



HAL
open science

Étude de la remobilisation d'éléments traces à partir d'un sol de surface contaminé : Influence du vieillessement de la matière organique du sol sur la remobilisation du sélénium

Christophe Chabroulet

► **To cite this version:**

Christophe Chabroulet. Étude de la remobilisation d'éléments traces à partir d'un sol de surface contaminé : Influence du vieillissement de la matière organique du sol sur la remobilisation du sélénium. Géochimie. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2007. Français. NNT : 2007GRE10033 . tel-00156873

HAL Id: tel-00156873

<https://theses.hal.science/tel-00156873>

Submitted on 23 Jun 2007

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

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

Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie
(IRSN)
et
Laboratoire d'étude des Transfert en Hydrologie et
Environnement

THESE

présentée par

Christophe CHABROULLET

Pour obtenir le titre de
Docteur de l'Université Joseph Fourier - Grenoble I
Ecole doctorale Terre, Univers et Environnement (TUE)

ÉTUDE DE LA REMOBILISATION D'ÉLÉMENTS TRACES À PARTIR D'UN SOL DE SURFACE CONTAMINÉ :

Influence du vieillissement de la matière organique du sol sur la
remobilisation du sélénium

Date de soutenance : 23 mars 2007

Composition du jury :

André Amblès	Rapporteur	Professeur, Université de Poitiers
Pierre Toulhoat	Rapporteur	Directeur de recherche, Université Lyon I
Laurent Charlet	Examineur	Professeur, Université Grenoble I
Sylvie Nazaret	Examineur	Chargée de recherche, CNRS, Lyon
Arnaud Martin-Garin	Examineur	Ingénieur de recherche, IRSN Cadarache
Jean-Paul Gaudet	Directeur de thèse	Ingénieur de recherche, Université Grenoble I

REMERCIEMENTS

Cette thèse financée par l'Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire a été réalisée au Laboratoire de Radioécologie et d'Ecotoxicologie du Service d'Etudes sur le Comportement des Radionucléides dans les Ecosystèmes de l'IRSN (à Cadarache) dirigé respectivement par Mme Jacqueline Garnier-Laplace et M. Jean-Christophe Gariel. Je souhaite les remercier de m'avoir accueilli au sein de leur équipe et pour les moyens qu'ils ont mis à ma disposition au cours de ce travail.

Je ne saurais commencer ces remerciements sans penser à Arnaud Martin-Garin et Frédéric Coppin qui ont largement contribué à l'ensemble de ces travaux. J'admire particulièrement leur grande rigueur et leur très grande implication dans ce projet de recherche. Ils m'ont initié à la bio-géochimie et ont surtout su m'enseigner l'art du : « tiens on pourrait peut-être aussi faire ça en parallèle des autres manips ... et puis ça ... et ça ? ». Je les remercie pour la confiance qu'ils m'ont témoignée et pour leur participation plus qu'active tout au long de cette thèse. Ils ont toujours été présents : de la définition du sujet, aux relectures et améliorations (bien nécessaires) de ce mémoire, en passant bien entendu par les manips. Merci notamment à Fred pour les milliers d'heures (voir plus) passées dans la plus petite pièce du labo à faire joujou avec les batchs et merci à Arnaud et ses colonnes diaboliques pour avoir sacrifié un peu de son temps si précieux pour faire des manips (je sais que tu ne le faisais pas à contrecœur). J'espère avoir été à la hauteur devant la complexité du sujet que nous avons tenté d'étudier. En tout cas je suis sûr d'avoir fourni suffisamment de données pour qu'ils puissent penser à moi pendant quelques années. Ces remerciements ne sont bien évidemment pas à la hauteur de leur implication, de leur sympathie, etc. ... Si je devais de nouveau faire cette étude, je ne pourrais pas rêver de meilleurs encadrants/collaborateurs.

Je remercie également Jean-Paul Gaudet d'avoir accepté de diriger cette thèse depuis son fief de Grenoble et de m'avoir accordé une totale confiance. Merci pour toutes les critiques formulées durant ces quelques années (surtout les critiques positives ! Je ne sais pas pourquoi mais c'est celles que je préfère). J'admire son expérience et son recul, notamment devant la multitude de données qu'on lui livrait généralement le jour de notre venue à Grenoble ... et bien entendu on attendait des réponses et des orientations avant de repartir à Cadarache.

Je tiens à adresser mes très sincères remerciements à tous les membres du jury qui ont accepté de juger ce travail et à l'ensemble des personnes qui ont contribué à l'élaboration de cette thèse. Je suis notamment très sensible à l'honneur que m'ont fait Mrs André Amblès et Pierre Toulhoat en acceptant d'être rapporteurs de ce travail de thèse et M. Laurent Charlet en étant président de mon jury. Un grand merci à Sylvie Nazaret et à toute l'équipe du LEM (particulièrement Benoit Cournoyer et Elisabeth Borthier) pour m'avoir permis d'effectuer les expériences d'ARISA et pour l'accueil chaleureux qu'ils m'ont réservé pendant les quelques semaines de manipulation dans leur laboratoire. Je tiens également à remercier Jérôme Balesdent pour les aides précieuses sur la modélisation RothC et pour m'avoir enseigné l'art du fractionnement granulo-densimétrique. Merci aussi à l'équipe du LETS de l'IRSN à Fontenay-aux-Roses et plus spécialement à Elisabeth Tinseau pour les quelques journées d'observation MEB qui m'ont permis de faire de la « belle » science. Enfin je remercie Paul Poulton pour m'avoir permis de travailler sur des échantillons de sol provenant de parcelles de l'Institut agronomique de Rothamsted (en Grande Bretagne).

Une pensée très forte pour Olivia, ma collègue de bureau, ~~avec qui j'ai parlé~~ que j'ai du écouter pendant plusieurs années (j'avoue, certaines fois je faisais semblant de t'écouter !)... Mille mercis pour avoir été ma « secrétaire perso », grâce à toi je n'ai pas oublié tous les rendez-vous, les dead-lines, la paperasse, etc. Bon courage pour cette dernière année de thèse (arrête de râler et vive le sélénium) et surtout n'oublie pas de me prévenir le jour où tu auras reçu la demande en mariage tant convoitée...

Merci à la µbio-géo-planto-chimiste Laureline (ma copine de microbio !) pour m'avoir permis de faire de la microbiologie et d'en parler avec/contre Arnaud et Fred. Merci également pour la biblio qui encombrait ma boîte mail, mais qui m'a finalement rendu bien des services (on s'en rend surtout compte en fin de thèse). J'ai pris un grand plaisir à venir discuter dans ton bureau de tout, de rien, des manips et des nouvelles idées d'Arnaud et Fred ... Et pense à ne pas trop traumatiser Olivia.

Merci à Daniel pour son aide précieuse qui a commencé dès le début de l'aventure en acceptant d'accompagner 2 fous -Fred et moi- pour aller ramasser plus de 100 kg de sol avec l'équivalent d'un dé à coudre (à ce sujet, une pensée pour toutes les tarières que tu as mutilées serait la bien venue). Si seulement à l'époque tu avais imaginé que ce sol allait conduire à une file ininterrompue d'échantillon !!! Bon courage pour la suite des travaux dans ton appartement et plein de réussite dans tes études.

Je ne peux oublier mes premiers pas dans l'encadrement avec le terrible Julien et son humour ravageur, que j'ai torturé en lui imposant un rythme effréné. Je pense également au travail d'Emmanuelle et notamment à son aide formidable lors de l'extraction d'ADN de centaines d'échantillons de sols, où j'ai pu apprécier son talent musical (à contrecœur !).

Je remercie particulièrement Magali pour m'avoir fait confiance en acceptant de faire des observations MET pas forcément très jolies, pour avoir supporté mon disciple turbulent (Julien) et pour tous les bons moments passés devant le MET. C'est avec beaucoup d'émotion et de sincérité que je te souhaite plein de courage pour la suite. J'en profite pour faire part de toute mon amitié à Alain et à vos enfants.

J'adresse également mes remerciements à toutes les autres personnes du laboratoire qui ont contribué, à leur manière, à cette magnifique aventure aujourd'hui achevée. Merci plus particulièrement à :

- Chantal, la gardienne des dispositifs d'incubation. Pendant plus de 2 ans, tu m'as confié quotidiennement quelques précieuses minutes pour contrôler mon dispositif, pour changer les pièges à sélénium ... avec sourire, gentillesse et rigueur. En échange reçois mon admiration et ma reconnaissance ... et surtout ne change pas !
- Thomas et son humour subtil, qui reste à ce jour le seul (avec moi) à réellement savoir ce que c'est qu'une thèse encadrée par Arnaud (captivant, mais pas très reposant). Félicitation pour tes bébés, mais la prochaine fois essaye de les faire un par un ...
- Pierre et sa participation aux manips « Rothamsted ». Bravo pour avoir réussi à entrer dans l'esprit des expériences ...
- Marcel et Danielle pour les nombreux dosages par scintillation liquide et spectro gamma. Ils m'ont toujours accueilli avec joie, même quand j'étais accompagné de 4 racks pleins d'échantillons et que je leur disais : « Au fait demain j'en apporte le double ! »
- Virginie et son ICP ... qui trouvait parfois qu'on avait un peu trop d'échantillons (presque autant qu'Olivier).
- Claire pour m'avoir permis de comprendre et d'apprécier les statistiques, enfin une partie seulement ! Grâce à toi j'ai pu faire de jolies ACP très réussies.
- L'ancienne génération de thésardes (Elodie, Hélène, Laetitia et Sabrina) et la nouvelle (Stéphanie, Florence, Sandra et Olivia) pour leur gentillesse, leur bonne humeur, etc. Conseil d'un ex-thésard pour Stéphanie et Florence : n'oubliez pas de prendre un peu de vacances de temps en temps pour décompresser ... et bon courage le plus dur reste à venir !
- Rodolphe pour sa gentillesse. C'est sûrement le meilleur chimiste des biologistes du labo où le meilleur biologiste des chimistes du labo ... en tout cas j'ai apprécié de pouvoir discuter avec lui de biologie et/ou de chimie avec simplicité.
- Hervé qui m'a bien fait rire ... surtout quand il n'était pas content. Pour te remercier de ta sympathie je vais t'aider un peu : je profite de ces quelques

lignes pour dire à tout le monde d'arrêter d'être méchant et pas gentil avec Hervé.

- Olivier, mon ancien compagnon d'arrêt de bus de 18h30, pour les discussions parfois controversées notamment concernant la cartographie MET (tu as presque failli accepter l'idée que peut-être il était possible que je puisse ne pas avoir complètement tord au sujet du bruit de fond).
- Claudine, la secrétaire que si on ne l'avait pas on serait parfois bien embêté... Et promis, je vais essayer de penser à t'envoyer des photos de Quentin.
- Gaëla Grasset pour ta gentillesse, toi qui connais la Charente...
- Pascale notamment pour m'avoir aidé à coupé 25 m² de gazon aux ciseaux (oui, je sais on a inventé la tondeuse depuis plusieurs décennies).
- Laure, Cathy, Christelle, Frédéric, Nadine, Claude, Isabelle, Valérie, Jean-Marc, etc. pour vos différents caractères et qualités qui ont contribué à la bonne ambiance générale du laboratoire où j'ai apprécié vivre pendant ces quelques années.
- La machine à café ... qui nous a permis d'avoir de belles discussions plus ou moins philosophiques, plus ou moins scientifiques, plus ou moins drôles et qui me manqueront terriblement ! Merci aussi pour tous les cafés qui m'ont permis de rester en pleine forme (même si certains dises que je suis déjà en forme sans café).

Je remercie mon meilleur ami Julien pour ses coups de fil qui me permettait de faire une agréable coupure dans mon « agenda hyper surbooké » ... Ça fait plaisir de parler à quelqu'un qui nous connaît vraiment ! Merci d'être rester fidèle à tes valeurs même lorsque tu es passé du pays des vaches à celui du métro-boulot-dodo. Et merci de ne pas avoir fini ta thèse avant moi.

Et une petite pensée pour Véro pour m'avoir initié aux joies de la recherche alors que je n'étais qu'un DEA. Durant ma thèse, lorsque j'étais seul au labo, j'ai parfois eu l'impression que ton rire atypique venait me hanter ... Alors en souvenir d'un lointain passé, la limace attend avec impatience de faire un big bisou aux mariés.

Enfin, je remercie ma famille qui était malheureusement trop éloignée, mais qui m'a permis d'aller jusqu'au bout. Heureusement qu'il y avait les congés pour venir en vacances dans le Limousin et la Charente pour décompresser.

Ces quelques années de thèse resteront à jamais dans ma mémoire les plus belles années de ma vie. Oui, bien sûr j'ai la joie d'avoir accompli un travail formidable ; qui est détaillé dans ce mémoire. Mais je suis surtout devenu un mari et un père... Et c'est donc avec beaucoup de sincérité que je remercie ma femme pour m'avoir suivi dans cette aventure loin de nos racines, pour avoir sacrifié de nombreuses soirées et quelques week-ends, pour m'avoir exempté de tâches ménagères durant la rédaction, etc. Et aurais-je pu terminer ma thèse sans Quentin (mon petit coco) ma grosse bouffée d'oxygène, qui a changé ma perception des choses depuis qu'il est venu au monde. C'est donc à vous, Virginie et Quentin, que je dédie ce mémoire, symbole de ces quelques années de dur labeur bercées de votre amour...

Résumé

L'isotope ^{79}Se du sélénium, produit de fission de l'uranium 235, est un radionucléide à vie longue présent notamment dans les déchets nucléaires. Dans le cadre de l'estimation du risque sanitaire et environnemental, les écosystèmes terrestres sont considérés comme des récepteurs possibles de cet élément. Le but de notre étude est de déterminer dans quelle mesure les interactions avec le sélénium et la matière organique du sol et/ou les microorganismes peuvent influencer sur les variables qui contrôlent la mobilité et la distribution (solide, liquide, gazeuse) du sélénium dans les sols. Une attention particulière est portée à la dimension temporelle qui demeure un des points faibles des modèles d'évaluation pour les simulations à long terme (plusieurs dizaines-centaines de milliers d'années).

La méthodologie développée repose sur le suivi régulier de 3 lots de terre pré-contaminés à de très faibles concentrations de sélénium ($2,2 \cdot 10^{-9} \text{ g}_{\text{Se}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol}}$) et incubés en conditions contrôlées pendant 1,5 an. Une approche multi-paramétrique permet de confronter au cours du temps la mobilité (sorption, désorption, volatilisation) et la distribution sur la phase solide (fractionnement granulométrique, extractions séquentielles, observations MEB / MET) du sélénium aux propriétés bio-physico-chimiques des lots de terre. L'évolution de l'état organique des lots de terre est clairement observée expérimentalement et modélisée (Roth C). En revanche, cette évolution n'affecte pas significativement la mobilité du sélénium dont la sorption sur la phase solide reste quasi-irréversible (K_d sorption : $20-50 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ / K_d désorption : $100-500 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$). A ce comportement s'ajoutent de nombreux phénomènes transitoires qui peuvent entraîner une remobilisation (i.e. solubilisation et volatilisation) importante de sélénium. Nous mettons ainsi en évidence que (i) l'utilisation d'engrais phosphatés peut conduire à la solubilisation de 30 à 40 % du sélénium sorbé, (ii) la faible volatilisation du sélénium par les microorganismes ($\sim 0,2 \%$ sur 1,5 an d'incubation) peut être une voie de dispersion non négligeable lorsqu'on considère ce processus sur de très longues échelles de temps et (iii) le transport colloïdal bactérien peut être une source de remobilisation du sélénium qu'il serait nécessaire de mieux caractériser.

Mots-clés : sélénium ; sol ; matière organique (MO) ; mobilité (K_d) ; partition solide ; vieillissement ; approche multi-paramétrique

Abstract

^{79}Se is a high-life fission product presents in high-activity nuclear wastes. Selenium is often taking into account for health and environmental risk assessments as it is usually considered as a mobile and a toxic element. The terrestrial ecosystems are thought to be a potential reservoir of selenium. In this study, we specially studied how the associations between selenium and soil organic matter and/or microorganisms modify soils selenium mobility and partition (solid, liquid and gazeous). A particular attention was paid to the temporal evolution of the retention parameters, which remains one of the weak points of modeling especially for long term simulations (several tens-hundreds of thousand years).

Methodology developed consists on a regular characterization of 3 soils samples pre-contaminated at a very week selenium concentration ($2.2 \times 10^{-9} \text{ gSe.g}^{-1}_{\text{soil}}$) and incubated during 1.5 year in controlled conditions. The evolution of the organic status of the soil samples was established and well modeled (Roth C). Alternatively, the selenium-OM associations did not present any significant modification with time affecting selenium mobility. The detailed study of selenium mobility showed that selenium sorption processes was poorly reversible (sorption K_d : $20\text{-}50 \text{ L.kg}^{-1}$; desorption K_d : $100\text{-}500 \text{ L.kg}^{-1}$), whatever the soil organic status. In addition, numerous transitory phenomenons were able to disturb the “basic” behavior of selenium by increasing the amount of soluble selenium. We specially established that: (i) the use of phosphate fertilizers constituted the most important way of selenium remobilization leading to the release of 30-40 % of sorbed selenium in some extreme cases; (ii) the week selenium volatilization ($\sim 0.2 \%$ for 1.5 year of incubation) may constitute a significant biotic way of ^{79}Se dispersion as soon as very long time scales are considered; (iii) the colloidal transport due to the soil microorganisms could also constituted a source of selenium mobilization however this extend of this process has still to be quantify.

Key-words : selenium ; soil ; organic matter (OM) ; mobility (K_d) ; solid partition ; ageeing

Sommaire

REMERCIEMENTS	I
RESUME	VII
SOMMAIRE	IX
LISTE DES FIGURES	XV
LISTE DES TABLEAUX	XXI
INTRODUCTION	1
CHAP. I : ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	5
1. LE SOL : UN MATERIAU POREUX COMPLEXE	5
1.1. Le sol, une matrice solide complexe.....	5
1.2. Les constituants de la phase solide.....	5
1.2.1. <i>Les principales phases minérales d'intérêt présentes dans le sol</i>	5
1.2.1.1. Les argiles minéralogiques.....	5
1.2.1.2. Les oxydes et hydroxydes métalliques.....	6
1.2.2. <i>La matière organique (MO) du sol</i>	7
1.2.2.1. MO fraîche : la litière.....	7
1.2.2.2. Les substances humiques : la MO du sol obtenue par séparation chimique.....	8
1.2.2.3. La MO particulaire (MOP) : une autre approche de la MO du sol.....	10
1.2.3. <i>La faune et la flore du sol</i>	10
1.3. Transformation de la MO du sol par les microorganismes du sol.....	11
1.4. La texture du sol : de la particule minérale élémentaire aux agrégats.....	12
1.5. Modélisation des évolutions du carbone organique du sol.....	13
2. LE SELENIUM	14
2.1. Présentation générale.....	14
2.2. Le sélénium dans l'environnement.....	15
2.2.1. <i>Les principales formes du sélénium dans l'environnement</i>	15
2.2.2. <i>Le sélénium dans les eaux et dans les sols</i>	17
2.2.3. <i>Les sources de sélénium dans l'environnement</i>	18
2.2.3.1. Les sources naturelles de sélénium.....	18
2.2.3.2. Quelques sources anthropiques connues.....	19
2.2.3.3. Pollution des eaux en France.....	19
2.2.3.4. Pollution des sols en France.....	20
2.3. Origine radioactive – cas du ⁷⁹ Se.....	21
2.3.1. <i>Le stockage des déchets nucléaires : un enjeu mondial</i>	21
2.3.2. <i>Le sélénium 79</i>	21
2.3.3. <i>Éléments pour l'évaluation du risque radiologique</i>	22
2.3.3.1. Définition du Kd.....	22
2.3.3.2. L'évaluation du risque radiologique.....	22
3. COMPORTEMENT DU SELENIUM DANS LES SOLS	25
3.1. Les phases minérales.....	25
3.1.1. <i>Processus de sorption du sélénium à la surface des phases minérales</i>	25
3.1.1.1. Charge de surface des phases minérales : effet du pH.....	25
3.1.1.2. Nature des complexes formés entre le sélénium et la surfaces des phases minérales du sol.....	26

3.1.2. Les (hydr)oxydes de fer	27
3.1.3. Les (hydr)oxydes d'aluminium	29
3.1.4. Les (hydr)oxydes de manganèse	29
3.1.5. Les argiles	30
3.1.6. Les autres phases minérales	31
3.1.6.1. Les oxydes de titane	31
3.1.6.2. L'apatite	31
3.1.6.3. La calcite	31
3.1.6.4. Le quartz	32
3.2. La matière organique	32
3.3. Les microorganismes	34
3.3.1. Oxydation du sélénium	34
3.3.2. Réduction du sélénium	34
3.3.3. Biométhylation du sélénium	37
3.4. Comportement du sélénium dans des sols naturels	40
3.4.1. Sorption du sélénium sur le sol	40
3.4.2. Ions compétiteurs	41
3.4.3. Désorption du sélénium	41
3.4.4. Partition solide du sélénium	42
4. BILAN DE L'ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE	44
CHAP. II : MATERIELS ET METHODES	47
1. PREAMBULE	47
2. OUTILS POUR L'ETUDE DU VIEILLISSEMENT DU "SOL"	47
2.1. Substrats de l'étude	47
2.1.1. Origine, choix et prélèvement des lots de terre	47
2.1.2. Principales caractéristiques physico-chimiques des trois lots de terre	49
2.1.3. Principales caractéristiques minéralogiques des trois lots de terre	50
2.2. Contamination des lots de terre	51
2.2.1. Solution de contamination	51
2.2.2. Procédure de contamination	51
2.3. Modèle RothC	52
2.3.1. Présentation générale et structure du modèle RothC	52
2.3.2. Modélisation de l'évolution de chaque compartiment de la MO du sol pour les 3 lots de terre étudiés	54
2.3.2.1. Matière Organique Inerte	54
2.3.2.2. Apport de MO pour le lot de terre Roth 3 : répartition DPM et RPM	54
2.3.2.3. Répartition de la MO dégradée	54
2.3.2.4. Taux de décomposition modifiés (K')	54
2.3.2.5. Modélisation de la dégradation de la matière organique pour les 3 lots de terre étudiés, dans les conditions d'incubation défini § 2.4.1	55
2.4. Incubation des lots de terre	56
2.4.1. Dispositif expérimental d'incubation	57
2.4.2. Piégeage du CO ₂ produit	57
2.4.3. Piégeage du sélénium volatil	58
2.4.4. Teneur en eau	58
2.4.5. Calendrier de prélèvement des lots de terre incubés et analyses effectuées	59
3. ANALYSES PHYSICO-CHIMIQUES ET MICROBIOLOGIQUES	60
3.1. Analyses physico-chimiques des échantillons de terre et des solutions	60
3.1.1. Analyses des prélèvements de terre durant l'incubation	60
3.1.1.1. pH _{eau} / pH _{KCl}	60
3.1.1.2. Eau en équilibre avec le "sol"	60
3.1.1.3. Capacité d'échange cationique (CEC)	61
3.1.1.4. Stabilité des agrégats	61
3.1.1.5. Carbone organique et azote des échantillons solides	61
3.1.2. Analyses des échantillons liquides	62
3.1.2.1. pH	62
3.1.2.2. Carbone organique	62
3.1.2.3. Cations et anions majeurs / molécules organiques de faible poids moléculaire	62

3.1.2.4. Spectre d'absorbance UV-visible et de fluorescence 3D	63
3.2. Analyses microbiologiques	64
3.2.1. Microflore	64
3.2.2. Biomasse totale	65
3.2.2.1. Principe général de la méthode	65
3.2.2.2. Estimation de la biomasse	65
3.2.3. Structure des populations microbiennes par ARISA	66
3.2.3.1. Principe de la méthode ARISA	66
3.3. Dosage du sélénium	67
3.3.1. Sélénium dans les échantillons solides	68
3.3.2. Sélénium dans les échantillons gazeux	68
3.3.3. Sélénium dans les échantillons liquides	68
3.4. Microscopie Electronique à Balayage et à Transmission (MEB et MET) couplées à la spectroscopie des rayons X par dispersion en énergie (EDX)	69
3.4.1. Spectroscopie des rayons X par dispersion en énergie (EDX)	69
3.4.2. Microscopie électronique à balayage (MEB)	69
3.4.3. Microscopie électronique à transmission (MET)	70
4. ÉTUDE DE LA MOBILITE ET DE LA PARTITION SOLIDE DU SELENIUM – LIEN AVEC LA MO DU SOL	71
4.1. Détermination de la mobilité du sélénium	71
4.1.1. Expériences en condition statique (« batch »)	71
4.1.1.1. Détermination du coefficient de partage (Kd)	71
4.1.1.2. Mode opératoire	72
4.1.2. Isotherme de sorption	73
4.1.3. Influence des anions sur la remobilisation du sélénium	74
4.1.4. Colonnes de sol	74
4.2. Extractions chimiques séquentielles	75
4.2.1. Principe	75
4.2.2. Schéma d'extractions séquentielles utilisé pour l'étude du sélénium	75
4.3. Fractionnement granulo-densimétrique	76
4.3.1. Principe du fractionnement-granulo-densimétrique	76
4.3.2. Mode opératoire utilisé	77
4.3.2.1. Différentes fractions isolées	78
4.3.2.2. Vérification de la qualité du fractionnement	78
4.4. Sorption du sélénium sur les différentes fractions isolées par fractionnement granulo-densimétrique	78
5. SYNTHÈSE DE LA METHODOLOGIE ET DES PROTOCOLES UTILISES	80
CHAP. III : EVOLUTION DES PROPRIETES BIO-PHYSICO-CHIMIQUES DES LOTS DE TERRE AU COURS DE LEUR VIEILLISSEMENT	83
1. ÉTAT MICROBIOLOGIQUE DES LOTS DE TERRE	83
1.1. Biomasse et dénombrement	83
1.1.1. Etat initial	83
1.1.2. Evolution temporelle	84
1.2. Structure des communautés microbiennes des sols	86
1.2.1. Etat initial	86
1.2.2. Evolution temporelle des lots de terre	88
2. LA MATIERE ORGANIQUE DES LOTS DE TERRE	92
2.1. Minéralisation du carbone organique du sol	92
2.2. Lien entre minéralisation et microorganismes du sol	94
2.2.1. Normalisation des flux de CO ₂ en fonction de la quantité de microorganismes	94
2.2.2. Quotient métabolique (qCO ₂)	96
2.3. Evolution de la matière organique particulaire (MOP)	98
2.3.1. Etat initial des lots de terre	98
2.3.2. Evolution temporelle	99

3. LES PRINCIPALES PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES DES LOTS DE TERRE _____	101
3.1. Le pH	101
3.2. La capacité d'échange cationique (CEC)	102
3.3. La stabilité des agrégats	103
4. CONFRONTATION DES RESULTATS EXPERIMENTAUX AVEC LA MODELISATION ROTH C (COLEMAN AND JENKINSON 1996) _____	104
4.1. Carbone organique total des sols	104
4.2. Flux de CO ₂ et détermination de la fraction IOM	105
4.3. La biomasse du sol	107
4.4. Autres fractions définies dans le modèle Roth C	108
5. CONCLUSION _____	110
6. BILAN SUR L'EVOLUTION DES LOTS DE TERRE ETUDIES _____	112

CHAP. IV : EFFET DE L'ETAT ORGANIQUE INITIAL DU SOL SUR LA MOBILITE ET LA PARTITION SOLIDE DU SELENIUM _____ 115

1. COMPORTEMENT BIO-GEOCHIMIQUE DU SELENITE DANS LES ECHANTILLONS DE TERRE ROTH 1 ET ROTH 2 _____	115
1.1. Sorption du sélénite.....	115
1.1.1. Cinétique de sorption	115
1.1.2. Isotherme de sorption	116
1.2. Désorption : hystérésis sorption / désorption.....	118
2. EXTRACTION DU SELENIUM PAR DIFFERENTS ANIONS _____	121
3. IMPACT D'UN AMENDEMENT ORGANIQUE _____	125
3.1. Rappel des effets sur les caractéristiques du sol.....	125
3.2. Impact sur la mobilité du sélénium	126
3.2.1. Sorption du sélénite	126
3.2.2. Désorption	128
4. PARTITION SOLIDE DU SELENIUM _____	129
4.1. Extractions séquentielles.....	129
4.1.1. Sélénium extrait par CaCl ₂ et K ₂ HPO ₄ (facilement remobilisable)	129
4.1.2. Sélénium extrait par NaOH (potentiellement remobilisable)	130
4.1.3. Sélénium extrait par Na ₂ SO ₃ et NaOCl et sélénium résiduel (difficilement remobilisable)	132
4.2. Fractionnement granulo-densimétrique	133
5. CONCLUSION _____	137

CHAP. V : EFFET DU VIEILLISSEMENT DES LOTS DE TERRE SUR LE COMPORTEMENT DU SELENIUM _____ 139

1. REMOBILISATION DU SELENIUM _____	139
2. INTERACTION SELENIUM – MICROORGANISMES DU SOL _____	141
2.1. Volatilisation	141
2.2. Sélénium associé à la biomasse	144
3. EVOLUTION DE LA PARTITION SOLIDE DU SELENIUM _____	147
3.1. Extractions séquentielles.....	147
3.1.1. Extraction par les phosphates	147
3.1.2. Extraction par NaOH 0,1 M	150
3.1.3. Extraction par Na ₂ SO ₃ et NaOCl	150

3.1.4. Conclusion sur les modifications globales de la partition solide du sélénium	151
3.2. Fractionnement granulo-densimétrique	151
4. CONCLUSION	154
CHAP. VI : VERS UNE MEILLEURE COMPREHENSION DE LA PARTITION SOLIDE DU SELENIUM	157
1. PREAMBULE	157
2. PARTITION SOLIDE SUR LES FRACTIONS ISOLEES DE SOL OBTENUES PAR FRACTIONNEMENT GRANULO-DENSIMETRIQUE	158
2.1. Fractionnement granulo-densimétrique de Roth 2 (sol témoin à T ₀) : caractéristiques morphiques et chimiques des différentes fractions isolées	158
2.1.1. Répartition du carbone organique	158
2.1.2. Répartition de l'aluminium, du fer et du manganèse de Roth 2 dans les différentes fractions	159
2.1.2.1. Composition de Roth 2	159
2.1.2.2. Les fractions isolées de Roth 2	160
2.2. Extractions du sélénium sur les différentes fractions isolées	163
3. SELENITE INTERACTIONS WITH PARTICULATE ORGANIC MATTER: TEM & SEM OBSERVATIONS OF THE DIFFERENT SOIL FRACTIONS	167
3.1. Introduction	167
3.2. Materials and Methods	168
3.2.1. Size-density fractionation	168
3.2.2. Selenite sorption experiments	170
3.2.3. Organic/mineral competition sorption experiments	171
3.2.4. Transmission Electron Microscopy (TEM) coupled with energy dispersive spectrometry	171
3.2.5. Scanning Electron Microscopy (SEM) coupled with EDS	172
3.3. Results and Discussion	172
3.3.1. Sorption experiments	172
3.3.2. SEM-EDS analysis of the mineral fractions	176
3.3.3. TEM-EDS and SEM-EDS analysis of the organic fractions	178
3.4. Conclusion	181
4. CONCLUSION (DU CHAPITRE)	183
CHAP. VII : CONCLUSION GENERALE	185
1. SYNTHESE	185
2. PERSPECTIVES	187
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	189
ANNEXE I : PRINCIPALES UTILISATIONS DU SELENIUM	205
1. UTILISATIONS DE SES PROPRIETES CHIMIQUES	205
2. UTILISATIONS DE SES PROPRIETES PHYSIQUES	206
3. LES RECHERCHES SUR LE SELENIUM	207
ANNEXE II : ROLE PHYSIOLOGIQUE ET TOXICITE DU SELENIUM	209
1. EFFETS ENGENDRES PAR UNE CARENCE EN SELENIUM	209
2. EFFET TOXIQUE D'UNE CONTAMINATION EN SELENIUM	210
2.1. Toxicité chez l'homme	210
2.2. Toxicité des écosystèmes terrestres et aquatiques	211

ANNEXE III : BREFS RAPPELS SUR LA RADIOACTIVITE	213
1. DEFINITIONS	213
2. LES SOURCES DE RADIOACTIVITE DANS L'ENVIRONNEMENT	213
3. DE LA RADIOACTIVITE A LA DOSE	214
4. LES RAYONNEMENTS IONISANTS ET L'HOMME	214
ANNEXE IV : MODELE ROTH C	217
1. PRESENTATION DETAILLEE DU MODELE ROTH C	217
1.1. Répartition de la MO du sol dans les différents compartiments	217
1.1.1. Matière Organique Inerte	217
1.1.2. Apport de MO en provenance des plantes : DPM et RPM	218
1.1.3. Répartition de la MO dégradée	218
1.2. Décomposition de la MO du sol par le modèle RothC	219
1.2.1. Taux de décomposition (K_i)	219
1.2.2. Facteurs modifiant la décomposition	219
2. CALCUL DES TAUX DE DEGRADATION DE LA MO D'APRES LES DONNEES EXPERIMENTALES DU CHAPITRE III	221
ANNEXE V : PIEGEAGE DU CO₂ PRODUIT	225
1. TESTS ET OPTIMISATIONS DU PIEGEAGE DU CO ₂	225
2. DOSAGE PAR TITRATION ACIDE	226
3. PREPARATIONS DES PIEGES	226
ANNEXE VI : BIOMASSE TOTALE (MODE OPERATOIRE)	227
ANNEXE VII : STRUCTURE DES POPULATIONS MICROBIENNES PAR ARISA	229
1. EXTRACTION DE L'ADN BACTERIEN A PARTIR DES ECHANTILLONS DE TERRE	229
2. AMPLIFICATION DE LA REGION INTERGENE 16S-23S PAR PCR	229
3. OBTENTION DES PROFILS D'ARISA	230
ANNEXE VIII : PRINCIPE DU FRACTIONNEMENT-GRANULO-DENSIMETRIQUE	231
1. ÉTAPE DE DISPERSION	231
2. TAMISAGE HUMIDE = SEPARATION GRANULOMETRIQUE	231
3. SEPARATION DENSIMETRIQUE	232

