moyenne de la taille apparente des particules.

Une étude approfondie de différents spots de type #2 montre qu'il est possible de classer leurs spectres en classes d'amplitudes. La figure 10.9 présente les trois grandes familles d'amplitude (A, B et C). Les spectres du groupe A ont une amplitude supérieure à celle des spectres du groupe B, qui elle-même est supérieure à l'amplitude des spectres du groupe C. Il semblerait donc que les spectres du groupe A proviennent de pôles plus purs que les spectres des autres groupes et que ces derniers contiennent une proportion plus importante d'une seconde espèce.

Afin de vérifier cette hypothèse, nous avons comparé un spectre du groupe A, un spectre du groupe B et le spectre du spot #3 (figure 10.10). Ce dernier spectre correspond au complexe Cu - MO. Tandis que le spectre du groupe A a été enregistré dans une zone riche en cuivre (vert intense), le spectre du groupe B a été enregistré dans une zone pauvre en cuivre (vert peu intense). La présence de points isobestiques (flèches noires) indique que le spectre du groupe B est combinaison linéaire du spectre du groupe A et du spectre du complexe Cu - MO. Par extrapolation, on en déduit donc que les groupes B et C sont combinaison linéaire des groupes A et du complexe Cu - MO.

La figure 10.11 confirme le résultat précédent. Ainsi, un spectre du groupe B est similaire au spectre composé à 50 % de l'espèce A et à 50 % du complexe Cu - MO. Comme l'amplitude des spectres diminue quand la concentration en Cu - MO augmente, on en déduit donc que les spectres du groupe C sont composés à environ 50 % de l'espèce A et à 50 % du complexe Cu - MO. Or, tous les spectres des groupes B et C ont été enregistrés dans des amas de Cu(0). Comme les amas de cuivre nanoparticulaire se forment à l'endroit d'hyphes de champignon (Manceau et al., 2008), on en déduit

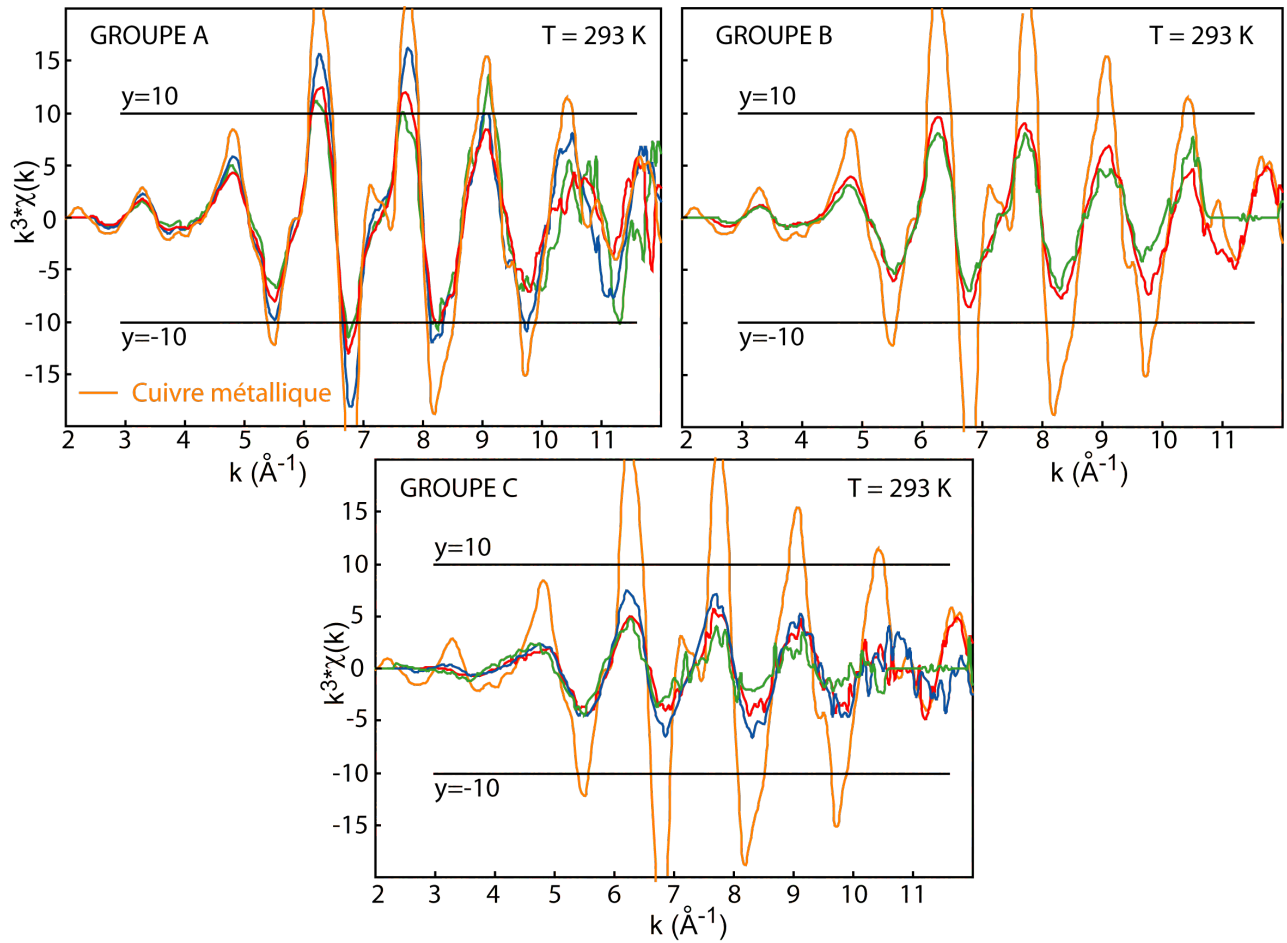


FIGURE 10.9 Mise évidence de l'existence de trois grands groupes (A, B et C) de types #2. Ces trois groupes diffèrent les uns des autres par l'amplitude des oscillations de leurs spectres.

