

Effets du vieillissement sur la mobilité et la biodisponibilité des polluants organiques dans des matrices poreuses telles que les sols



C4H5O2_5 2/ 9/99 THERMC 4H 50 2 0G 300.000 5000.000 1392.000 1
1.64121890E+01 1.20184883E-02-4.40468566E-06 7.30124728E-10-4.42784365E-14 2



ETUDE N° 00-0405//0406/3A

**EFFETS DU VIEILLISSEMENT SUR LA MOBILITE ET
LA BIODISPONIBILITE DES POLLUANTS ORGANIQUES
DANS DES MATRICES POREUSES TELLES QUE LES SOLS**

RAPPORT FINAL

janvier 2002

R. GOURDON - LAEPSI - INSA de LYON
E. BARRIUSO - INRA GRIGNON

Créée en 1989 à l'initiative du Ministère en charge de l'Environnement, l'association RECORD – REseau COopératif de Recherche sur les Déchets et l'Environnement – est le fruit d'une triple coopération entre industriels, pouvoirs publics et chercheurs. L'objectif principal de RECORD est le financement et la réalisation d'études et de recherches dans le domaine des déchets et des pollutions industrielles.

Les membres de ce réseau (groupes industriels et organismes publics) définissent collégalement des programmes d'études et de recherche adaptés à leurs besoins. Ces programmes sont ensuite confiés à des laboratoires publics ou privés.

Avertissement :

Les rapports ont été établis au vu des données scientifiques et techniques et d'un cadre réglementaire et normatif en vigueur à la date de l'édition des documents.

Ces documents comprennent des propositions ou des recommandations qui n'engagent que leurs auteurs. Sauf mention contraire, ils n'ont pas vocation à représenter l'avis des membres de RECORD.

- ✓ Pour toute reprise d'informations contenues dans ce document, l'utilisateur aura l'obligation de citer le rapport sous la référence :
RECORD, Effets du vieillissement sur la mobilité et la biodisponibilité des polluants organiques dans des matrices poreuses telles que les sols, 2002, 129 p, n°00-0405//0406/3A.
- ✓ Ces travaux ont reçu le soutien de l'ADEME (Agence de l'Environnement et de la Maîtrise de l'Energie)
www.ademe.fr

© RECORD, 2002

Sommaire

<i>PREAMBULE</i>	4
I- INTRODUCTION	4
II- SORPTION DES HAP DANS LES SOLS : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE	6
II.1- GENERALITES SUR L'ADSORPTION DES POLLUANTS ORGANIQUES HYDROPHOBES DANS LES MATRICES DE TYPE SOL.....	6
II.2- PIEGEAGE PHYSIQUE.....	8
II.3- PIEGEAGE CHIMIQUE – FORMATION DE RESIDUS LIES.....	9
II.4- DESCRIPTION DE L'ADSORPTION ET DE L'HYSTERESIS.....	11
II.5- SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	12
III- PROCEDURES EXPERIMENTALES	13
III.1- CARACTERISTIQUES ET ANALYSES DES POLLUANTS MODELES SELECTIONNES.....	13
III.1.1- <i>Caractéristiques physico-chimiques des molécules</i>	13
III.1.2- <i>Préparation et analyses des phases liquides</i>	14
III.2- CARACTERISTIQUES DES SOLS ET FRACTIONS DE SOLS UTILISES.....	16
III.2.1- <i>Sable, argile limoneuse et craie vierges</i>	16
III.2.2- <i>Sols vierges</i>	17
III.2.3- <i>Sols pollués</i>	18
III.2.4- <i>Caractéristiques comparées des différentes matrices sélectionnées</i>	19
III.3- PROCEDURES DE VIEILLISSEMENT EN CONDITIONS ABIOTIQUES.....	20
III.3.1- <i>Cinétiques et isothermes d'adsorption et de désorption (à l'équilibre apparent)</i>	21
III.3.2- <i>Vieillissement en batch réalisé après dopage artificiel en polluants</i>	21
III.3.3- <i>Vieillissement en batch de sols issus de sites pollués réels</i>	24
III.3.4- <i>Vieillissement en batch de sols vierges préalablement au contact avec les HAP</i>	24
III.4- PROCEDURES DE VIEILLISSEMENT EN CONDITIONS BIOTIQUES.....	25
III.4.1- <i>Modélisation expérimentale du vieillissement - Mise en place des incubations</i>	25
III.4.2- <i>Caractérisation de l'évolution des HAP et évaluation du vieillissement</i>	26
III.4.3- <i>Localisation des résidus stabilisés sous forme non extractible</i>	28
III.4.4- <i>Stabilité chimique des liaisons impliquées dans la stabilisation des résidus vieillis</i>	31
III.4.5- <i>Biodisponibilité des HAP non extractibles dans les résidus vieillis</i>	32
IV- PRINCIPAUX RESULTATS ET DISCUSSION	34
IV.1- VIEILLISSEMENT EN CONDITIONS ABIOTIQUES : ROLE DES MICROSTRUCTURES (ARGILE, CRAIE, MATIERE ORGANIQUE).....	34
IV.1.1- <i>Cinétiques et isothermes d'adsorption du naphthalène et du phénanthrène sur les matrices vierges et polluées</i>	34
IV.1.2- <i>Influence du vieillissement préalable des sols sur les équilibres apparents d'adsorption du naphthalène</i>	36
IV.1.3- <i>Influence du vieillissement des sols réalisé après dopage en polluants</i>	42
IV.1.4- <i>Mobilité des HAPs contenus dans des sols issus de sites pollués réels</i>	58
IV.2- ROLE DE L'ACTIVITE MICROBIENNE ENDOGENE DANS LE VIEILLISSEMENT.....	63
IV.2.1- <i>Modifications du comportement des sols vis-à-vis du phénanthrène en fonction des conditions expérimentales imposées par les dispositifs utilisés</i>	63
IV.2.2- <i>Effet de l'augmentation de la diffusivité du solvant sur le vieillissement biotique</i>	69
IV.2.3- <i>Effet du temps d'adsorption du polluant sur le vieillissement biotique</i>	74
IV.2.4- <i>Evaluation de l'activité spécifique de minéralisation des HAP en fonction de l'activité globale de la microflore des sols</i>	81
IV.2.5- <i>Caractérisation des phases de vieillissement au cours des incubations</i>	85
IV.3- LOCALISATION ET STABILITE DES POLLUANTS EN FONCTION DU TEMPS DE CONTACT.....	88
IV.3.1- <i>Hétérogénéité de répartition spatiale</i>	88
IV.3.2- <i>Hétérogénéité de répartition en fonction de la granulométrie des constituants</i>	100
IV.3.3- <i>Hétérogénéité de répartition en fonction de l'extractibilité en milieu alcalin des constituants organiques du sol</i>	106

<i>IV.3.4- Application des techniques hydrolytiques pour la caractérisation de la stabilité chimique des liaisons impliquées dans la stabilisation des résidus vieillis.....</i>	<i>109</i>
<i>IV.3.5. Estimation de la biodisponibilité des résidus vieillis des HAP non extractibles.....</i>	<i>113</i>
V- DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS.....	116

PREAMBULE

D'une durée d'environ 3 ans ½ (mai 1998 à septembre 2001), le programme a été conduit en collaboration par l'INSA de Lyon et l'INRA de Grignon. Ce rapport final a pour objectif de permettre au lecteur d'accéder aux procédures expérimentales développées, aux principaux résultats apportés par le programme et à l'argumentation scientifique étayant ces résultats. Seuls les résultats expérimentaux les plus importants et les plus pertinents sont présentés dans ce rapport, conformément aux décisions prises lors de la réunion de clôture de mai 2001. Les autres résultats expérimentaux ont été exposés en détails dans les rapports intermédiaires et finals des 3 années d'études ou dans les différents rapports académiques (DEA, thèses) ou publications scientifiques issues du programme, dont la liste est fournie à la fin du rapport.

I- INTRODUCTION

La prédiction à long terme du devenir des polluants organiques hydrophobes tels que les Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques (H.A.P.) dans les sols est particulièrement difficile en raison de la complexité des mécanismes bio-physico-chimiques mis en jeu. La durée du contact sol/polluant et les facteurs pédo-climatiques déterminent la nature et l'intensité des interactions sol/polluants. L'ancienneté de la pollution dans les sols industriels rend difficile voire impossible l'utilisation des modèles de simulation disponibles. C'est la raison pour laquelle il est nécessaire de mieux comprendre les principaux mécanismes qui influencent la persistance, la mobilité et la biodisponibilité des polluants organiques hydrophobes dans les sols. Ces données doivent permettre une meilleure prédiction du devenir à long terme de ce type de polluants dans les sols afin d'une part de déterminer le risque potentiel de dispersion de ces polluants et, d'autre part, d'optimiser dans la mesure du possible les diverses techniques de traitement des sols pollués.

La persistance, la mobilité et la bio-disponibilité des polluants organiques hydrophobes peuvent s'expliquer en grande partie par des mécanismes cinétiquement limités tels que les mécanismes d'adsorption/désorption intraparticulaire, les mécanismes de partage entre phases liquides non miscibles ou entre phases liquides et solides, et les mécanismes (bio)-chimiques de transformation des polluants organiques. La persistance des molécules organiques dans les sols dépend non seulement de leur stabilité (bio)-chimique mais également de l'établissement d'interactions plus ou moins réversibles avec la fraction solide des sols conduisant à une réduction de leur mobilité et de leur (bio)-disponibilité pour les micro-organismes.

La difficulté est de pouvoir distinguer expérimentalement ces différents mécanismes du fait qu'ils sont étroitement liés les uns aux autres. Par conséquent, il est nécessaire de mettre en place des procédures expérimentales à partir d'hypothèses scientifiques permettant de distinguer les principaux facteurs susceptibles d'avoir un effet sur l'évolution à long terme des interactions entre les polluants organiques et les sols. Ce programme de recherche, financé par l'association RE.CO.R.D., a été conduit dans cet objectif conjointement par l'Unité Mixte de Recherche Environnement et Grandes Cultures de l'INRA de Grignon et le laboratoire LAEPSI de l'INSA de Lyon (Laboratoire d'Analyse Environnementale des Procédés et des Systèmes Industriels).

Contexte : De nombreux sites pollués par des HAPs existent dans tous les pays industrialisés. Il s'agit notamment de sites d'anciennes usines à gaz et d'anciennes cokeries. La description du devenir des HAPs dans les sols en fonction du temps de contact, des caractéristiques du milieu et des facteurs climatiques est indispensable pour (1) évaluer les risques environnementaux dans différents scénarios, (2) prévoir l'efficacité et la durée des traitements notamment biologiques, (3) évaluer les critères d'intervention et les objectifs de traitement des sols pollués. Les connaissances acquises sur les HAPs dans les sols sont au moins pour partie transposables à d'autres types de polluants organiques hydrophobes et d'autres matrices poreuses.

Objectif : Les objectifs de ce programme étaient de :

- Décrire les principaux mécanismes d'interaction des HAP et des sols, et leur évolution dans le temps sous l'effet de facteurs abiotiques et microbiologiques.
- Evaluer l'effet de ces interactions sur l'extractibilité (qui contrôle la mobilité) et la biodisponibilité des HAPs dans le temps.
- Déterminer le rôle des microstructures des matrices poreuses, de la matière organique endogène et de l'activité microbienne des sols, et la distribution des polluants dans les différents compartiments du milieu poreux en fonction du temps de contact.

Organisation du travail expérimental : L'INSA de Lyon a travaillé sur des HAP légers en conditions abiotiques, et s'est focalisé sur le suivi de la fraction extractible et la caractérisation des microstructures des sols. L'INRA a travaillé en conditions biotiques sur des HAPs plus lourds en utilisant des molécules marquées pour leur suivi analytique dans les différents compartiments du milieu (fractions minéralisée, extractible et non extractible) en fonction du temps de contact.

II- SORPTION DES HAP DANS LES SOLS : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

II.1- Généralités sur l'adsorption des polluants organiques hydrophobes dans les matrices de type sol

L'adsorption est un phénomène important qui contrôle la mobilité et le devenir des polluants organiques dans les matrices solides poreuses telles que les sols. Les efforts de modélisation des mécanismes d'adsorption s'expliquent par la volonté de simuler le comportement des polluants sur le terrain. Nous présentons dans ce premier chapitre les principaux modèles de simulation du comportement à long terme des polluants organiques hydrophobes et les hypothèses qui ont permis de les établir.

Les phénomènes généralement regroupés par abus de langage sous le terme d'adsorption peuvent être en fait soit des processus de partage entre la phase liquide aqueuse et la matière organique du sol (M.O.S.) considérée comme une pseudo-phase organique, soit des processus d'adsorption physique ou chimique. La difficulté expérimentale est de pouvoir distinguer les différents mécanismes impliqués dans la rétention des polluants organiques et, en particulier, de distinguer les différents mécanismes d'adsorption et de partage. L'hétérogénéité de la microstructure des sols et de la matière organique complique énormément la description de ces mécanismes. Dans le cas des hydrocarbures aromatiques polycycliques, l'adsorption dépend principalement d'interactions de nature hydrophobe avec la fraction organique des sols constituée essentiellement de substances humiques et de phases organiques d'origine anthropique.

De nombreux travaux de recherche ont mis en évidence que l'adsorption apparente dans les sols n'était pas instantanée mais était un phénomène complexe nécessitant des jours voir des mois pour atteindre l'équilibre (Means et al, 1980 ; Karickhoff et al, 1984 ; Wu et Gschwend, 1986 ; Miller et Weber, 1986 ; Steinberg et al, 1987 ; Bayard et al, 1998 ; Mahjoub, 1999). Les hypothèses sur les mécanismes d'adsorption reposent en grande partie sur des études en conditions noyées de l'adsorption/désorption des polluants organiques en milieu dispersé (batch) ou en colonne et sur les caractéristiques structurales des sols. La matière organique du sol est unanimement considérée par la communauté scientifique comme étant le principal adsorbant (Pignatello et Xing, 1996 ; Luthy et al, 1997) bien que certaines études aient mis en évidence que l'adsorption des polluants organiques sur les fractions minérales n'était pas négligeable dans le cas des sols ou sédiments pauvres en matière organique (Farrell et al, 1994a,b ; Huang et al, 1996 ; Farrell et al, 1999).

L'adsorption des polluants organiques est cinétiquement limitée par des phénomènes de diffusion intra-particulaires dans les micro-agrégats du sol (Wu et Gschwend, 1986 ; Ball et Roberts 1991) et dans la phase organique du sol (Brusseau et al, 1991 ; Pignatello et Xing, 1996). D'après Wu et Gschwend (1986), la limitation cinétique de l'adsorption (« retarded

pore diffusion ») serait causée par la diffusion des molécules dans la phase liquide immobile dans les micropores. Van Genuchten et Wagenet (1989) suggèrent l'existence de sites d'adsorption externes et internes plus ou moins accessibles suivant la géométrie des micropores. Ces deux approches distinctes au départ sont relativement proches du point de vue simulation et aboutissent aux modèles d'adsorption dits à « double site » ou « double compartiment » qui considère que les molécules s'adsorbent à la fois sur les surfaces externes et les surfaces internes des particules micro-poreuses. D'après Karikhoff (1984), les molécules se fixent instantanément à la surface des micro-particules (« molécules labiles ») alors que l'adsorption sur les sites internes est cinétiquement limitée par la diffusion moléculaire intra-agrégat rendue difficile par l'organisation structurale des micropores des micro-agrégats du sol (« molécules non labiles »). La taille et la forme des micropores déterminent les cinétiques de transfert des polluants dans les sols (Crittenden et al, 1986 ; Wu et Gschwend, 1988). Ce type de modèles basés sur la diffusion radiale a été utilisé pour décrire l'adsorption du naphthalène et du phénanthrène dans programme RECORD 94-404.

Les recherches conduites ces dix dernières années indiquent de plus en plus clairement qu'il est nécessaire de décrire le système liquide-solide avec des modèles à multiples régions ou sites d'adsorption. Plusieurs modèles ont été proposés dans la littérature permettant une bonne simulation de la cinétique de désorption des HAPs en tenant compte de la complexité des sols (Connaughton et al, 1993 ; Xing et Pignatello, 1996). Le modèle multi-compartiments de Connaughton et al (1993) s'inspire du modèle de distribution gamma « Γ model » de la taille des micropores dans un sol (Brutsaert, 1966).

Deux modèles à double domaine réactif ont récemment été développés d'après les travaux de Brusseau et al (1991), le « Dual Reactive Domain Model » (DRDM) et le « Dual-Mode Model » (*Partition/Hole Filling*) développés par Leboeuf et Weber (1997) et Xing et Pignatello (1997), respectivement. Ils sont basés sur le concept d'une matière organique hétérogène constituée d'un domaine amorphe et flexible (« *Soft Domain* ») et d'un domaine plus condensé (« *Hard Domain* ») présentant éventuellement une nanoporosité interne. La rétention dans le domaine amorphe se caractérise par un mécanisme de dissolution rapide dans la phase solide du type partage eau/solvant organique alors que l'adsorption dans le domaine condensé correspond à mécanisme d'adsorption cinétiquement limitée par la diffusion. La diffusion moléculaire des polluants organiques dans la matière organique dépendrait de la micro et nano-porosité des différents domaines (De Jonge et Mittelmeijer-Hazeleger, 1996 ; Xing et Pignatello, 1997).

La présence de polluants organiques dans les sols pollués tels que les sols de sites d'anciennes usines à gaz est susceptible de jouer un rôle non négligeable dans le comportement à long terme des espèces chimiques les plus mobiles. Ces produits organiques d'origine anthropique se présentent sous la forme de phases organiques plus ou moins solides selon les sites et les zones contaminées. Il s'agit en effet soit de phases liquides non aqueuses à température ambiante (PLNA) telle que le goudron de houille (Aziz et Melcer, 1991 ; Peters

et al, 1993 ; Ouimet, 1996 ; Mahjoub, 1999) soit de phases semi-solides ou solides (Beck, 1950 ; EPRI, 1993). Cette matière organique xénobiotique (MOX) est capable de retenir les polluants organiques les plus solubles dans l'eau (Kopinke et al, 1995). Les travaux de Bayard (1998, 2000) ont porté sur l'influence de la présence dans le sol de nodules solides de goudron sur la rétention de polluants organiques solubilisés dans l'eau tels que le naphthalène et le phénanthrène. Les essais réalisés en batch (milieu dispersé) et en colonne de sol ont permis de mettre en évidence la rétention de ces espèces chimiques par la MOX. La solubilisation n'est pas instantanée mais cinétiquement limitée par la diffusion des molécules au sein des nodules de goudrons. L'hypothèse retenue est la solubilisation du naphthalène et du phénanthrène dans cette phase goudronneuse correspondant à un phénomène de partage entre la phase liquide aqueuse et la phase organique. Le rôle de la MOX dans la rétention est encore mal connu et mériterait d'être pris en compte dans l'étude de comportement à long terme des pollutions organiques dans les sols pollués (Luthy et al, 1997).

II.2- Piégeage physique

Les modèles basés sur la diffusion radiale permettent de simuler fidèlement l'adsorption dans un double compartiment. Cette diffusion peut conduire au piégeage physique des polluants organiques hydrophobes au sein des micro- et nano-pores des micro-agrégats du sol (Steinberg et al., 1987 ; Ball et Roberts, 1991). Le piégeage physique et l'irréversibilité partielle apparente de l'adsorption qui en résulte ont été observés pour de nombreux polluants organiques (Hamaker et Thompson, 1972 ; DiToro et Horzenpa, 1982) dont les HAPs (Weissenfels et al, 1992 ; Mahro et al, 1994 ; Eschenbach et al., 1998). L'explication souvent retenue est que la cinétique de désorption des polluants n'est pas suffisamment rapide pour que l'équilibre entre la phase solide du sol et la phase liquide soit atteint expérimentalement au cours des étapes de désorption (Wu et Gschwend, 1986 ; Brusseau al., 1991 ; Miller et Pedit, 1992). Huang et al. (1998) ont réalisé récemment des études d'adsorption/désorption du phénanthrène sur différentes matrices de type sol. Les procédures expérimentales utilisées (tests batch en milieu dispersé) ont permis d'observer un hystérésis plus ou moins important sur l'isotherme. Le non-équilibre d'adsorption et les pertes en polluant au cours de essais sont pour les auteurs les principales causes de l'hystérésis apparent. Le troisième et dernier biais expérimental est le rôle attribué au partage du soluté avec une troisième phase constituée par les macromolécules ou colloïdes organiques en solution (Barriuso et al, 1992). Morel et Gschwend (1987) proposent un modèle triphasique de distribution du soluté (adsorbé, en solution ou en suspension) afin de corriger cet artefact.

La diffusion moléculaire des polluants organiques au sein de la structure tridimensionnelle des poly-condensats humiques est la principale hypothèse retenue pour expliquer la désorption lente et le phénomène d'hystérésis apparent (Weber et al., 1992 ; McGinley et al., 1993 ; Young et Weber, 1995 ; Pignatello et Xing, 1996 ; Huang et Weber, 1997 ; Huang et al., 1998 ; Weber et Yu, 1998). Selon certains auteurs, la diffusion moléculaire au sein des micro- et des nano-pores des complexes argilo-humiques pourrait cependant conduire à une séquestration réelle des molécules organiques hydrophobes dans les matrices sols. La séquestration est définie par Alexander (1995) comme le piégeage physique des polluants organiques dans la micro-structure du sol. Les molécules ayant pénétré dans la microporosité y seraient piégées seraient incapables de repasser en solution libre du sol (Walter et al., 1998). Cette hypothèse permet d'expliquer les résultats expérimentaux sur la biodisponibilité des

polluants organiques dans les sols et les sédiments (Hatzinger et Alexander, 1995 ; White et al., 1997 ; Chung et Alexander, 1998 ; Nam et al., 1998 ; White et Pignatello, 1999 ; White et al., 1999a,b). Le rôle de la diffusion dans les nanopores et son effet sur la séquestration et la biodisponibilité des polluants ont fait l'objet d'études sur des solides modèles dont les résultats paraissent confirmer l'hypothèse de la séquestration physique à long terme des polluants organiques hydrophobes (Scow et Alexander, 1992 ; Hatzinger et Alexander, 1997 ; Nam et Alexander, 1998). Les travaux récents sur l'adsorption de polluants organiques hydrophobes sur des silica-gels poreux et non-poreux ont cependant mis en évidence que la diffusion du soluté jusqu'au contact des surfaces minérales internes ne permettait pas d'expliquer l'irréversibilité partielle de l'adsorption sur des matrices purement minérales (Huang et al., 1996). D'après les travaux de Farrell et al. (1999), il pourrait s'agir plutôt d'un mécanisme de blocage des micropores par précipitation de minéraux en condition saturée empêchant la désorption des polluants.

La nature de la MOS peut également conduire à des interactions d'intensités différentes en fonction de ses caractéristiques hydrophobes/hydrophiles ou de son degré d'aromaticité (Grathwohl, 1990 ; Chin et al., 1997). Ces interactions entre les polluants organiques et les constituants de la matière organique du sol sont du type liaisons hydrogène, liaisons par transfert de charge, liaisons de van der Waals et enfin des liaisons du type hydrophobe (Graber et Borisover, 1998). De faible énergie, ces liaisons sont réversibles. Etant donnée la nature hydrophobe des polluants organiques tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques, les interactions les plus importantes sont les interactions de type hydrophobe (Gauthier et al., 1987 ; Dec et Bollag, 1997 ; Laor et al., 1998). Certains auteurs stipulent que les caractéristiques chimiques et l'hétérogénéité structurale du sol ne permettent pas d'expliquer l'irréversibilité partielle de l'adsorption (Fu et al., 1994 ; Kan et al., 1997, 1998). Ces auteurs ont mis en évidence au cours d'essais d'adsorptions/désorptions successives en milieu dispersé l'existence d'une fraction constante de polluants organiques hydrophobes non-désorbables à l'eau quelle que soit la durée de désorption choisie (de 24h à plusieurs mois) mais extractible aux solvant organiques. L'adsorption non réversible observée pour de nombreux couples adsorbant-polluant organique pourrait s'expliquer par le changement de conformation des polymères humiques résultant de l'adsorption des polluants dans la matière organique. Ce changement de conformation conduirait à la séquestration des polluants organiques hydrophobes dans la microporosité du sol. Une dernière hypothèse peut également être proposée pour expliquer l'hystérésis observé lors des expériences en milieu dispersé de désorption à long terme: la diminution de la désorbabilité des polluants peut également s'expliquer par une évolution physico-chimique de la matière organique qui aurait pour effet de modifier ses propriétés adsorbantes au cours du temps (Pignatello et Xing, 1996).

II.3- Piégeage chimique – Formation de résidus liés

L'irréversibilité de la rétention des polluants organiques hydrophobes peut être également expliquée par l'évolution des interactions responsables de la rétention vers des interactions non réversibles telles que des liaisons covalentes. Dans leur ensemble, les mécanismes de formation de résidus liés peuvent être considérés comme des processus de stabilisation des polluants organiques dans les sols (Luthy et al., 1997). La formation de résidus peut être également perçue comme un mécanisme naturel de détoxification (Bollag et al., 1983). La formation de « résidus liés » de polluants organiques polaires ou ionisables tels que les s-triazines chlorées a déjà été mise en évidence (Hatcher et al., 1993 ; Barriuso et Koskinen,

1996). En revanche, leur identification chimique est plus difficile car ces résidus ne sont pas extractibles aux solvants organiques. Différentes hypothèses permettent d'expliquer la formation de résidus liés dans les sols telles que l'incorporation des molécules organiques dans les polycondensats phénoliques au cours du processus bio-physico-chimique d'humification (Isaacson et Frink, 1984 ; Qiu et McFarland, 1991 ; Bhandari et al, 1996), l'établissement de liaisons covalentes (Hatcher et al., 1993 ; Barriuso et Koskinen, 1996) et/ou l'incorporation dans des structures cellulaires (Bollag et al., 1992).

Dans le cas des HAPs constitués de cycles aromatiques sans fonction organique particulière, l'établissement de liaisons covalentes nécessite la formation de molécules intermédiaires (métabolites) pouvant réagir avec les substances humiques (Burgos et al, 1996). La formation de produits aromatiques hydroxylés dépend de l'activité microbienne du sol. Les cinétiques de biodégradation aérobie des HAPs tels que le phénanthrène et le naphthalène ont en effet permis de mettre en évidence la production de métabolites intermédiaires hydroxylés (Heitkamp et al., 1987 ; Heitkamp et Cerniglia 1988; Weissenfels et al., 1991 ; Cerniglia, 1992). De tels métabolites intermédiaires ont déjà été détectés dans les sols (Richnow et al., 1998).

Karimi-Lotfabad et al. (1996) ont mis en évidence la polymérisation de l'anthracène dans matière organique du sol. Cependant, il est vraisemblable que le dichlorométhane utilisé comme solvant de contact entre le polluant et le sol pourrait avoir un rôle non négligeable dans la formation de liaisons covalentes entre l'anthracène et les polymères phénoliques de la MOS. La formation de liaisons covalentes entre la matière organique et des HAPs partiellement oxydés dans les sols pourraient expliquer la formation de résidus liés dans les sols (Mahro et al., 1994) et les composts (Kästner et al., 1995). Cette hypothèse a été partiellement prouvée par l'identification de liaisons de type ester entre différents métabolites des HAPs et les polymères humiques (Richnow et al., 1998). Cependant, d'après ces mêmes auteurs, une fraction significative des HAPs non-extractibles aux solvants organiques est mobilisable lorsqu'on ajoute un agent complexant tel que l'EDTA (Eschenbach et al., 1998), ce qui tend plutôt à indiquer une séquestration physique que chimique déjà mis en évidence par les travaux de Alexander (Hatzinger et Alexander, 1995 ; White et al., 1997 ; Nam et al., 1998 ; Chung et Alexander, 1998 ; White et al., 1999). La formation de résidus liés dans les sols est un mécanisme qui doit être distingué de la séquestration définie uniquement comme un piégeage physique au sein de la micro-structure du sol. Ces auteurs ont travaillé sur le vieillissement des polluants organiques en condition abiotique afin d'évaluer leur séquestration (par des extractions successives avec un solvant organique) et leur biodisponibilité vis à vis des micro-organismes (test de minéralisation aérobie en milieu nutritif dispersé des polluants adsorbés). Leurs résultats mettent en évidence d'une part qu'il n'y a pas formation de résidus liés au cours de la phase de vieillissement en condition abiotique ce qui confirment nos propres résultats dans le cadre du présent programme (Mahjoub, 1999) et, d'autre part, que la biodisponibilité des polluants organiques diminue avec le temps de vieillissement.

II.4- Description de l'adsorption et de l'hystérésis

Les essais de désorptions successives réalisés dans le programme RECORD 94-404 ont permis de mettre en évidence la réversibilité de l'adsorption en 24h du naphthalène. En revanche, dans le cas du phénanthrène, la désorption s'avère incomplète. Ce phénomène d'hystérésis pourrait traduire la séquestration du polluant dans la microporosité du sol :

Dans le cas du naphthalène : $K_d^{app} = K_{ads}^{app} = K_{des}^{app}$

Dans le cas du phénanthrène : $K_{ads}^{app} \neq K_{des}^{app}$

Les isothermes sont généralement décrits par l'équation mathématique de Freundlich :

$$Q_e^{app} = K_f^{app} (C_e^{app})^n$$

où Q_e^{app} est la teneur en polluant adsorbé à l'équilibre apparent, C_e^{app} , la concentration du polluant dans la solution à l'équilibre apparent avec la phase adsorbée, K_f^{app} , le coefficient d'adsorption à l'équilibre apparent et n, son indice d'affinité.

Les résultats de nos travaux montrent que les isothermes d'adsorption du naphthalène et du phénanthrène sont proches de la linéarité pour les gammes de concentration et les matrices solides testées. Par conséquent, le coefficient n est égal à 1, et l'adsorption est décrite par l'équation suivante :

$$K_d^{app} = \frac{Q_e^{app}}{C_e^{app}}$$

La communauté scientifique s'accorde pour dire que les polluants organiques hydrophobes sont essentiellement retenus par la matière organique du sol. Le coefficient d'adsorption est alors exprimé en fonction de la teneur en carbone organique du sol selon la relation suivante :

$$K_{oc}^{app} = \frac{K_d^{app}}{f_{oc}}$$

Dans le cas de la réversibilité incomplète de l'adsorption comme c'est le cas pour phénanthrène (voir résultats dans ce rapport), les isothermes de désorption peuvent être décrits par des modèles empiriques tel que le modèle proposé par Barriuso et coll (1992) qui résulte de l'addition d'une fonction linéaire et d'une fonction exponentielle représentant respectivement un compartiment où les molécules sont facilement mobilisables et un deuxième compartiment où les molécules sont fortement retenues :

$$Q_{des}^{app} = K_1 C_e + (Q_{des}^{app})_n (1 - e^{-K_2 \cdot C_e})$$

où Q_{des}^{app} est la teneur en polluant désorbé à l'équilibre apparent ; C_e^{app} , la concentration du polluant dans la solution à l'équilibre apparent avec la phase adsorbée ; K_1 , le coefficient de désorption à l'équilibre apparent du compartiment linéaire ; K_2 , le coefficient de désorption à l'équilibre apparent du compartiment exponentiel et $[Q_{des}^{app}]_n$, la teneur en polluant adsorbé dans le compartiment exponentiel.

II.5- Synthèse bibliographique

L'étude du devenir dans les sols des polluants organiques hydrophobes tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques nécessite de tenir compte de l'ensemble des mécanismes impliqués dans les interactions bio-physico-chimiques entre les polluants et le sol. Les données de la littérature ont permis de dégager les principaux mécanismes impliqués dans les processus de vieillissement des polluants organiques dans les sols. Sur la base de ces données bibliographiques et de notre propre expérience dans le domaine, les principaux points suivants peuvent être mis en avant :

- La **rétenion** des polluants organiques hydrophobes dans les sols pollués s'explique essentiellement par des mécanismes d'**adsorption** des molécules sur la matière organique du sol (**MOS**) et de **partage** liquide-solide avec la matière organique xénobiotique (**MOX**) ou la MOS.
- Une partie du phénomène global d'adsorption est cinétiquement limitée par la **diffusion** des molécules dans les micro-structures du sol avec ou sans matière organique. Le partage dans la MOX ou la MOS est également cinétiquement limité par la diffusion au sein de la phase organique.
- L'adsorption dépend également des caractéristiques physico-chimiques et de la structure tridimensionnelle de la MOS à l'échelle moléculaire.
- Le phénomène de désorption lente et la réversibilité incomplète de l'adsorption (hystérésis) peuvent s'expliquer par l'incorporation des molécules dans la microstructure des sols. Il n'y a piégeage (séquestration) que si la taille des pores diminue ou si la structure des pores des micro-agrégats ou de la MOS change avec le temps.
- Le piégeage physique (ou **séquestration physique**) des molécules organiques hydrophobes s'expliquerait principalement par l'évolution dans le temps de la matière adsorbante : blocage ou rétrécissement de certains micropores et formation d'un réseau de polymères organiques emprisonnant les polluants.
- Le piégeage physique des molécules organiques a pour effet d'une part de réduire leur **extractibilité** à l'eau ou aux solvants organiques et d'autre part, de diminuer leur **biodisponibilité** vis à vis des micro-organismes du sol.
- Le rôle de l'activité microbienne dans le devenir des hydrocarbures aromatiques polycycliques (en dehors de leur « simple » minéralisation) est encore mal connu. Néanmoins, les micro-organismes participeraient à la **séquestration chimique** des HAPs sous forme de métabolites hydroxylés associés à la matière organique du sol par des liaisons covalentes (formation de **résidus liés** non extractibles chimiquement).
- L'influence de la présence de phases organiques xénobiotiques solides et/ou liquides (comme les goudrons ou les brais) est très significatif mais encore mal connu. D'après nos connaissances, le vieillissement de la phase organique xénobiotique n'a pas fait pour l'instant l'objet d'étude poussée.

III- PROCEDURES EXPERIMENTALES

III.1- Caractéristiques et analyses des polluants modèles sélectionnés

III.1.1- Caractéristiques physico-chimiques des molécules

Les travaux de l'INSA de Lyon ont été réalisés sur le naphthalène et le phénanthrène (figure 1) qui sont, parmi les molécules de la famille des HAPs, les plus solubles et donc les plus facilement mobilisables dans un sol pollué.

Les molécules sélectionnées pour les travaux à l'INRA couvrent une gamme plus large de molécules de la famille des HAPs : il s'agit du phénanthrène (PHE) (déjà sélectionné par le LAEPSI), du fluoranthène (FLT) et du benzo(a)pyrène (BaP) (voir figure 1). L'utilisation d'isotopes radioactifs marqués au ^{14}C facilite d'une part l'étude du comportement à long terme des HAPs moins hydrosolubles que le naphthalène et le phénanthrène et permet, d'autre part, de suivre quantitativement le devenir des polluants : biodégradation, disponibilité vis à vis des micro-organismes du sol et formation de résidus liés. Les positions du marquage isotopique de ces trois polluants fournis par Sigma Chemical Co. (St Louis, MO) sont données dans l'annexe 1 du rapport 2 de ce programme (Mai 2000).

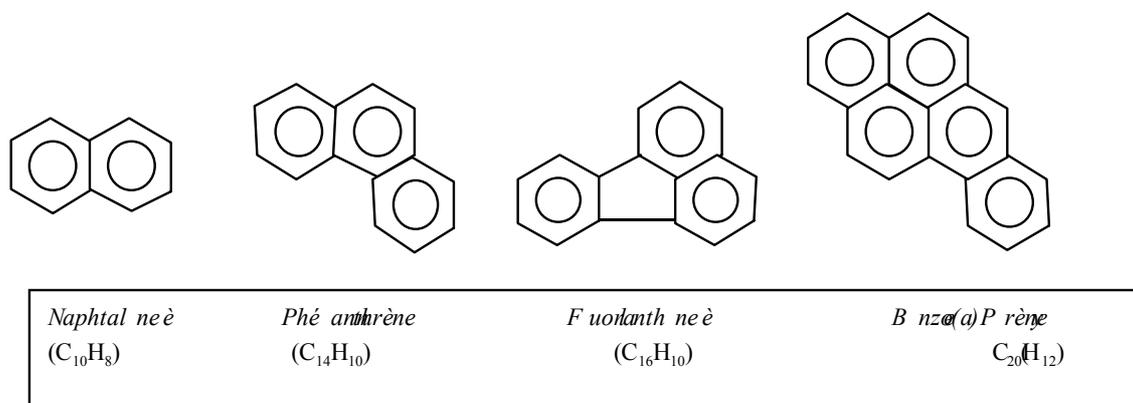


Figure 1 : Structure chimique des 4 HAPs sélectionnés.

Les principales propriétés chimiques et physiques des HAPs sélectionnés par les deux laboratoires sont présentées au tableau 1 (d'après Verschueren, 1993).

Tableau 1 : Principales caractéristiques physiques et chimiques des HAPs sélectionnés
(d'après Verschueren, 1993).

Composés	Nb de Cycle	PM (g mol ⁻¹)	logK _{ow}	Solubilité dans l'eau à (...°C) (mg l ⁻¹)	Point de Fusion (°C)	Point d'ébullition (°C)	Tension de vapeur à 20°C (mmHg)
Naphtalène	2	128	3,32	31,7	80	219	
Phénanthrène	3	178	4,46	0,42 (8,5°C) 1,2 (25°C)	100	340	6,8 10 ⁻⁴
Fluoranthène	4	202	5,33	0,265 (25°C)	107	250	6,0 10 ⁻⁴
Benzo(a)Pyrène	5	252	6,04	0,003 (25°C)	179	495	5,0 10 ⁻⁷

III.1.2- Préparation et analyses des phases liquides

III.1.2.1- Molécules non marquées

Les solutions aqueuses de naphtalène ou phénanthrène non marqués sont préparées en mettant en agitation dans l'eau à température ambiante une quantité de polluant nettement supérieure à la limite de solubilité (soit environ 1000 mg dans un litre d'eau) pendant 48 heures à l'obscurité et à température ambiante. La suspension est ensuite filtrée sur une membrane GF-C Watman en fibres de verre de diamètre de pores de 1,2 µm. On ajoute dans les solutions de départ du chlorure mercurique à 400 mg.L⁻¹ de solution pour éviter tout phénomène de biodégradation au cours des essais. Toutes les solutions sont conservées à température ambiante et à l'obscurité pendant trois jours au maximum avant utilisation. Les analyses du naphtalène et du phénanthrène en solution sont effectuées par Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) sur colonne Kromasil C18 à phase inversée, en condition isocratique et détection U.V. (λ = 209 nm) sauf indication contraire (essais avec les sols pollués, les lixiviats de goudron, ou à très faible concentration pour lesquels un gradient d'élution et/ou une détection par fluorométrie sont utilisés).

Pour les études du devenir abiotique de mélanges d'HAPs au contact des différentes matrices sélectionnées, une solution aqueuse est préparée à partir d'un goudron de houille prélevé sur un site industriel. Une masse de 50 g de goudron est mise en agitation dans un litre d'eau permutée le temps suffisant pour atteindre l'équilibre de partage des espèces chimiques entre les deux phases. D'après les travaux de Mahjoub et al. (1999) sur le partage des polluants aromatiques entre le goudron de houille et l'eau, l'équilibre de partage est pratiquement atteint après 5 jours d'agitation. Par conséquent, après 7 jours d'agitation sur agitateur rotatif, la solution aqueuse est prélevée avec une seringue en verre de 100 mL et

filtrée sur filtre GF-C Watman en fibres de verre de diamètre de pore de 1,2 μm . Les analyses des 16 HAPs en solution sont effectuées par Chromatographie Liquide Haute Performance sur colonne YMCPAH C18 à phase inversée, sous gradient d'élution (Waters LC Module I équipé d'un injecteur automatique) et avec double détection UV ($\lambda = 209 \text{ nm}$) et fluorométrie (Waters). La solution-mère ainsi obtenue est ensuite diluée pour obtenir une large gamme de concentrations.

III.1.2.2- Utilisation de solvants organiques et de molécules marquées

Certains essais en conditions biotiques ont été réalisés avec des polluants mis en contact avec le sol en solution dans le méthanol. Ce solvant organique joue un rôle déterminant dans la répartition des polluants organiques dans les échantillons de sols en facilitant leur diffusion dans la microporosité des colloïdes organiques du sol. Le méthanol se comporte comme un vecteur favorisant la dispersion des polluants lors des essais de pollution artificielle des sols. Ce point a été largement discuté dans le rapport 1 de ce programme (mai 1999). Les solutions de phénanthrène et de fluoranthène sont préparées à partir d'une solution mère concentrée de molécules marquées au ^{14}C de pureté radiochimique supérieure à 98%. Dans le cas du phénanthrène, la solution mère sert à préparer d'autres solutions plus diluées dans du méthanol, ainsi qu'une solution dans un mélange méthanol/eau (50/50 V/V) et une solution 100% eau. Cette dernière solution est préparée avec un apport minimum de la solution méthanolique. La quantité de méthanol dans cette solution peut être considérée comme négligeable. Dans le cas des essais de minéralisation du fluoranthène, on prépare une solution méthanol-eau (50/50 V/V). Le benzo(a)pyrène ayant une hydrosolubilité très faible, on prépare une solution de contact dans du méthanol pur. On effectue des dilutions isotopiques avec des molécules non marquées en fonction des concentrations initiales en polluant souhaitées. Les solutions aqueuses sont préparées à partir d'eau obtenue avec un système Mill-Q (Millipore). Les caractéristiques des solutions ainsi préparées sont présentées dans le tableau 2.

Les concentrations en polluants organiques des solutions sont calculées à partir des mesures de leur radioactivité par scintillation en milieu liquide, à l'aide d'Ultima Gold XR (Packard) comme liquide scintillant et d'un compteur Kontron Betamatic V, avec soustraction du bruit de fond et standardisation externe. L'identification de la nature de la radioactivité se fait par analyse chromatographique (Chromatographie Liquide Haute Performance - CLHP) sur colonne Novapack C18 (5 μm , 250 mm x 4.5 mm) avec un formateur de gradient Waters 610 (Waters Chromatography Div.), équipé d'un injecteur automatique (Waters 717) et double détection en ligne : détecteur à barrette de diodes (Waters 996) et détecteur de radioactivité en flux continu (Radiomatic Flo-One, A-500, Packard).

Tableau 2 : Caractéristiques des solutions de phénanthrène, fluoranthène ou benzo(a)pyrène utilisées pour les études de vieillissement en conditions biotiques.

Solutions :	Phénanthrène SD _{50/50} CH ₃ OH/H ₂ O (V/V)	Fluoranthène SD _{50/50} CH ₃ OH/H ₂ O (V/V)	Benzo(a)Pyrène SD _{Méth} 100%CH ₃ OH
Activité spécifique (10 ⁹ Bq mol ⁻¹ mmol ⁻¹)	458	1665	962
Activité volumique [§] (10 ⁶ Bq l ⁻¹)	0,085	8,10	20,7
Concentration mg l ⁻¹)	65	65	130

III.2- Caractéristiques des sols et fractions de sols utilisés

Dans le cadre de cette étude, nous avons sélectionné plusieurs matrices permettant de couvrir une large gamme de sols représentative de différents catégories de sol. La sélection s'est effectuée de manière à travailler sur des matrices naturelles ayant une composition et des propriétés physico-chimiques relativement distinctes afin de pouvoir identifier les caractéristiques des sols gouvernant le comportement à long terme des polluants organiques dans les sols.

III.2.1- Sable, argile limoneuse et craie vierges

Le sable de Fontainebleau (noté **SF**), commercialisé par Prolabo, est essentiellement constitué de silice sous forme cristalline. Il présente une répartition granulométrique relativement serrée comprise entre 150 et 210 µm. L'analyse élémentaire de ce sable n'a pas révélée la présence de carbone dans ce matériau.

Le matériau argileux sélectionné (noté **ARG**), est une argile limoneuse Clarsol STF 30 fournie par la société CECA/ATO. Sa capacité d'échange cationique (CEC) est de 37,2 méq/100g (méthode à l'acétate d'ammonium). L'argile majoritairement présente est la montmorillonite. La teneur en carbone organique est de 0,7% (méthode de Anne à Froid).

Enfin, une matrice crayeuse vierge (notée **CV**) a été utilisée de sorte à compléter la gamme de substrats susceptibles de connaître des pollutions aux HAPs. La craie vierge sélectionnée est un matériau poreux purement minéral. L'échantillon de craie blanche et massive a été prélevé sur le site d'une ancienne cokerie dans une zone non polluée. Cette craie est très faiblement contaminée (teneur en 16 HAPs de la liste EPA inférieure à 0,41 mg.kg⁻¹ sol sec). La craie est séchée à température ambiante puis broyée manuellement dans un mortier en

porcelaine. Seule la fraction comprise entre 200 et 250 μm est utilisée pour les essais de vieillissement. Le contenu en matière organique est négligeable (inférieur à 0,1%, par analyse sur COT-mètre Shimadzu COT 5000).

III.2.2- Sols vierges

Deux sols non pollués prélevés sur des parcelles expérimentales de la ferme du lycée agricole de la Côte Saint-André (Isère) ont été sélectionnés comme sols modèles. Ces sols bruns lessivés limoneux d'origine fluvio-glaciaire sont représentatifs de nombreux sols rencontrés en Europe. Il s'agit du sol **CSAC** sous monoculture de maïs et du sol **CSAP** sous prairie permanente. Ces 2 sols se distinguent essentiellement par leur teneur en carbone organique (voir tableau 1). D'après leur origine, leur aspect et un certain nombre de résultats expérimentaux obtenus sur ces sols au LAEPSI (Bayard et al, 1998), il est vraisemblable que le degré d'humification de la matière organique n'est pas le même pour ces deux sols. Le sol CSAP, le plus riche en carbone organique, contient visiblement des débris végétaux peu humifiés. Les échantillons de sols sont séchés à l'air libre pendant 24 h puis tamisés à 2 mm. Ils sont ensuite stockés à l'obscurité en chambre froide à 4°C. Les principales caractéristiques des sols sélectionnés sont présentés dans le tableau 3.

Les résultats d'analyses de la porosité totale et de la microporosité de l'argile limoneuse et des deux sols vierges sont résumés dans le tableau 4. Ces analyses ont été effectuées à l'Institut de Recherche sur la Catalyse du CNRS à Villeurbanne.

Tableau 3 : Caractéristiques physico-chimiques des sols CSAC et CSAP.

	CSAC	CSAP
Sable grossier (%)	24,1	20,9
Sable fin (%)	15,7	14,8
Limon grossier (%)	18,7	19,0
Limon fin (%)	23,8	23,8
Argile (%)	17,7	21,5
Carbone organique (%)	1,49	3,14
Matière organique (%)	2,6	5,4
pH eau	7,4	5,5
KCl	7,0	5,0
CaCO ₃ (%)	0,2	0,2
CEC (Cmol/kg)	8,6	12,8

Tableau 4 : Surfaces et volumes poreux des matrices sélectionnées (*BET, ** t ou t-plot)

	Surface porale (m ² .g ⁻¹ matériau sec)		Volume poral (cm ³ .g ⁻¹ matériau sec)	
	Totale*	Micropores**	Totale	Micropores**
	(0,3-100 nm)	(0,3-1,7 nm)	(0,3-100 nm)	(0,3-1,7 nm)
Argile	130,9	28,4	0,1429	0,0135
Craie	3,5	0,5	0,0082	0,0006
CSAC	10,8	9,3	0,0161	0,0039
CSAP	9,8	4,4	0,0202	0,0019

III.2.3- Sols pollués

Nous avons sélectionné deux craies polluées provenant du même site de prélèvement que la craie vierge. Il s'agit d'une craie notée **CP** de coloration bleutée caractérisée par une pollution relativement uniforme en HAPs au sein de la matrice et d'une craie notée **CPN** présentant une pollution hétérogène avec des nodules de goudron parfaitement visibles à l'œil nu. La craie CP est relativement peu polluée puisque la somme des 16 HAPs de la liste USEPA est de l'ordre des 250 mg.kg⁻¹ de craie sèche (voir Tableau 5).

Nous avons également sélectionné un sol pollué noté **SP1** issu d'un site d'ancienne usine à gaz. Après prélèvement sur le site, l'échantillon brut est séché pendant 24 h à température ambiante, tamisé à 2 mm et quarté en aliquote de sol de 500 g afin d'obtenir des échantillons reproductibles. Ce sol est relativement pollué ($\Sigma 16\text{HAPs} = 2300 \text{ mg.kg}^{-1}$ de sol sec, voir tableau 5). En revanche, il est relativement pauvre en naphtalène probablement en partie à cause du séchage initial. Des essais préliminaires de désorption en phase aqueuse (test en Batch, L/S = 3) ont montré que la concentration de naphtalène désorbée après 24 h d'agitation est inférieure à 0,1 mg.L⁻¹ de solution. D'après ses caractéristiques physico-chimiques présentées dans le tableau 6, ce sol se différencie des sols de la Côte Saint-André d'une part par une teneur en carbone organique supérieure à 9% et d'autre part par une teneur en carbonate très élevée (33%). L'observation visuelle des échantillons révèle l'absence d'une phase organique xénobiotique visible à l'œil nu sur les échantillons de sol tamisé, ce qui suggère une répartition uniforme des polluants organiques.

Un deuxième sol pollué noté **SP2**, provenant également d'un site d'ancienne usine à gaz a été sélectionné pour l'étude. Il a été préparé selon même protocole décrit pour le sol SP1. Les teneurs en HAPs sont données dans le tableau 5. Le niveau global de pollution est à peu près identique à celui du sol SP1 mais SP2 est plus riche en naphtalène et en outre, la présence de

nodules de goudron dans l'échantillon séché et tamisé à 2 mm est parfaitement visible à l'œil nu.