Liste des figures

Figure 1 : Définition des humines, acides humiques et acides fulviques _____	9
Figure 2 : Représentation théorique des acides humiques _____	9
Figure 3 : Dégradation schématique de la MO par les microorganismes _____	12
Figure 4 : Représentation schématique des agrégats dans le sol _____	12
Figure 5 : Tableau périodique des éléments _____	14
Figure 6 : Diagramme de spéciation des formes inorganiques du sélénium en fonction du pH et du potentiel rédox, d'après Chen <i>et al.</i> (1999) _____	17
Figure 7 : Evolution schématique des charges de surface du sol ou de ses constituants (argiles, oxydes métalliques, MO, etc.) en fonction du pH _____	26
Figure 8 : Représentation schématique des complexes de sorption du sélénium majoritairement obtenus avec les surfaces des phases minérales du sol ; (a) complexe de sphère interne bidentate avec Se (IV) ; (b) complexe de sphère externe avec Se (VI) ____	27
Figure 9 : Illustration de la capacité de sorption du sélénium sur un oxyde de fer amorphe en fonction du pH et de la force ionique (Su and Suarez 2000). La concentration en sélénium est de 1 mmol.L ⁻¹ ; les points pleins représentent Se (IV) ; les points vides représentent Se (VI) ; l'oxyde de fer est présent à une concentration de 4 g.L ⁻¹ . _____	28
Figure 10 : Complexes formés à la surface des oxydes d'aluminium avec des acides oxalique (à gauche) et citrique (à droite) (Dynes and Huang 1997) _____	33
Figure 11 : Exemple de réduction du sélénite en sélénium élémentaire par <i>Cupriavidus metallidurans</i> CH34 (ex <i>Ralstonia metallidurans</i> CH34) : (a) photo du milieu de culture devenu rouge de par la présence de Se(0) ; (b) image MET de bactéries en phase de déclin montrant la présence de granule de Se(0) ainsi que des granules liés à des débris bactériens, libérés dans le milieu de culture lors de la lyse bactérienne (Coquillat <i>et al.</i> 2005) _____	35
Figure 12 : Localisation des parcelles où ont été effectués les prélèvements d'échantillons de sol à l'Institut de Rothamsted _____	48
Figure 13 : Modèle de RothC représenté de façon schématique _____	53
Figure 14 : Modélisation de la dégradation de la matière organique pour les 3 lots de terre étudiés Roth 1, Roth 2 et Roth 3, respectivement en noir, bleu et vert. _____	55
Figure 15 : Schéma du dispositif d'incubation _____	57
Figure 16 : Schéma du protocole de détermination de la structure des communautés microbiennes d'un échantillon de terre _____	67
Figure 17 : Schéma du protocole de fractionnement granulo-densimétrique _____	77
Figure 18 : Détails du système d'incubation (Coppin <i>et al.</i> 2006) _____	80
Figure 19 : Procédure de suivi des lots de terre au cours de l'incubation _____	80
Figure 20 : Suivi de la biomasse des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) ; valeurs moyennes obtenues sur les lots témoins et contaminés en sélénium (erreur 2σ) ____	84
Figure 21 : Suivi de la microflore hétérotrophe aérobie des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) par dénombrement sur boîtes de Pétri ; valeurs moyennes obtenues sur les lots témoins et contaminés en sélénium (erreur 2σ) _____	85

Figure 22 : Structure initiale (T_0) des communautés microbiennes des échantillons de sol Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (●) ; analyses des composantes principales (PC1 × PC2) des profils obtenus par ARISA pour les lots témoins et contaminés en sélénium _____	86
Figure 23 : Evolution des structures des communautés microbiennes au cours de l'incubation des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) ; analyses des composantes principales (PC1 × PC2) des profils obtenus par ARISA (pour la figure D, chaque point représente la moyenne des triplicats des lots témoins et de ceux des lots contaminés) ____	89
Figure 24 : Structure des communautés microbiennes des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (●) après 311 jours d'incubation à 28°C ; analyses des composantes principales (PC1 × PC2) des profils obtenus par ARISA _____	91
Figure 25 : Evolution des teneurs en carbone organique des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) ; détermination sur les lots témoins uniquement (erreur 10 %) __	92
Figure 26 : Flux de production du CO ₂ pendant l'incubation des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) ; moyenne des flux obtenus sur les lots témoins et contaminés en sélénium (erreur 2σ) _____	93
Figure 27 : Flux de CO ₂ rapportés aux quantités de microorganismes déterminées par dénombrement sur boîtes de Pétri pour les échantillons de sol Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) témoins et contaminés en sélénium _____	95
Figure 28 : Evolution du quotient métabolique microbien (qCO_2) des échantillons de sol Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) (témoins et contaminés en sélénium) au cours de l'incubation ; qCO_2 représente le rapport du flux de CO ₂ exprimé en $\mu g\ C-CO_2 \cdot h^{-1}$ par la biomasse microbienne du sol (en mg C) _____	96
Figure 29 : Evolution temporelle de la proportion massique des fractions de matière organique particulaire ($MOP_{>200\ \mu m}$ et $MOP_{50-200\ \mu m}$) des lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3 témoins et contaminés en sélénium, séparées par fractionnement granulo-densimétrique	99
Figure 30 : Suivi du pH _{eau} (à gauche) et du pH _{KCl} (à droite) des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) (témoins et contaminés en sélénium) au cours de l'incubation _	101
Figure 31 : CEC des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) déterminée par la méthode Cu-trien au cours de l'incubation _____	103
Figure 32 : Modélisation Roth C (Roth 1 — ; Roth 2 - - ; Roth 3 —) confrontée aux données expérimentales de la dégradation du carbone organique des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) au cours de l'incubation _____	105
Figure 33 : Modélisation des flux de production du CO ₂ par le modèle Roth C (—) et comparaison avec les données expérimentales obtenues pour les lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) au cours de l'incubation _____	106
Figure 34 : Comparaison entre la modélisation de la fraction BIO (modèle Roth C : Roth 1 — ; Roth 2 - - ; Roth 3 —) et les données expérimentales de biomasse des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) au cours de l'incubation _____	108
Figure 35 : Evolution temporelle schématique des lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3 montrant l'équivalence des sols au cours de l'incubation en conditions contrôlées et la transposition au cycle naturel : Roth 3, après dégradation de l'amendement organique (environ 3 mois), est devenu équivalent à Roth 2 avant l'incubation / Roth 2 semble se rapprocher lentement de Roth 1 / Roth 1, étant composé majoritairement de MO non dégradée (IOM), est à un état quasi-stationnaire _____	112
Figure 36 : Cinétique de sorption du sélénite sur les lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) ; ratio m/V = 1/5 ; [Se] initiale = C_i : $0,5 \cdot 10^{-8}\ mol \cdot L^{-1}$ (erreur 2σ incluse dans la taille des symboles) _____	116

Figure 37 : Isotherme de sorption du sélénite sur les lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h ; [Se] initiale = C _i : 10 ⁻⁸ ; 10 ⁻⁷ ; 10 ⁻⁶ ; 10 ⁻⁵ ; 5.10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ (erreur 2σ confondue avec la taille des symboles)	117
Figure 38 : Valeurs des coefficients K _d de désorption des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) en fonction des concentrations en sélénite initiale des expériences de sorption ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h (erreur 2σ)	119
Figure 39 : Extraction du sélénium sorbé sur Roth 1 (à gauche) et Roth 2 (à droite) par différents anions en fonction de leurs concentrations ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h (erreur 2σ)	122
Figure 40 : Quantité de carbone organique extraite pour Roth 1 (à gauche) et Roth 2 (à droite) par différents anions en fonction de leurs concentrations ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h (erreur de 10%)	123
Figure 41 : Relation entre les quantités de carbone organique et de sélénium extraites pour Roth 1 et Roth 2	124
Figure 42 : Isotherme de sorption du sélénite sur le lot de terre Roth 3 (○) ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h ; [Se] initiales = C _i : 10 ⁻⁸ ; 10 ⁻⁷ ; 10 ⁻⁶ ; 10 ⁻⁵ ; 5.10 ⁻⁵ mol.L ⁻¹ (erreur 2σ confondue avec la taille des symboles)	126
Figure 43 : Cinétique de sorption du sélénite sur le lot de terre Roth 3 (○) et suivi des variations de pH (x) durant la cinétique ; ratio m/V = 1/5 ; [Se] initiale = C _i : 10 ⁻⁸ mol.L ⁻¹ (erreur 2σ)	127
Figure 44 : Valeurs des coefficients K _d de désorption du lot de terre Roth 3 (○), comparées à celles de Roth 2 (▲), en fonction des concentrations en sélénite initiales des expériences de sorption ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h (erreur 2σ)	128
Figure 45 : Proportion du sélénium extraite par extractions séquentielles des lots de terre Roth 1 (en noir), Roth 2 (en gris) et Roth 3 (en blanc) (erreur 2σ)	129
Figure 46 : Proportion du carbone organique du sol extraite lors des extractions séquentielles des lots de terre Roth 1 (en noir), Roth 2 (en gris) et Roth 3 (en blanc) (erreur 2σ)	130
Figure 47 : Séparation granulo-densimétrique des lots de terre Roth 1 (en noir), Roth 2 (en gris) et Roth 3 (en blanc) à T ₀ : (A) masse des fractions isolées, (B) sélénium associé à ces fractions, (C) proportion du carbone organique du sol exprimée en g _C .kg ⁻¹ _{sol} et (D) exprimée en % du carbone du sol	134
Figure 48 : Sélénium associé à chacune des fractions séparées par fractionnement granulo-densimétrique en fonction de la masse de ces fractions pour les lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) ; corrélations obtenues pour les fractions minérales (—) et les fractions de MOP (- - -)	136
Figure 49 : Quantité de sélénium désorbée pour les sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (●) au cours de l'incubation ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h (erreur 2σ, ou confondue avec les symboles)	139
Figure 50 : Proportion cumulée de sélénium volatilisé pendant l'incubation des sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) (erreur 2σ, ou confondue avec les symboles)	142
Figure 51 : Flux journaliers de volatilisation du sélénium pour les sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) (erreur 2σ, ou confondue avec les symboles)	143
Figure 52 : Relation obtenue pour les sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) entre les quantités de sélénium associées à la biomasse et les valeurs de biomasse (erreur 2σ, ou confondue avec les symboles)	145
Figure 53 : Quantité de sélénium extraite des sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) par une solution de K ₂ HPO ₄ 0,1 M (erreur 2σ) ; résultats obtenus pour les sols contaminés au	

cours de l'incubation (à T_0 et après 29, 87, 206 et 525 jours d'incubation à 28°C) et pour les sols témoins non incubés après une étape de sorption du sélénite (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)	147
Figure 54 : Quantité de carbone organique extraite des sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) par une solution de K_2HPO_4 0,1 M (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)	148
Figure 55 : Proportion de sélénium extraite par extractions séquentielles sur les sols Roth 1 (en haut), Roth 2 (au milieu) et Roth 3 (en bas) réalisées durant l'incubation des sols (à T_0 , et après 29, 87, 206 et 525 jours d'incubation à 28°C) ; (erreur 2σ)	149
Figure 56 : Evolution temporelle des proportions de sélénium du sol associées aux fractions minérales ($min_{>200\ \mu m}$ et $min_{50-200\ \mu m}$) des sols Roth 1, Roth 2 et Roth 3 séparées par fractionnement granulo-densimétrique (erreur 2σ)	152
Figure 57 : Evolution temporelle des proportions de sélénium du sol associées aux fractions de matières organiques particulaires ($MOP_{>200\ \mu m}$ et $MOP_{50-200\ \mu m}$) de Roth 1, Roth 2 et Roth 3 séparées par fractionnement granulo-densimétrique (erreur 2σ)	152
Figure 58 : Evolution des quantités de sélénium associées aux fractions $MOP_{>200\ \mu m}$, $MOP_{50-200\ \mu m}$, $min_{>200\ \mu m}$, $min_{50-200\ \mu m}$, et à la fraction inférieure à 50 μm au cours de l'incubation des sols Roth 1, Roth 2 et Roth 3 (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)	153
Figure 59 : Répartition en masse (à gauche) et en carbone organique (à droite) des différentes fractions de Roth 2 isolées par fractionnement granulo-densimétrique	158
Figure 60 : Exemples d'agrégats composés de silicates et de MO de Roth 2, observés par microscopie électronique à balayage. Agrégats de tailles comprises entre 50-200 μm et > 200 μm (image de gauche) ; fibre végétale de taille > 200 μm recouverte de silicates (image de droite)	159
Figure 61 : Observations des fractions $MOP_{>200\ \mu m}$, $MOP_{50-200\ \mu m}$, $min_{>200\ \mu m}$ et $min_{50-200\ \mu m}$ par microscopie électronique à balayage.	161
Figure 62 : Contribution de chacune des fractions isolées à la teneur totale en aluminium de Roth 2	161
Figure 63 : Contribution de chacune des fractions isolées à la teneur totale en fer de l'échantillon de terre Roth 2	162
Figure 64 : Quantités de sélénium extraites sur les différentes fractions isolées et sur l'échantillon de terre entier au cours de l'extraction séquentielle.	163
Figure 65 : Quantités de carbone organique extraites sur les différentes fractions isolées et sur l'échantillon de terre entier au cours de l'extraction séquentielle.	164
Figure 66 : Fer et aluminium extraits des différentes fractions et de l'échantillon de terre entier au cours des extractions séquentielles.	166
Figure 67: Selenite sorption at 10^{-5} mol.L ⁻¹ The indicated percentages are the percentage of Se sorbed on the solid phase	173
Figure 68 : Selenite sorption at 10^{-3} mol.L ⁻¹ The indicated percentages are the percentage of Se sorbed on the solid phase	173
Figure 69 : Soil recombination at 10^{-5} M and 10^{-3} M by taking into account the fraction mass ratios and their Se affinity. Comparison with the original soil (Coppin <i>et al.</i> 2006a)	174
Figure 70 : Selenite sorption on mixtures of fractions at 10^{-5} mol.L ⁻¹ (radio labeled with ⁷⁵ Se)	175
Figure 71 : Correlation between selenite sorption and Fe, Al contents of the raw soil sample and the soil fractions (except from $min_{>200\ \mu m}$ because of its heterogeneity).	176

Figure 72: Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS) mapping of the min50-200 μm fraction	177
Figure 73 : Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS) mapping of the POM50-200 μm fraction	178
Figure 74: Transmission Electron Microscopy (TEM) of the POM50-200 μm fraction: Fe/Al/Si relative abundance (Red: iron; Blue: Al; Green: Si)	178
Figure 75: Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS) mapping of the POM>200 μm fraction (white parts corresponds to few mineral particles, clays and metal oxides)	179
Figure 76: Transmission Electron Microscopy (TEM) of thin slice of the POM>200 μm fraction : Apical cells inside a POM>200 μm vegetal debris	180
Figure 77 : Evolution du nombre de publications concernant le sélénium (—▲—), comparée à l'évolution du nombre total de publications référencées (...•...); recherche effectuée avec le moteur de recherche SCOPUS, avec le mot-clé « selenium » et sans mot-clé.	207
Figure 78 : Effet tératogène du sélénium sur des poissons – comparaison du témoin (A) et de poissons exposés qui présentent une déformation scoliotique (B et C) (Lemly 1997)	212
Figure 79 : Illustration du pouvoir de pénétration des principaux types de rayonnement ionisant	215
Figure 80 : Modèle de RothC représenté de façon schématique	217
Figure 81 : Courbe de titration d'un piège à CO_2 ; exemple d'un 1 ^{er} piège en sortie du système d'incubation du lot de terre Roth 2	226
Figure 82 : Temps de décantation en fonction de la taille des particules (calculés selon la loi de Stokes pour des particules de masse volumique égale à 2000 g.L^{-1} et pour une sédimentation de 5 cm)	234

Liste des tableaux

Tableau I : Abondance moyenne des principaux organismes vivants dans les sols _____	11
Tableau II : Proportion de chacun des isotopes stables qui composent le sélénium naturel	15
Tableau III : Principales formes chimiques du sélénium présentes dans l'environnement ou ayant un intérêt biologique important _____	16
Tableau IV : Résultats de recherche bibliographique par mot-clé sur les 20 dernières années (1985-2005) avec le moteur de recherche SCOPUS. _____	20
Tableau V : Kd (L.kg ⁻¹) par défaut utilisés pour le sélénium dans les évaluations d'impact radioécologique ; valeurs issues de la base de données de l'AIEA (1994) _____	24
Tableau VI : Bactéries capables de réduire le sélénite et/ou le séléniat en sélénium élémentaire _____	36
Tableau VII : Microorganismes capables de biométyler le sélénium, entraînant la formation d'espèces volatiles du sélénium ; les espèces de bactéries soulignées sont également connues pour former du sélénium élémentaire (cf. Tableau VI) _____	39
Tableau VIII : Sorption du sélénite sur des échantillons de sol _____	40
Tableau IX : Principales caractéristiques physico-chimiques des 3 lots de terre _____	49
Tableau X : Analyse de la fraction < 50 µm des échantillons de terre Roth 1 et Roth 2 par diffractométrie des rayons X (analyses effectuées par le BRGM d'Orléans) _____	50
Tableau XI : Calendrier des prélèvements et analyses effectuées _____	59
Tableau XII : Extractants utilisés dans l'extraction séquentielle _____	76
Tableau XIII : Synthèse des outils utilisés pour caractériser l'impact de la dégradation de la MO du sol sur le système. _____	81
Tableau XIV : Ajustement des données expérimentales des isothermes de sorption du sélénite des lots de terre Roth 1 et Roth 2 (Figure 37) avec l'équation de Freundlich et la loi de fixation linéaire de type Kd _____	118
Tableau XV : Principales propriétés physico-chimiques de Roth 3 (= Roth 2 + 25 g.kg ⁻¹ herbe) comparées à celles de Roth 2 _____	125
Tableau XVI : Principales propriétés biologiques du lot de terre Roth 3 comparées à celle de Roth 2 _____	126
Tableau XVII : Quantités de sélénium associées à chacune des fractions isolées par séparation granulo-densimétrique exprimées en 10 ⁻⁹ g _{Se} /g _{fraction} (ppb) _____	136
Tableau XVIII : Main soil sample characteristics _____	169
Tableau XIX : Weight distribution of the separated fractions in the raw soil _____	170
Tableau XX : Comparaison des effets toxiques du sélénium, de l'arsenic, du chrome et du nickel sur 3 espèces aquatiques classiquement utilisées pour évaluer la toxicité d'un élément (Bourrelie and Berthelin 1998) _____	211
Tableau XXI : Constantes des taux de dégradation des fractions de MO séparées expérimentalement (k _{exp}) et des fractions définies dans le modèle Roth C (K') _____	221
Tableau XXII : Quantité de carbone organique initiale de chaque fraction de MO séparée expérimentalement et définie dans le modèle Roth C (exprimée en % du carbone organique du sol) _____	223

INTRODUCTION

L'isotope ^{79}Se du sélénium, produit de fission de l'uranium 235, est un radionucléide à vie longue (émetteur β ; $T = 1,13.10^6$ ans). Il est présent dans le combustible nucléaire usagé, dans les déchets nucléaires de haute activité à vie longue (HAVL) provenant du retraitement de ce combustible (ANDRA 2005), ainsi que dans les rejets associés au fonctionnement normal des centrales nucléaires et des usines de retraitement du combustible. Dans le cadre des analyses de sûreté des stockages de déchets radioactifs, le sélénium est considéré comme un élément d'intérêt majeur et fait parti des éléments les plus susceptibles d'être remobilisés dans l'environnement (ANDRA 2005). De plus, le sélénium à l'état stable est aussi présent en quantité relativement importante dans les déchets de haute et moyenne activité (HA et MA). Compte tenu de la toxicité importante de cet élément même à de très faibles concentrations, les formes stables du sélénium sont également prises en compte par l'ANDRA dans les études d'évaluation des risques radiologiques et chimiques. Afin de valider ou d'améliorer cette évaluation du risque, il apparaît nécessaire de mieux comprendre les processus qui régissent la mobilité de cet élément dans des écosystèmes complexes qu'il est susceptible de rencontrer. A l'heure actuelle, la prédiction du comportement des polluants (micropolluants métalliques et radionucléides (RN)) est basée sur des lois mathématiques simples qui tentent de rendre compte de la distribution de ces éléments dans les différents compartiments des écosystèmes (ex. le sol, la solution du sol, l'atmosphère, les plantes, l'aquifère, ...). Dans le cas des écosystèmes terrestres, les paramètres utilisés consistent généralement en des coefficients de transfert ou de distribution entre les différents compartiments (ex. K_d : sol \leftrightarrow solution du sol ; F_t : sol \leftrightarrow plante). Les valeurs de K_d par défaut utilisées pour le sélénium dans les évaluations d'impact radioécologique (valeurs proposées par l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (IAEA 1994)) varient entre 150 et 740 L.kg^{-1} pour la plupart des sols et atteignent 1800 L.kg^{-1} pour des sols de type organique ($> 30\%$ MO). Ces paramètres sont considérés comme constants pendant toute la durée des simulations (plusieurs dizaines-centaines de milliers d'années). Cette approche

simple contraste énormément avec les données disponibles sur le comportement du sélénium dans les sols naturels pour au moins deux raisons :

(i) De nombreuses études montrent que le comportement du sélénium dépend très largement des propriétés bio-géochimiques des sols et de la spéciation complexe de cet élément. A titre d'exemple, des études réalisées sur les écosystèmes sélénifères de la San Joaquin Valley (Californie, Etat Unis) et du lac Belews (Caroline du Nord, Etat Unis) ont pu mettre en exergue l'importance des transformations microbiologiques auxquelles le sélénium pouvait être soumis. Ces transformations biotiques entraînent des modifications de la spéciation du sélénium susceptibles de modifier drastiquement son comportement (ex. volatilisation et formation de sélénium élémentaire). Bien qu'il soit parfois difficile de quantifier l'impact réel de ces phénomènes biotiques dans les sols à l'échelle des ultra-traces, il semble néanmoins peu probable de réussir à prendre en compte ces phénomènes particuliers par un simple coefficient de partage solide/solution.

(ii) L'aspect temporel demeure, à l'heure actuelle, un des points faibles dans les modèles d'évaluation du risque sanitaire et environnemental où les transferts d'une composante d'un écosystème à une autre sont prédits sur la base de coefficients de transfert constants. Dans le cas particulier des couches superficielles des sols, souvent assimilées à un réservoir ou à un tampon vis-à-vis des polluants, il existe notamment peu d'études permettant d'appréhender l'influence du vieillissement des composés du sol sur l'évolution de la réactivité de ce dernier (Hesterberg 1998; Martinez *et al.* 2003). Ceci est particulièrement vrai pour le sélénium qui est un élément connu pour interagir tant avec la fraction minérale (e.g. argiles, (oxy)hydroxydes métalliques) qu'avec la matière organique (abiotique) et les microorganismes du sol. Garantir la prise en compte du risque à court, moyen et long terme ou l'optimisation des moyens à mettre en œuvre dans le cas d'une contamination nécessite donc le développement de nouvelles connaissances sur les évolutions temporelles des composantes qui contribueront à retenir ou au contraire à disperser les pollutions.

Notre étude s'est focalisée sur la caractérisation physico-chimique d'un sol (avec un accent particulier sur la matière organique), et de son évolution temporelle, en conditions contrôlées de laboratoire. Puis, à la lumière de ces premiers résultats, les efforts se sont concentrés sur les effets de l'évolution de la matière organique sur

le comportement du sélénium. Le but est de déterminer si les modifications qu'elle engendre impliquent une redistribution du sélénium entre les différents constituants du sol (matière organique, minéraux, microorganismes, ...) et entraînent une modification de la mobilité de cet élément au cours du temps. L'effet du vieillissement a été étudié à partir d'échantillons de terres possédant des caractéristiques minéralogiques proches mais des teneurs et des qualités de matières organiques contrastées. Nous avons ainsi privilégié l'étude d'échantillons de sols naturels afin de conserver au maximum la complexité du comportement du sélénium dans un environnement naturel. Néanmoins, certaines simplifications ont dû être considérées : nos systèmes ne comportent pas de plantes ni de macrofaune, et les échantillons de sols ont été homogénéisés. D'autre part, la dégradation de la matière organique étant un processus naturel relativement long, nous avons choisi de l'accélérer en optimisant les conditions d'incubation des sols. Ainsi, pendant près de deux ans, une caractérisation complète (i) des propriétés bio-physico-chimiques des terres, (ii) de la distribution en phase solide du sélénium (fractionnement granulodensimétrique, extractions séquentielles) et (iii) de la disponibilité du sélénium (batch, colonne) a été réalisée sur des prélèvements. Enfin, l'utilisation de ^{75}Se (IV) en tant que radio-traceur a permis de travailler à des concentrations d'ultra-traces rarement investiguées, la contamination en sélénium des lots de terre étudiés étant de $2,2 \cdot 10^{-9} \text{ g Se} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol sec}}$. Ces faibles concentrations permettent de mieux évaluer le comportement réel du ^{79}Se dans le cas d'une contamination radiologique.

Ce mémoire s'articule en sept chapitres et de huit annexes. Le premier chapitre est une synthèse bibliographique rassemblant (i) des informations succinctes sur le sol, afin d'illustrer sa complexité ; (ii) des données sur le sélénium permettant d'appréhender sa présence dans l'environnement et son contexte radiologique ; (iii) un bilan sur les connaissances du comportement du sélénium dans le sol et ses différentes composantes (phases minérales, matière organique et microorganismes). Le deuxième chapitre présente la méthodologie d'étude du vieillissement du sol développée et l'ensemble des expériences et analyses effectuées. Le troisième chapitre est un bilan sur les modifications bio-physico-chimiques engendrées par l'évolution des lots de terre durant les 18 mois de dégradation de la matière organique du sol. Les chapitres quatre et cinq sont consacrés à l'ensemble des résultats et discussions concernant le comportement du

sélénium dans les lots de terre, respectivement au temps initial (avant incubation) et au cours du vieillissement des lots de terre. Le sixième chapitre tend à compléter la compréhension des associations entre le sélénium et la matière organique. Enfin, le dernier chapitre conclue sur les principaux résultats, leurs applications sur le comportement global du sélénium dans les sols et présente un certain nombre de perspectives. Les annexes situées en fin de document permettent de donner certains éléments de détail supplémentaires, principalement d'un point de vu méthodologique.

Chap. I : Etude bibliographique

1. Le sol : un matériau poreux complexe

Ce paragraphe tente de donner une définition sommaire du sol en s'inspirant de nombreuses lectures (ex. (Brady 1990; Christensen 1992; Tate 1995; Zech *et al.* 1997; Gobat *et al.* 1998; Gossart 2001; Kogel-Knabner 2002; Pansu and Gautheyrou 2003; Bronick and Lal 2005).

1.1. Le sol, une matrice solide complexe

En première approximation, le sol peut être considéré comme une matrice solide complexe, constituée de phases minérales et organiques. La phase solide ne constitue qu'une des trois composantes du sol car généralement plus du tiers de son volume est occupé par les phases liquide et gazeuse. Ce volume de « vide », défini comme étant la porosité du sol, va de par sa nature, être le siège de phénomènes d'échanges et de transport d'éléments de natures variées. La porosité est notamment source de vie, apportant par la solution de sol (= phase liquide) l'eau et les différents éléments ou composés organiques et inorganiques nécessaires à la vie ; et par la phase gazeuse les différents gaz (oxygène, gaz carbonique, azote, etc.) pouvant être utilisés par la faune et la flore du sol.

1.2. Les constituants de la phase solide

1.2.1. Les principales phases minérales d'intérêt présentes dans le sol

1.2.1.1. Les argiles minéralogiques^a

Les argiles minéralogiques sont constituées d'empilements de feuillets formés de couches tétraédriques de silice et de couches octaédriques d'hydroxydes

^a Les argiles au sens granulométrique, représentant la fraction de sol inférieure à 2 μm . cette fraction est formée principalement d'argiles minéralogiques, d'oxydes métalliques et de quartz. Toutes les argiles minéralogiques ne sont pas contenues dans cette fraction, car certaines dépassent 2 μm et se retrouvent dans la fraction des limons (2-50 μm).

métalliques, séparés par des espaces interfoliaires où l'eau peut circuler. Selon le nombre de couches constituant les feuillets, trois types d'argiles sont différenciées : les argiles 1/1 (kaolinite) avec des feuillets constitués d'une couche tétraédrique de silice et d'une couche octaédrique d'alumine ; les argiles 2/1 (illites, vermiculites, smectites, montmorillonites) avec des feuillets constitués d'une couche octaédrique d'alumine entre deux couches tétraédriques de silice, les feuillets étant liés par un espace interfoliaire; les argiles 2/1/1 (chlorites) avec des feuillets constitués comme les argiles 2/1, mais dont l'espace interfoliaire est remplacé par une couche octaédrique d'oxyde de manganèse.

Les argiles sont globalement chargées négativement (Sposito 1989) et possèdent en général de fortes capacités de sorption des cations et inversement de faibles propriétés de rétention des espèces anioniques (Sposito 1989; Duc *et al.* 2003). La charge négative des argiles provient en partie de substitutions isomorphiques par des cations de valence inférieure dans les couches tétraédriques ou octaédriques des feuillets. Ces substitutions entraînent un excès permanent de charges de surface négatives, non influencées par les propriétés de la solution du sol. La surface des argiles possède également des sites amphotères dont la charge peut être négative ou positive, notamment en fonction du pH de la solution de sol. Ces sites de surface vont engendrer l'apparition de charges localement positives en milieu acide et négatives en milieu alcalin. Ce phénomène atténue ou amplifie la charge globale négative des argiles.

1.2.1.2. Les oxydes et hydroxydes métalliques

Les oxydes et hydroxydes de fer, d'aluminium et de manganèse, constituent des composants essentiels de la réactivité du sol. Leur surface est facilement hydroxylée et ils peuvent aussi développer une charge positive ou négative selon le pH (sites amphotères).

Les (hydr)oxydes de fer (goethite (α -FeOOH), hématite (α -Fe₂O₃), magnétite (Fe₃O₄), ferrihydrite (Fe₁₀O₁₅, 9 H₂O), etc.) et les oxydes d'aluminium (gibbsite (Al(OH)₃)) sont généralement les oxydes majoritairement présent dans les sols. Ils sont connus pour être de bons sorbants pour les anions et oxyanions et ce d'autant

plus que le sol est acide (Sposito 1989). La goethite est l'oxyde de fer le plus stable thermodynamiquement et par conséquent le plus fréquemment retrouvé dans les sols (Sposito 1989).

Les oxydes de manganèse [vernadite (-MnO_2), birnessite ($\text{K}_4\text{Mn}_{14}\text{O}_{27}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$)], sont généralement présents en quantité moindre dans les sols. Ces oxydes possèdent surtout une bonne capacité de sorption des cations. Cependant, ils semblent pouvoir également sorber des anions comme notamment l'arsenic (Lenoble *et al.* 2004a; Lenoble *et al.* 2004b).

1.2.2. La matière organique (MO) du sol

1.2.2.1. MO fraîche : la litière

Le sol représente la plus grande réserve de carbone organique à la surface de la terre. La présence de MO en quantité importante dans les sols provient des apports répétés de MO fraîche qui constitue la litière. Au sens large, la litière^b représente l'ensemble des MO d'origine biologique à différents stades de décomposition. Cette litière présente ainsi une source d'énergie potentielle pour les organismes qui la dégradent. En pratique, la litière est composée d'organismes végétaux, animaux et microbiens ou de résidus de ces organismes (feuilles, ailes, pattes, etc.), ainsi que des excréments des animaux présents à la surface du sol et dans le sol.

Au niveau chimique, la litière présente une très grande diversité de composés organiques, allant des plus simples (sucres) aux plus complexes (lignine). Les molécules organiques de la litière sont dégradées par les microorganismes du sol avec des cinétiques variant significativement selon les composés organiques. Par ordre de rapidité de décomposition décroissante, on classe les composés organiques de la litière de la façon suivante : sucres > protéines > hémicelluloses > celluloses > lipides, cires, etc. > lignines. Les composés les plus simples sont rapidement métabolisés (majoritairement minéralisés) par les microorganismes ; les composés les plus complexes sont en partie décomposés en molécules plus simples, à leur tour

^b Au sens restreint, la litière est considérée comme la somme des débris végétaux tombés à la surface du sol (feuilles, fruits, brindilles, aiguilles, etc.)

métabolisables, l'autre partie conduit au contraire à la formation de composés de plus en plus complexes (humification). L'ensemble de ces composés peut jouer un rôle important dans la complexation et/ou la sorption de divers polluants organiques ou minéraux. Dans le cas particulier des éléments anioniques, le rôle des composés organiques du sol sur ces phénomènes n'a cependant pas été mis en évidence.

1.2.2.2. Les substances humiques : la MO du sol obtenue par séparation chimique

80-90 % de la MO est constitué par des composés humiques, les composés non humiques étant rapidement minéralisés. Les substances humiques (SH) sont des macromolécules organiques du sol insolubles dans l'eau. Elles sont divisées en trois familles de composés, définies par leur procédé d'extraction : les acides humiques, les acides fulviques et les humines (Figure 1). Les acides humiques et fulviques sont solubilisés en milieu alcalin. La séparation entre ces deux substances se fait par acidification : les acides fulviques restent solubles en milieu acide contrairement aux acides humiques qui précipitent. Les humines sont les composés organiques du sol insolubles à la fois en milieu alcalin et acide. La séparation entre les trois types de substances humiques est basée sur des différences chimiques : plus le poids moléculaire et l'aromaticité des substances humiques sont importants, moins les composés sont solubles. Ainsi les acides fulviques possèdent une masse moléculaire et une aromaticité plus faible que celles des acides humiques qui possèdent également un poids et une aromaticité plus faible que les humines (Figure 1).