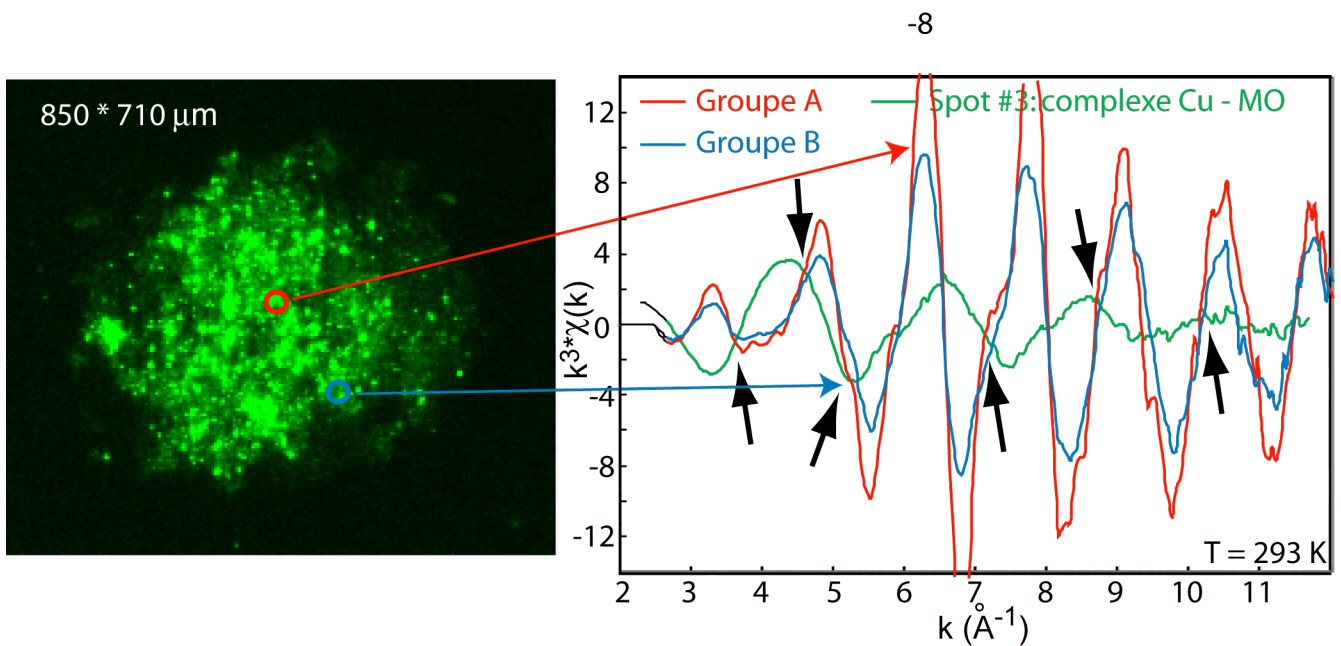


FIGURE 10.10 Comparaison entre un spectre de groupe A, un spectre du groupe B et le spectre du spot #3 correspondant au complexe Cu - MO. L'existence de points isobestiques indique que le groupe B est combinaison linéaire du groupe A et du complexe Cu -MO.

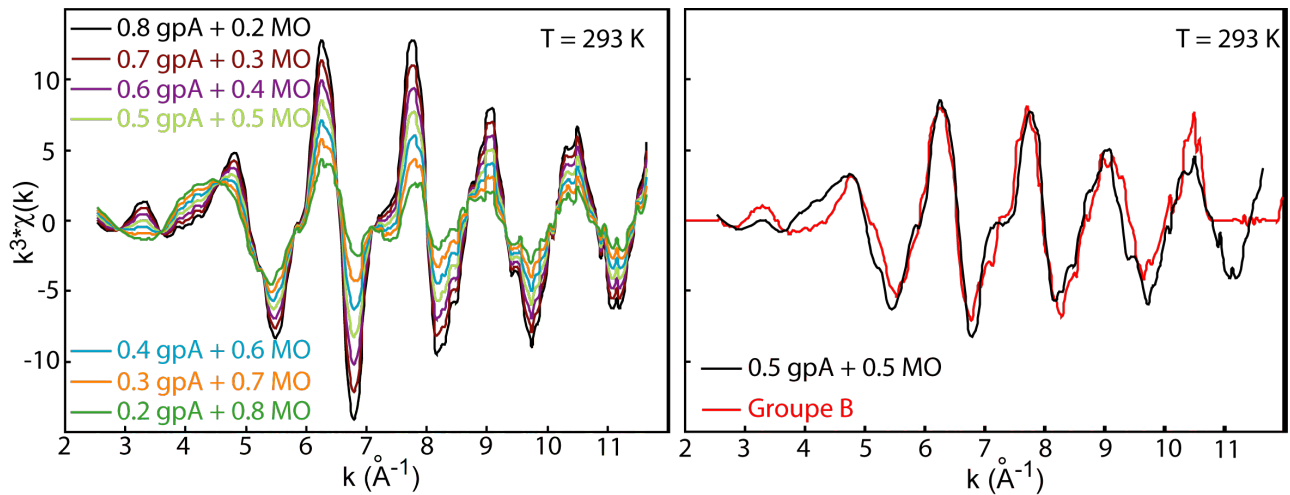


FIGURE 10.11 Comparaison entre un spectre du groupe B et le spectre composé à 50 % de l'espèce A et à 50% du complexe Cu - MO.

qu'il existe une relation entre l'activité biologique et la formation de ces amas nanoparticulaires de cuivre. On peut donc supposer que le complexe Cu - MO se transforme, via l'activité biologique, en agrégat organo-métallique de type C, puis en agrégat de type B pour finalement devenir une nanoparticule riche en cuivre pur de type A.

Ces nanoparticules de cuivre métalliques ont déjà été observées dans des sols contaminés en cuivre et plantés de *Phragmites australis* et d'*Iris pseudoacorus* (Manceau et al., 2008). La présence de cuivre sous forme Cu(0) dans un environnement oxydant, comme l'atteste la présence d'oxyhydroxydes de fer et l'absence de minéraux sulfures dans la rhizosphère, est *a-priori* inattendue. Cet état du cuivre est bien réel et ne provient pas d'une réduction de Cu(II) sous faisceau puisque le faisceau a été déplacé entre chaque scan et qu'aucune évolution a été observée en cours du scan. Il semble donc que ces nanoparticules de cuivre sont bien issues de l'activité biologique. Selon Manceau et al. (2008), les atomes Cu(II) liés à la MO seraient réduits par un antioxydant produit par les plantes ou les champignons comme l'acide ascorbique. La MO agirait comme catalyseur de la réaction et contrôlerait la taille et la forme des nanoparticules. La précipitation de Cu(II) en Cu(0) peut être considérée comme un mécanisme de défense des plantes contre un excès de cuivre dans le sol.

10.3.3.3 Étude du spot #3

Comme cela a été évoqué précédemment, le spot #3 correspond à du cuivre associé à la matière organique (complexe Cu-MO). La figure 10.12 compare le spectre μ -EXAFS du spot #3, le spectre EXAFS moyen de poudre de la rhizosphère de *Phragmites australis* (PA), et le spectre EXAFS moyen de poudre du complexe Cu-SP contenant 3 300 ppm de Cu et synthétisé au laboratoire. L'amplitude du spectre du spot #3 est plus faible que l'amplitude des deux autres spectres. Cette différence s'explique au moins en partie par la différence de températures d'enregistrement des trois spectres EXAFS. Tandis que Cu-SP et PA ont été enregistrés à $T = 10$ K, le spectre du spot #3 a été enregistré à $T = 293$ K. De ce fait, le terme de désordre dynamique (équation 8.5) est plus important dans le spectre du spot #3 que dans les deux autres spectres; l'atténuation des oscillations EXAFS est donc plus importante.