Tableau 5 : Analyse des 16 HAPs de la liste USEPA dans les craies CV et CP et les sols pollués SP1 et SP2 (en mg.kg⁻¹ sol sec)

Echantillons :	Craie CV*	Craie CP*	Sol SP1**	Sol SP2*
Naphtalène	0	0,3	6	46
Acénaphthylène	ND	ND	9	ND
Acénaphthène	0,13	89	9	12
Fluorène	0,27	84	38	63
Phénanthrène	0,28	55	216	225
Anthracène	0,07	11	212	430
Fluoranthène	0,14	10	487	392
Pyrène	0,05	2,6	344	273
Chrysène	0,01	0,6	185	183
Benzo(a)anthracène	0,03	1,1	207	163
Benzo(b+k)fluoranthène	0,01	0,75	171	203
Benzo(a)pyrène	0,01	0,6	256	251
Indéno(1,2,3-cd)pyrène+	0,01	0,3	59	95
Dibenzo(a,h)anthracène				
Benzo(ghi)perylène	0,02	0,4	76	107
Total	1,05	257	2285	2445
Des HAPs quantifiés				

*Extraction par ASE 200 Dionex™, et analyse en chromatographie liquide Haute Performance, détection par barrette de Diode.

** Extraction par soxhlet, mélange acétone/hexane (Méthode EPA 3540C) et analyse en chromatographie phase gazeuse, détection FID (Méthode EPA 8100).

ND : Non déterminé.

Tableau 6 : Caractéristiques physico-chimiques des sols pollués SP1 et SP2.

	SP1
Sable grossier (%)	33,5
Sable fin (%)	15,1
Limon grossier (%)	12,9
Limon fin (%)	17,4
Argile (%)	21,1
Carbone organique (%)	9,04
Matière organique (%)	15,6
pH eau	8,5
KCl	8,1
CaCO ₃ (%)	32,9
CEC (Cmol/kg)	7,3

III.2.4- Caractéristiques comparées des différentes matrices sélectionnées

Le tableau 7 compare les principales caractéristiques des différentes matrices sélectionnées.

Tableau 7 : Principales caractéristiques des matrices sélectionnées.

	Caractéristique globale	% C.O.	Nature C.O	Teneur globale en 16 HAPs (mg.kg ⁻¹ sol sec)	Volume poral (cm ³ .g ⁻¹) TOTAL (µpores)
Sable SA	Matrice minérale	0,00	-	--	ND*
Argile ARG	Matrice argilo-limoneuse	0,70	M.O. naturelle	-	0,143 (0,013)
Craie CV	Matrice crayeuse	0,00	-	≈ 0	0,0082 (0,0002)
Craie polluée CP	Matrice crayeuse, pollution uniforme	ND	goudron	257	ND
Craie polluée CPN	Matrice crayeuse polluée, présence de nodules de goudron	ND	goudron	ND	ND
CSAC	Sol non pollué, MOS peu humifiée	1,49	M.O. humifiée	-	0,016(0,004)
CSAP	Sol non pollué, MOS humifiée	3,14	M.O. humifiée + débris végétaux	-	0,020(0,002)
SP1	Sol pollué, pollution homogène	9,04	goudron	2300	ND
SP2	Sol pollué, présence de nodules de goudrons	ND	goudron	2500	ND

ND: Non déterminé.

III.3- Procédures de vieillissement en conditions abiotiques

Deux aspects du vieillissement abiotique ont été étudiés :

- 1- Vieillissement de sols ou autres matrices après dopage artificiel en polluant, et effets sur la mobilité du polluant étudié en fonction de l'avancement du vieillissement.
- 2- Vieillissement des sols et autres matrices adsorbantes vierges préalable au contact avec le polluant, et effets sur leur comportement vis à vis de l'adsorption subséquente du polluant étudié.

Concernant le premier point, les travaux réalisés portent sur des sols et fractions de sols (Sable de Fontainebleau SF, argile limoneuse ARG, craie CV, et sols CSAC et CSAP) initialement vierges de polluants, artificiellement polluées au laboratoire, puis vieilles dans différentes conditions. Des études en batch et en colonnes ont été réalisées. Seuls les essais en batch sont présentés ici. Les essais en colonnes de sol, décrits dans le rapport 2 du programme (mai 2000), confirment les essais en batch. Des travaux ont également été réalisés sur des matrices anciennement polluées (sols SP1 et SP2, craies CP et CPN) provenant de sites industriels pollués.

III.3.1- Cinétiques et isothermes d'adsorption et de désorption (à l'équilibre apparent)

Les cinétiques et les isothermes d'adsorption et de désorption sont obtenus en mettant en contact dans des tubes fermés (batch en milieu dispersé avec $L/S = 3$, en condition abiotique par ajout de $HgCl_2$ à 400 mg.L^{-1}) sous agitation par retournement une quantité connue de solution aqueuse du polluant avec une quantité connue d'adsorbant. Les essais sont généralement effectués sur une large gamme de concentrations de chaque polluant en solution dans l'eau, et au moins tripliqués. Ces travaux ont permis de déterminer pour chaque couple polluant-matrice adsorbante:

- la durée de contact nécessaire pour obtenir un équilibre apparent (de l'ordre de quelques heures),
- les coefficients d'adsorption à l'équilibre apparent K_{ads}^{app} ,
- les coefficients de désorption à l'équilibre apparent K_{des}^{app} ,
- la réversibilité apparente de l'adsorption après un contact de 24h.

Les isothermes obtenus à l'équilibre apparent servent de références pour évaluer l'influence du vieillissement des différentes matrices sélectionnées sur l'adsorption des HAPs.

III.3.2- Vieillissement en batch réalisé après dopage artificiel en polluants

III.3.2.1- Principe

Les contacts sol-polluant s'effectuent dans des conditions identiques à celles décrites dans le paragraphe précédent pour les études d'adsorption / désorption en réacteur fermé (batch). Après la phase de contact sol / polluant sous agitation pendant 24 h, on peut soit réaliser des désorptions immédiatement, soit laisser le sol vieillir en contact avec le polluant sous différentes conditions et pendant des durées variables avant d'étudier la mobilité résiduelle (extractibilité) du polluant. L'objectif de ces travaux est d'évaluer le rôle de certains paramètres physico-chimiques tels que la porosité, la teneur en argile et la teneur et la nature de la matière organique dans le piégeage des polluants organiques hydrophobes.

La plupart des essais ont été effectués avec des solutions mono-polluant de naphthalène ou de phénanthrène. Certains essais non présentés dans ce rapport ont cependant utilisé des lixiviats de goudron, qui contiennent de nombreux polluants en mélange. Le Tableau 8 présente l'ensemble des essais réalisés en batch.

Tableau 8 : Récapitulatif des essais de vieillissement en batch réalisés après dopage artificiel en polluants

<i>Vieillissement en condition noyée à 20°C</i>
<ul style="list-style-type: none"> - Solutions aqueuses de naphthalène ou de phénanthrène, ou extrait aqueux de goudron - Cinq matrices testées : Sable de Fontainebleau, Argile Limoneuse ARG, Craie vierge CV, sols CSAC et CSAP, - Température constante 20°C, - Durées de vieillissement : 24h, 1 mois, 3 mois, 6 mois et 12 mois.
<i>Vieillissement en condition non noyée à 20°C</i>
<ul style="list-style-type: none"> - Naphthalène et Phénanthrène, - Trois matrices testées : Argile Limoneuse ARG, CSAC et CSAP, - Température constante 20°C, - Durée de la phase d'adsorption en condition saturée : 24h, - Durées de vieillissement : 24h, 1 mois, 3 mois, 6 mois et 12 mois.
<i>Vieillissement en condition non noyée avec cycles de gel-dégel (-18/+20°C)</i>
<ul style="list-style-type: none"> - Naphthalène et Phénanthrène, - Trois matrices testées : Argile Limoneuse ARG, CSAC et CSAP, - Durée de la phase d'adsorption en condition saturée : 24h, - Durées de vieillissement : 24h, 1 mois, 3 mois, 6 mois et 12 mois.

III.3.2.2- Mode opératoire (voir Fig. 2)

Les essais en batch sont effectués dans des tubes à centrifuger autoclavés de 26 mL en verre, fermés hermétiquement par des bouchons vissants avec joints en caoutchouc recouverts d'une couche de Téflon[®] afin d'éviter l'adsorption du polluant. Tous les essais sont menés en triplicats. Le rapport massique entre la phase liquide et la phase solide (L/S) est de 3. Pour l'ensemble des essais réalisés, 6 g de matériau (sols ou fractions de sols) sont mis en suspension dans 18 mL de solution aqueuse de polluant à concentration initiale connue. Les suspensions de sol sont alors agitées à température ambiante à l'aide d'un dispositif d'agitation (10 rotations par minute). Après 24 heures d'agitation, les tubes sont soit centrifugés pour faire vieillir le sol en conditions non noyées ou pour réaliser immédiatement des désorptions successives en remplaçant le surnageant par de l'eau (témoin 24 h), soit stockés verticalement dans une enceinte thermostatée à 20°C à l'abri de la lumière pour le vieillissement en conditions noyées. Les sols pollués sont ainsi vieillis de 24 h à 12 mois en conditions noyées ou non et sous différentes conditions de température (température constante, cycles de gel/dégel).

Dans le cas des essais de vieillissement en condition noyée (T = 20°C), les phases solide et liquide sont séparées après vieillissement par centrifugation à 4000 g pendant 15 minutes (centrifugeuse Prolabo SR 2002). Le surnageant est alors prélevé à l'aide d'une seringue en verre munie d'une aiguille en inox pour être analysé par HPLC, et en déduire par bilan massique les quantités adsorbées par la matrice solide. La pesée du surnageant obtenu après centrifugation permet de déduire le volume résiduel de solution présent dans le culot, et donc

la quantité de polluant présent dans la solution interstitielle du sol. Le surnageant est remplacé par un même volume d'eau afin d'étudier la désorption. On effectue ensuite une seconde, troisième puis quatrième désorption suivant le même protocole (« désorptions 1 à 4 ») afin d'évaluer l'extractibilité du polluant à l'eau.

Dans le cas des essais de vieillissement en condition non noyée avec ou sans cycle de gel-dégel (trois cycles par semaine de -18 à $+20^{\circ}\text{C}$), on effectue une première désorption en ajoutant un volume d'eau équivalent à celui prélevé après la phase d'adsorption. On effectue ensuite 3 autres désorptions successives.

Après les quatre désorptions successives en phase aqueuse, des extractions par solvant organique ainsi qu'un traitement par sonication sont effectués afin de caractériser l'extractibilité du polluant retenu et l'effet du temps et des conditions de vieillissement sur l'extractibilité. L'extraction est réalisée en suivant le même protocole que pour une désorption en phase aqueuse, si ce n'est que le surnageant est remplacé par un même volume de méthanol dans une première étape (« extraction 1 »), puis de butanol-1 sous sonication (« extraction 2 »). Le traitement par ultrasons a pour but de désagréger partiellement le milieu adsorbant. Il consiste à mettre les culots en suspension dans du butanol (ratio L/S de 3), à les sonifier pendant 10 minutes à une puissance de 50 W, à les agiter 24h dans le butanol sur l'éluteur rotatif, puis à renouveler la sonication dans les mêmes conditions. Le traitement ultime, réalisé uniquement sur les échantillons vieillis 1 an, consiste en une extraction soxhlet au CH_2Cl_2 pendant 3 h.

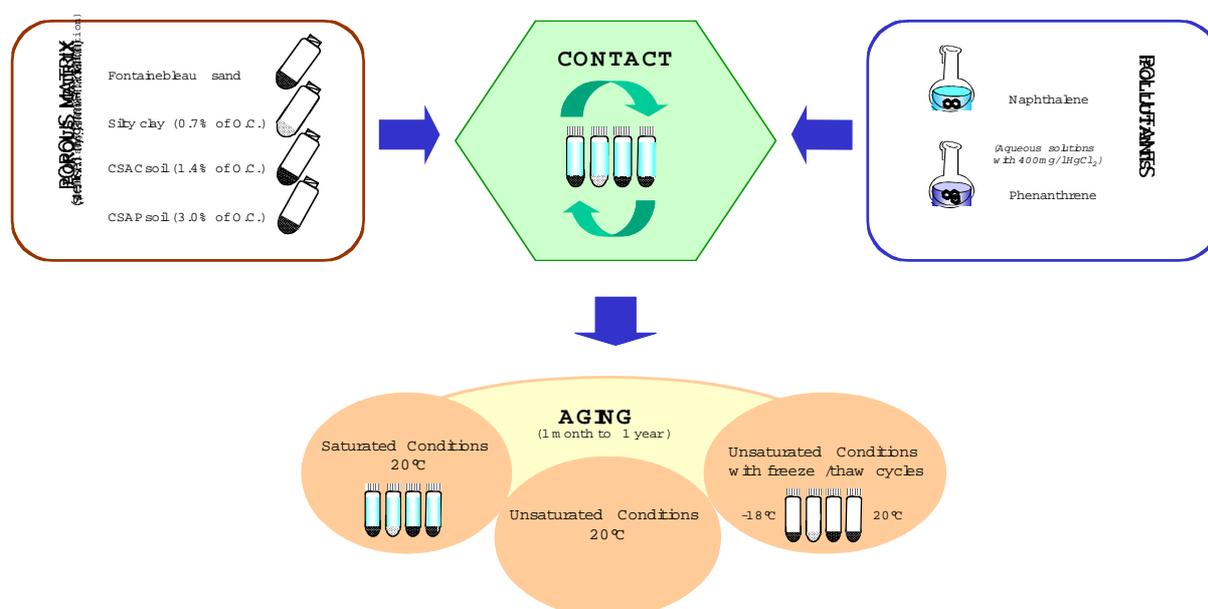


Figure 2 : Protocole général des essais de vieillissement abiotique en batch

III.3.3- Vieillissement en batch de sols issus de sites pollués réels

L'argile, la craie et les deux sols de la Côte Saint-André sont des matrices modèles très utiles pour déterminer les mécanismes physico-chimiques de piégeage à long terme des HAPs les plus mobiles. Ces matrices sont cependant très différentes des sols pollués présents sur les sites industriels qui se caractérisent par des pollutions organiques souvent massives réparties d'une façon plus ou moins uniforme dans la structure du sol. Nous avons sélectionné plusieurs échantillons de sols (SP1 et SP2) et de craie (CP et CPN) provenant de sites d'anciennes usines à gaz ou de cokerie ayant subi des pollutions anciennes. Le tableau 5 montre que ces matrices sont relativement pauvres en naphthalène, sans doute en raison de l'âge de la pollution et de la méthode de préparation des matrices (séchage à l'air, tamisage) qui favorise les pertes en polluants les plus volatils.

Le protocole est le même que pour les essais effectués sur les matrices artificiellement polluées mais le vieillissement est conduit en conditions noyées et le dopage avant vieillissement est fait avec une solution aqueuse de naphthalène uniquement. La durée maximale de vieillissement est ici de 3 mois. Des essais témoins réalisés avec les matériaux mis au contact d'eau permutée (HgCl_2 à 400 mg.L^{-1}) sans naphthalène sont effectués en parallèle afin de suivre la mobilisation des HAPs initialement présents. A l'issue de la phase de vieillissement, les phases solide et liquide sont séparées par centrifugation. Les HAPs dans les surnageants sont extraits au dichlorométhane. Les extraits sont ensuite analysés par CLHP à gradient d'élution et détections couplées UV et fluorométrie. Le surnageant est remplacé par un même volume d'eau afin d'étudier la désorption. On effectue ainsi quatre désorptions successives de 24 h à l'eau, puis une extraction de 24 h au méthanol, une extraction au butnaol-1 sous ultrasons et, enfin, une dernière extraction finale par Soxhlet durant 3 heures avec le dichlorométhane. Les concentrations en HAPs dans les surnageants sont mesurées par CLHP avec gradient d'élution et détection UV et fluorométrie.

III.3.4- Vieillissement en batch de sols vierges préalablement au contact avec les HAP

III.3.4.1- Principe

Ces travaux ont pour objectif de déterminer l'effet du vieillissement des sols sur certaines de leurs caractéristiques et notamment leur capacité d'adsorption des HAP. On cherche à accélérer le vieillissement des sols suivant différentes conditions avant de les mettre en contact avec les polluants organiques.

La fraction organique des sols est la plus sujette à évoluer au cours du vieillissement. Il peut s'agir par exemple de modifications de la conformation des polymères humiques qui aurait pour effet de rendre plus accessible un plus grand nombre de sites d'adsorption internes au sein de la matière organique du sol. La deuxième hypothèse envisage des changements dans la microporosité des sols au cours des essais de vieillissement qui aurait pour effet de

modifier l'accessibilité des sites d'adsorption intra-agrégats. Ces deux hypothèses peuvent se combiner étant donné le rôle de la fraction organique dans la microstructure des sols riches en matière organique. L'effet du vieillissement est évalué en établissant des isothermes d'adsorption à l'équilibre apparent (24 h de contact) avant et après vieillissement.

III.3.4.2- Mode opératoire

Les conditions opératoires sont les mêmes que les autres essais en batch. Cependant ici, les matériaux sont mis en contact avec de l'eau (HgCl_2 à 400 mg.L^{-1}) vierge de tout polluant. Les différentes conditions de vieillissement testées sont les suivantes :

- Vieillissement en conditions noyées ou non : Après 24 h d'agitation par retournement, les tubes sont stockés verticalement dans une enceinte thermostatée à 20°C et à l'abri de la lumière. Dans le cas du vieillissement en conditions non noyées, la phase liquide est séparée de la phase solide par centrifugation avant vieillissement.
- Effet de cycles de gel-dégel : Après 24 h d'agitation de la suspension de sol, les tubes sont centrifugés pour éliminer le surnageant puis placés verticalement dans une enceinte thermostatée à 20°C pendant deux à quatre jours. Les tubes sont ensuite placés pendant deux jours dans une enceinte thermostatée à -18°C . On effectue ainsi un cycle de gel/dégel par semaine.

III.4- Procédures de vieillissement en conditions biotiques

III.4.1- Modélisation expérimentale du vieillissement - Mise en place des incubations

La simulation du vieillissement au laboratoire se fait à l'aide d'incubations en conditions contrôlées des sols artificiellement pollués avec les HAP marqués au ^{14}C . Toutes les incubations ont été réalisées sur des échantillons de sol qui ont été conservés en chambre froide. Avant l'application des HAP, les échantillons de sol sont pré-incubés pendant 24 h à 28°C . Les polluants sont ensuite directement appliqués sur 20 g de sol (CSAC, CSAP ou SP1). Dans le cas du phénanthrène et du fluoranthène, on ajoute 1 ml de la solution méthanol/eau, dans le cas du benzo(a)pyrène, on ajoute 0,5 ml de la solution méthanolique, puis 0,5 ml d'eau. L'humidité des échantillons est ajustée à 100 % de la capacité de rétention en eau du sol. Ces échantillons sont préparés dans des récipients en verre de 100 ml, puis placés dans des flacons d'incubation de 500 ml équipés de joints étanches, avec un flacon contenant 5 ml de NaOH 2N pour piéger le CO_2 dégagé et un autre flacon contenant 10 ml d'eau afin d'humidifier l'atmosphère du bocal et de diminuer les pertes d'eau à partir du sol. Les incubations sont réalisées à l'obscurité, à 28°C , pendant 6 mois.

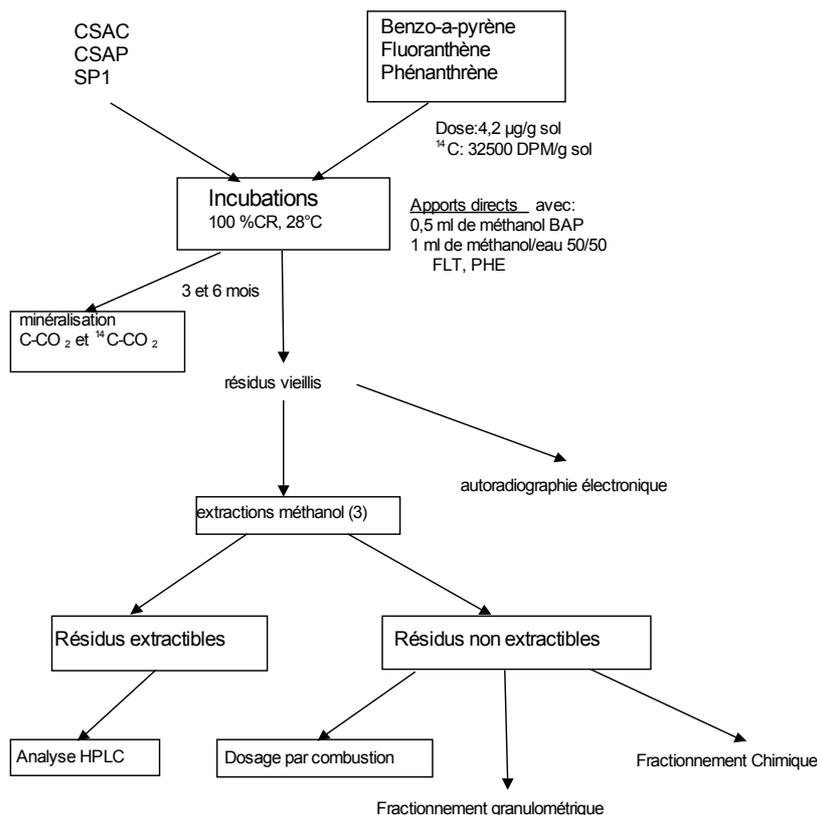


Figure 3 : *Protocole général des incubations et du suivi des résidus des polluants.*

III.4.2- Caractérisation de l'évolution des HAP et évaluation du vieillissement

Au cours des incubations, l'activité biologique totale et celle qui est spécifiquement impliquée dans la minéralisation (dégradation totale jusqu'à la formation de CO₂) sont évaluées grâce à la mesure du CO₂ total et radioactif dans les pièges de soude introduits dans les dispositifs d'incubation. Les pièges de soude sont remplacés périodiquement. La mesure de la radioactivité contenue dans ces pièges permet d'évaluer les quantités de HAP minéralisées. Cette mesure de la radioactivité se fait à l'aide d'un compteur de radioactivité par scintillation en milieu liquide (Kontron beta 5) sur des aliquotes de 0.5 ml, auxquels sont ajoutés 4 ml de liquide scintillant (UltimaGoldXR, Packard). La quantité totale de CO₂ minéralisée contenue dans les mêmes pièges est mesurée par colorimétrie en flux continu (Skalar). Trois répétitions par traitement (sol et polluant) sont sacrifiées après différents temps d'incubation pour évaluer l'extractibilité des résidus de HAP. Dans le cas du benzo(a)pyrène et du fluoranthène, après 97 et 196 jours. Dans le cas du phénanthrène après 104 jours. Les échantillons de sol, contenant les résidus de HAP non minéralisés, sont soumis à 3 extractions successives au méthanol. Pour cela, la totalité de chaque échantillon de sol (20 g) est transvasée dans un tube à centrifuger en verre borosilicaté de 150 ml. 60 ml de méthanol sont ajoutés (rapport liquide/solide de 3 ml/g). Les tubes sont agités 24 h par

retournement à 50 rpm à température ambiante. Après 15 min de centrifugation à 3000 g (centrifugeuse réfrigérée RC5B Sorvall), les surnageants sont récupérés. Les culots sont à nouveau remis en suspension dans 60 ml de méthanol pour faire une deuxième extraction. Enfin une troisième extraction est effectuée dans les mêmes conditions. Les 3 extraits sont réunis et la radioactivité totale est mesurée par comptage en scintillation liquide sur une aliquote de 0,5 ml, à laquelle sont ajoutés 4 ml de liquide scintillant (UltimaGoldXR, Packard).

Cette méthode d'extraction a été testée avec les ^{14}C -HAP appliqués sur le sol CSAC. L'apport était identique aux conditions mentionnées ci-dessus. L'extraction a été faite après un temps de contact de 2 h. Dans ces conditions, les rendements d'extraction sont de $90,3 \pm 0,2$ % pour du benzo(a)pyrène, et $95,2 \pm 2,9$ % pour le fluoranthène. Des essais complémentaires d'extraction ont été faits avec un extracteur ASE (Accelerated Solvent Extraction) de Dionex.

L'analyse des extraits méthanoliques par Chromatographie Liquide Haute Performance (CLHP) est effectuée après concentration par évaporation sous vide (évaporateur rotatif Buchi). On arrête l'évaporation avant d'arriver à sec pour éviter des pertes par volatilisation, et l'échantillon concentré est repris par 1 ml de méthanol et ensuite filtré à $0,45 \mu\text{m}$ (filtre MSI, Touzart et Matignon). Une aliquote de 300 μl des extraits concentrés est analysée avec du matériel chromatographique de chez Waters. L'élution se fait par un gradient passant d'un mélange méthanol/eau 60/40 (v/v) à 100 % de méthanol en 25 min, sur une colonne C18 de 25 x 4,6 cm (Novapack Waters). La détection des molécules marquées au ^{14}C est faite, après ajout de liquide scintillant (UltimaFloAP) à l'éluat, dans un rapport 3/1 (v/v), à l'aide d'un détecteur à scintillation en milieu liquide en flux continu (Radiomatic Flo One, A-500, Packard).

La quantité de résidus des HAP non extractibles est mesurée sur les échantillons de sol après extraction. Chaque échantillon de sol est séché dans une étuve ventilée à 60°C pendant 16 h. Après homogénéisation dans un mortier en agate, une aliquote de 300 mg est soumise à une combustion dans un four à induction fermé sous courant d'oxygène (Oxidizer 307 Packard). Le $^{14}\text{CO}_2$ produit par la combustion des résidus de molécules marquées au ^{14}C est piégé dans 6 ml de Carbosorb (Packard) auxquels sont ajoutés 12 ml de liquide scintillant (Permafluor Packard). Le rendement de combustion est contrôlé avec des échantillons standard dont la teneur en ^{14}C est connue.

La figure 3 présente les différentes étapes du protocole général utilisé, avec la mise en place des incubations, la caractérisation de la dynamique des polluants, et l'enchaînement des techniques de caractérisation ci-après décrites.

III.4.3- Localisation des résidus stabilisés sous forme non extractible

III.4.3.1- Localisation spatiale au sein des échantillons

Il s'agit d'obtenir des autoradiographies des échantillons permettant de détecter la localisation du ^{14}C à la surface des échantillons pour pouvoir faire une quantification de sa répartition spatiale. Les résidus issus des incubations sont homogénéisés manuellement à l'aide d'une spatule. Sur une plaque de verre, une aliquote de 4 g de sol est étalée de façon à former un pavé carré de 35 mm de côté et d'une épaisseur de 4 mm. Deux répétitions sont faites par HAP. Les surfaces moyennes réellement préparées représentent $1290 \pm 29 \text{ mm}^2$. La quantification et la répartition des résidus radioactifs provenant des ^{14}C -HAP restant dans les sols est évaluée dans chaque pavé par autoradiographie électronique à l'aide d'un Instant Imager 2024 (Packard). Les acquisitions se font pendant 41 h. La mesure du bruit de fond se fait sur une surface identique ne contenant pas de radioactivité. Les résultats sont exprimés en activité (coups) par unité surface. L'estimation du rendement du comptage se fait par comparaison entre les données obtenues par autoradiographie et celles qui résultent de la combustion du même échantillon. Pour cela, 3 g de sol contenant des résidus de ^{14}C -HAP sont séchés dans une étuve ventilée à 60°C pendant 16 h, puis broyés dans un mortier en agate. La radioactivité dans une aliquote de 250 mg est mesurée après combustion (Oxidizer 307 Packard).

III.4.3.2- Localisation dans des fractions granulométriques des sols

Pour chaque traitement (sol + HAP), les échantillons de sol après extraction contenant les résidus non extractibles marqués au ^{14}C des trois répétitions sont mélangés. 40 g du mélange sont mis en suspension dans 100 ml d'eau et agités par retournement pendant 4 h. Ensuite, on procède à un fractionnement en fonction de la taille granulométrique des particules (Figure 4). Les suspensions de sol sont passées successivement au travers de deux tamis, à 200 μm puis à 50 μm , permettant d'isoler respectivement les fractions $>200 \mu\text{m}$ et 200-50 μm . Ces fractions sont remises en suspension dans de l'eau pour séparer par flottation les débris végétaux libres les moins denses [$(>200)\text{o} \mu\text{m}$ et $(200-50)\text{o} \mu\text{m}$] des sables [$(>200)\text{m} \mu\text{m}$ et $(200-50)\text{m} \mu\text{m}$]. Les fractions $<50 \mu\text{m}$ sont ensuite fractionnées par sédimentation en allonge ; des sédimentations successives permettent d'obtenir les fractions 50-20 μm , 20-50 μm et 5-2 μm . Les temps de sédimentation sur 10 cm, calculés selon la loi de Stokes, sont respectivement de 4 min 48 s, 1 h 17 min et 8 h pour une température de 20°C . La fraction 2-0.2 μm est isolée par centrifugation (2700 g, 16 min à 20°C , avec une centrifugeuse réfrigérée Sorvall RC5B équipée d'un rotor GS3). Le surnageant contient la fraction $<0,2 \mu\text{m}$ qui est récupéré par centrifugation (2700 g, 10 min) après floculation par ajout de CaCl_2 0.01M (24 h à 4°C).

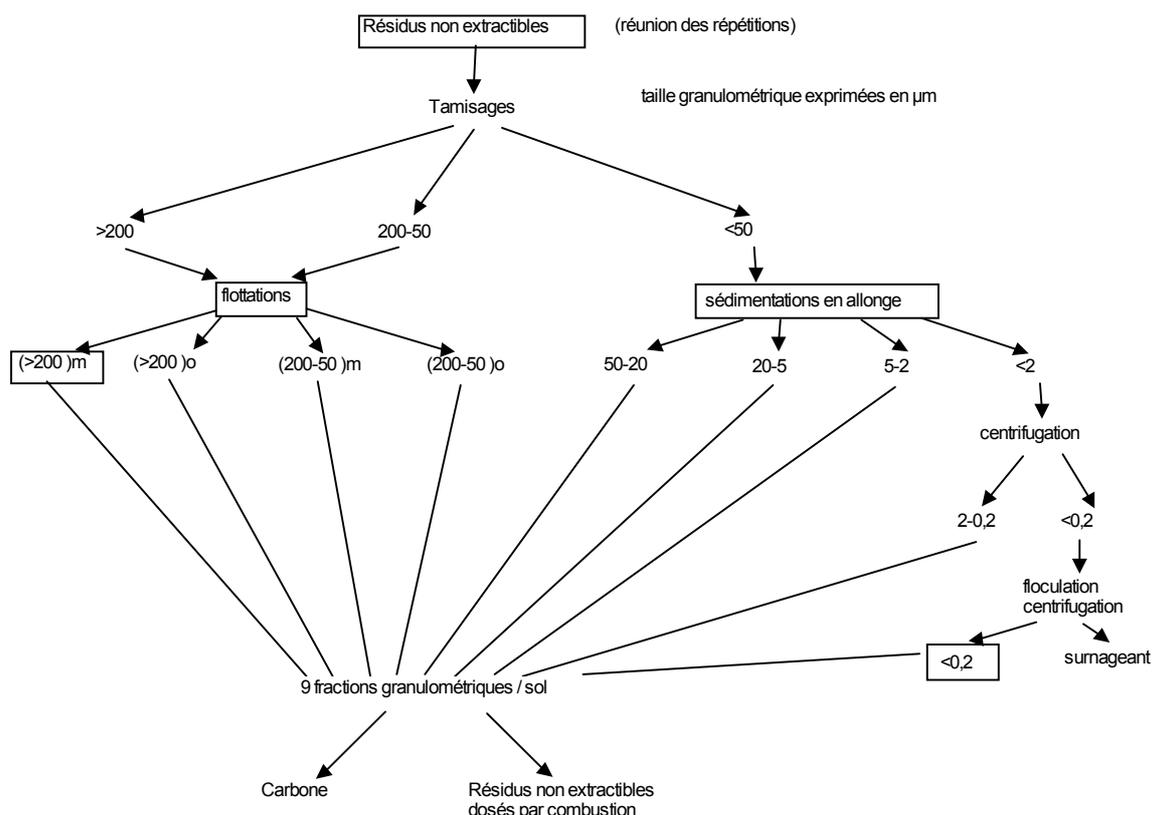


Figure 4 : *Protocole général de fractionnement des échantillons de sol contenant les résidus non extractibles des HAP marqués au ^{14}C .*

Toutes les fractions récupérées sont séchées à 40°C et pesées. Elles sont ensuite broyées dans un mortier en agate. Le carbone organique total des sols et des fractions est dosé par combustion dans un four ouvert à l'aide d'un analyseur de carbone Shimadzu, SSM 5000A. Les résidus de ^{14}C -HAP non extractibles des fractions sont dosés sur des aliquotes par combustion comme décrit ci-dessus.

III.4.3.3- Localisation dans des fractions "humiques" de la matière organique des sols

Les résidus non extractibles des différents HAP sont fractionnés chimiquement en fonction de leur association aux différentes classes de matière organique du sol séparées en fonction de leur extractibilité dans des solvants alcalins. Cette technique est classiquement utilisée pour la caractérisation de la matière organique des sols. Elle permet de séparer les acides humiques et fulviques, solubilisés en milieu alcalin, de l'humine, fraction de la matière organique des sols non soluble en milieu alcalin. Les acides humiques sont séparés des acides fulviques par

précipitation des premiers en milieu acide. Le protocole générale de fractionnement à l'aide des solvants alcalins est schématisé dans la figure 5.

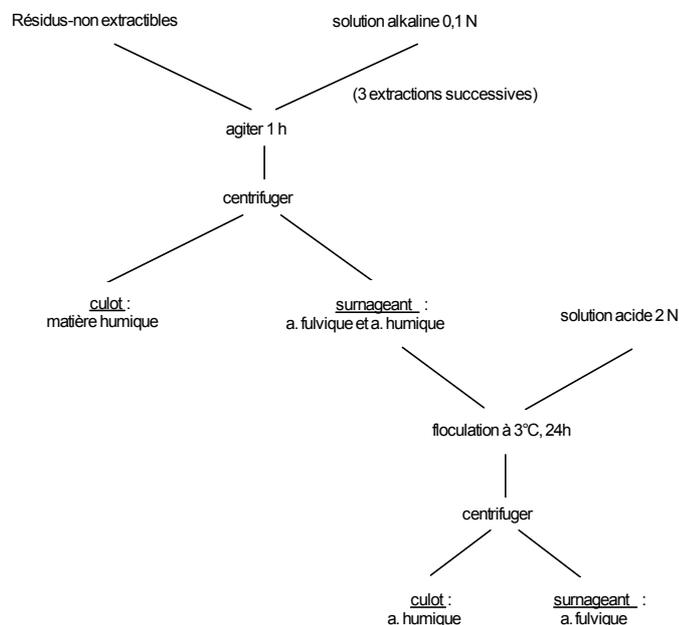


Figure 5 : Protocole général de fractionnement chimique de la matière organique des sols et des résidus non extractibles des HAP associés aux fractions organiques séparées.

500 mg de sol contenant des résidus non extractibles sont introduits dans des tubes à centrifuger en verre de 20 ml, avec 2 ml de solution alcaline ($\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ / NaOH 0,1 M). Après une agitation par retournement de 1 h, les tubes sont centrifugés pendant 10 min à 2000 g. Le surnageant est récupéré dans un flacon en verre et le culot est à nouveau extrait deux fois par 1,5 ml de la solution alcaline pendant 1 h. Les surnageants, contenant les acides humiques et fulviques sont réunis, et le culot, enfermant l'humine, est récupéré après lavage avec de l'eau puis séchage à 40°C. La séparation entre les acides humiques et fulviques se fait sur 4 ml des surnageants qui sont acidifiés par ajout de 0,7 ml de HCl 2N. Les tubes sont placés à 3°C pendant 24 h pour faciliter la floculation des acides humiques, récupérés par centrifugation (10 min à 2000 g). La radioactivité totale extraite en milieu alcalin (associée à l'ensemble des acides fulviques et humiques) est mesurée sur 0,5 ml de l'extrait alcalin total, après ajout de 0,5 ml d'eau et 10 ml de liquide scintillant avec un compteur par scintillation en milieu liquide (Kontron beta V). La radioactivité associée aux acides fulviques est mesurée sur un 1 ml du surnageant après ajout de 10 ml de liquide scintillant. La radioactivité associée aux acides humiques est évaluée par différence entre la radioactivité dans l'extrait total et dans l'extrait fulvique.

III.4.4- Stabilité chimique des liaisons impliquées dans la stabilisation des résidus vieillis

III.4.4.1- Principe et objectifs

L'établissement des liaisons covalentes entre les polluants organiques (HAP) (et/ou leurs métabolites hydroxylés) et la matière organique des sols est une des hypothèses utilisées pour expliquer une des voies de vieillissement des polluants se traduisant par la formation des résidus non extractibles. Il est difficile de mettre en évidence ce type de liaisons, il n'y a pas de données directes dans la littérature pour les HAP. L'évaluation de leur existence et leur importance relative par rapport à d'autres mécanismes de vieillissement constitue un point important pour l'estimation du devenir de ce type de résidus. En effet, la biodisponibilité des résidus impliqués dans ce type de liaisons sera très réduite et leur libération sera difficile car impliquant la rupture de ces liaisons.

La démarche expérimentale adoptée consiste à appliquer des techniques hydrolytiques (hydrolyse acides). L'objectif est d'hydrolyser des liaisons hétéro-atomiques (type C-O, C-N) permettant la libération de composés simples, passant en solution ou devenant extractibles avec un solvant organique.

III.4.4.2- Protocole expérimental d'hydrolyse acide

Les échantillons utilisés proviennent des incubations de 3 mois des trois sols avec les trois HAP marqués au ^{14}C . Le protocole général d'hydrolyse est schématisé dans la figure 6. Les sols ont été préalablement soumis à la procédure d'extraction permettant de récupérer les résidus extractibles, ils ne contiennent donc que les résidus non extractibles. Après homogénéisation par broyage dans un mortier en agate, 500 mg de chaque échantillon sont introduits dans des ballons en verre de 100 ml, après ajout de 10 ml de HCl 2N, les échantillons sont portés à ébullition sous reflux. Après 17 heures, les échantillons sont refroidis et les hydrolysats en solution sont quantitativement transférés dans des tubes à centrifuger en verre de 20 ml, et récupérés après centrifugation à 2000 g pendant 10 min. Les culots, contenant les résidus non hydrolysés, sont rincés avec 2 ml d'eau déminéralisée et centrifugés à nouveau.

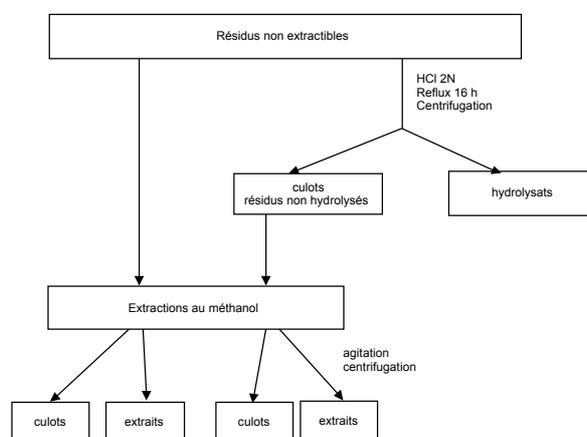


Figure 6 :- Schéma du protocole utilisé pour les hydrolyse acides des résidus de HAP non extractibles.

La quantité de résidus de HAP hydrolysés, solubilisés dans les hydrolysats, est évaluée par la mesure de la radioactivité par scintillation en milieu liquide sur des aliquotes d'1 ml des hydrolysats, avec 10 ml de liquide scintillant (Ultima GoldXR, Packard) et à l'aide d'un

compteur par scintillation en milieu liquide (Kontron Beta V) avec standardisation externe. La teneur totale de matière organique hydrolysée est évaluée par la mesure du carbone organique des hydrolysats avec un analyseur de carbone Shimadzu TOC 5050A.

Les résidus de HAP non hydrolysés, restant associés à la phase solide des sols après hydrolyse, sont récupérés par séchage des culots d'hydrolyse dans une étuve ventilée à 60°C pendant 16 heures. Ils sont ensuite homogénéisés par broyage dans un mortier en agate, et leur teneur en radioactivité est mesurée sur des aliquotes de 50 mg après combustion à l'aide d'un Oxidizer 307 (Packard). Le $^{14}\text{CO}_2$ produit par la combustion des résidus de molécules marquées au ^{14}C est piégé dans 6 ml de solution Carbosorb (Packard) auxquels sont ajoutés 12 ml de liquide scintillant (Permafluor Packard). Le rendement de combustion est contrôlé avec des échantillons standard dont la teneur en ^{14}C est connue. La radioactivité est mesurée à l'aide d'un compteur de radioactivité par scintillation en milieu liquide Kontron Beta V.

L'extractibilité des résidus non hydrolysables est évaluée par une extraction d'aliquotes des culots d'hydrolyse (30 à 300 mg) avec 1.5 ml de méthanol dans des tubes à centrifuger en verre de 20 ml. Les échantillons sont agités 24 heures sur une table d'agitation. Ils sont ensuite centrifugés 10 min à 2000 g. La radioactivité des extraits est mesurée comme décrit précédemment sur 1 ml des extraits avec 10 ml de liquide scintillant (Ultima Gold, Packard). Parallèlement, des extractions des échantillons des sols contenant les résidus non extractibles des HAP issus des incubations de 3 mois, avant hydrolyse acide, sont faites dans les mêmes conditions.

III.4.5- Biodisponibilité des HAP non extractibles dans les résidus vieilliss

III.4.5.1- Principes et objectifs

Les techniques de fractionnement granulométrique présentées dans les rapports précédents ont permis l'obtention de fractions contenant des résidus non extractibles de HAP associés aux constituants de la matière organique de différentes qualités. Il s'agit maintenant de caractériser ces associations du point de vue de la stabilisation des résidus de HAP vis-à-vis de leur dégradabilité. L'objectif est l'acquisition d'informations sur une éventuelle préservation sélective des résidus de HAP plus ou moins difficilement biodégradables en relation avec leur localisation dans une fraction de sol donnée. En parallèle, des informations sur l'effet de la désagrégation du sol avec élimination des effets de protection physique des agrégats peuvent aussi être obtenus. Pour ceci, nous allons incuber des sols et des fractions granulométriques contenant des résidus non extractibles de FLT et de BaP obtenus après incubation des trois sols pendant 6 mois. Pour tester la biodégradabilité de ces résidus, indice de leur biodisponibilité, les échantillons sont incubés dans le sol SP1, sol où nous avons démontré la présence d'une microflore spécifique adaptée à la dégradation des HAP.

III.4.5.2- Protocole expérimental

Les fractions granulométriques contenant les résidus non extractibles de FLT et BaP ont été obtenues par fractionnement des sols incubés pendant 6 mois. Les fractions retenues sont : fractions organiques des sables grossières ($> 200 \mu\text{m}$) (SGO) et des sables fins ($50-200 \mu\text{m}$) (SFO), fractions de la taille des limons moyens ($5-20 \mu\text{m}$) (LM), des limons fins ($2-5 \mu\text{m}$) (LF) et des argiles ($< 2 \mu\text{m}$) (AG). Les expériences d'incubation ont été réalisées avec deux répétitions sauf pour les fractions grossières SGO et SFO qui étaient en trop faible quantité. Des aliquotes de chaque fraction, préalablement homogénéisées par broyage dans un mortier en agate, sont préparées de telle sorte que la masse de fraction corresponde à un apport constant de radioactivité pour l'ensemble des échantillons. Le sol SP1 servant d'inoculum est placé à température ambiante, à l'obscurité 10 jours avant le début de l'incubation.

Les incubations sont réalisées en microcosme fermé à l'obscurité à 28°C et à une humidité équivalente à 100 % de la capacité de rétention (même dispositif que pour les incubations précédentes). 10 g de sol SP1 sont mélangés aux aliquotes des sols et des fractions contenant les résidus non extractibles des HAP. La masse des fractions varie entre 30 mg et 2 g permettant d'apporter une quantité constante de radioactivité d'environ 600 kBq. Des pièges de 3 ml de NaOH 2 M sont installés, ils seront renouvelés périodiquement au cours des 3 mois d'incubation. La radioactivité dans les pièges, correspondant au $^{14}\text{CO}_2$ provenant de la minéralisation des résidus non extractibles est mesurée par scintillation en milieu liquide (compteur Kontron Beta V) après ajout de 10 ml de liquide scintillant (UltimaGoldXR, Packard).

Des témoins de dégradation des HAP sont réalisés en parallèle avec apport direct sur le sol SP1 de ^{14}C -FLT et ^{14}C -BaP : 100 μl des solutions méthanoliques des HAP sont appliqués sur 10 g de sol SP1, correspondant à un apport de 220 μg de chaque HAP par kg de sol sec, avec une activité de 30 MBq par échantillon.

IV- PRINCIPAUX RESULTATS ET DISCUSSION

Avertissement : Conformément à la demande des tuteurs industriels et de la direction scientifique de RECORD, seuls sont présentés ici les résultats les plus pertinents au regard des objectifs du programme. L'ensemble des résultats a été présenté dans les rapports intermédiaires et finals des 3 années d'étude.

IV.1- Vieillessement en conditions abiotiques : Rôle des microstructures (argile, craie, matière organique)

IV.1.1- Cinétiques et isothermes d'adsorption du naphthalène et du phénanthrène sur les matrices vierges et polluées

Les principaux résultats obtenus au cours des essais de cinétiques d'adsorption sont présentés dans le tableau 9. Les résultats cinétiques obtenus ont été exploités à l'aide du logiciel Scientist afin de calculer la constante cinétique selon une loi de 1^{er} ordre :

$$\frac{dQ}{dt} = k_{adsapp} (Q_e - Q)$$

Avec

- Q : teneur en polluant adsorbé à l'instant t (en mg/kg de sol sec),
- Q_e : teneur en polluant adsorbé à l'instant à l'équilibre apparent (en mg/kg de sol sec),
- k_{adsapp} : constante cinétique d'adsorption (en h⁻¹),
- Q₀ = Q_{inst} à t = 0, Q_{inst} étant la teneur en polluant adsorbé de manière quasi instantanée.

Tableau 9 : Adsorption du naphthalène et du phénanthrène. Résultats du calcul des paramètres cinétiques selon le modèle de 1er ordre couplé avec adsorption instantanée.

Matrice	Craie vierge CV		Craie polluée CP		CSAC		CSAP	
Polluant	Nap	Phe	Nap	Phe	Nap	Phe	Nap	Phe
Concentration initiale C _i (mg/L)	24,45	0,68	25,73	ND	27,01	1,00	27,01	ND
Q _{inst} (mg/kg sol sec)	6,6	0,75	20	ND	25	2,8	55	ND
k _{ads app} (s ⁻¹)	0,32	0,80	1,05	ND	0,29	2,70	0,61	ND
Q (mg/kg sol sec)	7,94	0,98	46,83	ND	42,5	3,05	68,5	ND
% de polluant adsorbé	11	48	63	ND	60	90	80	ND

AD : à déterminer.

ND : Non déterminé

Les paramètres d'adsorption à l'équilibre apparent (24 h) calculés selon le modèle linéaire présenté ci-dessous sont donnés dans les tableaux 10 et 11 :

$$Q_e = K_d^{app} C_e$$

avec : Q_e : teneur en polluant adsorbé à l'équilibre apparent (en mg/kg de sol sec),

K_d^{app} : Coefficient d'adsorption (cm^3/g) correspondant à la pente de l'isotherme linéaire,

C_e : concentration en solution à l'équilibre (mg/L).

Tableau 10 : Valeur des constantes des modèles linaires calculées à partir des isothermes d'adsorption du naphthalène obtenus après 24h de contact (équilibre apparent).

Matrice :	Craie vierge CV	Craie polluée CP	Argile limoneuse ARGL	Argile Bentonite ARGB*	CSAC	CSAP	Sol pollué SP1	Sol pollué SP2
f_{oc} (%)	0	0,2	0,04	0,17	1,49	3,14	9,04	26,2
K_d^{app} (cm^3/g)	0,15	5,92	0,29	AD	3,08	8,25	85,83	AD
$\text{Log}K_{oc}^{app}$	-	3,47	2,86	AD	2,32	2,42	2,977	AD
% adsorbé	4,79	66,4	9	AD	47	70	96	AD

* Ratio liquide/solide L/S de 10 mL pour 1 g d'argile.

AD : à déterminer.

Tableau 11 : Valeur des constantes des modèles linaires calculées à partir des isothermes d'adsorption du phénanthrène obtenus après 24h de contact (équilibre apparent).

Matrice :	Craie vierge CV	Argile limoneuse ARGL	Argile Bentonite ARGB*	CSAC	CSAP
f_{oc} (%)	0	0,04	0,17	1,49	3,14
K_d^{app} (cm^3/g)	4,59	0,45	12,52	19,90	31,2
$\text{Log}K_{oc}^{app}$	-	3,05	3,87	3,31	3,00
% adsorbé	60,27	13	81	85	89

* Ratio liquide/solide L/S de 10 mL pour 1 g d'argile.

Les cinétiques d'adsorption en milieu dispersé sur une courte durée de contact (24 h) ont montré que l'adsorption du naphthalène et du phénanthrène se déroule en deux étapes. La première étape très rapide correspond à l'adsorption quasi instantanée des polluants organiques sur les sites d'adsorption facilement accessibles dès les premiers instants de mise en suspension des matrices. Elle est suivie d'une seconde étape plus lente (mais tout de même rapide) d'occupation des sites d'adsorption moins accessibles. Un pseudo-équilibre est finalement atteint après seulement quelques heures d'agitation.