Les substances humiques sont des molécules complexes présentant une grande réactivité de par leurs nombreux groupements fonctionnels carboxyliques, phénoliques, hydroxyles, etc. (Figure 2). Ainsi, les substances humiques sont globalement chargées négativement et peuvent interagir avec de nombreux cations (Cu^{2+} , Fe^{2+} , Pb^{2+} , etc.). Parmi les nombreux groupements fonctionnels portés par les substances humiques, quelques uns peuvent être présents sous formes protonés (groupements amines) à pH très acide (inférieur à 3). Néanmoins, la sorption d'anions par les substances humiques semble relativement peu évidente, car ces groupements fonctionnels ne sont généralement pas protonés au pH du sol. La sorption d'anions par les substances humiques est d'ailleurs rarement étudiée.

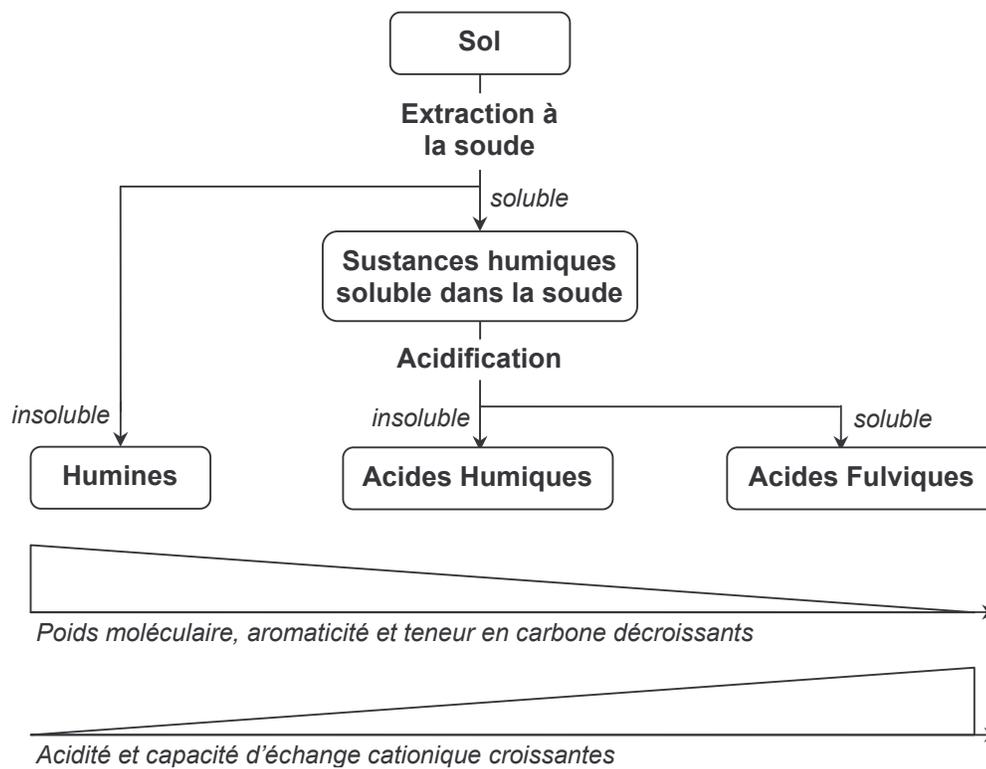


Figure 1 : Définition des humines, acides humiques et acides fulviques

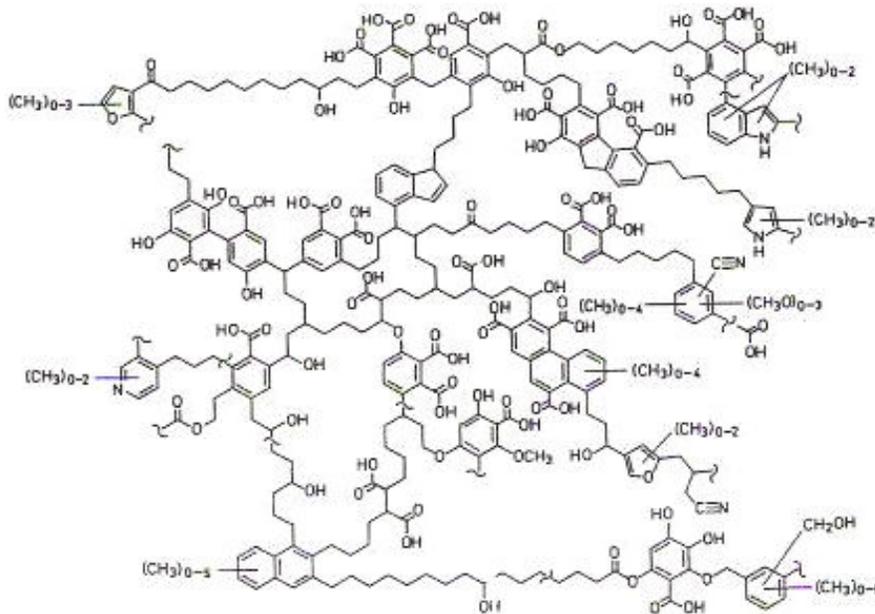


Figure 2 : Représentation théorique des acides humiques

1.2.2.3. La MO particulaire (MOP) : une autre approche de la MO du sol

La séparation des substances humiques est surtout historique car elle a permis de travailler depuis plus d'un siècle sur la MO du sol. Néanmoins, les substances humiques ne présentent pas de réel intérêt en terme d'évolution du sol car cette fraction n'évoluent pas ou quasiment pas au cours du temps. Pour évaluer la qualité d'un sol, il est apparu plus intéressant d'isoler la MO en fonction de son état de dégradation.

La matière organique particulaire (MOP) est la MO contenue dans la classe granulométrique des sables ($> 50 \mu\text{m}$). L'intérêt de l'isolement de la MOP repose sur la relation entre la cinétique de dégradation de la MO du sol et la taille des composés. Plus la MO est grossière, plus elle est « fraîche » et plus elle se décompose rapidement. Inversement, plus la MO est petite, plus son état de dégradation est avancé et plus elle contient des composés humiques. La MOP est composée de débris organiques à un état de dégradation moins avancé que le reste de la MO du sol ($< 50 \mu\text{m}$). Cette MOP peut être considérée comme une approximation de la litière. Au niveau chimique, elle est donc constituée d'un mélange complexe de différentes molécules organiques précédemment décrites (§ 1.2.2.1) (Kogel-Knabner 2000).

1.2.3. La faune et la flore du sol

Le sol est une source de vie reconnue. C'est notamment lui qui apporte la majeure partie de notre alimentation de façon directe (culture) ou indirecte (élevage). La vie du sol ne se résume pas seulement à ce que l'on voit à la surface. Le sol héberge une impressionnante quantité et variété d'organismes vivants : allant de la macrofaune (ex. vers de terre, insectes, araignées, etc.) à la microfaune (protozoaires, nématodes, rotifères, etc.) et la microflore (bactéries, actinomycètes, champignons et algues), sans oublier les racines des végétaux. On estime que le nombre d'individus vivants dans 1 litre de sol dépasse généralement celui de la population humaine mondiale (Tableau I).

L'ensemble de la faune du sol ne représente environ que 10-15 % de la biomasse du sol, 85-90 % étant imputé à la microflore (Tableau I). Compte tenu de son rôle majeur, la microflore du sol est amplement étudiée.

Tableau I : Abondance moyenne des principaux organismes vivants dans les sols

Microflore	Nombre/m ²	Nombre/g _{sol}	Microfaune	Nombre/m ²	Nombre/g _{sol}
Bactéries	10 ¹¹ – 10 ¹⁴	10 ⁶ – 10 ⁹	Protozoaires	10 ⁹ – 10 ¹¹	10 ⁴ – 10 ⁶
Actinomycètes	10 ¹⁰ – 10 ¹³	10 ⁵ – 10 ⁸	Nématodes	10 ⁶ – 10 ⁷	10 ¹ – 10 ²
Champignons	10 ⁹ – 10 ¹¹	10 ⁴ – 10 ⁶	Macrofaune	Nombre/m ²	Nombre/g _{sol}
Algues	10 ⁸ – 10 ¹⁰	10 ³ – 10 ⁵	Vers de terre	10 ⁶ – 10 ⁸	10 ¹ – 10 ³

Les bactéries sont les microorganismes du sol les plus abondants en nombre, mais ce sont les champignons (levures et moisissures) qui représentent la biomasse la plus importante du sol (environ 50%).

1.3. Transformation de la MO du sol par les microorganismes du sol

Le sol est un univers vivant qui « consomme » de la MO (= nutriments) et en « produit » (biomasse et « déchets »).

La dégradation de la MO fraîche du sol est essentiellement le fait des microorganismes de par leur nombre élevé (Tableau I). La MO entre dans leur métabolisme^c en tant que substrat et leur sert majoritairement de source d'énergie (assimilation). La dégradation de la MO entraîne également la formation de substances humiques (ex. polysaccharides), synthétisées et excrétées par les microorganismes ainsi que la production de CO₂ (Figure 3).

Ainsi, la MO du sol évolue à la fois quantitativement (minéralisation) et qualitativement (humification). Cette dégradation est plus ou moins rapide selon les composés organiques de la MO fraîche.

^c Le métabolisme est la somme des réactions chimiques intervenant dans le sens de la dégradation (catabolisme) ou de la synthèse (anabolisme) de composés organiques. Les microorganismes transforment la MO du sol en molécules organiques simples, appelées métabolites intermédiaires, puis réunissent ces métabolites en substances organiques complexes de poids moléculaire élevés (macromolécules)

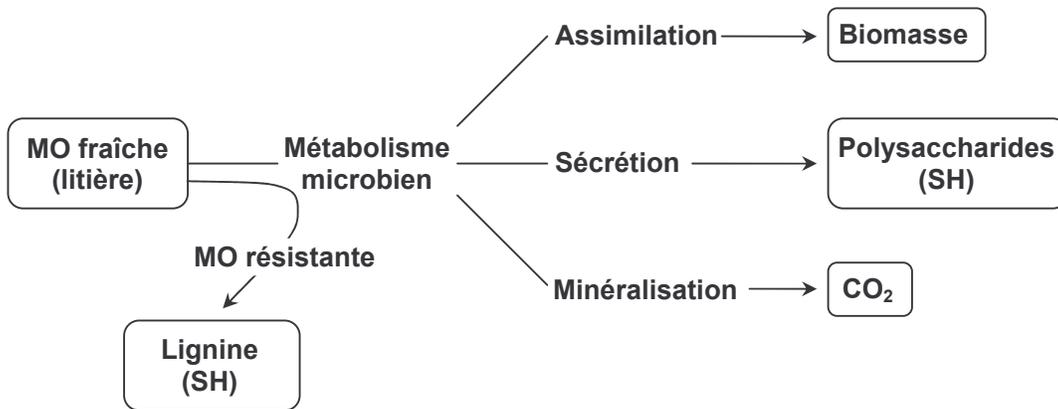


Figure 3 : Dégradation schématisée de la MO par les microorganismes

1.4. La texture du sol : de la particule minérale élémentaire aux agrégats

Le sol est en fait constitué de nombreuses phases minérales liées entre-elles par des composés organiques. De ces assemblages de phases minérales, appelés agrégats, va dépendre la texture du sol qui conditionne notamment sa porosité (Figure 4).

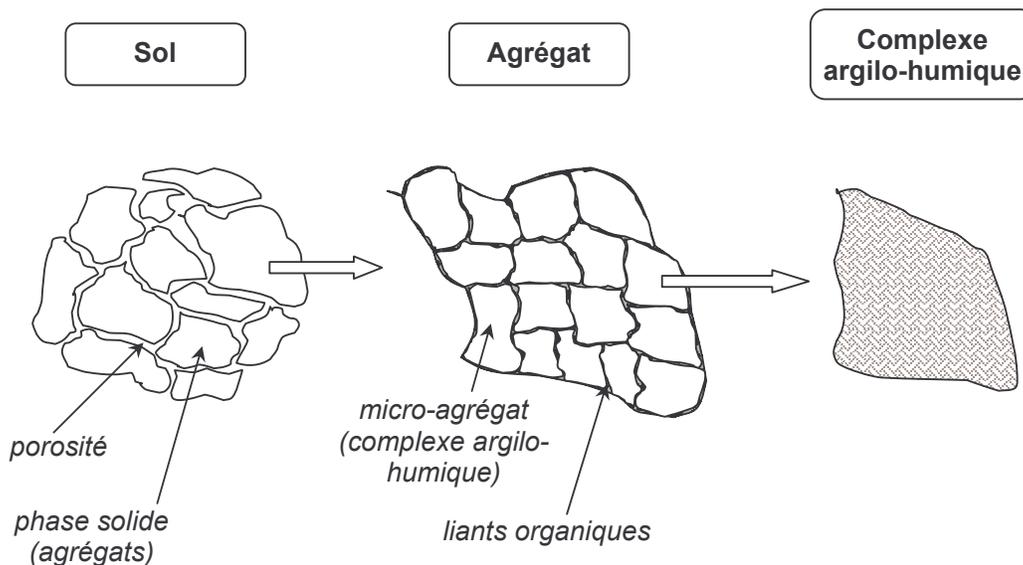


Figure 4 : Représentation schématisée des agrégats dans le sol

Les agrégats peuvent être formés par associations de différents complexes argilo-humiques liés entre eux et/ou par associations de particules minérales et de complexes argilo-humiques autour de MO particulières (débris organiques) ou de microorganismes. Les complexes argilo-humiques sont, quant à eux, des micro-agrégats très stables formés d'argiles minéralogiques et de substances humiques.

L'agrégation est influencée par de nombreux facteurs dont la quantité de MO et sa qualité (type de composés organiques) ; les microorganismes jouent également un rôle de par leurs sécrétions organiques.

1.5. Modélisation des évolutions du carbone organique du sol

La dégradation de la MO du sol par les microorganismes est un phénomène relativement complexe de par la multitude de composés organiques et de microorganismes impliqués dans ce processus. Ainsi, la modélisation de cette dégradation est une vue très simplifiée du système. Dans la plupart des modèles, la MO du sol est décomposée en plusieurs fractions ayant chacune leur propre taux de décomposition. Ces fractions ne sont généralement pas des objets physiques ou chimiques directement mesurables. Néanmoins, certains auteurs ont tenté de rapprocher ces fractions conceptuelles à des grandeurs mesurables dans un sol (Hassink 1995; Balesdent 1996; Skjemstad *et al.* 2004) (cf. Chap. II et Annexe IV : Modèle Roth C).

2. Le sélénium

2.1. Présentation générale

Le sélénium fut découvert en 1817 par Berzelius (Handbook 1998-1999) lors de l'étude de la méthode de préparation d'acide sulfurique^d à partir de roche soufrée. Les propriétés chimiques de ce nouvel élément se sont avérées ressembler à celles du tellure, à tel point que Berzelius lui donna le nom de « sélénium » du mot grec *selene*, la lune (le tellure étant dérivé de *tellus*, la terre).

Le sélénium (Se), de numéro atomique 34 et de masse atomique 78,96, est situé entre le soufre et le tellure dans le groupe 16 (ou VI A) et entre l'arsenic et le brome dans la 4^{ème} période du tableau périodique des éléments (Figure 5). Bien que souvent considéré dans la littérature comme un métalloïde, le sélénium est en fait un non-métal. Cet abus de langage général provient de la ressemblance de ses propriétés chimiques et physiques avec deux métalloïdes, l'arsenic et le tellure. D'autre part, le sélénium est fréquemment « classé » à tort dans la liste des métaux-lourds, comme l'arsenic. Ni l'un ni l'autre ne sont pourtant des métaux.

Le tableau périodique des éléments est présenté avec le sélénium (Se) mis en évidence en rouge. Le tableau inclut des légendes pour les groupes (Métaux alcalins, Métaux alcalino-terreux, Métaux de transition, Lanthanides, Actinides, Métaux, Métalloïdes, Non-métaux, Halogènes, Gaz nobles) et des informations sur l'état physique à 100°C et 101 kPa (Ne - gaz, Fe - solide, Ga - liquide, Te - synthétique).

Figure 5 : Tableau périodique des éléments

Le sélénium présente de grande similitude chimique avec le soufre, à tel point que des substitutions du soufre par le sélénium sont très fréquentes aussi bien dans

^d L'examen de la méthode de préparation d'acide sulfurique a été réalisé à partir de pyrite. Dans l'acide, il a été observé un dépôt d'une couleur brune partiellement rougeâtre qu'il prenait initialement pour du tellure. Ce résidu s'est avéré être une nouvelle substance élémentaire : le sélénium.

les matériaux biologiques (protéines, enzymes ; (Lemly 1997).) que dans les minéraux (ex. substitution isomorphe du soufre dans la pyrite ; (Sposito 1989; Masscheleyn *et al.* 1991)).

Le sélénium à l'état naturel est composé de 6 isotopes stables dont l'isotope majoritaire est le ^{80}Se (masse atomique molaire : 79 g.mol^{-1}). Les proportions de chacun de ces isotopes stables (Handbook 1998-1999) sont données dans le tableau suivant (Tableau II). Le ^{79}Se dont nous allons parler par la suite n'existe pas à l'état naturel.

Tableau II : Proportion de chacun des isotopes stables qui composent le sélénium naturel

Isotope	Masse atomique en g.mol^{-1}	Abondance en %
^{74}Se	73,922	0,89
^{76}Se	75,919	9,36
^{77}Se	76,920	7,63
^{78}Se	77,917	23,78
^{80}Se	79,917	49,61
^{82}Se	81,917	8,73

Les principales utilisations du sélénium sont détaillées en annexe (Annexe I : Principales utilisations du sélénium).

2.2. Le sélénium dans l'environnement

2.2.1. Les principales formes du sélénium dans l'environnement

Dans l'environnement, le sélénium est présent sous quatre états d'oxydation : séléniate (+VI) ; sélénite (+IV) ; sélénium élémentaire (0) et séléniure (-II). Les différentes formes chimiques des principaux composés séléniés présents dans l'environnement ou ayant un intérêt biologique important sont présentées dans le tableau suivant (Haygarth 1994; Lobinski *et al.* 2000; B'Hymer and Caruso 2006).

Tableau III : Principales formes chimiques du sélénium présentes dans l'environnement ou ayant un intérêt biologique important

	Noms	Formes chimiques	Commentaires
Inorganiques	Se(+VI) séléniate	$H_2SeO_4^0 / HSeO_4^- / SeO_4^{2-}$	Formes majoritairement présentes dans les sols, les sédiments et les eaux
	Se(+IV) sélénite	$H_2SeO_3^0 / HSeO_3^- / SeO_3^{2-}$	
	Se(0) sélénium élémentaire	Se^0	
	Se(-II) minéraux riches en sélénium (minéraux soufrés comme la pyrite)		Provient de substitutions sélénium-soufre
	Se(-II) séléniure d'hydrogène	H_2Se	Composé volatil susceptible d'être formé lors de la biométhylation bactérienne et fongique dans les sols
Composés organiques	Diméthylséléniure (DMSe)	$(CH_3)_2Se$	Composé volatil majoritairement formé lors de la biométhylation bactérienne et fongique dans les sols
	Diméthyldiséléniure (DMDSé)	$(CH_3)_2Se_2$	Autres composés volatils formés en quantité moindre par biométhylation bactérienne et fongique
	Diméthylséléniumdioxyde	$(CH_3)_2SeO_2$	
	Diméthylséléniumsulfide	$(CH_3)_2SeS$	
	Se(-II) Sélénocystéine (SeCys)	$HSeCH_2CHNH_2COOH$	Forme chimique prédominante dans les tissus des mammifères ; c'est la forme chimique du sélénium dans la glutathion peroxydase
	Sélénométhionine (SeMet)	$CH_3Se(CH_2)_2CHNH_2COOH$	Forme chimique prédominante dans les plantes et les levures (Iscioglu and Henden 2004)
	Sélénoprotéines	Formules variées selon les composés	
	Sucres séléniés		
Etc.			

Le sélénite (+IV) et le séléniate (+VI) sont des formes inorganiques solubles du sélénium. Ces formes sont également retrouvées dans les sols et les sédiments, car elles sont sorbées sur les nombreuses phases solides qui les constituent.

Le sélénium élémentaire existe sous forme allotropique (ou cristalline) et sous forme amorphe. Les formes cristallines sont gris métal pour la forme hexagonale (forme allotropique la plus stable) et rouge foncé pour la forme monocyclique (Handbook 1998-1999). Le sélénium amorphe se caractérise principalement par sa

couleur rouge (Handbook 1998-1999) ; il est notamment observé dans le cas de réduction biotique par voie bactérienne (Roux *et al.* 2001). Quelle que soit sa forme, le sélénium élémentaire est insoluble dans l'eau.

Il existe également une multitude de composés organiques du sélénium (dont notamment les méthylséléniures qui sont des espèces volatiles, les acides aminés séléniés, ...).

2.2.2. Le sélénium dans les eaux et dans les sols

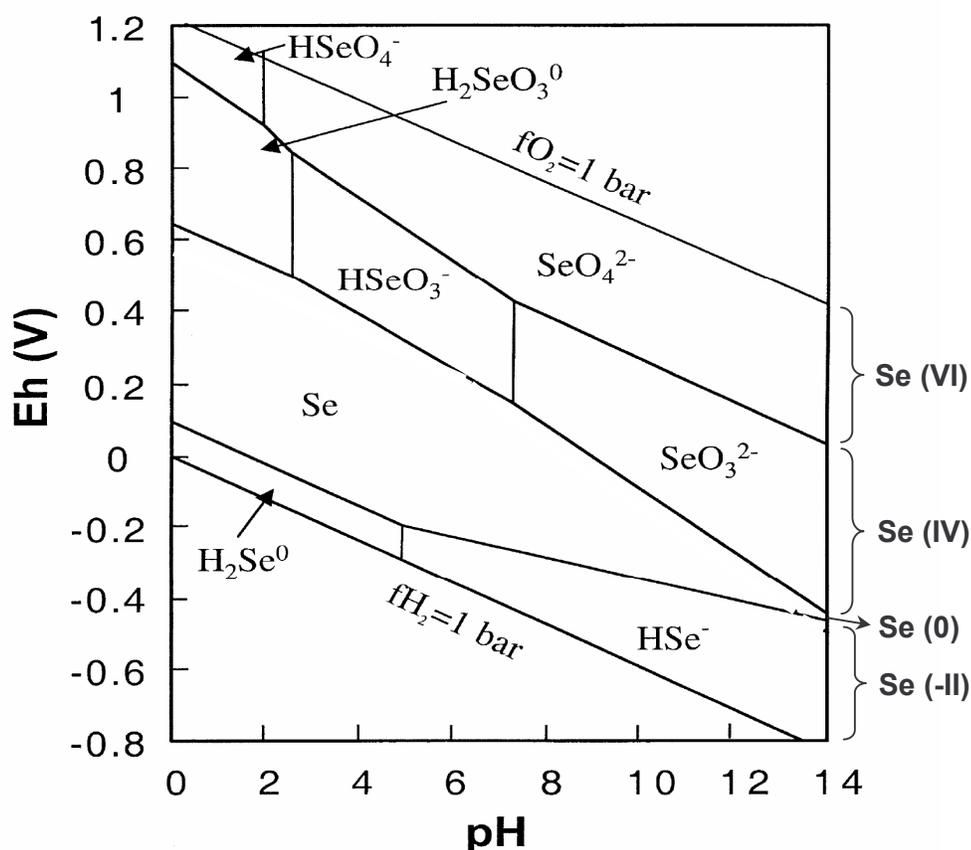


Figure 6 : Diagramme de spéciation des formes inorganiques du sélénium en fonction du pH et du potentiel rédox, d'après Chen *et al.* (1999)

Le sélénite (+IV) et le séléniate (+VI) sont les formes les plus communes des eaux de surface en conditions oxydantes à modérément oxydantes (Coughtrey *et al.* 1983). La stabilité des différents états redox est fonction du potentiel électrochimique et du pH du milieu (Neal *et al.* 1987a; Chen *et al.* 1999). Le diagramme de spéciation

des formes inorganiques du sélénium est donné à titre indicatif Figure 6. Ce diagramme permet d'illustrer les changements de spéciation auxquels le sélénium peut être sujet en fonction des modifications du pH et du potentiel rédox. Une acidification tend à passer de la forme séléniate SeO_4^- aux formes sélénités $\text{H}_2\text{SeO}_3^0 / \text{HSeO}_3^- / \text{SeO}_3^{2-}$ et une alcalinisation peut entraîner le passage du sélénite au séléniate (Figure 6).

Dans les sols, la spéciation est plus complexe et reste difficile à appréhender. Elle sera traitée plus en détail dans le paragraphe 3.4.

2.2.3. Les sources de sélénium dans l'environnement

2.2.3.1. Les sources naturelles de sélénium

Le sélénium est naturellement présent dans l'écorce terrestre à une concentration d'environ $0,05 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Sposito 1989). La teneur en sélénium dans les sols est généralement comprise entre $0,2$ et $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ (Coughtrey *et al.* 1983). Les sols présentant des teneurs inférieures à $0,2 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ sont généralement considérés comme des sols pauvres (Coughtrey *et al.* 1983), c'est notamment le cas pour une grande partie de la Chine (Tan *et al.* 2002). Bien qu'étant présent dans très peu de minerais, le sélénium peut localement se retrouver à des concentrations très importantes dans les sols, dépassant $5 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$; on parle alors de sols sélénifères.

La formation de sols sélénifères résulte de l'altération des minéraux soufrés (contenant le sélénium), intervenue lors des processus de formation des sols (Masscheleyn *et al.* 1991; Seiler 1998). Cependant, la simple connaissance du fond géochimique ne suffit pas pour qu'un sol soit sélénifère. En effet, plusieurs facteurs entrent en jeu, il est notamment nécessaire que le sélénium réduit présent initialement dans les roches ait été exposé à des conditions suffisamment oxydantes pour passer à des formes mobiles (Se IV et Se VI, cf. diagramme de spéciation § 2.2.1) et que la roche mère ait été suffisamment infiltrée pour permettre la remobilisation de ce sélénium.

Pour les eaux, le contact avec ces sols et/ou avec les roches mères sélénifères engendre des réactions avec les minéraux contenant le sélénium et le solubilise. De plus, les mécanismes du lessivage de sites sélénifères (sols, pollution locale anthropique, etc.) et de transport (soluble, colloïdale ou particulaire), allant de

l'environnement proche à l'échelle du bassin versant, sont responsables de certaines pollutions dont la plus connue est certainement celle de la San Joaquin Valley en Californie (aux Etats-Unis) (Engberg *et al.* 1998; Ohlendorf and Santolo 1998).

L'émanation volcanique contribue pour une large part aux différents cycles géochimiques de nombreux éléments traces. En effet, au vu des flux importants de dioxyde de soufre émis par les volcans et de la connaissance de l'abondance relative du sélénium dans ces flux (qui peut atteindre jusqu'à 5 % du soufre émis (Seiler 1998)), le dépôt atmosphérique moyen du sélénium engendré par le volcanisme est estimé à 300-1000 tonnes par an (Bourrelier and Berthelin 1998). Ces quantités sont relativement importantes, elles sont notamment du même ordre de grandeur que celle de la production mondiale annuelle. Par conséquent, l'émanation volcanique est une source de sélénium importante.

2.2.3.2. Quelques sources anthropiques connues

Les sources de pollution d'origine anthropique sont pour une part liées aux activités qui utilisent le sélénium (principalement métallurgie lourde, transformation et combustion de produits pétroliers, industrie du verre, etc. ; cf. Annexe I : Principales utilisations du sélénium).

Cependant, la source la plus importante de sélénium d'origine anthropique résulte de la combustion du charbon (Bourrelier and Berthelin 1998). Ainsi, des recherches effectuées à l'Institut de Rothamsted entre 1861 et 1990 ont reporté des changements considérables dans les teneurs en sélénium des sols consécutivement à la combustion du charbon (Haygarth 1994). Un site pollué très documenté est le lac Belews en Caroline du Nord (aux Etats-Unis), qui a été contaminé par des eaux usées provenant d'une centrale électrique à charbon (Barceloux 1999).

2.2.3.3. Pollution des eaux en France

Le décret français n° 2001-1220 du 20/12/2001 impose une norme de potabilisation pour le sélénium de 10 µg.L⁻¹.

Une étude réalisée à l'échelle nationale a cependant mis en évidence des dépassements de la concentration maximale admissible en sélénium dans de

nombreuses eaux destinées à la consommation humaine française (AFSSA 2004). (ex. dans l'Essone (Robaux 2005)).

2.2.3.4. Pollution des sols en France

En dehors de données sporadiques de pollution locale évidente, notamment à proximité de fonderies (Sterckeman *et al.* 2002), la situation du sélénium dans les sols en France est assez méconnue. Ainsi, une simple recherche bibliographique par mot-clé (Tableau IV) illustre parfaitement un manque bibliographique concernant cet élément.

Tableau IV : Résultats de recherche bibliographique par mot-clé sur les 20 dernières années (1985-2005) avec le moteur de recherche SCOPUS.

Elément chimique	mot-clés recherchés	Nombre de publications
Pb	lead + soil	3293
Zn	zinc + soil	2901
Cu	copper + soil	2879
Cd	cadmium + soil	2848
Cr	chromium + soil	1222
Ni	nickel + soil	1211
As	arsenic + soil	1096
Se	selenium + soil	444
Co	cobalt + soil	432
Sb	antimony + soil	140
Sn	tin + soil	88
-	cation + soil	1162
-	anion + soil	272
-	oxyanion + soil	3

Deux hypothèses découlent donc de ce manque de littérature :

- La première, optimiste, nous laisse penser que le sélénium n'est que peu étudié car les pollutions ne sont pas importantes (localisées) et/ou sont peu inquiétantes pour la santé et l'environnement de par la faible mobilité du sélénium généralement constatée (Dhillon and Dhillon 1999; Nakamaru *et al.* 2005).

- La seconde, plus pessimiste, montre un manque important de connaissance sur le sujet et une absence de mesure des teneurs en sélénium dans les échantillons de sols. Cette lacune doit se traduire par une méconnaissance partielle du risque réel que constitue le sélénium dans l'environnement.

La réalité est certainement un mélange de ces deux hypothèses, suggérant tout de même que les pollutions et les risques engendrés par le sélénium sont à l'heure actuelle certainement sous-estimés. Nous avons regroupé en annexe des informations relatives à l'état des connaissances actuelles sur le rôle physiologique et la toxicité du sélénium pour l'homme et pour les écosystèmes terrestres et aquatiques (Annexe II : Rôle physiologique et toxicité du sélénium).

2.3. Origine radioactive – cas du ⁷⁹Se

2.3.1. Le stockage des déchets nucléaires : un enjeu mondial

Le stockage des déchets de haute activité est un des principaux problèmes du monde contemporain compte tenu des longues périodes de certains radionucléides (RNs) présents dans les déchets et de leur possible dispersion dans l'environnement. Pour envisager un stockage à long-terme des déchets nucléaires, il est important d'améliorer les connaissances concernant deux domaines de recherche : (i) évaluer la tenue de l'ouvrage afin de garantir son intégrité dans le temps et (ii) déterminer le comportement des rejets éventuels de RNs ainsi que leur dispersion (Wang and Liu 2005). En particulier pour ce second point, la connaissance des capacités de sorption et de migration des RNs dans les différents substrats susceptibles d'être traversés (sols, roches, ...) est d'une importance capitale.

2.3.2. Le sélénium 79

L'isotope ⁷⁹Se du sélénium est un produit de fission de l'uranium 235. Sa période a été récemment réévaluée à $2,95 \times 10^5$ ans (Jiang *et al.* 2002; Zhou and Wu 2006). Il est présent dans les déchets nucléaires de haute activité à vie longue (HAVL) provenant du retraitement du combustible nucléaire usagé (ANDRA 2005), ainsi que dans les rejets associés au fonctionnement normal des centrales

nucléaires et des usines de retraitement du combustible. De plus, le sélénium est aussi présent à l'état stable en quantité relativement importante dans les déchets de haute et moyenne activité (HA et MA), à tel point qu'il est également pris en compte par l'ANDRA sous sa forme stable dans les études de risque.

Les déchets nucléaires évoluent au cours du temps. Ainsi, après 1000 ans, les radionucléides posant le plus de problèmes dans ces déchets changent considérablement. Parmi ces derniers figurent le chlore, l'iode, le plutonium, l'américium, le technétium, le néptunium, le niobium, le sélénium, l'étain, l'antimoine, le césium et le samarium (Zhang *et al.* 2002; ANDRA 2005). Par ailleurs, le sélénium (^{79}Se) fait également parti des éléments les plus susceptibles d'être remobilisés dans l'environnement (ANDRA 2005).

2.3.3. Eléments pour l'évaluation du risque radiologique

2.3.3.1. Définition du Kd

Le coefficient de distribution (ou de partage) Kd d'un radionucléide dans un sol est défini par le rapport entre la concentration totale de ce radionucléide sur la phase solide et celle de la phase liquide (L.kg^{-1}). Le Kd est un paramètre empirique présumé englober divers mécanismes bio-géochimiques qui peuvent être influencés par une multitude de variables dépendant de la réactivité propre du radionucléide et des caractéristiques intrinsèques du sol. L'intensité de la rétention dans le sol est d'autant plus forte que la valeur de Kd est élevée.

L'utilisation d'un Kd pour définir le comportement d'un radionucléide dans le sol repose sur une hypothèse forte d'équilibre instantané, linéaire et réversible.

2.3.3.2. L'évaluation du risque radiologique

L'évaluation du risque radiologique est composée de différents volets allant du calcul de la dispersion du(des) radionucléide(s) dans l'environnement jusqu'au calcul de la dose reçue par l'homme. Ainsi, les calculs d'impacts radiologiques reposent sur des modèles compartimentaux simples, prenant en compte les différents processus qui régissent le transfert des radionucléides d'un compartiment de l'environnement à l'autre (le sol, les plantes, l'atmosphère, les eaux de surface ou du sol, ...). La

distribution du(des) radionucléide(s) dans ces compartiments et son évolution temporelle^e sont des aspects primordiaux qui conditionnent la qualité de l'évaluation du risque. Les sous-modèles opérationnels relatifs au compartiment des radionucléides dans le sol sont notamment destinés à calculer la quantité de radionucléide(s) capable de traverser une épaisseur de sol donnée lors de l'infiltration de l'eau. Ce processus de transport contribue alors à la contamination d'un horizon de sol sous-jacent ou de l'aquifère.