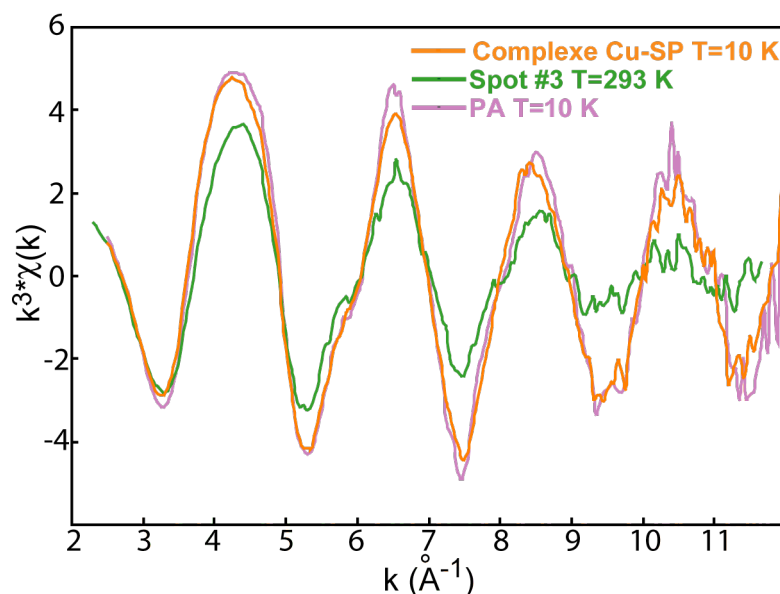


FIGURE 10.12 Comparaison entre le spectre μ -EXAFS du spot #3, le spectre EXAFS moyen de poudre de la rhizosphère de *Phragmites australis* et le spectre EXAFS moyen de poudre du complexe Cu-SP synthétisé au laboratoire et contenant 3 330 ppm de cuivre.

La phase du spectre du spot #3 est semblable à celle du spectre de la rhizosphère. Par conséquent, le spot #3 est l'espèce majoritaire dans le casier à tourbe. Comme la limite de sensibilité de l'EXAFS aux formes métalliques est de 5 % environ, la proportion de l'espèce Cu-MO dans le casier à tourbe est de l'ordre de 95 %. La somme des espèces #1 et #2 ne représente pas plus de 5 % de l'ensemble des formes du cuivre.

Enfin, la similitude des spectres de la rhizosphère et du complexe Cu-MO formé au laboratoire montre que les résultats présentés au chapitre 9 sont transposables au milieu naturel. D'ailleurs, l'épaule du spectre de l'espèce #3 à $k = 5.5 \text{ \AA}^{-1}$ suggère la formation d'un complexe de type $\text{Cu}[5\text{-O-ring}]_2$.

10.4 Conclusion

En combinant la μ -XRF, le μ -XANES, le μ -EXAFS, et le XANES et l'EXAFS de poudre, il a été possible d'identifier trois espèces de cuivre dans le casier à tourbe et d'évaluer leurs proportions. La première espèce identifiée est du laiton α . Cette espèce est selon toute vraisemblance d'origine anthropique. La deuxième espèce identifiée est du cuivre métallique nanoparticulaire. Ces nanoparticules proviendraient de la réduction du Cu(II) complexé à la MO en présence d'un réducteur comme l'acide ascorbique. Cette acide proviendrait de l'activité biologique. Ces deux premières espèces sont minoritaires dans le casier à tourbe. Enfin, la troisième et dernière espèce identifiée est un complexe Cu(II)-MO. Cette forme est très largement majoritaire. Le mécanisme de complexation des ions Cu(II) sur la MO est semblable au laboratoire et dans le casier. La rhizosphère de *australis* ne modifie donc pas cette forme.

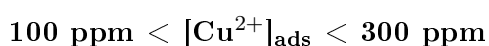
Conclusion générale

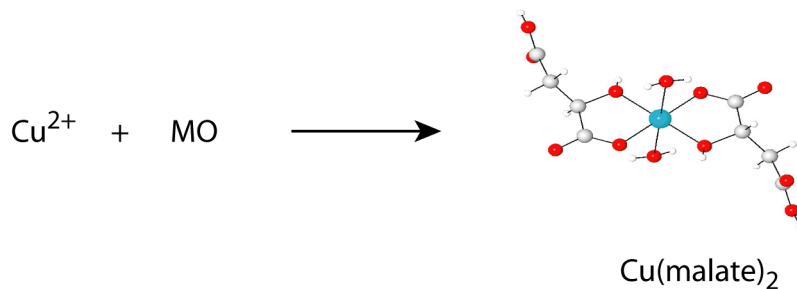
Des informations inédites sur l'adsorption et la complexation du cuivre sur les tourbes blondes et noires et leurs fractions humiques, fulviques et dissoutes, ont été obtenues en couplant des techniques macroscopiques (titrages protoniques et isothermes d'adsorption) et spectroscopiques (XANES et EXAFS). Les résultats obtenus apportent des éléments de réponse aux trois grandes questions qui avaient été posées :

1. Quelle tourbe est la mieux adaptée pour améliorer l'efficacité du casier à tourbe utilisé dans le traitement des effluents par le procédé des Jardins FiltrantsTM ?
2. Quelles sont les structures des complexes Cu-matière organique (Cu - MO) ?
3. Sous quelles formes le cuivre est-il piégé dans le casier à tourbe du site pilote d'Avrigny mis en place par la société Phytorestore ?

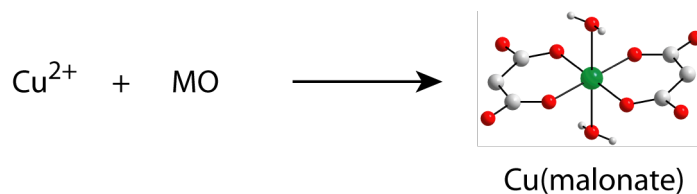
A masse de matière carbonée équivalente, la tourbe noire possède une réactivité protonique supérieure à celle de la tourbe blonde (5.56 vs. 3.88 mmol.g⁻¹). Cependant, la tourbe noire contient 34.5 % de matière minérale, donc à masse identique, elle possède une réactivité protonique légèrement inférieure à celle de la tourbe blonde (3.64 vs. 3.88 mmol.g⁻¹). A cette réactivité protonique inférieure s'ajoute le fait qu'elle possède une affinité vis-à-vis du cuivre légèrement plus faible ($\log K_{\text{Cu,COOH}} = 1.30$ vs. 1.71). Sa capacité totale de rétention du cuivre est donc inférieure à celle de la tourbe blonde. Néanmoins, la tourbe noire contient trois fois plus de soufre que la tourbe blonde (17.8 vs. 6.2 g.kg⁻¹), et devrait donc être plus réactive que cette dernière vis-à-vis des éléments chimiques très électronégatifs, comme Hg(II), car ceux-ci sont sélectivement complexés par les groupements sulfydryles.

Aux échelles atomiques et moléculaires, la rétention du cuivre est expliquée par la grande capacité complexante et l'abondance des groupes carboxyles et hydroxyles en position α contenus dans les deux tourbes. Pour des teneurs comprises entre 100 et 300 ppm, le cuivre forme majoritairement un chélate double à 5 atomes avec les groupements mixtes OH-R-COOH, du type Cu(malate)₂. A des teneurs supérieures, il est complexé préférentiellement par les groupements dicarboxyliques COOH-R-COOH, en formant un chélate à 6 atomes du type Cu(malonate). Ces mécanismes peuvent être schématisés par les deux équations bilan suivantes :





$300 \text{ ppm} < [\text{Cu}^{2+}]_{\text{ads}}$



où les sphères vertes, rouges et grises représentent respectivement les atomes de cuivre, d'oxygène et de carbone.