Les isothermes d'adsorption du naphthalène et du phénanthrène montrent que l'adsorption des deux molécules est un phénomène linéaire dans les gammes de concentrations initiales testées. Si la teneur en carbone organique contenu dans les sols joue un rôle prépondérant, la

fraction minérale contribue également mais dans une moindre mesure dans la rétention du naphthalène et du phénanthrène. Le constat est particulièrement mis en évidence par les essais effectués sur la craie vierge CV et l'argile limoneuse ARGL. Les essais d'adsorption effectués sur les sols pollués soulignent également l'influence de la présence de goudron (Matière Organique Xénobiotique M.O.X.) sur la rétention du naphthalène et du phénanthrène.

IV.1.2- Influence du vieillissement préalable des sols sur les équilibres apparents d'adsorption du naphthalène

Dans les conditions naturelles de vieillissement, la fraction organique des sols est susceptible d'évoluer au cours du temps (humification). Par ailleurs, la microstructure des sols (méso et microporosité) évolue également avec le temps. Ces deux mécanismes peuvent conduire à une modification de l'accessibilité des sites d'adsorption intra-agrégats. L'objectif des essais est d'évaluer l'effet du vieillissement des sols en condition de laboratoire sur leur capacité d'adsorption des HAPs.

Les expériences consistent à vieillir artificiellement les sols dans différentes conditions climatiques : conditions noyées ou non, avec ou sans cycles de gel/dégel. Après cette phase de vieillissement, on détermine les isothermes d'adsorption à l'équilibre apparent en 24 h de contact. Ces isothermes sont ensuite comparés avec ceux obtenus pour des matrices non vieilles (essais témoins). Les isothermes d'adsorption ont été obtenus avec des solutions aqueuses de naphthalène aux concentrations initiales C_i comprises entre 2 et 17 mg/L.

IV.1.2.1- Adsorption du naphthalène sur les matrices préalablement vieilles en conditions noyées et à 20°C

Les résultats sont donnés au tableau 12. L'adsorption du naphthalène apparaît comme étant non négligeable sur la craie vierge malgré l'absence de carbone organique dans cette matrice. Le coefficient d'adsorption K_d est de 0,163 cm³ par g de craie vierge non vieillie pour une surface porale de l'ordre de 3,5 m²/g. Les analyses chimiques et de diffraction aux rayons X montrent que ce matériau est essentiellement constitué de carbonate de calcium (CaCO₃ à 95%) et de silice sous la forme de quartz (SiO₂). La rétention du naphthalène ne peut donc a priori s'expliquer que par une adsorption sur les surfaces des particules de carbonate de calcium ou son piégeage physique au sein de microstructures. Les cinétiques d'adsorption présentées dans le chapitre précédent ont permis de mettre en évidence que le naphthalène s'adsorbe d'une part à la surface externe des particules directement accessibles et, d'autre part, à la surface interne des mésopores et des micropores (respectivement, surfaces cumulées de 0,51 et 2,72 m²/g ; voir tableau 13).

Tableau 12 : Valeurs des constantes d'adsorption apparente du naphthalène sur différents sorbants ayant préalablement subi ou non un vieillissement en conditions noyées à température constante de 20°C (en présence de HgCl₂ à 400 mg/L).

Matrice :	<i>Craie vierge CV</i>			<i>Argile limoneuse ARGL</i>				<i>CSAC</i>			<i>CSAP</i>			<i>Sol pollué SPI</i>				
f_{oc} (%)	0			0,04				1,49			3,14			9,04				
Durée du vieillissement	0	1 mois	3 mois	0	1 mois	3 mois	6 mois	0	1 mois	3 mois	6 mois	0	1 mois	3 mois	6 mois	0	1 mois	3 mois
K_d^{app} (cm ³ /g)	0,163	0,302	0,459	0,292	0,455	0,885	0,978	3,080	4,140	3,971	5,430	8,250	9,567	9,583	10,07	85,83	100,5	113,5
Log K_{oc}^{app}	-	-	-	2,863	3,056	3,345	3,388	2,315	2,617	2,426	2,562	2,419	2,484	2,485	2,506	2,977	3,046	3,099
Coefficient de corrélation r ²	0,978	0,996	0,961	0,958	0,947	0,997	0,991	0,985	0,990	0,968	0,958	0,992	0,988	0,984	0,988	0,876	0,989	0,947

Tableau 13 : Analyse des surfaces et des volumes de la porosité des matrices sélectionnées (méthode B.E.T, méthode T ou -Plot, méthode B.J.H. Adsorption).

		<i>Craie vierge</i>	<i>Argile limoneuse</i>	<i>CSAC</i>	<i>CSAP</i>
Surface (m ² /g)	Total ¹	3,5	138	10,8	9,8
	Externe ²	3,0	107,3	1,5	5,4
	μ-poreuse ³	0,5	30,7	9,3	4,4
	Meso-poreuse ⁴	2,7	83,4	2,8	5,4
Volume poreux (cm ³ /g)	Total ¹	0,0082	0,1429	0,0161	0,0202
	μ-poreux ³	0,0002	0,0135	0,0039	0,0019
	Meso-poreux ⁴	0,0013	0,1155	0,0126	0,0158
Taille des pores (Å)	Diamètre moyen ⁴ (mésopores)	de 17 à 3000 194,28	de 20 à 300 55,4	de 40 à 500 179	de 40 à 500 117
	Diamètre moyen ⁵ (micropores)	10,69	6	6	6,4

1 Méthode BET (surface totale),

2 Externe = Totale - μ-poreuse,

3 Méthode T ou T-plot : microporosité,

4 Méthode BJH (Adsorption) : mésoporosité,

5 Méthode Horvath-Kawazoe : microporosité.

L'adsorption du naphthalène sur l'argile limoneuse non vieillie n'est pas négligeable non plus ($K_d = 0,292$ cm³ par gramme d'argile). L'affinité du naphthalène vis à vis de cette matrice s'explique d'une part en raison de la présence d'une fraction organique (f_{oc} de l'ordre de

0,04%) et, d'autre part, par la structure en feuillet de l'argile. La surface totale développée est de 138 m² par gramme d'argile limoneuse, soit nettement plus importante que celle de la craie vierge. Par conséquent, l'adsorption du naphthalène peut être considérée comme étant relativement plus faible sur l'argile que sur la craie si on tient compte des surfaces spécifiques de ces deux matrices. Deux hypothèses sont à avancer : soit l'affinité de surface du naphthalène est plus importante pour la craie que pour la fraction organique de l'argile (ce qui chimiquement est à écarter), soit le naphthalène n'a pas accès à la totalité des sites d'adsorption de l'argile. Le diamètre moyen des micropores de 6 Å pour l'argile et de 10 Å pour la craie vierge. Ce résultat tend à confirmer la seconde hypothèse proposée.

La rétention du naphthalène sur les deux sols de la Côte Saint-André est plus importante que celle déterminée sur la craie vierge et l'argile limoneuse, ces deux sols étant plus riches en carbone organique. Le pourcentage de naphthalène adsorbé est de l'ordre de 55% et 75% pour les sols CSAC et CSAP, soit respectivement des coefficients d'adsorption K_d de 3,08 et 8,25 cm³ par g de sol sec. Le partage du soluté entre la phase aqueuse et le carbone organique présent dans les matrices exprimé par le $\text{Log}K_{oc}^{app}$ est respectivement de 2,31 et 2,43 pour les sols CSAC et CSAP soit une affinité similaire pour la matière organique de ces deux sols. Les résultats d'analyse RMN-¹³C ont montré que la matière organique du sol sous culture CSAC se caractérise par un degré d'aromaticité plus élevé que le sol sous prairie CSAP en raison probablement d'une humification plus importante.

Les essais d'extraction en phase aqueuse (résultats non présentés dans ce rapport) effectués sur le sol pollué SP1 ont révélé une libération négligeable du naphthalène du fait de la faible teneur initiale en naphthalène du sol SP1 (6 mg/kg). Les essais témoins d'adsorption sans vieillissement montrent que le naphthalène est fortement retenu par ce sol dont la teneur en carbone organique f_{oc} est de 9,4%. Environ 80% du naphthalène initialement présent en solution est retenu sur ce sol après 24 heures de contact. La valeur du $\text{Log}K_{oc}^{app}$ est de 2,98 soit une affinité du naphthalène vis à vis du carbone organique du sol SP1 nettement supérieure à celle observée pour les deux sols de la Côte Saint-André. La présence d'une phase goudronneuse riche en HAPs explique la forte rétention du naphthalène observée sur ce sol.

Globalement, les résultats montrent que la rétention du naphthalène sur les cinq matrices testées est plus importante après vieillissement. La figure 7 représente l'évolution du coefficient d'adsorption apparent du naphthalène sur les cinq matrices en fonction de la durée de vieillissement. Dans le cas des matrices craie vierge et sol pollué SP1, le vieillissement sur une période de 6 mois n'a pas été testé.

L'augmentation du coefficient d'adsorption K_d en fonction de la durée de vieillissement préalable est observée pour toutes les matrices testées, notamment la craie vierge et l'argile limoneuse. Dans le cas de la craie constituée principalement de carbonate de calcium (matrice purement minérale), le K_d varie de 0,163 sans vieillissement à 0,46 cm³/g après trois mois de vieillissement. Cette augmentation de l'adsorption peut s'expliquer par l'hypothèse d'une évolution de l'agrégation des micro-particules de CaCO₃ en suspension dans l'eau au cours

du vieillissement qui conduirait à augmenter le nombre de sites d'adsorption directement accessibles au naphthalène.

Dans le cas de l'argile limoneuse, le vieillissement préalable entraîne également une augmentation progressive importante du coefficient d'adsorption K_d . En effet, la valeur de K_d est multipliée par 3 entre l'argile non vieillie et l'argile vieillie 6 mois. Ce résultat s'explique vraisemblablement par un changement structural de la matrice tel que l'écartement (ou gonflement) des feuillets argileux au cours du vieillissement en conditions noyées permettant d'augmenter le nombre de sites d'adsorption rapidement accessibles au naphthalène.

Dans le cas des sols vierges CSAC et CSAP, le coefficient d'adsorption augmente également en fonction de la durée de vieillissement préalable mais de manière plus limitée. L'augmentation de la sorption du naphthalène sur CSAC et CSAP peut s'expliquer d'une part par une évolution structurale des matrices et, d'autre part, par l'évolution de la matière organique. L'évolution de la structure chimique de la matière organique, difficilement vérifiable expérimentalement, reste probablement faible étant donné la durée maximale de vieillissement testée (6 mois) et les conditions abiotiques. L'hypothèse d'un changement structural des matrices en conditions noyées est plus plausible. Dans les sols, les argiles et les substances organiques humiques sont intimement liées sous la forme de complexes argilo-humiques qui contribuent à la formation de micro-agrégats microporeux. Ces micro-agrégats constituent un ciment en présence d'ions flocculants tels que Ca^{++} ou Al^{3+} . Ce ciment pourrait être en partie dispersé en conditions noyées suite à la libération des cations compensateurs et à la solubilisation de composés organiques tels que les acides humiques et fulviques dans la phase aqueuse. Les dosages du carbone organique total (C.O.T.) dans les surnageants après 24 h ou 1 mois de vieillissement en conditions noyées (reportés dans le tableau 14) mettent en évidence l'augmentation non négligeable de la concentration en matière organique dissoute dans la phase aqueuse, en particulier pour le sol CSAP.

Tableau 14 : Concentrations en Carbone Organique Total (COT) mesurées dans les surnageants après vieillissement en conditions noyées à température constante de 20°C.

Matrice :	<i>Argile ARG</i>				<i>CSAC</i>				<i>CSAP</i>			
f_{oc} (%)	0,7				1,49				3,14			
Durée du vieillissement	24h	1 mois	3 mois	3 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois
[COT] (mg.L ⁻¹)	8,8	10,2	12	ND	10,8	22,0	53	55	31,8	87,5	91,5	117,3

ND : Non Déterminé.

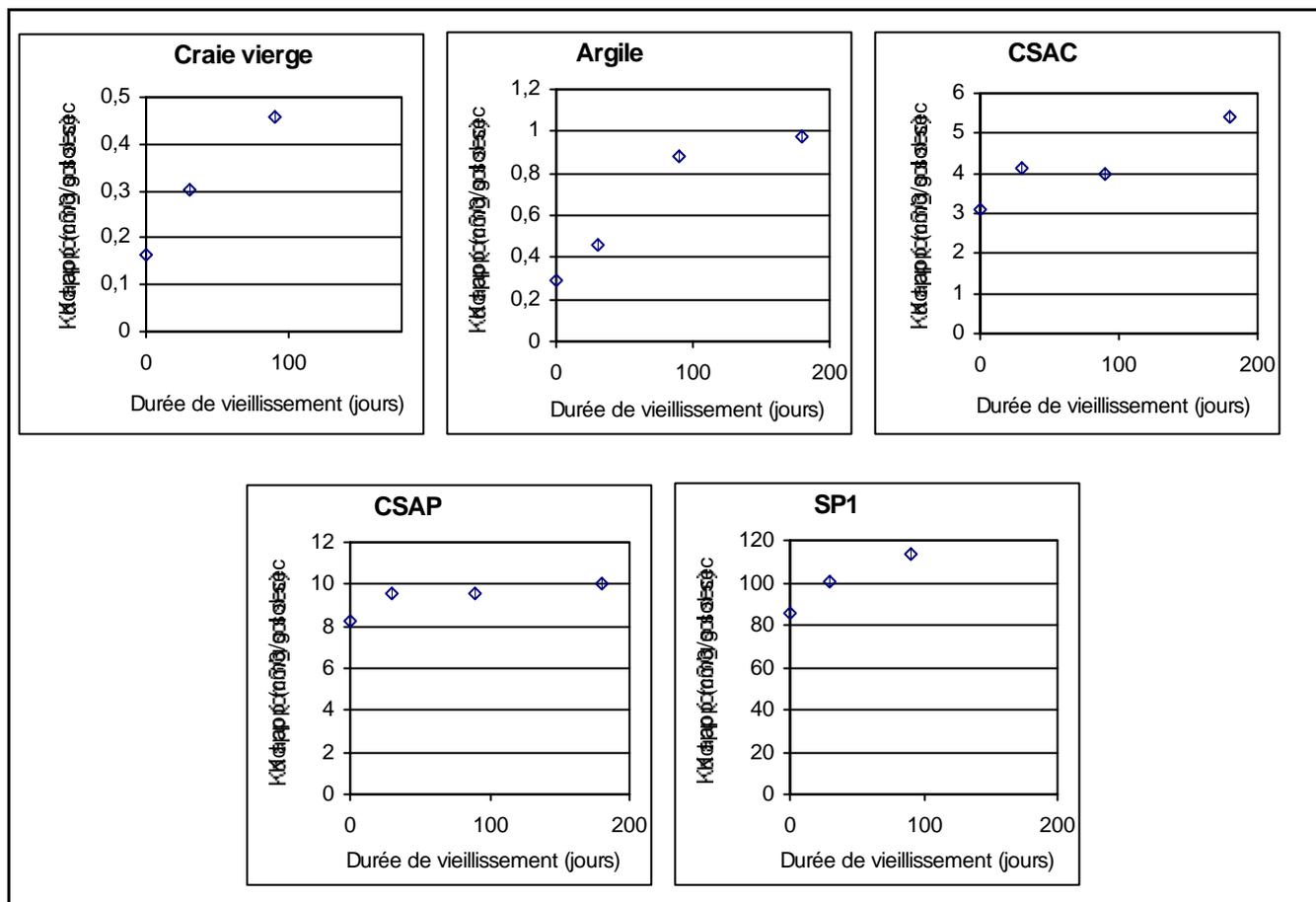


Figure 7 : Evolution du coefficient d'adsorption K_d apparent (24h de contact naphthalène/sorbant) en fonction de la durée de vieillissement préalable des matrices effectuée en conditions noyées à 20°C.

Ces résultats tendent à confirmer la modification de la structure du sol et, en particulier, la solubilisation partielle de la fraction organique qui aurait pour effet de modifier l'organisation des micro-agrégats argilo-humiques et faciliterait l'accessibilité de certains sites d'adsorption.

Les essais réalisés avec le sol SP1 issu d'un site d'ancienne usine à gaz montrent également que la sorption du naphthalène sur un sol pollué augmente avec la durée de vieillissement préalable en conditions noyées. La rétention du naphthalène est vraisemblablement due à un phénomène de partage entre deux phases non miscibles avec dissolution du naphthalène dans la phase goudronneuse. La phase goudronneuse riche en HAPs pourrait évoluer au contact de l'eau au cours du vieillissement à la suite de la solubilisation des polluants organiques les plus solubles contenus dans le goudron. Les analyses effectuées sur la phase aqueuse après la phase de vieillissement n'ont pas permis de détecter la présence de naphthalène, ce sol pollué étant relativement pauvre en naphthalène. Cependant, le chromatogramme obtenu à partir des extraits aqueux de sol laisse supposer que des composés organiques plus légers sont extraits au cours du vieillissement en conditions noyées. Cela aurait pour effet d'augmenter la solubilisation du naphthalène dans la phase goudronneuse du sol SP1.

IV.1.2.2- Adsorption du naphthalène sur les matrices préalablement vieilles en conditions non noyées et à température constante de 20°C

Les résultats sont globalement similaires à ceux obtenus après vieillissement des matrices vieilles en conditions noyées. Les résultats ne sont donc pas détaillés ici (se reporter au rapport 3 de mai 2001). Le vieillissement en conditions non noyées a également pour effet d'augmenter la fraction de naphthalène retenue sur les matrices. On note cependant une augmentation plus forte de l'adsorption du naphthalène sur la craie vierge et l'argile limoneuse lorsque ces matrices sont préalablement vieilles en conditions non noyées. Cette augmentation est particulièrement notable sur les échantillons vieillis pendant trois mois en conditions non noyées. Dans l'état actuel de nos travaux, il est difficile d'expliquer l'influence des conditions de vieillissement sur les capacités de rétention des matrices.

Les cycles de gel/dégel n'ont pas pour effet d'augmenter les capacités adsorbantes de l'argile limoneuse et des sols vierges CSAC et CSAP comme nous le supposions au départ. Les résultats montrent que l'effet du gel/dégel au cours du vieillissement préalable (avant contact avec les polluants) est négligeable sur une période de trois mois.

IV.1.2.3- Conclusions sur l'influence du vieillissement préalable des sols

L'objectif de ces travaux était de caractériser l'effet du temps et de certains facteurs non biologiques d'ordre climatique (température, teneur en eau) sur les capacités adsorbantes de cinq sols ou fractions de sols vis à vis d'un polluant organique hydrophobe modèle, le naphthalène. Les résultats obtenus montrent globalement que l'adsorption du naphthalène augmente lorsque la craie vierge, l'argile limoneuse et, dans une moindre mesure, les sols vierges CSAC et CSAP subissent préalablement un vieillissement en conditions abiotiques, noyées ou non, avec ou sans cycles de gel/dégel. Ces résultats montrent que les propriétés adsorbantes de ces matrices évoluent dans les trois conditions de vieillissement choisies et conduisent à un accroissement de leur capacité d'adsorption du naphthalène. Les résultats révèlent que l'effet du vieillissement est beaucoup plus fortement observé pour des matrices essentiellement minérales telles que la craie vierge ou l'argile limoneuse. Ce phénomène est dû à une évolution de la microstructure des matrices solides durant le vieillissement. La succession de cycles de gel/dégel lors du vieillissement n'a cependant pas d'effet très significatif.

IV.1.3- Influence du vieillissement des sols réalisé après dopage en polluants

Dans cette étude, le vieillissement est conduit après la phase de pollution artificielle, contrairement aux travaux précédents où le vieillissement était préalable à l'apport des polluants. Les expériences ont été réalisées en batch (milieu dispersé) et en colonnes. Nous ne présentons ici que les essais en batch. Les essais en colonnes conduisent aux mêmes conclusions (voir rapport 3 de mai 2001).

Les concentrations initiales utilisées pour les phases d'adsorption sont comprises entre 14,0 et 15,0 mg.L⁻¹ pour le naphthalène et 0,4 et 0,5 mg.L⁻¹ pour le phénanthrène, en présence de chlorure mercurique à 400 mg.L⁻¹. Les sols n'ont pas subi de traitement par autoclavage afin de ne pas modifier leurs caractéristiques physico-chimiques. Mais, pour garantir des conditions abiotiques sur toute la durée des essais, ils ont été traités par rayonnement gamma.

Le vieillissement a été conduit en conditions noyées à 20°C, ou en conditions non noyées à 20°C ou avec des cycles de gel / dégel.

IV.1.3.1- Effet du vieillissement en conditions noyées à température constante

Note : Les essais réalisés sur le sable de Fontainebleau ont mis en évidence d'une part que cette matrice était très peu interactive avec le naphthalène et le phénanthrène et, d'autre part, que les pertes par volatilisation au cours des essais à long terme étaient non négligeables. Les résultats s'avérant non exploitables ne sont pas présentés ici.

Les cinétiques de sorption du naphthalène et du phénanthrène sont illustrées par la figure 8. La rétention est exprimée en % de polluant organique retenu après différentes durées de contact sol-polluant.

L'ensemble des résultats des essais d'adsorption et d'extraction successives à l'eau, au méthanol, au butanol-1 + sonication, puis par Soxhlet au dichlorométhane sur les échantillons de sols CSAC et CSAP vieillissés un an, sont présentés dans les tableaux 15 et 16 pour le naphthalène et le phénanthrène, respectivement.

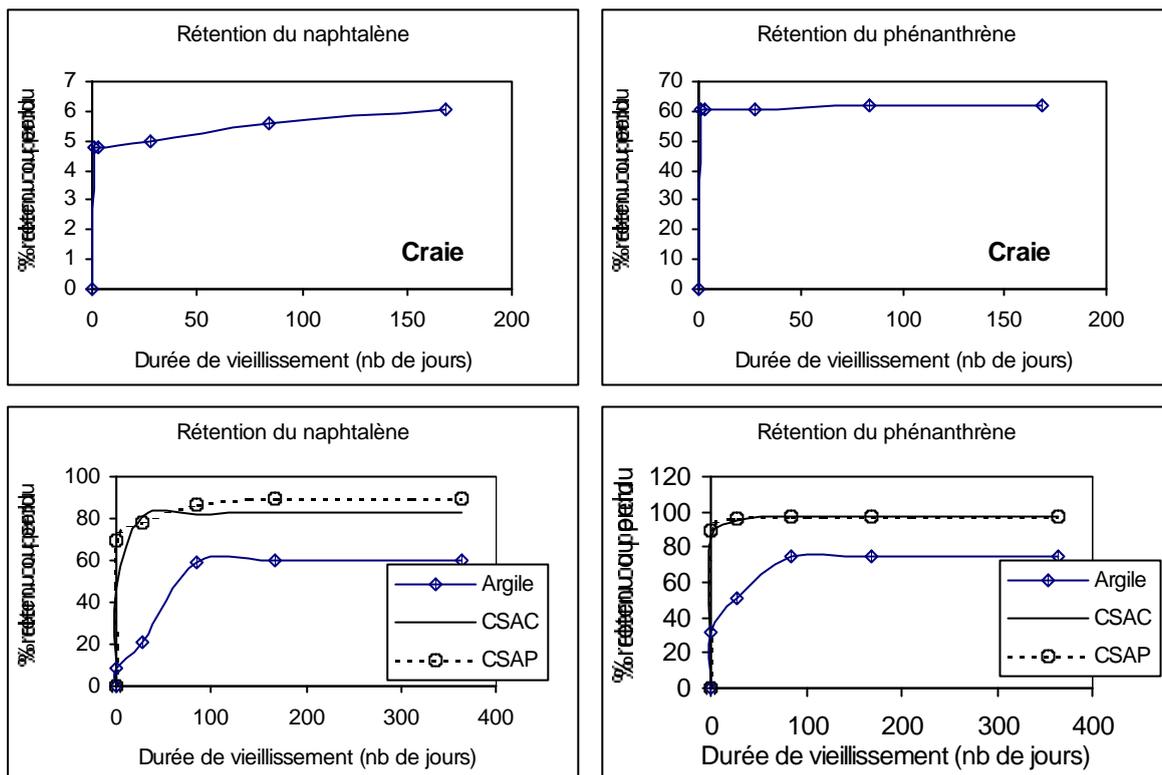


Figure 8 : Cinétiques de sorption du naphthalène et du phénanthrène au cours du vieillissement en conditions saturées en eau à 20°C

Sorption sur la craie vierge

La rétention du naphthalène et du phénanthrène après 24 heures de contact sur la craie est respectivement de 4,8 et 60,3% (Tableaux 15 et 16). Cette rétention rapide sur cette matrice purement minérale ne peut s'expliquer que par des phénomènes d'adsorption de surface des particules solides de carbonate de calcium. Cependant, l'adsorption est beaucoup plus faible que celle observée pour les matrices contenant de la matière organique. Cette rétention augmente en fonction du temps de vieillissement (Figure 8). L'augmentation est plus importante dans le cas du naphthalène. Tout comme pour les autres matrices testées, on peut conclure que les mécanismes impliqués dans la rétention des HAP dans les matrices minérales sont cinétiquement limités. La figure 9 illustre l'évolution de la teneur en naphthalène ou phénanthrène encore retenus par la craie vierge après quatre désorptions successives à l'eau. L'évolution des interactions craie-polluant se traduit non seulement par une augmentation de la rétention mais aussi par une diminution de l'extractibilité des polluants organiques à l'eau. Cette diminution est particulièrement visible dans le cas du naphthalène dont la taille de la molécule est plus petite que le phénanthrène. On note également que la rétention du naphthalène et du phénanthrène n'est pas totalement réversible dans l'eau, y compris dans le cas témoin de contact 24 h. En effet, les quatre désorptions

successives dans l'eau ne permettent pas d'extraire la totalité du naphthalène et du phénanthrène initialement adsorbés (tableaux 15 et 16).

Tableau 15 : Influence du temps de contact en conditions noyées à 20°C sur la rétention du naphthalène sur la craie vierge, l'argile Limoneuse et les sols CSAC et CSAP.

Matrice	Craie Vierge (CV)					Argile limoneuse (ARGL)					CSAC					CSAP				
Durée de vieillissement	24h	3 jours	1 mois	3 mois	6 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois
	C _i = 23,98 mg/L					C _i = 14,70 mg/L					C _i = 14,70 mg/L					C _i = 14,70 mg/L				
Adsorption																				
C _c (mg/L)	22,80	22,80	22,75	22,61	22,50	13,38	11,69	6,03	5,88	5,88	7,79	2,79	2,65	2,50	2,50	4,41	3,23	1,91	1,47	1,47
Q _{ads} (mg.kg ⁻¹)	3,46	3,48	3,60	4,04	4,37	3,97	9,04	26,02	26,46	26,46	23,82	41,05	41,56	42,07	42,07	38,11	42,47	47,37	49,00	49,00
% adsorbé	4,79	4,81	4,98	5,58	6,05	9,0	20,5	59,0	60,0	60,0	47,0	81,0	82,0	83,0	83,0	70,0	78,0	87,0	90,0	90,0
K _d (cm ³ .g ⁻¹)	0,152	0,152	0,158	0,178	0,194	0,297	0,773	4,315	4,5	4,5	3,06	14,71	15,68	16,83	16,83	8,64	13,15	24,80	33,33	33,33
4 désorptions successives (24h, 100% H ₂ O)																				
Q _{ads} (mg.kg ⁻¹)	2,14	2,17	2,22	2,61	2,86	0	0,41	7,42	8,57	9,31	1,19	13,96	21,61	22,70	23,14	8,00	15,08	11,46	22,54	22,24
% désorbé cumulé	38,12	38,12	38,48	36,71	34,62	100	95,5	71,5	67,6	63,5	95,0	66,0	48,0	46,0	45,0	79,0	64,5	75,8	54,0	54,6
Extraction 24h méthanol 100%																				
Q _{ads} (mg.kg ⁻¹)	1,38	1,46	1,57	1,82	1,99	0	0,34	7,02	8,39	9,31	0	4,93	16,12	17,67	17,04	0	0	2,84	5,88	5,39
% désorbé cumulé	60,10	59,24	58,19	56,43	54,51	100	96,2	73,0	68,3	64,8	100	88,0	61,2	58,0	59,5	100	100	94,0	88,0	89,0
Extraction 24h butanol 100% + sonication																				
Q _{ads} (mg.kg ⁻¹)	0,01	-0,20	0,30	0,30	0,02	0	0	6,63	8,10	8,94	0	0	7,39	10,73	10,56	0	0	0	0,49	1,47
% désorbé cumulé	99,04	112,0	95,33	94,23	99,55	100	100	74,5	69,4	66,4	100	100	82,0	74,5	74,9	100	100	100	99,0	97,0
Extraction Soxhlet																				
% désorbé cumulé	-	-	-	-	-	-	-	-	-	94,6	-	-	-	-	97,2	-	-	-	-	101

Tableau 16 : Influence du temps de contact en conditions noyées à 20°C sur la rétention du phénanthrène sur la craie vierge, l'argile Limoneuse et les sols CSAC et CSAP.

Matrice	Craie Vierge (CV)					Argile limoneuse (ARGL)					CSAC					CSAP				
	24h	3 jours	1 mois	3 mois	6 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois
Durée de vieillissement	C _i = 0,72 mg/L					C _i = 0,44 mg/L					C _i = 0,44 mg/L					C _i = 0,44 mg/L				
Adsorption																				
C _c (mg/L)	0,280	0,285	0,28	0,27	0,27	0,299	0,216	0,112	0,110	0,110	0,066	0,022	0,013	0,013	0,013	0,044	0,018	0,013	0,011	0,011
Q _{ads} (mg.kg ⁻¹)	1,30	1,30	1,31	1,33	1,33	0,13	0,67	0,983	0,99	0,99	1,289	1,440	1,472	1,472	1,472	1,467	1,564	1,581	1,589	1,589
% adsorbé	60,27	60,27	60,89	61,64	61,78	32	51	74,5	75	75	85	95	97	97	97	90	96	97	97,5	97,5
K _d (cm ³ .g ⁻¹)	4,595	4,551	4,689	4,850	4,879	0,443	3,11	8,78	9,00	9,00	19,5	65,5	113,2	113,2	113,2	33,34	88,86	121,6	144,5	144,5
4 désorptions successives (24h, 100% H ₂ O)																				
Q _{ads} (mg.kg ⁻¹)	0,40	0,40	0,42	0,43	0,47	0	0,10	0,388	0,470	0,421	0,864	1,138	1,222	1,222	1,239	0,968	1,204	1,290	1,335	1,328
% désorbé cumulé	69,21	68,60	68,13	67,40	64,66	100	85	60,5	52,5	57,5	33,0	21,0	17,0	17,0	15,8	34,0	23,0	18,4	16,0	16,4
Extraction 24h méthanol 100%																				
Q _{ads} (mg.kg ⁻¹)	0,05	0,05	0,07	0,08	0,12	0	0	0,284	0,396	0,337	0	0,245	0,876	0,996	0,957	0	0,093	0,891	1,004	1,009
% désorbé cumulé	96,16	95,75	94,49	93,40	90,96	100	100	71,1	60,0	65,9	100	83,0	40,5	32,3	35,5	100	94,0	43,0	36,8	36,5
Extraction 24h butanol 100% + sonication																				
Q _{ads} (mg.kg ⁻¹)	0,01	0,01	0,01	0,02	0,01	0	0	0,216	0,356	0,307	0	0,096	0,699	0,795	0,883	0	0	0,514	0,610	0,605
% désorbé cumulé	98,20	101,1	99,81	101,3	99,18	100	100	78,0	64,0	69,0	100	93,3	52,5	46,0	40	100	100	67,5	61,6	61,9
Extraction Soxhlet																				
% désorbé cumulé	-	-	-	-	-	-	-	-	-	100	-	-	-	-	100	-	-	-	-	100

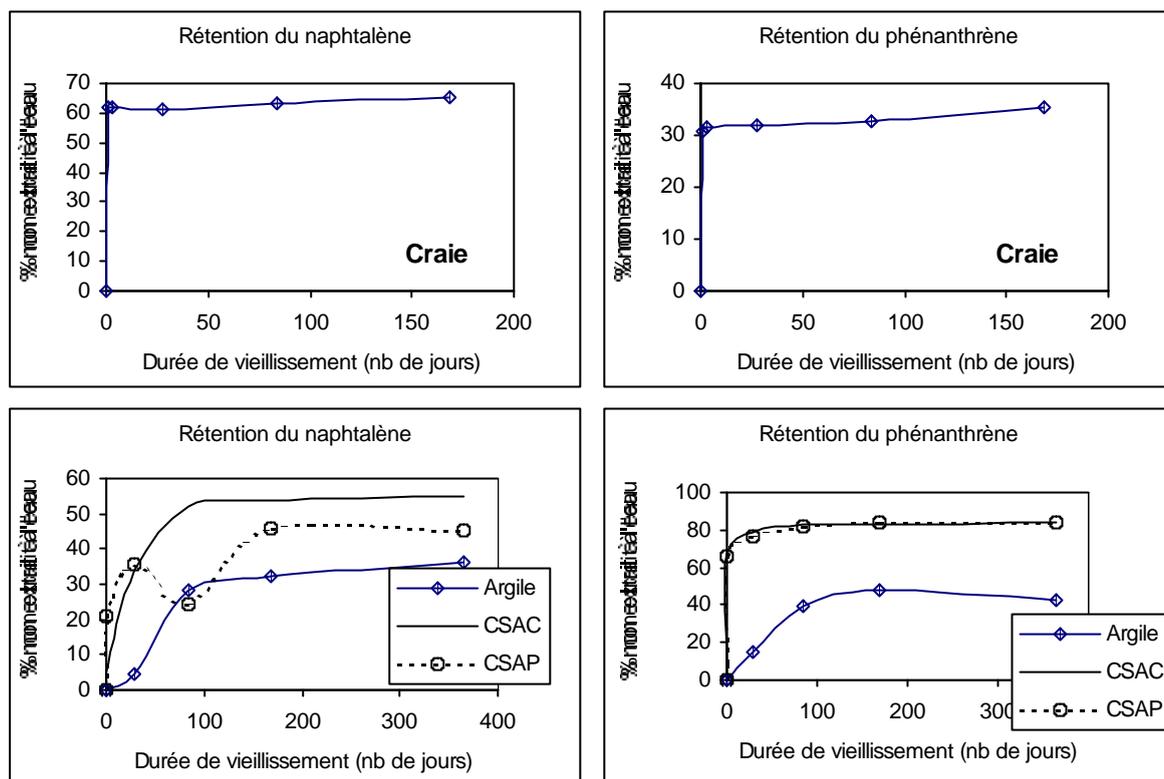


Figure 9 : Effet du vieillissement en conditions noyées à 20°C sur l'extractibilité à l'eau du naphthalène et du phénanthrène adsorbés sur la craie vierge, l'argile limoneuse et les sols CSAC et CSAP (4 extractions successives de 24h à 20°C, avec $L/S = 3$).

La baisse d'extractibilité à l'eau (Fig. 9) s'accompagne d'une baisse d'extractibilité au méthanol du naphthalène et du phénanthrène avec la durée de vieillissement comme l'illustre la figure 10. On remarque également que le méthanol ne permet pas non plus d'extraire la totalité du naphthalène adsorbé après seulement 24 heures de contact. En effet, le tableau 15 montre qu'environ 40% du naphthalène est encore retenu après l'extraction au méthanol contre seulement 4% dans le cas du phénanthrène (tableau 16). L'extraction au butanol-1 avec 10 minutes de sonication est pratiquement quantitative pour l'ensemble des essais. La sonication semble donc avoir un effet très favorable sur l'extraction du naphthalène. L'ensemble de ces résultats suggère que le naphthalène et le phénanthrène n'accèdent pas aux mêmes sites d'adsorption.

La caractérisation de l'encombrement stérique et des dimensions des molécules sélectionnées a été effectuée à l'aide du logiciel ISIS-Draw version 2.6 et du logiciel de visualisation en trois dimensions Rasmol version 2.5 (tableau 17). La molécule de naphthalène plus petite et moins hydrophobe que celle de phénanthrène pourrait atteindre la microporosité interne de la craie et accéder ainsi à des surfaces d'adsorption non accessibles au phénanthrène. Les molécules de phénanthrène nettement plus hydrophobes seraient

rapidement adsorbées à la surface des mésopores sans pouvoir atteindre les surfaces d'adsorption de la microporosité.

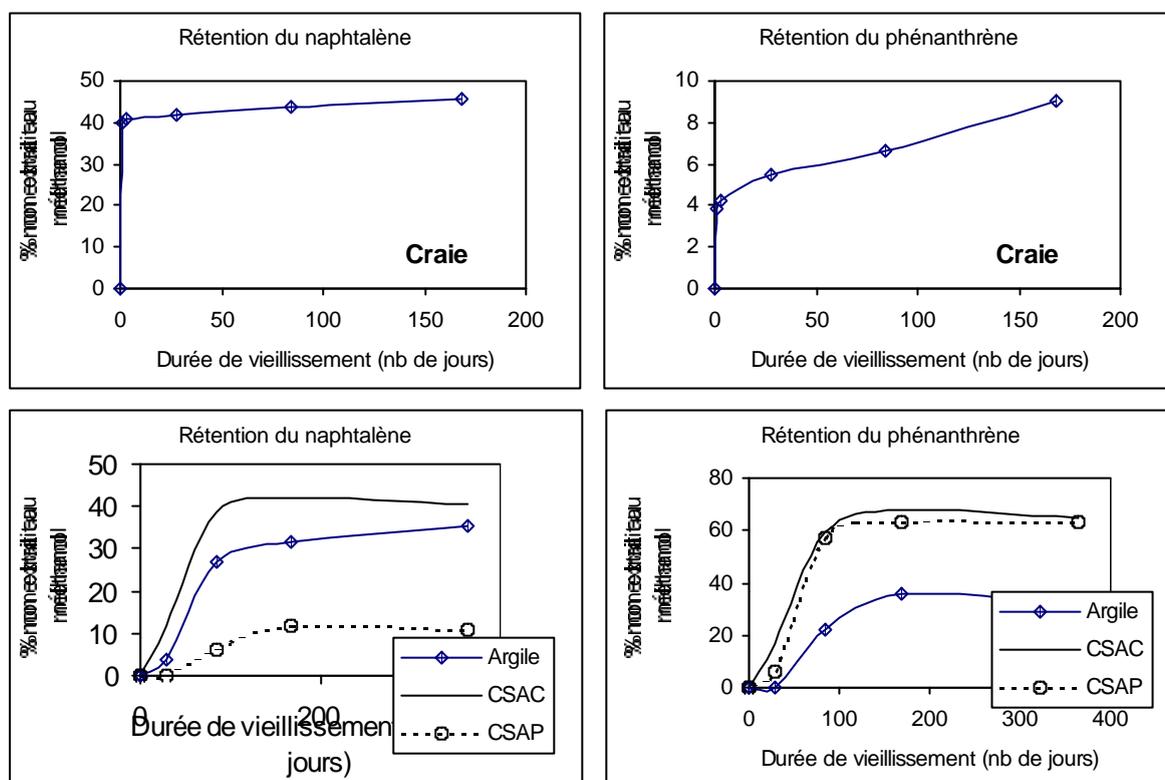
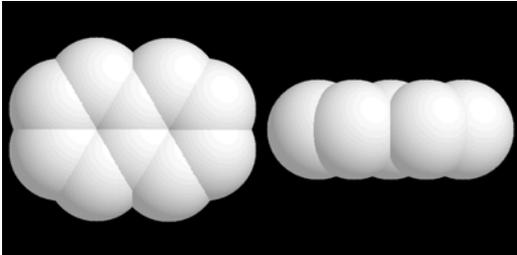
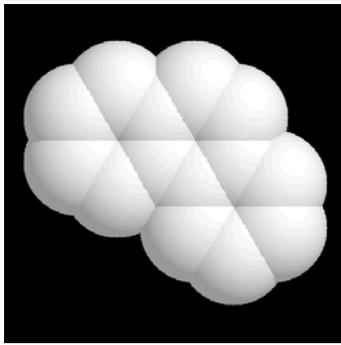


Figure 10 : Effet du vieillissement en conditions noyées à 20°C sur l'extractibilité au méthanol du naphthalène et du phénanthrène adsorbés sur la craie vierge, l'argile limoneuse et les sols CSAC et CSAP (extraction au méthanol de 24h à 20°C après 4 désorptions successives dans l'eau).

Les résultats des 4 extractions à l'eau suivies de l'extraction au méthanol sous agitation orbitale montrent que le naphthalène n'est pas totalement accessible sans sonication. L'accessibilité de cette molécule semble dépendre de la dispersion et/ou de la désagrégation des microparticules de craie dans la phase liquide. Nous avons vérifié cette hypothèse en évaluant qualitativement l'effet des ultrasons sur la taille des particules par granulométrie laser (Granulomètre Laser Coulter LS 130, au Laboratoire de Génie Electrique et Ferroélectricité du département de Génie Electrique de l'INSA de Lyon). Différentes conditions de mesure de la granulométrie ont été testées : avec ou sans ultrasons et/ou utilisation d'un agent dispersant. Les résultats sont présentés dans le tableau 18 et la figure 11.

Les essais n°1 et n°2 de la Fig. 11 sont deux répétitions d'analyse de granulométrie laser sans dispersion des particules aux ultrasons. Les essais n°3 et n°4 ont été réalisés respectivement avec 2 et 4 minutes de dispersion aux ultrasons. Les valeurs moyennes et médianes de la taille des particules sont données dans le tableau 18.

Tableau 17 : Dimensions et encombrement stériques des squelettes hydrocarbonés du naphthalène et du phénanthrène

Structure spatiale	Dimensions
	<p>Naphthalène Epaisseur : 3 Å Longueur : 8 Å Largeur : 6 Å Volume : 144 Å³</p>
	<p>Phénanthrène Epaisseur : 3 Å Longueur : 12 Å Largeur : 8 Å Volume : 288 Å³</p>

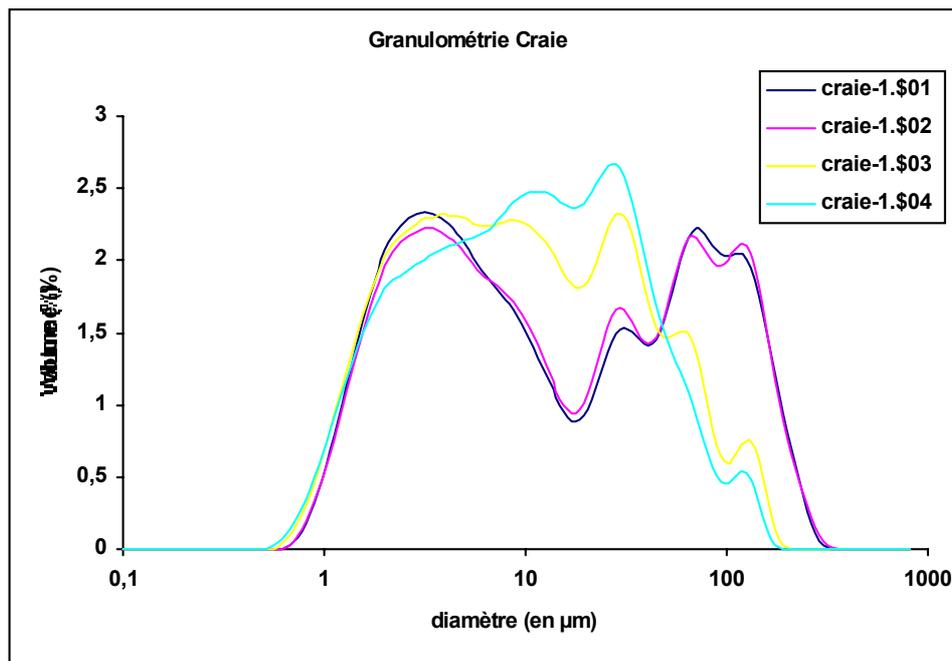


Figure 11 : Distribution granulométrique de la craie (μm) en suspension dans l'eau (granulométrie laser). Mise en évidence de l'influence des conditions de dispersion.

Tableau 18 : Diamètre des particules de craie vierge calculé à partir des différents essais de mesure de granulométrie laser.

Diamètre des particules	Essai 1 (pas d'ultrasons)	Essai 2 (pas d'ultrasons)	Essai 3 (ultrasons 2min)	Essai 4 (ultrasons 4 min)
Moyenne	14,83	15,30	10,25	10,29
Médiane	12,15	13,21	9,61	10,74
Ecart type	4,843	4,789	3,661	3,411

Les résultats présentés dans la figure 11 et le tableau 18 montrent que les particules de craie en suspension dans l'eau sont instables, indiquant qu'elles sont probablement constituées de particules plus fines agrégées entre-elles. En effet, le traitement par sonication réduit la taille moyenne des particules. Les ultrasons ont pour effet de réduire le volume occupé par ces agrégats au bénéfice des particules plus fines (Fig. 11). Cette agrégation de particules pourrait expliquer en partie les résultats obtenus sur la rétention du naphthalène et du phénanthrène par la craie vierge. Le naphthalène, molécule de plus petite taille pourrait plus facilement accéder à la microporosité que le phénanthrène de taille plus importante et d'une plus grande hydrophobicité.

Sorption par l'argile limoneuse

Nous observons (figure 8, tableaux 15 et 16) que la rétention du naphthalène et du phénanthrène après 24 heures de contact avec l'argile limoneuse n'est pas négligeable (respectivement de 8 et 33%). Cette rétention rapide peut s'expliquer d'une part en raison de la présence d'une fraction organique et d'autre part par la microporosité importante et la structure micro-phylliteuse (empilements de feuillets) de ce matériau. Ces caractéristiques confèrent aux argiles une grande surface spécifique et une capacité à retenir l'eau par ouverture des feuillets qui se traduit par un gonflement des argiles au contact de l'eau. Les molécules organiques de taille réduite peuvent diffuser entre les feuillets d'argile et s'adsorber sur la fraction organique contenue dans la matrice.

La rétention du naphthalène et du phénanthrène augmente considérablement jusqu'au troisième mois de contact pour se stabiliser entre trois et six mois. Ainsi, les mécanismes impliqués dans la rétention de ces molécules hydrophobes sont cinétiquement limités. Les résultats d'extraction à l'eau et aux solvants organiques mettent en évidence que l'augmentation de la rétention du naphthalène et du phénanthrène au cours du temps s'accompagne d'une diminution de l'accessibilité des polluants à l'eau et aux solvants organiques. En effet, après 24 h de contact, le naphthalène et le phénanthrène sont entièrement extraits par 4 extractions successives à l'eau (voir figure 9) indiquant ainsi une bonne réversibilité de la rétention alors que, à partir de 6 mois de contact, environ le tiers du naphthalène et du phénanthrène est encore retenu dans l'argile à la suite des deux extractions au solvant organique. Au-delà de ce temps de contact, la fraction de polluants fortement retenue évolue peu. L'extraction par Soxhlet au dichlorométhane après un an de contact a permis de vérifier qu'il n'y a pas eu volatilisation ou biodégradation du naphthalène et du phénanthrène au cours des essais.

La rétention à long terme du naphthalène et du phénanthrène peut en partie s'expliquer par un mécanisme de transfert par diffusion en considérant que les sites d'adsorption de la matière organique sont plus ou moins accessibles aux polluants organiques hydrophobes. L'accessibilité des sites d'adsorption dépendrait donc de la répartition de la matière organique entre les surfaces externes des micro-agrégats directement accessibles et les surfaces internes des micro-agrégats accessibles seulement après diffusion lente au sein de la micro(nano)porosité. La diffusion des molécules hydrophobes dans les micropores les rend moins accessibles à l'eau, au méthanol et au butanol-1. Les molécules diffusent lentement à l'intérieur de la microstructure et s'adsorbent par interactions physiques de type hydrophobe au contact des parois des micropores (Pignatello et Xing, 1996). Les analyses de porosité présentée indiquent que la surface microporale (0,3 à 1,7 nm) représente 22% de la totalité de la surface porale dans l'argile limoneuse utilisée.

La structure en feuillets des argiles leur confère la propriété de s'écarter au contact des molécules d'eau favorisant ainsi la diffusion des polluants hydrophobes à l'intérieur des feuillets argileux. Des phénomènes de réarrangements des feuillets au cours du vieillissement ne sont pas à exclure, qui pourraient expliquer en partie la non-réversibilité de l'adsorption et la non accessibilité des molécules ainsi piégées. D'après Farrell et al. (1999), la séquestration des molécules organiques observée dans des matrices purement minérales s'expliquerait par des mécanismes d'obstruction des micropores soit par réarrangements des micro-particules, soit par accumulation des molécules dans les micropores.

Sorption par les sols CSAC et CSAP

Les résultats présentés dans la figure 8 et les tableaux 15 et 16 montrent également l'augmentation progressive de la rétention du naphthalène et du phénanthrène sur les sols CSAC et CSAP. Dans le cas du naphthalène, on observe en effet que le taux de rétention augmente de 59 à 83% pour CSAC et de 73 à 90% pour le sol CSAP au cours des 6 premiers mois de vieillissement, pour ne plus varier ensuite. On remarque également que les cinétiques de rétention sont à peu près identiques pour les deux sols bien que la rétention soit plus importante sur le sol CSAP qui a la f_{oc} la plus élevée. On note que, contrairement à l'argile, plus des deux tiers du naphthalène est adsorbé au cours du premier jour de contact sol-polluant. L'équilibre de sorption du naphthalène semble être atteint après trois mois de contact étant donné que le taux de rétention n'évolue pratiquement plus au-delà de cette durée. Dans le cas du phénanthrène, l'équilibre de sorption est atteint plus rapidement qu'avec le naphthalène. 85 à 90% du phénanthrène sont adsorbés dès le premier jour de contact. Après trois mois de contact, le taux de rétention du phénanthrène est de 97% pour les deux sols. Ce taux de rétention plus élevé que pour le naphthalène s'explique par le fait que le phénanthrène est plus hydrophobe que le naphthalène. Cette observation confirme le rôle de la fraction organique dans la rétention des polluants organiques hydrophobes. Tout comme pour les essais sur l'argile limoneuse, les cinétiques de rétention à long terme suggèrent un mécanisme de diffusion du naphthalène et du phénanthrène dans la microstructure des sols CSAC et CSAP pour atteindre les sites d'adsorption intra-agrégats.