Les équations utilisées dans les modèles les plus simples reposent sur l'utilisation du Kd par l'intermédiaire d'une constante de « lessivage » λ_s (an^{-1}) (Roussel-Debet and Colle 2005) :

$$\text{Equation 1} \quad \lambda_s = \frac{Fe}{h \times (\theta + \rho \times Kd)}$$

Avec : ρ (kg.m^{-3}) la densité apparente du sol sec en place ; Kd ($\text{m}^3.\text{kg}^{-1}$) le coefficient de distribution ; θ ($\text{m}^3.\text{m}^{-3}$) l'humidité volumique du sol ; h (m) l'épaisseur de sol considérée ; et Fe (m.an^{-1}) la densité de flux volumique de l'eau (assimilable à la hauteur d'eau infiltrée dans la couche de sol en fonction du temps),

Ces modèles, de par l'utilisation d'un Kd, considèrent donc que la fixation des radionucléides sur le sol est instantané, réversible et ne dépend pas de la concentration présente, et ce quel que soit le radionucléide en question. Le choix de la valeur de Kd, pour un radionucléide et pour un sol donné va conditionner de façon importante le résultat de la modélisation. La valeur de Kd, pour un radionucléide et pour un type de sol, résulte de choix basés essentiellement sur des compilations de données expérimentales plus ou moins homogènes. Les valeurs de Kd par défaut utilisées dans les évaluations d'impact radioécologique sont généralement les valeurs proposées par l'Agence Internationale de l'Energie Atomique (IAEA 1994). Nous rappelons ces valeurs de Kd pour le sélénium dans le Tableau V.

Les valeurs de Kd retenues pour le sélénium, comprises entre 150 et 740 L.kg^{-1} (pour les sols en dehors des sols organiques), sont des valeurs suffisamment faibles^f pour considérer le sélénium comme un élément mobile à

^e Le devenir des radionucléides est envisagé à différentes échelles de temps allant du court terme (année) au très long terme (plusieurs dizaines voire centaines de milliers d'années)

^f Un Kd est généralement considéré comme faible pour des valeurs de moins de quelques centaines de L.kg^{-1} . A l'inverse, un Kd est jugé comme fort lorsqu'il dépasse le millier de L.kg^{-1} .

l'échelle de temps du risque radiologique. De plus, d'après ces mêmes données, la rétention du sélénium semble être fortement impactée par la présence de MO.

Tableau V : Kd (L.kg⁻¹) par défaut utilisés pour le sélénium dans les évaluations d'impact radioécologique ; valeurs issues de la base de données de l'AIEA (1994)

Type de sol défini par l'AIEA	Sableux (> 70 % sables)	Limoneux* (> 80 % limons)	Argileux (> 35 % argiles)	Organiques (> 30 % MO)
Kd Se (L.kg⁻¹)	150	490	740	1800

**ou texture équilibrée (sables ≈ limons ≈ argiles)*

Un Kd faible implique une forte mobilité de l'élément considéré et un Kd fort correspond à une faible mobilité.

3. Comportement du sélénium dans les sols

La mobilité des polluants, quelle que soit leur nature (organiques/inorganiques ; radionucléides/métaux lourds ; anions/cations ; etc.), est toujours influencée par les phénomènes de sorption et/ou de complexation qui ont lieu avec les différents constituants inorganiques et organiques du sol (Koch-Steindl and Pröhl 2001). En ce sens, l'étude du comportement d'un polluant dans le sol est généralement séparée en deux types d'approches distinctes. La première est l'étude des interactions du contaminant sur un ou plusieurs des constituants du sol pris séparément. La seconde traite le sol dans la globalité et intègre donc toute sa complexité. Dans ce cas, l'explication des résultats obtenus s'appuie généralement sur les données acquises sur les constituants isolés du sol.

3.1. Les phases minérales

3.1.1. Processus de sorption du sélénium à la surface des phases minérales

3.1.1.1. Charge de surface des phases minérales : effet du pH

Sauf exception, la sorption du sélénium sur les différentes phases minérales du sol résulte de mécanismes d'adsorption. Les mécanismes d'absorption (diffusion dans le solide) et de co-précipitation ne sont pas (ou très peu) étudiés.

Les sites de surfaces des phases minérales ($\equiv\text{S-OH}$) sont amphotères et dépendent par conséquent du pH. A pH acide, ils sont principalement sous formes protonées ($\equiv\text{S-OH}_2^+$) et conduisent préférentiellement à la sorption d'anions. Plus le pH augmente et plus la charge de surface diminue jusqu'à devenir globalement nulle à une valeur de pH égale au pH_{ZPC}^g (Sposito 1989) (Figure 7). Pour des pH supérieurs au pH_{ZPC} la charge est globalement négative (sites sous la forme $\equiv\text{S-O}^-$), ce qui tend à diminuer la sorption d'anions au profit de la sorption de cations (Sposito 1989; Koch-Steindl and Pröhl 2001).

^g pH_{ZPC} : pH pour lequel la charge de surface est globalement nulle. Cela ne signifie pas que la surface n'est pas chargée, mais que les charges de surface s'annulent. Ainsi, localement des charges positives et négatives existent. (« ZPC » signifiant Zéro Point Charge) Sposito G. (1989)

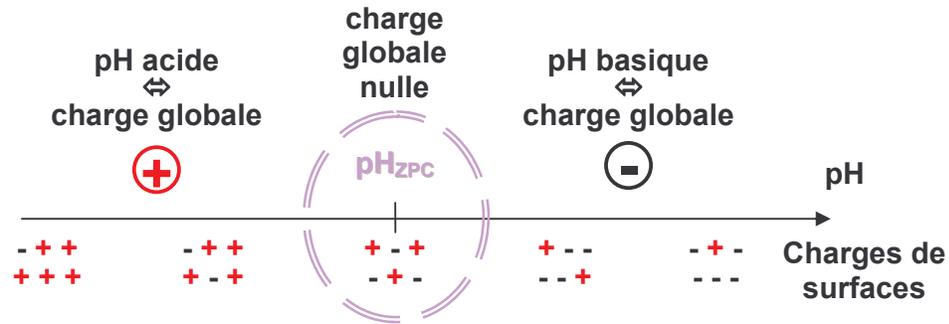


Figure 7 : Evolution schématique des charges de surface du sol ou de ses constituants (argiles, oxydes métalliques, MO, etc.) en fonction du pH

Cependant, bien qu'étant affectée, la sorption du sélénium peut exister (Hiemstra and Van Riemsdijk 1999; Su and Suarez 2000; Duc *et al.* 2003) du fait de l'existence de charges locales positives bien que la charge globale du constituant soit nulle ou négative (Sposito 1989; Pansu and Gautheyrou 2003). Cette petite quantité de sites positifs serait suffisante pour permettre la sorption du sélénium en faible quantité (Duc *et al.* 2003).

3.1.1.2. Nature des complexes formés entre le sélénium et la surfaces des phases minérales du sol

Le sélénium peut former soit des complexes de sphère interne^h, caractérisés par la formation de liaison covalente entre le sélénium et les groupements de surfaces des phases minérales, soit des complexes de sphères externesⁱ lorsque des liaisons électrostatiques de type Van der Waals sont créés (Sposito 1989; Davis and Kent 1990).

La formation de l'un ou l'autre de ces complexes est dépendante du degré d'oxydation du sélénium et de la surface de la phase minérale considérée. En première approximation, il apparait que le sélénite forme majoritairement des complexes de sphère interne et que le séléniate forme majoritairement des complexes de sphère externe (Davis and Kent 1990) (Figure 8). Cependant ces

^h Complexe de sphère interne ⇔ création de liaisons covalentes

ⁱ Complexe de sphère externe ⇔ liaisons électrostatiques de type Van der Waals

observations macroscopiques ne traduisent que des comportements majeurs sans contredire la possibilité d'autres types de comportements (Duc *et al.* 2003).

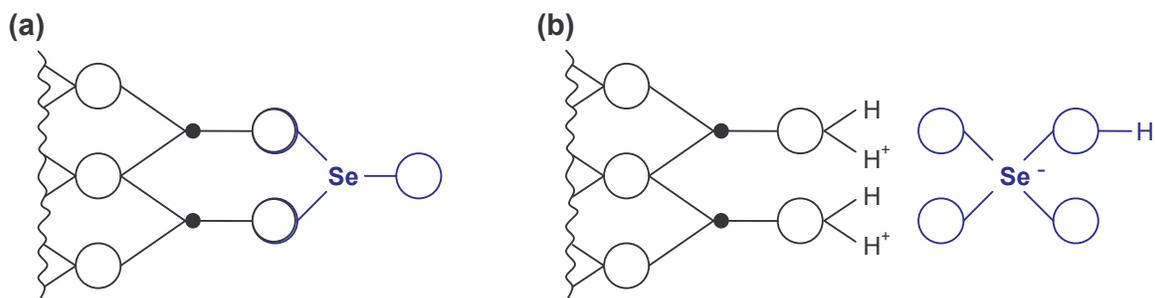


Figure 8 : Représentation schématique des complexes de sorption du sélénium majoritairement obtenus avec les surfaces des phases minérales du sol ; (a) complexe de sphère interne bidendante avec Se (IV) ; (b) complexe de sphère externe avec Se (VI)

● représente un atome métallique (Fe, Al, Mn, Ti, etc.) ; ○ un atome d'oxygène

La connaissance de ces mécanismes de sorption prend une place importante dans la compréhension globale de la mobilité du sélénium. En effet, le sélénium adsorbé par des complexes de sphère interne sera généralement plus difficilement désorbable que celui fixé sous la forme de complexes de sphère externe. Les complexes de sphère interne ne seront notamment pas (ou peu) affectés par la force ionique de la solution.

3.1.2. Les (hydr)oxydes de fer

La littérature traitant des interactions entre le sélénium et la goethite (α -FeOOH) est la plus abondante bien que l'on trouve également des études sur une large gamme d'oxydes de fer dont, l'hématite (α -Fe₂O₃) (Peak and Sparks 2002; Duc *et al.* 2003; Duc *et al.* 2006), la magnétite (Fe₃O₄) (Martinez *et al.* 2006), la ferrihydrite (Fe₁₀O₁₅, 9 H₂O) (Peak and Sparks 2002; Strawn *et al.* 2002), ainsi que des oxydes de fer amorphes (Jackson and Miller 2000; Su and Suarez 2000). Les capacités de sorption du sélénite et du séléniate sur la goethite, l'hématite et la magnétite sont similaires (Peak and Sparks 2002; Duc *et al.* 2003; Martinez *et al.* 2006). En revanche, les quantités sorbées sur la ferrihydrite et sur les oxydes de fer amorphes semblent légèrement supérieures (Jackson and Miller 2000; Peak and Sparks 2002) compte tenu de leurs surfaces spécifiques plus importantes.

La réactivité des oxydes de fer diffère selon le degré d'oxydation du sélénium. Les observations macroscopiques (Figure 9, d'après Su et Suarez (2000)) suggèrent la formation de complexes de sphère interne avec le sélénite (sorption indépendante de la force ionique) et de sphère externe avec le séléniate (sorption diminue quand la force ionique augmente) (Davis and Kent 1990; Su and Suarez 2000). De plus, la sorption du sélénite pour des pH au dessus du pH_{ZPC} ($pH_{ZPC} = 8$), bien qu'étant affectée, n'est pas nulle jusqu'à des pH de 11-12 (Hiemstra and Van Riemsdijk 1999; Su and Suarez 2000; Duc *et al.* 2003).

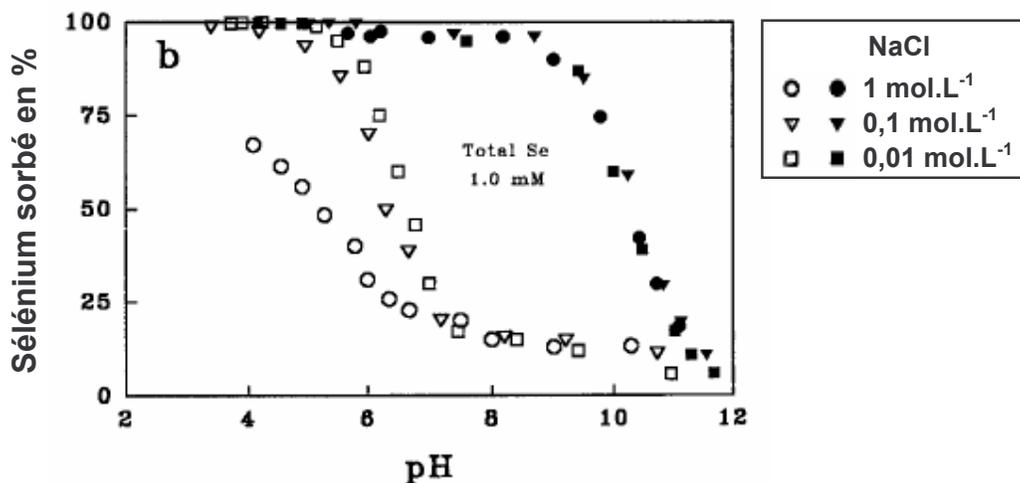


Figure 9 : Illustration de la capacité de sorption du sélénium sur un oxyde de fer amorphe en fonction du pH et de la force ionique (Su and Suarez 2000). La concentration en sélénium est de 1 mmol.L^{-1} ; les points pleins représentent Se (IV) ; les points vides représentent Se (VI); l'oxyde de fer est présent à une concentration de 4 g.L^{-1} .

Les nombreuses observations microscopiques (notamment par EXAFS) ont largement démontré la formation de complexes de sphère interne bidendate entre le sélénite et la surface des différents oxydes de fer (Hayes *et al.* 1987; Hayes *et al.* 1988; Davis and Kent 1990; Su and Suarez 2000; Duc *et al.* 2006). La cinétique de formation du complexe de sphère interne a même été étudiée et se décompose en deux étapes (Zhang and Sparks 1990). Une première étape rapide de sorption du Se (IV) passe par la formation d'un complexe de sphère externe à la surface de l'oxyde de fer, expliquant ainsi l'effet du pH sur la sorption par attractions/répulsions électrostatiques. Puis, le Se (IV) ainsi sorbé forme un complexe de sphère interne

bidendate en se substituant aux groupements hydroxyles protonés ; cette étape est l'étape cinétiquement limitante de la sorption du sélénite.

Les observations concernant le séléniate ont généralement conduit à la détermination exclusive de complexe de sphère externe (Hayes *et al.* 1987; Hayes *et al.* 1988; Zhang and Sparks 1990; Duc *et al.* 2003). Cependant, bien que restant minoritaires devant la formation de complexes de sphère externe, l'existence de complexes de sphère interne avec le séléniate a été reporté (Wijnja and Schulthess 2000b; Peak and Sparks 2002).

3.1.3. Les (hydr)oxydes d'aluminium

La sorption du sélénium sur les oxydes d'aluminium est assez semblable à celle des oxydes de fer, mais elle a été bien moins étudiée.

Concernant le sélénite, l'hypothèse de formation de complexes de sphère interne semble étayée par l'absence d'influence de la force ionique (Papelis *et al.* 1995; Schulthess and Hu 2001). Cependant, l'identification du type de complexes formés par le sélénite avec la surface d'oxyde d'aluminium n'est pas disponible dans la littérature (Peak *et al.* 2006) (Papelis *et al.* 1995; Boyle-Wight *et al.* 2002).

L'identification de complexes de sphère externe entre le séléniate et la surface des oxydes d'aluminium a été établie (Wijnja and Schulthess 2000b), confirmant l'effet de la force ionique observé (Schulthess and Hu 2001). Cependant, une faible fraction du séléniate a également été retrouvée sous forme de complexe de sphère interne monodendate lors de sorption réalisée à des pH inférieurs à 6 (Wijnja and Schulthess 2000b), comme dans le cas des oxydes de fer.

Enfin, des études laissent apparaître que la sorption du sélénite ou du séléniate sur les oxydes d'aluminium serait moins importante que sur les oxydes de fer (Dynes and Huang 1997; Wijnja and Schulthess 2000b).

3.1.4. Les (hydr)oxydes de manganèse

La sorption du sélénite a été étudiée sur différents oxydes de manganèse : la vernadite ($-\text{MnO}_2$), la birnessite ($\text{K}_4\text{Mn}_{14}\text{O}_{27}\cdot 9\text{H}_2\text{O}$) et un oxyde synthétique amorphe.

Les oxydes de manganèse possèdent des pH_{ZPC} très faibles (environ 2,7 pour la birnessite et moins de 1,5 pour la vernadite) (Foster *et al.* 2003). Ainsi, les

capacités de sorption du sélénium par les oxydes de manganèse sont largement inférieures à celles des autres oxydes aux pH environnementaux (Balistreri and Chao 1990; Saeki and Matsumoto 1994b).

La formation de complexes de sphère externe entre le séléniate et la surface des oxydes de manganèse a été établie ; cependant, en dehors de conditions extrêmement acides ($\text{pH} < 2$), la sorption du séléniate sur ces oxydes étant nulle (Balistreri and Chao 1990).

La structure des complexes formés entre le sélénite et la surface des oxydes de manganèse semble indiquer, de façon non certaine, l'existence de deux types de complexes différents : un complexe de sphère interne bidendate mononucléaire et un complexe de sphère externe monodendate (Foster *et al.* 2003). De plus, certaines observations ont montré une oxydation lente d'une petite partie du sélénite sorbé sur les oxydes de manganèse, associée à une réduction du Mn (IV) en Mn (II) soluble (Scott and Morgan 1996; Banerjee and Nesbitt 2000). Cette oxydation du sélénite sorbé en séléniate conduirait donc à une libération de sélénium.

3.1.5. Les argiles

La sorption du sélénium sur les argiles a été relativement peu étudiée, bien que cette phase minérale soit très importante dans les sols et qu'elle constitue une barrière de rétention dans le cas de stockage de déchets radioactifs (ANDRA 2005).

La kaolinite et la montmorillonite possèdent une capacité de sorption du sélénite optimale à $\text{pH} 2 - 3$ (Frost and Griffin 1977; Bar-Yosef and Meek 1987; ANDRA 2003) alors qu'elle est négligeable à un pH compris entre 7 et 9 (Frost and Griffin 1977; Bar-Yosef and Meek 1987; Jacquier *et al.* 2001; ANDRA 2003). De plus, bien que l'allure des isothermes de sorption du sélénite soit similaire pour ces deux types d'argile (Bar-Yosef and Meek 1987), la capacité de sorption de la montmorillonite est supérieure à celle de la kaolinite (Frost and Griffin 1977). Le sélénite semble être adsorbé sur la montmorillonite par des complexes de sphère interne bidendate binucléaire (Peak *et al.* 2006). Cependant, à notre connaissance, aucune identification fine des mécanismes de sorption du sélénium n'a été réalisée sur les argiles en dehors des travaux de Peak *et al.* (2006).

Le comportement du séléniate n'a été a priori que peu investigué. Il semble néanmoins que la sorption du séléniate soit largement inférieure à celle du sélénite

et semble diminuer plus rapidement lorsque le pH augmente (Bar-Yosef and Meek 1987).

Enfin, la sorption du sélénium sur d'autres argiles de type illite, vermiculite ou chlorite n'a, à notre connaissance, pas été investiguée (Séby *et al.* 1998).

3.1.6. Les autres phases minérales

D'autres données plus spartiates concernent des phases minérales du sol qui, soit ne présentent pas d'affinité ou de capacité de sorption significative pour le sélénium, soit ne sont présentes qu'en faible quantité dans les sols et sont par conséquent souvent négligées.

3.1.6.1. Les oxydes de titane

Les oxydes de titane semblent posséder une importante capacité de sorption du sélénite, similaire à celle des oxydes de fer (Saeki and Matsumoto 1994b). La sorption du sélénite sur ces oxydes est maximale et constante jusqu'à environ pH 7, puis diminue lentement lorsque le pH augmente (Saeki and Matsumoto 1994b; Hasany *et al.* 1997).

3.1.6.2. L'apatite

La sorption du sélénite sur les hydroxyapatites est optimale à pH 8, avec une diminution des quantités sorbées en fonction du pH relativement rapide que le pH augmente ou diminue (Monteil-Rivera *et al.* 2000; Duc *et al.* 2003). La sorption du sélénite sur les hydroxyapatites résulte d'une substitution du phosphore dans la structure cristallographique de l'apatite (Duc *et al.* 2003). Il s'agit en fait d'une réaction d'échange anionique avec les groupements phosphates (Monteil-Rivera *et al.* 2000; Duc *et al.* 2003). Contrairement au sélénite, le séléniate n'est pratiquement pas sorbé sur ces phases minérales (Duc *et al.* 2003).

3.1.6.3. La calcite

Le sélénite, contrairement au séléniate, peut également être adsorbé sur la calcite (Cheng *et al.* 1997). Le sélénite s'adsorbe sur la calcite par une réaction

d'échange avec les ions carbonates (Cheng *et al.* 1997). Ainsi, les carbonates peuvent jouer un rôle important sur la rétention du sélénium dans les sols basiques (Wang and Liu 2005).

3.1.6.4. Le quartz

La sorption du sélénite sur le quartz (SiO_2) est négligeable quel que soit le pH (Saeki and Matsumoto 1994b).

3.2. La matière organique

Le lien entre la matière organique et le sélénium est relativement peu étudié (Tam *et al.* 1995), malgré le rôle important que peut jouer la MO aussi bien sur les variables biogéochimiques du sol (pH, charge de surface, agrégation, capacité d'échange cationique et anionique, ...), que sur la mobilité directe des éléments chimiques (complexation, adsorption, ...). En effet, la MO, avec son extrême hétérogénéité, présente généralement de très larges possibilités de réactions et d'interactions avec de nombreux polluants (Koch-Steindl and Pröhl 2001).

De plus, les fortes valeurs de K_d pour le sélénium sur des sols organiques (§ 2.3.3.2, Tableau V) suggèrent l'influence de la MO sur la rétention du sélénium. Les seules études disponibles concernent principalement l'effet de certains composés organiques sur la sorption du sélénium sur des minéraux purs.

Les acides humiques et fulviques semblent n'avoir que peu d'effet sur la sorption du sélénium. Ainsi, aucun effet des acides fulviques (AF) n'a été observée sur la sorption du sélénite par des oxydes d'aluminium quel que soit le pH (Zuyi *et al.* 2000). Ceci peut néanmoins s'expliquer par la grande affinité du sélénium pour les oxydes d'aluminium (§ 3.1.3). La sorption du sélénite sur la goethite en présence d'AH n'a été que très faiblement diminuée. Cette légère diminution de la sorption du Se (IV) provient certainement d'un léger effet compétiteur des AH présents sous forme anionique (Masset *et al.* 2000). Cependant, la sorption du sélénite sur un oxyhydroxyde de fer amorphe a été reportée comme étant légèrement augmentée quand cet oxyde était recouvert d'AH (Tam *et al.* 1995). De plus, aucune sorption du sélénite n'a été observée sur des AH seuls (Saeki and Matsumoto 1994b).

L'effet des interactions MO-oxydes d'aluminium sur la sorption du sélénite et du séléniate a également été étudié à l'aide d'acides organiques de faible poids moléculaire (Dynes and Huang 1997; Wijnja and Schulthess 2000a). L'influence de ces molécules organiques est fonction de leur structure, des groupements fonctionnels présents et des concentrations utilisées (Dynes and Huang 1997). Il apparaît par exemple que les acides oxalique et citrique ont un effet compétiteur à la fois sur la sorption du sélénite (Dynes and Huang 1997) et du séléniate (Wijnja and Schulthess 2000a). En contre partie, les acides formique et acétique ne semblent pas modifier la sorption du sélénite (Dynes and Huang 1997) mais augmentent légèrement la sorption du séléniate (Wijnja and Schulthess 2000a). En fait, les acides formique et acétique forment des complexes de sphère externe à la surface des oxydes d'aluminium, contrairement aux acides oxalique et citrique (Figure 10) (Dynes and Huang 1997).

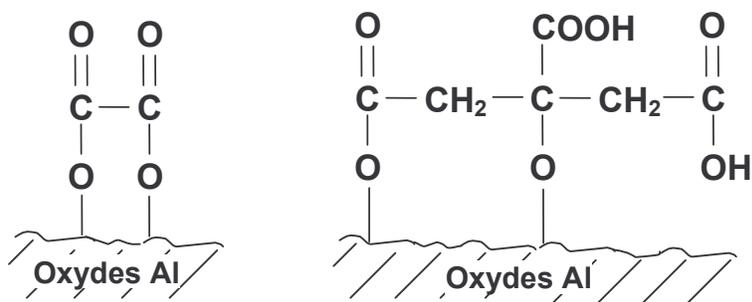


Figure 10 : Complexes formés à la surface des oxydes d'aluminium avec des acides oxalique (à gauche) et citrique (à droite) (Dynes and Huang 1997)

La sorption de composés organiques du sélénium a été très peu étudiée. Il semble cependant que le sélénium organique soit beaucoup moins sorbé sur les oxydes de métalliques que le sélénite (Tam *et al.* 1995). Ainsi, une transformation du sélénium inorganique en formes organiques (sous forme de sélénométhionine par exemple) peut conduire à une remobilisation d'une fraction du sélénium.

3.3. Les microorganismes

Les microorganismes jouent un rôle particulier vis-à-vis du comportement du sélénium dans les sols et semblent pouvoir contribuer fortement aux transformations du sélénium (Février 2003). Les principales transformations peuvent être classées en trois catégories : l'oxydation du sélénium élémentaire, la réduction du sélénite et/ou du séléniat en sélénium élémentaire et la biométhylation du sélénium entraînant la formation de composés volatils.

3.3.1. Oxydation du sélénium

L'énergie libérée lors de l'oxydation du sélénium élémentaire serait suffisante pour être utilisée comme source d'énergie par les micro-organismes. Ainsi, certains microorganismes peuvent oxyder le sélénium élémentaire en sélénite et séléniat (Sarathchandra and Watkinson 1981; Dowdle and Oremland 1998). Cependant, ce phénomène semble être assez rare et/ou très peu étudié.

L'oxydation du sélénium semble être un phénomène relativement lent, avec une cinétique de transformation dans les sols plus lente d'environ trois à quatre ordres de grandeurs comparée à celle de la bio-réduction (Dowdle and Oremland 1998). Ce résultat, explique en partie le manque d'intérêt pour l'oxydation biotique du sélénium élémentaire, au profit des études traitant de la réduction du sélénite et du séléniat.

3.3.2. Réduction du sélénium

Alors qu'un nombre restreint de micro-organismes ont la capacité d'oxyder le sélénium, beaucoup d'entre eux peuvent le réduire. Cependant, la majeure partie des études de réduction biotique du sélénite et du séléniat en sélénium élémentaire porte sur les bactéries, au détriment des autres microorganismes (champignons et levures) (Frankenberger and Karlson 1994; Chasteen 1998; Dungan and Frankenberger 1999). Ainsi, la littérature révèle que de nombreuses bactéries sont capables d'effectuer cette réduction (Tableau VI), que se soit en condition aérobie ou anaérobie. Le sélénium élémentaire ainsi formé par les microorganismes est une forme amorphe du $\text{Se}(0)$ très facilement reconnaissable à sa couleur rouge vif (Figure 11a) (Burton *et al.* 1987; Roux *et al.* 2001; Coquillat *et al.* 2005).

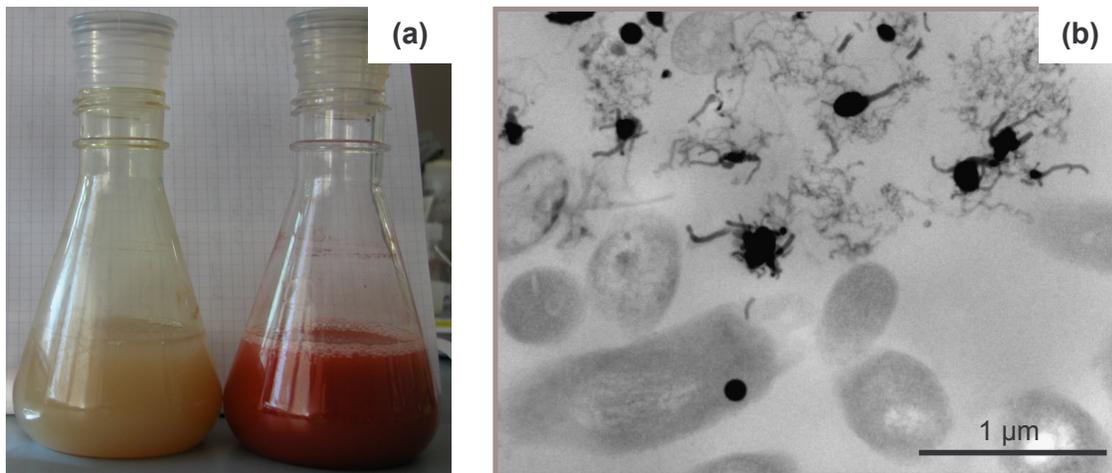


Figure 11 : Exemple de réduction du sélénite en sélénium élémentaire par *Cupriavidus metallidurans* CH34 (ex *Ralstonia metallidurans* CH34) : (a) photo du milieu de culture devenu rouge de par la présence de Se(0) ; (b) image MET de bactéries en phase de déclin montrant la présence de granule de Se(0) ainsi que des granules liés à des débris bactériens, libérés dans le milieu de culture lors de la lyse bactérienne (Coquillat *et al.* 2005)

Le processus de formation du sélénium élémentaire a été étudié chez les bactéries au moyen d'analyses microscopiques (MET, MEB, EXAFS et XANES ; Tableau VI), car le sélénium élémentaire formé est un élément peu soluble qui se regroupe soit dans les cellules, soit à l'extérieur sous forme de granules denses aux électrons (Figure 11b). Ces granules de sélénium élémentaire sont majoritairement intracellulaires, localisés dans le cytoplasme et/ou dans l'espace périplasmique de la bactérie (Garbisu *et al.* 1996; Switzer Blum *et al.* 1998; Kessi *et al.* 1999; Van Fleet-Stalder *et al.* 2000; Roux *et al.* 2001; Oremland *et al.* 2004; Coquillat *et al.* 2005). Cependant, quelques bactéries semblent réduire le sélénium à proximité de la surface de la cellule bactérienne et expulsent ce Se(0) dans le milieu de culture (Losi and Frankenberger 1997; Oremland *et al.* 2004). De plus, certaines études ont montré que les granules de Se(0) localisés à l'intérieur des bactéries pouvaient être libérés dans le milieu de culture lors de la lyse bactérienne (Figure 11b) (Garbisu *et al.* 1996; Coquillat *et al.* 2005; Di Gregorio *et al.* 2005).

Tableau VI : Bactéries capables de réduire le sélénite et/ou le séléniat en sélénium élémentaire

Microorganismes	Formes et concentrations initiales du sélénium		Observation Se(0)	Réf.
<i>Acinetobacter sp.</i>	Se (IV)	10 mM	(Coloration rouge)	[1]
<i>Aeromonas hydrophila</i>	Se (IV)	10 mM	(Coloration rouge)	[1]
<i>Arthrobacter sp.</i>	Se (IV)	10 mM	(Coloration rouge)	[1]
<i>Bacillus selenitireducens</i>	Se (IV)	10 mM	MET-EDX ; MEB	[9]
<i>Bacillus selenitireducens</i>	Se (IV)	10 mM	MEB-EDX ; MET	[11]
<i>Bacillus sp.</i>	Se (IV)	10 mM	(Coloration rouge)	[1]
<i>Bacillus subtilis</i>	Se (IV)/(VI)	1 mM	MET	[5]
<i>Citrobacter freundii</i>	Se (IV)	10 mM	(Coloration rouge)	[1]
<i>Corynebacterium sp.</i>	Se (IV)	10 mM	(Coloration rouge)	[1]
<i>Cupriavidus metallidurans</i> CH34*	Se (IV)	0,01 et 1 mM	MET-EDX	[2]
<i>Cupriavidus metallidurans</i> CH34*	Se (IV)	2 mM	MET-EDX ; XANES ; EXAFS	[10]
<i>Enterobacter cloacae</i>	Se (IV)/(VI)	0,6 mM	MET-EDX	[8]
<i>Flavobacterium sp.</i>	Se (IV)	10 mM	(Coloration rouge)	[1]
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Se (IV)	10 mM	(Coloration rouge)	[1]
<i>Pseudomonas cepacia</i>	Se (IV)	10 mM	(Coloration rouge)	[1]
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	Se (IV)/(VI)	1 mM	MET	[5]
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	Se (IV)/(VI)	2-50 mM	(Coloration rouge)	[7]
<i>Rhodobacter sphaeroides</i>	Se (IV)/(VI)	0,01 et 1 mM	XANES	[13]
<i>Rhodospirillum rubrum</i>	Se (IV)	0,5-2 mM	MET-EDX	[6]
<i>Selenihalanaerobacter shriftii</i>	Se (VI)	10 mM	MET-EDX ; MEB	[9]
<i>Stenotrophomonas sp.</i>	Se (IV)	2 mM	MET-EDX	[3]
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Se (IV)/(VI)			[4]
<i>Sulforospirillum barnesii</i>	Se (VI)	10 mM	MET-EDX ; MEB	[9]
<i>Wolinella succinogenes</i>	Se (IV)/(VI)			[12]

[1] (Burton *et al.* 1987) ; [2] (Coquillat *et al.* 2005) ; [3] (Di Gregorio *et al.* 2005) ; [4] (Dungan *et al.* 2003) ; [5] (Garbisu *et al.* 1996) ; [6] (Kessi *et al.* 1999) ; [7] (Lortie *et al.* 1992) ; [8] (Losi and Frankenberger 1997) ; [9] (Oremland *et al.* 2004) ; [10] (Roux *et al.* 2001) ; [11] (Switzer Blum *et al.* 1998) ; [12] (Tomei *et al.* 1992) ; [13] (Van Fleet-Stalder *et al.* 2000)

**Ralstonia metallidurans* CH34

La réduction bactérienne du sélénium peut être une voie de transport du sélénium non négligeable, car le Se(0) extracellulaire ou les bactéries contenant du Se(0) intracellulaire peuvent éventuellement être mobilisés par transport colloïdal (Fontes *et al.* 1991; Losi and Frankenberger 1997) ; bien que ce type de transport n'ait, à notre connaissance, pas été étudié dans le cas du sélénium. La réduction du sélénium par les microorganismes (et la formation de granules intra ou extracellulaire

de Se(0)) n'a cependant pas été appréhendée en système complexe naturel (eau, sol, sédiment). De plus, peu de données permettent de juger de la proportion de microorganismes susceptibles de réduire le sélénium dans un environnement donné (eau, sol, sédiment). A priori, seule l'étude de Bautista et Alexander (1972) semble fournir une telle information. D'après cette étude portant sur un sol, plus de 20 % des bactéries, 80 % des actinomycètes et 19 % des champignons avaient la capacité de réduire le séléniate (Lovely 1995). Cependant cette donnée ne peut pas être généralisée à tous les sols et l'impact quantitatif de la bio-réduction sur le comportement global du sélénium (= proportion de sélénium réduit ?) n'est pas connu. Enfin, il est important de noter que la plupart des études ayant observées des granules de sélénium élémentaire portent sur des concentrations en sélénium très élevées, de l'ordre de 10^{-2} - 10^{-3} mol.L⁻¹ (Tableau VI). Or, la réduction du sélénite et du séléniate en sélénium élémentaire (forme moins toxique) est fréquemment considérée comme un moyen de détoxification permettant aux microorganismes de résister à la présence de l'élément toxique environnant (Ehrlich 1997). Ainsi, les données ne permettent pas de prédire si la réduction du sélénium dans un sol non sélénifère est envisageable ou non.