Les complexes carboxyliques Cu - MO identifiés au laboratoire sont très majoritairement dominants dans le casier à tourbe végétalisé par *Phragmites australis* du site pilote. La rhizosphère du casier contient également des grains micrométriques de laiton et des agrégats organo-minéraux de cuivre métallique nanodivisé. Les premiers sont d'origine anthropique et les seconds biologiques.

Perspective

L'utilisation conjointe de techniques chimiques et structurales a permis d'améliorer notre compréhension de la spéciation macroscopique et moléculaire du cuivre dans les matrices organiques. Cette approche duale pourrait être étendue à d'autres éléments chimiques, comme le zinc, le nickel, le cadmium, et surtout le mercure en raison de sa très forte toxicité et affinité pour la matière organique. Comme la MO est un polymère polyélectrolyte, il est probable que certains d'entre eux seront préférentiellement complexés par d'autres groupes fonctionnels que les carboxyles.

Il serait intéressant de connaître également la spéciation du cuivre dans la rhizosphère d'autres plantes utilisées en phytoremédiation, comme l'*Iris pseudoacorus*. Ceci permettrait *in-fine* de guider le choix des plantes dans le procédé de phytoremédiation.

Enfin, la biominéralisation du cuivre sous forme métallique dans la rhizosphère des plantes adaptées aux milieux humides ouvre des perspectives d'application en biotechnologie, comme le biomining. S'il était renforcé, ce mécanisme de précipitation du cuivre par bio-réduction pourrait conduire à des concentrations économiquement exploitables.

Table des figures

1	Casier à tourbe de la station d'épuration de Honfleur (France, 2005).	12
1.1	Sphagnum sp.	18
1.2	Carex halleriana.	18
1.3	Observation microscopique de tourbe blonde (gauche) et noire (droite).	18
2.1	Devenir de la fraction organique dans les sols.	22
2.2	Définition et propriété des substances humiques. D'après Stevenson (1994)	23
2.3	Principaux groupements fonctionnels présents dans les substances humiques.	24
2.4	Courbe de titrage d'une solution équimolaire (10^{-4} M) d'acide acétique ($pK_a = 4.8$) et de phénol ($pK_a = 10$) et d'un acide humique contenant environ 10^{-4} mol.g $^{-1}$ de groupements carboxyliques (Stevenson, 1994).	25
2.5	Les trois voies de synthèse hypothétiques des substances humiques (Stevenson, 1994). Les voies 1, 2 (et 2') et 3 correspondent respectivement aux voies ligneuses, phénoliques et de condensation amino-saccharose.	25
2.6	Représentation schématique de la lignine (Merdy et al., 2002).	27
2.7	Les trois molécules constitutives de la lignine.	27
2.8	Modèle de HA de Fuchs (1931)	29
2.9	Modèle de HA de Dragunov et al. (1948)	30
2.10	Modèle de HA de Flaig (1960)	30
2.11	Modèle de HA de Orlov (1985) . A :Noyau ; B : partie périphérique.	30
2.12	Modèle de HA de Steelnik (1985)	31
2.13	Modèle de HA de Stevenson (1994)	31
2.14	Modèle de HA et de FA de Andreux et Munier-Lamy (1994)	32
2.15	Modèle de HA de Schulten et Schnitzer (1993)	32
2.16	Modèle de SH de Hay et Myneni (2007) et de Deshmukh et al. (2007)	33
2.17	Modèle de FA de Buffle (1977)	33
2.18	Modèle de FA de Leenheer et Rostad (2004)	34
2.19	Modèle de FA de Alvarez-Puebla et al. (2006)	34
2.20	Distribution en taille des colloïdes et des particules organiques et inorganiques en milieu aqueux. D'après Lead et Wilkinson (2006)	35
3.1	Influence du pH sur la charge de surface de quelques colloïdes représentatifs. D'après Sigg et al. (2000)	38
3.2	Sphère d'hydratation de Cu(II).	38
4.1	Représentation schématique du modèle de sphère imperméable.	43
4.2	Représentation schématique du modèle de Donnan.	43

5.1	Protocole d'extraction des acides humiques (HA) et des acides fulviques (FA) (Swift, 1996).	50
5.2	Montage expérimental pour la mesure des courbes de titrage (Causse et al., 2008).	53
5.3	Schématisation du modèle DNEM.	56
5.4	Proportions massiques en acide humique, en acide fulvique, en matière inorganique et en humine des tourbes blondes (SP) et brunes (CP).	58
5.5	Distribution granulométrique des particules de tourbe par granulométrie laser.	59
5.6	Distribution granulométrique des particules de tourbe par tamisage.	59
5.7	Proportion relative des carbones dans les tourbes noires (CP) et blondes (SP), et dans leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) mesurées par RMN ^{13}C à l'état solide.	60
5.8	Points expérimentaux du calibrage de l'électrode pH (symbole) et trois régressions linéaires (ligne continue) pour trois couples (E° , k) dans la fourchette de l'incertitude expérimentale de ses points.	63
5.9	Titration unique de SP pour les trois couples (E° , k) dans la fourchette de l'incertitude expérimentale.	63
5.10	Concentration des protons relâchés $[\text{H}_5]$ de la tourbe blonde (SP) pour un titrage aller et retour en fonction du pH : mise en évidence du phénomène d'hystérésis.	64
5.11	Concentration des protons relâchés $[\text{H}_5]$ de la tourbe blonde (SP) pour un titrage aller (1), retour et aller (2) en fonction du pH.	65
5.12	Concentration des protons relâchés $[\text{H}_5]$ de deux tailles granulométriques de la tourbe blonde (SP) en fonction du pH.	66
5.13	Concentration des protons relâchés $[\text{H}_5]$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blondes (SP, couleur orange), et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA), dissoutes (DOM), inorganiques (MI) et humines en fonction du pH. $I=0.1$	67
5.14	Concentration des protons relâchés $[\text{H}_5]$ de la tourbe blonde (SP) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et humines normalisés à leurs proportions relatives massiques en fonction du pH. $I=0.1$	68
5.15	Concentration des protons relâchés $[\text{H}_5]$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blondes (SP, couleur blonde) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) en fonction du pH. Les symboles et les lignes rouges représentent respectivement les points expérimentaux et les ajustements obtenus par le modèle DNEM. $I=0.1$	70
6.1	Schéma de la procédure de modélisation de Lenoir et al. (2009) par le modèle NICA-Donnan.	116
6.2	Interpolation polynomiale de degré 6 (trait rouge) et sa dérivée première (bleu) des courbes de titrages des tourbes brunes (CP) et blondes (SP) et de leur fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM). Les valeurs des constantes apparentes $\log K_{\text{H},i\text{app}}$ sont données dans les graphiques.	118
6.3	Quantité de protons libérés $[\text{H}_5]$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blondes (SP, couleur blonde) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) en fonction du pH selon la procédure de Lenoir et al. (2009) . Les symboles et les lignes continues représentent respectivement les points expérimentaux et les ajustements obtenus par le modèle NICA-Donnan. $I=0.1$	119