Du point de vue de l'extractibilité à l'eau et aux solvants organiques, les résultats obtenus sont à peu près similaires pour les deux polluants sélectionnés. L'extractibilité diminue progressivement en fonction du temps de vieillissement jusqu'à 6 mois de vieillissement pour peu varier ensuite. La disponibilité à l'eau du naphthalène est meilleure dans le sol CSAP que dans le sol CSAC alors que le phénanthrène semble avoir à peu près le même comportement dans les deux sols. Les résultats des extractions aux solvants organiques présentés dans les tableaux 15 et 16 confirment le fait que les deux polluants sont, après vieillissement, plus fortement retenus sur la matière organique du sol CSAC que celle du CSAP, ce qui se traduit par une plus faible extraction par les solvants sélectionnés. Le naphthalène retenu sur le sol CSAP est ainsi quasiment entièrement extrait après les deux extractions successives au

méthanol et butanol-1 même après 1 an de vieillissement, alors que plus de 25% du naphthalène initialement adsorbé sont encore retenus sur le sol CSAC à cette étape. On note également que l'extraction du phénanthrène au butanol-1 sous sonication est au moins deux fois supérieure pour le sol CSAP que pour le sol CSAC. Enfin, les résultats d'extraction par Soxhlet au dichlorométhane après un an de contact indiquent d'une part qu'il n'y a pratiquement pas de pertes par biodégradation ou volatilisation et, d'autre part, qu'il s'agit d'une rétention des molécules dans les deux sols sans formation de résidus liés par liaisons covalentes puisqu'on récupère la totalité des polluants initialement apportés.

Les coefficients d'adsorption apparent K_d^{app} du naphthalène calculés à partir des isothermes d'adsorption après 24 h de contact sont de 4,23 et 8,69 pour les sols CSAC et CSAP respectivement, soit des valeurs de $\log K_{oc}^{app}$ à peu près identiques de l'ordre de 2,5. Par conséquent, les variations de disponibilité vis à vis des solvants aqueux ou organiques ne peuvent s'expliquer par des différences d'affinité des polluants organiques vis à vis de la matière organique des deux sols. La rétention du naphthalène et du phénanthrène plus intense après vieillissement dans le sol CSAC que dans le sol CSAP peut dépendre des caractéristiques physiques, chimiques et/ou structurales de la matière organique dans chaque sol. Les différences observées peuvent être liées à la microporosité plus importante de la matière organique du sol de culture (CSAC) que le sol de prairie (CSAP) dans lequel la matière organique est probablement moins humifiée. Le tableau 4 (page 17) montre en effet que le sol CSAC présente une microporosité plus importante que le sol CSAP, à la fois en surface et en volume poral. Pour le sol CSAC, 24% du volume poral et 86% de la surface porale sont à attribuer à des micropores (0,3 à 0,7 nm) contre respectivement 9 et 45% pour le sol CSAP.

Une autre hypothèse qui se conjugue probablement à celle liée à la microporosité réside dans l'évolution de la matière organique des sols au cours du vieillissement en conditions noyées. En effet, la matière humique est constituée de macromolécules complexes formant une structure tridimensionnelle, flexible et fortement réticulée provenant de la décomposition et de la réorganisation des matières organiques naturelles dans les sols (Wershaw, 1993). Les caractéristiques physiques et chimiques en sont particulières du fait notamment de la présence de zones hydrophobes et hydrophiles (Aiken et al, 1985). La réorganisation des polymères humiques au cours du vieillissement a été déjà proposée comme hypothèse permettant d'expliquer le phénomène d'hystérésis et de séquestration physique des polluants. La matière humique des sols serait constituée de deux domaines principaux, un domaine amorphe (« *Soft Domain* ») et un domaine très condensé (« *Hard Domain* ») (Connaughton et al, 1993). L'accessibilité des molécules hydrophobes à ce dernier domaine dépendrait de mécanismes de gonflement (« *swelling* ») de la matière organique au contact de l'eau correspondant au relâchement des polymères organiques (Kan et al, 1997). Le gonflement des polymères organiques conduirait à augmenter la porosité de la phase organique. Les molécules adsorbées dans le domaine amorphe contribuent à l'effet inverse en créant de nouvelles liaisons hydrophobes entre les polymères. Elles tendent à réduire la porosité de la structure ce qui conduit à leur séquestration.

IV.1.3.2- Effet du vieillissement en conditions non noyées avec ou sans cycles de gel/dégel

Des échantillons d'argile ou de sol sont mis en contact pendant 24 h avec une solution aqueuse de naphthalène ou de phénanthrène à concentration connue, puis les suspensions sont centrifugées et on élimine la solution qui est analysée. La centrifugation ne permettant pas d'éliminer en totalité la solution, les culots restent partiellement imbibés d'une solution interstitielle. Le vieillissement est alors conduit en conditions non noyées soit à une température constante de 20°C, soit avec alternance de cycles de gel/dégel de -20 à 20°C tous les 2-3 jours. Au cours du vieillissement dans ces conditions, la teneur en polluant retenu par le sol ne peut augmenter significativement en l'absence d'un volume suffisant de solution susceptible de transférer progressivement des polluants. Nous considérerons donc dans ce qui suit que cette teneur reste constante. L'effet du vieillissement est donc uniquement évalué vis-à-vis de l'extractibilité des polluants dans l'eau ou des solvants organiques. Les tableaux 19 et 20 résument l'ensemble des résultats obtenus au cours des essais de vieillissement en conditions non noyées avec ou sans cycles de gel/dégel avec le naphthalène et le phénanthrène, respectivement. La figure 12 illustre l'effet du vieillissement dans ces conditions sur l'extractibilité du naphthalène et du phénanthrène.

Tableau 19 : Influence du temps de contact sur la rétention du naphthalène par l'argile Limoneuse et les sols CSAC et CSAP en conditions non noyées. Les résultats entre crochets correspondent à un vieillissement avec cycles de gel-dégel (-18/+20°C). Les autres sont obtenus à température constante de 20°C.

Matrices :	<i>Argile</i>					<i>CSAC</i>					<i>CSAP</i>				
Durée de vieillissement	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois
Sorption (%)	8					60					75				
% Ads après 4 extractions successives (24h) à l'eau	0	3,5	4	4,5	5	6	23	44	46,4	50,5	23	30,9	57,6	56,1	58,7
	-	[1,4]	[0]	[0,8]	[0]	-	[5,7]	[16,1]	-	[10,7]	-	[14]	[24,5]	[37]	[19,3]
% Ads après extraction au méthanol (24h)	0	3,5	4	4,1	4,5	0	7,3	41,4	42,3	44,4	0	0	48,0	46,9	47,4
	-	[0,9]	[0]	[0,6]	[0]	-	[0]	[7]	-	[4,5]	-	[0]	[0]	[14,4]	[0]
% Ads après extraction au butanol (24h) et sonication, 50 watts	0	3,5	3,9	3,9	4,2	0	7	40,8	41,8	43,9	0	0	46,9	45,9	46,4
	-	[0]	[0]	[0]	[0]	-	[0]	[0]	-	[0]	-	[0]	[0]	[11,3]	[0]
% Ads après extraction Soxhlet (3h) CH ₂ Cl ₂	-	-	-	-	0	-	-	-	-	16	-	-	-	-	16,8

Tableau 20 : Influence du temps de contact sur la rétention du phénanthrène par l'argile Limoneuse et les sols CSAC et CSAP en conditions insaturées en eau. Les résultats entre crochets correspondent à un vieillissement avec cycles de gel-dégel (-18/+20°C). Les autres sont obtenus à température constante de 20°C.

Matrices :	Argile					CSAC					CSAP				
Durée de vieillissement	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois	24h	1 mois	3 mois	6 mois	12 mois
Sorption (%)	33					86					90				
% Ads après 4 extractions successives (24h) à l'eau	0	0	5,7	9,25	10,4	67	72	78	75,3	76,4	66	78,4	81,0	81,1	81,9
	-	[11,2]	[9,8]	[5,2]	[11,1]	-	[78,7]	[82,7]	[81]	[81,2]	-	[79,6]	[84,3]	[83,3]	[83,9]
% Ads après extraction au méthanol (24h)	0	0	0	3	5	0	0	49	49	43,4	0	0	51	51	50,2
	-	[7,7]	[5,2]	[3,2]	[1,7]	-	[45]	[50]	[50]	[49,4]	-	[49]	[53,5]	[52,1]	[52,7]
% Ads après extraction au butanol (24h) et sonication, 50 watts	0	0	0	0	0	0	0	43	42,1	36,8	0	0	43	43,9	44,2
	-	[0]	[3,4]	[1,4]	[0]	-	[0]	[40]	[41]	[42,3]	-	[0]	[45,7]	[45,3]	[45,5]
% Ads après extraction Soxhlet (3h) CH ₂ Cl ₂	-	-	-	-	0	-	-	-	-	0	-	-	-	-	0
	-	-	-	-	-	-	-	-	-	[0]	-	-	-	-	-

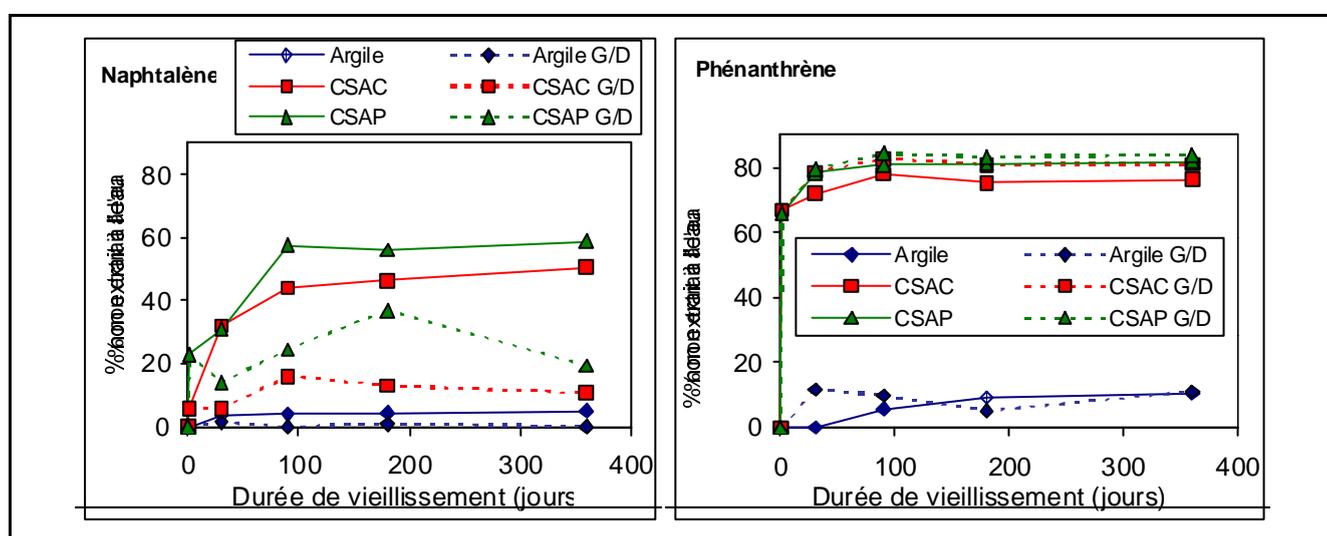


Figure 12 : Effet du vieillissement en conditions non noyées avec ou sans cycles de gel/dégel (G/D) sur l'extractibilité à l'eau du naphthalène et du phénanthrène (4 extractions successives de 24h à 20°C, L/S = 3).

Sable de Fontainebleau et argile limoneuse

Les essais réalisés avec le sable de Fontainebleau (résultats non présentés) ont mis en évidence des pertes significatives par volatilisation. Ces pertes, plus élevées que celles des essais en conditions noyées, s'expliquent par le fait que le volume gazeux dans les flacons est plus important et que la rétention du naphthalène et du phénanthrène sur ce matériau est pratiquement nulle.

Pour les essais de vieillissement avec l'argile, les pertes en naphthalène et en phénanthrène par volatilisation sont négligeables avec ou sans cycles de gel/dégel, puisque après chaque durée de contact on récupère par extraction (Soxhlet pour le naphthalène) la totalité du polluant initialement ajouté.

Lorsque le vieillissement a lieu à température constante de 20°C, on observe que l'extractibilité à l'eau et aux solvants organiques du naphthalène et du phénanthrène au contact de l'argile baisse légèrement avec le temps tout comme pour les essais de vieillissement en conditions noyées. Pour le naphthalène, seule l'extraction par Soxhlet au dichlorométhane permet de récupérer après 12 mois de vieillissement la totalité du polluant initialement introduit. L'extraction totale du phénanthrène au butanol-1 sous sonication indique que sa rétention est moins forte qu'en conditions noyées où seule une extraction au Soxhlet permettrait de solubiliser totalement le phénanthrène après un an de vieillissement. Ce phénomène est de faible amplitude étant données les faibles quantités de phénanthrène initialement adsorbées. Il peut cependant s'expliquer par le fait que, en conditions noyées, le volume important de solution permet au cours du vieillissement un transfert permanent du phénanthrène depuis la solution vers l'argile (ce qui augmente la teneur en phénanthrène retenu), alors que ce transfert n'est pas significatif en conditions insaturées puisque le volume de solution présent est très faible. Une autre hypothèse réside dans l'altération progressive de la matière organique e/ou de la structure microporeuse de l'argile en conditions noyées qui pourrait entraîner la séquestration du phénanthrène.

Les résultats des essais avec cycles de gel/dégel sont plus hétérogènes. Les cycles de gel/dégel ont globalement plutôt tendance à améliorer l'extractibilité du naphthalène et à réduire légèrement celle du phénanthrène (figure 12). Le comportement différent du naphthalène et du phénanthrène sous l'effet de cycles de gel/dégel est difficilement explicable. L'alternance de cycles de gel/dégel a probablement un effet d'éclatement de la microstructure de l'argile limoneuse par cristallisation des molécules d'eau localisées entre les feuillets d'argiles. Cette altération mécanique peut améliorer l'accessibilité des molécules adsorbées aux solvants d'extraction (ce qui expliquerait l'extraction accrue du naphthalène). Mais elle peut également rendre disponible de nouveaux sites d'adsorption, pouvant expliquer l'extraction légèrement plus faible du phénanthrène.

Sols CSAC et CSAP

On observe pour les deux sols que les rendements d'extraction du phénanthrène après vieillissement en conditions non noyées à température ambiante sont globalement similaires à ceux obtenus lors des essais en conditions noyées. Pour le naphthalène en revanche, on note une baisse de l'extractibilité aux solvants organiques en conditions non noyées. En effet, après 12 mois de vieillissement, les pourcentages de naphthalène encore retenu après la deuxième extraction au butanol-1 sous sonication sont respectivement de 44 et 46% pour les sols CSAC et CSAP contre 25 et 3% en conditions noyées. En conditions non noyées, 16 à 17% de la quantité de naphthalène initialement introduite n'est pas extractible au Soxhlet des deux types de sols. Ces résultats peuvent s'expliquer par des pertes par volatilisation ou par transformations biologiques. En effet, il est possible que le chlorure mercurique ajouté initialement ne permette plus, en conditions non noyées et au bout de quelques mois, l'inhibition totale de l'activité biologique des deux sols. En outre, les conditions non noyées accroissent l'apport en oxygène favorisant ainsi l'activité dégradante de la microflore aérobie. La seconde hypothèse pouvant expliquer la non extraction totale du naphthalène serait la formation de résidus liés par liaisons chimiques entre les constituants organiques des sols et les métabolites des HAPs. La transformation biologique du naphthalène dans les sols conduit à la formation de métabolites hydroxylés beaucoup plus réactifs et susceptibles de se lier à la matière organique. Cependant, si ces métabolites intermédiaires hydroxylés ont été clairement identifiés en culture pure (Heitkamp et Cerniglia, 1988), la formation de résidus liés à partir de ces molécules n'a été, à notre connaissance, mise en évidence que dans les travaux de Karimi-Lotfabad et al. (1996). Cette hypothèse reste peu plausible dans notre cas, car ce phénomène aurait été probablement observé avec le phénanthrène or celui-ci est totalement extrait au Soxhlet. On peut donc raisonnablement plutôt penser à des pertes de naphthalène par volatilisation.

L'extractibilité après vieillissement sous l'effet de cycles de gel/dégel dépend, comme pour l'argile, du polluant considéré. Dans le cas du naphthalène, l'extractibilité est significativement accrue par les cycles de gel/dégel. Ce résultat peut se justifier, comme pour l'argile, par une probable désagrégation partielle des micro-agrégats du sol sous l'effet du gel facilitant l'accessibilité du naphthalène aux solvants d'extraction. On note en revanche, dans le cas du phénanthrène, un effet inverse quoique d'amplitude beaucoup plus faible (figure 12) qui peut s'expliquer par la plus grande affinité de ce polluant vis à vis de la fraction organique. La rétention du phénanthrène proche de 90% pourrait en effet masquer le mécanisme d'altération.

IV.1.3.3- Conclusions sur l'effet du vieillissement des sols réalisés après dopage en polluants

D'une façon générale, les résultats de cette étude montrent que des polluants vieillis dans le sol ou l'argile limoneuse sont plus significativement retenus et moins extractibles que des polluants fraîchement ajoutés. L'ensemble de ces essais a été mené en conditions stériles, et en présence d'un agent biocide. Cependant, sur le long terme, la reprise d'une activité microbienne est éventuellement possible notamment en conditions insaturées en eau.

Les essais réalisés sur la craie vierge mettent en évidence la rétention non négligeable du naphthalène et du phénanthrène. La molécule de naphthalène étant moins hydrophobe et de plus petite taille, elle peut accéder à la microporosité interne de la craie et ainsi s'adsorber sur des surfaces d'adsorption non accessibles au phénanthrène. Cette hypothèse est confirmée par les résultats obtenus au cours des étapes successives d'extraction en fonction de la durée du vieillissement. Le naphthalène apparaît comme étant moins extractible à l'eau que le phénanthrène. Cependant, la sonication permet de faciliter l'extraction de ce polluant. Les mesures de granulométrie laser ont permis de confirmer l'agrégation des particules de craie sous la forme de micro-agrégats susceptibles d'être déstabilisés sous ultrasons ou bien utilisation d'agent chimique dispersant.

Les essais conduits avec l'argile limoneuse montrent que le rôle de cette matrice vis-à-vis de la mobilité des polluants est loin d'être négligeable. En effet, l'argile utilisée a une capacité de rétention significative, due non seulement à la présence de matière organique (teneur en C.O. de 0,04%), mais surtout à une rétention physique des molécules de polluant entre les feuillets d'argile imbibés d'eau. La forte adsorption du naphthalène et du phénanthrène sur cette matrice s'explique principalement par l'importante surface totale développée par les feuillets d'argile nettement plus élevée que les autres matrices (surface totale de 128 m² par gramme d'argile). L'augmentation dans le temps de la rétention des polluants organiques dans cette matrice est probablement due à une modification structurale des feuillets d'argile au contact de l'eau.

Les résultats confirment que la rétention des polluants organiques par les sols CSAC et CSAP a lieu en deux temps : une phase d'adsorption rapide (elle-même composée d'une phase quasi-instantanée et d'une phase cinétiquement limitée) suivie d'une phase lente. Ainsi, plus la durée de contact du composé avec le sol est grande, plus sa rétention dans le sol est importante. Cependant, on observe une relative stabilisation des teneurs adsorbées à partir du 3^{ème} mois de vieillissement.

L'extractibilité des polluants, dans l'eau ou dans les solvants organiques, baisse significativement lorsque le temps de contact augmente, que le vieillissement ait lieu en conditions noyées ou non, en colonne ou en milieu dispersé. Les résultats observés suggèrent que la rétention à cinétique lente du polluant par le sol ou l'argile est très probablement due à un processus lié à la diffusion moléculaire au sein des micropores des agrégats ou bien au

sein de phases condensées (matière organique). L'extraction des polluants devient alors cinétiquement limitée par leur diffusion vers le solvant d'extraction (et vice versa), et peut alors ne pas être totale en 24 heures d'agitation. Cette hypothèse a été vérifiée lors des séries d'extractions accompagnées de sonications. En effet, lors de la plupart des essais réalisés, nous avons observé que la méthode de sonication permettait une extraction plus importante des polluants. Ainsi, la destruction partielle de l'intégrité structurale du sol causée par la sonication augmente la disponibilité des polluants, ce qui prouve qu'une partie (au moins) de la fraction de polluants retenue par le sol provient de leur séquestration physique au sein des agrégats du sol. La fraction résiduelle de polluant non extraite peut être associée à des micro agrégats stables qui ont résisté à la sonication. Cette fraction peut également être le résultat de la formation de liaisons de forte énergie (résidus liés) bien que ce mécanisme soit peu probable sans l'hydroxylation microbienne préalable des HAP.

Bien que la quantité de polluant adsorbée initialement soit plus importante avec le sol CSAP qu'avec le sol CSAC (du fait de la teneur en matière organique plus faible de ce dernier), on note que l'effet du vieillissement est plus significatif pour le sol CSAC pour lequel l'extractibilité des polluants baisse très significativement dans le temps. Ce phénomène peut être relié à la microporosité plus importante du sol CSAC qui présente une surface et un volume microporeux (pores de 0,3 à 1,7 nm) plus de 2 fois plus grands que ceux du sol CSAP. Cette différence peut provenir des caractéristiques de la matière organique qui n'est pas de même nature dans les 2 sols, celle du CSAC étant a priori plus humifiée et donc plus microporeuse.

La succession de cycles de gel/dégel lors du vieillissement des sols CSAC ou CSAP artificiellement pollués n'a pas d'effet très significatif sur l'extractibilité du phénanthrène. En revanche, ces cycles tendent pour le naphthalène à limiter la baisse d'extractibilité induite par le vieillissement. On peut dans ce cas penser que l'effet mécanique du gel/dégel permet, par l'éclatement de certaines microstructures du sol, d'améliorer l'accessibilité du naphthalène aux solvants d'extraction. Nous avons également montré qu'une partie des polluants peut être extraite sous forme adsorbée à de fines particules, mais les cycles de gel/dégel ne s'avèrent pas augmenter significativement la libération de colloïdes dans les conditions de nos essais.

IV.1.4- Mobilité des HAPs contenus dans des sols issus de sites pollués réels

Les sols sélectionnés sont les sols SP1 et SP2 et la craie CP (voir tableau 5 page 18). La teneur en HAP dans ces sols est illustrée par la figure 13.

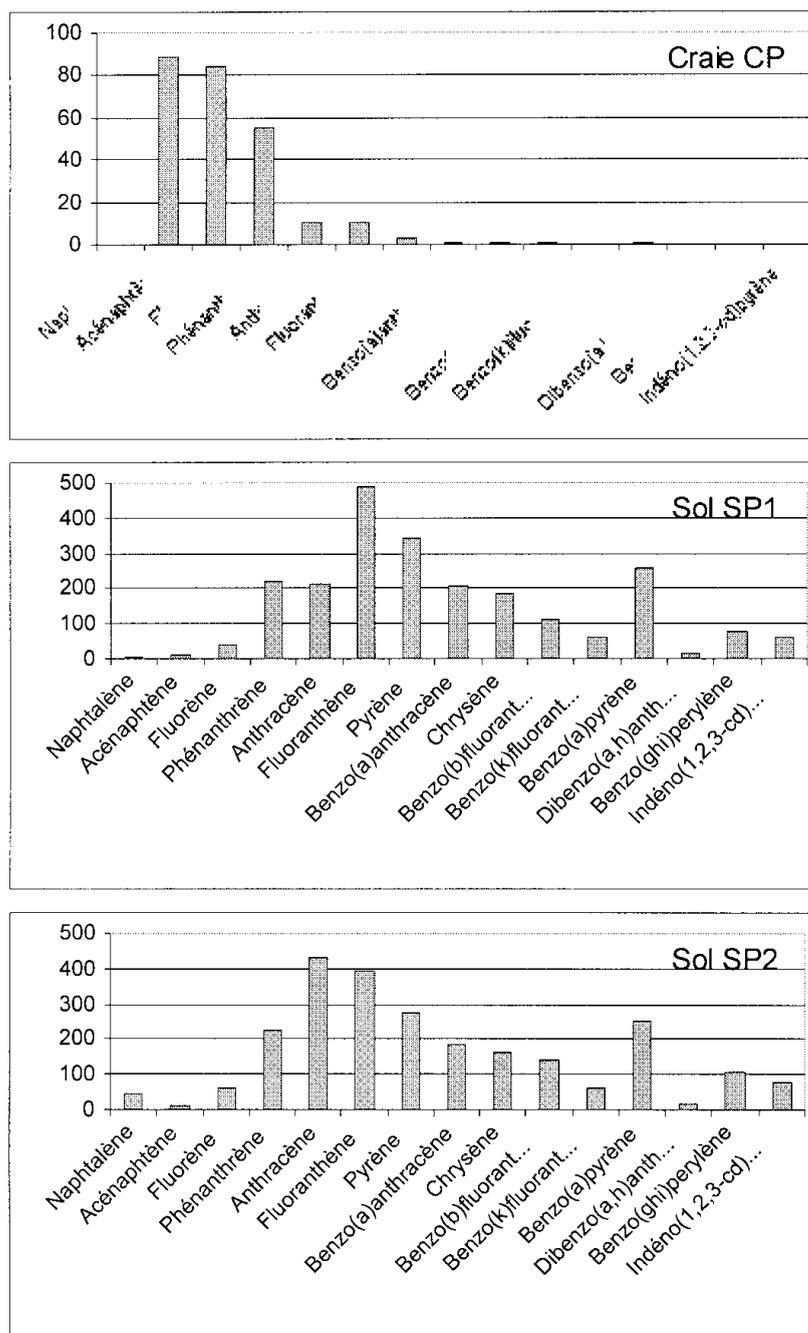


Figure 13 : Teneur en HAPs de la craie polluée CP et des sols pollués SP1 et SP2 (concentrations exprimées en mg.kg⁻¹ sol sec).

Les résultats d'analyse des sols pollués présentés à la figure 13 et au tableau 21 montrent que d'une part que la craie CP est nettement moins polluée que les deux échantillons de sols SP1 et SP2 et que, d'autre part, la composition en HAPs est également très différente. Ces différences de composition s'expliquent en partie par le fait que la craie polluée est un échantillon prélevé en profondeur (environ 7 m) alors que les sols SP1 et SP2 sont des échantillons prélevés en surface. Les HAPs présents dans la craie polluée sont essentiellement des molécules de 2 à 4 cycles aromatiques. En revanche, les sols SP1 et SP2 sont riches en

HAPs de 3 à 5 cycles aromatiques. La distribution en HAPs des deux sols est pratiquement identique exceptée la teneur en naphthalène plus élevée dans le sol SP1. Les résultats des extractions successives à l'eau, au méthanol et au butanol avec sonication sont présentés dans le tableau 22.

Tableau 21 : Teneurs en carbone total, carbone inorganique et carbone organique dans les trois matrices polluées sélectionnées

Echantillon	Carbone Total (%)	Carbone Inorganique (%)	Carbone Organique (%)
Craie CP	8,7	8,5	0,2
Sol SP2	26,3	0,1	26,2
Sol SP1	9,0	0,7	9,70

Tableau 22 : Extractions successives à l'eau et aux solvants organiques sur la craie polluée CP et les sols pollués SP1 et SP2.

Echantillon	CP			SP1			SP2			
	15HAPs	Nap	Phe	15HAPs	Nap	Phe	15HAPs	Nap	Phe	
Teneurs initiales (Qi en mg/kg sol sec)	255	0,32	55,3	2285	6,22	216	2446	45,7	225	
Quantité de polluant désorbé après 4 extractions successives à l'eau	Q _{des} (mg/kg)	63,5	0,03	12,4	2,66	0,44	0,12	3,48	3,94	0,17
	%	24,9	9,73	22,5	0,12	7,09	0,07	0,14	8,63	0,07
Quantité de polluant désorbé après extraction au méthanol 100%	Q _{des} (mg/kg)	232,8	0,13	41,0	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	%	91,1	41,30	74,2	ND	ND	ND	ND	ND	ND
Quantité de polluant désorbé après extraction Butanol-1 100% + sonication	Q _{des} (mg/kg)	240	0,26	44,3	ND	ND	ND	ND	ND	ND
	%	93,9	81,8	80,1	ND	ND	ND	ND	ND	ND

ND : Non déterminé.

Environ 25% des HAPs dosés initialement dans la craie sont extractibles à l'eau. Pour le naphthalène, en très faible concentration initialement dans la craie, le pourcentage extrait est seulement de l'ordre de 10%. Pour le phénanthrène, polluant majoritairement présent dans la craie, le pourcentage extrait est du même ordre de grandeur que pour la somme des HAPs. La figure 14 permet la comparaison de l'extractibilité du naphthalène et du phénanthrène pour la craie polluée et la craie vierge artificiellement polluée.

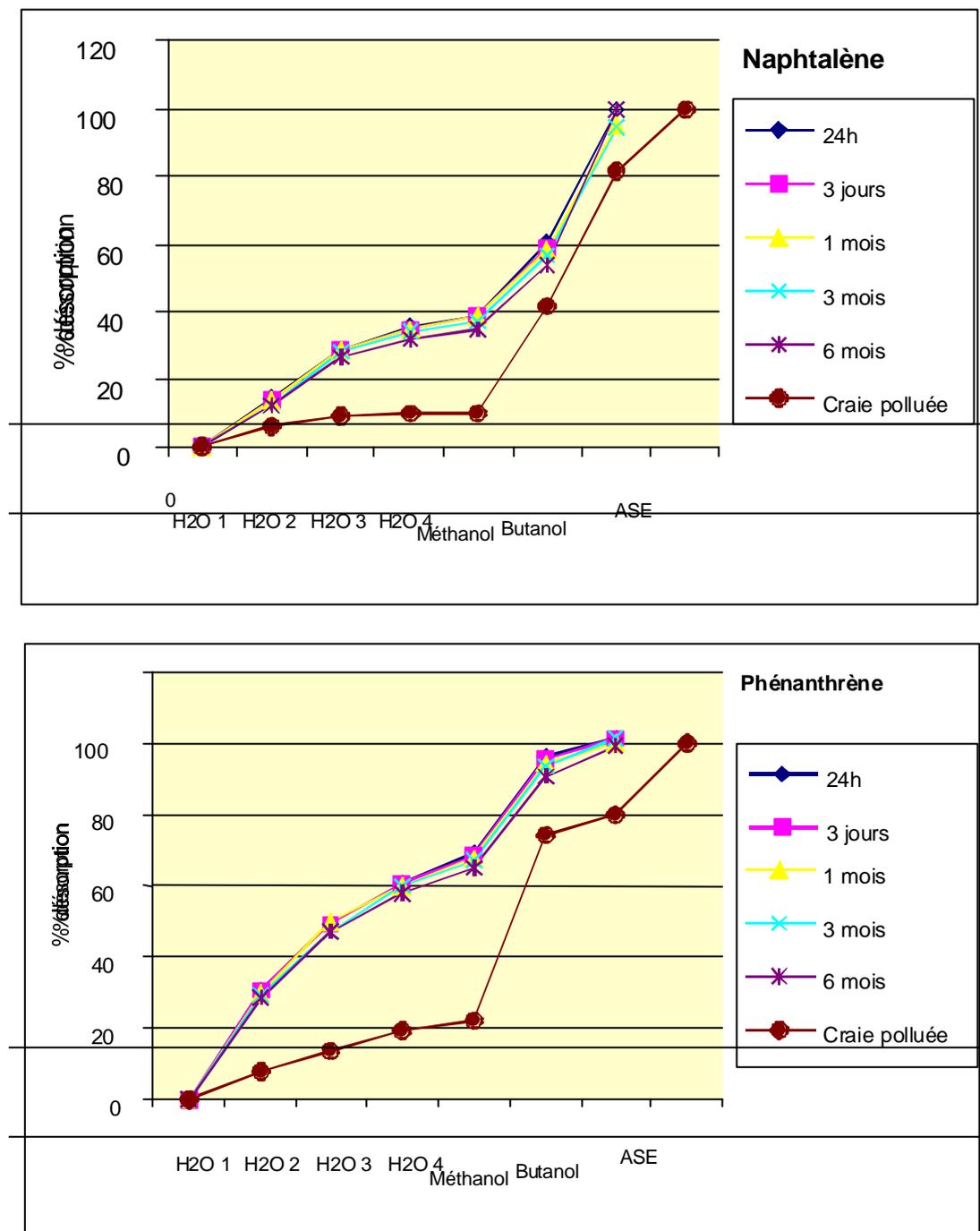


Figure 14 : Comparaison de l'extractibilité du naphtalène et du phénanthrène dans la craie polluée ([15 HAPs] = 250 mg/kg) et la craie vierge artificiellement polluée après des durées croissantes de contact.

Les rendements d'extraction au méthanol et au butanol montrent que la grande majorité des HAPs initialement présents dans la craie polluée est réversiblement liée à cette matrice. La figure 14 montre que l'extractibilité à l'eau du naphtalène et du phénanthrène est nettement plus basse dans le cas de la craie polluée que dans le cas de la craie vierge polluée au laboratoire. Cette observation semble dire que les conditions de vieillissement de la craie

vierge au contact de solution de naphthalène et phénanthrène (en conditions saturées) ne permettent pas de reproduire les conditions réelles de vieillissement des polluants organiques au contact de cette matrice purement minérale. Ceci peut s'expliquer notamment par le fait que la durée de contact des polluants organiques avec la phase solide est nettement plus longue dans le cas de la craie polluée.

Dans le cas des sols SP1 et SP2, fortement pollués en HAPs et présentant une teneur en carbone organique élevée, on constate que les HAPs sont globalement peu mobilisables à l'eau. En effet, seulement 0,1% des HAPs initialement dosés dans les deux sols sont extraits après 4 désorptions successives dans l'eau.

IV.2- Rôle de l'activité microbienne endogène dans le vieillissement

Le sol n'est pas un milieu biologiquement inerte. La microflore du sol va être responsable des phénomènes de dégradation des polluants organiques et va intervenir directement dans des phénomènes de stabilisation avec incorporation des polluants dans la biomasse microbienne. Pour des besoins d'identification des processus intervenant dans le vieillissement des polluants organiques dans les sols, nous avons découlé les processus spécifiquement physiques (et/ou physico-chimiques) des phénomènes biologiques. Mais l'obtention des informations globales sur le vieillissement des polluants organiques nécessite l'étude couplée des phénomènes d'origine physico-chimique et biologique. Ainsi, par exemple, la plus forte adsorption d'un polluant organique sur le sol va provoquer une diminution de sa disponibilité vis-à-vis des microorganismes dégradants, cet effet de préservation va se traduire par une augmentation de la persistance du polluant dans le sol ou par une plus difficile élimination lors de la mise en place des techniques de bioremédiation.

Le dispositif expérimental proposé pour simuler le vieillissement consiste en bioréacteurs clos permettant une incubation des sols artificiellement contaminés avec des HAP marqués au ^{14}C et permettant de fixer les conditions expérimentales (température, humidité). Avant de procéder à la mise en place des différentes incubations, l'influence d'une série de paramètres expérimentaux sur le comportement des HAP en conditions de laboratoire a été testée. Des résultats seront présentés sur deux de ces paramètres : la durée de stockage des sols et la concentration en HAP.

IV.2.1- Modifications du comportement des sols vis-à-vis du phénanthrène en fonction des conditions expérimentales imposées par les dispositifs utilisés

IV.2.1.1- Influence de la durée de stockage des sols sur la minéralisation du phénanthrène

Une des techniques utilisées pour la mise en évidence du « vieillissement » est l'effet sur la biodisponibilité des polluants, caractérisée par des techniques d'incubation permettant de mesurer la dégradation biologique du polluant. Certains tests de « vieillissement » vont de 24 h à 12 mois. Ceci pose le problème de la conservation des échantillons de sols ou ceux qui sont utilisés pour évaluer la disponibilité des polluants. L'utilisation permanente de sol frais (récemment prélevé sur le terrain) est difficile ; en outre, la microflore du sol et son activité varient au cours des saisons en fonction des aléas climatiques ou des pratiques culturales. Pour cette raison, le choix le plus raisonnable a été de procéder à un prélèvement de sol frais

au début des expériences, avec un stockage à 4°C à l'obscurité jusqu'au moment de son utilisation.

L'évolution des capacités de minéralisation du phénanthrène d'un sol (le sol cultivé CSAC) a été mesurée à l'aide d'une série d'incubations du sol stocké pendant 1, 2, 3 et 4 mois à 4°C. Des échantillons de sol sont artificiellement pollués par addition directe de phénanthrène en solution aqueuse dans CaCl₂ 0.01M (1 ml d'une solution à 0.65 mg l⁻¹ sur 20 g de sol humide). La quantité de phénanthrène appliquée correspond à une contamination du sol en phénanthrène de 0.036 µg kg⁻¹.

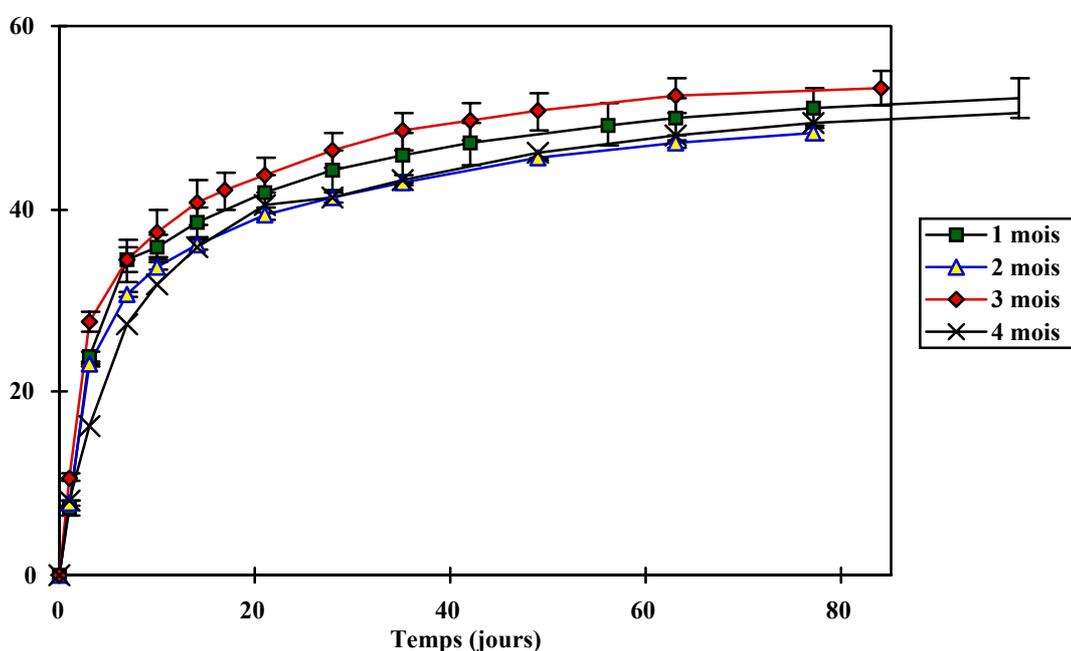


Figure 15 : Minéralisation du phénanthrène dans le sol CSAC en fonction de la durée de stockage à 4°C avant contamination artificielle au laboratoire.

La figure 15 présente les cinétiques de minéralisation du phénanthrène (quantités de ¹⁴C-CO₂ dégagés exprimées en pourcentage du ¹⁴C-phénanthrène initialement appliqué en fonction du temps d'incubation) pour les échantillons de sols aux quatre durées de stockage. L'allure des cinétiques est très similaire. Nous observons uniquement un léger ralentissement de la vitesse initiale de minéralisation pour les échantillons de sol stockés le plus longtemps (4 mois). Néanmoins, ceci n'a pas de conséquences sur les pourcentages de minéralisation, de telle sorte qu'après 15 jours, ces sols ont un comportement similaire aux sols ayant des durées plus faibles de stockage. En fin d'incubation, les taux de minéralisation du phénanthrène sont similaires, indépendamment de la durée du stockage. Après 3 mois d'incubation, le pourcentage moyen de phénanthrène minéralisé pour les quatre durées de stockage est de 50.8

± 1.7 %. Cette absence d'effet de la durée de stockage sur le comportement du phénanthrène est confirmée par les résultats des extractions séquentielles des résidus de ^{14}C -phénanthrène restant dans les sols en fin d'incubation. La répartition des résidus extractibles et non extractibles est similaire pour les quatre durées de stockage des sols. Par conséquent, le stockage sur plusieurs mois des échantillons de sol à 4°C ne semble pas modifier significativement l'activité spécifique de la microflore du sol responsable de la minéralisation du phénanthrène.

IV.2.1.2- Influence du taux de contamination du sol par le phénanthrène sur les cinétiques de sa minéralisation

L'évaluation de l'influence du taux de contamination sur le vieillissement a été effectuée avec des incubations de sols artificiellement pollués avec du phénanthrène à 0.042 et $4.2 \mu\text{g g}^{-1}$. La figure 16 présente les cinétiques de minéralisation du phénanthrène et celles du carbone organique total des sols. L'ensemble des cinétiques présente une phase initiale de latence correspondant à une faible activité biologique globale et se traduisant par l'absence de minéralisation du phénanthrène. Ce temps de latence est indépendant du taux de contamination, mais il dépend du sol considéré : il est de 3 jours pour le sol CSAC, mais de 20 jours pour le sol CSAP. Ce temps de latence semble conditionner la vitesse de démarrage de la minéralisation du phénanthrène : celle-ci est d'autant plus rapide que le temps de latence est court. Les vitesses de minéralisation sont dépendantes du taux de contamination dans les sols CSAC et CSAP. En revanche, le comportement du sol industriel SP1 est indépendant du taux de contamination pour les concentrations testées. Le démarrage de la minéralisation est plus rapide aux forts taux de contamination, ce qui se traduit en fin d'incubation par des pourcentages de minéralisation du phénanthrène plus importants.

Les cinétiques de dégagement de CO_2 (Fig. 16) montrent que l'activité globale de la microflore et la minéralisation de la matière organique des sols ne sont pas affectées par l'augmentation de la concentration en phénanthrène. Le phénanthrène n'a pas d'effet toxique sur la microflore endogène aux taux de pollution utilisés. La forte activité respiratoire est en relation avec l'apport de méthanol utilisé comme solvant pour l'application du phénanthrène.

L'effet « concentration de phénanthrène » sur sa minéralisation peut être expliqué par des modifications du fonctionnement biologique de la microflore dégradante. L'augmentation de la minéralisation du phénanthrène avec le taux de pollution peut être l'indication d'une pression de sélection plus importante sur les micro-organismes dégradants : plus le taux de pollution est élevé, plus grand serait le nombre de micro-organismes présentant une certaine spécificité vis-à-vis de la dégradation du polluant. Le développement de cette microflore spécifique jusqu'à une taille suffisante pour être compétitive par rapport aux autres

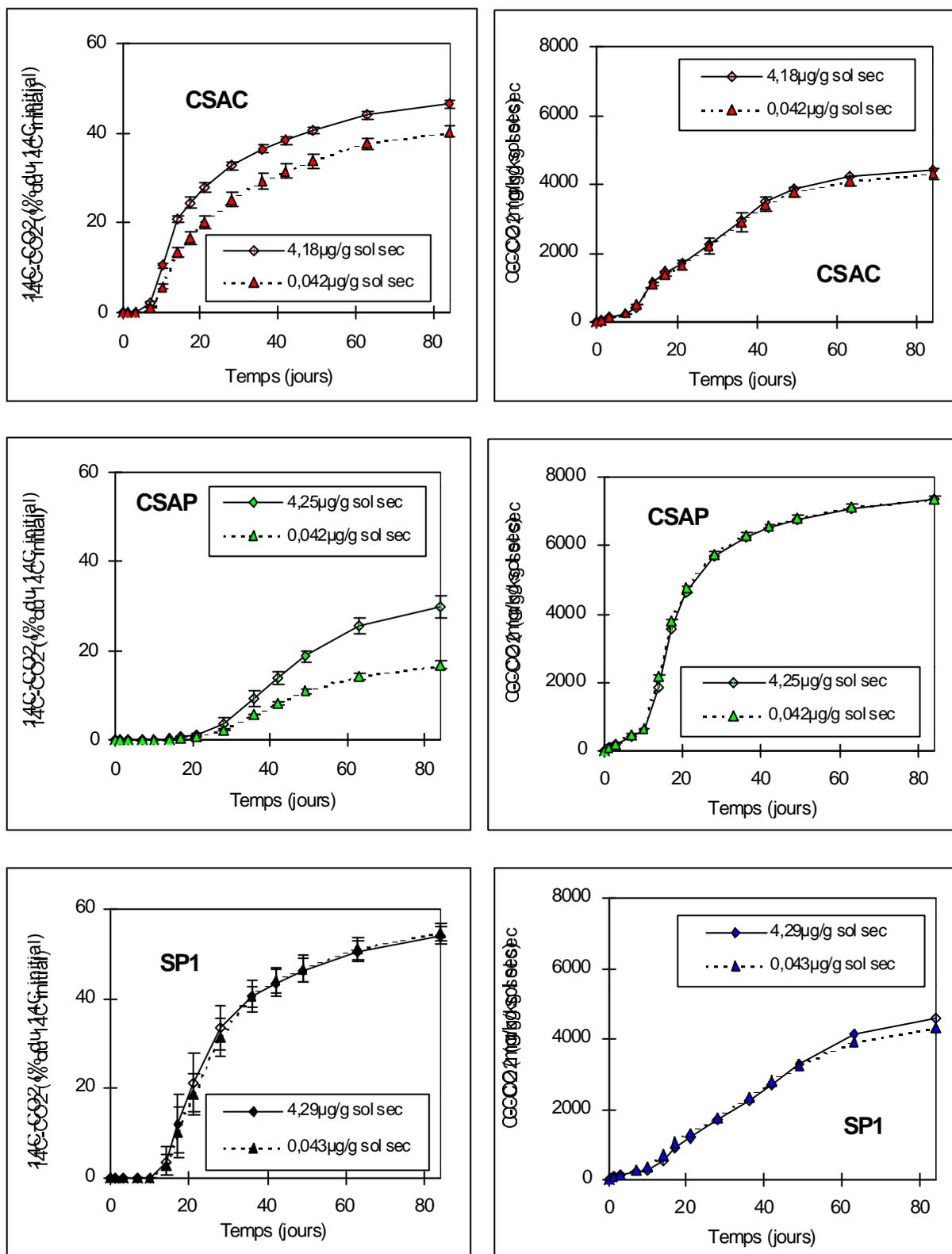


Figure 16 : Cinétiques de minéralisation du phénanthrène et cinétiques de minéralisation du carbone sur les sols CSAC, CSAP et SP1 en fonction de la teneur initiale en phénanthrène.

populations de la microflore du sol nécessite un certain temps correspondant au temps de latence observé au début des cinétiques de minéralisation du phénanthrène.

Une autre hypothèse explicative de « l'effet concentration » sur la minéralisation du phénanthrène serait la modification de l'état du polluant accompagnée d'une modification de sa localisation dans la micro-structure du sol dépendant de la concentration. Cette hypothèse n'est pas exclusive et peut être complémentaire de la précédente. On peut penser qu'à fortes concentrations, une proportion plus importante de phénanthrène serait localisée dans les parties périphériques des micro-agrégats du sol. Cette localisation périphérique dans les parties les plus externes serait commandée par des phénomènes d'adsorption et aurait comme conséquence le maintien d'une partie du phénanthrène plus biodisponible pour les micro-organismes dégradants. Ce phénomène de répartition spatiale différenciée pourrait être favorisé lors de la volatilisation du solvant en raison de la faible solubilité dans l'eau du phénanthrène par rapport aux concentrations appliquées. Ceci pourrait provoquer la précipitation du phénanthrène sur les surfaces externes des constituants de sols, s'opposant à sa pénétration dans la micro-porosité des sols, avec une diminution de la protection contre la biodégradation. A faible concentration, le phénanthrène va se fixer rapidement sur les sites qui lui sont directement accessibles et va pouvoir diffuser avec le solvant vers des sites localisés dans la micro-porosité des agrégats ou des structures colloïdales. Lorsque le taux de contamination est plus important, il y a accumulation sur des sites d'adsorption les plus accessibles, les molécules n'ayant pas eu le temps de diffuser vers d'autres sites pouvant précipiter en raison de la volatilisation du solvant.

Les vitesses et les taux de minéralisation plus faibles du phénanthrène dans le sol CSAC que dans le sol CSAP pourraient s'expliquer avec les mêmes hypothèses. En raison de la teneur plus importante en matière organique du sol CSAP, l'adsorption du phénanthrène et la diffusion du solvant du polluant seraient favorisées par des phénomènes de partage polluant – solvant – matière organique. Ceci se traduit par une diminution de la biodisponibilité du polluant par adsorption et/ou localisation dans des sites non bio-accessibles.

Le sol industriel SP1 se comporte différemment des sols CSAC et CSAP. Dans ce sol, le taux de pollution n'a pas d'influence sur les cinétiques de minéralisation du phénanthrène. Ce sol, pollué par des HAP, serait uniformément colonisé par une microflore adaptée à la dégradation de ce type de polluant de telle sorte qu'une proportion importante de phénanthrène serait sous une forme accessible vis-à-vis des micro-organismes. Par ailleurs, il est probable qu'en raison des quantités plus importantes de matière organique, les phénomènes de diffusion et de partage soient plus importants que dans les autres sols. Ceci provoquerait une meilleure répartition du phénanthrène avec une augmentation de la bioaccessibilité à la microflore dégradante préexistante.