3.3.3. Biométhylation du sélénium

La biométhylation du sélénium inorganique (sélénite et séléniate) est réalisée par de nombreux microorganismes du sol, principalement en condition aérobie (Frankenberger and Karlson 1994). Dans ces conditions, la biométhylation du sélénium semble être autant le fait des bactéries que des champignons (Tableau VII). En condition anaérobie, une volatilisation très faible peut également être observée. Elle n'est dans ce cas induite que par un nombre restreint de bactéries. La biométhylation est un phénomène complexe qui nécessite à la fois des réactions de réduction (pour passer du degré d'oxydation +IV ou +VI au degré d'oxydation -II) accompagnée de réaction de méthylation, entraînant la formation de plusieurs espèces de séléniures organiques volatiles possédant 1 à 2 groupements méthyles. Le mécanisme de formation de ces composés volatils du sélénium est, au moins en partie, un phénomène enzymatique (Ranjard *et al.* 2002). Ainsi, Ranjard *et al.* (2002) ont isolé une enzyme, la thiopurine méthyltransférase (bTPMT, pour bacterial thiopurine methyltransferase), intervenant dans la formation à *minima* des deux

composés de sélénium volatils majeurs (le diméthylséléniure (DMSe) et, dans une moindre mesure, le diméthyldiséléniure (DMDS₂)).

Le rendement de volatilisation semble être influencé par l'ensemble des facteurs qui augmentent classiquement l'activité microbienne incluant la température (Calderone *et al.* 1990; Frankenberger and Karlson 1994) et l'humidité (Abu-Erreish *et al.* 1968). En ce sens, le facteur le plus sensible est la MO présente dans le sol, tant en qualité qu'en quantité. Ainsi, les quantités de sélénium volatilisées sont augmentées lorsqu'un amendement organique est apporté (Abu-Erreish *et al.* 1968; Calderone *et al.* 1990; Stork *et al.* 1999). Au niveau qualitatif, les composés organiques les plus rapidement dégradables semblent conduire à une meilleure volatilisation (Calderone *et al.* 1990; Stork *et al.* 1999). Le rendement de biométhylation du sélénium semble également varier en fonction des quantités de sélénium du sol soluble dans l'eau (Abu-Erreish *et al.* 1968) et par la même la volatilisation dépend indirectement de la teneur en sélénium du sol et de toutes les variables physico-chimiques qui tendent à augmenter la mobilité du sélénium, comme par exemple le pH (Frankenberger and Karlson 1994). Or, les quelques études consacrées aux sols et aux sédiments (par opposition à la majeure partie des études réalisées en milieu de culture) se sont intéressées à définir la biométhylation dans des environnements sélénifères avec des concentrations en sélénium de plusieurs dizaines de milligrammes par kilogramme de sol (Karlson and Frankenberger 1988b; Stork *et al.* 1999; Guo *et al.* 2001). Ainsi, les taux élevés de volatilisation dans les sols, allant de 1 à près de 10 % du sélénium en quelques semaines, ne peuvent pas être généralisés à des sols non sélénifères. A notre connaissance, la biométhylation à des teneurs en sélénium moins importantes n'est pas connue.

Tableau VII : Microorganismes capables de biométyler le sélénium, entraînant la formation d'espèces volatiles du sélénium ; les espèces de bactéries soulignées sont également connues pour former du sélénium élémentaire (cf. Tableau VI)

Bactéries	Réf.	Champignons	Réf.
<i>Aeromonas sp.</i>	[1 ; 4-5]	<i>Acremonium falciforme</i>	[4-5]
<i>Aeromonas verouii</i>	[4]	<i>Alternaria alternata</i>	[4-5]
<u><i>Citrobacter freundii</i></u>	[1]	<i>Aspergillus niger</i>	[4-5]
<u><i>Corynebacterium sp.</i></u>	[1 ; 3-5]	<i>Candida humicola</i>	[4-5]
<u><i>Cupriavidus metallidurans</i> CH34*</u>	[2]	<i>Cephalosporium sp.</i>	[1 ; 4-5]
<u><i>Flavobacterium sp.</i></u>	[4-5]	<i>Fusarium sp.</i>	[1 ; 4-5]
<u><i>Pseudomonas sp.</i></u>	[1 ; 3-5]	<i>Penicillium sp.</i>	[1 ; 4-5]
<u><i>Pseudomonas aeruginosa</i></u>	[1]	<i>Penicillium citrinum</i>	[4-5]
<u><i>Pseudomonas cepacia</i></u>	[1]	<i>Penicillium chrysogenum</i>	[4]
<u><i>Pseudomonas fluorescens</i></u>	[1 ; 4-5]	<i>Penicillium notatum</i>	[4]
<u><i>Rhodobacter sphaeroides</i></u>	[6]	<i>Schizophillum commune</i>	[4-5]
<i>Rhodocyclus tenuis</i>	[4]	<i>Scopulariopsis sp.</i>	[1 ; 4-5]
<u><i>Rhodospirillum rubrum</i></u>	[4]	<i>Scopulariopsis breviacaulis</i>	[1 ; 4-5]
		<i>Ulocladium tuberculatum</i>	[5]

[1] (Chasteen 1998) ; [2] (Coquillat *et al.* 2005) ; [3] (Doran and Alexander 1977) ; [4] (Dungan and Frankenberger 1999) ; [5] (Frankenberger and Karlson 1994) ; [6] (Van Fleet-Stalder *et al.* 2000)

**Ralstonia metallidurans* CH34

Par ailleurs, certaines études dédiées principalement à l'étude de la formation de sélénium élémentaire sous l'action des bactéries (§ 3.3.2) ont également montré qu'une partie du sélénium était biométhylée par ces bactéries (Van Fleet-Stalder *et al.* 2000; Coquillat *et al.* 2005) (les souches bactériennes soulignées dans le Tableau VII sont également connues pour leur capacité à former du sélénium élémentaire). La formation de sélénium élémentaire et la biométylation sont deux phénomènes de protection/détoxication chez les bactéries (Dungan and Frankenberger 1999) qui peuvent donc être intimement liés.

3.4. Comportement du sélénium dans des sols naturels

Les associations du sélénium avec les différents composants du sol décrites ci-dessus sont largement compliquées par l'hétérogénéité du sol. En effet, le sol est un assemblage hétérogène complexe de phases minérales diverses (argiles, oxydes, etc.), de matière organique (abiotique) et de micro-organismes. C'est pourquoi une approche plus globale a été utilisée pour appréhender le comportement du sélénium dans les sols, notamment par des observations macroscopiques. Elles consistent par exemple à des études sur les capacités de sorption et/ou de désorption globale du sol, sur les phénomènes ou facteurs contrôlant le comportement du sélénium, ou sur une estimation de la stabilité des différentes formes fixées à l'aide d'extractions chimiques.

3.4.1. Sorption du sélénium sur le sol

La cinétique de sorption du sélénite et du séléniat est très rapide sur les sols, avec un équilibre généralement atteint en moins de 2 heures (Neal *et al.* 1987a; Dhillon and Dhillon 1999; Dhillon and Dhillon 2000; Goh and Lim 2004).

Tableau VIII : Sorption du sélénite sur des échantillons de sol

Kd (L.kg ⁻¹)	Kd moyen (L.kg ⁻¹)	Sélénium sorbé	Moyenne sélénium sorbé	Ratio V/m (L.kg ⁻¹)	Echantillons de sol	Références
12 - 1060	315	55 - 99 %	97 %	10	58 sols agricoles japonais	(Nakamaru <i>et al.</i> 2005)
1 - 570	–	4 - 96 %	–	25	8 sols indiens	(Dhillon and Dhillon 1999)
–	–	1 - 85 %	41 %	5	66 échantillons de sols new-zélandais*	(John <i>et al.</i> 1979)
1 - 250	33	–	–	variable	Analyse bibliographique	(Roussel-Debet and Colle 2005)

* la sorption du sélénium pour les sols de nouvelle Zélande est certainement sous-estimée car la concentration en sélénium utilisée (de 0,01 mol.L⁻¹) est relativement élevée et peut entraîner une saturation des sites de sorption des sols

La sorption du sélénite varie fortement selon le sol étudié (Tableau VIII), avec des quantités de sélénium sorbées allant de 1 à 99 %, correspondant à un Kd variant de 1 à 1060 L.kg⁻¹ (John *et al.* 1979; Dhillon and Dhillon 1999; Nakamaru *et al.* 2005; Roussel-Debet and Colle 2005). Ces valeurs de Kd sont du même ordre de grandeur

que ceux définis dans la base AIEA utilisées dans les modèles d'évaluation du risque radiologique ($150-1800 \text{ L.kg}^{-1}$, cf. Tableau V du paragraphe 2.3.3.2).

Un grand nombre de données disponibles sur des sols sont en adéquation avec les mécanismes majoritaires d'adsorption du sélénium sur les différentes phases minérales (§ 3.1) : (i) la sorption du sélénium est plus importante aux pH acides et diminue lorsque le pH augmente (Neal *et al.* 1987a; Goh and Lim 2004) ; (ii) la force ionique affecte grandement la sorption du séléniate sur les sols, en revanche elle n'a pas d'effet sur celle du sélénite (Goh and Lim 2004) et (iii) la sorption du séléniate est largement plus faible que celle du sélénite (Goh and Lim 2004), voire inexistante sur certains sols, y compris à pH acide (Neal and Sposito 1989) ce dernier étant sujet à être très mobile de par sa faible sorption dans les sols.

3.4.2. Ions compétiteurs

L'étude de l'influence des ions compétiteurs présente un intérêt majeur à la fois dans la compréhension des mécanismes de rétention du sélénium avec le sol, mais surtout afin de mieux comprendre et prévoir la mobilité du sélénium. Par ailleurs, ces études sur l'effet des anions sur la mobilité du sélénium sont très intéressantes car un certain nombre d'anions sont généralement appliqués aux sols en tant que fertilisants.

L'effet des sulfates (SO_4^{2-}), des nitrates (NO_3^-) et des phosphates (H_2PO_4^-) sur la sorption du sélénite a été testé sur différents sols indiens (Dhillon and Dhillon 2000). Les auteurs ont observés que la compétition avec les sulfates semble être moins importante que celle des nitrates qui est elle-même largement inférieure à celle des ions phosphates qui conduisent à une diminution de 30 et 50 % des quantités de sélénium sorbé sur tous les sols.

3.4.3. Désorption du sélénium

Les études concernant la désorption du sélénium sont beaucoup moins importantes que celles traitant de la sorption. La connaissance des processus de désorption est pourtant un élément clé pour la modélisation du comportement des éléments sur le moyen et long terme. Ainsi, les modèles sont fréquemment utilisés à

partir des résultats de sorption en supposant que les processus de rétention du polluant sur le solide sont réversibles.

Dans le cas du sélénium, les processus de sorption semblent être partiellement irréversibles (Wang and Liu 2005), entraînant des quantités de sélénium désorbées généralement très faibles dans le cas des sols acides (Dhillon and Dhillon 1999; Nakamaru *et al.* 2005). Pour accéder à une meilleure prédiction du comportement du sélénium, il est nécessaire de comprendre quels sont les facteurs qui peuvent modifier cette désorption. Notamment le potentiel d'oxydo-réduction (passage du sélénite au séléniate), le pH, les concentrations en anions compétiteurs ou les changements de l'état microbiologique du sol (etc.) sont autant de variables qui peuvent conduire à une modification de la remobilisation du sélénium. A titre d'exemple, il a déjà été observé (i) que des sols amendés en MO conduisaient à une désorption plus faible du sélénium (Calderone *et al.* 1990; Neal and Sposito 1991) ; (ii) que les sulfates et les carbonates ne remobilisent pas plus de sélénium que les chlorures, alors que les ions phosphates contribuent à une forte augmentation des quantités de sélénium désorbées dans le cas des sols acides (Lim and Goh 2005) (Jackson and Miller 2000; Nakamaru *et al.* 2006). Dans les sols basiques, l'effet des anions compétiteurs est inversé (Dhillon and Dhillon 1999; Nakamaru *et al.* 2006).

3.4.4. Partition solide du sélénium

De façon générale, la proportion du sélénium associée aux phases minérales est généralement considérée comme étant inférieure à 20 % du sélénium sorbé sur les sols et les sédiments. Les schémas d'extractions séquentielles utilisés afin d'approcher la spéciation solide du sélénium prennent peu ou mal en compte les associations entre le sélénium et les phases minérales, notamment en ce qui concerne les oxydes métalliques. Ainsi, l'extraction au K_2HPO_4 est utilisé pour extraire le sélénite (Se IV) sorbé spécifiquement sur les argiles et sur les oxydes métalliques (Wright *et al.* 2003; Dhillon *et al.* 2005), Cependant, l'étude de Jackson et Miller (2000), tend à démontrer que cet extractant ne possède qu'une efficacité partielle pour le sélénite associé aux oxydes de fer. D'autres études déterminent la fraction de sélénium associée aux oxydes métalliques à l'aide d'extractions plus agressives avec NaOH et/ou avec NaOCl (Zhang and Moore 1996; Zawislanski *et al.*

2003) souvent utilisées pour accéder à la fraction organique du sélénium (Wright *et al.* 2003).

Contrairement aux phases minérales, l'analyse bibliographique tend à montrer l'importance de la MO dans la sorption du sélénium dans les sols et les sédiments. Le sélénium associé aux substances humiques représente fréquemment plus de 50 % du sélénium présent dans les sols et les sédiments (Abrams *et al.* 1990; Gustafsson and Johnsson 1992; Zhang and Moore 1996; Wright *et al.* 2003; Zawislanski *et al.* 2003). Cependant, ce constat contredit les études réalisées sur des phases pures où la MO est présentée comme compétiteur et non comme phase de sorption (§ 3.2). En fait, l'association du sélénium avec la MO repose fréquemment sur l'utilisation de réactifs dont le rôle d'extraction pour la MO est reconnu (NaOH, Na₄P₂O₇ et NaOCl). La spécificité de ces extractants pour certains complexes de sélénium peut s'avérer être assez ambiguë. Ainsi, ces réactifs agressifs peuvent notamment altérer les aluminosilicates, argiles (Gleyzes *et al.* 2002) ou les oxydes métalliques et en extraire le sélénium lié (Jackson and Miller 2000). En ce sens, Nakamaru *et al.* (2005) ont considéré les quantités de sélénium extrait par NaOH 0,1 M comme étant principalement associées à des oxydes de fer, une partie de ce sélénium pouvant être associé à la MO.

Enfin, en condition anoxique le sélénium élémentaire peut représenter une part importante du sélénium total. C'est principalement le cas dans les sédiments où de 20 à 60 % du sélénium peut être retrouvé sous forme de sélénium élémentaire (Zhang and Moore 1996; Zawislanski *et al.* 2003). En revanche, dans les sols de surface cette fraction est relativement faible.

4. Bilan de l'étude bibliographique

L'étude bibliographique a permis de faire un point sur les connaissances actuelles des associations entre le sélénium et les différentes composantes biotiques et abiotiques du sol.

Une première approche se concentre sur l'étude spécifique des interactions du sélénium avec un ou plusieurs des constituants élémentaires du sol. Ce type d'étude vise généralement à appréhender des mécanismes fins principalement en ce qui concerne les processus de sorption. Une deuxième approche consiste à prendre un sol dans sa globalité, avec toute sa complexité. Cependant, pour le sélénium ces deux types d'approches ne semblent pas évidents à corrélérer, car les différentes phases ne sont pas considérées avec la même importance selon l'approche. Les associations avec des phases pures (oxydes de fer, d'aluminium, de manganèse, argiles, etc.) et les transformations microbiologiques du sélénium en cultures pures (réduction entraînant la formation de Se(0), biométhylation, etc.) sont des mécanismes et facteurs largement étudiés au détriment de la MO qui n'est pas considérée comme une phase porteuse importante et qui est peu étudiée. De plus, la plupart des études sont réalisées à des concentrations en sélénium élevées permettant notamment d'effectuer des analyses de spéciation sur le solide (par exemple par EXAFS). Le comportement réel du sélénium dans les sols peut ainsi être plus ou moins éloigné des résultats obtenus avec ce type d'études de par la divergence entre les concentrations étudiées et celles retrouvées dans un contexte environnemental, surtout si l'on se place dans un contexte radiologique (^{79}Se). De plus, les tentatives de reconstitution du comportement du sélénium dans un sol à partir des données obtenues sur des phases pures sont inexistantes.

Selon la seconde approche, les études (réalisés sur des sols ou des sédiments) tentent de définir les associations entre le sélénium et les différentes composantes du sol principalement au moyen d'extractants chimiques. Ces études envisagent paradoxalement la MO comme une phase porteuse importante du sélénium (basé sur des extractions chimiques au NaOH, $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ et NaOCl) et considèrent plus ou moins les phases minérales dans leur approche. Cependant, peu de travaux ont été consacrés à l'étude des effets de l'évolution du sol, consécutif à la transformation de la MO qu'il contient, sur le devenir des polluants en général et du sélénium en particulier (Hesterberg 1998; Martinez *et al.* 2003).

Pour modéliser le comportement des radionucléides dans les sols, la plupart des modèles opérationnels reposent sur des équations mathématiques simples basées sur l'utilisation d'un coefficient de partage solide/solution (K_d) pour définir la mobilité du radionucléide en question. L'utilisation de ce coefficient de partage sous-entend, par définition, l'hypothèse d'un équilibre de sorption/désorption linéaire, instantané et réversible. Les valeurs de K_d par défaut utilisées pour le sélénium sont principalement basées sur les études de sorption. Ces valeurs sont généralement faibles (K_d compris entre 1 et 50 L.kg⁻¹, Roussel-Debet and Colle (2005)) suggérant que le sélénium est un élément mobile. Cependant, les quelques études qui se sont intéressées à la désorption du sélénium ont montré une quasi-irréversibilité de la sorption, induisant une faible mobilité du sélénium. La migration du sélénium vers les horizons sous-jacents peut ainsi être surestimée, conduisant à une sous-estimation des temps moyens de résidence du sélénium dans la couche de sol.

Une meilleure estimation des temps moyens de résidence est nécessaire pour une meilleure approche de l'évaluation du risque. Dans ce but, nous avons choisi (i) de développer une méthodologie pluridisciplinaire capable à la fois de suivre les associations du sélénium avec les différentes phases minérales, organiques et microbiologiques du sol ainsi que la résultante macroscopique en terme de mobilité (passage du polluant vers les phases liquide et gazeuse) ; (ii) de travailler à l'échelle des ultra-traces (grâce à l'utilisation d'un radio-traceur ⁷⁵Se) ; (iii) de préciser l'existence et la nature des liens entre la MO et le sélénium et (iv) de suivre l'évolution temporelle de ces liens en fonction de la dégradation quantitative (minéralisation) et qualitative (humification et assimilation bactérienne) de la MO du sol.

Chap. II : Matériels et méthodes

1. Préambule

Un sujet de confusion assez fréquent dans les études concernant les sols provient du terme sol lui-même. En effet, les études effectuées au laboratoire ne concernent pas le sol, mais seulement un échantillon de ce dernier. Un ou plusieurs horizons d'un sol sont généralement tamisés pour obtenir une certaine homogénéité. Ensuite, une extrapolation / généralisation des résultats obtenus est effectuée pour conclure à un résultat sur les sols. C'est pourquoi nous préférons, dans la suite du manuscrit utiliser le terme lot de terre pour nommer nos échantillons qui représentent une fraction remaniée de sol, et le terme "sol" avec des guillemets pour compléter le nom de certaines analyses classiquement utilisées en science du sol.

2. Outils pour l'étude du vieillissement du "sol"

2.1. Substrats de l'étude

2.1.1. Origine, choix et prélèvement des lots de terre

Les lots de terre prélevés à la station expérimentale de Rothamsted (UK) (www.rothamsted.bbsrc.ac.uk) représentent l'horizon Ah (0 - 18 cm) d'un sol de prairie appelée « Highfield ». Les prélèvements ont été effectués les 16 et 17 juin 2004 (environ 100 kg prélevés) à l'aide de tarières de 3 cm de diamètre ; chaque prélèvement était espacé d'au moins 20 - 25 cm du précédent afin de conserver la structure globale des parcelles toujours à l'étude. La prairie d'Highfield est divisée en plusieurs parcelles ayant subi différents traitements. Les lots de terre choisis pour l'étude possèdent la même origine minéralogique mais contiennent des teneurs et des qualités de matière organique contrastées.



Figure 12 : Localisation des parcelles où ont été effectués les prélèvements d'échantillons de sol à l'Institut de Rothamsted

Ainsi, le premier lot de terre, nommé Roth 1, a été prélevé in situ sur la parcelle A (Figure 12). Ce sol n'a pas reçu de quantité significative de MO pendant ces 45 dernières années compte tenu de son désherbage mécanique systématique ($C_{\text{orga Roth1}} = 0,99 \%$). Le second lot de terre, nommé Roth 2, a été prélevé sur une parcelle voisine (parcelle B ; Figure 12). Il s'agit d'un sol de prairie végétalisé ayant bénéficié d'un apport régulier de MO lié à son enherbage naturel pendant ces 45 dernières années ($C_{\text{orga Roth2}} = 3,90 \%$). Chaque lot de terre a été séché à l'air libre puis tamisé à 2 mm. Le troisième lot de terre utilisé pour cette étude, nommé Roth 3, est constitué du lot de terre Roth 2 artificiellement amendé avec de la matière organique fraîche. Cet amendement, constitué de $25 \text{ g.kg}^{-1}_{\text{sol sec}}$ d'herbe broyée, a été ajouté au sol 1 jour avant l'étape de contamination (cf. § 2.2). Cette herbe, composée de 35 % de ray-grass et de 65 % de pâturin des prés issue de gazon en plaque (vendu chez Vert Provence sous la référence « Sport Prestige ») a été apportée après séchage à l'étuve à 70°C pendant 48 h et broyage mécanique. La teneur en carbone organique de cet amendement est de 43,6 %. Ceci permet, outre l'augmentation de la teneur en carbone organique ($C_{\text{orga Roth3}} = 4,95 \%$), de modifier la qualité de la MO des échantillons de sol (cf. modélisation RothC § 2.3.2.5).

2.1.2. Principales caractéristiques physico-chimiques des trois lots de terre

Les caractérisations physico-chimiques des lots de terre (résumées dans le Tableau IX) ont été effectuées par le Laboratoire d'Analyses des Sols de l'INRA d'Arras. En accord avec la classification des textures minérales USDA, les lots de terre étudiés proviennent de sols limono-argileux fin. Leur composition granulométrique est relativement similaire de celle des sols agricoles français « moyens » (19 % d'argile, 47 % de limon, 29 % de sable et 2,6 % de MO) (Schwartz *et al.* 1995).

Tableau IX : Principales caractéristiques physico-chimiques des 3 lots de terre

	Roth 1	Roth 2	Roth 3
C _{orga} (g.kg ⁻¹)	9,94	39,00	49,50
N _{orga} (g.kg ⁻¹)	0,96	3,24	3,68
Rapport C/N	10,3	12,0	13,5
CaCO ₃ (g.kg ⁻¹)	< 1	< 1	< 1
pH _{eau}	5,2	5,5	5,6
pH _{KCl}	3,9	4,7	5,2
Fractions granulométriques			
< 2 µm (%)	29,1	30,7	31,8
2-20 µm (%)	26,9	24,0	23,7
20-50 µm (%)	30,5	26,9	27,8
50-200 µm (%)	8,0	12,9	11,8
200-2000 µm (%)	5,5	5,5	4,9
CEC (cmol(+).kg ⁻¹) :			
cobaltihexamine	9,9	16,8	17,1
Metson	13,0	20,3	18,9

Les résultats sont conformes à ce que l'on pouvait attendre. En effet, les trois lots de terre ont leurs principales caractéristiques physico-chimiques proches ; ils ne diffèrent que par leurs teneurs en carbone organique et certaines propriétés qui en découlent. Ainsi, la légère variation de répartition granulométrique entre les lots de terre les plus organiques (Roth 2 & Roth 3) et Roth 1 – accroissement d'environ 5 % de la fraction 50-200 µm au détriment des fractions limoneuses (2-20 µm et 20-

50 µm) – s’explique par une agrégation engendrée par la présence de matière organique (Christensen 1992). De plus, bien que la capacité d’échange cationique soit principalement fonction des argiles présentes dans les sols (quantités et types d’argiles), les teneurs en MO ont également un impact sur cette valeur. Ceci est d’autant plus vrai dans notre cas, où nous étudions des sols relativement peu argileux (environ 30 % d’argiles). Ainsi, le lot de terre Roth 1 très pauvre en MO possède une CEC largement inférieure aux 2 autres lots de terre, quelle que soit la méthode de mesure utilisée. La réactivité du lot de terre Roth 1 vis-à-vis des cations sera donc inférieure à celle des lots de terre Roth 2 et Roth 3.

Il est également important de noter l’absence de carbonate dans tous les lots de terre. En effet, ceci conditionne certaines simplifications et certains choix dans les protocoles expérimentaux (simplification du dosage de carbone organique sur les échantillons solides ; pas de prise en compte de l’équilibre calco-carbonique et de ses diverses conséquences sur le sélénium ; etc.). Le pH_{eau} acide des lots de terre est une conséquence de cette absence.

2.1.3. Principales caractéristiques minéralogiques des trois lots de terre

L’analyse de la fraction < 50 µm des échantillons de terre Roth 1 et Roth 2 par diffractométrie des rayons X (Tableau X ; analyses effectuées par le BRGM d’Orléans) a confirmé que « la différence principale entre les deux échantillons étudiés réside dans la présence d’une fraction organique dans le Roth 2 ».

Tableau X : Analyse de la fraction < 50 µm des échantillons de terre Roth 1 et Roth 2 par diffractométrie des rayons X (analyses effectuées par le BRGM d’Orléans)

Roth 1	Roth 2
Quartz moyen à abondant	Quartz moyen à abondant
Plagioclase rare	Plagioclase rare
Microcline rare	Microcline rare
Fraction argileuse moyenne :	Fraction argileuse moyenne :
- Kaolinite ~ 44 %	- Kaolinite ~ 62 %
- Micas et/ou illite ~ 30 %	- Micas et/ou illite ~ 33 %
- Chlorite ~ 26 %	- Vermiculite possible ~ 5 %
- Smectite possible en traces	

Les deux échantillons présentent une composition minéralogique similaire, avec une quinzaine d'espèces minérales identiques identifiées dans les deux échantillons. Roth 1 et Roth 2 contiennent une fraction argileuse assez proche, dont la seule différence est la présence éventuelle de vermiculite dans Roth 2 et de chlorite dans Roth 1.

2.2. Contamination des lots de terre

Une partie des lots de terre a été contaminée artificiellement avant la phase d'incubation avec une solution de sélénite (Se (IV)) dopée avec du ^{75}Se (IV). L'utilisation de ^{75}Se (IV), $t_{1/2} = 120$ jours, en tant que radio-traceur permet d'abaisser considérablement les limites de détection du sélénium et de travailler à des concentrations environnementales réalistes. La concentration en sélénium dans les lots de terre étudiés était de l'ordre de $3 \cdot 10^{-11} \text{ mol}_{\text{Se}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol sec}}$, (soit environ $2,2 \cdot 10^{-9} \text{ g}_{\text{Se}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol sec}}$ avec une activité initiale de $1,1 \cdot 10^4 \text{ Bq} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol sec}}$.

2.2.1. Solution de contamination

La solution utilisée a été obtenue à partir d'une solution d'acide sélénieux dont l'activité spécifique est de $0,4 \cdot 10^{15} \text{ Bq} \cdot \text{mol}^{-1} \text{ Se}$ (Isotope Products). Cette solution a été diluée et son pH ajusté à 6 avec du NaHCO_3 afin de se rapprocher du pH_{eau} des lots de terre. La force ionique a ensuite été fixée à $1,5 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ avec du CaCl_2 ($5 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$). La force ionique utilisée est proche (légèrement supérieure) de celle de l'eau en équilibre avec les lots de terre utilisés ; Ca^{2+} et Cl^- étant respectivement le cation et l'anion majoritaire. La concentration totale en sélénite de cette solution est de $2,2 \cdot 10^{-7} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

2.2.2. Procédure de contamination

Chaque lot de terre a été séparé en deux parties de 8 kg chacune destinées à être transférées dans une chambre d'incubation. Une partie a été contaminée en sélénium, l'autre non (témoin). La contamination des lots de terre est réalisée par le protocole suivant (Perrier *et al.* 2005) : 800 g de terre humidifiés (~ 10 % en masse d'eau) sont étalés dans un bac (épaisseur de la couche 5 mm) et saturés avec de l'eau ultrapure. Une quantité connue de solution de sélénite, décrite ci-dessus, est

ensuite déposée goutte à goutte sur toute la surface. 800 g de terre sont déposés au-dessus de cette première couche et les différentes opérations de saturation et de contamination sont répétées à l'identique. Cette opération a été réalisée avec 10 couches de terre en utilisant au total environ 1 l de solution de sélénite contenant du ^{75}Se (IV). Chaque lot de terre saturée en solution est séché à l'air libre afin de diminuer progressivement sa teneur en eau jusqu'à 11 % pour Roth 1 et 20 % pour Roth 2 et Roth 3. Les lots de terre sont enfin homogénéisés et transférés dans les chambres d'incubation.

Le même traitement a été réalisé sur les lots de terre témoins en utilisant la même procédure ; la solution dispersée possédant les mêmes caractéristiques chimiques (pH, concentrations des cations et des anions) sans le sélénium.

Ainsi, 2 séries de 3 lots de terre ont été obtenues : 1 série contaminée en sélénite (Roth 1, Roth 2, Roth 3) et 1 série témoin (Roth 1t, Roth 2t, Roth 3t). Tous ces lots de terre sont placés dans des incubateurs, dans les mêmes conditions contrôlées en température et humidité.

2.3. Modèle RothC

Le modèle RothC (Coleman and Jenkinson 1996) a été utilisé en amont de cette étude, afin de déterminer les conditions expérimentales multiples, allant du choix des sols (§ 2.2) au choix de la température d'incubation (§ 2.4.1), en passant par la faisabilité de cette étude avec pour contrainte principale la durée de la thèse.

2.3.1. Présentation générale et structure du modèle RothC

L'acronyme RothC provient de "Rothamsted Carbon", qui comme son nom l'indique est un modèle développé et paramétré à partir de sols provenant de l'institut de Rothamsted. Le modèle RothC est l'un des premiers modèles utilisés pour estimer l'évolution de la MO du sol (Glendinning and Poulton 1996; Coleman *et al.* 1997; Smith *et al.* 1997; Shirato *et al.* 2005). Relativement simple d'utilisation, ce modèle conduit à une très bonne estimation des flux de carbone organique résultant de l'évolution du sol (notamment de la dégradation de la MO du sol). Comme dans la plupart des modèles (Century ; Daisy ; Candy ; etc.) (McGill 1996), la MO du sol est décomposée en plusieurs fractions ayant chacune son propre taux de décomposition. Les fractions définies dans les modèles ne sont généralement pas

mesurables, car elles ne correspondent pas à des éléments physiquement ou chimiquement définis (Christensen 1996). Le modèle RothC génère des flux de carbone organique entre ces différentes fractions et génère un flux de carbone sortant du sol sous la forme de CO₂. La Figure 13 montre le principe de dégradation d'un apport de matière organique fraîche aboutissant principalement à une minéralisation du carbone organique, à une humification de la MO et à une production de biomasse. Les différentes fractions de la MO du sol définies dans le modèle de RothC sont :

- DPM "*Decomposable Plant Material*" ⇔ fraction de l'apport en MO facilement / rapidement dégradables ;
- RPM "*Resistant Plant Material*" ⇔ fraction de l'apport en MO dégradée plus lentement que la fraction DPM ;
- BIO ⇔ Biomasse du sol ;
- HUM ⇔ MO humifiée ;
- CO₂ ⇔ dioxyde de carbone produit = minéralisation de la MO du sol ;
- IOM "*Inert Organic Matter*" ⇔ fraction inerte de la MO du sol (non dégradables).