6.4	Quantité de protons libérés $[H_S]$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blondes (SP, couleur orange) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) en fonction du pH selon la procédure de la RMN ^{13}C . Les symboles et les lignes continues représentent respectivement les points expérimentaux et les ajustements obtenus par le modèle NICA-Donnan. $I=0.1$	120
7.1	Cinétique d'adsorption du cuivre sur la tourbe blonde (SP, couleur orange) et la tourbe noire (CP, couleur noire).	125
7.2	Concentration du cuivre adsorbé $[Cu^{2+}]_{ads}$ des tourbes noires (CP, couleur noire) et blonde (SP, couleur orange) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) en fonction du cuivre libre en solution $[Cu^{2+}]_{aq}$ pour pH = 4.5 (carré) et 5.5 (triangle).	127
7.3	Concentration du cuivre adsorbé $[Cu^{2+}]_{ads}$ sur les tourbes noires (CP) et blondes (SP) et de leurs fractions humiques (HA), fulviques (FA) et dissoutes (DOM) en fonction du cuivre libre en solution $[Cu^{2+}]_{aq}$ pour pH = 4.5 et 5.5. Les symboles et les lignes continues représentent respectivement les points expérimentaux et les ajustements obtenus par le modèle NICA-Donnan. $I=0.1$ M.	128
10.1	Carte de micro-fluorescence X du cuivre (vert) et du zinc (rouge) au niveau d'une racine de <i>Phragmites australis</i> , de l'interface racine/sol et au niveau d'une particule de tourbe à T = 293 K.	190
10.2	Spectre de fluorescence à 10 keV des spots #1, #2 et #3 à T=293 K.	191
10.3	μ -XANES (a) et dérivés (b) au seuil du cuivre des spots #1 (rouge), #2 (bleu), #3 (vert) et du cuivre métallique (orange) à T = 293 K.	192
10.4	Orbitales moléculaires 3d et 4p du Cu(II) en coordination octaédrique : effet Jahn-Teller. 193	
10.5	Spectre EXAFS du spot #1 et du laiton α (a) au seuil du cuivre et (b) au seuil du zinc à T = 293 K.	193
10.6	Représentation schématique de la structure du spot #1 et distance et nombre de voisins théoriques entre les atomes (tableau).	194
10.7	Simulation des grains de laiton et du cuivre métallique.	195
10.8	Comparaison entre le spectre EXAFS du cuivre métallique (référence) et les spectres EXAFS de différents spots de type #2.	196
10.9	Mise évidence de l'existence de trois grands groupes (A, B et C) de types #2. Ces trois groupes diffèrent les uns des autres par l'amplitude des oscillations de leurs spectres. 197	
10.10	Comparaison entre un spectre de groupe A, un spectre du groupe B et le spectre du spot #3 correspondant au complexe Cu - MO. L'existence de points isobestiques indique que le groupe B est combinaison linéaire du groupe A et du complexe Cu -MO. 197	
10.11	Comparaison entre un spectre du groupe B et le spectre composé à 50 % de l'espèce A et à 50% du complexe Cu - MO.	198
10.12	Comparaison entre le spectre μ -EXAFS du spot #3, le spectre EXAFS moyen de poudre de la rhizosphère de <i>Phragmites australis</i> et le spectre EXAFS moyen de poudre du complexe Cu-SP synthétisé au laboratoire et contenant 3 330 ppm de cuivre.	199

Bibliographie

- Agbenin J. O. et Olojo L. A. (2004), Competitive adsorption of copper and zinc by a bt horizon of a savanna alfisol as affected by ph and selective removal of hydrous oxides and organic matter, *Geoderma* **119**(1-2), p. 85–95.
- Aho M. et Tummavori J. (1984), On the ion-exchange properties of peat. part 4 : the effects of experimental conditions on ion exchange properties of sphagnum peat, *Suo* **35**(2), p. 47–53.
- Alvarez-Puebla R., Valenzuela-Calahorro C. et Garrido J. (2006), Theoretical study on fulvic acid structure, conformation and aggregation : A molecular modelling approach, *Science of The Total Environment* **358**(1-3), p. 243–254.
- Andreux F. et Munier-Lamy C. (1994), Génèse et propriétés des substances humiques, *in* Masson edition Pédologie 2 : Constituants et propriétés du sol, Paris (France), p. 109–142.
- Arnaud P. (1985), Hydrocarbures benzéniques, *in* Gauthier-Villars edition Cours de chimie organique, Grenoble (France).
- Avena M. J., Koopal L. K. et van Riemsdijk W. H. (1999), Proton binding to humic acids : Electrostatic and intrinsic interactions, *Journal of Colloid and Interface Science* **217**(1), p. 37–48.
- Bartschat B., Cabaniss S. et Morel F. (1992), Oligoelectrolyte model for cation binding by humic substances, *Environmental Science and Technology* **26**(2), p. 284–294.
- Bell (1973), *The proton in chemistry*, New York (USA).
- Bencheikh-Lehocine M. (1989), Zinc removal using peat adsorption, *Environmental Technology Letters* **10**, p. 101–108.
- Benedetti M., Van Riemsdijk W. et Koopal L. (1996), Humic substances considered as a heterogeneous donnan gel phase, *Environmental Science and Technology* **30**(6), p. 1805–1813.
- Benedetti M. F., Milne C. J., Kinniburgh D. G., Van Riemsdijk W. H. et Koopal L. K. (1995), Metal ion binding to humic substances : application of the non-ideal competitive adsorption model, *Environmental Science and Technology* **29**, p. 446–457.
- Bergner K., Ringqvist L. et Igsell P. (2000), Charge density in peat and peat particle size fractions and its relation to the botanical origin and degree of decomposition, *in* S. U. o. A. Sciences edition Peat as metal trap for wastewater, Umea.
- Bloom P. R. et McBride M. B. (1979), Metal ion binding and exchange with hydrogen ions in acid-washed peat, *Journal of the Soil Science Society of America* **43**, p. 678–692.
- Bohlin E., Hämäläinen M. et Sunden T. (1989), Botanical and chemical characterization of peat using multivariate methods, *Soil Science* **147**, p. 252–263.