En fin d'incubation, nous avons procédé à l'extraction des échantillons de sol et à l'analyse de la radioactivité extractible et non-extractible (Fig. 17). Les bilans de masse (^{14}C) montrent un déficit de récupération de la radioactivité initiale appliquée. Il s'agit très probablement de pertes par volatilisation du phénanthrène au cours de l'expérimentation, les dispositifs utilisés ne permettant pas la récupération de fractions volatilisées. L'« effet adsorption » semble confirmé par le déficit de récupération qui est plus important lorsque la

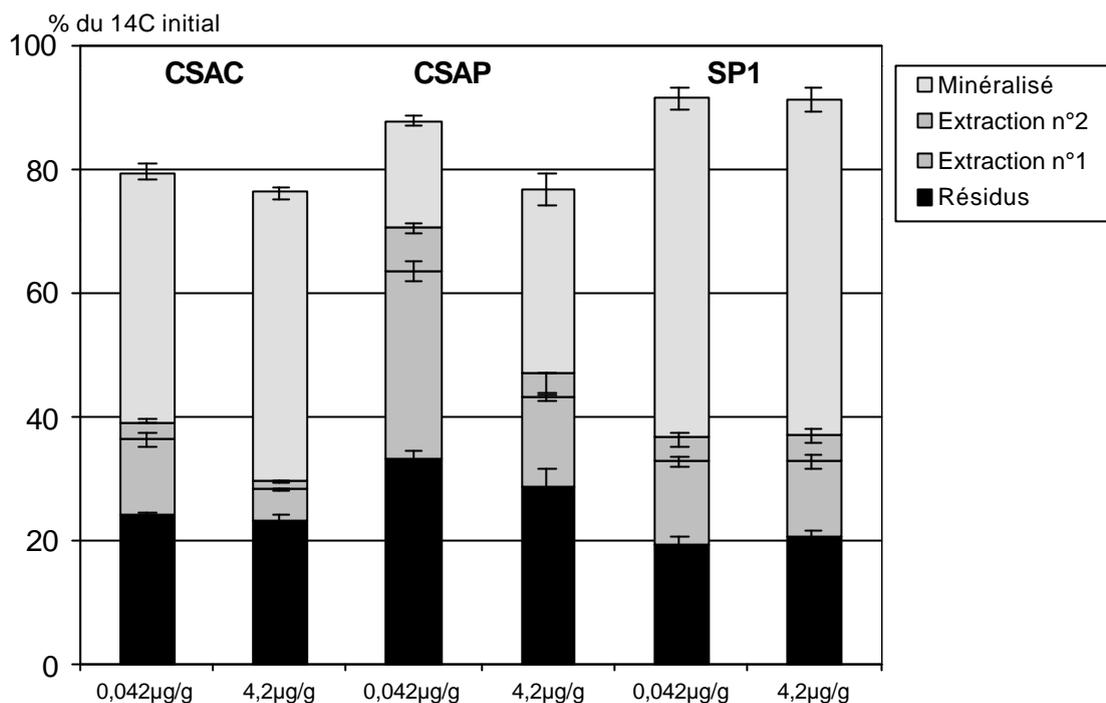


Figure 17 : Répartition de la radioactivité en fin d'incubation du phénanthrène dans les sols CSAC, CSAP et SP1. Influence de la teneur initiale en phénanthrène.

dispositifs utilisés ne permettant pas la récupération de fractions volatilisées. L'« effet adsorption » semble confirmé par le déficit de récupération qui est plus important lorsque la teneur initiale en phénanthrène est plus élevée et lorsque les sols contiennent moins de matière organique. Pour les sols CSAC et CSAP, un faible taux de pollution se traduit par le maintien d'une proportion plus élevée du phénanthrène sous une forme extractible en fin d'incubation. C'est-à-dire que l'augmentation du taux de pollution provoque une diminution relative des fractions extractibles. Le surplus de minéralisation observé pour le plus fort taux de pollution se fait à partir des fractions extractibles, les fractions non-extractibles ne variant pas significativement. Dans le cas du sol SP1, le taux de pollution ne provoque aucune modification de la répartition des résidus de phénanthrène en fin d'incubation.

En conclusion, lorsqu'on augmente la concentration de phénanthrène lors des expériences de contamination artificielle des sols, une fraction plus importante de polluant est présente sous une forme plus accessible aux micro-organismes dégradants, mais également plus facilement volatilisable au cours des expériences d'incubation. Dans le cas des sols CSAC et CSAP, la baisse significative de la fraction extractible, quand le taux de contamination augmente, indique que la minéralisation du phénanthrène et les éventuelles pertes par volatilisation se font principalement aux dépens de la fraction extractible. En ce qui concerne la formation de résidus non extractibles en cours d'incubation, aucun effet de la teneur initiale en phénanthrène n'est observable sur les trois sols sélectionnés. Dans le sol industriel SP1 pollué par des HAP, aucun « effet concentration » n'est pas observable avec les techniques et les gammes de concentration utilisées.

IV.2.2- Effet de l'augmentation de la diffusivité du solvant sur le vieillissement biotique

Une des hypothèses avancées pour expliquer le vieillissement est la diffusion des polluants dans une micro-porosité structurale du sol non-accessible aux micro-organismes. Pour tester cette hypothèse et tenter de modéliser expérimentalement ce phénomène, nous avons réalisé des expériences de pollution artificielle de sols en utilisant différents solvants d'application. Le méthanol présente une diffusivité très élevée dans l'eau, ceci accompagné de l'augmentation de la solubilité des HAP dans le méthanol par rapport à l'eau doit provoquer une meilleure distribution du soluté (le HAP) dans le sol. Le polluant apporté en solution avec un solvant ayant une bonne diffusivité doit être entraîné dans des sites non ou plus difficilement accessibles que quand il est apporté dans une solution aqueuse. Ces expériences ont été réalisées sur les trois sols (CSAC, CSAP et SP1) avec apport du phénanthrène en solution dans trois solvants : de l'eau, du méthanol et du mélange 50/50 (en volume) eau/méthanol. Dans tous les cas, la concentration en phénanthrène des solutions est 0.65 mg l^{-1} .

Le phénanthrène appliqué en solution dans l'eau est directement disponible pour les micro-organismes du sol et sa minéralisation démarre très rapidement dès les premiers jours d'incubation (Fig. 18). La vitesse initiale de minéralisation du phénanthrène est plus rapide dans le sol CSAC que dans le sol CSAP, mais le taux de phénanthrène minéralisé après 3 mois d'incubation est identique pour ces deux sols (environ 50 % du phénanthrène initialement appliqué). Ce comportement peut correspondre à l'apparition d'un phénomène cinétiquement limitant, par exemple, l'adsorption/désorption. En effet, l'adsorption sur le sol CSAP est plus importante que sur le sol CSAC. La dégradation biologique implique, à un moment donné, une désorption pour rendre biodisponible le polluant vis-à-vis du micro-organisme ou des enzymes responsables de sa dégradation. Une forte adsorption va provoquer un ralentissement de la dégradation., mais ce ralentissement ne se traduit pas par une diminution du taux de dégradation. Autrement dit, l'adsorption du phénanthrène appliqué dans la solution aqueuse est réversible dans ces deux sols, mais la désorption est plus lente dans le sol CSAP, ce qui serait en relation avec sa teneur plus élevée en matière organique. Outre des problèmes spécifiques au niveau de la désorption à partir des interfaces solide / liquide, des phénomènes de diffusion peuvent aussi être impliqués dans l'apparition de cinétiques lentes de désorption. Ce point sera commenté plus loin.

Le phénanthrène en solution aqueuse appliqué sur le sol SP1, se minéralise très rapidement, avec des vitesses initiales comparables à celles qui sont trouvées dans le sol CSAC, mais avec un taux de minéralisation en fin d'incubation supérieur (autour de 70 % du phénanthrène appliqué). Ces résultats contrastent avec ceux qui sont obtenus avec le sol CSAP, car bien que la teneur en matière organique du sol SP1 est très élevée, des éventuels phénomènes d'adsorption ne semblent pas provoquer des phénomènes de ralentissement de la

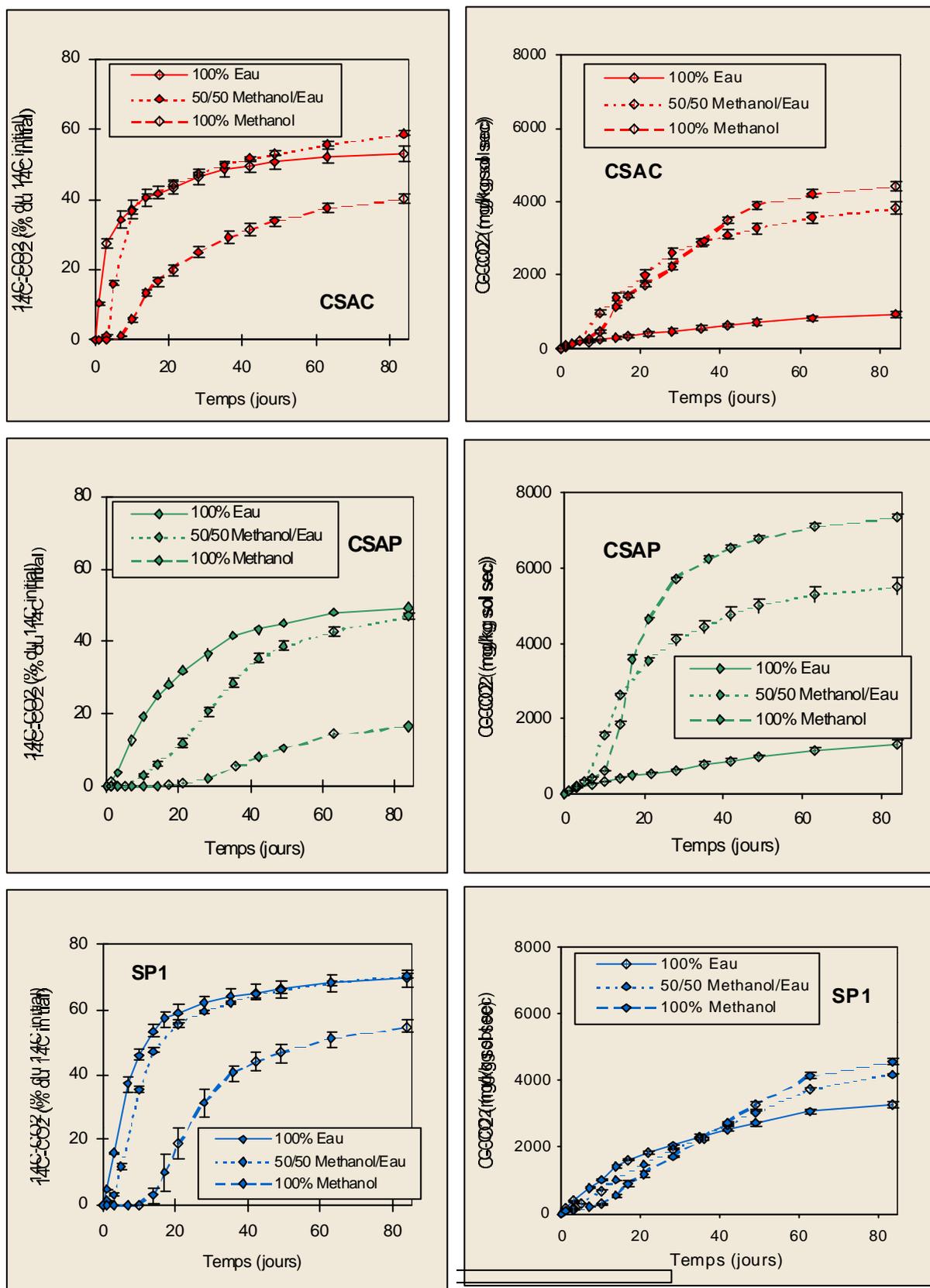


Figure 18 : Cinétiques de minéralisation du phénanthrène et cinétiques de minéralisation du carbone organique dans les sols CSAC, CSAP et SP1 en fonction du solvant d'application. Application par dépôt direct de 0.65 mg de phénanthrène par litre de solution.

directement liée à la nature de la pollution de ce sol par des HAP et des goudrons, peut présenter des propriétés solubilisantes vis-à-vis du phénanthrène. Ceci tendrait à maintenir une proportion élevée du phénanthrène appliqué sous une forme biodisponible. Une autre hypothèse, fait appel à une adaptation de la microflore de ce sol vis-à-vis de la dégradation des HAP, due à la pression de sélection en liaison avec la forte contamination du sol. Cette microflore spécialisée doit avoir une taille importante, colonisant uniformément ce sol et elle doit être immédiatement opérationnelle expliquant la mise en place très rapide de la dégradation du phénanthrène.

La modification du solvant d'application du phénanthrène avec addition du méthanol se traduit par l'apparition d'une phase de latence dans les cinétiques de minéralisation du phénanthrène, avec une diminution des vitesses initiales de minéralisation. Ces effets sont d'autant plus marqués que la proportion de méthanol dans le solvant d'application est importante. Quand le solvant est uniquement du méthanol, les modifications de cinétiques de minéralisation du phénanthrène ont comme conséquence une diminution importante des taux finaux de minéralisation, tout particulièrement dans le sol CSAP. Dans le cas des sols CSAC et SP1, les phases de latence des cinétiques de dégagement de $^{14}\text{C-CO}_2$ sont proches de celles qui sont observées lors du suivi des activités respiratoires globales. La cinétique de minéralisation du phénanthrène appliqué, dans une solution méthanol/eau (50/50) est très proche de celle obtenue quand l'application se fait directement dans une solution aqueuse en l'absence de méthanol. En revanche, quand le phénanthrène est appliqué dans du méthanol, sa minéralisation débute seulement après 10 jours d'incubation, avec une baisse importante du taux de phénanthrène minéralisé après 3 mois d'incubation. Pour CSAP, on remarque que la minéralisation du phénanthrène accuse un retard de plus de 21 jours avec quand il est appliqué dans du méthanol, soit une durée nettement supérieure à celle observée pour la cinétique de dégagement du CO_2 .

Comme précédemment, ces résultats peuvent être interprétés avec des hypothèses d'ordre physico-chimiques et microbiologiques, traduisant la probabilité d'une superposition de phénomènes de nature différente. L'interprétation physico-chimique fait appel à l'hypothèse initiale utilisée pour la conception de cette expérience. L'augmentation de la proportion de méthanol dans le solvant d'application provoque une augmentation de la diffusivité du solvant et de la solubilité du polluant. Ceci se traduit par un entraînement du polluant sur des sites localisés dans une micro-porosité non ou plus difficilement accessible au polluant apporté dans l'eau sans entraîneur organique. La localisation du phénanthrène dans ces sites le rend moins bioaccessible. Sa disponibilité pour être dégradé serait régulée par des phénomènes de diffusion à partir des micro-sites vers la solution du sol dans de pores de taille supérieure, compatible avec la taille des microorganismes responsables de la dégradation du phénanthrène. Cette « rétro-diffusion », étape préalable à la dégradation, serait en partie l'explication des temps de latence observés dans les cinétiques de minéralisation du phénanthrène. Le comportement comparé des sols CSAC et CSAP irait dans ce sens, car nous

pouvons supposer que la micro-porosité structurale est plus développée dans le sol sous prairie, en relation avec une teneur en matière organique et une activité biologique plus importantes.

Une autre explication d'origine microbiologique peut être avancée. Elle fait état d'une possible interférence du méthanol dans la dégradation du phénanthrène. Le méthanol peut être utilisé comme source de carbone par une partie de la microflore du sol, ce qui peut interférer dans la dégradation du phénanthrène : la microflore dégradant sélectivement les sources de carbone les plus facilement utilisables. Mais le méthanol peut aussi avoir une action toxique sur une partie de la microflore. Le surplus de C minéralisé peut provenir de la minéralisation directe du méthanol appliqué et/ou des corps microbiens lysés par l'action toxique du méthanol. Néanmoins, aucun effet dépressif sur la respiration globale n'est observé juste après l'application des solutions méthanoliques. Cependant, le flash de respiration observé dépend du volume de méthanol appliqué sur les échantillons : plus la proportion de méthanol est élevée, plus le flash est retardé, allant de 5 à 7 jours respectivement lorsque le phénanthrène est appliqué avec une solution méthanol/eau (50/50) ou uniquement avec du méthanol.

Le sol SP1 présente une très forte activité respiratoire ; l'addition de solutions méthanoliques provoque un ralentissement de l'activité biologique globale, ralentissement qui est plus important quand la proportion de méthanol augmente. Ceci irait dans le sens d'une action toxique du méthanol. Le rétablissement des niveaux d'activité comparables à ceux qui sont observés lors des incubations avec addition d'eau se fait lentement, sans apparition d'un flash respiratoire comme avait été observé sur les autres sols. Par ailleurs, on n'observe pas d'augmentation importante du taux de minéralisation du C total comme précédemment. Ces observations iraient dans le sens de la non-utilisation du C-méthanol par la microflore de ce sol. Ceci pourrait être expliqué par un phénomène de partage ou de pénétration du solvant dans la matière organique goudronneuse du sol. Le méthanol ainsi incorporé ne serait pas utilisable par la microflore.

La figure 19 présente les bilans de radioactivité après 3 mois d'incubation en fonction du sol et de la nature du solvant d'application du phénanthrène. Nous observons des pertes importantes de radioactivité, pouvant aller jusqu'à 20 % du phénanthrène initial, lorsque l'application du phénanthrène est effectuée avec le méthanol, en particulier dans les deux sols CSAC et CSAP. Ces pertes peuvent être imputables à des pertes par volatilisation. Elles sont en relation inverse aux capacités d'adsorption des sols : plus il y a de matière organique, plus l'adsorption du phénanthrène est importante, et moins il aurait tendance à se volatiliser. Ces pertes sont en relation directe avec la proportion de méthanol utilisé pour l'application, ce qui serait en relation avec l'inhibition de la minéralisation observée précédemment : plus la proportion de méthanol est importante, plus la minéralisation du phénanthrène est différée, et plus une part du phénanthrène appliqué est susceptible d'être volatilisé. Néanmoins, la co-

volatilisation du méthanol et du phénanthrène ne peut pas être écarté ; comme pour la minéralisation, cette co-volatilisation aurait comme conséquence une perte de phénanthrène au cours des premiers jours d'incubation. Par ailleurs, c'est en début d'incubation que les dispositifs d'incubation sont les plus aérés, au cours du remplacement relativement fréquent des pièges. Le dispositif d'incubation ne permet pas de piéger des fractions volatiles autres que le CO₂.

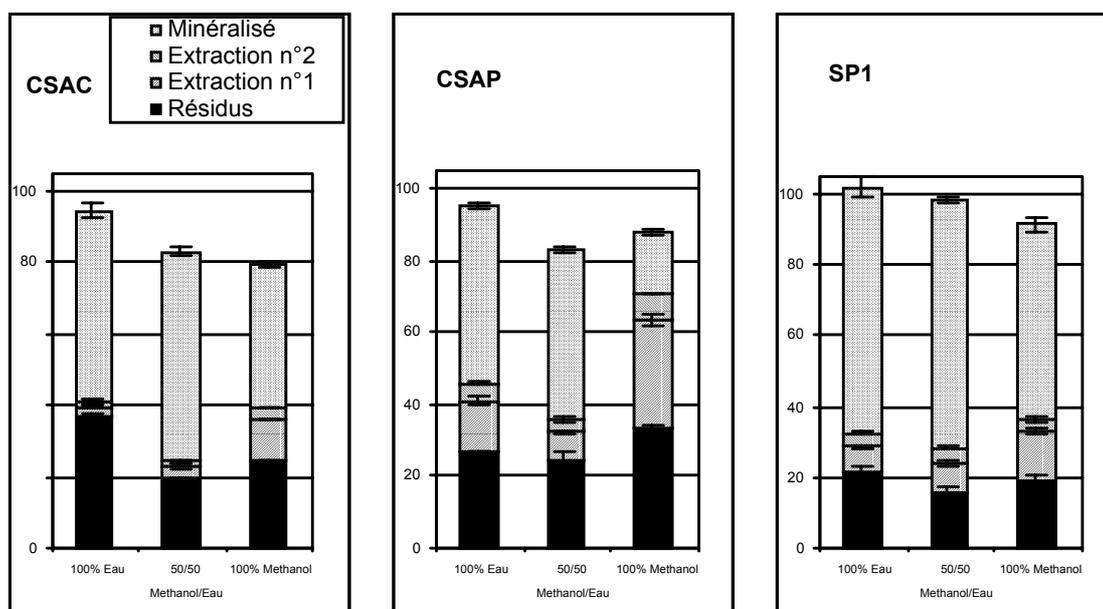


Figure 19 : Répartition de la radioactivité en fin de incubation du phénanthrène dans les sols CSAC, CSAP et SP1. Influence du solvant d'application

L'application du phénanthrène dans une solution méthanolique a non seulement pour effet de réduire la fraction minéralisée après trois mois d'incubation, mais également a pour effet d'augmenter la fraction de radioactivité extractible au méthanol. En supposant que cette fraction corresponde aux molécules de phénanthrène non accessibles aux micro-organismes du sol, le méthanol aurait donc pour effet de réduire la biodisponibilité du polluant dans les sols. Dans le cas du sol CSAP, plus riche en matière organique que le sol CSAC, la préservation des quantités plus importantes de phénanthrène en fin d'incubation s'accompagne d'une plus grande stabilisation de résidus sous une forme non extractible. Ces observations vont dans le sens d'une action protectrice du polluant par une localisation dans des micro-sites peu accessibles par les microorganismes (préservation de phénanthrène non minéralisable) et par le solvant (augmentation des résidus non extractibles). Dans le cas du sol CSAC, si la fraction de radioactivité extractible tend à augmenter, la fraction de radioactivité résiduelle diminue en fonction du pourcentage de méthanol de la solution d'application.

En conclusion, l'utilisation de solvants permettant de modifier la diffusivité permet de tester l'hypothèse de vieillissement par localisation des polluants dans une micro-porosité

structurale (minérale ou organique). Les effets les plus contrastés sont obtenus avec un solvant à grande diffusivité (le méthanol), mais des perturbations de la microflore et des interfaces solide/liquide du sol doivent être prises en compte. Les effets constatés peuvent être expliqués par des modifications physico-chimiques et/ou biologiques. La pollution artificielle d'un sol avec des solutions méthanoliques permet donc de préparer des sols pollués avec une bioaccessibilité du polluant plus réduite que lors des applications en milieu aqueux, facilitant la pénétration du phénanthrène au sein des micro-agrégats ou des colloïdes organiques, et conduisant à sa fixation sur des sites d'adsorption moins accessibles aux micro-organismes.

IV.2.3- Effet du temps d'adsorption du polluant sur le vieillissement biotique

Une autre hypothèse physico-chimique permettant d'expliquer le vieillissement de polluants organiques est l'accroissement des interactions responsables de l'adsorption et/ou une évolution du type d'interactions avec le temps de résidence du polluant dans les sols. L'accroissement du temps de contact peut permettre la diffusion du polluant au sein de la phase solide entraînant une baisse de son accessibilité vis-à-vis des micro-organismes du sol. Ce point rejoint une partie des hypothèses utilisées dans le paragraphe précédent. Ceci se traduit par une diminution de l'extractibilité des polluants avec diminution de leur biodisponibilité pour être dégradés. Pour tester cette hypothèse, la démarche expérimentale adoptée a consisté à procéder à la pollution artificielle d'un sol à l'aide des solutions contenant du phénanthrène (avec un rapport sol/solution 1/3 – masse/volume). Cette phase préalable de pollution par d'adsorption est conduite à différents temps, entre 1 et 90 jours. Ensuite, la biodisponibilité du polluant adsorbé vis-à-vis des micro-organismes du sol est testée à l'aide d'incubation d'aliquotes du sol pollué incorporé dans un sol non pollué présentant une bonne capacité minéralisatrice du phénanthrène. Le sol témoin retenu pour tester cette biodisponibilité est le sol CSAC, choisi sur la base des résultats précédemment décrits. Outre la prise en compte du facteur « temps d'adsorption », cette technique de pollution artificielle des sols permet la préparation d'échantillons de sol où le phénanthrène est adsorbé avec une plus grande homogénéité en évitant les phénomènes de précipitation pouvant se produire dans le cas d'un dépôt direct. De cette manière, on prépare des échantillons de sol CSAC, CSAP et SP1 pollués avec du phénanthrène adsorbé qui seront ensuite mis en incubation dans un échantillon de sol CSAC frais non pollué.

Les résultats sont comparés avec ceux qui sont obtenus lorsque le polluant organique est appliqué par dépôt direct sur les échantillons de sol CSAC. Les résultats sont présentés en deux parties : tout d'abord, les résultats avec des échantillons de sol pollués dans des suspensions de solutions de phénanthrène dans de l'eau et puis ceux qui sont obtenus quand

les échantillons sont préparés dans des suspensions de solutions de phénanthrène dans des mélanges eau/méthanol (50/50).

IV.2.3.1- Evolution de la biodisponibilité du phénanthrène adsorbé sur les sols à partir de solutions d'eau

L'adsorption du phénanthrène sur les différents échantillons de sol est effectuée en condition saturée en eau et en milieu non stérile. Les tubes à centrifuger contenant les suspensions de sol sont remplis de manière à réduire au maximum le volume d'air, limitant ainsi les risques de biodégradation du phénanthrène au cours de la phase de pollution artificielle. Après centrifugation, le sol pollué est récupéré et introduit dans le sol CSAC. Le phénanthrène dans la solution aqueuse est adsorbé à plus de 95 % sur les trois sols. Les teneurs en phénanthrène contenu dans les sols en incubation sont de l'ordre de $0.05 \mu\text{g g}^{-1}$ de sol sec. Les temps de contact sol-polluant de la phase préliminaire d'adsorption sont de 1, 5, 14, 40 et 90 jours, et toutes les incubations dans le sol CSAC frais ont duré 3 mois.

Dans le cas des incubations des associations CSAC-phénanthrène adsorbé pendant moins de 15 jours, la production de $^{14}\text{C-CO}_2$ suit pratiquement la même cinétique que celle obtenue dans le cas où le phénanthrène est appliqué directement sur le sol en solution aqueuse (Fig. 20). En effet, la minéralisation démarre dès les premiers jours d'incubation et conduit à la dégradation de plus de 50 % du phénanthrène initialement présent dans les échantillons. On observe une baisse de la vitesse de minéralisation lorsque le temps de contact sol-polluant est plus long.

Dans le cas du sol pollué CSAP mis en incubation dans le sol CSAC, l'effet du temps de contact sol-polluant sur la minéralisation du phénanthrène est plus faible. Une légère baisse de la vitesse de minéralisation au début des incubations est observée, ce qui rappelle l'allure des cinétiques de minéralisation obtenues lors de l'application directe sur le sol CSAP du phénanthrène en solution aqueuse (Fig. 18). Le comportement intermédiaire en début d'incubation pourrait être dû au pilotage de la minéralisation initiale par la microflore propre du sol CSAP.

L'activité respiratoire globale est plus élevée dans le cas où le phénanthrène est adsorbé pendant 90 jours sur les échantillons de sols CSAC et CSAP, comparativement à celle mesurée avec dépôt direct (Fig. 20).

Le phénanthrène adsorbé sur le sol SP1 se minéralise rapidement avec des cinétiques rappelant celles qui sont obtenues lors des expériences de pollution artificielle par contact direct. Comme précédemment, il semble que la minéralisation est pilotée par la microflore endogène de l'échantillon de sol pollué, avec une certaine indépendance du sol non pollué

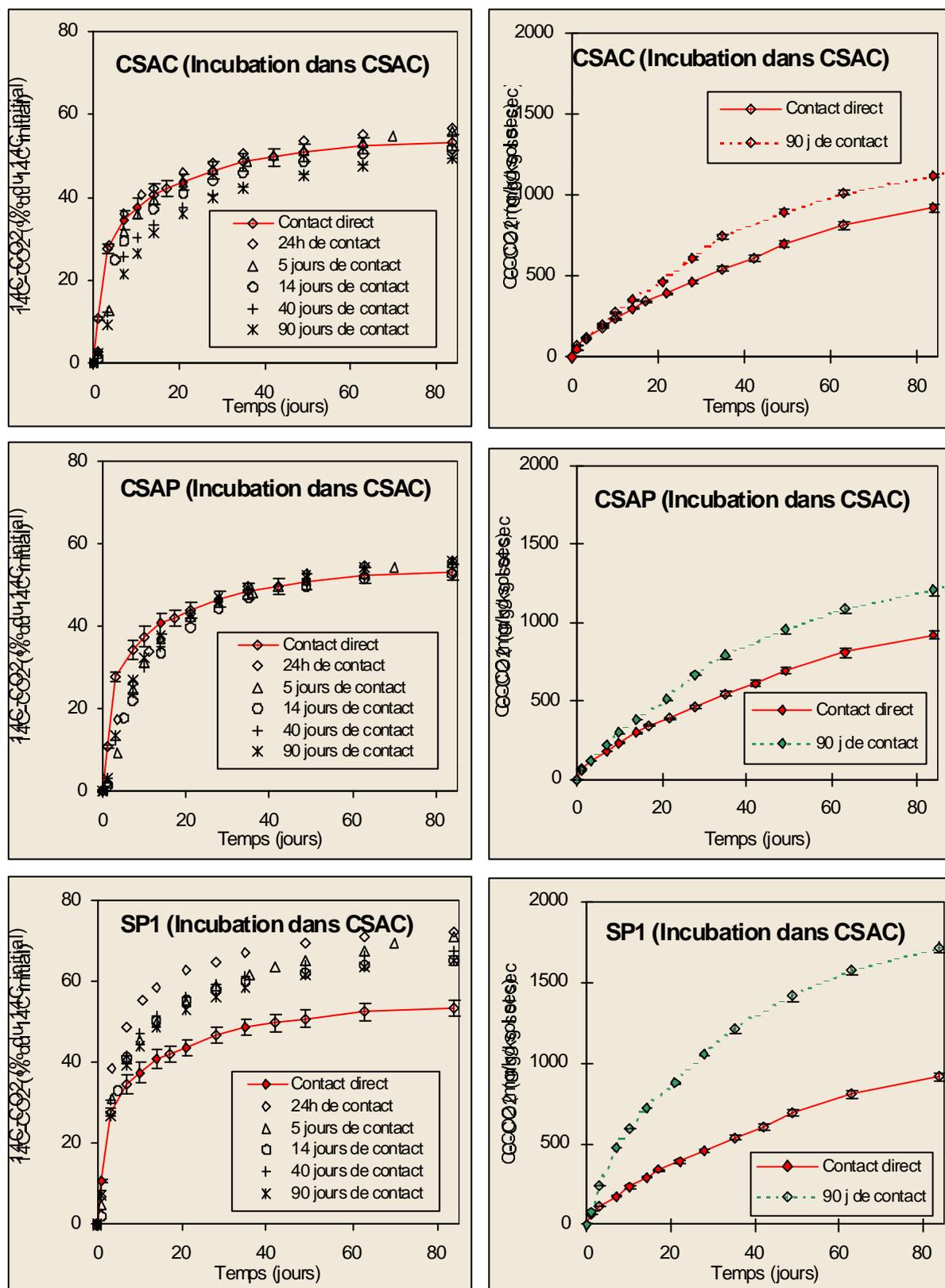


Figure 20 : Cinétiques de minéralisation du phénanthrène et cinétiques de minéralisation du carbone total en fonction du temps de contact sol-polluant en solution aqueuse. Comparaison avec les résultats obtenus par pollution par contact direct sur le sol CSAC.

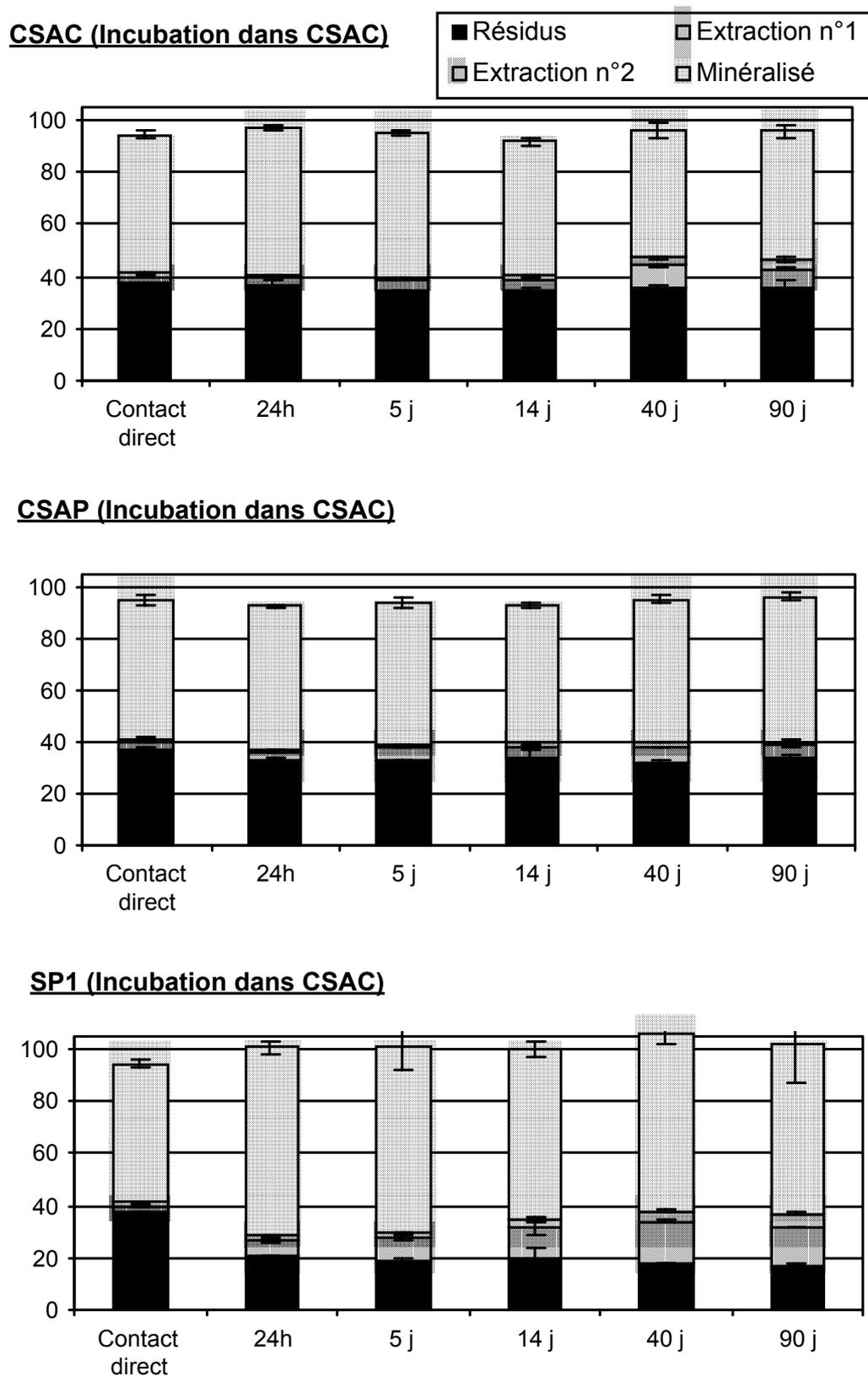


Figure 21 : Répartition de la radioactivité en fin d'incubation du phénanthrène en fonction du temps de contact sol-polluant en solution aqueuse. Comparaison avec les résultats obtenus par pollution par contact direct sur le sol CSAC..

La figure 21 présente la distribution de la radioactivité entre les fractions minéralisées, extractible et non-extractible pour les différents échantillons de sols en fin d'incubation. La phase préliminaire de contact sol-polluant par adsorption permet de réduire considérablement les pertes par volatilisation du phénanthrène par rapport à l'application direct sur le sol. Dans le cas des sols CSAC et SP1, la réduction de la minéralisation du phénanthrène en fonction de la durée de contact a pour effet d'augmenter la fraction extractible. Il n'y a pas de variation significative du pourcentage de ^{14}C non extractible. Ces observations montrent que la baisse du taux de phénanthrène minéralisé est due à la préservation d'une partie du phénanthrène sous une forme non bioaccessible, mais extractible, donc chimiquement disponible. Elles confirment l'hypothèse que la durée du contact entre le sol et le polluant facilite la « séquestration » du phénanthrène dans la micro-porosité structurale (minérale et/ou organique) diminuant ainsi sa disponibilité. Néanmoins, les proportions de phénanthrène impliquées sont relativement faibles.

IV.2.3.2- Evolution de la biodisponibilité du phénanthrène adsorbé sur les sols à partir de mélanges eau/méthanol (50/50)

Un protocole de contamination de sol par adsorption préalable, similaire à celui utilisé précédemment, a été utilisé à partir des solutions de phénanthrène solubilisé dans des mélanges eau/méthanol (50/50). Le protocole a été simplifié en ne gardant que deux durées d'adsorption : 1 et 90 jours. Dans ces conditions, 42.4, 59.6 et 97.9 % du phénanthrène initialement en solution sont respectivement adsorbés sur les sols CSAC, CSAP et SP1. Ce qui représente des quantités de phénanthrène de 4.1, 7.3 et 11.0 $\mu\text{g g}^{-1}$ de sol sec, respectivement pour CSAC, CSAP et SP1. Les cinétiques de minéralisation du phénanthrène et celles de l'activité respiratoire globale obtenues en fonction du temps de contact sol-polluant sont comparées aux cinétiques obtenues lorsque le phénanthrène est déposé directement sur le sol CSAC (Fig. 22).

Le ralentissement des cinétiques de minéralisation est d'autant plus important que la phase préalable d'adsorption sol-polluant est longue. Cependant, ce ralentissement au début des incubations ne s'accompagne pas d'une baisse du taux de minéralisation du phénanthrène en fin d'incubation : la disponibilité du phénanthrène semble être cinétiquement limitée, mais la taille du compartiment disponible ne semble pas être modifiée. Pour les sols CSAC et CSAP, les cinétiques de minéralisation du phénanthrène sont similaires. la vitesse de minéralisation diminue en fonction du temps d'adsorption. Dans le cas du sol SP1, une phase de latence de 21 jours pour les deux temps d'adsorption est observée, avec un démarrage plus rapide après une journée d'adsorption et des quantités minéralisées plus faibles pour le temps d'adsorption le plus long. Etant donné que les incubations sont réalisées dans le même sol (CSAC), les modifications de cinétique de minéralisation sont induites par la réduction de la quantité de phénanthrène disponible. Cette quantité varie suivant la nature du sol sur lequel est adsorbé et dépend du temps de contact sol-polluant. D'après les cinétiques de dégagement

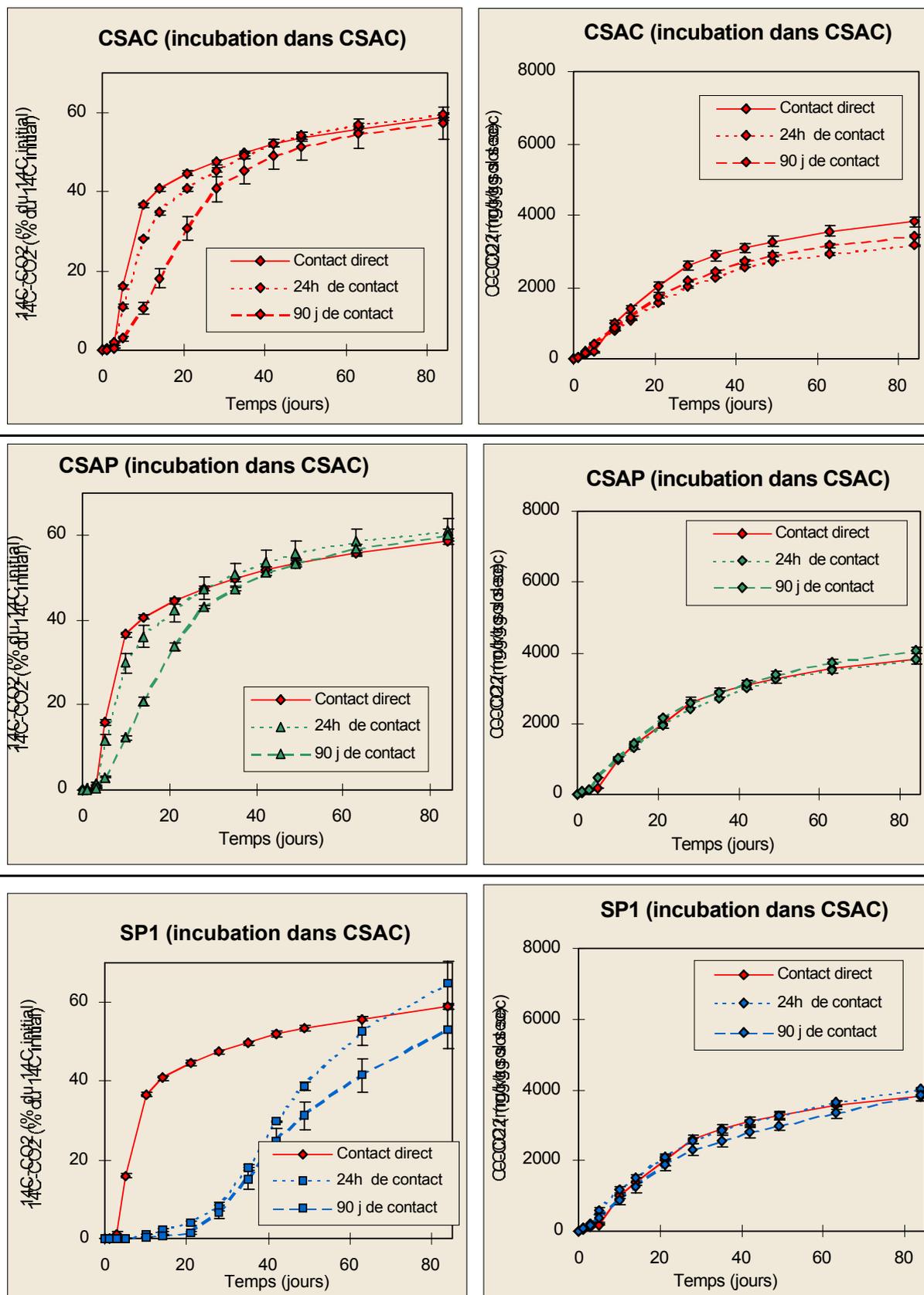


Figure 22 : Cinétiques de minéralisation du phénanthrène et cinétiques de minéralisation du carbone en fonction du temps de contact sol-polluant dans une solution eau/méthanol (50/50). Comparaison avec les résultats obtenus par pollution par contact direct sur le sol CSAC.

de CO₂, le mode d'application n'a pas d'influence sur l'activité microbienne du sol. Le méthanol favorise la pénétration du phénanthrène dans la fraction organique facilitant ainsi la fixation du polluant hydrophobe sur des sites moins accessibles aux micro-organismes.

La distribution de la radioactivité après trois mois d'incubation est présentée dans la figure 23. La phase préliminaire d'adsorption du phénanthrène à partir du mélange eau/méthanol sur CSAC et CSAP a un effet significatif sur la formation des résidus non extractibles par rapport au témoin contaminé par contact direct. Après trois mois d'incubation, les quantités de radioactivité non-extractible représentent 33.2 et 29.7 % pour les sols CSAC et CSAP, respectivement, et seulement 19.3 % pour le sol témoin CSAC. Ainsi, l'addition de méthanol, facilitant la pénétration et l'adsorption dans des sites moins accessibles, aurait également pour effet de faciliter la formation d'interactions responsables d'une stabilisation chimique et biologique du phénanthrène.

En conclusion, la contamination d'un sol par adsorption préalable du polluant à partir

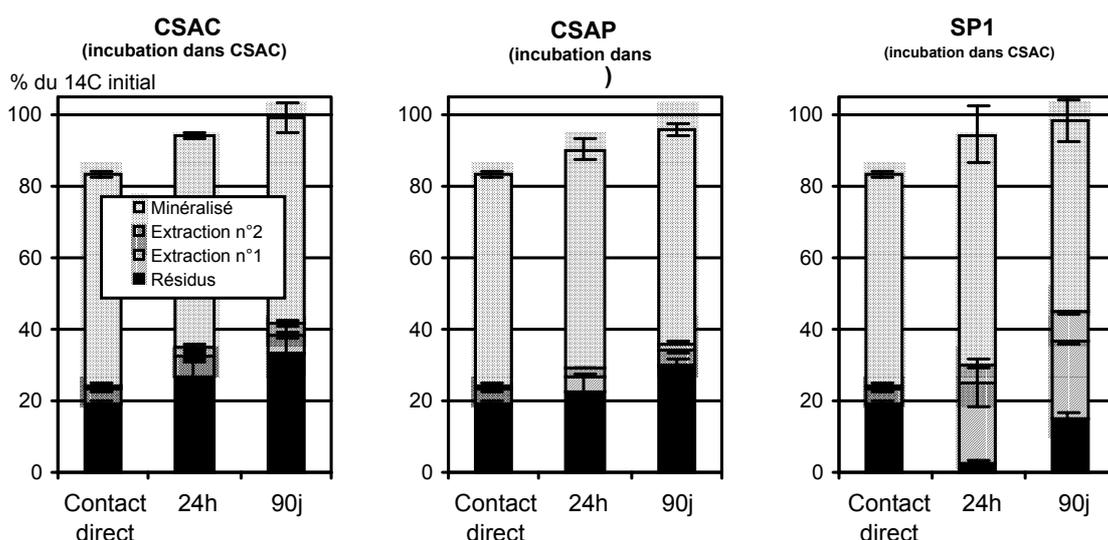


Figure 23: Répartition de la radioactivité en fin d'incubation du phénanthrène en fonction du temps de contact sol-polluant en solution eau/méthanol (50/50). Comparaison avec les résultats obtenus par pollution par contact direct sur le sol CSAC.

des solutions contenant le polluant permet une contamination plus homogène de l'échantillon du sol. Néanmoins, le comportement du polluant est très proche de celui observé quand les contaminations artificielles se font par application directe. Le comportement du polluant est dépendant du sol sur lequel il est adsorbé et relativement indépendant d'un possible changement de son environnement microbiologique, ceci est particulièrement visible dans le sol industriel fortement pollué par d'autres HAP. Comme lors d'expériences effectuées par contamination directe des sols, l'addition d'un solvant augmente la diffusivité, entraînant la pénétration du phénanthrène dans une micro-porosité moins accessible aux micro-organismes,

et provoquant une augmentation de la préservation du polluant sous une forme extractible, ainsi que de la stabilisation du polluant sous une forme non – extractible.

IV.2.4- Evaluation de l'activité spécifique de minéralisation des HAP en fonction de l'activité globale de la microflore des sols.

Le $^{14}\text{CO}_2$ dégagé est une bonne indication de la progression de la dégradation des HAP. Néanmoins, du fait que les HAP ne sont pas uniformément marqués au ^{14}C , le ^{14}C récupéré sous forme de CO_2 est un indice de la minéralisation partielle de la molécule contenant le ^{14}C . Nous avons utilisé dans ce travail des HAP avec du ^{14}C uniquement sur un carbone de la molécule, en choisissant l'atome réputé le plus résistant à la minéralisation d'après les voies métaboliques connues. Les taux et les vitesses de minéralisation des HAP diminuent quand le nombre de cycles augmentent (Fig. 24). La minéralisation est rapide pour le phénanthrène, atteignant entre 40 et 70 % du ^{14}C initial, tandis que dans les sols d'origine agricole, elle ne dépasse pas les 20 et 2 % pour le fluoranthène et le BaP respectivement (Tableau 23).

Tableau 23 : Taux de minéralisation à 3 et 6 mois des 3 HAP et caractéristiques des cinétiques correspondantes.

HAP	Minéralisation à 3 mois % ^{14}C -HAP initial	Minéralisation à 6 mois % ^{14}C -HAP initial	Temps de latence de la microflore spécifique
Benzo(a)pyrène			
CSAC	1,06 ± 0,06	1,87 ± 0,07	linéaire
CSAP	1,28 ± 0,12	1,78 ± 0,06	linéaire
SP1	5,10 ± 1,22	10,9 ± 0,8	60 jours
Fluoranthène			
CSAC	7,6 ± 0,7	20,3 ± 2,0	linéaire + 100 j
CSAP	4,4 ± 0,2	8,2 ± 0,9	linéaire
SP1	42,2 ± 0,8	47,5 ± 2,9	15 jours
Phénanthrène			
CSAC	60,1 ± 1,0	ND	5 jours
CSAP	48,9 ± 1,2	ND	1 jour
SP1	71,4 ± 0,8	ND	1 jour

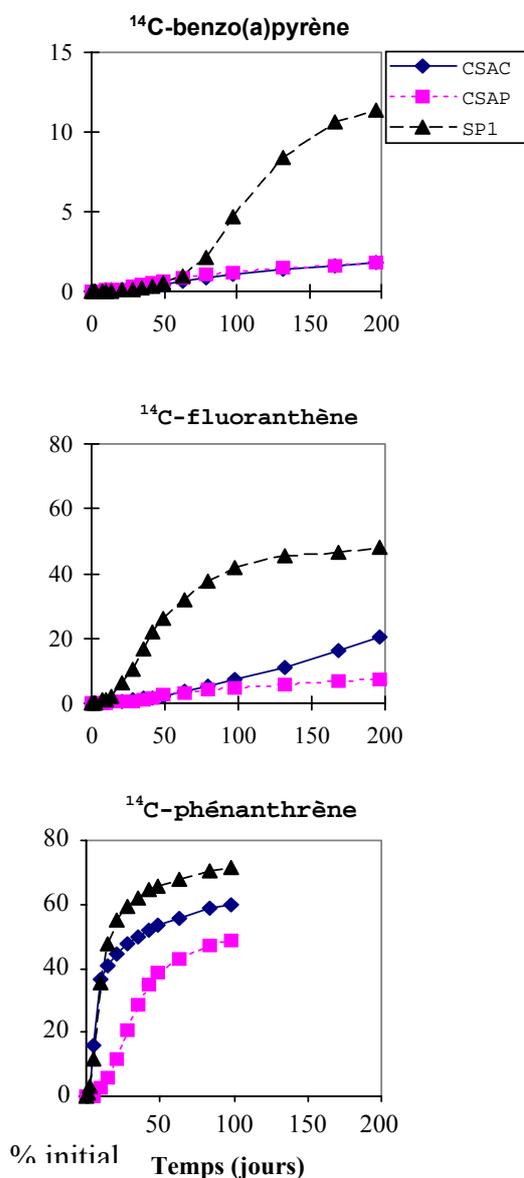


Figure 24 : Cinétiques de minéralisation des trois HAP dans les trois sols.