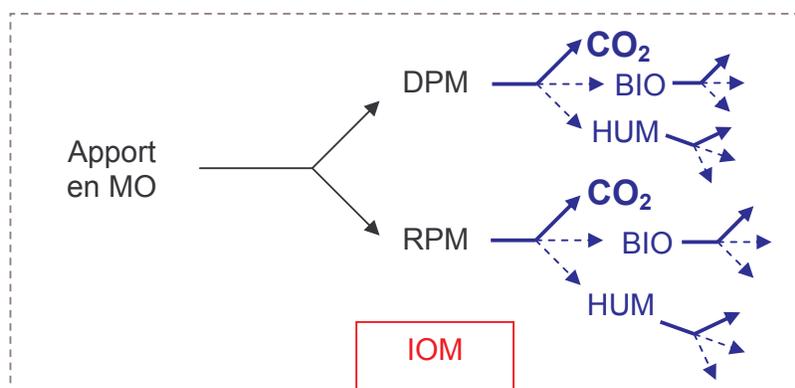


Figure 13 : Modèle de RothC représenté de façon schématique

Une description complète du fonctionnement et des paramètres du modèle RothC est disponible en annexe (Annexe IV : Modèle Roth C). La dégradation des différentes fractions de la MO est prise en compte par une cinétique du premier ordre (sauf pour la fraction IOM qui n'est pas dégradée !). Les taux de décomposition (K_i) utilisés dans le modèle sont valables pour des conditions d'humidité et de température données. Selon les conditions utilisées ces valeurs peuvent différer

grandement. Le modèle prend en compte ces données par le biais de facteurs correcteurs appliqués aux taux de décomposition.

2.3.2. Modélisation de l'évolution de chaque compartiment de la MO du sol pour les 3 lots de terre étudiés

2.3.2.1. Matière Organique Inerte

La quantité de matière organique inerte (IOM) a été estimée à l'aide de l'équation de Falloon *et al.* (1998) avec la quantité de carbone organique totale du lot de terre Roth 2. En effet, tous les lots de terre utilisés pour cette étude sont issus du même sol de prairie à l'échelle de temps de la IOM (plusieurs dizaines de milliers d'années). D'où,

$$\text{IOM} = 0,049 \times (39\,000 \text{ ppm})^{1,139} = 8\,307 \text{ ppm} \quad (\text{Falloon } et \text{ al. } 1998)$$

2.3.2.2. Apport de MO pour le lot de terre Roth 3 : répartition DPM et RPM

Le ratio DPM / RPM utilisé pour définir l'apport d'herbe dans le modèle RothC est égal à 1,44 (Coleman and Jenkinson 1996; Ponce-Hernandez 2002) (valeur classique, pour les prairies et les sols agricoles).

2.3.2.3. Répartition de la MO dégradée

D'après le modèle, la MO des lots de terre étudiés se décompose pour donner environ 77 % de CO₂ et 23 % de (HUM + BIO).

2.3.2.4. Taux de décomposition modifiés (K')

D'après le modèle Roth C, plus la température augmente, plus la cinétique de dégradation est importante. Ainsi, la température d'incubation a été choisie afin de faciliter une dégradation rapide de la SOM tout en préservant les microorganismes du sol. Dans les incubations des lots de terre seule la température, fixée à 28°C, augmente la cinétique de dégradation de la MO. Dans ces conditions, les taux de décomposition sont augmentés d'un facteur 4,4 (d'où, K' = 4,4 K). Par conséquent, 1 an de dégradation dans les conditions d'incubation fixées correspond à 4,4 années

en conditions naturelles en raisonnant sur un système fermé, ne bénéficiant pas d'apport de MO et n'étant pas soumis à des variations de température et d'humidité.

2.3.2.5. Modélisation de la dégradation de la matière organique pour les 3 lots de terre étudiés, dans les conditions d'incubation défini § 2.4.1

L'application du modèle RothC pour les lots de terre choisis et pour des conditions d'incubation fixées en température et humidité permet de prédire l'évolution des différentes fractions au cours du temps (Figure 14).

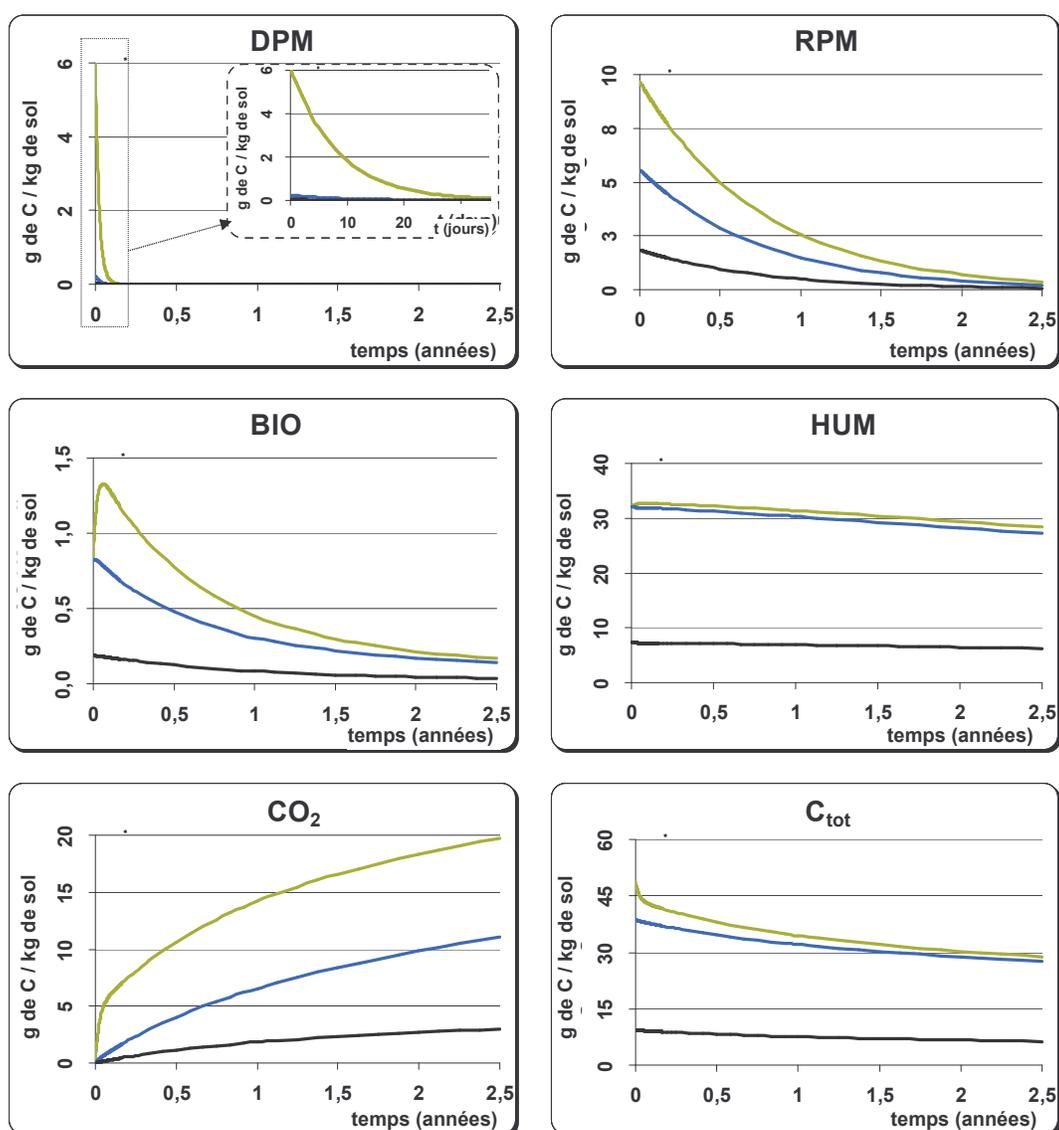


Figure 14 : Modélisation de la dégradation de la matière organique pour les 3 lots de terre étudiés Roth 1, Roth 2 et Roth 3, respectivement en noir, bleu et vert.

D'après les courbes 2,5 ans permettent de balayer un large spectre d'état de dégradation de la MO :

- La Fraction DPM disparaît en quelques mois et n'est présente initialement que pour Roth 3
- La Fraction RPM est totalement dégradée en 2 ans environ, pour les trois lots de terre
- La Fraction HUM est partiellement décomposée avec plus de 15 % de perte sur 2,5 ans.

La modélisation a notamment permis de déterminer la fréquence théorique des prélèvements à effectuer conformément aux cinétiques d'évolution simulées ($t = 0$; 10 et 20 jours pour Roth 3 uniquement ; 1 mois ; 3 mois ; 6 mois ; 9 mois ; 12 mois ; 18 mois). Les prédictions du modèle ont également permis de dimensionner les pièges à utiliser pour suivre les flux de CO_2 générés. Cela concerne à la fois leurs concentrations, leurs volumes et leur fréquence de renouvellement.

Bien que la plupart des fractions définies dans le modèle RothC n'aient pas de possibilités de mesures physique et/ou chimique, 2 fractions peuvent cependant être estimées dans nos expériences d'incubation : le CO_2 produit lors de la minéralisation de la MO du sol et la biomasse totale du sol. Ces grandeurs déterminées expérimentalement (quantité de CO_2 produit par piégeage et évolution de la biomasse totale), ainsi que le suivi de la teneur en carbone organique des lots de terre, seront confrontés avec les résultats de la modélisation afin de vérifier sa pertinence.

2.4. Incubation des lots de terre

6 jours après la contamination, les lots de terre sont mis à incuber à 28°C dans une atmosphère saturée en humidité. Ce délai entre la contamination et l'incubation des sols correspond à une mise en équilibre du système notamment au niveau de la teneur en eau des échantillons de sol (= temps nécessaire au séchage des lots de terre jusqu'à obtention de la teneur en eau désirée, cf. § 2.2.2)

2.4.1. Dispositif expérimental d'incubation

Les chambres d'incubation (Figure 15) sont placées dans des enceintes opaques régulées en température ($28,0 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$). L'humidité des lots de terre est maintenue constante dans ces dispositifs. Un flux d'air ($40 \pm 1 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$), saturé en vapeur d'eau, est injecté en continu dans la chambre d'incubation afin d'en renouveler l'atmosphère et de maintenir un niveau d'oxygène constant. Dans ce but, un ventilateur permet d'homogénéiser l'atmosphère de la chambre d'incubation. Grâce à ce flux, les espèces volatiles (CO_2 et Se) produites au sein de la chambre d'incubation sont véhiculées hors de la boîte et piégées quantitativement en sortie du système. L'ensemble des données de régulation des chambres d'incubation (débits d'air de chaque chambre, températures des enceintes) est mesuré et sauvegardé sur ordinateur en continu. Au cours du temps, les chambres d'incubation sont ouvertes et une fraction des lots de terre incubés est prélevée afin de contrôler certaines variables du système et de réaliser l'ensemble des expériences (cf. § 3 et 4).

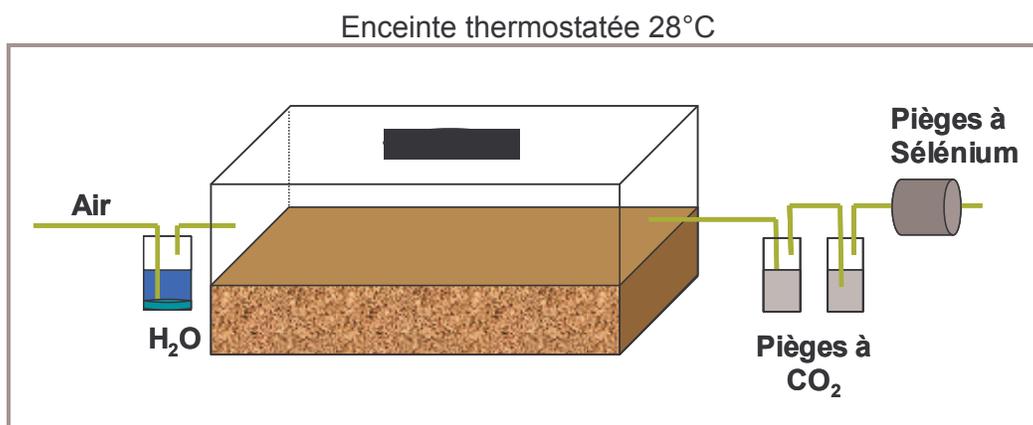
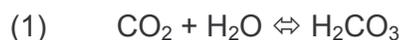


Figure 15 : Schéma du dispositif d'incubation

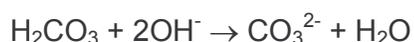
2.4.2. Piégeage du CO_2 produit

Le CO_2 produit lors de la minéralisation de la MO du sol est piégé par barbotage de l'air en sortie de chambre d'incubation dans deux flacons laveurs reliés en série et contenant 250 mL de soude concentrée ($\text{NaOH } 1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$). Les pièges sont dimensionnés en faisant varier le temps de piégeage selon les quantités de CO_2 produites par la minéralisation de la MO du sol. Les expériences réalisées lors de l'optimisation des conditions de piégeages (Annexe V : Piégeage du CO_2 produit)

indiquent que les changements de pièges doivent s'effectuer lorsque 60 ± 30 mmol de CO_2 sont volatilisées (prédits par Roth C). L'utilisation de NaOH 1 mol.L^{-1} permet, en se plaçant en large excès d'ions OH^- , d'augmenter la cinétique de passage de la forme CO_2 à la forme H_2CO_3 (équilibre (1)) par le déplacement des équilibres (2) & (3).



Le piégeage du CO_2 est réalisé de telle façon qu'à la fin du piégeage la consommation de soude soit largement inférieure à 90 % (généralement de l'ordre de 50 %). Ainsi, la concentration en OH^- est toujours largement supérieure à $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ et, étant en milieu fortement basique, la réaction de piégeage est totale et rapide :



Les espèces présentes dans ces pièges se résument donc simplement aux ions hydroxydes OH^- (accompagnés du contre-ion Na^+) et aux ions carbonates CO_3^{2-} (car les espèces HCO_3^- & H_2CO_3 sont négligeable dans ces conditions de pH).

2.4.3. Piégeage du sélénium volatil

Les espèces volatiles du sélénium sont concentrées sur des pièges à charbons actifs (Karlson and Frankenberger 1988a), positionnés en sortie des chambres d'incubation, après les pièges à CO_2 .

Les quantités de sélénium volatilisées cumulées sur 1 semaine sont déterminées par analyse directe des pièges par spectrométrie γ . Cependant, aucun changement de pièges n'a eut lieu pendant le premier mois d'incubation. En effet, initialement la période de changement de ces pièges était prévue sur une base mensuelle et cette période a été révisée.

2.4.4. Teneur en eau

Les déterminations de teneur en eau des lots de terre sont effectuées régulièrement tout au long de l'incubation, afin de vérifier l'humidité et lors des

campagnes de prélèvement pour permettre de rapporter l'ensemble des résultats en masse de "sol" sec.

Les récipients en verre utilisés sont préalablement pesés à vide (m_0). Quelques grammes d'échantillons de terre (environ 5 g) sont introduits dans ces récipients et sont de nouveau pesés (m_{0+sol}). Finalement, une dernière pesée ($m_{0+sol sec}$) est effectuée après séchage à l'étuve à 105°C pendant 48 h. La teneur en eau massique (ω) est déterminée par la formule suivante (Pansu and Gautheyrou 2003) :

$$\omega = m_{eau} / m_{sol sec} = (m_{0+sol} - m_{0+sol sec}) / (m_{0+sol sec} - m_0)$$

Les déterminations de teneur en eau sont réalisées en triplicats.

2.4.5. Calendrier de prélèvement des lots de terre incubés et analyses effectuées

Tableau XI : Calendrier des prélèvements et analyses effectuées

	T ₀	10 jours	20 jours	29 jours T _{1 mois}	87 jours T _{3 mois}	206 jours T _{7 mois}	311 jours T _{10 mois}	405 jours T _{13 mois}	525 jours T _{17 mois}
		Roth 3							
Batch	X	X	X	X	X	X			X
Colonne	X				X	X			
Extraction séquentielle	X			X	X	X			X
Fractionnement granulo-densimétrique	X	X	X	X	X	X		X	X
Biomasse par Fumigation-extraction	X	X	X	X	X	X	X	X	X
Dénombrement sur Boîte de Pétri	X	X	X	X	X	X	X	X	X
pH _{eau} / pH _{KCl} Eau équilibre avec sol	X	X	X	X	X	X	X	X	X
CEC	X			X	X	X	X	X	X
Agrégats (granulo laser)	X			X	X	X	X	X	X

3. Analyses physico-chimiques et microbiologiques

3.1. Analyses physico-chimiques des échantillons de terre et des solutions

3.1.1. Analyses des prélèvements de terre durant l'incubation

Pour permettre une étude complète de l'évolution des lots de terre durant l'incubation les principales caractéristiques physico-chimiques de chacun des échantillons ont été suivies. Ces différentes analyses ont pour but de contrôler si certains paramètres importants varient ou non au cours de l'incubation. Ces analyses sont des mesures relativement simples et rapides afin de pouvoir les réaliser sur chaque prélèvement en parallèle des autres analyses. Ces analyses sont réalisées en triplicats dans la majorité des cas (en duplicats pour les analyses les plus robustes), pour les lots de terres témoins et contaminés.

3.1.1.1. pH_{eau} / pH_{KCl}

La détermination du pH_{eau} est basée sur la norme internationale NF ISO 10390 (1994) avec un rapport m/V de 1/5. Ainsi, 3 g de terre sont introduits dans un tube à centrifuger de 50 mL en Polycarbonate et 15 mL d'eau ultra pure sont ajoutés. Le tube est ensuite agité vigoureusement (vortex), puis agité pendant 5 minutes à 300 tr.min⁻¹ (table oscillante). Le pH est mesuré après 2 heures de décantation.

La mesure du pH_{KCl} est identique au pH_{eau} en remplaçant l'eau ultra pure par du KCl à 1 mol.L⁻¹.

Les mesures de pH_{eau} et de pH_{KCl} sont réalisées en duplicats pour chaque lot de terre.

3.1.1.2. Eau en équilibre avec le "sol"

Les échantillons utilisés pour la détermination du pH_{eau} sont remis en suspension (au vortex) dès la mesure du pH terminée et agités pendant 48 h à 300 tr.min⁻¹ (table oscillante). Après centrifugation (10000 g ; 25 min) le surnageant est prélevé puis filtré à 0,2 µm (filtre seringue PES) pour être stocké avant analyses

dans des tubes en plastique téflonné à 4°C. L'ensemble des analyses décrit dans le paragraphe suivant (§ 3.1.2) est effectué sur ces échantillons.

3.1.1.3. Capacité d'échange cationique (CEC)

Le suivi de cette variable peut permettre de suivre l'évolution du sol. La détermination de cette variable par les méthodes classiques (Acétate d'ammonium ou Cobaltihexamine) demande du temps. C'est pourquoi une technique de détermination de cette grandeur par le complexe de triéthylènetétramine de cuivre (II) a été développée (Meier and Kahr 1999). Cette méthode présente l'avantage d'être très rapide (moins de 2 h), simple, peu coûteuse (dosage par photométrie) et fiable (erreur inférieure à 8 %).

3.1.1.4. Stabilité des agrégats

L'évolution temporelle de la stabilité des agrégats du "sol" est suivie au cours de l'expérience en relation avec la transformation de la MO du sol (North 1976). Cette analyse est réalisée en suivant directement la désagrégation du "sol" dans une cuve à ultrasons (Malvern DIF 20-12) par granulométrie laser (Malvern MasterSizer S). La technique a été développée en s'inspirant de différents travaux ((Edwards and Bremner 1967; Pritchard 1974; Gregorich *et al.* 1988).

3.1.1.5. Carbone organique et azote des échantillons solides

Les mesures de carbone organique et d'azote ont été effectuées par deux méthodes. La majeure partie des échantillons ont été analysés par un analyseur élémentaire afin d'avoir également une détermination de l'azote total. Dans ce cas les analyses ont été réalisées au laboratoire Arago de Banyuls (analyseur élémentaire PE 2400 CHN). Certaines analyses complémentaires ponctuelles ont été réalisées au laboratoire à l'aide d'un COT-mètre disposant d'un module solide (Shimadzu, TOC 5000 A).

3.1.2. Analyses des échantillons liquides

3.1.2.1. pH

Les mesures de pH des solutions ont été réalisées avec un pH-mètre Inolab 1 (WTW), équipé d'une micro-électrode à gel (Mettler Toledo).

Les calibrations ont été effectuées quotidiennement entre pH 4 et pH 7.

3.1.2.2. Carbone organique

Le dosage du carbone organique et inorganique en solution a été réalisé avec un COT-mètre Shimadzu TOC 5000A équipé d'un catalyseur à haute sensibilité, permettant d'effectuer des mesures dans une large gamme de concentrations en carbone allant de 0,2 à 3000 mg.L⁻¹. La mesure du carbone total (TC) consiste en une analyse du CO₂ (détecteur infrarouge) formé par combustion de l'échantillon dans un four chauffé à 680°C. La mesure du carbone inorganique (IC) repose sur une acidification de l'échantillon par ajout d'acide phosphorique à 25 %. L'acide phosphorique entraîne le passage des formes carbonatés solubles (HCO₃⁻/CO₃²⁻) en CO₂. Le carbone organique total de l'échantillon (TOC) est obtenu par différence entre le carbone total et le carbone inorganique (TOC = TC – IC).

3.1.2.3. Cations et anions majeurs / molécules organiques de faible poids moléculaire

Le dosage des cations (Fe²⁺ et ³⁺, Al³⁺, Mn²⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, K⁺, Na⁺) est effectué par un spectromètre d'émission atomique avec une source plasma à couplage inductif (ICP-AES ; PERKIN ELMER Optima 4300 DV). Le dosage consiste à exciter les éléments à l'aide d'une torche plasma atteignant la température de 8000°K. La mesure se décompose en plusieurs étapes. L'échantillon introduit sous forme liquide (dans 2% HNO₃), est transformé en aérosol par nébulisation pneumatique. Ensuite l'aérosol est transporté dans le plasma d'argon où les éléments sont atomisés et ionisés. Le retour à un état d'énergie stable s'accompagne de l'émission de radiations à des longueurs d'ondes caractéristiques de chaque élément. Ces rayonnements sont dispersés par un monochromateur puis analysés par un détecteur photométrique.

Les anions majeurs (Cl^- , SO_4^{2-} , NO_3^- , NO_2^- , PO_4^{3-}) et les acides de faible poids moléculaire (citrate, malate, gluconate, acétate, formate, oxalate, ...) sont analysés par chromatographie ionique à gradient d'éluion (DIONEX DX-120) équipée d'une colonne Ionpac AS-14. La chromatographie ionique liquide (ILC) repose sur un échange d'ions présents entre l'échantillon et la résine des colonnes. L'interaction des anions et de la colonne est plus ou moins forte selon l'ion considéré et il est donc plus ou moins rapidement retrouvé en sortie de colonne. La détection des anions en sortie de colonne s'effectue par conductimétrie. La quantification des différents anions est calculée par le logiciel Chroméléon à partir des surfaces de pic du chromatogramme en se référant à des étalonnages fréquents.

3.1.2.4. Spectre d'absorbance UV-visible et de fluorescence 3D

Les analyses d'absorbance UV-visible et de fluorescence 3D ont été réalisées afin d'évaluer les modifications qualitative de la MO qui peuvent éventuellement intervenir au cours de l'incubation des lots de terre.

L'acquisition de spectres d'absorbance UV-Visible (200-700 nm avec un pas de 1 nm) des solutions ont été réalisée grâce à un lecteur microplaque (Molecular Device Gemini spectramax plus). Les solutions ont été analysées avant et après dilution dans du NaHCO_3 0,05 M (pH 8, $C_{\text{org}} < 20 \text{ mg.L}^{-1}$). L'absorbance permet entre autre de caractériser l'aromaticité des molécules organiques, notamment par le rapport entre les intensités d'absorbance mesurées à 465 et 665 nm (rapport E4/E6).

La spectroscopie de fluorescence (Senesi 1990) est fréquemment utilisée pour caractériser les substances humiques (Acides Humiques & Acides Fulviques) ainsi que la matière organique dissoute. L'acquisition de spectres de fluorescence en 3 dimensions se décompose en une acquisition du spectre d'émission pour une longueur d'onde d'excitation donnée, puis d'un nouveau spectre d'émission pour une nouvelle longueur d'onde d'excitation fixe, etc., jusqu'à ce que le balayage des longueurs d'onde d'excitation souhaitées soit réalisé.

Ces analyses de spectrophotométrie de fluorescence 3D ont été transposées et mises au point sur un spectrophotomètre à fluorescence équipé d'un lecteur de microplaques (Molecular Device Gemini XS); ce qui permet de bénéficier des avantages du lecteur de microplaque, à savoir la lecture de 96 puits. Les échantillons

sont excités de 250 à 526 nm (λ_{Ex}) et les spectres d'émissions (λ_{Em}) correspondant sont enregistrés entre 274 et 850 nm. Un pas de 12 nm a été choisi pour l'excitation et l'émission en rapport avec les travaux de (Marhaba *et al.* 2000).

Les résultats ainsi obtenus correspondent en quelque sorte à la « signature » de la matière organique présente dans l'échantillon (comparable à une empreinte digitale de la MO).

3.2. Analyses microbiologiques

Les microorganismes ont potentiellement un rôle important dans notre étude ; à la fois vis-à-vis du vieillissement du "sol" par la dégradation de la MO du sol, mais également de par leurs interactions diverses avec le sélénium. Il est donc important de caractériser cette composante du "sol".

3.2.1. Microflore

La microflore hétérotrophe aérobie du "sol" est évaluée par culture et dénombrement sur boîtes de Pétri. Cette technique permet d'appréhender les quantités de bactéries d'un échantillon de sol avec deux biais principaux : (i) seules les bactéries cultivables sur le milieu de culture sélectionné sont accessibles, (ii) la proportion des bactéries du sol dénombrée reste relativement faible quelques soit les conditions expérimentales (de l'ordre de 1 % des bactéries totales).

Une suspension de "sol" est obtenue en broyant 10 g de terre dans 50 mL d'eau ultrapure pendant 1 minute 30 au Waring Blender. Des dilutions de cette suspension sont effectuées en cascades au $1/10^{\text{ème}}$ avec une solution stérile de KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. 50 μL des dilutions d'intérêt sont étalées sur des boîtes de Pétri contenant un milieu de culture gélosé non spécifique, le Tryptone Soy Agar (TSA) dilué au $1/10^{\text{ème}}$. Le milieu de culture est préparé par dissolution (en chauffant) de 4 g de Tryptone Soy Agar (Gélose Caséine – Soja) et de 13,5 g d'agar dans 1 litre d'eau ultrapure. Le TSA est dilué afin de ne pas avoir un milieu nutritif trop riche, et ainsi de mieux correspondre à la microflore du sol (Tate 1995). Le milieu de culture est stérilisé par autoclavage à 122°C pendant 20 min et les boîtes sont coulées sous une hotte à flux laminaire. Trois boîtes répliqués sontensemencées pour chaque dilution. Un blanc, 50 μL de KCl $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, est effectué pour contrôler la stérilité de

la solution utilisée. Le nombre d'Unité Formant des Colonies (UFC) est compté après 3 et 5 jours d'incubation à 28°C (conditions de température identiques à l'incubation de nos lots de terre). Seuls sont pris en compte les dénombrements compris entre 10 et 100 UFC pour le calcul final de la microflore des lots de terre (exprimé en $\text{UFC.g}^{-1}_{\text{sol}}$).

Remarques : les étapes de dilutions et d'étalement sont réalisées sous une hotte à flux laminaire (l'étalement s'effectuant avec un râteau stérile à usage unique). Lors de chaque utilisation, un test de contamination est réalisé afin de vérifier la "stérilité" de cette hotte. Trois boîtes ne contenant que le milieu de culture sont ouvertes sous la hotte à flux laminaire pendant la durée de la manipulation et incubées comme les boîtesensemencées.

3.2.2. Biomasse totale

3.2.2.1. Principe général de la méthode

La détermination de la biomasse totale d'un "sol" par la méthode de fumigation-extraction (Vance *et al.* 1987b; Vance *et al.* 1987a) s'effectue en comparant la quantité de carbone extraite de ce "sol" par K_2SO_4 à $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, avec et sans fumigation préalable au chloroforme (CHCl_3 sans éthanol). Le principe de la fumigation par le chloroforme est basé sur l'hypothèse que les vapeurs de chloroforme causent la mort et la lyse des bactéries et des champignons sans affecter la fraction de MO abiotique du sol. Les microorganismes ainsi lysés relarguent leur cytoplasme et contribuent à modifier le COT de l'échantillon. Le mode opératoire utilisé dans notre étude est détaillé en annexe (Annexe VI : Biomasse totale (mode opératoire)).

3.2.2.2. Estimation de la biomasse

La biomasse (exprimée en masse de carbone par masse de "sol" sec) est calculée par la formule suivante :

$$\text{Equation 2} \quad \text{Biomasse} = E_C \div k_{EC}$$

où E_C représente la quantité de carbone organique extraite des échantillons fumigés moins celle extraite des échantillons témoins et k_{EC} la fraction extractible du carbone issue de la biomasse microbienne (après fumigation).

La constante k_{EC} utilisée est égale à 0,49 (Joergensen 1996) ; cette valeur est plus spécifique des sols de prairie que la valeur classique de 0,45 (Vance *et al.* 1987b). La détermination de la biomasse ne reste donc qu'une (bonne) approximation de la biomasse réelle (bactéries et champignons), notamment car elle nécessite l'utilisation d'une constante semi-empirique pour définir la fraction extractible du carbone microbien. Les valeurs obtenues permettent néanmoins de suivre l'évolution relative de nos échantillons dans le temps.

3.2.3. Structure des populations microbiennes par ARISA

3.2.3.1. Principe de la méthode ARISA

L'ARISA (Automated method or Ribosomal Intergenic Spacer Analysis) est une méthode d'analyse des communautés microbiennes qui permet d'estimer la diversité microbienne d'un échantillon de sol ou d'une solution. Cette technique repose sur l'existence d'une région de l'ADN présente chez toutes les bactéries, mais qui diffère de façon importante au niveau de sa taille et de sa séquence des nucléotides. L'ARISA exploite ainsi la variabilité de la longueur de l'espace intergénique entre le « petit » (16S) et le « grand » (23S) ARN ribosomique. L'amplification de cette région intergène (16S-23S) par PCR permet de recueillir des séquences d'ADN de différentes tailles en fonction des bactéries présentes dans l'échantillon de sol initial. La migration de l'amplification de PCR par électrophorèse sur un gel en polyacrilamide (= ARISA) permet une séparation des régions intergènes (16S-23S) en fonction de leur poids moléculaire (et par conséquent de leur taille). Ainsi, l'ARISA conduit à l'obtention d'un profil de bande, où chaque bande correspond en théorie à (au moins) une communauté bactérienne (Figure 16).

Le profil ARISA est une sorte « d'empreinte digitale » de l'échantillon de sol qui renseigne sur la structure des communautés microbiennes. Néanmoins, cette méthode ne permet pas d'identifier les différentes communautés bactériennes car (i)

une bande du profil ARISA peut correspondre à plusieurs espèces de bactéries et (ii) une espèce peut être représentée par plusieurs bandes (Fisher and Triplett 1999).

L'information contenue dans les profils ARISA a été synthétisée par un traitement statistique d'analyse de la composante principale (ACP), facilitant ainsi leur interprétation.

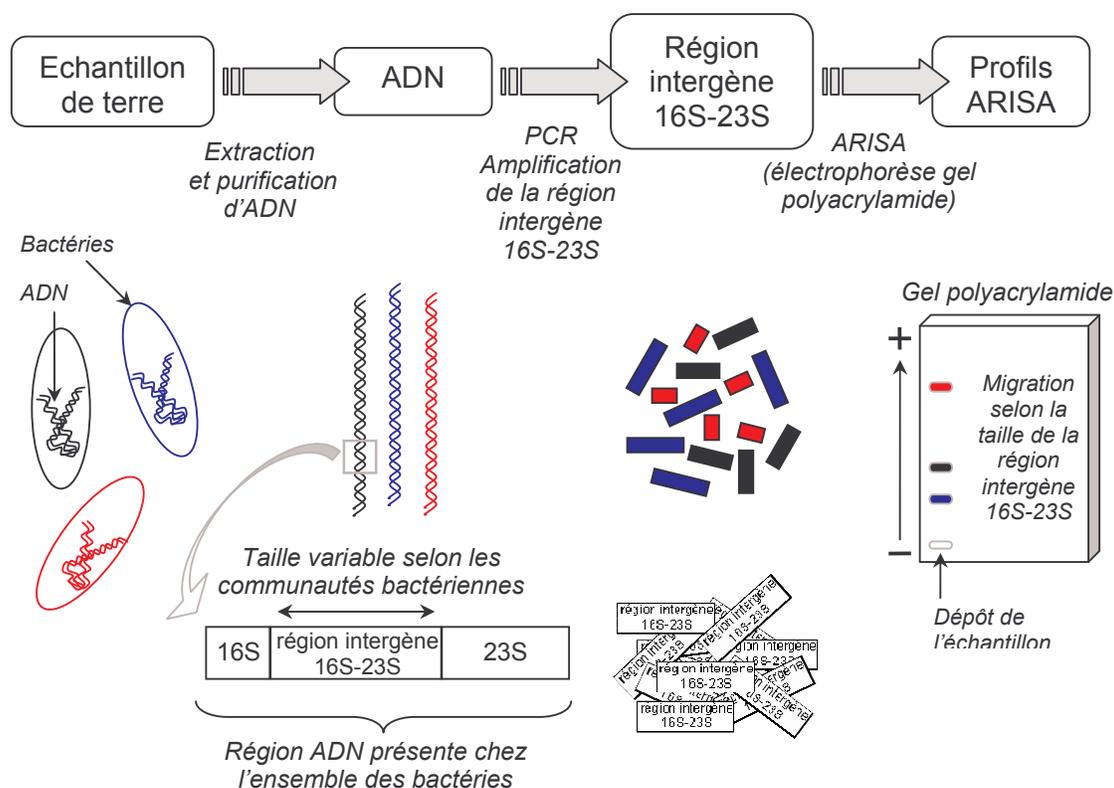


Figure 16 : Schéma du protocole de détermination de la structure des communautés microbiennes d'un échantillon de terre

3.3. Dosage du sélénium

La concentration en sélénium total dans les échantillons (Se) est déduite de la mesure de l'activité du ^{75}Se en tenant compte de l'activité spécifique ($\text{Bq} \cdot \text{mol}^{-1}_{\text{Se Tot}}$) de la solution de contamination utilisée. Nous considérons ici qu'il n'y a pas de différence de comportement entre tous les isotopes du sélénium.