- Boulanger B. (1989), Adsorption du chrome hexavalent en solution aqueuse par la tourbe et son résidu solide d'hydrolyse, PhD thesis, Université Laval (Canada).
- Boyd S. A., Sommers L. E. et Nelson D. W. (1981), Copper(ii) and iron (iii) complexation by the carboxylate group of humic acid, *Journal of the Soil Science Society of America* **45**, p. 1241–1243.
- Børggaard O. K. (1974), Experimental conditions concerning potentiometric titrations of humic acid, *Journal of Soil Science* **25**, p. 189 – 195.
- Brooks J. D. et Sternhell S. (1957), Chemistry of brown coals, *Australian Journal of Applied Science* **88**, p. 206–221.
- Brown P. (1993), The application of peat and lignine to the removal of heavy metals from industrial wastewater, PhD thesis, Queens University (Canada).
- Brown P. A., Gill S. A. et Allen S. J. (2000), Metal removal from wastewater using peat, *Water Research* **34**(16), p. 3907–3916.
- Buffle J. *in* , Conference Procceeding de la Commission d'Hydrologie Appliquée de l'A.G.H.T.M, Université d'Orsay (France), p. 3–10.
- Cabaniss S., Zhou Q., Maurice P., Chin Y. P. et Aiken G. (2000), A log-normal distribution model for the molecular weight of aquatic fulvic acids, *Environmental Science and Technology* **34**, p. 1103–1109.
- Causse B., Spadini L., Delolme C., Sarret G., Martins J., Heyraud A. et Mazeau K. (2008), Proton and Cu^{2+} reactivity of xanthan, a model bacterial exopolysaccharide, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **72**(12, Supplement 1), p. A144.
- Chaney R. L. et Hundemann P. T. (1979), Use of peat moss columns to remove cadmium from wasterwaters, *Journal of the Water Pollution Control Federation* **51**(1), p. 17–21.
- Chen X.-H., Gosset T. et Thévenot D. R. (1990), Batch copper ion binding and exchange properties of peat, *Water Research* **24**(12), p. 1463–1471.
- Chen Y. et Schnitzer M. (1989), Sizes and shapes of humic substances by electron microscopy, *in* Wiley edition In search of structure, New York (USA), p. 621–638.
- Chistova L. R., Rogach L. M., Sokolova T. V. et Pekhtereva V. S. (1990), Removal of heavy metal ions from electroplating wastewaters by granulated peat, *Torf Prom-st* **2**, p. 25–28.
- Citeau L. (2004), Etude des colloïdes naturel présents dans les eaux gravitaires de sols contaminés : relation entre nature des collaïdes et réactivité vis-à-vis de métaux (Zn, Cd, Pb, Cu), PhD thesis, AgroParisTech (France).
- Coupal B. et Lalancette J.-M. (1976), The treatment of waste waters with peat moss, *Water Research* **10**(12), p. 1071–1076.
- Crist R. H., Martin J. R., Chonko J. et Crist D. R. (1996), Uptake of metals on peat moss : An ion-exchange process, *Environmental Science and Technology* **30**(8), p. 2456–2461.
- Darmentail D., Baize D., Barbier J., Fressinet P., Mouvet C., Salpéteur I. et Wavrer P. (2000), Fond géochimique naturel : Etat des connaissances à l'échelle nationale, Technical report, BRGM (France).

-
- De Wit J. C. M., Van Riemsdijk W. H. et Koopal L. K. (1993), Proton binding to humic substances. 1. electrostatic effects, *Environmental Science & Technology* **27**(10), p. 2005–2014.
- Deshmukh A. P., Pacheco C., Hay M. B. et Myneni S. C. B. (2007), Structural environments of carboxyl groups in natural organic molecules from terrestrial systems. part 2 : 2d nmr spectroscopy, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **71**(14), p. 3533–3544.
- Dissanayake C. B. et Weerasooriya S. V. R. (1981), Peat as a metal-trapping in the purification of industrial effluents, *International Journal of Environmental Studies* **17**, p. 233–238.
- Dragunov C. C., Zhelokhovtseva H. H. et Strelkova E. J. (1948), A comparative study of soil and peat humic acid, *Pochvovedenie* **7**, p. 409–420.
- Drexel (2002), Mercury (+2) sorption to two florida everglades peats : evidence for strong and weak binding and competition by dissolved organic matter released from the peat, *Environmental Science and Technology* **36**(19), p. 4058–4064.
- Dudal Y. et Gerard F. (2004), Accounting for natural organic matter in aqueous chemical equilibrium models : a review of the theories and applications, *Earth-Science Reviews* **66**(3-4), p. 199–216.
- Fattahpour Sedeh I., Igsell P., Ringqvist L. et Lindström E. B. (1996), Comparison of metal adsorption properties and determination of metal adsorption capacities of different peat samples, *Resource and Environmental Biotechnology* **1**, p. 111–128.
- Felbeck J. (1971), Structural hypotheses of soil humic acids, *Soil Science* **111**, p. 42–48.
- Fischer F. et Schrader H. (1921), The origin and chemical structure of coal, *Brennstoff chemie* **2**, p. 37–45.
- Flaig W. (1960), Chemische untersuchungen and huminstoffen, *Zeitschrift : Chemie* **4**, p. 253–265.
- Flogeac K., Guillon E. et Aplincourt M. (2004), Surface complexation of copper(+2) on soil particles : Epr and xafs studies, *Environmental Science and Technology* **38**(11), p. 3098–3103.
- Fuchs W. (1931), *Die Chemie des Kohle*, Berlin (Germany).
- Gamble D., Langford C. et Tong T. (1976), The structure and equilibrium of a manganese (ii) complex of fulvic acid studied by ion exchange and nuclear magnetic resonance, *Canadian Journal of Chemistry* **54**(8), p. 1239–1245.
- Gamble D., Schnitzer M. et Hoffman I. (1970), Cu(+2)-fulvic acid chelation equilibrium in 0.1 m kcl at 293 k, *Canadian Journal of Chemistry* **48**, p. 3197–3204.
- Gardea-Torresdey J. L., Tang L. et Salvador J. M. (1996), Copper adsorption by esterified and unesterified fractions of sphagnum peat moss and its different humic substances, *Journal of Hazardous Materials* **48**(1-3), p. 191–206.
- Girardeau T., Mimault J., Mai C. et Fontaine A. (1988), Exafs spectra in brass alloys during martensitic transformation, *Journal of Physics F : Metal Physics* (3), p. 575.
- Gjessing E. (1976), *Physical and chemical characteristics of aquatic humus*, ann arbor science publishers edition, Michigan (USA).
-