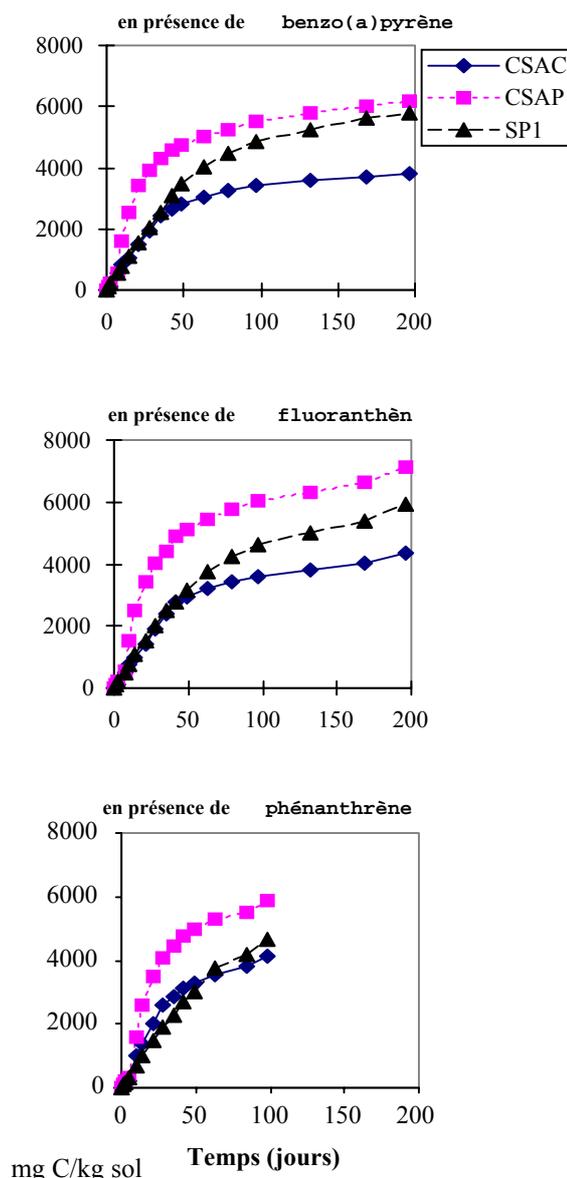


Figure 25 : Cinétiques de minéralisation de la matière organique du sol caractérisant l'activité biologique globale après addition des trois HAP.

La minéralisation des trois HAP est beaucoup plus importante dans le sol pollué SP1. L'augmentation du taux de minéralisation est d'autant plus importante que le HAP est lourd. Ainsi, plus de 10 % du BaP est minéralisé tandis que dans les sols non-pollués d'origine agricole le taux de minéralisation en fin d'incubation restait autour de 1 %. Ce comportement

semble être indicateur de la présence d'une microflore spécifique dans ce sol, adaptée à la présence de ce type de polluant et dotée du bagage enzymatique nécessaire pour dégrader complètement ces HAP.

D'autre part, les cinétiques de minéralisation présentent un temps de latence d'autant plus important que le HAP est complexe (Tableau 23). Ce temps de latence correspond au temps nécessaire à la population des microorganismes responsables de la dégradation du HAP pour atteindre une taille critique. Une autre explication des temps de latence de minéralisation est l'intervention des phénomènes physico-chimiques de désorption/diffusion limitant la disponibilité des polluants ; ce point a fait l'objet d'études spécifiques avec le phénanthrène et a été largement discuté dans les paragraphes précédents. Lors des expériences avec le phénanthrène, nous avons montré que l'augmentation de la diffusion du polluant dans la microporosité (structurale ou colloïdale) favorisée par l'utilisation d'un solvant vecteur plus diffusif que l'eau, ceci provoquait l'augmentation des temps de latence de minéralisation. Ce phénomène peut expliquer l'allure des cinétiques de minéralisation du BaP, car, en raison de sa très faible solubilité dans l'eau, il a été apporté au sol directement dans une solution méthanolique. Dans ces conditions, les phénomènes diffusifs seraient le facteur limitant expliquant le temps de latence de minéralisation, en particulier dans le sol SP1. Ce type de comportement permet aussi d'expliquer pourquoi la minéralisation des HAP est plus importante dans le sol cultivé (CSAC) que dans le sol sous prairie. En effet, l'augmentation des teneurs en matière organique dans le sol CSAP favorise la protection par sorption des HAP limitant leur dégradation, ceci couplé à l'absence des microorganismes spécifiques de la dégradation de ces polluants provoque un ralentissement des cinétiques de minéralisation des HAP, malgré une activité biologique globale plus importante que dans le sol sous culture (CSAC).

En effet, les données respirométriques obtenues à partir des mesures du dégagement total de CO₂ issu de la minéralisation de la matière organique des sols (Fig. 25) permettent de faire une évaluation de l'activité biologique globale des sols dans les conditions d'incubation. Ce point a été largement discuté précédemment. Le suivi effectué sur les échantillons ayant reçu du BaP et de FLT confirme les résultats obtenus avec le phénanthrène sur une période d'incubation plus courte. L'activité biologique globale la plus importante est mesurée dans le sol sous prairie (CSAP). Elle est caractérisée par un flush de minéralisation au début des incubations, ce qui est en relation avec une réactivation importante de la microflore du sol et surtout avec la consommation rapide d'une plus large proportion de carbone organique labile facilement dégradable. La disponibilité supérieure du carbone dans le sol CSAP par rapport au sol CSAC est liée à son origine herbacée et au rôle de la rizhosphère, où les exsudats racinaires constituent une source de carbone labile favorisant le développement de la biomasse microbienne du sol.

Ces cinétiques peuvent être décrites par un modèle numérique supposant une dégradation d'ordre 1 :

$$C-CO_2 = C_0 (1 - e^{-kt})$$

où $C-CO_2$ est la quantité de carbone minéralisé à un temps t (jours), C_0 , la quantité de C du sol minéralisable ($mg\ C\ kg^{-1}\ sol$) et k est le coefficient de vitesse d'ordre 1 (j^{-1}). Les résultats des ajustements de ce modèle aux cinétiques de minéralisation du C total du sol (Tableau 24), permettent d'estimer la taille du compartiment minéralisable (indicateur de la labilité de la matière organique du sol) et le correspondant coefficient de vitesse (indicateur de l'activité relative de la microflore du sol).

Tableau 24 : Taux de minéralisation à 3 et 6 mois des 3 HAP et caractéristiques des cinétiques correspondantes.

HAP	Carbone minéralisable	Coefficient de vitesse	%C minéralisable du C
	C_0 ($mg\ C\ kg^{-1}$)	K (j^{-1})	total du sol
Benzo(a)pyrène			
CSAC	3761 ± 59	$0,0263 \pm 0,0011$	$25,2 \pm 0,4$
CSAP	5908 ± 147	$0,0347 \pm 0,0026$	$18,8 \pm 0,5$
SP1	6105 ± 109	$0,0159 \pm 0,0006$	$6,7 \pm 0,1$
Fluoranthène			
CSAC	4191 ± 97	$0,0242 \pm 0,0013$	$28,1 \pm 0,7$
CSAP	6644 ± 173	$0,0301 \pm 0,0022$	$21,2 \pm 0,6$
SP1	6092 ± 106	$0,0146 \pm 0,0005$	$6,7 \pm 0,1$
Phénanthrène			
CSAC	4343 ± 184	$0,0288 \pm 0,0027$	$29,1 \pm 1,2$
CSAP	5952 ± 238	$0,0376 \pm 0,0039$	$19,0 \pm 0,8$
SP1	6663 ± 315	$0,0122 \pm 0,0009$	$7,3 \pm 0,3$

On constate que la quantité de C minéralisable est directement corrélée à la quantité de C total dans les sols non pollués, bien que ce C minéralisable représente une proportion du C total plus importante dans le sol cultivé CSAC (25 à 29 % du C total) que dans le sol sous prairie CSAP (19 à 21 % du C total). Sous prairie, l'activité biologique est plus importante, révélé par des coefficients de vitesse plus élevés. Le sol pollué (SP1), malgré sa teneur élevée en carbone organique, présente une faible activité biologique, comparable à celle du sol CSAC, au cours des deux premiers mois d'incubation. Après deux mois d'incubation, on assiste à une minéralisation lente et progressive dénotant un maintien d'activité à un niveau de

respiration comparable à celui du sol CSAP. Ceci se traduit par un compartiment de C minéralisable très faible (6 à 7 % du C total), avec les coefficients de vitesse les plus faibles.

La comparaison des cinétiques de dégagement de CO₂ obtenues après addition des différents polluants permet de conclure que, dans les conditions expérimentales utilisées, il n'y a pas d'effet notable ou d'action toxique sur l'activité globale de la microflore des sols. Ceci corrobore les résultats obtenus avec le phénanthrène. Dans le cas des sols non pollués, on observe uniquement une diminution du C minéralisable, en particulier dans le sol CSAC.

IV.2.5-- Caractérisation des phases de vieillissement au cours des incubations

Un des mécanismes impliqués dans le processus de vieillissement est la stabilisation des résidus des polluants associés à la matière organique des sols et pouvant être opérationnellement mis en évidence à l'aide de techniques d'extraction. En effet, les résidus non extractibles des polluants peuvent être considérés issus d'un processus de vieillissement ayant provoqué leur stabilisation. La figure 26 et le tableau 25 présentent comparativement les résultats de la répartition de la radioactivité provenant des ¹⁴C-HAP entre la partie minéralisée, et les fractions extractibles et non extractibles au méthanol. Ce bilan de répartition de la radioactivité a été réalisé après 3 mois d'incubation pour les trois HAP et après 6 mois d'incubation pour les deux HAP les plus persistants (BaP et FLT). On constate que la proportion des résidus non extractibles ne varie pas avec le temps, tandis que la minéralisation des HAP se fait aux dépens des fractions extractibles : quand la minéralisation augmente, la quantité de résidus extractibles diminue. Donc l'extractibilité au méthanol semble être un bon indicateur de la biodisponibilité potentiel des HAP.

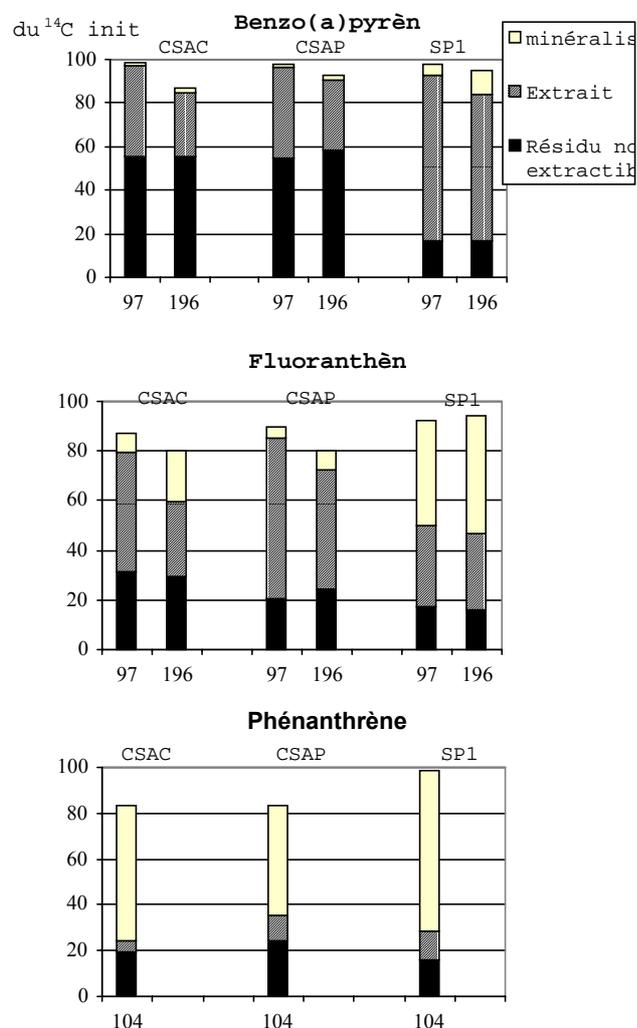


Figure 26 : Répartition de la radioactivité des trois ¹⁴C-HAP après incubation entre les fractions minéralisée, extractible et non extractible.

La stabilisation sous forme de résidus non extractibles se fait rapidement au cours des trois premiers mois d'incubation, sans augmentation de leur proportion entre 3 et 6 mois d'incubation. Ce compartiment contenant les résidus non extractibles n'intervient pas dans les phénomènes de dégradation : ces résidus stabilisés sous forme de résidus non extractibles seraient les plus difficilement dégradables. Dans les sols agricoles, CSAC et CSAP, la quantité de résidus non extractibles de BaP est plus importante que celles de FLT et phénanthrène. La formation des résidus non extractibles est d'autant plus importante que la molécule est hydrophobe. Dans le sol pollué SP1, les quantités de résidus non extractibles sont faibles quelque soit le HAP.

La comparaison des trois sols permet de dégager une tendance générale vers une préservation plus importante des résidus des HAP non minéralisables quand la teneur en matière organique des sols augmente. Cette préservation ou protection vis-à-vis des microorganismes dégradants se fait sous forme de résidus pouvant être extraits avec un solvant organique. Cette protection se fait aux dépens du compartiment non extractible : plus la teneur en carbone organique du sol augmente plus le rapport [résidus extractibles / résidus non extractibles] est élevé. Autrement dit, la protection des HAP vis-à-vis des microorganismes dégradants fait intervenir la matière organique, mais cette protection ne se fait pas par une immobilisation dans le compartiment des résidus non extractibles, elle se fait probablement par un phénomène de partage qui par la suite peut être déplacé par un partage compétitif entre la matière organique et le solvant lors des processus d'extraction. Ce phénomène est particulièrement important pour le BaP, le HAP le plus lourd étudié et le plus hydrophobe.

Tableau 25 : Répartition de la radioactivité des 3 HAP (en % du ^{14}C initial) entre les résidus extractibles et non extractibles par le méthanol, après d'une simulation de vieillissement au laboratoire de 3 et 6 mois.

HAP	Résidus non extractibles (% initial)		Résidus extractibles (% initial)	
	3 mois	6 mois	3 mois	6 mois
Benzo(a)pyrène				
CSAC	55,4 ± 0,2	55,8 ± 6,0	41,7 ± 0,5	29,0 ± 2,2
CSAP	54,5 ± 1,6	58,5 ± 3,3	41,6 ± 0,2	32,1 ± 1,7
SP1	16,7 ± 0,7	16,9 ± 0,6	76,2 ± 1,8	67,1 ± 2,3
Fluoranthène				
CSAC	31,6 ± 0,7	0,0242 ± 0,0013	47,8 ± 1,0	30,5 ± 2,5
CSAP	20,8 ± 0,4	0,0301 ± 0,0022	64,6 ± 1,1	48,2 ± 3,3
SP1	17,3 ± 0,4	0,0146 ± 0,0005	32,6 ± 0,7	30,8 ± 2,2
Phénanthrène				
CSAC	19,3 ± 0,8	ND	5,0 ± 0,3	ND
CSAP	24,6 ± 1,9	ND	11,1 ± 0,9	ND
SP1	16,1 ± 1,5	ND	12,2 ± 0,8	ND

La non extractibilité des résidus constitue une indication sur des phénomènes de stabilisation participant à la diminution de la disponibilité des polluants au cours de leur vieillissement. Certains auteurs considèrent la formation des résidus non extractibles comme une voie de dissipation complémentaire contribuant à la décontamination des sols pollués. Néanmoins des interrogations restent concernant la réversibilité du stockage de ces résidus. En effet certaines expériences ont mis en évidence la remobilisation des résidus liés en fonction des variations des conditions du milieu ou par intervention de l'activité de certains microorganismes.

L'analyse chromatographique des extraits méthanoliques issus des incubations avec du phénanthrène contiennent très peu de radioactivité, dans certains cas en deçà du seuil de détection de la technique chromatographique utilisée. Quand nous avons pu réaliser des analyses, pour des extraits des sols CSAC et CSAP incubés avec du phénanthrène, le seul composé détecté dans ces extraits était le phénanthrène. Dans les extraits issus des incubations des sols avec le FLT, la molécule mère est présente majoritairement, accompagnée des traces d'un métabolite avec un temps de rétention de 25,2 min, inférieur au temps de rétention du FLT, donc plus polaire. Au contraire, dans les extraits issus des incubations des sols avec du BaP, la proportion des métabolites est très importante dans les sols d'origine agricole. Les métabolites représentent 60 et 30 % de la radioactivité des extraits du sol CSAP et CSAC respectivement. Tous ces métabolites sont plus polaires que la molécule mère, et ils sont les mêmes dans les deux sols. En revanche, le seul composé détecté dans les extraits du sol pollué SP1 est le BaP, sans aucune trace des métabolites.

Ces observations sont à mettre en relation avec les cinétiques de minéralisation. Là où la minéralisation est la plus importante, il n'y a pas d'accumulation de métabolites détectables dans les extraits. Tandis que quand la minéralisation est faible, il y a apparition des métabolites : il y a une dégradation biologique, mais elle ne va pas jusqu'au stade ultime de la minéralisation, soit parce que le système enzymatique des microorganismes impliqués n'est pas complet, soit parce qu'une stabilisation des métabolites intermédiaires provoque un blocage de la dégradation.

IV.3- Localisation et stabilité des polluants en fonction du temps de contact

La micro-localisation des polluants organiques dans les échantillons de sol constitue une indication sur les mécanismes impliqués dans leur stockage et donne des informations utilisables pour comprendre les mécanismes intervenant dans leur devenir, en particulier lors de la mise en place des procédés de décontamination. En effet, l'hétérogénéité de la distribution des polluants et leur association à une classe des constituants de sols donnés sont des indications indirectes sur les propriétés de surface des constituants des sols ou sur la réactivité du polluant. La matière organique des sols est le facteur prépondérant intervenant dans ces phénomènes de stabilisation, c'est la raison pour laquelle nous avons appliqué des techniques de fractionnement utilisées pour l'étude des constituants organiques des sols aux échantillons vieillissés contaminés artificiellement avec les ^{14}C -HAP. Ce type d'analyse complète des observations sur la morphologie des dépôts des polluants lors de la contamination artificielle des sols.

IV.3.1- Hétérogénéité de répartition spatiale

Un premier type d'information est l'analyse de l'homogénéité de la distribution des HAP dans les échantillons. Ceci peut s'approcher quantitativement grâce à la visualisation de la radioactivité par autoradiographie électronique. Les autoradiographies des échantillons du sol CSAP, artificiellement pollués avec les 3 ^{14}C -HAP, sont présentées après une phase de vieillissement par incubation au laboratoire de 3 mois (Fig. 27). Cette technique permet la visualisation de la radioactivité dans la partie superficielle de l'échantillon. En effet, le ^{14}C est un émetteur β de faible énergie, c'est-à-dire que les électrons émis ont un faible parcours ne pouvant traverser que des faibles épaisseurs. Des chocs des particules β avec différents constituants (particules solides, ou même l'eau d'hydratation) sont très dissipatifs, stoppant ces particules ou diminuant drastiquement leur parcours effectif. Les images obtenues représentent donc la répartition de la radioactivité dans la partie la plus superficielle du pavé d'échantillon, avec une profondeur de l'ordre du millimètre. Dans ces images, l'intensité des gris est directement proportionnelle à l'activité (nombre de désintégrations), donc on peut aisément faire une exploitation quantitative. Pour cela, on définit une surface à laquelle il faut soustraire un bruit de fond. Pour estimer le rendement de la mesure, on réalise sur le même échantillon un comptage de leur teneur en par autoradiographie et par mesure en scintillation liquide après combustion (Oxidizer).

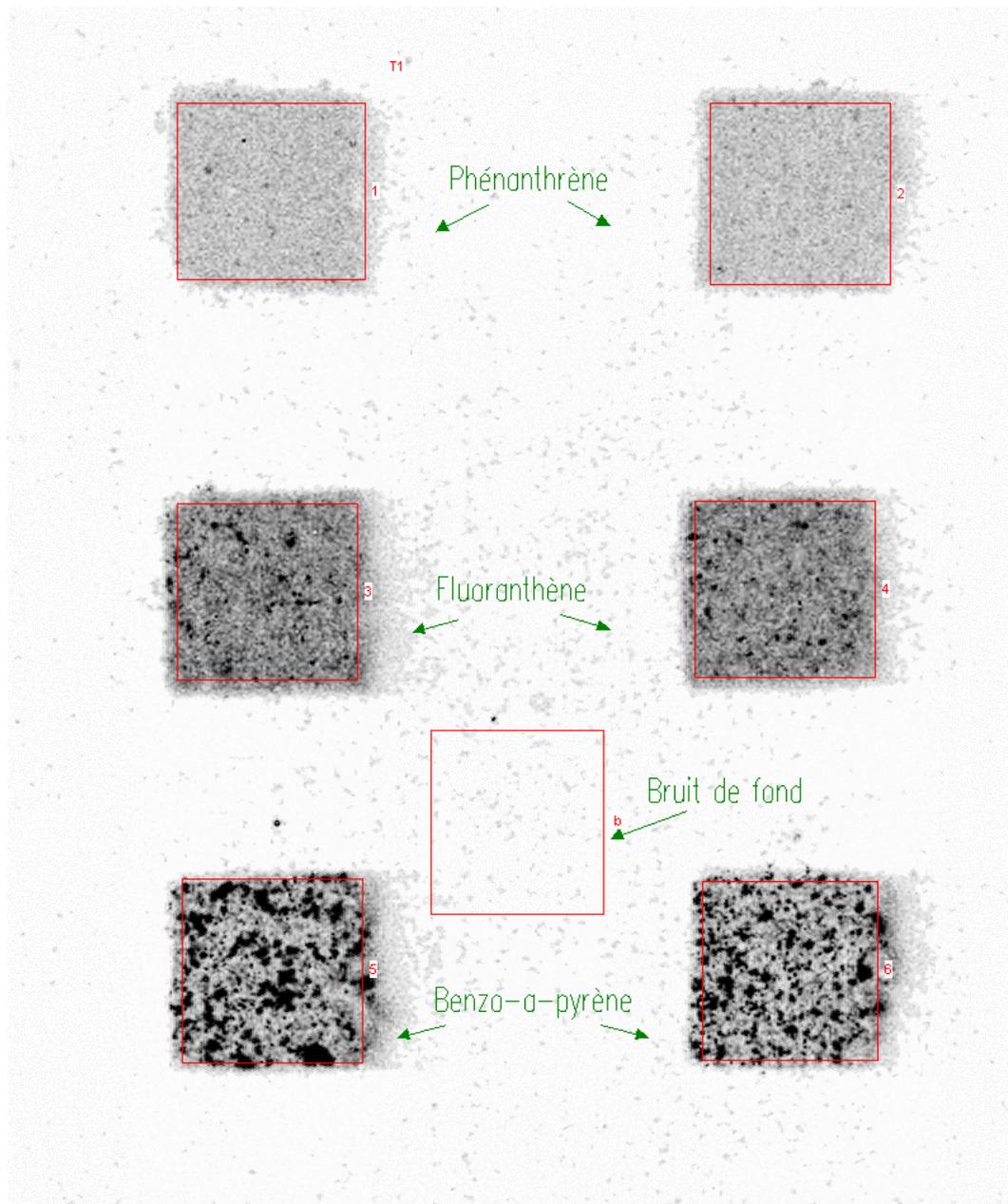


Figure 27 : Autoradiographies électroniques des surfaces des échantillons des sols vieillis avec les trois ^{14}C -HAP.

Pour approcher une estimation de l'épaisseur effective de comptage par autoradiographie, nous avons calculé l'efficacité de comptage sur un papier filtre traité avec une quantité connue de radioactivité. Dans ces circonstances, le rendement de comptage est de $0,6 \pm 0,1$ %. Des efficacités de comptage ont été évaluées sur les échantillons vieillis avec les trois HAP sur des couches de sol de 2 mm. Les rendements de comptage obtenus sont : $0,0084 \pm 0,0003$ %, $0,0090 \pm 0,0019$ % et $0,0163 \pm 0,0004$ % pour le phénanthrène, le FLT et le BaP respectivement. Ces résultats indiqueraient que l'épaisseur effectif de comptage par autoradiographie est de l'ordre de 20 μm . Par ailleurs, l'augmentation de l'efficacité de comptage avec l'hydrophobicité des HAP pourrait être en relation avec une moindre pénétration dans la microporosité des molécules les plus hydrophobes qui serait

préférentiellement localisées à la surface des échantillons ou dans la partie externe des micropores.

Dans l'exemple proposé dans la figure 27, on constate le comportement différent des échantillons en fonction du type de polluant. L'hétérogénéité de la répartition de la radioactivité augmente avec la hydrophobicité et la complexité structurale des molécules HAP. Pour le phénanthène, nous avons une répartition diffuse et homogène dans l'ensemble

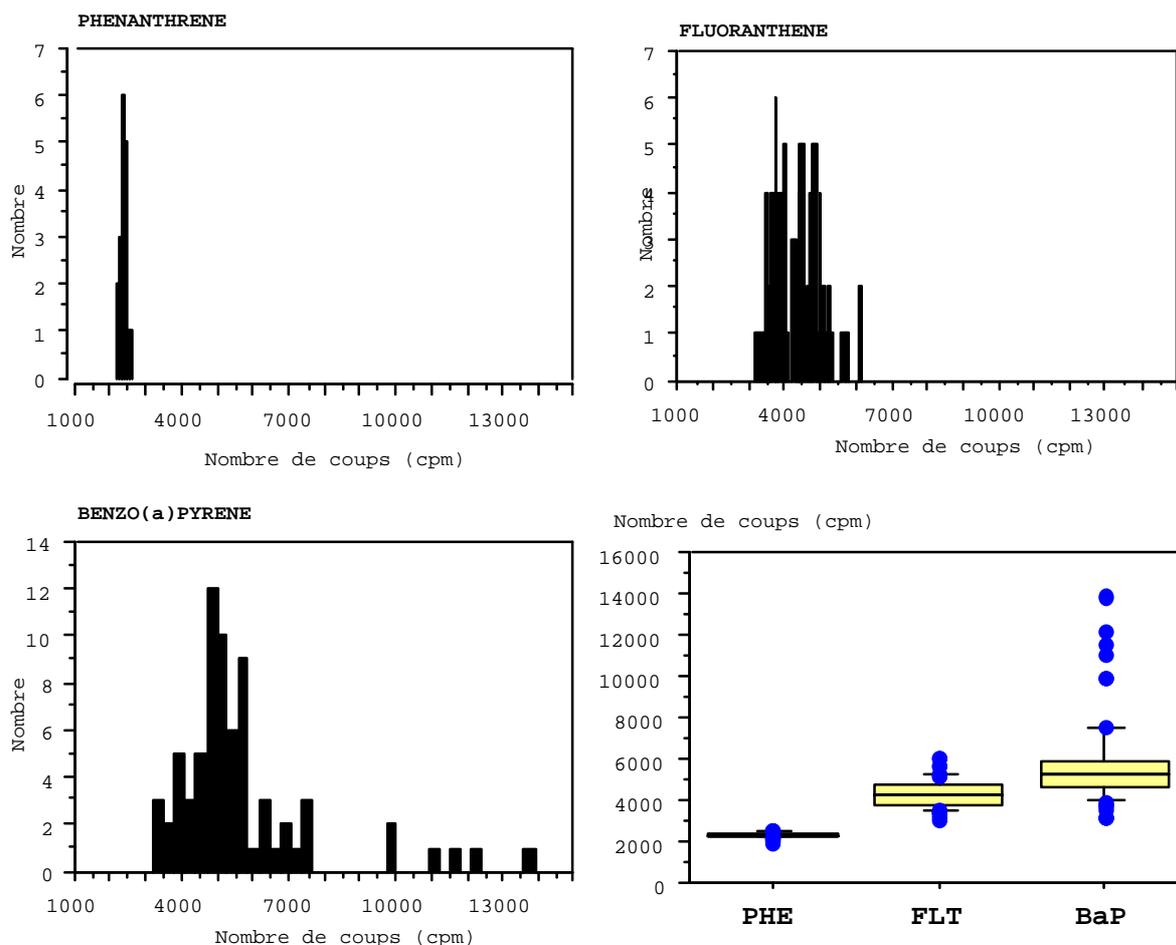


Figure 28 : Histogrammes de fréquence montrant la distribution de la radioactivité comptée dans les surfaces des échantillons des sols vieillis avec les trois ^{14}C -HAP décomposée en sous-unités carrées uniformes et diagramme en boîtes montrant l'analyse statistique de la répartition des observations autour des moyennes.

de l'échantillon, tandis que pour le BaP, la radioactivité est localisée en amas. Pour le FLT, nous avons une situation intermédiaire. Ces résultats sont en concordance avec les résultats précédents obtenus lors de l'étalonnage. On constate dans cette figure la bonne répétitivité de la technique, au moins qualitativement, malgré la préparation manuelle des échantillons.

Pour rendre compte de l'hétérogénéité de répartition de la radioactivité, nous avons définis dans la zone de mesure pour chaque échantillon 36 sous-unité de mesure qui ont été traitées séparément. La figure 28 présente les histogrammes de fréquence des mesures effectués pour l'ensemble de répétitions. On constate l'élargissement de la base des histogrammes avec l'augmentation de l'hydrophobicité de la molécule. Ceci se traduit par les coefficients de variation suivants (écarts type divisés par les moyennes) : 4,8 %, 15,7 % et 35,8 % pour le phénanthrène, le fluoranthène et le benzo(a)pyrène respectivement. Nous avons analysé isolement les amas de radioactivité détectés. Nous avons procédé à l'isolement des plages de mesure correspondant à des amas caractéristiques dans chaque échantillon (Fig. 29). La radioactivité de chaque amas a été évaluée individuellement et a été exprimée par densité de surface (nombre de désintégrations par mm²). Les histogrammes de répartition des mesures effectuées sont dans la figure 30. On y constate à nouveau que la densité de la radioactivité par unité de surface varie dans des plages plus larges quand l'hydrophobicité du polluant augmente. Ainsi les coefficients de variation obtenus sont : 23,5 % et 34,6 % pour le fluoranthène et le benzo(a)pyrène respectivement.

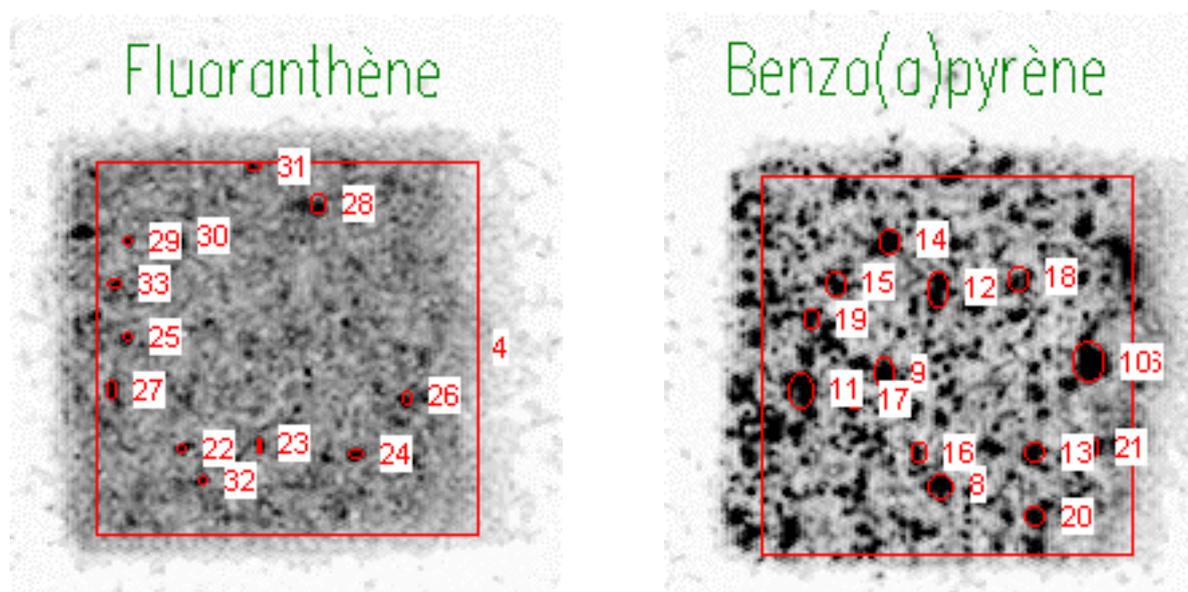


Figure 29 : Délimitation des amas ayant une la concentration superficielle en ¹⁴C élevée sur les surfaces des échantillons des sols vieillis avec du fluoranthène et du benzo(a)pyrène.

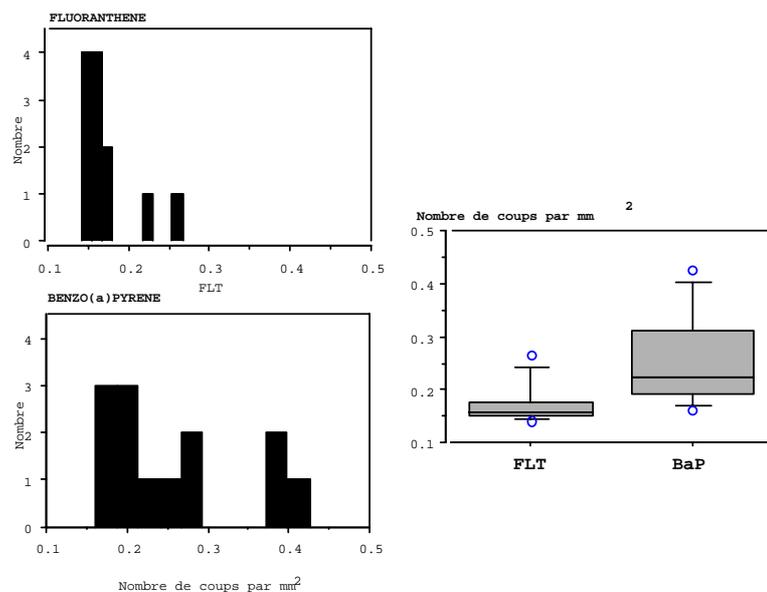


Figure 30 : Histogrammes de fréquence montrant la distribution de la radioactivité comptée dans les amas définis dans la figure 12 sur les surfaces des échantillons des sols vieillis avec le ¹⁴C-fluoranthène et le ¹⁴C-Benzo(a)pyrène, et diagramme en boîtes montrant l'analyse statistique de la répartition des observations autour des moyennes.

Cette hétérogénéité de répartition est étroitement dépendante de la nature du polluant. Ceci est mis en évidence dans la figure 31 qui montre la relation entre les coefficients de variation précédemment obtenus et l'hydrophobicité des molécules estimée par leurs coefficients de partage Kow : plus une molécule est hydrophobe, plus elle sera adsorbée sur le sol, et moins sa distribution sera homogène au sein d'un échantillon de sol. Ceci a des conséquences sur l'ensemble des phénomènes conditionnant le devenir des polluants. En effet, les gradients de concentration observés au niveau de microsites de stockage peuvent influencer le développement de la microflore dégradante. S'il y a un effet concentration sur la dégradation des polluants, nous allons observer des microgradients de développement de la microflore avec l'apparition de sites plus ou moins difficilement accessibles à cette

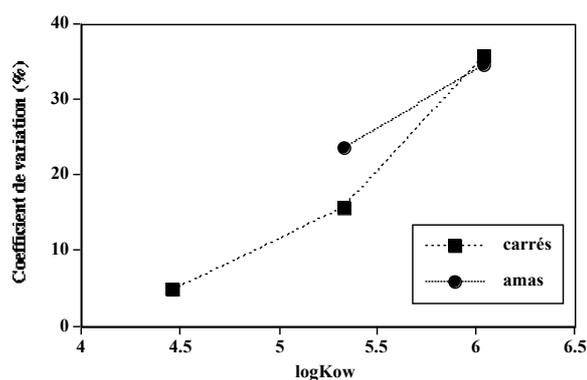


Figure 31 : Variation de la variabilité spatiale de la localisation de la radioactivité à la surface des échantillons de sol vieillis avec les ³¹⁴C-HAP.

microflore. Cette localisation hétérogène aura des conséquences aussi sur la disponibilité des polluants pour des phénomènes de lixiviation tant naturelle que lors des traitements de dépollution. Pour conclure, la formation d'amas peut être le révélateur macroscopique d'un fonctionnement au niveau moléculaire où la localisation des polluants fait intervenir des interactions entre molécules polluantes, la composante entropique de l'adsorption due à un effet hydrophobe favorisant des « interactions entre molécules » serait prépondérante dans les mécanismes d'adsorption de ce type de molécule.

IV.3.1.1- Influence du type de molécule sur la répartition spatiale des polluants

La figure 32 montre l'évolution de l'hétérogénéité spatiale entre le moment du dépôt des ^{14}C -HAP (0 jour) et la fin de l'incubation (49 jours). Comme pour les résidus âgés de 3 mois, plus le HAP est hydrophobe ou plus il a un poids moléculaire élevé (ou un nombre de cycle élevé), plus cette hétérogénéité est importante. Pour le PHE et le FLT, le coefficient de variation diminue au cours de l'incubation, passant, respectivement de 25,6 à 21,6 et de 28,7 à 23,9. Alors que pour le BaP, la variabilité de sa répartition reste constante lors de l'incubation. En effet, il est de 49,3 lors du dépôt et de 48,9 après 49 jours.

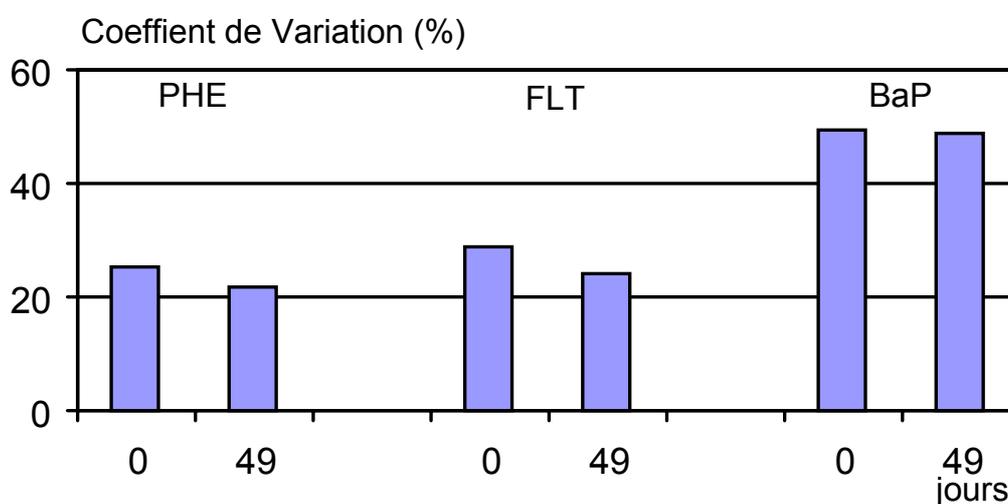


Figure 32: Evolution de l'hétérogénéité de la répartition de la radioactivité provenant des ^{14}C -HAP entre le moment de leur application au sol CSAC (0 jours) et la fin de l'incubation (49 jours).

En fin d'incubation, chaque galette de sol est retournée et la radioactivité dans la face opposée à celle ayant reçu le polluant est autoradiographiée. Le fond de la boîte de Pétri,

après évacuation du sol, et le couvercle sont aussi autoradiographiés. Les résultats obtenus par intégration des surfaces totales autoradiographiées sont normalisés en fonction des quantités initiales apportées de chaque polluant. Les valeurs obtenues permettent de comparer les différents systèmes, mais ils ne peuvent pas être utilisés comme des données quantitatives absolues car on ne dispose pas des valeurs de rendement de comptage dans les conditions expérimentales utilisés. La répartition des ^{14}C -HAP en fin d'incubation, dans les différents compartiments du dispositif est présentée dans la figure 33. Plus le HAP est léger plus il se retrouve dans les parties les plus éloignées de la surface d'application. Ceci indique une capacité de migration plus importante, soit au moment de l'application (pénétration avec le solvant d'application) soit au cours de l'incubation par un processus de diffusion. Les mesures effectuées sur la face inférieure du sol sont de $1,32 \pm 0,02$ % (% normalisé par rapport aux quantités initialement appliquées) pour le PHE, $1,23 \pm 0,0$ % pour le FLT et $0,32 \pm 0,02$ % pour le BaP. Les mesures effectuées sur le fond plastique de la boîte de Pétri sont de $1,42 \pm 0,09$ % pour le PHE et $0,48 \pm 0,05$ % pour le FLT. Dans le cas du BaP, aucune trace de ^{14}C n'est détectée au fond de la boîte.

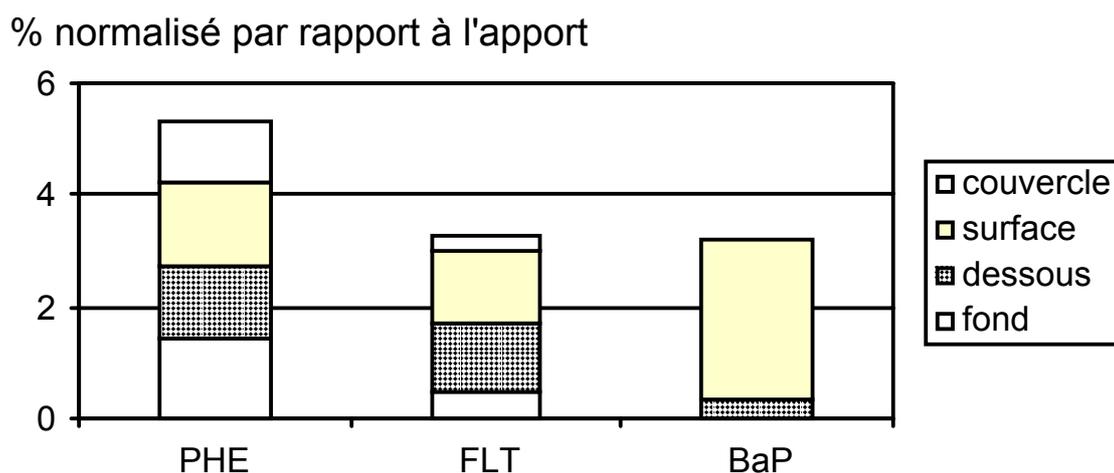


Figure 33 : Répartition de la radioactivité en fin d'incubation entre la surface et le dessous des galettes des échantillons de sol, ainsi qu'entre le fond et le couvercle des boîtes de Pétri ayant contenu le sol.

Les résultats sont exprimés en % de la radioactivité intégrée sur la totalité de la surface mesurée rapportée à la quantité totale de radioactivité apportée.

A partir de ces données, un indice de migration ou de pénétration peut être calculé en exprimant la somme de la radioactivité mesurée par intégration des dessous des galettes de sol et celles des fonds des boîtes de Pétri par rapport à la radioactivité intégrée dans les surfaces des galettes de sol. Plus ce rapport est élevé, plus le polluant incriminé a migré (ou pénétré)

dans l'échantillon de sol. La figure 34 montre les moyennes des valeurs obtenues pour la mesure de cet indice de migration en fonction du logKow (coefficient de partage octanol-eau), indice du caractère hydrophobe des molécules. On constate qu'il y a une relation inverse étroite entre le caractère hydrophobe des polluants et leur capacité à pénétrer une couche de sol. Ceci est en relation avec leur capacité d'adsorption comme il a été déjà commenté plus haut. En résumé, la migration ou la pénétration des HAP est moins importante pour les molécules les plus hydrophobes.

Le dispositif « boîte de Pétri » permet de mettre en évidence une perte d'une proportion variable des HAP par volatilisation. Le couvercle plastique fonctionne comme un piège à composés organiques faisant intervenir des phénomènes d'adsorption gaz-solide. La proportion des HAP ainsi piégés augmente quand le nombre de cycles diminue (Fig. 33) et il correspond bien aux caractéristiques de volatilisation des HAP : $1,05 \pm 0,08$ % pour le PHE, $0,23 \pm 0,07$ % pour le FLT, 0 % pour le BaP.

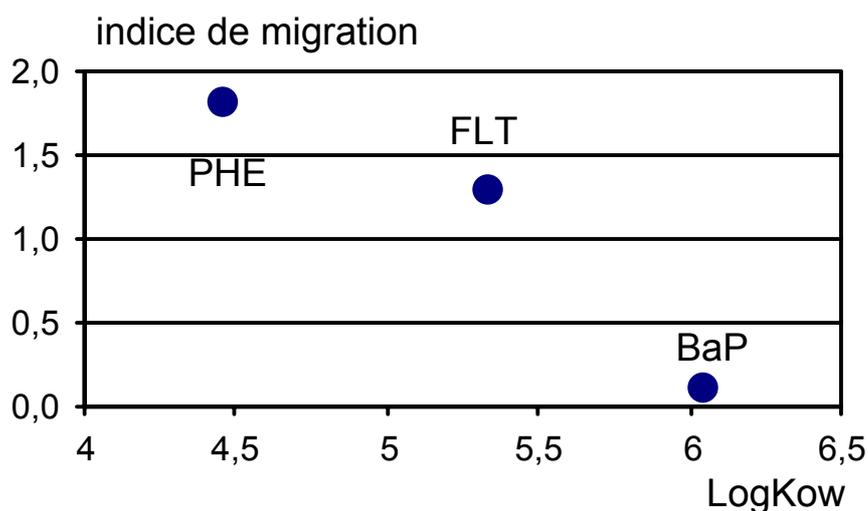


Figure 34 : Variation d'un indice de pénétration ou de migration en fonction de l'hydrophobicité des HAP estimée à partir des coefficients de partage « octanol-eau » (Kow). L'indice de migration représente la radioactivité trouvée dans la partie inférieure du dispositif d'incubation (dessous des galettes de sol et fond des boîtes de Pétri) par rapport à la radioactivité restant au niveau de la surface d'application.

IV.3.1.2- Influence de l'humidité du sol sur la répartition spatiale des polluants

Le degré d'humidité du sol au moment de l'application des HAP est un facteur important pouvant modifier les mesures réalisées, ainsi que les caractéristiques de migration des HAP. Les mesures effectuées par autoradiographie des surfaces des échantillons des sols juste après l'application des HAP à la surface du sol pour le BaP et le FLT sont plus élevées sur le sol sec que sur le sol humide (Fig. 35). Au moment du dépôt, la radioactivité intégrée au niveau de la surface est de $5,48 \pm 0,27$ % (% normalisé par rapport aux quantités de radioactivité initialement apportée) pour le BaP et $5,21 \pm 0,33$ % pour le FLT apportés sur sol sec. Ces pourcentages sont de $3,49 \pm 0,09$ % pour le BaP et $3,26 \pm 0,22$ % pour le FLT apportés sur le sol humide, pour des quantités apportées similaires. Cette différence peut être expliquée par la dissipation énergétique des particules bêta émises par les noyaux de ^{14}C en raison des chocs avec les molécules d'eau. Cet artefact est temporaire car, l'humidité des sols ne peut pas être maintenue constante dans les dispositifs utilisés (en effet, les surfaces des sols humides sont très largement asséchées après 4 jours d'incubation). Mise à part cette explication artefactuelle, la diminution du rendement de comptage sur les sols humides pourrait indiquer une diminution réelle de la radioactivité résiduelle au niveau de la surface dans le cas d'une diffusion des HAP au-delà des 20 μm effectifs pour l'autoradiographie, diffusion favorisée sur des échantillons humides par rapport aux échantillons de sol sec.

La figure 35 montre l'évolution des résultats obtenus par intégration des autoradiographies des surfaces des échantillons tout le long des incubations. L'évolution la plus importante se fait pendant les 4 premiers jours d'incubation, puis les résultats d'intégration de la radioactivité de surface varient peu. Cette variation ne peut pas être attribuée à des phénomènes de dissipation car il est relativement similaire pour les deux HAP

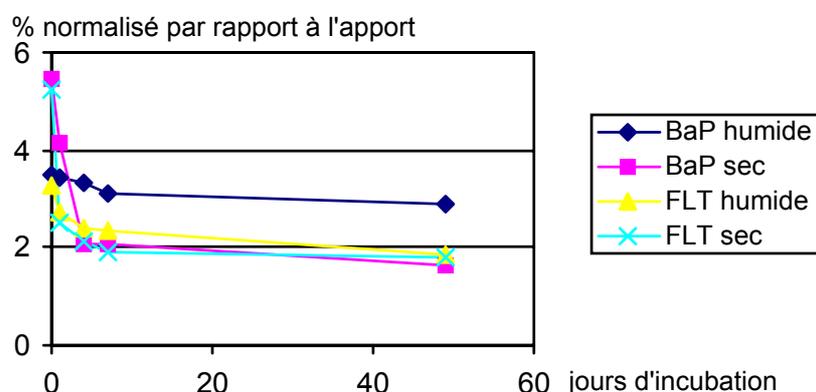


Figure 35 : Cinétique de dissipation apparente de la radioactivité provenant des ^{14}C -HAP (FLT et BaP) à la surface des échantillons de sol initialement secs et initialement humides.

testés (FLT et BaP) et les cinétiques de minéralisation présentent une chronologie totalement différente (Fig. 36). Ces cinétiques de minéralisation montrent une phase de latence de 3 à 7 jours, avec un très faible taux de minéralisation, le plus élevé étant pour le FLT dans le sol humide. L'évolution observée dans la figure 36 doit probablement être le résultat d'une diffusion des molécules. Après 7 jours, le système semble figé, tendant à un équilibre de répartition des HAP, ceci est à rapprocher du fait que les sols sont secs après 7 jours. La minéralisation des deux molécules est plus importante sur sol humide que sur sol sec. Après 49 jours, la quantité de ^{14}C -HAP minéralisée, exprimée en % de la quantité initialement apportée, est de $0,021 \pm 0,018$ pour le BaP et $0,013 \pm 0,001$ pour le FLT apportés sur sol sec. Ces quantités minéralisées sont, dans le cas où les apports sont faits sur sol humide, de $0,112 \pm 0,004$ pour le BaP et $0,593 \pm 0,054$ pour le FLT.