3.3.1. Sélénium dans les échantillons solides

Pour les échantillons solides (culots, fractions de "sol" isolées, pièges à sélénium volatil), l'activité du ^{75}Se est déterminée par spectrométrie gamma (spectromètre γ bas bruit de fond LEMER équipé de détecteurs GeHP et couvrant une gamme d'énergie de 25 – 1900 keV). Le grand intérêt de cette méthode de dosage provient de sa faible limite de quantification qui est inférieure au Becquerel ; ce qui correspond initialement dans nos échantillons à une quantité de sélénium inférieure à $2 \cdot 10^{-13} \text{ g}_{\text{Se}} \cdot \text{g}^{-1}$

Pour les échantillons de terre et les différentes fractions isolées par fractionnement granulo-densimétrique, quelques centaines de milligrammes d'échantillons sont pesés précisément dans un tube à scintillation. Pour obtenir une géométrie de détection adaptée (la même que celle utilisée lors de l'étalonnage), une matrice poudreuse (NaHCO_3 , densité 2,16 g/mL) est ajoutée pour avoir un volume final proche de 5 mL ; l'échantillon est ensuite homogénéisé. Cette étape de conditionnement est nécessaire d'une part pour « diluer » l'activité trop forte de ces échantillons et d'autre part car certaines fractions isolées ne sont disponibles qu'en faibles quantités.

3.3.2. Sélénium dans les échantillons gazeux

Les échantillons gazeux sont piégés dans des flacons remplis avec du charbon actif de géométrie utilisée en spectrométrie γ . Les échantillons sont ensuite traités comme les autres échantillons solides (§ 3.3.1).

3.3.3. Sélénium dans les échantillons liquides

Pour les échantillons liquides, l'activité du ^{75}Se est déterminée par scintillation liquide. Une fraction de la solution à analyser (de 50 μL à 1 mL, selon les échantillons) est mélangée à un cocktail scintillant (Packard Insta-Gel) de façon à obtenir 20 mL de solution. Les échantillons sont analysés par un système de scintillation à bas bruit de fond (Wallac Quantulus).

Le temps de comptage est adapté en fonction de l'activité des échantillons (de quelques minutes à quelques heures) ; ainsi, les incertitudes associées au comptage sont de l'ordre de $\pm 2\%$ (2σ). La limite de quantification du ^{75}Se par scintillation

liquide est inférieure à 0,1 Bq. Dans nos échantillons, des quantités inférieures à $2 \cdot 10^{-14}$ g de sélénium peuvent être détectées.

3.4. Microscopie Electronique à Balayage et à Transmission (MEB et MET) couplées à la spectroscopie des rayons X par dispersion en énergie (EDX)

Ces observations microscopiques ont été réalisées sur les fractions isolées par fractionnement granulo-densimétrique et sur les échantillons de sol après sorption de sélénite.

3.4.1. Spectroscopie des rayons X par dispersion en énergie (EDX)

Par interaction des échantillons avec les électrons incidents, des photons X sont émis et l'énergie de ces photons X est caractéristique des atomes dont ils sont issus. L'analyse chimique par EDX consiste en une détection de ces photons en utilisant un détecteur solide Si-Li (diode en silicium dopé au lithium). La limite de détection des métaux d'intérêts est cependant élevée ($\approx 1\%$ des éléments présents dans la zone analysée), d'où l'utilisation de fortes concentrations en sélénium nécessaires pour visualiser cet élément par cette technique.

3.4.2. Microscopie électronique à balayage (MEB)

Les observations et analyses MEB-EDX (Hitachi S-3500 N et sonde EDX Oxford Isis) ont été réalisées sous un vide poussé. Les échantillons, préalablement métallisés au carbone, ont été visualisés sous un faisceau d'électrons d'une énergie de 15-20 kV et d'intensité de $6 \cdot 10^{-9}$ and $1 \cdot 10^{-8}$ A. L'observation MEB donne des informations sur la surface des échantillons.

Ces observations ont été effectuées sur des échantillons de sol avant incubation et sur les fractions isolées par fractionnement granulo-densimétrique après une étape de sorption de sélénite à forte concentration.

3.4.3. Microscopie électronique à transmission (MET)

Pour l'observation par microscopie électronique à transmission (Tecnai 12 G² Biotwin, FEI ; sonde EDAX SAPPHIR), les échantillons ont été inclus dans une résine. Deux protocoles de préparation des échantillons ont été utilisés afin de vérifier l'impact de l'inclusion sur les signaux de sélénium. Ainsi, une inclusion sans étape préalable, réalisée à l'aide d'une résine hydrophile (Nanoplaste) a été comparée à celle d'une résine hydrophobe (Epon, plus classiquement utilisée) qui nécessite plusieurs bains d'alcool dont l'effet sur le sélénium n'est pas bien connu. La résine Nanoplaste a permis d'augmenter légèrement la limite de détection au détriment de la qualité des images. Des coupes ultrafines ont ensuite été préparées avec un ultramicrotome (UCT, Leica), puis montées sur des grilles en cuivre. Le faisceau d'électrons d'une énergie d'une centaine de keV, se propage dans un vide poussé (10^{-8} Torr qui évite la dispersion des électrons) pour traverser les échantillons.

L'observation MET renseigne principalement sur les structures internes des échantillons. Cependant, il n'est possible d'observer que des échantillons d'épaisseur suffisamment faible pour être transparents aux électrons (de 70 à 300 nm). Ainsi, de par l'impossibilité de réalisation de coupes ultrafines pour les fractions minérales ($\text{min}_{>200 \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$), les observations MET n'ont été réalisées que pour les fractions de MOP isolées par fractionnement granulo-densimétrique, après une étape de sorption de sélénite à forte concentration.

4. Etude de la mobilité et de la partition solide du sélénium – lien avec la MO du sol

4.1. Détermination de la mobilité du sélénium

La mobilité du sélénium dans les sols est déterminée par des expériences en condition statique (« batch ») complétées par des études en système dynamique (lixiviation de colonnes de terre contaminée en sélénium).

4.1.1. Expériences en condition statique (« batch »)

Les expériences en batch permettent d'évaluer simplement la mobilité du sélénium dans un sol par la détermination d'un coefficient de partage "sol" / solution désigné K_d (exprimé en $L.kg^{-1}$). Ce coefficient est classiquement utilisé dans les calculs d'impacts sanitaires, radiologiques ou chimiques en tant que paramètre d'entrée principal des modèles opérationnels. Il s'agit généralement de modèles compartimentaux simples qui expriment la répartition du polluant étudié entre la phase solide et la phase aqueuse, en ne prenant en compte que de façon globale les différents processus gouvernant la mobilité de l'élément d'intérêt dans l'environnement.

4.1.1.1. Détermination du coefficient de partage (K_d)

Dans cette étude sont déterminés à la fois les K_d de sorption (sur les lots de terre témoins) et de désorption (sur les lots de terre contaminés et sur les témoins après sorption) du sélénium. Ils sont obtenus par la mise en contact d'une masse m d'un échantillon de terre avec un volume V de solution contenant du sélénium dans le cas des expériences de sorption et n'en contenant pas pour les expériences de désorption. Le coefficient de partage est alors calculé par le rapport des concentrations de sélénium fixé sur le solide (S) et du sélénium présent en solution à un temps donné (C_e) :

$$\text{Equation 3} \quad K_d = \frac{S}{C_e}$$

Avec S : quantité de sélénium sorbé sur l'échantillon ($\text{mol.kg}^{-1}_{\text{sol sec}}$), et C_e : concentration du sélénium en solution après 48 h de temps de contact (mol.L^{-1}).

Pour les batchs de sorption, S est calculée à partir de C_e et de la concentration initiale en sélénium (C_0) par différence : soit, $S = (C_0 - C_e) \times \frac{V}{m}$

$$\text{D'où, } K_d = \frac{(C_0 - C_e)}{C_e} \times \frac{V}{m}$$

4.1.1.2. Mode opératoire

Etant donné qu'il n'existe pas de valeur de référence standard pour le rapport m/V (= masse de solide / volume de solution) à utiliser, le rapport choisi arbitrairement est ici fixé à 1/5. Outre les habitudes de laboratoire, ce choix peut se justifier notamment par la norme internationale concernant la détermination du pH_{eau} qui fixe le ratio m/V à 1/5 ou 1/10.

Les batchs de sorption consistent à une mise en contact d'un échantillon des lots de terre témoins (sans sélénium) avec une solution contenant $6.10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$ de sélénite dopée avec du ^{75}Se (IV). La solution utilisée est obtenue à partir de la même solution d'acide sélénieux décrite au § 2.2.1. La concentration utilisée a été calculée pour avoir une concentration de sélénium sur le solide similaire à celle des lots contaminés.

Les batchs de désorption consistent à la mise en contact d'un échantillon de terre contaminée (issu soit des lots de terre contaminés, soit des lots témoins après une étape de sorption) avec une solution ne contenant pas de sélénium et dont la force ionique est fixée à $1,5.10^{-3} \text{ M}$ par du CaCl_2 (5.10^{-4} M).

Ces expériences batchs sont réalisées dans des tubes à centrifuger en polycarbonate en introduisant 3 g d'échantillon de terre et 15 mL de solution adéquate (avec ou sans sélénium). Des triplicats sont réalisés pour chaque condition. Les tubes sont agités pendant 48 h à 300 tr.min^{-1} (table oscillante). Chaque tube est ensuite centrifugé à 10000 g pendant 25 min et le surnageant est prélevé, puis filtré à $0,2 \mu\text{m}$ (polyethersulfone, PES) avant d'être stocké à 4°C dans des tubes en polyéthylène téfloné avant analyses. L'ensemble des analyses de cette solution décrites § 3.1.2 (pH, cations et anions majeurs, acides organiques de faible

poids moléculaire, TOC, Spectro UV-vis et fluorométrie), ainsi que les mesures de concentration en sélénium sont effectuées le plus rapidement possible.

Le temps de contact de 48 h utilisé ici est donc a priori nettement supérieur aux temps de contact nécessaires pour obtenir un équilibre thermodynamique (Neal *et al.* 1987a; Neal *et al.* 1987b; Dhillon and Dhillon 2000). De plus, cette durée est classiquement utilisée dans les expériences d'acquisition de K_d .

Remarque : Des blancs (= batchs sans phase solide) ont été préalablement réalisés afin de vérifier la non sorption du sélénium sur les parois du tube à centrifuger en polycarbonate.

4.1.2. Isotherme de sorption

Ces expériences batchs sont réalisées dans des tubes à centrifuger en polycarbonate de 50 mL en introduisant 3 g d'échantillon de terre et 15 mL de solution de sélénite à des concentrations variant de 10^{-8} mol.L⁻¹ à $5 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ ([Se] initiale = C_i : 10^{-8} ; 10^{-7} ; 10^{-6} ; 10^{-5} ; $5 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹) afin de couvrir une large gamme de concentrations en sélénium susceptibles d'être trouvées dans l'environnement. Ces solutions de sélénite sont réalisées dans des flacons de 250 mL en Polycarbonate par dilution d'une solution de sélénite de sodium (Na_2SeO_3) à 10^{-3} mol.L⁻¹ et la force ionique est fixée par du chlorure de calcium à $5 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹. Chaque solution est marquée avec l'isotope radioactif ⁷⁵Se. La concentration en sélénite de cette solution (⁷⁵Se + entraîneur) est prise en compte dans la réalisation des solutions à 10^{-8} et 10^{-7} mol.L⁻¹ où elle représente respectivement 55 % et 5,5 % du sélénite total. Le pH des solutions de sélénite (compris entre 5,2 et 6,0) n'est pas ajusté de par sa proximité avec le pH_{eau} des sols. Des triplicats sont réalisés pour chaque condition. Les tubes sont agités pendant 48 h à 300 tr.min⁻¹ (table oscillante). Chaque tube est ensuite centrifugé à 10000 g pendant 25 min et le surnageant est prélevé, puis filtrée à 0,2 µm (polyethersulfone, PES) avant d'être stocké à 4°C dans des tubes en polyéthylène téfloné avant analyses.

Afin d'évaluer la désorption du sélénium, les culots de terres sont ensuite mis en contact avec une solution ne contenant pas de sélénium et dont la force ionique est fixée à $1,5 \cdot 10^{-3}$ M par du CaCl_2 ($5 \cdot 10^{-4}$ mol.L⁻¹). Après remise en suspension des

culots (vortex), les tubes sont agités pendant 48 h à 300 tr.min^{-1} et les différents surnageants sont récupérés pour être analysés.

4.1.3. Influence des anions sur la remobilisation du sélénium

Le sélénite étant un oxyanion, plusieurs oxyanions ont été comparés aux ions chlorures afin de tester leur impact sur la désorption du sélénite sur les sols Roth 1 et Roth 2. Les ions testés sont les ions nitrates (NaNO_3), sulfates (Na_2SO_4), phosphates (NaH_2PO_4) et chlorures (NaCl) à des concentrations de $5 \cdot 10^{-1}$, $5 \cdot 10^{-2}$, $5 \cdot 10^{-3}$ et $5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Ces expériences sont réalisées en système batch en utilisant le même protocole que celui utilisé pour les expériences de désorption, mais sur des sols pré-contaminés.

4.1.4. Colonnes de sol

Des échantillons des lots de terre contaminés en sélénium sont utilisés pour créer des milieux poreux proches de ceux rencontrés sur le terrain. Chaque colonne de sol ainsi constituée a un diamètre de 3 cm et une hauteur de 8 cm. Les densités sèches apparentes obtenues sont comprises entre 1,1 (Roth3) et 1,4 (Roth1). Chaque colonne est progressivement saturée avec une solution de CaCl_2 $5 \cdot 10^{-4} \text{ M}$. A saturation, un flux permanent de solution est maintenu au travers du milieu poreux à l'aide d'une pompe chromatographique (vitesse de Darcy : $0,28 \text{ cm.h}^{-1}$) pendant 60 jours. Cette durée correspond à un volume de solution percolée d'environ 3 litres. La solution percolée dans la colonne est caractérisée en ligne (pH, conductivité) puis collectée par fraction. Ces collectes sont ensuite subdivisées et analysées en sélénium, cations et anions majeurs, acides organiques de faible poids moléculaire, TOC, Spectro UV-vis et spectro-fluorométrie. La somme des quantités de sélénium mesurées en sortie de colonne permet d'estimer le bilan de restitution de cet élément, qui est comparé à la quantité initialement présente dans le sol contaminé.

4.2. Extractions chimiques séquentielles

4.2.1. Principe

Les extractions séquentielles ont été et sont encore largement utilisées pour caractériser la distribution d'un élément dans la phase solide (sols et sédiments), afin de mieux appréhender sa mobilité et sa remobilisation potentielle. Le principe des extractions chimiques séquentielles est basé sur l'utilisation d'une série de réactifs (plus ou moins sélectifs) mis au contact de la phase solide les uns après les autres. Ces réactifs, généralement de plus en plus agressifs vis-à-vis du sol, sont choisis de façon à solubiliser successivement les différentes fractions minéralogiques ou organiques susceptibles de retenir des quantités importantes de l'élément trace étudié (Tessier *et al.* 1979). En pratique cette technique est très critiquable (et très critiquée), notamment à cause du manque de sélectivité des extractants et du manque d'harmonisation des centaines (voir milliers) de schéma d'extractions séquentielles utilisées par les différents auteurs (Gleyzes *et al.* 2002). C'est pourquoi l'interprétation des résultats en termes d'association à une fraction minérale ou organique visée doit être réalisée avec prudence. Les résultats doivent plutôt être appréhendés en termes d'extractabilité par le réactif utilisé, tout en ayant une connaissance la plus fine possible de l'action de cet extractant sur la phase solide. Ainsi, nous avons caractérisé les quantités de C_{org}, Fe, Al, Mn... libérés à chaque étape de l'extraction afin de déterminer la nature de la phase attaquée par les différents réactifs.

4.2.2. Schéma d'extractions séquentielles utilisé pour l'étude du sélénium

La procédure adoptée est basée sur les travaux de Zhang et Moore (1996) spécifiques au sélénium. Cette procédure est également largement inspirée et complétée aux vues des remarques et suggestions de Wright *et al.* (2003). Notamment, l'ajout d'une étape d'extraction des substances humiques du sol avec NaOH a été ajoutée. Les expériences sont réalisées en triplicats dans des tubes à centrifuger en polycarbonate de 50 mL contenant 3 g d'échantillon de terre. Les volumes de solution (ratio m/V) ainsi que les temps d'agitation sont donnés en

fonction de l'extractant dans le Tableau XII ; l'agitation et la centrifugation étant réalisées avec les mêmes vitesses que celle des batchs. Pour chaque extraction, le surnageant est prélevé et filtré à 0,2 µm après centrifugation pour être stocké à 4°C dans des flacons teflonnés avant analyses (sauf pour l'étape à NaOH où la filtration est réalisée à 0,45 µm). Puis, l'extractant suivant est ajouté au culot restant dans le tube. Le culot est ensuite remis en suspension (en alternant vortex et agitation manuelle énergique) avant d'être mis à agiter sur table oscillante.

Tableau XII : Extractants utilisés dans l'extraction séquentielle

	Extractant 1	Extractant 2	Extractant 3	Extractant 4	Extractant 5
Nom de l'extractant	CaCl₂	K₂HPO₄	NaOH*	Na₂SO₃	NaOCl**
Concentration	5.10 ⁻⁴ M	0,1 M	0,1 M	0,25 M	5% ; 90°C
Temps de contact	48 h	4 h	1 nuit (15 h)	4 h bain ultrason	30 min
Ration m/V	1/5	1/10	1/10	1/10	1/5
Fraction ciblée	Se soluble dans CaCl ₂	Se sorbé sur les phases minérales	Se lié aux substances humiques	Se élémentaire Se (0)	Se associé à la MO réfractaire

* le temps de centrifugation est d'1 heure pour cette étape ; un rinçage à l'eau ultrapure est ensuite effectué (30 min ; même ratio m/V)

** cette extraction est réalisée 2 fois

Des analyses complètes (pH, sélénium, cations et anions majeurs, acides organiques de faible poids moléculaire, TOC, Spectro UV-vis et fluorométrie) sont réalisées à chaque étape, sur l'ensemble des extraits, afin d'établir d'une part les bilans de masse sur le sélénium et le carbone extraits et d'autre part pour estimer la spécificité des réactifs utilisés vis à vis des fractions solides ciblées.

4.3. Fractionnement granulo-densimétrique

4.3.1. Principe du fractionnement-granulo-densimétrique

Le fractionnement granulo-densimétrique associe le fractionnement densimétrique au fractionnement granulométrique, dont les principales caractéristiques et intérêts ont été présentés ci-dessus. Cette séparation permet donc de séparer physiquement la MO du sol de la matrice minérale en différents

compartiments (par taille) ayant des cinétiques de dégradations différentes. Dans le cadre de l'étude de l'évolution de la MO du sol en fonction du temps, la séparation granulo-densimétrique semble particulièrement indiquée afin d'estimer la répartition et la mobilité de la MO et du sélénium dans le "sol", et surtout l'évolution de cette répartition au cours de la dégradation de la MO.

4.3.2. Mode opératoire utilisé

Le protocole utilisé est détaillé en annexe (Annexe VIII : Principe du fractionnement-granulo-densimétrique) et synthétisé dans ce paragraphe. Le protocole de fractionnement granulo-densimétrique utilisé (schématisé Figure 17) permet de séparer dans l'eau la matière organique particulaire (ou MOP = MO > 50 µm) des phases minérales du "sol" (Balesdent 1996). De façon pratique, cette technique est décomposée en trois étapes : dispersion ; tamisage humide ; décantation.

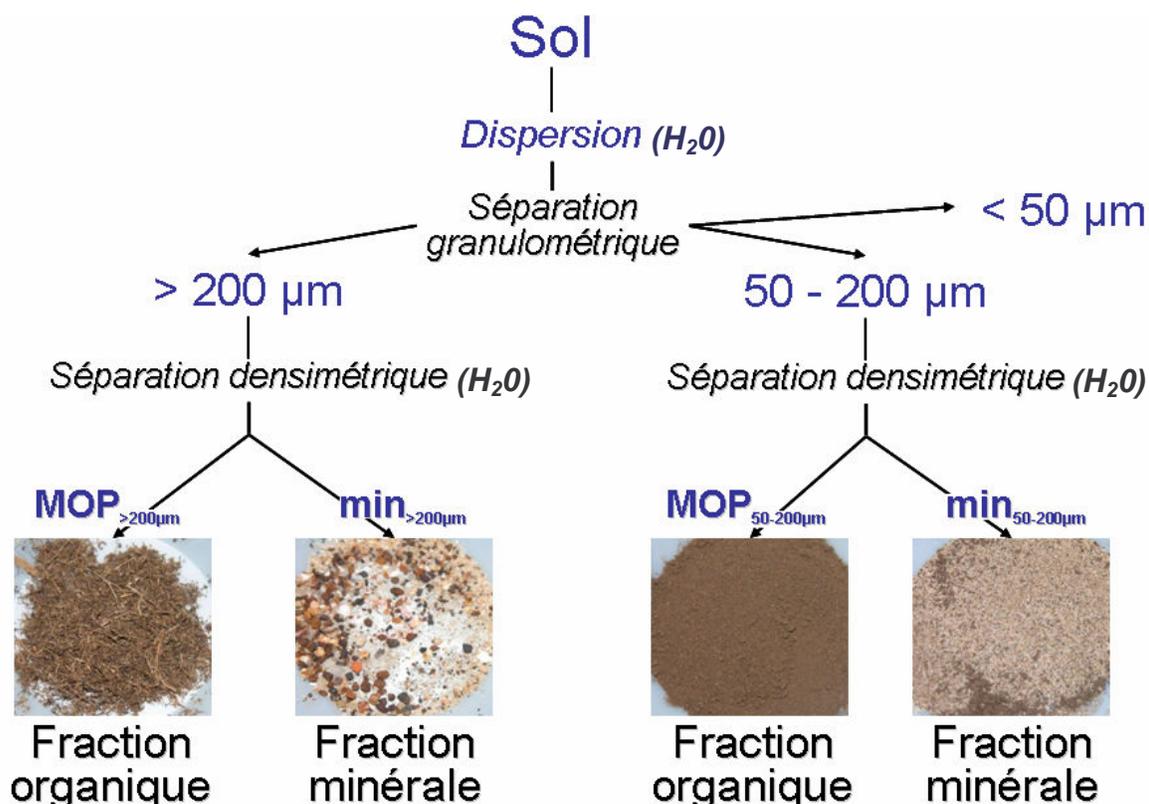


Figure 17 : Schéma du protocole de fractionnement granulo-densimétrique

4.3.2.1. Différentes fractions isolées

5 fractions sont ainsi séparées :

- $MOP_{>200\mu m}$: fraction légère, organique, supérieure à 200 μm ;
- $MOP_{50-200\mu m}$: fraction légère, organique, comprise entre 50 et 200 μm ,
- $min_{>200\mu m}$: fraction lourde, minérale, supérieure à 200 μm ,
- $min_{50-200\mu m}$: fraction lourde, minérale, comprise entre 50 et 200 μm ,
- $<50 \mu m$: fraction $< 50\mu m$

La fraction $<50 \mu m$ est une suspension de moins d'1 L qui contient l'ensemble des effluents issus des différentes étapes du protocole. La somme des fractions $MOP_{>200\mu m}$ et $MOP_{50-200\mu m}$ représente la matière organique particulaire (MOP). Chaque fraction isolée est pesée après séchage à l'étuve (48h, 70°C) afin de déterminer sa contribution massique à l'échantillon total de sol. Le couplage de cette technique à la détermination du carbone (§ 3.1.1.5) et du sélénium (§ 3.3.1) dans chacune des fractions isolées permet d'appréhender la répartition du sélénium sur ces différentes fractions et sa remobilisation éventuelle en fonction de la dégradation de la MO.

4.3.2.2. Vérification de la qualité du fractionnement

La qualité de la séparation granulo-densimétrique est appréciée par l'observation des différentes fractions isolées sous loupe binoculaire. L'analyse des teneurs en carbone organique renseignent également sur la séparation des fractions organiques. En effet, la fraction $MOP_{>200\mu m}$ doit être composée de plus de 30 % de carbone organique et la fraction $MOP_{50-200\mu m}$ de 10 à 15%. Les fractions minérales doivent avoir des teneurs en carbone organique proche de zéro.

4.4. Sorption du sélénium sur les différentes fractions isolées par fractionnement granulo-densimétrique

Ces expériences ont été réalisées afin de mieux comprendre les associations existantes entre le sélénium et les fractions organiques et minérales du sol. Les expériences «batchs» ont été réalisées en mélangeant, dans des tubes à centrifuger

en polycarbonate, une masse x de chaque fraction avec une solution de sélénite à $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Les masses de fraction et les volumes de solution utilisés pour les batchs ont été adaptés à chaque fraction isolée (notamment selon les quantités disponibles). Ces masses sont de 0,5 g pour la MOP $_{>200 \mu\text{m}}$, 1,5 g pour la MOP $_{50-200 \mu\text{m}}$ et la min $_{>200 \mu\text{m}}$ et 5 g pour la min $_{50-200 \mu\text{m}}$, la fraction $>50 \mu\text{m}$ et le sol. Ces fractions ont été mélangées à respectivement 10 mL, 7,5 mL et 25 mL de solution de sélénite. Ceci correspond à un rapport masse/volume (m/V) égal à $1/5^{\text{ème}}$ sauf pour la fraction MOP $_{>200 \mu\text{m}}$ qui est trop volumineuse (d'où la nécessité d'un rapport m/V de $1/20$). Des triplicats ont été réalisés pour chaque fraction. Les tubes ont été agités à 300 tours/min pendant 48h. Après centrifugation à 10 000 g pendant 25 min, le sélénium a été analysé par ICP-AES dans le surnageant pour déterminer les quantités sorbées.

Les mêmes expériences batchs ont également été réalisées avec une concentration plus faible en sélénite ($10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$) et sans sélénium.

5. Synthèse de la méthodologie et des protocoles utilisés

Les lots de terre ont été incubés en conditions aérées pendant 18 mois (Figure 18) à une température et une humidité constantes, optimisées afin d'accélérer la dégradation de la MO. Une moitié des lots a été incubée après contamination avec du sélénite (Se (IV) marqué avec l'isotope radioactif ^{75}Se (IV)) de façon à étudier l'évolution de cette contamination dans le temps. La deuxième moitié a été incubée sans contaminant pour servir de référence en vue de certaines caractérisations bio-physico-chimiques. En sortie des chambres, différents pièges ont permis de quantifier les flux de CO_2 (minéralisation de la MO) et les espèces volatiles du Se (formées par bio-méthylation).



28°C : Accélération de la dégradation de la MO d'un facteur 4,4 par rapport aux conditions naturelles

Figure 18 : Détails du système d'incubation (Coppin *et al.* 2006)

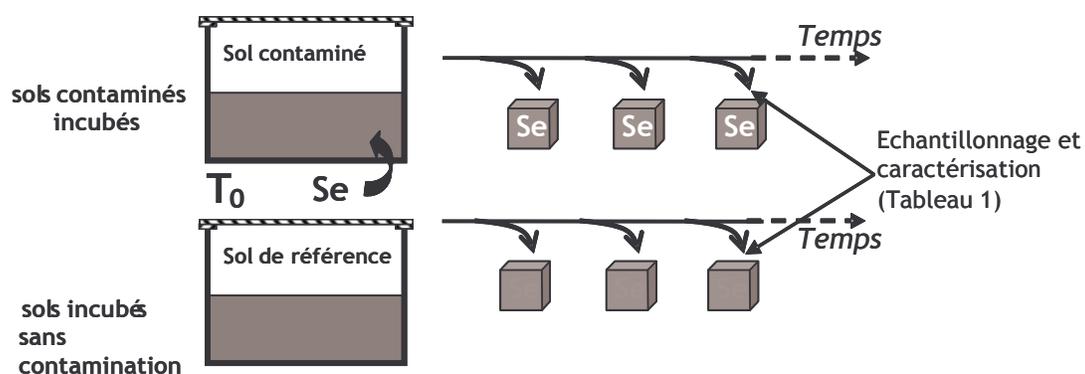


Figure 19 : Procédure de suivi des lots de terre au cours de l'incubation

Après différentes périodes d'incubation correspondant à différents stades d'évolution de la MO, les lots de terre ont été échantillonnés et caractérisés (Figure 19). L'effet du temps a été déterminé, d'une part en caractérisant la mobilité du sélénium (batch, colonnes de sol et partition solide du Se) et d'autre part, en

caractérisant les propriétés physiques (analyse granulométrique, stabilité des agrégats, etc.), chimiques (Capacité d'Echange Cationique, Carbone Organique Dissous, ions organiques et inorganiques majeurs, etc.) et microbiologiques (biomasse totale, structure des communautés bactériennes) des sols, des solutions de sol et de la matière organique. Les grandeurs mesurées au cours du temps sont rappelées dans le Tableau XIII.

Tableau XIII : Synthèse des outils utilisés pour caractériser l'impact de la dégradation de la MO du sol sur le système.

ANALYSES REALISEES	BUTS Recherchés	METHODES/NORMES/REFERENCES
Suivi de la dégradation de la matière organique		
Modélisation	Modélisation de l'évolution de la MO du sol	Roth C (Coleman and Jenkinson 1996)
Fractionnement granulo-densimétrique	Suivi de l'évolution massique des fractions de MO > 50 µm	(Balesdent et al. 1991)
CO ₂ produit lors de l'incubation	Quantification de la MO minéralisée (en lien avec Roth C)	Titration acide des pièges contenant NaOH
Solubilisation MO	Evolution de la distribution du carbone au sein des phases extraites	Extractions séquentielles (Coppin <i>et al.</i> 2006a)
Qualité MO solubilisée	Suivi de l'évolution de l'aromaticité de la matière organique dissoute	Scan 3-D de fluorescence (Sierra et al. 2005)
Evolution des propriétés physico-chimiques		
pH eau / pH KCl	Suivi de la capacité du sol à libérer/capter des protons	NF ISO 10390
Capacité d'Echange Cationique (CEC)	Impact de la dégradation de la MO sur la capacité du sol à échanger des cations	Méthode Cu-Trien (Meier and Kahr 1999)
Stabilité des agrégats	Impact de la dégradation de la MO sur la stabilité structurale du sol	Granulométrie Laser
Evolution des propriétés microbiologiques		
Biomasse	Mesure et suivi de la biomasse du sol en lien avec le modèle Roth C	Fumigation/Extraction (Vance <i>et al.</i> 1987a) Dénombrement sur boîtes de Pétri
Structure des communautés bactériennes	Suivi de l'évolution des populations bactérienne en lien avec la dégradation de la MO	Ribosomal Intergenic Spacer Amplification (RISA) (Ranjard et al. 2001)
Suivi de la mobilité du sélénium		
Sorption (Réacteur fermé)	Quantité de Se pouvant se fixer sur le sol	m/V : 1/5 ; temps de contact : 48 h.
Désorption (Réacteur fermé)	Quantité de Se remobilisable par une solution de sol	4 désorptions successives m/V : 1/5 ; temps de contact : 48 h.
Désorption (Colonnes de sol)	Quantité de Se remobilisable par une solution de sol : lixiviation sous régime hydraulique permanent	(Perrier <i>et al.</i> 2005)
Sélénium volatil	Quantité de Se volatilisé par les microorganismes lors de l'incubation	Pièges à charbon actif (Karlson and Frankenberger 1988a)
Caractérisation de la partition solide		
Fractionnement granulo-densimétrique	Répartition du Se entre les phases minérales et organiques > 50 µm	(Coppin <i>et al.</i> 2006a)
Extractions séquentielles	Evolution des phases porteuses du Se	
Analyses MEB/MET	Localisation du Se	(Chabroulet <i>et al.</i> prép. (Chap. VI))

Chap. III : Evolution des propriétés bio-physico-chimiques des lots de terre au cours de leur vieillissement

1. Etat microbiologique des lots de terre

1.1. Biomasse et dénombrement

1.1.1. Etat initial

Les quantités de biomasse initiales (T_0) étaient respectivement de $35 \mu\text{g C.g}^{-1}_{\text{sol}}$; $620 \mu\text{g C.g}^{-1}_{\text{sol}}$ et $1350 \mu\text{g C.g}^{-1}_{\text{sol}}$ pour les lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3. Les résultats de dénombrement bactériens vont dans le même sens avec $4,6.10^6$; $1,5.10^8$; $1,9.10^9 \text{ UFC.g}^{-1}_{\text{sol}}$ respectivement pour Roth 1, Roth 2 et Roth 3. Les densités bactériennes et les valeurs de biomasse obtenues pour Roth 2 et Roth 3 sont des valeurs classiquement trouvées dans la littérature (Brady 1990; Tate 1995; Tessier *et al.* 1998; Wang *et al.* 2003). Les valeurs relativement faibles obtenues pour Roth 1, sont dans la littérature pour des sols peu organiques (Tessier *et al.* 1998; Braun *et al.* 2006; Widmer *et al.* 2006), et suggèrent une faible présence de composés organiques dégradables. La biomasse a une contribution généralement estimée entre 1 et 3 % du carbone organique total du sol (Zech *et al.* 1997). Dans nos échantillons, elle représente respectivement 0,35 ; 1,59 et 2,73 % du carbone organique des lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3. L'état organique contrasté de Roth 1 et Roth 2 conduit donc à une différence très marquée de l'état biologique du sol, semblant indiquer qu'une fraction importante du carbone organique de Roth 1 n'est pas bio-disponible. La composition de la MO de ce lot de terre doit être principalement sous forme de composés stables qui sont soit résistants aux attaques microbiennes de par leur composition chimique (Zech *et al.* 1997), soit protégés par des associations avec les phases minérales (Hassink *et al.* 1993; Balesdent *et al.* 2000). Les résultats obtenus montrent également que l'augmentation de la biomasse de Roth 3 ne résulte pas seulement de l'augmentation des quantités de carbone organique provenant de l'amendement organique. Le passage de la proportion de la

biomasse de 1,59 à 2,73 % du carbone du sol, respectivement avant et après l'amendement, indique que la qualité de la MO apportée a fortement impacté l'état microbiologique de Roth 3. En effet, la présence de grandes quantités de carbone organique facilement dégradables (l'herbe apportée, (Kogel-Knabner 2002) conduit à une importante croissance des micro-organismes (Bernal *et al.* 1998).