- Gondar D., Lopez R., Fiol S., Antelo J. M. et Arce F. (2005), Characterization and acid-base properties of fulvic and humic acids isolated from two horizons of an ombrotrophic peat bog, *Geoderma* **126**(3-4), p. 367–374.
- Gosset T., Trancart J. L. et Thevenot D. R. (1986), Batch metal removal by peat kinetics and thermodynamics, *Water Research* **20**(1), p. 21–26.
- Gregor J. E. et Powell H. K. J. (1987), Effects of extraction procedures on fulvic acid properties, *Science of The Total Environment* **62**, p. 3–12.
- Guiné V., Spadini L., Sarret G., Muris M., Delolme C., Gaudet J.-P. et Martins J. (2006), Zinc sorption to three gram-negative bacteria : Combined titration, modeling and exafs study, *Environmental Science and Technology* **40**(6), p. 1806–1813.
- Hay M. I. B. et Myneni S. C. B. (2007), Structural environments of carboxyl groups in natural organic molecules from terrestrial systems. part 1 : Infrared spectroscopy, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **71**(14), p. 3518–3532.
- Hering J. G. et Morel F. M. M. (1988), Humic acid complexation of calcium and copper, *Environmental Science and Technology* **22**(10), p. 1234–1237.
- Ho Y. S., John Wase D. A. et Forster C. F. (1995), Batch nickel removal from aqueous solution by sphagnum moss peat, *Water Research* **29**(5), p. 1327–1332.
- Horacek J., Soukupova L., Slezak J., Drahos J., Yoshida K. et Tsutsumi A. (1994), Purification of waste waters containing low concentration of heavy metals, *Journal of Hazardous Materials* **37**, p. 69–76.
- Jokic A., Frenkel A. I., Vairavamurthy M. et Huang P. M. (2001), Birnessite catalysis of the maillard reaction : Its significance in natural humification, *Geophysical Research Letters* **28**, p. 3899–3902.
- Kabata-Pendias A. (2000), *Trace Element in Soils and Plants*, crc press third edition, New York (USA).
- Karlsson T., Persson P. et Skyllberg U. (2006), Complexation of cu(+2) in organic soils and in dissolved organic matter - exafs evidence for chelate ring structures, *Environmental Science and Technology* **40**(8), p. 2623–2628.
- Kirpichtchikova T. A., Manceau A., Spadini L., Panfili F., Marcus M. A. et Jacquet T. (2006), Speciation and solubility of heavy metals in contaminated soil using x-ray microfluorescence, exafs spectroscopy, chemical extraction, and thermodynamic modeling, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **70**(9), p. 2163–2190.
- Kosugi N., Yokoyama T. et Kuroda K. A. H. (1984), Polarized cu k-edge xanes of square planar cucl₄²⁻ ion. experimental and theoretical evidence for shake-down phenomena, *91* (249-256).
- Kraft S., Stümpel J., Becker P. et Kuetgens U. (1996), High resolution x-ray absorption spectroscopy with absolute energy calibration for the determination of absorption edge energies, *Reviews Science Instrument* **67**(3), p. 681–687.
- Lead J. R. et Wilkinson K. J. (2006), Aquatic colloids and nanoparticles : Current knowledge and future trends, *Environnemental chemistry* **3**, p. 159–171.

-
- Leenheer J. A. et Rostad C. (2004), Tannins and terpenoids as major precursors of suwannee river fulvic acid, Technical report, U.S. Department of the Interior (USA).
- Lenoir T., Matynia A. et Manceau A. (2009), Evaluation du modèle nica-donnan par analyse par composante principale, *En préparation*.
- Limousin G., Gaudet J.-P., Charlet L., Szenknect S., Barthès V. et Krimissa M. (2007), Sorption isotherms : A review on physical bases, modeling and measurement, *Applied Geochemistry* **22**, p. 249–275.
- Ludwig C. (1992), GRFIT : A program for solving speciation problems, evaluation of equilibrium constants, concentrations, and their physical parameters, PhD thesis, University of Bern (Switzerland).
- MacCarthy P., Clapp C. E., Malcom R. L. et Bloom P. R. (1990), *Humic substances in soil and crop sciences : selected reading*, Soil science society of america, Madison (USA).
- Maillard L. C. (1913), Formation de matières humiques par action de polypeptides sur sucres, *Compte Rendu de l'académie des sciences* **156**, p. 148–149.
- Manceau A., Marcus M. et Tamura N. (2002), *in*, Applications of Synchrotron Radiation in Low-Temperature Geochemistry and Environmental Science, Vol. 49, Reviews in Mineralogy and Geochemistry, Washington DC. (USA), p. 341–428.
- Manceau A., Nagy K. L., Marcus M. A., Lanson M., Geoffroy N., Jacquet T. et Kirpichtchikova T. (2008), Formation of metallic copper nanoparticles at the soil - root interface, *Environmental Science and Technology* **42**(5), p. 1766–1772.
- Manneville O. (1999), *Le monde des tourbières et des marais*, Delachaux et Niestlé S.A., Lausanne (Switzerland).
- Marcus M. A., MacDowell A. A., Celestre R., Manceau A., Miller T., Padmore H. A. et Sublett R. E. (2004), Beamline 10.3.2 at als : a hard x-ray microprobe for environmental and materials sciences, *Journal of Synchrotron Radiation* **11 Part 3**, p. 239–247.
- Marshall S., Young S. et Gregson K. (1995), Humic acid-proton equilibria : A comparison of two models and assessment of titration error, *European Journal of Soil Science* **46**(3), p. 471–480.
- Martell A. et Smith R. (2004), Nist critically selected stability constants of metal complexes database ; standard reference database 46 programm, version 8.0.
- Maslennikov B. et Kiselva S. (1989), Physico-chemical basis for the use of peat in ion-exchange technology and adsorption processes, *Torf Prom-st* **5**, p. 23–25.
- Matynia A., Lenoir T., Causse B., Spadini L., Jacquet T. et Manceau A. (2009), Semi-empirical proton binding constant for natural organic matter, *Soumis*.
- McKay G. et Porter J. F. (1997), Equilibrium parameters for the sorption of copper, cadmium and zinc ions onto peat, *Journal of Chemical Technology and Biotechnology* **69**, p. 309–320.
- Merdy P., Guillon E., Dumonceau J. et Aplincourt M. (2002), Characterisation of a wheat straw cell wall residue by various techniques a comparative study with a synthetic and an extracted lignin, *Analytica Chimica Acta* **459**, p. 133–142.
-

- Milne C. J., Kinniburgh D. G. et Tipping E. (2001), Generic nica-donnan model parameters for proton binding by humic substances, *Environmental Science and Technology* **35**(10), p. 2049–2059.
- Orlov D. S. (1985), *Humus acids of soils*, A.A. Balkema, Rotterdam (Holland).
- Paxéus N. et Wedborg M. (1985), Acid-base properties of aquatic fulvic acid, *Analytica Chimica Acta* **169**, p. 87–98.
- Perdue E. M., Reuter J. H. et Parrish R. S. (1984), A statistical model of proton binding by humus, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **48**(6), p. 1257–1263.
- Piccolo A., Celano G. et Pietramellara G. (1993), Effects of fractions of coal-derived humic substances on seed germination and growth of seedlings (*lactuca sativa* and *lycopersicum esculentum*), *Biology and fertility of soils* **16**(1), p. 11–15.
- Piccolo A. et Stevenson F. (1982), Infrared spectra of Cu^{+2} , Pb^{+2} et Ca^{+2} complexes of soil humic substances, *Geoderma* **27**, p. 195–208.
- Ritchie J. D. et Perdue E. M. (2003), Proton-binding study of standard and reference fulvic acids, humic acids, and natural organic matter, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **67**(1), p. 85–96.
- Ritchie J. D. et Perdue E. M. (2008), Analytical constraints on acidic functional groups in humic substances, *Organic Geochemistry* **39**(6), p. 783–799.
- Saar R. A. et Weber J. H. (1980), Comparison of spectrofluorometry and ion-selective electrode potentiometry for determination of complexes between fulvic acid and heavy-metal ions, *Analytica Chimica Acta* **52**(13), p. 2095–2100.
- Santos (1995), Humic substances' proton-bonding equilibria : assessment of errors and limitations of potentiometric data, *Analytica Chimica Acta* **392**, p. 333–341.
- Sayers D., Stern E. et Lytle F. (1971), *Physical Review letter* **27**, p. 1204.
- Schnitzer M. (1965), Determination of acidity in soil organic matter, *Soil science society American* **29**, p. 274–277.
- Schnitzer M. et Khan M. I. (1978), *Soil organic matter*, Elsevier Scientific Publication, New York (USA).
- Schulten H.-R. et Leinweber P. (1996), Characterization of humic and soil particles by analytical pyrolysis and computer modeling, *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* **38**(1-2), p. 1–53.
- Schulten H. R. et Schnitzer M. (1993), A state of the art structural concept for humic substances, *Naturwissenschaften* **80**, p. 29–30.
- Sein L., Varnum J. et Jansen S. (1999), Conformational modeling of a new building block of humic acid : Approaches to the lowest energy conformer, *Environmental Science and Technology* **33**(4), p. 546–552.
- Sharma D. C. et Forster C. F. (1993), Removal of hexavalent chromium using sphagnum moss peat, *Water Research* **27**(7), p. 1201–1208.