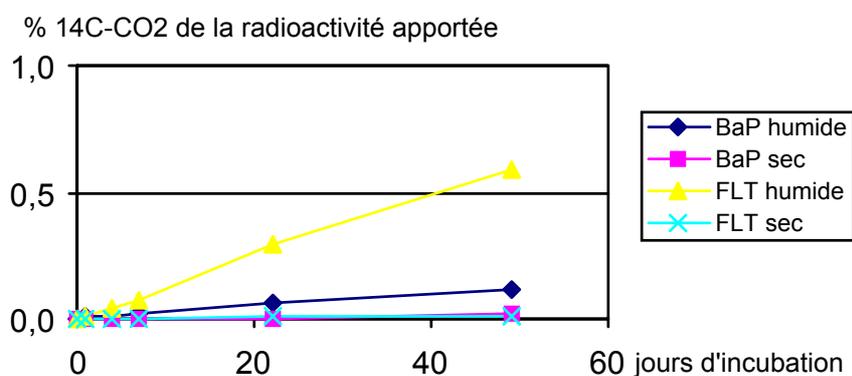


Figure 36 : Cinétiques de minéralisation des ^{14}C -HAP (FLT et BaP) apportés sur des échantillons de sol sec et humide.

La répartition des ^{14}C -HAP en fin d'incubation, dans les différents compartiments du dispositif (Fig. 37) montre que la présence d'eau freine la diffusion du BaP mais n'a pas d'influence sur la répartition finale de la radioactivité provenant du FLT. Après 49 jours, l'intégration de la radioactivité à la surface de l'échantillon traité avec du BaP représente $2,87 \pm 0,01$ % (% normalisés par rapport à l'apport) pour le sol humide et $1,65 \pm 0,51$ % pour le sol sec. Les quantités retrouvées sur la surface inférieure de la galette de sol traité avec du BaP représentent $0,32 \pm 0,02$ % pour le sol humide et $0,55 \pm 0,12$ % pour le sol sec. Pour le FLT, les mesures sur la face supérieure et la face inférieure du sol ne sont pas différentes que le sol soit sec ou humide. Comme précédemment, le calcul d'un indice de migration ou de pénétration permet de relativiser comparativement ces résultats. Cet indice est pour le FLT de 0,96 dans le sol humide et de 0,87 dans le sol sec. Pour le BaP, l'indice de pénétration est de 0,11 dans le sol humide et de 0,33 dans le sol sec.

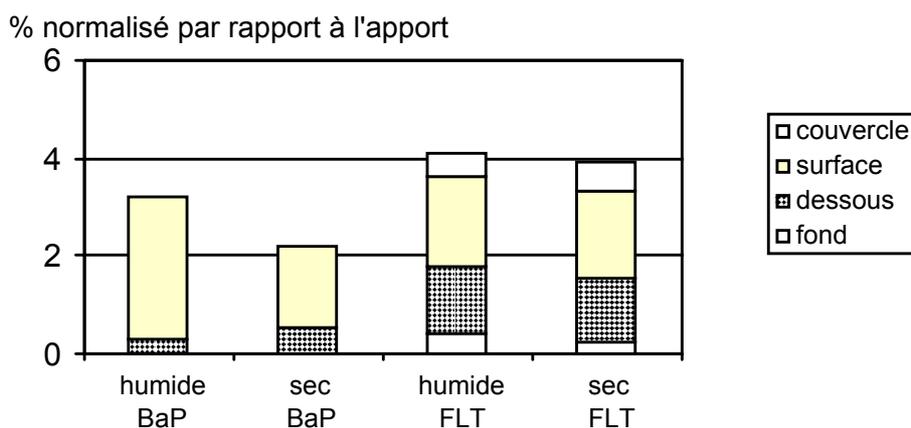


Figure 37 : Répartition de la radioactivité en fin d'incubation entre la surface et le dessous des galettes des échantillons de sol, ainsi qu'entre le fond et le couvercle des boîtes de Pétri ayant contenu le sol initialement humide ou sec. Les résultats sont exprimés en % de la radioactivité intégrée sur la totalité de la surface mesurée rapportée à la quantité totale de radioactivité apportée

IV.3.1.3- Influence du solvant d'apport des HAP sur leur répartition spatiale

L'influence du solvant d'apport a été largement discutée dans les paragraphes précédents. La radioactivité restant à la surface du sol traité avec du ^{14}C -FLT ou ^{14}C -PHE est plus importante quand les HAP sont apportés avec un mélange méthanol/eau comme solvant que quand ils sont apportés avec du méthanol. Juste après l'apport, la radioactivité autoradiographiée à la surface du sol correspond à $2,49 \pm 0,16$ % pour le FLT et $2,86 \pm 0,05$ % pour le PHE quand ils sont apportés avec du méthanol/eau. Par contre, ces quantités sont $1,92 \pm 0,08$ % pour le FLT et $2,27 \pm 0,08$ % pour le PHE apportés avec du méthanol. Ceci correspondrait à une meilleure pénétration ou entraînement des HAP avec le méthanol, solvant avec une capacité de diffusion plus élevée que l'eau. Après l'application, la radioactivité de la surface du sol diminue rapidement pendant les 4 premiers jours d'incubation (Fig. 38), selon une évolution comparable à celle observée dans la partie précédente.

La figure 39 présente les cinétiques de minéralisation du FLT et du PHE apportés avec du méthanol ou avec le mélange méthanol/eau. Pour les deux HAP, la minéralisation est plus importante quand le solvant d'apport est le mélange méthanol/eau que quand il est du méthanol. Après 49 jours, la quantité de ^{14}C -HAP minéralisée, exprimée en % de la quantité initialement apportée, est de $0,029 \pm 0,001$ pour le FLT et $0,85 \pm 0,74$ pour le PHE apportés

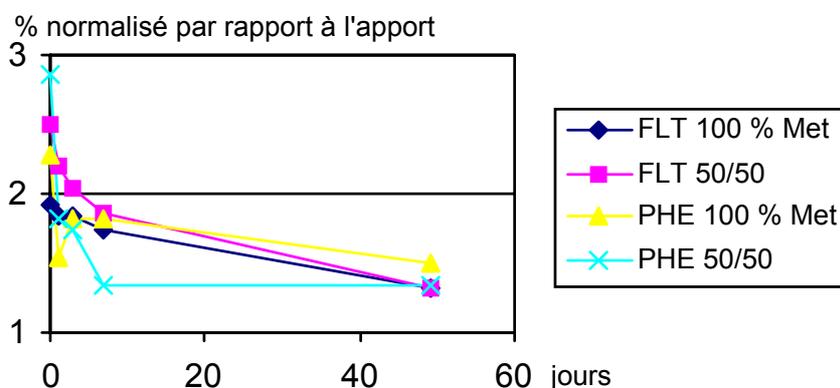


Figure 38 : Cinétique de dissipation apparente de la radioactivité à la surface des échantillons de sol provenant des ^{14}C -HAP (FLT et PHE) appliqués avec du méthanol ou avec un mélange méthanol/eau.

avec du méthanol. Par contre, quand les HAP sont apportés avec le mélange méthanol/eau, les pourcentages de minéralisation sont $0,46 \pm 0,03$ pour le FLT et 33 ± 26 pour le phénanthrène. Ces résultats corroborent ceux qui avaient été présentés dans le premier rapport pour le PHE. Nous en avons maintenant confirmation de la même tendance pour le FLT.

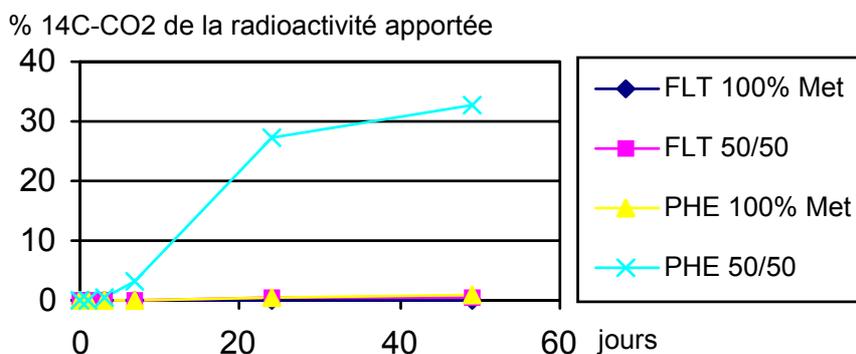


Figure 39 : Cinétiques de minéralisation des ^{14}C -HAP (FLT et PHE) apportés avec du méthanol ou avec un mélange méthanol/eau (50/50, v/v).

La répartition des ^{14}C -HAP en fin d'incubation, dans les différents compartiments du dispositif (Fig. 40) montre uniquement une modification de la répartition de la radioactivité dans le cas du PHE. Les mesures effectuées dans le fond de la boîte de Pétri, exprimée en % normalisé par rapport à l'apport, sont de $1,42 \pm 0,09$ quand le PHE est apporté dans du

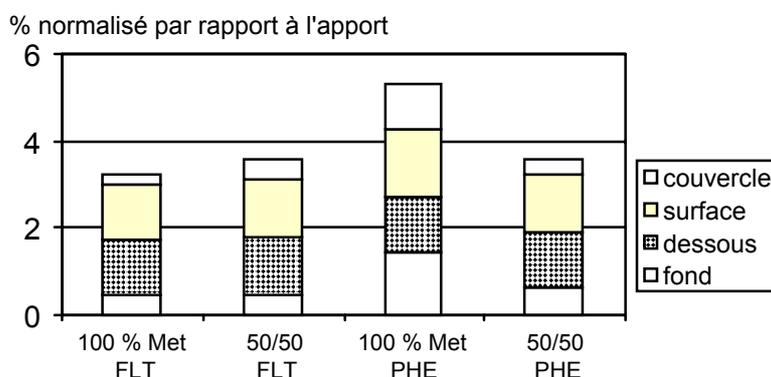


Figure 40 : Répartition de la radioactivité en fin d'incubation entre la surface et le dessous des galettes des échantillons de sol, ainsi qu'entre le fond et le couvercle des boîtes de Pétri ayant contenu le sol traité avec du FLT ou PHE appliqué avec du méthanol ou avec un mélange méthanol/eau (50/50, v/v). Les résultats sont exprimés en % de la radioactivité intégrée sur la totalité de la surface mesuré rapportée à la quantité totale de radioactivité apportée

méthanol et de $0,61 \pm 0,09$ quand le PHE est apporté dans le mélange méthanol/eau. La présence d'eau semble défavoriser la migration ou la pénétration du PHE. De même, la présence d'eau semble diminuer la volatilisation de cette molécule. En effet, la radioactivité détectée dans le couvercle est de $1,05 \pm 0,08$ % quand le PHE est apporté dans du méthanol et de $0,36 \pm 0,02$ % quand le PHE est apporté dans le mélange méthanol/eau. Ces observations peuvent être rapprochées de celles faites lors de l'étude des cinétiques de minéralisation : la minéralisation du phénanthrène est plus importante quand elle est apportée avec le mélange méthanol/eau.

IV.3.2- Hétérogénéité de répartition en fonction de la granulométrie des constituants

Les constituants organiques des sols sont très hétérogènes dans leur structure et dans leur réactivité vis-à-vis des polluants organiques. Cette hétérogénéité est liée à leur origine et aux processus d'humification (transformation) qui ont lieu dans le sol. Le fractionnement physique et chimique des sols permet d'isoler des fractions plus homogènes. Le fractionnement granulométrique des sols est particulièrement efficace pour isoler la matière organique peu ou pas transformée (localisée dans les fractions de granulométrie supérieure à

50 μm) de la matière organique humifiée (associée aux fractions fines). L'application de ces techniques à l'étude du devenir des polluants est très récente.

La figure 41 présente les bilans massiques et la répartition du carbone total du sol dans les fractions séparées. On confirme la similitude des sols CSAC et CSAP du point de vue de la répartition pondérale de ces particules. Dans le sol cultivé, CSAC, la matière organique s'accumule dans la fraction argile (2-0,2 μm) qui stocke presque 40 % du carbone organique du sol. La présence d'une prairie permanente (CSAP) a comme conséquence l'augmentation des entrées de carbone, avec une augmentation du carbone total qui semble se distribuer de façon homogène dans les différentes fractions contenant la matière organique humifiée (fractions < 50 μm). La mise sous culture de ce type de sol provoque une perte relative de matière organique humifiée et non humifiée, la matière organique associée aux fractions 2-0,2 μm étant la plus résistante.

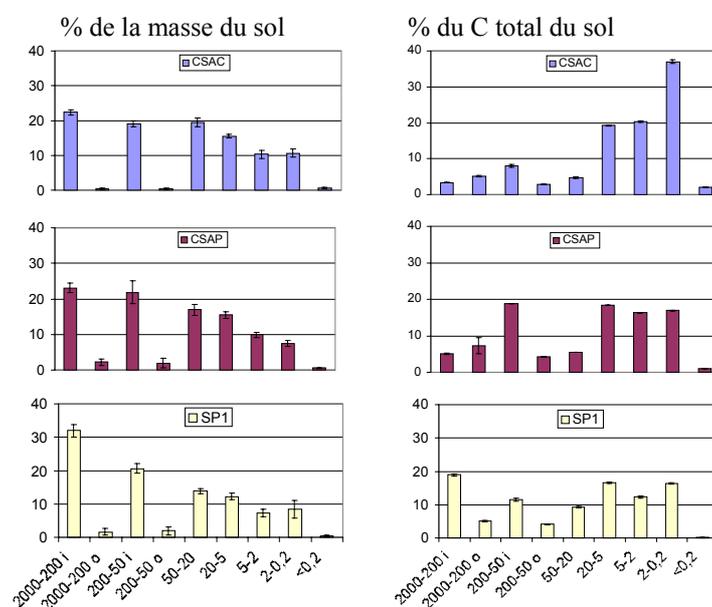


Figure 41 : Bilan pondéral (% de la masse totale) et répartition du carbone organique du sol (% du carbone organique total) entre les fractions granulométriques séparées pour les trois sols.

La figure 42 présente les concentrations relatives en résidus non extractibles dans les différentes fractions après 3 mois d'incubation. La répartition de la radioactivité non extractible à 6 mois d'incubation est très similaire, et elle ne sera pas présentée ici. La radioactivité contenue dans chaque fraction est exprimée en équivalent-HAP initial, en utilisant l'activité spécifique du HAP appliqué. Les fractions les plus riches en résidus non extractibles des HAP sont les fractions contenant de la matière organique fraîche ou peu transformée. Les concentrations en résidus non extractibles dépendent de la nature du HAP,

mais pour les trois HAP nous avons une même tendance : une forte accumulation dans les fractions grossières contenant la matière organique fraîche, puis une augmentation de la concentration en résidus non extractibles avec la diminution de la taille granulométrique dans les fractions contenant de la matière organique humifiée. Les fractions de la taille des argiles (2-0,2 et >0,2 μm) sont les fractions qui ont la teneur la plus élevée en résidus non extractibles. Le sol SP1 se caractérise par la présence de fractions grossières avec une teneur en résidus relativement faible, bien que toujours supérieure à celle des fractions contenant la matière organique humifiée.

La teneur des résidus non extractibles des HAP dans les fractions doit être pondérée par l'importance massique de chaque fraction. La figure 43 présente à titre d'exemple les bilans de répartition des résidus non extractibles entre les différentes fractions après 3 mois d'incubation. Dans cette figure nous avons détaché les deux fractions >50 μm contenant de la matière organique peu humifiée. On constate une répartition très proche des trois HAP pour chaque sol : la localisation ou l'accumulation des résidus non extractibles des HAP semble être pilotée par les propriétés des sols, plutôt que par la nature des HAP. Dans le sol CSAC, l'accumulation des résidus se fait principalement dans la fraction 2-0,2 μm qui représente entre 23 et 34 % des résidus totaux : cette proportion augmente avec l'hydrophobicité des HAP. Dans ce sol, la matière organique fraîche est responsable de l'accumulation de 10 à 15 % des résidus. Dans le sol sous prairie (CSAP), on assiste à une répartition plus homogène dans les fractions fines <20 μm , et à une augmentation des résidus accumulés dans les fractions grossières qui concentrent entre 25 et 30 % des résidus non extractibles totaux. Dans le sol SP1, on assiste également à une répartition homogène des résidus dans les fractions fines <20 μm , avec une accumulation importante dans les fractions

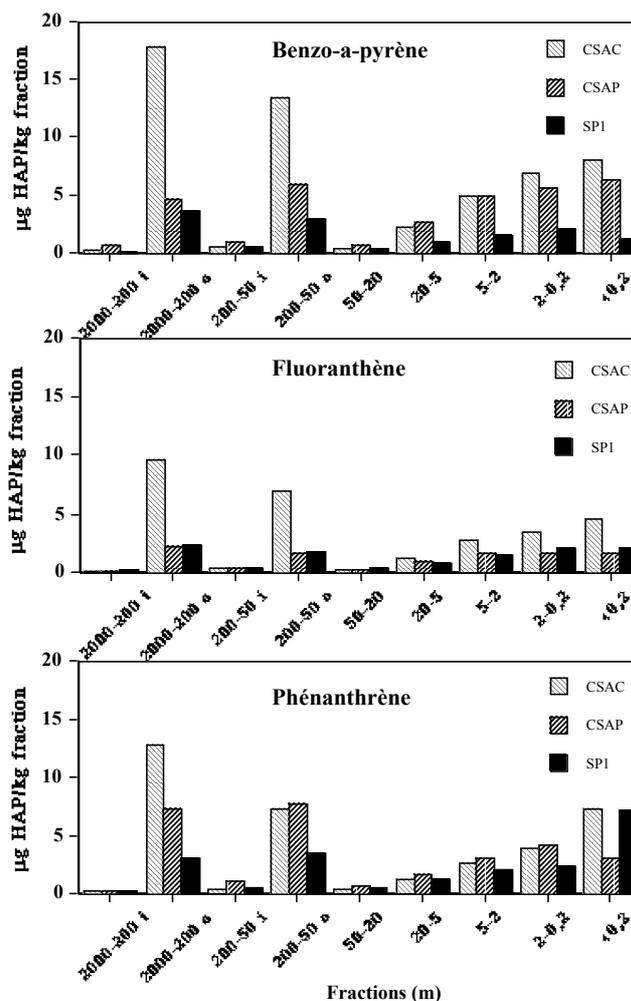


Figure 42 : Concentration en résidus non extractibles des trois HAP dans les différentes fractions granulométriques des trois sols. Les résultats sont exprimés en μg équivalent HAP par kg de fraction en supposant que la radioactivité non extractible correspond à la molécule mère avec la même activité spécifique.

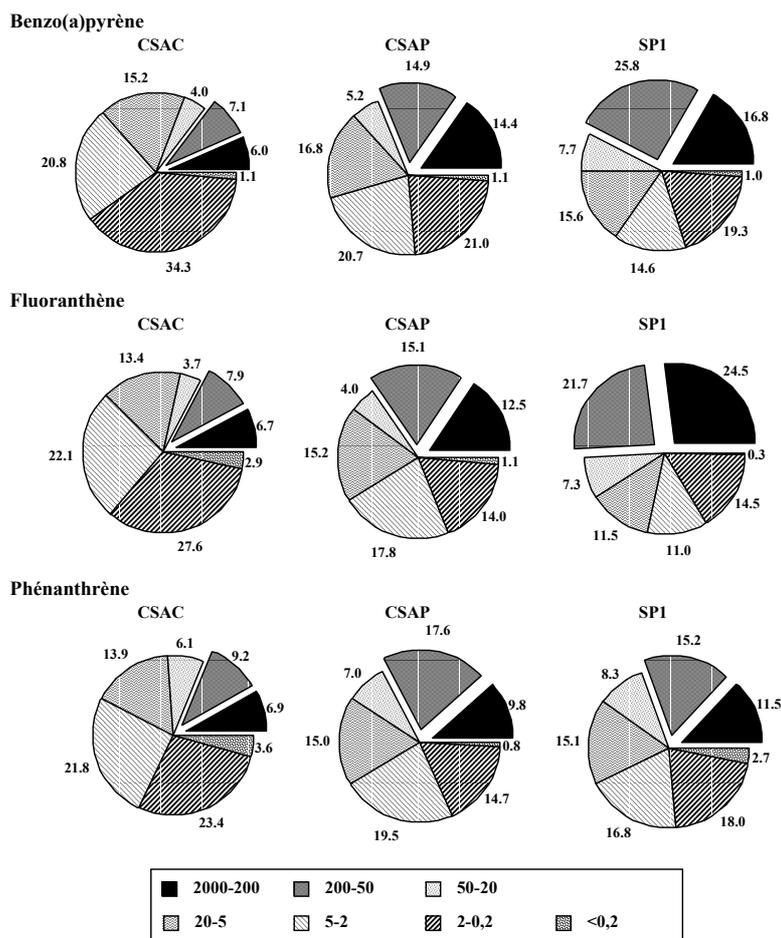
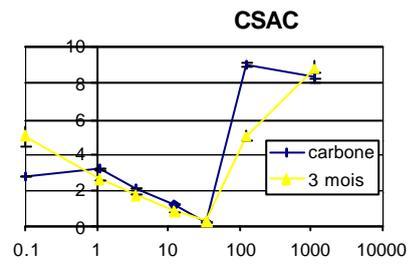


Figure 43 : Bilan de répartition des résidus non extractibles des trois HAP dans les trois sols entre les fractions granulométriques. Les chiffres correspondent aux % des résidus non extractibles totaux..

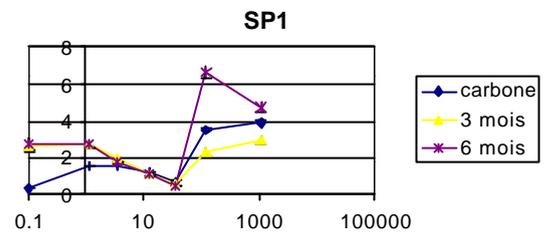
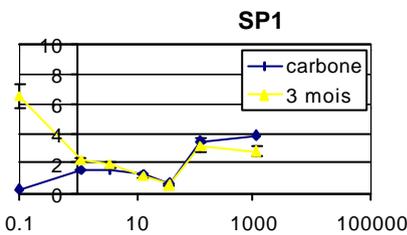
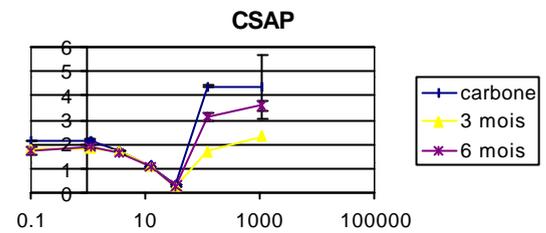
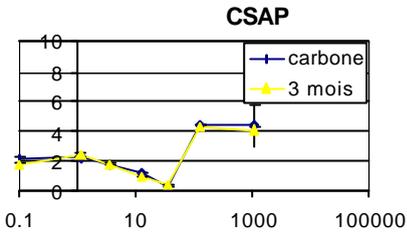
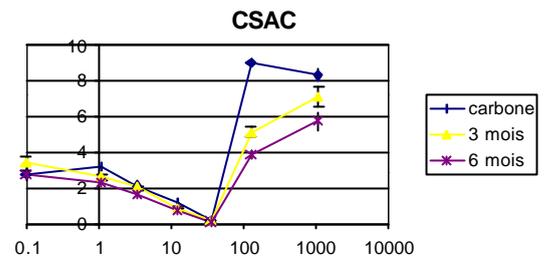
grossières, en particulier pour le FLT dont plus de 50 % des résidus non extractibles sont associés aux deux fractions $>50 \mu\text{m}$.

L'importance relative de chacune des fractions granulométriques dans l'accumulation des résidus non extractibles des HAP est directement fonction de leur importance pondérale, mais les intensités d'accumulation varient en fonction des propriétés des fractions. Nous avons calculé un facteur d'accumulation exprimé comme le rapport de la concentration dans chacune des fractions par rapport à la concentration totale dans le sol non fractionné. Ce facteur permet d'évaluer l'accumulation relative des éléments et de mettre en évidence les fractions ayant un poids important dans le stockage et/ou stabilisation de l'élément considéré.

PHENANTHRENE



FLUORANTHENE



Fractions granulométriques (µm)

BENZO(a)PYRENE

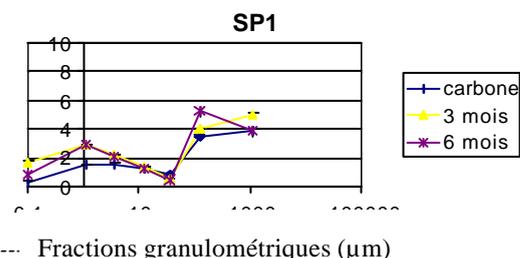
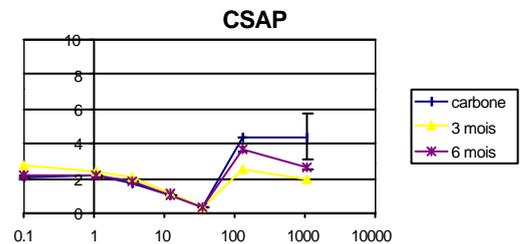
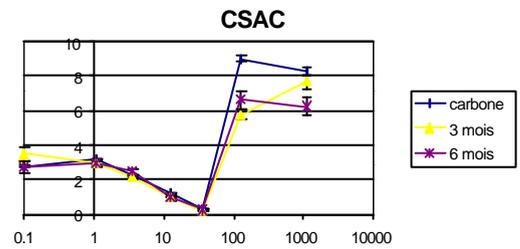


Figure 44 : Facteurs d'accumulation du carbone organique des sols et des résidus non extractibles des trois 14C-HAP pour les fractions granulométriques obtenues par fractionnement physique des sols vieillis expérimentalement au laboratoire. Evolution des facteurs d'accumulation au cours des phases de vieillissement de 3 et 6 mois.

(Les facteurs d'accumulation sont calculés comme la concentration relative dans les fractions du carbone ou des résidus non extractibles par rapport à la concentration dans le sol total non fractionné).

Fractions granulométriques (µm)

La figure 44 résume l'ensemble des facteurs d'accumulation pour le carbone organique et pour les résidus non extractibles des trois HAP étudiés. Les fractions grossières contenant la matière organique peu transformée sont les fractions granulométriques présentant les facteurs d'accumulation les plus élevés pour l'ensemble des éléments considérés. Les fractions 20-50 μm , correspondant aux limons grossiers, constituent des fractions "inertes", avec des facteurs d'accumulation inférieurs à l'unité (donc avec une concentration des éléments inférieure à celle du sol total). Ces fractions contribuent donc à la dilution du système.

Dans les fractions fines, le facteur d'accumulation augmente avec la diminution de la taille granulométrique. Les deux fractions argiles (2-0,2, <0,2 μm) présentent un comportement relativement uniforme pour un sol donné. Le facteur d'accumulation dans ces fractions est différent dans les trois sols étudiés. Dans le sol sous culture CSAC, ayant le plus faible teneur en carbone organique, le facteur d'accumulation dans les argiles se situe autour de 3, tant pour le carbone que pour les résidus non extractibles des HAP. Par contre, dans le sol sous prairie CSAP, l'augmentation de la teneur en carbone total du sol provoque une diminution des facteurs d'accumulation dans les fractions argiles avec une valeur se situant autour de 2. La matière organique entrant dans le sol, provenant des résidus herbacés va permettre d'alimenter le pool organique des fractions limoneuses. Cette redistribution de la matière organique en raison de l'occupation du sol met en évidence que, lors de la mise en culture, les fractions organiques perdues par minéralisation, donc la matière organique la plus labile, correspondent principalement à de la matière organique associée aux fractions limoneuses. Ceci est important pour comprendre la dynamique des polluants qui les sont associés. Dans le cas des polluants étudiés ici, l'évolution des résidus stabilisés des HAP suit une évolution semblable à celle de la matière organique endogène du sol.

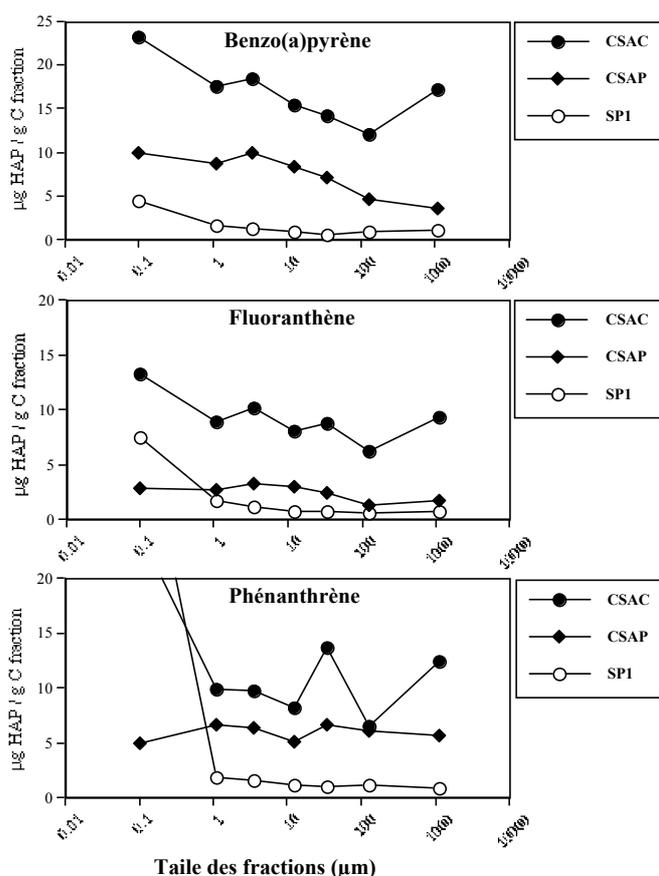


Figure 45.- Variation des teneurs en résidus non extractibles de HAP dans les fractions rapportées à leur teneur en carbone organique.

Le facteur déterminant la localisation des résidus stabilisés des HAP semble être la teneur en matière organique des sols et des fractions. Pour mettre en évidence ce rôle des composés organiques dans le stockage des polluants et pour permettre de comparer plus aisément des sols et des fractions différents, il est possible de calculer la concentration des résidus non extractibles par masse de carbone organique des fractions (Fig. 45). Ces calculs montrent que l'affinité des constituants organiques vis-à-vis de la formation de résidus non extractibles tend à augmenter quand la taille des fractions granulométriques diminue. Pour le phénanthrène, aucune spécificité ne peut être mise en évidence ; néanmoins, on trouve une forte accumulation dans les fractions les plus fines des sols CSAC et SP1.

Dans tous les cas, la matière organique des fractions provenant du sol CSAC présente la plus grande affinité pour la formation des résidus non extractibles. Dans ce sol, la fraction la plus grossière (>200 μm) voit augmenter sa concentration relative en résidus non extractibles par rapport aux précédentes et pour les trois HAP.

IV.3.3- Hétérogénéité de répartition en fonction de l'extractibilité en milieu alcalin des constituants organiques du sol

Le fractionnement chimique de la matière organique des sols à l'aide de solvants alcalins permet de séparer des fractions contenant des constituants organiques ayant des propriétés chimiques différentes. Les acides fulviques sont les molécules les plus facilement solubles à tous les pH. Les acides humiques ne sont solubilisables qu'en milieu alcalin, ceci en raison de leur encombrement moléculaire important avec une faible charge de surface. L'humine est la fraction insoluble qui reste liée aux minéraux du sol quelque soit le pH, représentant un ensemble hétérogène de composés hérités et des composés formés au cours des processus d'humification. D'un point de vue technique, les échantillons du sol sont soumis à une extraction en présence d'un solvant alcalin, permettant de séparer les acides humiques et fulviques, solubilisés en milieu alcalin, de l'humine, fraction de la matière organique des sols non soluble en milieu alcalin. Les acides humiques sont séparés des acides fulviques par précipitation des premiers en milieu acide.

La radioactivité totale extraite en milieu alcalin et celle des extraits contenant les acides fulviques est mesurée par scintillation en milieu liquide. La radioactivité associée aux acides humiques est évaluée par différence entre la radioactivité dans l'extrait total et dans l'extrait fulvique. Ces mesures de radioactivité ont été complétées avec la détermination des teneurs en carbone organique dans les différentes fractions humiques séparées. L'objectif étant de mettre en parallèle la distribution du C du sol et celle des résidus vieillis des HAP. L'hypothèse sous-jacente étant l'intervention directe des composés humiques de la matière organique dans la stabilisation des résidus de HAP sous une forme non extractible.

La figure 46 résume la répartition du carbone organique des sols entre les acides fulviques, les acides humiques et l'humine. La quantité de carbone est plus importante dans le sol pollué SP1 que dans les sols CSAP et CSAC. La quantité de matière organique extractible en milieu alcalin est en relation avec les teneurs totales des sols. Les quantités extractibles les plus importantes correspondent au sol SP1 en liaison avec sa forte teneur en C organique total. Le carbone extractible, exprimée en % de la masse de sol, est de 0,55 pour le sol CSAC, 1,41 pour le sol CSAP et 3,45 pour le sol SP1. Néanmoins, la répartition relative du carbone extractible (résultats exprimés par rapport au C du sol) montre que la matière organique du sol SP1 est la moins alcalino-soluble et surtout, la matière organique solubilisée est prédominante de nature humique avec une très faible proportion d'acides fulviques. La proportion la plus élevée d'acides fulviques se trouve dans le sol cultivé CSAC.

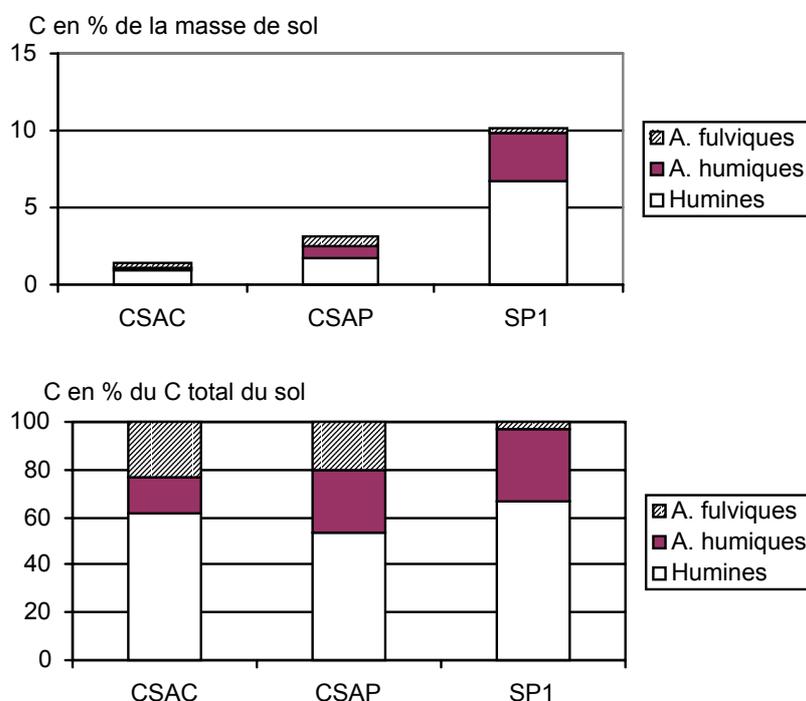


Figure 46 : Répartition du carbone organique des sols entre les trois fractions obtenues à l'aide des extractions alcalines : acides fulviques, acides humiques et humine.

La figure 47 résume les résultats obtenus sur la répartition de la radioactivité provenant des ^{14}C -HAP et récupérés dans les fractions acides fulviques, acides humiques et humine. Pour les trois HAP, la proportion de radioactivité dans la fraction extractible en milieu alcalin est systématiquement plus importante dans les sols d'origine agricole que dans le sol pollué. Dans ce sol, entre 65 et 70 % des résidus non extractibles de PHE et du FLT sont associés à l'humine, tandis que pour le BaP, ils représentent 92 %. Entre les deux sols non pollués, la proportion de résidus non extractibles pour les 3 HAP est toujours supérieure dans le sol sous

culture, ayant une teneur moins importante en matière organique. Pour le PHE, la quantité de résidus non extractibles est très petite car la quantité de résidus non extractibles est inférieure à 4 % de l'apport initial en ^{14}C -phénanthrène.

La quantité de résidus non extractibles associée à l'humine est d'autant plus importante que le HAP est lourd. Dans le sol CSAC, elle est de 1,9 % de l'apport initial pour le PHE, 18,5 % pour le FLT et 33,9 % pour le BaP. Les quantités de ^{14}C -HAP associées aux acides humiques sont plus importantes dans les sols d'origine agricole que dans le sol pollué. Elles sont, exprimées en % de l'apport initial, entre 0,6 et 1,5 pour le PHE, entre 8 et 11 pour le FLT et entre 22 et 23 de pour le BaP dans les sols d'origine agricoles. Dans le sol pollué SP1, la quantité associée aux acides humiques est de 0.4 % pour le PHE, 2.9 % pour le FLT et de 0.8 % pour le BaP. Dans le sol pollué SP1, les résidus non extractibles sont principalement associés à l'humine. Cette fraction représente 62 % et 79 % des résidus non extractibles pour, respectivement, le FLT et le BaP.

La part de résidus non extractibles des ^{14}C -HAP associés aux acides fulviques est faible pour le PHE et le FLT (entre 10 et 18 % des résidus). Cela est encore plus marqué pour le BaP (entre 3 et 5 % des résidus). Ceci constitue un critère d'évaluation des risques de mobilité des polluants dans le sol associés aux colloïdes organiques, car en effet les acides fulviques représentent les fractions organiques les plus facilement mobilisables. Dans le cas d'un lessivage de ces fractions dans les sols, elles seront des vecteurs de transport des polluants qui lui sont associés. La plus grande proportion des résidus non extractibles des HAP associés aux acides humiques doit être reliée à un caractère hydrophobe plus marqué de ces constituants et à leur caractère colloïdal avec des possibilités de piégeage stérique. L'importance relative des acides humiques peut être mise en évidence en exprimant la proportion des résidus non extractibles des HAP par rapport à la proportion du carbone organique des fractions humiques. La figure 15 présente les valeurs de cette concentration relative des résidus non extractibles par rapport au carbone : la quantité de C-HAP, exprimée en % de l'apport initial,

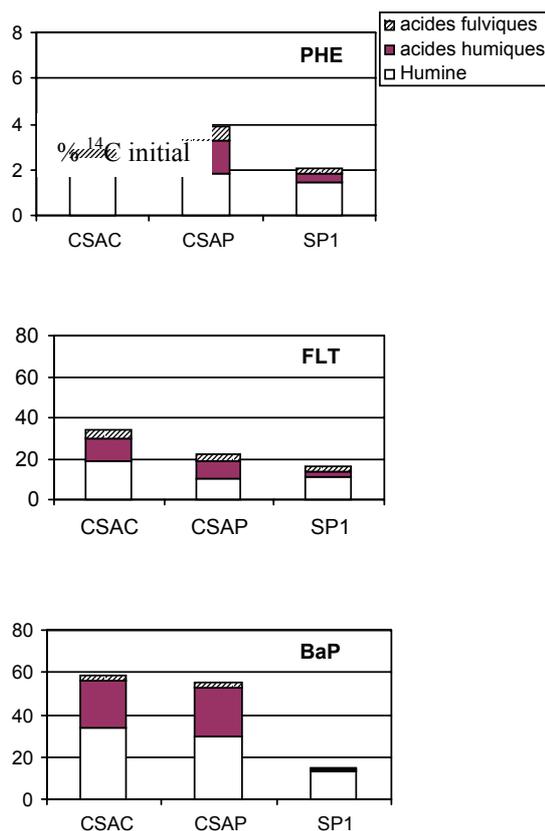


Figure 47: Répartition des résidus non extractibles des ^{14}C -HAP entre les fractions obtenues par extraction alcaline : acides fulviques, acides humiques et humine. Résultats exprimés en % du ^{14}C initial.

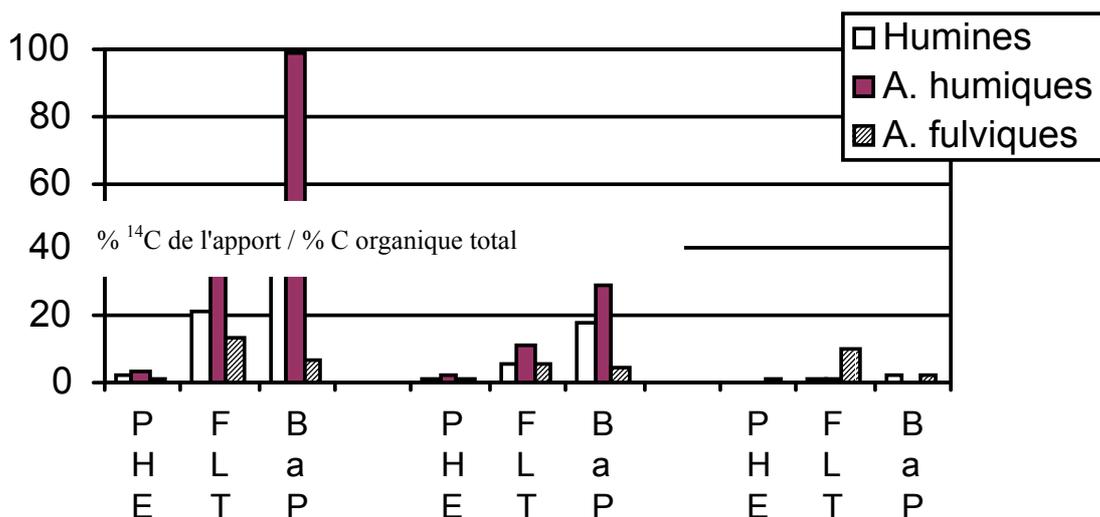


Figure 48 : Répartition relative des résidus non extractibles récupérés après 3 mois d'incubation rapportés à la teneur en carbone organique des fractions récupérées par extraction alcaline : acides fulviques, acides humiques et humine.

est divisée par la quantité de carbone de chaque fraction du sol, exprimée en % de la masse de sol. Le carbone organique associé aux acides humiques des sols d'origine agricole a une grande capacité à former ou stocker des résidus non extractibles. Cette capacité est plus importante dans le sol CSAC que dans le sol CSAP. Le carbone organique associé aux acides humiques et à l'humine forme d'autant plus de résidus non extractibles que le HAP est lourd.

IV.3.4- Application des techniques hydrolytiques pour la caractérisation de la stabilité chimique des liaisons impliquées dans la stabilisation des résidus vieillis

L'établissement des liaisons covalentes entre les polluants organiques (HAP) (et/ou leurs métabolites hydroxylés) et la matière organique des sols est une des hypothèses utilisées pour expliquer une des voies de vieillissement des polluants se traduisant par la formation des résidus non extractibles. Il est difficile de mettre en évidence ce type de liaisons, il n'y a pas de données directes dans la littérature pour les HAP. L'évaluation de leur existence et leur importance relative par rapport à d'autres mécanismes de vieillissement constitue un point important pour l'estimation du devenir de ce type de résidus. En effet, la biodisponibilité des résidus impliqués dans ce type de liaisons sera très réduite et leur libération sera difficile car impliquant la rupture d'une liaison.

La démarche expérimentale adoptée consiste à appliquer des techniques hydrolytiques (hydrolyse acides). L'objectif est l'hydrolyse des liaisons hétéro-atomiques (type C-O, C-N) permettant la libération de composés simples passant en solution ou devenant extractibles avec un solvant organique.

L'hydrolyse acide provoque la solubilisation d'une partie des composés organiques des sols. La quantité de carbone hydrolysée est plus importante dans les sols d'origine agricole que dans le sol pollué SP1. Ainsi 61 % de la matière organique du sol CSAC est hydrolysée et récupérée dans les hydrolysats. L'augmentation de la teneur en carbone organique du sol CSAP s'accompagne d'une diminution de la part hydrolysable (seulement 43 % du carbone sont récupérés dans les hydrolysats). La matière organique du sol SP1 se caractérise par une grande résistance à l'hydrolyse. En effet, seulement 5 % sont hydrolysés.

Le tableau 26 présente la répartition de la radioactivité non extractible des différents sols et pour les trois HAP entre les fractions hydrolysées et non hydrolysées, exprimés en pourcentage de l'apport initial. La fraction hydrolysée est généralement faible par rapport aux doses initiales : elle est inférieure à 5 % des ^{14}C -HAP apportés initialement. La proportion hydrolysée la plus importante correspond au FLT du sol SP1, dont 8 % de la radioactivité initiale sont hydrolysés. Dans le cas du PHE, la proportion des résidus radioactifs libérés par l'hydrolyse et récupérés dans les hydrolysats varie entre 42 et 60 % des résidus non extractibles. Néanmoins, la proportion des résidus non extractibles est très faible en raison de la forte minéralisation du PHE dans les trois sols. La proportion des résidus hydrolysés par rapport à la teneur totale de résidus diminue dans le sens PHE > FLT >> BaP. Cela doit en partie être en relation avec la solubilité dans l'eau des HAP, car les hydrolyses acides sont effectuées en milieux aqueux.

Tableau 26 : Répartition de la radioactivité des résidus non extractibles des trois HAP entre les fractions hydrolysées et non hydrolysées des trois sols.

		% de l'apport initial		% Hydrolysés
		Résidus non hydrolysables	Résidus hydrolysés	
PHE	CSAC	0.9 ± 0.1	1.4 ± 0.2	60
	CSAP	1.6 ± 0.1	1.2 ± 0.1	42
	SP1	1.0 ± 0.2	0.9 ± 0.1	49
FLT	CSAC	28.1 ± 2.0	4.9 ± 0.3	15
	CSAP	20.1 ± 2.2	2.2 ± 1.1	10
	SP1	13.1 ± 0.5	8.3 ± 0.2	39
BaP	CSAC	66.3 ± 2.4	0.9 ± 0.3	1.3
	CSAP	62.1 ± 4.9	0.9 ± 0.1	1.5
	SP1	26.7 ± 1.5	0.3 ± 0.0	1.0

Nous avons mis en évidence précédemment que le carbone organique associé à la fraction non hydrolysée des sols d'origine agricole avait la plus grande capacité à former des résidus non extractibles de HAP, l'accumulation relative des résidus non extractibles étant d'autant plus importante que le HAP était hydrophobe. Du fait de la faible solubilité dans l'eau des HAP, la récupération des résidus hydrolysés dans les hydrolysats aqueux peut être limitée. Nous avons donc procédé à une extraction des culots d'hydrolyse avec du méthanol. Pour mesurer le surplus d'extraction directement lié à l'action hydrolytique du HCl, nous avons soumis les mêmes échantillons mais non hydrolysés à une extraction en parallèle avec du méthanol. Les résultats obtenus sont présentés dans la figure 49 et dans le tableau 27.

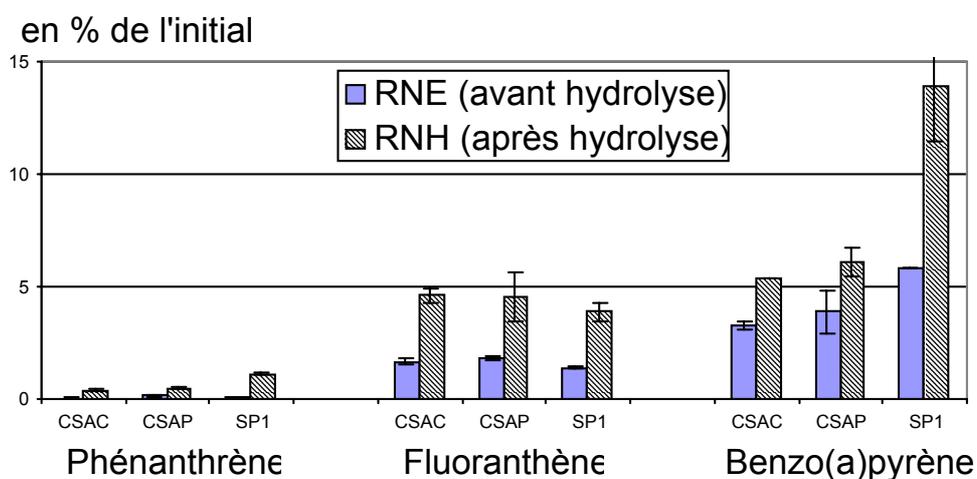


Figure 49 : Comparaison de l'extractibilité au méthanol des résidus non extractibles hydrolysés (RNH) et des résidus non extractibles avant hydrolyse (RNE) (% du ¹⁴C initial).

Tableau 27 : Proportion des résidus non hydrolysés extraits au méthanol en % des résidus non hydrolysés.

	% des résidus non hydrolysés		
	CSAC	CSAP	SP1
PHE	41,4 ± 2,5	30,2 ± 4,5	119 ± 20
FLT	16,41 ± 0,02	22,4 ± 3,1	29,8 ± 1,9
BaP	8,1 ± 0,3	9,8 ± 0,3	52 ± 12

On constate sur les extractions de contrôle qu'il y a une augmentation de l'extractibilité des résidus en raison de la manipulation des échantillons (séchage, broyage). Mise à part la proportion de radioactivité hydrolysée, récupérée directement dans les hydrolysats aqueux,

l'hydrolyse provoque une augmentation de l'extractibilité de la radioactivité non hydrolysée. Cette extractibilité est faible pour les échantillons issus des incubations avec du PHE (en raison de la minéralisation importante), représente autour de 4 % du FLT initial pour les 3 sols et est supérieure à 5 % du BaP initial. Dans ce dernier cas, elle peut aller jusqu'à 14 % pour les résidus non extractibles de BaP du sol SP1.

La proportion de résidus non hydrolysés extractible au méthanol est d'autant plus importante que le HAP est de petite taille. De 30 à 100 % pour le PHE, 16 à 30 % pour le FLT et 8 à 52 % pour le BaP. La proportion de résidus non hydrolysés extractibles après hydrolyse est plus importante pour les résidus formés dans le sol provenant du site pollué (SP1) que pour ceux qui sont formés dans les sols d'origine agricole (CSAC et CSAP). Elles sont, dans le sol SP1, entre 29 et 100 % et, dans les sols CSAC et CSAP, entre 8 et 41 %.

Quel que soit le HAP ou le sol, la quantité de résidus extraits au méthanol après hydrolyse est plus importante que celle extraite avant hydrolyse. Cela indique que l'hydrolyse acide permet d'hydrolyser des liaisons facilitant une meilleure extractibilité des résidus de HAP. On peut supposer que la radioactivité libérée au cours de l'hydrolyse (la radioactivité dans les hydrolysats plus la radioactivité extraite avec du méthanol des culots d'hydrolyse) corresponde à des résidus des HAP impliqués dans des liaisons covalentes. Probablement ces liaisons sont du type C-O, après réaction des métabolites hydroxylés des HAP avec des composés organiques des sols. La proportion des résidus non extractibles des HAP formés par l'intermédiaire des liaisons hydrolysables peut donc être estimée (Tableau 28). Cette proportion diminue avec la complexité du HAP dans le sens : PHE > FLT > BaP. Ce type de mécanisme de stabilisation est très important dans le sol pollué SP1 où la totalité des résidus non extractibles du PHE, 50 % de ceux du FLT et 30 % de ceux du BaP semblent être incorporés par l'intermédiaire de liaisons hydrolysables.

Tableau 28 : Estimation de la proportion des résidus non extractibles stabilisés par l'intermédiaire de liaisons hydrolysables en milieu acide.

	% des résidus non extractibles		
	CSAC	CSAP	SP1
PHE	75	54	102
FLT	24	22	51
BaP	4	5	31

IV.3.5. Estimation de la biodisponibilité des résidus vieillis des HAP non extractibles

Les techniques de fractionnement granulométrique ont permis l'obtention de fractions contenant des résidus non extractibles de HAP associés aux constituants de la matière organique de différentes qualités. Il s'agit de caractériser ces associations du point de vue de la stabilisation des résidus de HAP vis-à-vis de leur dégradabilité. L'objectif est l'acquisition d'informations sur une éventuelle préservation sélective des résidus de HAP plus ou moins difficilement biodégradables en relation avec leur localisation dans une fraction de sol donnée. En parallèle, des informations sur l'effet de la désagrégation du sol avec élimination des effets de protection physique des agrégats peuvent aussi être obtenus. Pour ceci, nous allons incuber des sols et des fractions granulométriques contenant des résidus non extractibles de FLT et de BaP obtenus après incubation des trois sols pendant 6 mois. Pour tester la biodégradabilité de ces résidus, indice de leur biodisponibilité, les échantillons sont incubés dans le sol SP1, sol où nous avons démontré la présence d'une microflore spécifique adaptée à la dégradation des HAP.

La figure 50 présente les cinétiques de minéralisation du FLT et du BaP apportés directement sur le sol SP1. Après 3 mois d'incubation, les quantités minéralisées sont $46,7 \pm 2,0$ et $12,3 \pm 2,3$ % de l'apport initial pour le FLT et le BaP respectivement. Lors des incubations précédentes, les quantités minéralisées au bout de 3 mois étaient de $42,2 \pm 0,8$ et $5,1 \pm 1,2$ % respectivement pour le FLT et le BaP. Donc, il n'y a pas d'effet négatif lié au stockage du sol SP1 par rapport à sa capacité à minéraliser les HAP.

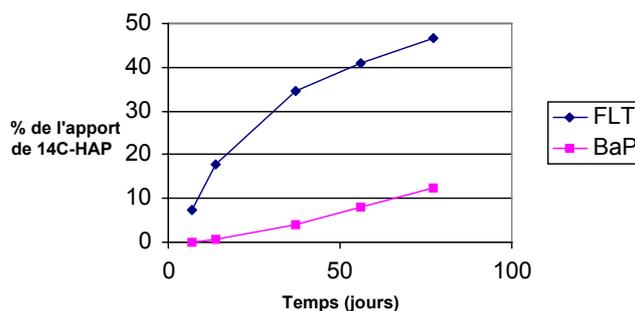


Figure 50 : Cinétiques de minéralisation du FLT et du BaP directement apportés au sol SP1.

La figure 51 présente l'ensemble des cinétiques de minéralisation des résidus non extractibles des sols non fractionnés et des différentes fractions et le tableau 29 et la figure 52 présentent comparativement les taux de minéralisation obtenus en fin d'incubation, exprimés en pourcentage des résidus non extractibles de la fraction. La minéralisation des résidus provenant du FLT est plus rapide que celle des résidus du BaP. Les proportions des résidus non extractibles minéralisées par la microflore du sol SP1 en 3 mois d'incubation sont plus faibles pour le BaP (entre 1 et 6 %) que pour le FLT (entre 8 et 18 %).

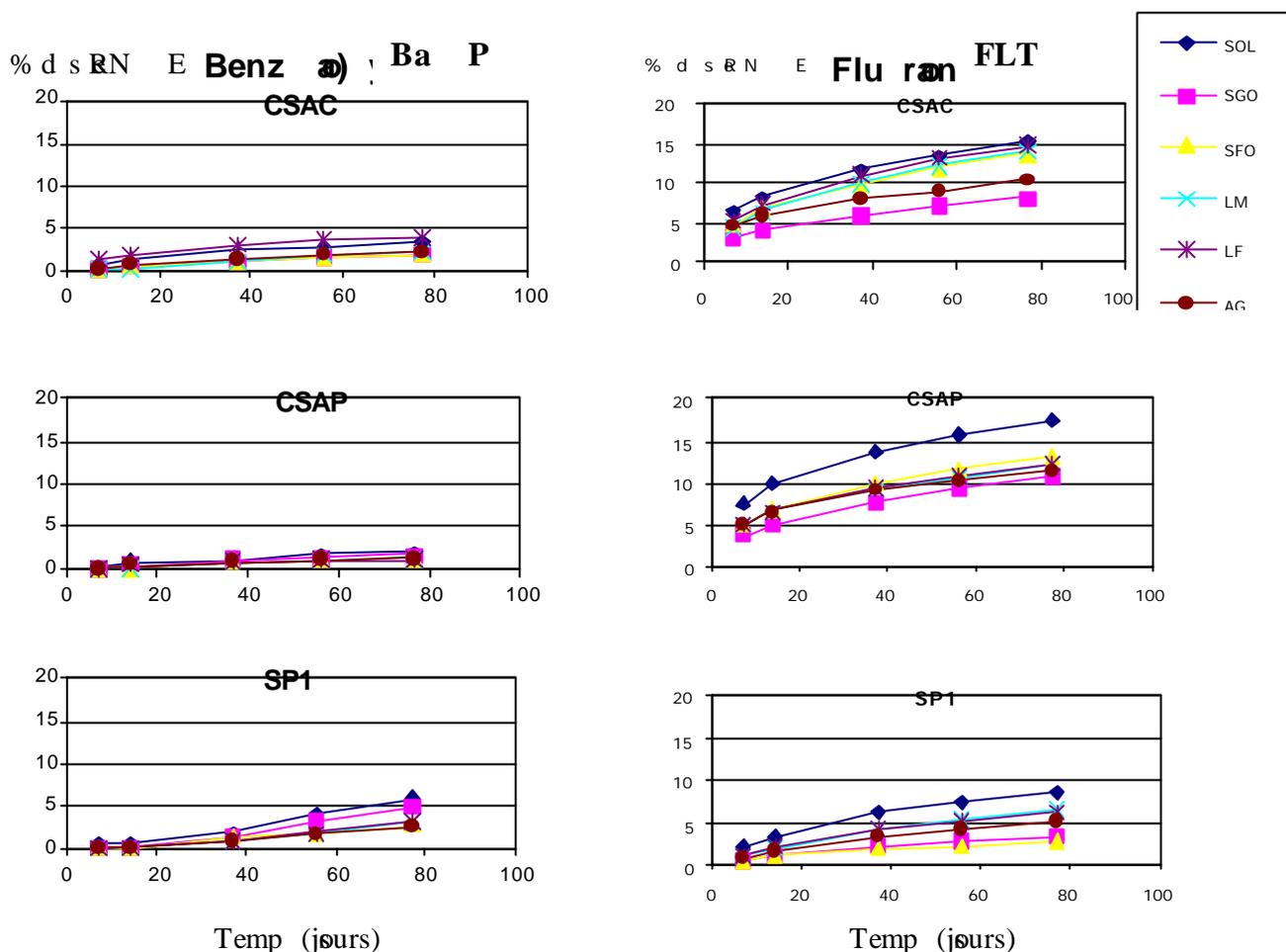


Figure 51 : Cinétiques de minéralisation des résidus non extractibles des sols et des fractions obtenus après incubation de 6 mois avec du BaP et du FLT et réincubés dans le sol SP1.

La minéralisation des sols non fractionnés est en général plus importante que la minéralisation de chacune de leurs fractions. Ce résultat semble indiquer l'absence de phénomène de protection physique vis-à-vis de la biodégradation par localisation des résidus au sein des micro-agrégats. Si cela avait été le cas, la minéralisation aurait été plus importante et plus rapide au niveau des fractions obtenues par désagrégation du sol. Néanmoins, il faut relativiser cette conclusion, car au cours du fractionnement du sol une partie des résidus non extractibles sont récupérés dans la phase liquide générée lors de la technique de fractionnement. Ces résidus, dont une partie sont associés à des colloïdes dispersés lors du fractionnement, peuvent constituer la proportion la plus disponible des résidus non extractibles, responsable de la minéralisation supérieure observée dans le sol non fractionné.

Les résidus non extractibles de BaP des sols agricoles (CSAC et CSAP) et de leurs fractions se dégradent avec une vitesse très lente et constante au cours des incubations. En revanche, les résidus non extractibles de BaP provenant du sol SP1 présentent une accélération des vitesses de dégradation au-delà de 30 jours d'incubation. Les résidus non

extractibles de FLT les moins biodisponibles pour être minéralisés par la microflore du sol SP1 sont ceux associés à la matière organique non humifiée récupérée dans la fraction la plus grossière (SGO). Le comportement de cette fraction contraste avec la fraction SFO qui, dans les sols agricoles, contient des résidus se minéralisant plus rapidement, en particulier dans le sol CSAC. Les fractions SGO et SFO du sol SP1 traité avec du FLT se comportent d'une façon similaire.

Table 29 : Minéralisation des résidus non extractibles de FLT et BaP obtenus dans les trois sols et dans leurs différentes fractions granulométriques après 6 mois d'incubation et réincubés dans le sol SP1 pendant 77 jours.

		% minéralisé des résidus non extractibles de chaque fraction					
		Sol Total	SGO	SFO	LM	LF	AG
FLT	CSAC	15.2 ± 0.9	8.1	13.5	14.0 ± 0.6	14.6 ± 0.2	10.2 ± 0.2
	CSAP	17.5 ± 0.2	10.8	13.3	12.2 ± 0.6	12.4 ± 0.5	11.4 ± 0.6
	SP1	8.7 ± 0.0	3.4	2.8	6.4 ± 0.2	6.3 ± 0.1	5.2 ± 0.2
BaP	CSAC	3.3 ± 0.1	1.9	2.1	2.4 ± 0.0	4.1 ± 0.3	2.3 ± 0.1
	CSAP	1.9 ± 0.0	1.7	1.4	1.4 ± 0.0	1.3 ± 0.2	1.3 ± 0.0
	SP1	5.9 ± 0.6	4.7	2.7	3.0 ± 0.3	3.2 ± 0.4	2.5 ± 0.0

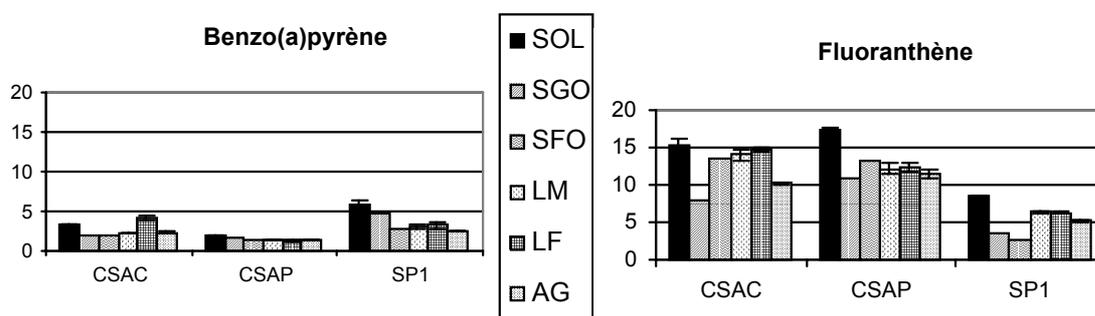


Figure 52 : Comparaison des taux de minéralisation des résidus non extractibles de BaP et FLT des sols et des fractions incubés dans le sol SP1.

En conclusion, les résidus non extractibles de FLT et de BaP continuent à être biodisponibles quand ils sont confrontés à une microflore adaptée à la dégradation des HAP. Les vitesses et les taux de dégradation de ces résidus sont inférieurs à ceux des HAP initiaux, mais ils sont loin d'être nuls. La désagrégation ou un traitement physique dissociant les particules des sols ne semble pas nécessaire pour rendre biodisponibles ces résidus. Leur biodisponibilité semble donc surtout limitée par la présence d'une microflore spécifique. Dans le cas du FLT, la matière organique non humifiée correspondant à une taille supérieure à 200 μm semble provoquer une stabilisation plus importante des résidus non extractibles les rendant moins biodisponibles pour leur dégradation.

V- DISCUSSION GENERALE ET CONCLUSIONS

La prévision du devenir dans les sols des polluants organiques hydrophobes tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques nécessite de tenir compte de l'ensemble des mécanismes impliqués dans les interactions bio-physico-chimiques entre les polluants et le sol. La connaissance de l'évolution dans le temps de ces interactions sous l'influence des facteurs pédo-climatiques, souvent appelée « vieillissement », est en outre nécessaire dans les trois principaux domaines d'application que sont :

- l'évaluation des risques environnementaux dans différents scénarios,
- la prévision de l'efficacité et de la durée des traitements notamment biologiques,
- l'évaluation des critères d'intervention et des objectifs de traitement des sols pollués.

Ce programme de recherche a permis de dégager les principaux mécanismes impliqués dans ces processus de vieillissement. Les principaux points suivants peuvent ainsi être mis en avant :

a) En conditions abiotiques :

- Les résultats confirment que la rétention des polluants organiques hydrophobes dans les sols pollués s'explique essentiellement par des mécanismes d'adsorption des molécules sur la matière organique du sol (MOS) et de partage liquide-solide avec la matière organique xénobiotique (MOX) ou la MOS, ou avec des structures microporeuses minérales (argiles, craie).
- Les phénomènes d'adsorption des HAP à la surface des particules de sol sont très rapides puisqu'un équilibre apparent est atteint en quelques heures dans les essais en milieu dispersé, avec une adsorption quasi instantanée qui affecte généralement plus de la moitié des molécules adsorbées à l'équilibre apparent. A ce stade, la teneur en matière organique du sol est le principal facteur d'influence, l'adsorption étant alors d'autant plus forte que la teneur en matière organique (naturelle et/ou xénobiotique) est forte. Ainsi, les sols riches en humus (sol de prairie CSAP dans cette étude) ou les sols issus de sites pollués et contenant des nodules de goudron ont une très forte capacité de sorption des HAP.
- Après cette étape rapide, une étape de sorption plus lente est observée, dont l'importance relative dans le processus global est d'autant plus grande que la matrice adsorbante (fractions de sols ou sols) est microporeuse, et que la molécule de polluant est petite. Une partie du phénomène global d'adsorption est donc cinétiquement limitée par la diffusion des molécules dans les micro-structures du sol (pores de diamètre inférieur à 2 μ m), que celles-ci contiennent ou non de la matière organique, ou dans des phases organiques

condensées (humus ou goudron). Ainsi, la sorption du naphthalène par l'argile limoneuse étudiée (matrice essentiellement minérale ayant la plus forte microporosité de toutes celles étudiées dans ce programme, avec plus de $30 \text{ m}^2 / \text{g}$) est multipliée par un facteur de l'ordre de 5 lorsque le temps de contact passe de 24 h à 3 mois (pour se stabiliser ensuite, voir Fig. 8 page 40). Ce facteur est deux fois moindre pour le phénanthrène, molécule plus grosse que le naphthalène. Le phénomène de sorption lente est considérablement moins important avec la craie, matrice minérale peu microporeuse avec $0,5 \text{ m}^2 / \text{g}$. Il devient même quasi inexistant pour le phénanthrène, dont la taille moléculaire est de l'ordre de grandeur du diamètre moyen des pores de la craie, indiquant une gêne stérique à la diffusion du phénanthrène dans la microporosité de la craie. Dans le cas des sols agricoles étudiés ici, de microporosité comprise entre 4 et $10 \text{ m}^2 / \text{g}$ environ, l'importance relative de la sorption lente est intermédiaire entre ce qui est observé avec l'argile limoneuse ($30 \text{ m}^2 / \text{g}$) d'une part et la craie ($0,5 \text{ m}^2 / \text{g}$) d'autre part, ce qui confirme l'influence prépondérante de la microporosité. Le phénomène de sorption lente est en outre relativement plus important pour le sol sous culture (CSAC) dont la microporosité ($9,3 \text{ m}^2 / \text{g}$) est double de celle du sol sous prairie CSAP ($4,4 \text{ m}^2 / \text{g}$).

- La sorption lente, dont l'effet se stabilise après 3 mois de contact environ dans les conditions abiotiques de vieillissement, entraîne une extractibilité réduite des polluants. En diffusant dans la microporosité ou dans les phases organiques condensées, les molécules de polluant deviennent en effet moins accessibles à l'eau ou aux autres solvants (organiques) d'extraction. Nos résultats montrent que le phénomène est lié à la fois à la microporosité de la matrice et à sa teneur en matière organique. Ainsi, c'est avec le sol CSAC que la réduction de l'extractibilité des polluants pour des temps de contact croissants est la plus spectaculaire (voir Figs. 9 et 10 pages 43 et 44). Ce sol, 2 fois moins riche en matière organique que le sol CSAP adsorbe beaucoup moins les HAP que le sol CSAP en 24 h de contact. Cependant, pour des temps de contact croissants (jusqu'à 3 mois), on observe que la réduction de l'extractibilité du naphthalène est 4 fois plus importante dans le sol CSAC que dans le sol CSAP (Fig. 10). Comme le sol CSAC est 2 fois plus microporeux que le CSAP, on peut conclure que la microporosité joue un rôle important dans le phénomène, car elle accroît la sorption lente comme indiqué plus haut. Cependant, l'argile, pourtant beaucoup plus microporeuse que le sol CSAC, conduit à une réduction d'extractibilité des polluants moindre que le sol CSAC. Ce n'est donc pas seulement la diffusion des polluants dans la microporosité qui explique leur extractibilité réduite, mais bien la diffusion dans une microporosité « interactive », c'est à dire riche en matière organique. Le sol CSAC, à la fois riche en matière organique et relativement microporeux conduit donc à la plus forte séquestration des polluants.

2) En conditions biotiques :

- Le vieillissement se traduit par une baisse des vitesses de dégradation qui, dans le cas des HAP les plus légers, est en partie associée à la préservation d'une partie du polluant sous une forme non bioaccessible, mais extractible, donc chimiquement disponible. Ceci confirme l'hypothèse de la « séquestration » du polluant dans la micro-porosité structurale (minérale et/ou organique) diminuant ainsi sa biodisponibilité.
- La présence de solvants polaires à grande diffusivité joue un rôle d'"entraîneur" permettant la pénétration des polluants au sein des micro-agrégats ou des collo ides organiques, et conduisant à sa fixation sur des sites d'adsorption moins accessibles aux micro-organismes. La pollution d'un sol avec des solutions méthanoliques permet de préparer des sols pollués avec une bioaccessibilité du polluant plus réduite que lors la pollution se fait en milieu aqueux. Cette localisation intra-colloïdale provoque une augmentation de la préservation du polluant sous une forme extractible, ainsi que de la stabilisation du polluant sous une forme non – extractible.
- La tendance générale est vers une préservation plus importante des r sides des HAP non minéralisables quand la teneur en matière organique des sols augmente. Cette protection se fait aux dépens du compartiment non extractibl. Autrement dit, la protection des HAP vis-à-vis des microorganismes dégradants fait intervenir la matière organique, mais cette protection ne se fait pas par une immobilisation dans le compartiment des r sides non extractibles.
- La micro-localisation des polluants organiques dans les échantillons de sol est hétérogène. Cette hétérogénité de répartition est étroitement dépendante de la nature du polluant. Plus une molécule est hydrophobe, plus elle sera adsorbé sur le sol, et moins sa distribution sera homogène au sein d'un échantillon de sol. Ceci se traduit par la formation d'amas avec une localisation ponctuelle à de niveaux de concentration élevée. Ceci a des conséquences sur l'ensemble des phénomènes conditionnant le devenir des polluants. En effet, les gradients de concentration observés au niveau de microsites de stockage peuvent influencer le développement de la microflore dégradante.
- L'affinité des constituants organiques vis-à-vis de la formation de r sides stabilisés sous forme non extractible tend à augmenter quand la taille des fractions granulométriques du sol diminue : les fractions les plus riches en r sides non extractibles des HAP sont les fractions contenant de la matière organique fraîche ou peu transformée (ou des goudrons dans le cas du sol pollué SP1). Mais l'importance relative de chacune des fractions granulométriques dans l'accumulation des r sides non extractibles des HAP est directement fonction de leur importance pondérale : les fractions de la taille des argiles (2-0,2 et >0,2  m) sont les fractions qui ont la proportion la plus élevée des r sides non extractibles totaux du sol. Dans tous les cas, la matière organique des fractions provenant du sol cultivé CSAC présente la plus grande affinité pour la formation des r sides non extractibles.

- Le carbone organique associé aux acides humiques des sols d'origine agricole a une grande capacité à former ou stocker des résidus non extractibles. Cette capacité est plus importante dans le sol cultivé CSAC que dans le sol sous prairie CSAP. Le carbone organique associé aux acides humiques et à l'humine forme d'autant plus de résidus non extractibles que le HAP est lourd.
- L'hydrolyse des liaisons hétéroatomiques facilite l'extraction des résidus des HAP probablement retenus par l'intermédiaire des liaisons du type C-O, mettant en jeu probablement des métabolites hydroxylés des HAP et des composés organiques des sols. La proportion des résidus non extractibles des HAP formés par l'intermédiaire des liaisons hydrolysables diminue avec la complexité du HAP dans le sens : PHE > FLT > BaP. Ce type de mécanisme de stabilisation est très important dans le sol pollué SP1 où la totalité des résidus non extractibles du PHE, 50 % de ceux du FLT et 30 % de ceux du BaP semblent être incorporés par l'intermédiaire de liaisons hydrolysables.
- Les résidus non extractibles de FLT et de BaP continuent à être biodisponibles quand ils sont confrontés à une microflore adaptée à la dégradation des HAP. La désagrégation ou un traitement physique dissociant les particules des sols ne semble pas nécessaire pour rendre biodisponibles ces résidus. Leur biodisponibilité semble donc surtout limitée par la présence d'une microflore spécifique. Dans le cas du FLT, la matière organique non humifiée correspondant à une taille supérieure à 200 µm semble provoquer une stabilisation plus importante des résidus non extractibles les rendant moins biodisponibles pour leur dégradation.

Conclusions générales :

Les interactions entre les polluants et les sols sont dynamiques, en ce sens qu'elles évoluent dans le temps sous l'influence de nombreux facteurs, selon des processus conduisant au « vieillissement » du milieu pollué. Certaines interactions sont en effet cinétiquement limitées (diffusion des polluants dans les particules de sols, réactions microbiologiques) et/ou irréversibles (biodégradation, création de liaisons fortes entre les polluants ou leurs produits de dégradation et le sol). La « seule » prise en compte des phénomènes d'adsorption, de convection, de dispersion et de biodégradation qui caractérise la majorité des modèles actuels est donc insuffisante pour décrire le comportement des HAP dans les sols à des horizons de temps de moyen (quelques semaines) et long termes (quelques années). Une meilleure prise en compte des processus d'évolution dans le temps de ces différents phénomènes est indispensable pour gérer les problèmes de pollutions anciennes des sols.

Les résultats de ce programme montrent que la mobilité des polluants apportés dans un sol est considérablement réduite au cours des 3 premiers mois de contact, et ce d'autant plus que le sol est microporeux et riche en matière organique. Les polluants (notamment les petites molécules) diffusent dans la microporosité des particules de sol ou dans des phases organiques condensées (composés humiques, goudrons) et deviennent ainsi plus difficilement accessibles à l'eau, aux solvants organiques, et aux micro-organismes. Pour les molécules plus grosse et donc plus hydrophobes, des liaisons de forte énergie, éventuellement covalentes, peuvent être créées avec les composés organiques des sols en présence d'une activité microbienne, tendant à réduire encore la mobilité des polluants avec le temps. Des résidus de polluants « non extractibles » se créent ainsi progressivement.

L'ensemble de ces processus cinétiquement limités et/ou irréversibles tend ainsi à réduire relativement rapidement la mobilité des molécules d'HAP dans des sols organiques ou riches en particules microporeuses (comme les argiles). On peut donc s'attendre à une réduction progressive des risques environnementaux présentés par ces sols pollués, dans la mesure bien évidemment que les conditions du « scénario » considéré ne sont pas affectées : pas de nouveaux apports en polluants réalisés (fuites de réservoirs ou de fûts enterrés, mélange de terres fortement polluées et/ou de goudrons, etc...), et pas non plus de modifications des conditions d'accès des populations au site et d'écoulement des eaux de surface et souterraines. La réduction de mobilité des HAP est d'autant plus importante que le sol est riche en matière organique (et microporeux). Ceci explique le rôle de l'apport de matière organique exogène (de type compost, etc...) pratiqué pour le traitement de certains sols, qui « stabilise » les polluants davantage qu'il ne stimule leur biodégradation.

Cependant, ces résidus non extractibles (ou « résidus liés ») continuent à être biodisponibles quand ils sont confrontés à une microflore adaptée à la dégradation des HAP. Les vitesses et les taux de dégradation de ces résidus sont inférieurs à ceux des HAP fraîchement introduits, mais ils sont loin d'être nuls. La désagrégation ou un traitement

physique dissociant les particules des sols ne semble pas nécessaire pour rendre biodisponibles ces résidus. Leur biodisponibilité semble donc surtout limitée par la présence d'une microflore spécifique. Ainsi, il est possible qu'une activité microbienne intense, liée à la mise en œuvre d'un traitement biologique du sol, ou à des modifications du scénario (aération du sol lors d'une excavation, reverdissement du site, etc...) entraîne la biodégradation ou la remobilisation partielle ou totale d'une partie des résidus liés.

L'analyse chimique « classique » de sols pollués contenant de tels « résidus liés » (sols pollués riches en matière organique et microporeux) peut sous-estimer fortement la teneur réelle en HAP du fait que ceux-ci sont très peu extractibles. Dans de tels cas, l'établissement de critères d'intervention et/ou d'objectifs de traitement doit prendre en compte les risques de mobilisation de ces résidus sous l'effet notamment d'une activité biologique. Les résultats obtenus dans ce programme ne sont pas suffisamment avancés pour permettre de se prononcer clairement sur le sujet. Des travaux de recherche complémentaires s'avèrent encore nécessaires.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Aiken, G. R., McKnight, D. M., Wershaw, R. L., & McCarty, P. 1985. *Humic Substances in Soil, Sediment and Water: Geochemistry, isolation and characterization*. New York: Wiley Interscience Pub., John Wiley & Sons.
- Alexander, M. 1994. *Biodegradation and Bioremediation*. UK: Academic Press Limited.
- Aziz, C. & Melcer, H. 1991. *Bioremediation of Soil Contaminated with Manufacture Gas Plant Residues. A Literature Review*. Ontario Canada: Wastewater Technology Centre.
- Barriuso, E. ; Baer, U. & Calvet, R., 1992. Dissolved Organic Matter and Adsorption-Desorption of Dimefuron, Atrazine and Carbetamide by Soils. *J. Environ. Qual.* 21(7), 1237-1249.
- Barriuso, E. & Koskinen, W.C. 1996. Incorporating Nonextractable Atrazine Residues into Soil Size Fractions as a Function of Time. *Soil Sci.Soc. Am.J.* 60, 150-157.
- Ball, W.P. & Roberts, P.V. 1992. Long-term sorption of halogenated organic chemicals by aquifer material .1. equilibrium - comment. *Environ. Sci. Technol.* 26: 2301-2.
- Bayard, R. 1997. *Etude de l'adsorption/désorption de polluants organiques dans les sols. Approche méthodologique et application au pentachlorophénol et aux hydrocarbures aromatiques polycycliques*. Thèse: Institut National de Sciences Appliquées de Lyon.
- Bayard, R., Gourdon R. & Barna, L. 1998. Influence of Organic Pollutants on Sorption of Naphthalene in Contaminated Soils. *ConSoil'98, Proceeding of the 6th Int. FZK/TNO Conference on Contaminated Soil*. Thomas Telford Publishing.
- Bayard, R., Barna, L., Mahjoub, B. & Goudron, R. 2000. Influence of the Presence of Pahs and Coal Tar on Naphthalene Sorption in Soils. *J. Contam. Hydraul.* Submitted for Publication.
- Beck, J. Le Goudron de Houille. Collection Que Sais-je ? Paris : Presses Universtaires de France, 1950, 128p.
- Benoit, P. 1994. *Rôle des matières organiques dans la stabilisation des résidus de polluants organiques dans les sols*. Thèse: Institut National Agronomique Paris-Grignon.
- Bhandari, A. ; Novak, J.T. & Berry, D.F. 1996, Binding of 4-Monochlorophenol to Soil. *Environ. Sci. Technol.* 30, 7, 2305-2311.
- Bollag J.M. & Loll, M.J. (1983). Incorporation of Xenobiotic into Soil Humus. *Experientia*, 39, 1221-1230.
- Bollag, J. M., C. J. Myers et R. D. Minard. 1992. Biological and chemical interactions of pesticides with soil organic matter. *Sci. Total Environ.* 123: 205-17.
- Brusseau, M. L., R. E. Jessup et P. S. C. Rao. 1991. Nonequilibrium sorption of organic chemical : Elucidation of rate-limiting processes . *Environ. Sci. Technol.* 25: 134-42.
- Brutsaert, W. 1966, *Soil Science*, Vol. 101, 85-92.
- Burgos, W. D., J. T. Novak et D. F. Berry. 1996. Reversible sorption and irreversible binding of naphthalene and alpha-naphthol to soil: Elucidation of processes. *Environ. Sci. Technol.* 30: 1205-11.

- Calderbank, A. 1989. The occurrence and significance of bound pesticide residues in soil. *Rev. Environ. Contam. Toxicol.* 108: 71-103.
- Cerniglia, C.E. 1992. Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons. *Biodegradation*, 3, 351-368.
- Chin, Y. P., G. R. Aiken et K. M. Danielsen. 1997. Binding of Pyrene to Aquatic & Commercial Humic Substances: The Role of Molecular Weight and Aromaticity. *Environ. Sci. Technol.* 31: 1630-1635.
- Chung Namhyun, & Alexander, M. 1998. Differences in Sequestration Bioavailability of Organic Compounds Aged in Dissimilar Soils. *Environ. Sci. Technol.*, 32, 855-860.
- Connaughton, D. F., J. R. Stedinger, L. W. Lion et M. L. Shuler. 1993. Description of Time-Varying Desorption Kinetics - Release of Naphthalene from Contaminated Soils. *Environ. Sci. Technol.* 27: 2397-403.
- Crittenden, J. C., N. J. Hutzler, D. G. Geyer, J. L. Orawitz et G. Friedman. 1986. Transport of Organic Compounds with Saturated Groundwater Flow: Model Development & Parameter Sensitivity. *Water Resource Res.* 22: 271-84.
- Dec, J. et J. M. Bollag. 1997. Determination of Covalent and Noncovalent Binding Interactions Between Xenobiotic Chemicals and Soil. *Soil Sci.*, 162, 858-74.
- De Jonge, H. & Mittelmejer,-Hazeleger, M.C. 1996. Adsorption of CO₂ and N₂ on Soil Organic Matter: Nature of Porosity, Surface Area, and Diffusion Mechanisms. *Environ. Sci. Technol.*, 30(2), 408-413.
- DiToro D.M. & Horzenpa, L.M. 1982. Reversible and Resistance components of PCB Adsorption/Desorption. *Environ Sci. technol.*, 16, 592-602.
- Environnement Canada. 1994. *Liste des substances d'intérêt prioritaire. Rapport d'Evaluation. Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques.* Ottawa: Environnement Canada.
- E.P.R.I.(Electric Power Research Institute) 1993. *Chemical and Physical Characteristics of Tar Samples from Selected Manufactured Gas Plant Sites.* Project N° 2879-12. Final Report. *Atlantic Environmental Services Inc.* Colchester, Connecticut, (1993).
- Erickson, D. C., R. C. Loehr et E. F. Neuhauser. 1993. PAH Loss During Bioremediation of Manufactured Gas Plant Site Soils. *Water Res.*, 27, 911-19.
- Eschenbach, A. ; Wienberg, R. & Mahro, B. 1998, Fate and Stability of Nonextractable Residues of [14C]PAH in Contaminated Soils under Environmental Stress Conditions. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 32, n°17, pp. 2585-2590.
- Farrel J. & Reinhard, M. 1994. Desorption of Halogenated Organics from Model Solids, Sediments and Soils under Unsaturated Conditions : 1. Isotherms. *Environ Sci. Technol.*, 28(1), 53-62.
- Farrel J. & Reinhard, M. 1994. Desorption of Halogenated Organics from Model Solids, Sediments and Soils under Unsaturated Conditions : 2. Kinetics. *Environ Sci. Technol.*, 28(1), 63-72.
- Farrell, J. ; Grassian, D. & Jones, M. Investigation of Mechanisms Contributing to Slow Desorption of Hydrophic Organic Compounds from Mineral Solids. 1999, *Environ. Sci. Technol.*, 33(8), 1237-1243.
- Fu, G.M., Kan, A.T. & Tomson, M 1994. Adsorption & Desorption Hysteresis of PAHs in Surface Sediment. *Environ. Toxicol. Chem.* 13, 1559-67.

- Gauthier, T.D., Seitz, W.R. & Grant, C.L. 1987. Effects of Structural & Compositionnal Variations of Dissolved Humic Materials on Pyrene K_{oc} Values. *Environ. Sci. Technol.* 21, 243-48.
- Graber, E.R. & Borisover, M.D. 1998. Hydration-Facilitated Sorption of Specifically Interacting Organic Compounds by Model Soil Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* 32, 258-63.
- Guerin, W.F. & Boyd, S.A. 1997. Bioavailability of Naphthalene Associated with Natural & Synthetic Sorbents. *Water Res.* 31, 1504-12.
- Hamaker, J.W. & Thompson, J.M. 1972. Adsorption. In *Organic Chemicals in the Soil Environment*, Vol. 1 (C.A.J. Goring, and J.W. Hamaker, Eds.), New York : Marcel Dekker, 1972, p 49-143.
- Hatcher, P.G., Bortiatynski, J.M. Minard, R.D. Dec, J. & Bollag, J.M. 1993. Use of High-Resolution C-13 NMR to Examine the Enzymatic Covalent Binding of C-13-Labeled 2,4-Dichlorophenol to Humic Substances. *Environ. Sci. Technol.* 27, 2098-103.
- Hattori, T & Hattori, R. 1976. The Physical Environment in Soil Aicrobiology. An Attempt to Extend Principles of Microbiology to Soil Microorganisms. *Crit. Rev. Microbiol.* 4: 423-61.
- Hatzinger, P.B. & Alexander, M. 1997. Biodegradation of organic compounds sequestered in organic solids or in nanopores within silica particles. *Environ. Toxicol. Chem.* 16, 2215-21.
- Hatzinger, P. B. et M. Alexander. 1995. Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. *Environ. Sci. Technol.* 29: 537-45.
- Heitkamp, M.A.; Freeman, J.P. & Cerniglia, C.E. 1987. Naphtalene Biodegradation in Environmental Microcosms: Estimates of Degradation Rates and Characterisation of Metabolites. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(1), 129-136.
- Heitkamp, M.A. & Cerniglia, C.E. 1988. Mineralization of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons by a Bacterium Isolated from Sediments below an Oil Field. *Appl. Environ. Microbiol.*, 54(6),. 1612-1614.
- Huang, W. ; Schlautman, M.A. Weber, W.J. A Distributed Reactivity Model for Sorption by Soils and Sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 1996, 30, 881.
- Huang, W.L., Young, T.M., Schlautman, M.A., Yu, H. & Weber, W.J.Jr. 1997. A Distributed Reactivity Model for Sorption by Soils and Sediments .9. General Isotherm Nonlinearity and Applicability of the Dual Reactive Domain Model. *Environ. Sci. Technol.* 31: 1703-10.
- Huang, W. ; Yu, H. & Weber Jr, W.J. 1998. Hysteresis in the Sorption and Desorption of Hydrophobic Organic Contaminants by Soils and Sediments. 1 A Comparative Analysis of Experimental Protocols, *J. Contam. Hydrol.*, 31, 129-148.
- Illangasekare, T.H. ; Ramsey, J.L. ; Jensen, K.H. & Butts, M.B. 1995. Experimental Study of Movement and Distribution of Dense Organic Contaminants in Heterogeneous Aquifers. *J. Contam. Hydrol.*, 20, 1-25.
- Isaacson P.J. & Frink, C.R., 1984. Noreversible Sorption of Phenolic Compounds by Sediments Fractions : The Role of Sediments Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.*, 18(1), 43-48.
- Kan, A.T., Fu, G.M., Hunter M.A. & Tomson, M.B. 1997. Irreversible adsorption of naphthalene and tetrachlorobiphenyl to Lula and surrogate sediments. *Environ. Sci. Technol.* 31, 2176-85.
- Kan, A.T., Fu, G.M., Hunter, M.A., Chen, W., Ward, C.H. & Tomson, M.B. 1998. Irreversible Sorption of Neutral Hydrocarbons to Sediments: Experiemntal Observations and Model Predictions. *Environ. Sci. Technol.*, 32(7), 892-902.

- Karickhoff, S.W. 1984. Organic Pollutant Sorption in Aquatic Systems. *J. Hydraul. Eng.*, 110, 707-735.
- Karimi-Lotfabad, S., M. A. Pickard et M. R. Gray. 1996. Reactions of polynuclear aromatic hydrocarbons on soil. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1145-51.
- Kästner, M. ; Lotter, S. ; Heerenklage, J. ; Breuer-Jammali, M. ; Stegmann , R. & Mahro, B. 1995. Fate of ¹⁴C-Labeled Anthracene and Hexadecane in Compost-Manured Soil. *Appl. Environ. Microbiol.*, 43, 1128-1135.
- Khan, S. U. 1980. *Pesticide in soil environment. Fundamental aspect of pollution control and environmental science.* Amsterdam: Elsevier.
- Kopinke, F.D., Porschmann, J.& Stottmeister, U. 1995. Sorption of organic pollutants on anthropogenic humic matter. *Environ. Sci. Technol.* 29, 941-50.
- Kyoungphile, N. & Alexander M. 1998. Role of Nanoporosity & Hydrophobicity in Sequestration & Bioavailability: Tests with Model Solid. *Environ. Sci. Technol.* 32, 71-74.
- Laor, Y., W. J. Farmer, Y. Aochi & P. F. Strom. 1998. Phenanthrene Binding and Sorption to Dissolved & to Mineral-Associated Humic Acid. *Water Res.* 32, 1923-31.
- Leboeuf, E.J. & Weber. W.J.Jr. 1997. A Distributed Reactivity Model for Sorption by Soils and Sediments .9. Sorbent Organic Domains: Discovery of a Humic Acid Glass Transition and an Argument for a Polymer-Based Model. *Environ. Sci. Technol.* 31: 1697-702.
- Loehr, L.C. & Webster, M.T. 1996. Behavior of Fresh vs. Aged Chemicals in Soil. *J. Soil Contam.* 5: 361-83.
- Luthy, R.G., Aiken, G.R., Brusseau, M.L., Cunningham, S.C., Gschwend, P.M., Pignatello, J.J., Reinhard, M., Traina, S.J., Weber Jr, W.J., Westall, J.C. 1997. Sequestration of Hydrophobic Organic Contaminants by Geosorbents. *Environ. Sci. Technol.* 31, 3341-3347.
- Mackay, D.M., Roberts, P.V. & Cherry, J.A. 1985. Transport of Organic Contaminants in Ground Water. *Environ. Sci. Technol.*, 19, 384-392.
- MacGinley P.M., Katz, L.E. & Weber, W.J.Jr. 1993. A Distributed Reactivity Model for Sorption by Soils and Sediments .2. Multicomponent Systems & Competitive Effects. *Environ. Sci. Technol.* 27, 1524-1531.
- Mahjoub, B. 1999. Comportement Dans le Sol de Polluants Aromatiques Issus du Goudrons de Houille. Etude du Partage Goudron/Eau et de l'Effet du Vieillissement sur la Mobilité des Polluants. Thèse, Insa de Lyon, 99 ISAL 0071, 262 p.
- Mahjoub, B. ; Jayr, E. ; Bayard, R. & Goudron, R. 2000. Phase Partition of Organic Pollutants between Coal Tar and Water under Variable Experimental Conditions. *Wat. Res. In Press.*
- Mahro, B. ; Schaefer, G. & Kästner, M. 1994. In Bioremediation of Chlorinated and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons Compounds. Hinchee, R.E. ; Leeson, A. ; Semprini, L. & Ong, S.K. Eds. ; Lewis Publishers : Boca Raton, FL, 1994, pp 203-217.
- Manilal, V. B. & Alexander, M. 1991. Factor Affecting the Microbial Degradation of Phenanthrene. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 35, 401-405.
- Means, J.C. ; Wood, S.G. ; Hasset, J.J. & Banwart, W.L. 1980. Sorption of Polynuclear Aromatic Hydrocarbons by Sediments & Soils. *Environ. Sci. Technol.*, 14, 522-529.

- Mihelcic, J.R. & Luthy, R.G. 1991. Sorption and Microbial Degradation of Naphthalene in Soil-Water Suspension under Denitrification Conditions. *Appl. Environ. Microbiol.* 25, 169-177.
- Miller, C.T. & Weber, W.J.Jr. 1986. Sorption of Hydrophobic Organic Pollutants in Saturated Soil Systems. *J. Contaminant Hydrology* 1, 243-61.
- Miller C.T. & Pedit, J.A. 1992. Use a Reactive Surface-Diffusion Model To Describe Apparent Sorption-Desorption Hysteresis and Abiotic Degradation of Lindane in a Subsurface Material. *Environ. Sci. Technol.*, 26(7), 1417-1427.
- Morel F.M.M. & Gschwend, P.M. 1987. The Role of Colloids in the partitioning of Solutes in Natural Waters. In: Stumm, W. (Ed.), *Aquatic Surface Chemistry: Chemical Processes at the Particle-Water Interface*, Wiley, New York, 405-422.
- Ouimet, N. 1997. *Etude en vue de la mise au point d'une chaîne de traitements de matériaux souillés par des goudrons issus de la pyrolyse de la houille*. Institut National de Sciences Appliquées de Lyon.
- Peters, C.A. & Luthy, R.G. 1993. Coal Tar Dissolution in Water-Miscible Solvents: Experimental Evaluation. *Environ. Sci. Technol.*, 27(13), 2831-2843.
- Pignatello, J.J. & Xing, B. 1996. Mechanisms of Slow Sorption of Organic Chemicals to Natural Particles. *Environ. Sci. Technol.* 30, 1-11.
- Qiu, X. & McFarland, M.J. 1991. Bound residue formation in PAH contaminated soil composting using *Phanerochaete Chrysosporium*. *Hazardous Waste & Hazardous Materials* 8, 115-26.
- Richnow H.H., Eschenbach, A., Mahro, B., Seifert, R., Wehrung, P. Albrecht, P. & Michaelis, W., 1998. The Use of ¹³C-Labelled Polycyclic Aromatic Polycyclic Hydrocarbons for the Analysis of Their Transformation in Soil. *Chemosphere*, 36(10), 2211-2224.
- Scow, K.M. & Alexander, M. 1992. Effect of Diffusion on the Kinetics of Biodegradation: Experimental Results with Synthetic Aggregates. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 56, 128-134.
- Steinberg, S.M., Pignatello, J.J., Sawhney, B.L. 1987. Persistence of 1,2-dibromomethane in soils: entrapment in intraparticles micropores. *Environ. Sci. Technol.* 21, 1201-8.
- Van Genuchten, M.T. & Wagenet, R.J. 1989. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 53, 1303.
- Verschueren, K. 1993. *Handbook of environmental data on organic chemicals*. New York: Van Nostrand Reinhold.
- Weber, W.J.Jr., Huang, W.L. & Yu, H. 1998. Hysteresis in the sorption and desorption of hydrophobic organic contaminants by soils and sediments - 2. Effects of soil organic matter heterogeneity. *J. Contaminant Hydrol.* 31, 149-65.
- Weissenfels, W.D.; Beyer, M.; Klein, J. & Rehm, H.J. 1991. Microbial Metabolism of Fluoranthene Isolation and Identification of Ring Fission Products. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 34, 528-535.
- Weissenfels, W.D.; Klewer, H.J. & Langhoff, J. 1992. Adsorption of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons (PAHs) by Soil Particles: Influence on Biodegradability and Biototoxicity. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 36, 689-696.
- Wershaw, R.L. 1993. Model for Humus. *Environ. Sci. Technol.*, 27(5) 814-817.
- Werth, J.C. & Reinhard, M. *Environ. Sci. Technol.* (1997), 31, 697-703.

White, J.C. ; Kelsey, J.W. Hatzinger, P.B. & Alexander, M. 1997. Factors Affecting Sequestration and Bioavailability of Phenanthrene in Soils. *Environ. Sci. Technol.*, 16(10), 2040-2045.

White, J.C., Hunter, M., Pignatello, J.J. & Alexander, M. 1999. Increase in Bioavailability of Aged Phenanthrene in Soils by Competitive Displacement with Pyrene. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18(8), 1728-1732.

White, J.C. & Pignatello, J.J. 1999. Influence of Bisolute Competition on the Desorption Kinetics of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soils. *Environ. Sci. Technol.*, 33(3), 4292-4298.

Wu, S. & Gschwend, P.M. 1986. Sorption kinetics of hydrophobic organic compounds to natural sediments and soils. *Environ. Sci. Technol.* 20, 717-25.

Wu, S. & Gschwend, P.M. 1988. *Environ. Sci. Technol.* 24, 1373-1383.

Xing, & Pignatello, J.J. 1997 Dual Mode Sorption of Low-Polarity Compounds in Glassy Poly(Vinyl Chloride) and Soil organic Matter. *Environ. Sci. Technol.* Vol. 31, 792-799.

Young T.M. & Weber, W.J. Jr. 1995. A Distributed Reactivity Model for Sorption by Soils and Sediments : 3. Effects of Diagenetic Processes on Sorption Energetics. *Environ. Sci. Technol.* 29(1), 92-97.

PRODUCTION SCIENTIFIQUE ISSUE DU PROGRAMME

- Bayard R., Barna L. & Gourdon R. (1998) Influence of organic pollutants on the sorption of naphthalene in soils. *Sixth International FZK.TNO Conference on Contaminated Soil, "Consoil 98"*, Edinburgh, Ecosse, 17-21 Mai 1998, Thomas Telford Publishing Ltd, Vol 2, 849-850
- Bayard R., Barna L., Mahjoub B. & Gourdon R. (1998) Investigation of naphthalene sorption in soils and soil fractions using batch and column assays. *Environ. Toxicol. Chem.*, **17** (12), 2383-2390.
- Mahjoub B. & Gourdon R. (1999) Effects of aging on the mobility of PAHs in soils. *5th international in-situ and on-site bioremediation symposium*, San Diego, Californie, 19-22 avril 1999, A. Leeson et B.C. Alleman Eds., Battelle Press, 235-240
- Borhane Mahjoub (Thèse soutenue le 29-9-99) Comportement dans le sol de polluants aromatiques issus du goudron de houille. N° 99 ISAL0071, 262 pages.
- Mahjoub B., Jayr E., Bayard R. & Gourdon R. (2000) Phase partition of organic pollutants between coal tar and water. *Water Res.*, sous presse.

(D'autres articles sont actuellement en cours de préparation et seront envoyés courant 2002)