-
- Shiskowski D. et Viraraghavan T. (1993), Removal of chromium from wastewater by peat filters, *Journal Environmental Science and Health* **A28**(5), p. 967–981.
- Sierra M. M. (2003), Influence of amide linkages on acidity determinations of humic substances. testing with model-mixtures, *Talanta* **62**, p. 687–693.
- Sigg L., Behra P. et Stumm W. (2000), *Chimie des milieux aquatiques*, Dunod 3ème édition, Paris (France).
- Spinti M., Zhuang H. et Trujillo E. (1995), Evaluation of immobilized biomass beads removing heavy metals from wasterwater, *Water Environment Research* **67**(943-952).
- Steelnik C. (1985), *in* , Humic substances in soil, Sediment, and Water, Wiley-Interscience, New York (USA).
- Stevenson F. (1994), *Humus Chemistry : genesis, composition, Reactions*, Wiley-Interscience 2nd edition, New York (USA).
- Stevenson F. et Cole M. (1999), *Cycle of Soil*, John Wiley and Sons Inc. edition, New York (USA).
- Swift R. (1996), *in* , Methods of soil analysis. Part 3. Chemical methods, Soil Scientific Society edition, Madison (USA), p. 1018–1020.
- Teo B. (1986), *EXAFS : Basic Principles and Data Analysis*, Springer-Verlag edition, Berlin (Germany).
- Thorn K. A., Folan D. W. et MacCarthy P. (1989), Characterization of the international humic substances society standard and reference fulvic and humic acids by solution state carbon-13 and hydrogen-1 nuclear magnetic resonance spectrometry, *Water-Resources Investigations Report* p. 89–4196.
- Tipping E. (1998), Humic ion-binding model 6 : An improved description of the interactions of protons and metal ions with humic substances, *Aquatic Geochemistry* **4** (1), p. 3–48.
- Tipping E., Reddy M. M. et Hurley M. A. (1990), Modeling electrostatic and heterogeneity effects on proton dissociation from humic substances, *Environmental Science and Technology* **24**(11), p. 1700–1705.
- Trujillo E. M., Jeffers T. H., Ferguson C. et Stevenson H. Q. (1991), Mathematically modeling the removal of heavy metals from a wastewater using immobilized biomass, *Environmental Science and Technology* **25**(9), p. 1559–1565.
- Viraraghavan T. et Dronamraju M. (1993), Removal of copper, nickel and zinc from wastewater by adsorption using peat, *Journal Environmental Science and Health* **A28**(6), p. 1261–1276.
- Waksman (1938), *Humus : Origin, chemical compositions and importance in nature*, Williams & Wilkins, Baltimore (USA).
- Wasserman S., Allen P. J., Shuh D., Bucher J. et Edelstein N. (1999), Exafs and principal component analysis : a new shell game, *Journal of Synchrotron Radiation* **6**, p. 284–286.
- Wolf A., Bunzl K., Dietl F. et Schmidt W. F. (1977), Effect of Ca^{+2} ions on the absorption of Pb^{+2} , Cu^{+2} , Cd^{+2} and Zn^{+2} by humic substances, *Chemosphere* **6**(5), p. 207–213.
-

Résumé

La tourbe possède une grande capacité à fixer les éléments traces (ET). Industriellement, celle-ci est utilisée dans le procédé des "Jardins filtrantsTM" développé par la société Phyto restore, et qui consiste à filtrer des effluents chargés en ET à travers un casier contenant un mélange de tourbes blondes (SP) et noires (CP), et planté de roseaux (*Phragmites australis*). Le but de ce projet de recherche était d'améliorer l'efficacité du procédé via la compréhension des mécanismes de rétention du cuivre sur les particules de tourbe et à l'interface tourbe/racine. Ces interactions sont connues pour conditionner la mobilité et la biodisponibilité des ET. Trois approches ont été mises en oeuvre. L'approche chimique (titrages et isothermes d'adsorption) a montré que SP possède une plus grande réactivité que CP tant en terme d'échange de proton ($Q_{H,tot}=3.88$ vs. 3.64 mmol.g⁻¹) que d'affinité pour le cuivre ($\log K_{Cu,COOH}=1.71$ vs. 1.30). L'approche spectroscopique (EXAFS et XANES) a montré que pour des teneurs comprises entre 100 et 300 ppm, Cu forme majoritairement un chélate double à cinq atomes du type Cu(malate)₂ avec les groupements mixtes OH-R-COOH. A des teneurs supérieures, il est complexé par les groupements dicarboxyliques COOH-R-COOH et forme un chélate à six atomes du type Cu(malonate). L'approche micro-spectroscopique (μ -EXAFS et μ -XANES) a montré que les deux complexes précédents sont majoritaires dans le casier à tourbe. La rhizosphère du casier contient également des grains de laiton et des agrégats organo-minéraux nanocristallins de cuivre métallique. Les premiers sont d'origine anthropique et les seconds biologiques.

The high retention capacity of peat can be used to purify wastewaters before their release into the environment. Industrially, this capacity is used in a process called "Jardin FiltrantTM", developed by the Phyto restore company. In this process, wastewaters are filtered through pots, filled with carex (CP) and sphagnum (SP) peat and vegetated with wetland plants, such as *Phragmites australis* (P.a.). The purpose of this research project was to improve the efficiency of the process through understanding the mechanisms of retention of copper on peat particles and the interface peat / root. These interactions are known to influence the mobility and bioavailability of ET. Three approaches have been implemented. The chemical approach (titrations and adsorption isotherms) showed that SP has a higher reactivity CP in terms of proton exchange ($Q_{H,tot}=3.88$ vs. 3.64 mmol.g⁻¹) than the affinity for copper ($\log K_{Cu,COOH}=1.71$ vs. 1.30). The approach spectroscopic (EXAFS and XANES) showed that for levels between 100 and 300 ppm Cu form a predominantly double chelate five atoms of the type Cu (malate)₂ with mixed groupings-OH R-COOH. At higher levels, it is complexed by the dicarboxylic groups R-COOH and-COOH form a chelate six atoms of the type Cu (malonate). The micro-spectroscopy (μ -EXAFS and μ -XANES) showed that the two previous complexes predominate in the locker peat. Rhizosphere criminal also contains grains of brass and organo-mineral aggregates of nanocrystalline copper metal. The former are of anthropogenic origin and biological seconds.