1.1.2. Evolution temporelle

L'évolution temporelle de l'état microbiologique des lots de terre étudiés a été suivie à la fois par détermination de la biomasse totale (Figure 20) et par des dénombrements bactériens (Figure 21).

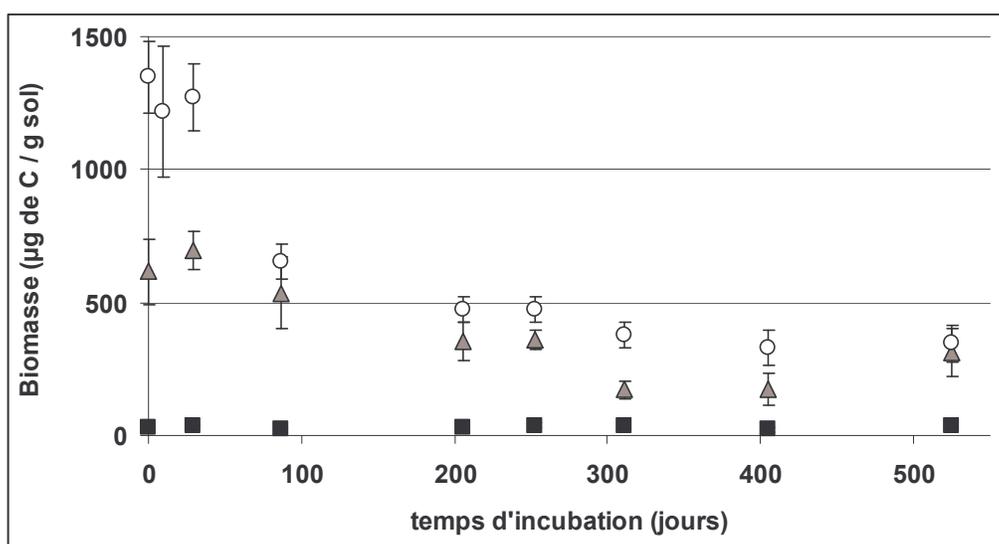


Figure 20 : Suivi de la biomasse des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) ; valeurs moyennes obtenues sur les lots témoins et contaminés en sélénium (erreur 2σ)

Ces déterminations ont été effectuées à T_0 , 29 jours, 87 jours, puis environ tous les 100 jours (soit après 206, 311, 405 et 525 jours d'incubation) afin de suivre l'évolution quantitative de la fraction biologique du sol en fonction de la dégradation de la MO. Des analyses intermédiaires à 9 et 20 jours ont été effectuées sur Roth 3 pour mieux suivre l'évolution rapide engendrée après un amendement organique (Dilly and Munch 1996; Schutter *et al.* 2001). Les résultats présentés sont les valeurs moyennes de plusieurs analyses des lots de terre témoins et contaminés en

sélénium ; l'erreur 2σ rend compte à la fois des erreurs inter-réplicas, mais également des variations éventuelles entre les lots témoins et contaminés en sélénium. Cette faible erreur sur l'ensemble des résultats obtenus montrent que la contamination n'a pas affecté quantitativement l'état microbiologique du sol, quel que soit le temps d'incubation considéré.

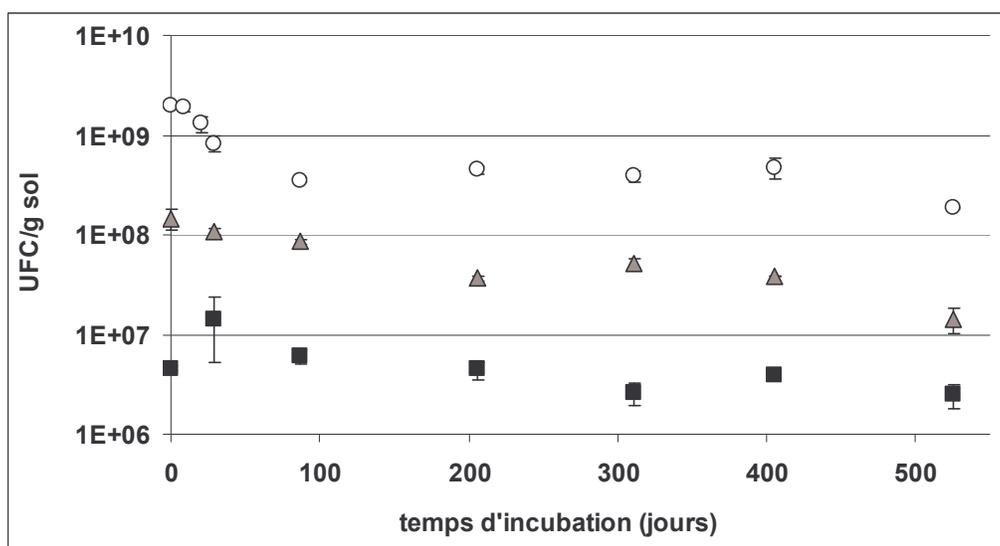


Figure 21 : Suivi de la microflore hétérotrophe aérobie des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) par dénombrement sur boîtes de Pétri ; valeurs moyennes obtenues sur les lots témoins et contaminés en sélénium (erreur 2σ)

L'évolution de l'état microbiologique des échantillons de terre au cours de l'incubation diffère selon le lot de terre en question. En effet, les quantités de microorganismes n'évoluent pas pour Roth 1, contrairement aux lots de terre organiques Roth 2 et Roth 3. De plus, les échantillons de sols organiques ne suivent pas la même cinétique d'évolution. Roth 2 voit ses quantités de biomasse diminuer de façon relativement constante au cours de l'incubation. Roth 3 montre une rapide diminution de ses quantités de microorganismes dans les premiers mois, puis après trois mois d'incubation suit une évolution similaire à celle de Roth 2. En fait, l'effet de l'amendement de MO apporté à Roth 2 (= Roth 3) est quasiment résorbé en quelques mois ; ainsi le lot de terre Roth 3 après trois mois d'incubation possède un état microbiologique similaire à Roth 2 avant l'incubation, avec une biomasse de $655 \mu\text{g C.g}^{-1}_{\text{sol}}$ et $3,5 \cdot 10^8 \text{ UFC.g}^{-1}_{\text{sol}}$. Des résultats similaires, observés sur des sols amendés avec différents débris végétaux incubés à 25°C , ont montré que les valeurs

de biomasse des sols amendés rejoignaient celles du sol non amendé entre 38 et 66 jours d'incubation (Chotte *et al.* 1998b). Dans notre étude, bien que la température d'incubation soit supérieure de 3°C, le retour plus lent du lot de terre amendé Roth 3 à un état microbiologique identique au lot de terre non amendé se justifie par un apport organique environ 10 fois plus important que celui effectué par Chotte *et al.* (1998b) (respectivement $10,5 \text{ mg}_C \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol}}$ contre $1 \text{ mg}_C \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol}}$).

1.2. Structure des communautés microbiennes des sols

1.2.1. Etat initial

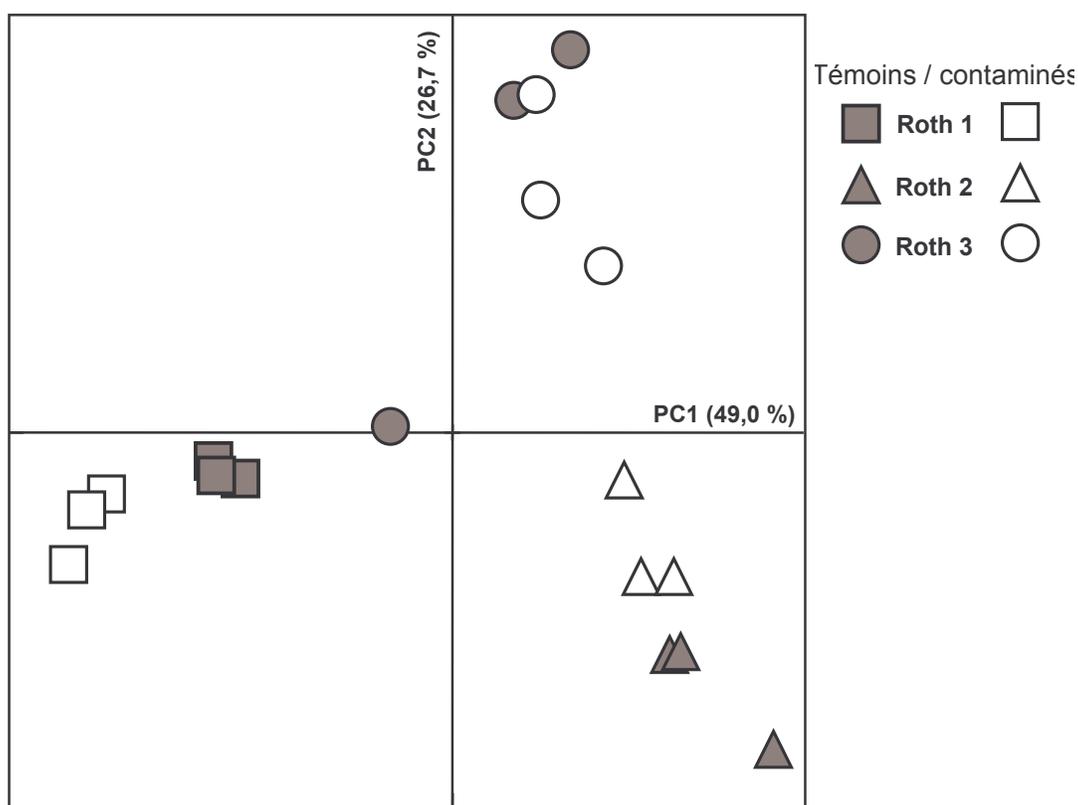


Figure 22 : Structure initiale (T_0) des communautés microbiennes des échantillons de sol Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (●); analyses des composantes principales (PC1 x PC2) des profils obtenus par ARISA pour les lots témoins et contaminés en sélénium

A T_0 , l'analyse des composantes principales (ACP) des profils ARISA montre une bonne répétabilité des analyses effectuées pour chaque échantillon (les

données des répliquas de chacun des échantillons de sol sont groupées). Les deux premières composantes principales permettent une séparation nette des données des différents lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3 (Figure 22). Ainsi, la variance des profils ARISA obtenue pour les différents lots de terre est donc plus importante que celle provenant des répliquas.

L'ACP dévoile une très bonne discrimination entre les données de Roth 1 et des lots de terre « organiques » Roth 2 et Roth 3 sur le premier axe (PC1), qui explique près de la moitié de la variance des données (49,0 %). Le sol Roth 1 provenant d'une parcelle voisine à celle du sol Roth 2, les échantillons de sol possèdent des caractéristiques physico-chimiques très proches et ont été soumises aux mêmes conditions pédoclimatiques et ne diffèrent que de par leur MO (Roth 1 dépourvu d'apport organique pendant 40 ans). Ainsi, les résultats d'ARISA indiquent que la quantité de MO du sol influe sur la structure des communautés microbiennes du sol.

Le deuxième axe (PC2) permet de séparer très nettement les échantillons de sol Roth 2 et Roth 3. Ainsi, l'amendement d'herbe effectué une semaine avant le début des expériences d'incubation a conduit à l'établissement d'une nouvelle structure des communautés microbiennes. L'herbe ayant préalablement passé 48 h à 70°C, l'apport de microorganismes exogènes au sol Roth 2 peut être considéré comme relativement limité. L'apport de MO a entraîné une augmentation importante de la biomasse (avec une valeur de biomasse de Roth 3 deux fois plus importante que pour Roth 2 ; § 1.1.1), mais il apparaît que toutes les communautés n'ont pas profité de cet apport de la même façon. Les résidus végétaux sont composés de nombreuses molécules organiques possédant des taux de décomposition variés. Les sucres, les celluloses et les hémicelluloses sont les composés les plus rapidement dégradés et sont présents en quantités importantes dans les débris végétaux (Brady 1990; Gobat *et al.* 1998; Kogel-Knabner 2002). Ainsi, de par la présence de composés facilement dégradables, l'amendement effectué sur le lot de terre Roth 3 peut stimuler certaines populations et activités microbiennes (Sollins *et al.* 1996), notamment via des compétitions entre les microorganismes (Brady 1990). Les bactéries dominantes après l'apport organique sont celles qui possèdent une affinité plus forte pour les composés organiques simples et des taux de croissance importants (Brady 1990; Robinson and Bruce 2002).

Enfin, les profils ARISA des lots témoins et contaminés ne sont pas significativement différents ; les légères différences observées (Figure 22) résultant certainement des modalités expérimentales. En effet, les échantillons des lots témoins et contaminés en sélénium provenant de mésocosmes différents, engendrent logiquement une répétabilité moins bonne que celle des triplicats effectués sur les échantillons d'un même mésocosme. Par conséquent, la faible contamination en sélénium (de $2,2 \cdot 10^{-9} \text{ g}_{\text{Se}} \cdot \text{g}_{\text{sol}}^{-1}$) n'a pas affecté significativement l'état microbiologique initial des échantillons de sol étudiés, même dans le cas du lot de terre amendée qui a pourtant subi des modifications biologiques importantes (différences Roth 2 / Roth 3).

1.2.2. Evolution temporelle des lots de terre

L'évolution temporelle de la structure des communautés microbiennes des sols et des eaux est un phénomène reporté dans la littérature, principalement pour des études sur le terrain (Fisher and Triplett 1999; Lejon *et al.* 2005; Yannarell and Triplett 2005). Les évolutions temporelles/saisonniers prennent en compte un ensemble de variables (par exemple la température, le pH, la pluviométrie, les apports organiques, etc.) dont les effets spécifiques ne sont pas déterminés de façon indépendante. Dans notre étude, seul l'effet de la dégradation de la MO est étudié, les autres grandeurs étant constantes compte tenu des conditions expérimentales retenues.

L'évolution des structures des communautés microbiennes au cours de l'incubation est présentée pour chacun des lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3 pris séparément (Figure 23 A, B et C), puis ensemble (Figure 23 D).

L'ACP des données d'ARISA obtenues pour Roth 1 (Figure 23 A) montre une variabilité inter-réplicas importante, ne permettant pas de différencier les profils ARISA au cours de l'incubation. L'ARISA étant une technique bénéficiant d'une très bonne reproductibilité (Fisher and Triplett 1999; Ranjard *et al.* 2001), les résultats obtenus suggèrent que la structure des communautés microbiennes du lot de terre Roth 1 varie peu au cours de l'incubation.

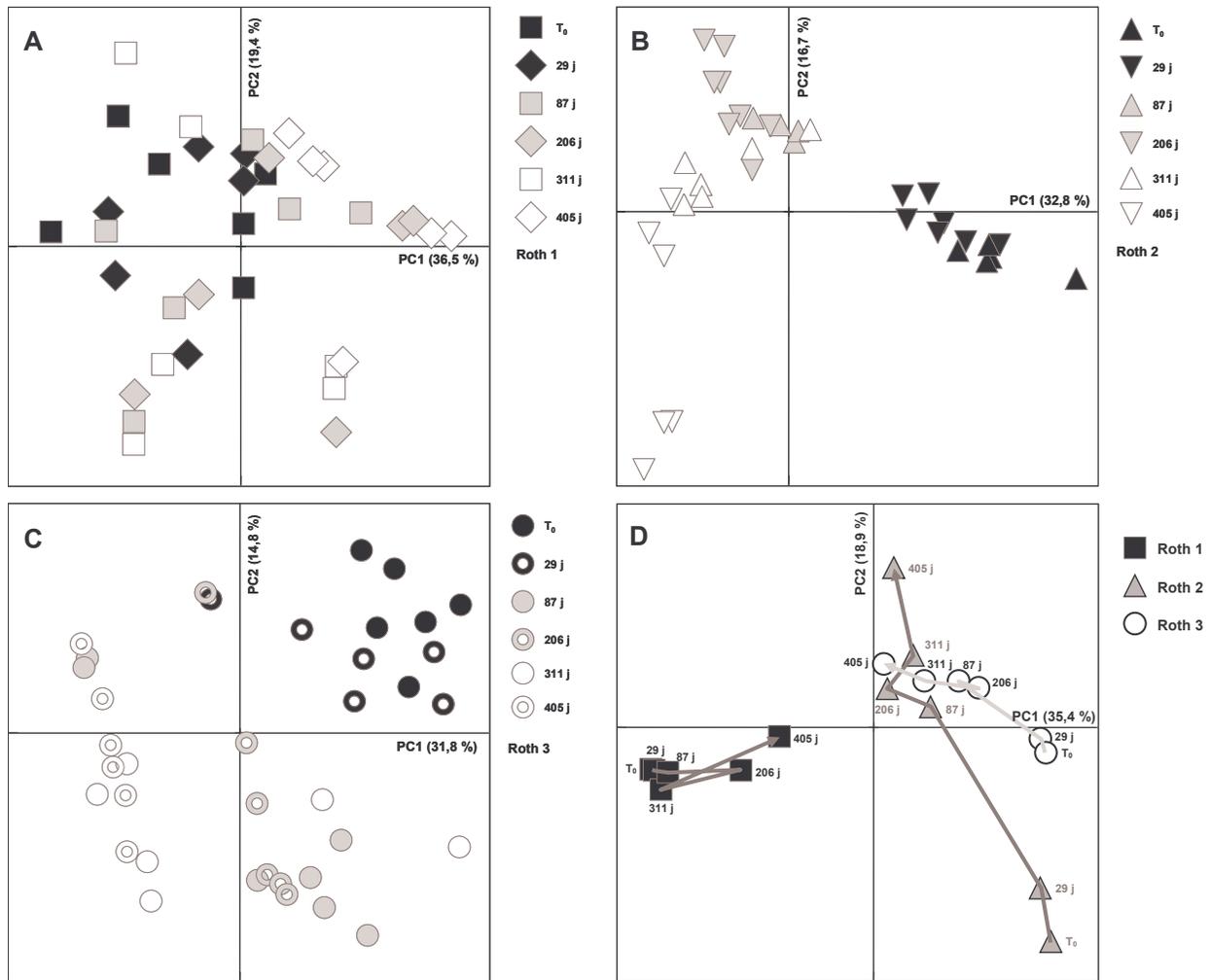


Figure 23 : Evolution des structures des communautés microbiennes au cours de l'incubation des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (O) ; analyses des composantes principales (PC1 × PC2) des profils obtenus par ARISA (pour la figure D, chaque point représente la moyenne des triplicats des lots témoins et de ceux des lots contaminés)

Concernant Roth 2 (Figure 23 B), la variance des profils d'ARISA permet une bonne discrimination des communautés bactériennes de ce lot de terre au cours du temps, principalement en fonction de l'axe PC1. En effet, la variance des répliques est très inférieure à celle engendrée par la dégradation des sols ; bien qu'il s'agisse d'échantillons indépendants, provenant de deux mésocosmes distincts (chambres d'incubation témoin et contaminés). La dégradation de la MO conduit donc aux mêmes évolutions de structures des communautés microbiennes quel que soit le mésocosme. Les modifications les plus marquées sont observées dans les trois

premiers mois d'incubation. La dégradation de la MO de Roth 2 entraîne donc une modification nette de la structure des communautés microbiennes de ce lot de terre.

L'évolution des communautés microbiennes du lot de terre amendé (Roth 3) montre en revanche une évolution plus progressive, intervenant en deux temps (Figure 23 C). Dans les trois premiers mois d'incubation, l'évolution intervient principalement selon l'axe PC2 ; puis après 87 jours d'incubation, l'évolution des profils ARISA est discriminée selon l'axe PC1 (qui représente la plus grande variance). Ainsi, les changements initiaux sont probablement associés à l'assimilation de sources de carbone facilement dégradables provenant principalement de l'apport organique. Puis, dans un second temps, la dégradation de la MO moins rapidement dégradable entraîne une évolution plus marquée similaire à celle de Roth 2.

L'analyse des composantes principales prenant en compte l'ensemble des données des profils ARISA de tous les échantillons de sol au cours de l'incubation (Figure 23 D) vise à renseigner sur l'évolution temporelle des échantillons de sol les uns par rapport aux autres. Seule la moyenne des 6 répliques (triplicats des lots témoins et contaminés en sélénium) est représentée sur ce graphique pour plus de lisibilité, car aucune différence significative n'a été observée entre les échantillons témoins et contaminés quels que soient le temps d'incubation et le lot de terre considéré. Ces résultats montrent que la structure des communautés microbiennes des lots de terre Roth 2 et Roth 3 tend à se rapprocher de celle de Roth 1 selon l'axe PC1. De plus, les communautés microbiennes des échantillons de sol Roth 2 et Roth 3 sont nettement moins discriminées après 29 à 87 jours d'incubation qu'à T_0 . Ces résultats sont confirmés par l'ACP réalisée sur les profils ARISA obtenus après 311 jours d'incubation (Figure 24). En effet, les axes PC1 et PC2 permettant de maximiser la variance (donc de séparer les profils ARISA des différents lots de terre) ne représentent plus que respectivement 33,9 et 14,0 % de la variance contre 49,0 et 26,7 % à T_0 (Figure 22). De plus, la séparation sur l'axe PC1 du lot de terre Roth 1 par rapport aux échantillons de sols organiques est beaucoup moins marquée et la discrimination de Roth 2 et Roth 3 n'est plus visible.

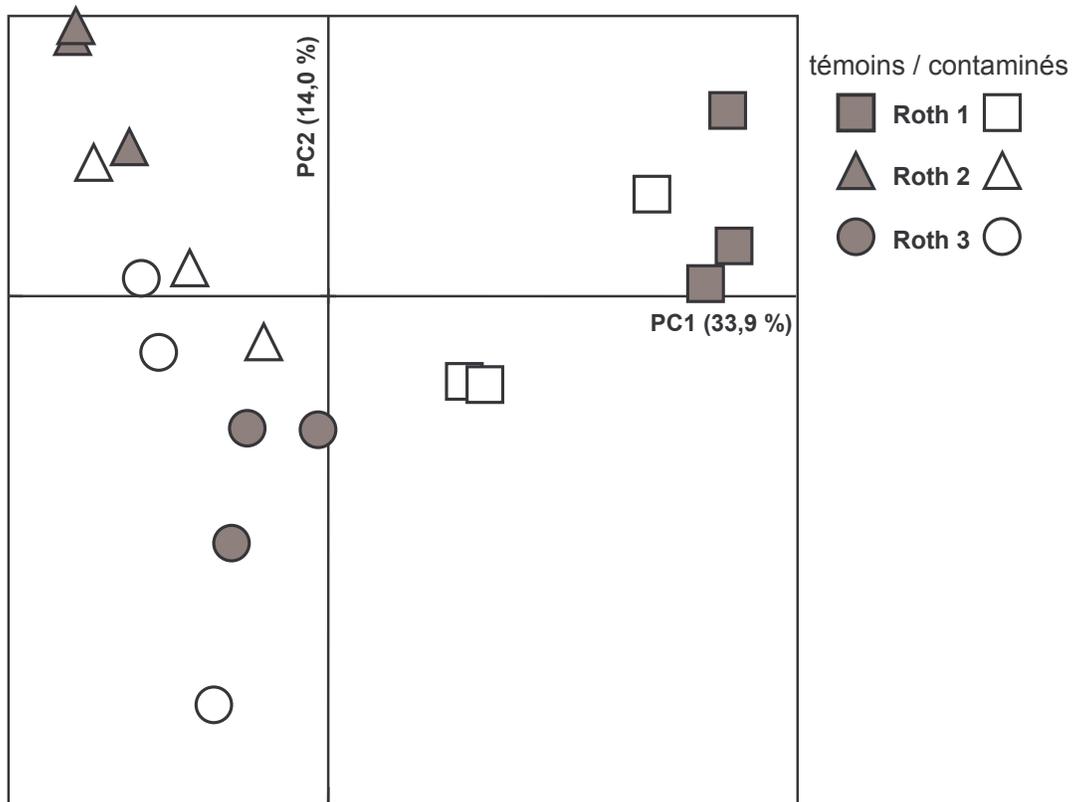


Figure 24 : Structure des communautés microbiennes des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (●) après 311 jours d'incubation à 28°C ; analyses des composantes principales (PC1 × PC2) des profils obtenus par ARISA

Ces résultats suggèrent donc que (i) la quantité et la qualité de MO du sol jouent un rôle important dans la structure de ses communautés, (ii) la modification des communautés microbiennes résultant d'un amendement organique est réversible (Roth 2 → Roth 3 → Roth 2), (iii) la présence de sélénium à faible concentration n'influe pas significativement sur les microorganismes du sol.

De plus, les conditions d'incubation des lots de terre ne semblent pas avoir d'impact direct sur les structures des communautés bactériennes des échantillons de sol. En effet, la structure des communautés bactériennes du lot de terre Roth 1 à T_0 et après plusieurs mois d'incubation a peu évolué et les échantillons de sols organiques tendent vers une évolution des structures des communautés bactériennes proche de celle de Roth 1. Ainsi, la température ne doit pas affecter directement la structure des communautés microbiennes du sol, mais indirectement en augmentant la cinétique de dégradation de la MO.

2. La matière organique des lots de terre

2.1. Minéralisation du carbone organique du sol

Les teneurs en carbone organique des lots de terre ont été suivies durant l'incubation (Figure 25) afin de rendre compte de la minéralisation de la MO des sols. De plus, les flux de production de CO₂ résultant de la minéralisation des composés organiques du sol ont été obtenus pour chacun des échantillons de sol par piégeage de l'air en sortie des chambres d'incubation (Figure 26). Les flux de minéralisation de la MO semblent assez bien corrélés à l'état organique et microbiologique des lots de terre. Ainsi, les flux journaliers obtenus pour Roth 1 sont relativement faibles comparés à ceux des échantillons des sols organiques. Ils sont de l'ordre de 0,1 mmol.g⁻¹_{sol}.j⁻¹ (soit environ 1,2 mg_C.g⁻¹_{sol}.j⁻¹) quel que soit le temps d'incubation. Ces flux (d'environ 1 ppm de carbone par jour) traduisent donc une dégradation très faible de la MO du lot de terre Roth 1 correspondant à une diminution des teneurs en carbone organique de l'ordre de 1 % par trimestre. De telles évolutions ne sont pas observables par les déterminations des teneurs en carbone organique (Figure 25), car elles sont inférieures aux erreurs analytiques. Le lot de terre Roth 1, évoluant très peu tout au long de l'incubation, peut donc être considéré comme étant à l'équilibre.

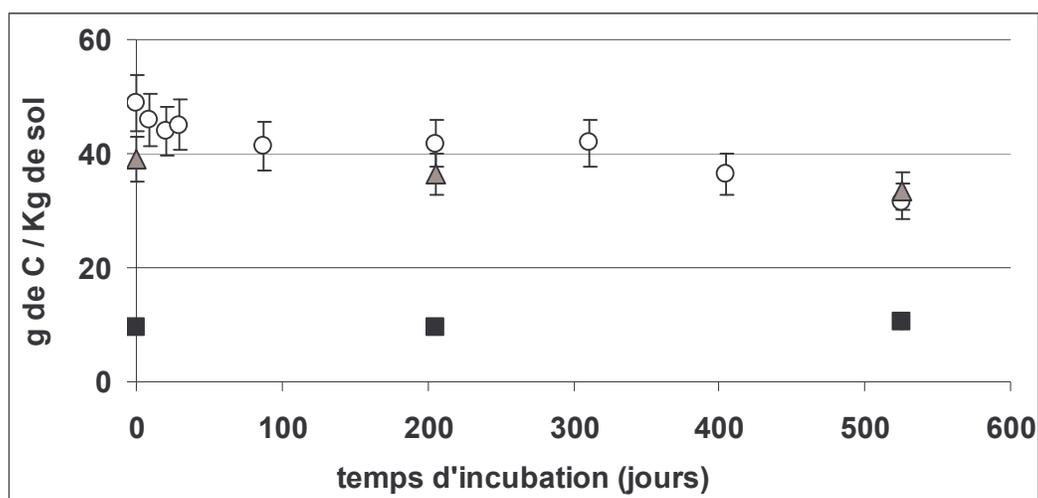


Figure 25 : Evolution des teneurs en carbone organique des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) ; détermination sur les lots témoins uniquement (erreur 10 %)

Le suivi des teneurs organiques des échantillons de sol Roth 2 et Roth 3 (Figure 25) montre une diminution de 15 et 35 % respectivement du carbone

organique du sol en 18 mois d'incubation. Concernant Roth 3, on observe une dégradation rapide de la MO liée à l'amendement organique, puis une évolution équivalente à celle de Roth 2. En effet, environ la moitié du carbone organique de Roth 3 dégradée pendant les 18 mois d'expérience a été minéralisée dans les trois premiers mois d'incubation. Roth 3, après trois mois d'incubation, possède alors une teneur en carbone équivalente à celle de Roth 2 avant incubation (= lot de terre Roth 3 sans amendement). En condition naturelle, entre 55 et 70 % du carbone des débris végétaux se trouvant dans les sols sont généralement minéralisés dans la première année (Zech *et al.* 1997). Or la température est une variable influant largement sur les cinétiques de dégradation de la MO. Ainsi, à des températures supérieures le carbone facilement dégradable est minéralisé plus rapidement (Reichstein *et al.* 2000). La rapide diminution des teneurs en carbone organique de Roth 3 est cohérente avec les modifications précédemment observées sur l'état microbiologique de ce lot de terre.

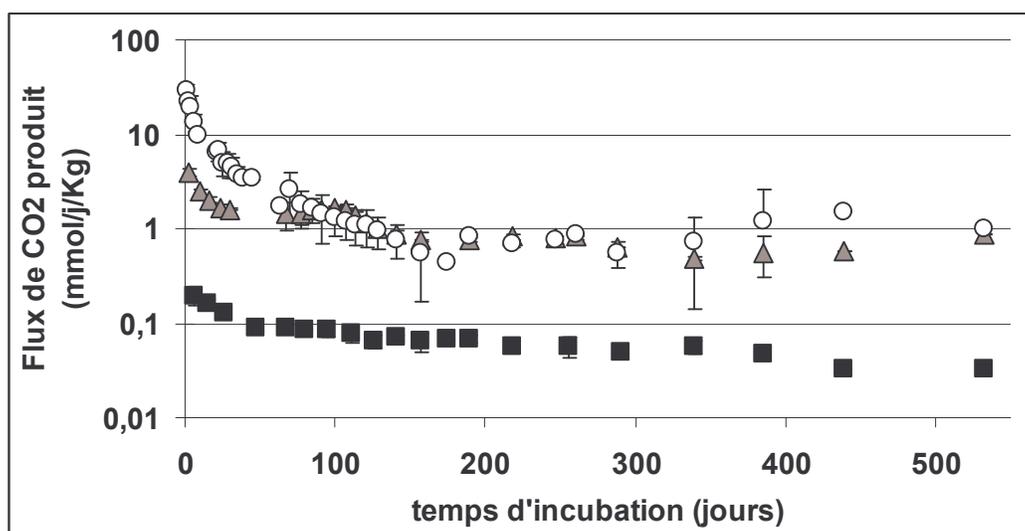


Figure 26 : Flux de production du CO₂ pendant l'incubation des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) ; moyenne des flux obtenus sur les lots témoins et contaminés en sélénium (erreur 2σ)

Les flux de production de CO₂ confirment les précédents résultats, avec une sensibilité plus importante. La minéralisation de la MO est dans un premier temps bien supérieure pour le lot de terre Roth 3 que pour le lot de terre Roth 2 avec respectivement une production de 29,51 et de 3,95 mmol C.j⁻¹.kg⁻¹_{sol} (Figure 26). Les

flux initiaux de CO₂ produits sont du même ordre de grandeur que ceux trouvés dans la littérature pour des conditions de température et de teneur en carbone organique des sols équivalents (Reichstein *et al.* 2000; Ros *et al.* 2003; Boucher *et al.* 2005). Les flux de production de CO₂ diminuent très rapidement durant le premier mois d'incubation (Figure 26). Puis, après trois mois d'incubation les productions de CO₂ de Roth 2 et Roth 3 sont relativement constantes et quasi-identiques avec environ 1 mmol C.j⁻¹.kg⁻¹_{sol}. La diminution graduelle des taux de minéralisation jusqu'à obtention d'un palier est fréquemment observée, principalement dans le cas de sols amendés et quel que soit le type d'apport organique effectué (Bernal *et al.* 1998; Chotte *et al.* 1998a; Boucher *et al.* 2005). De plus, ces études ont montré que les flux de CO₂ produits pour des sols amendés convergeaient vers les valeurs obtenues pour les sols non amendés après moins de 2 mois d'incubation (à 25 et 28°C selon les études), pour des apports organiques plus faibles que ceux effectués pour Roth 3.

Enfin, dans nos conditions expérimentales, aucun effet visible du sélénium sur les flux de production de CO₂ n'a été observé (écart non significatif entre les échantillons de sol témoins et contaminés). L'activité des microorganismes, en ce qui concerne la minéralisation de la MO, ne semble donc pas être affectée par la présence de sélénium à la concentration étudiée.

2.2. Lien entre minéralisation et microorganismes du sol

2.2.1. Normalisation des flux de CO₂ en fonction de la quantité de microorganismes

Les évolutions de l'état microbiologique des échantillons de sol étant relativement similaires à celles des flux de production de CO₂, et la minéralisation de la MO étant un phénomène biotique, les flux de CO₂ produit au cours de l'incubation ont été rapportés aux quantités de microorganismes déterminées par dénombrement sur boîtes de Pétri (Figure 27).

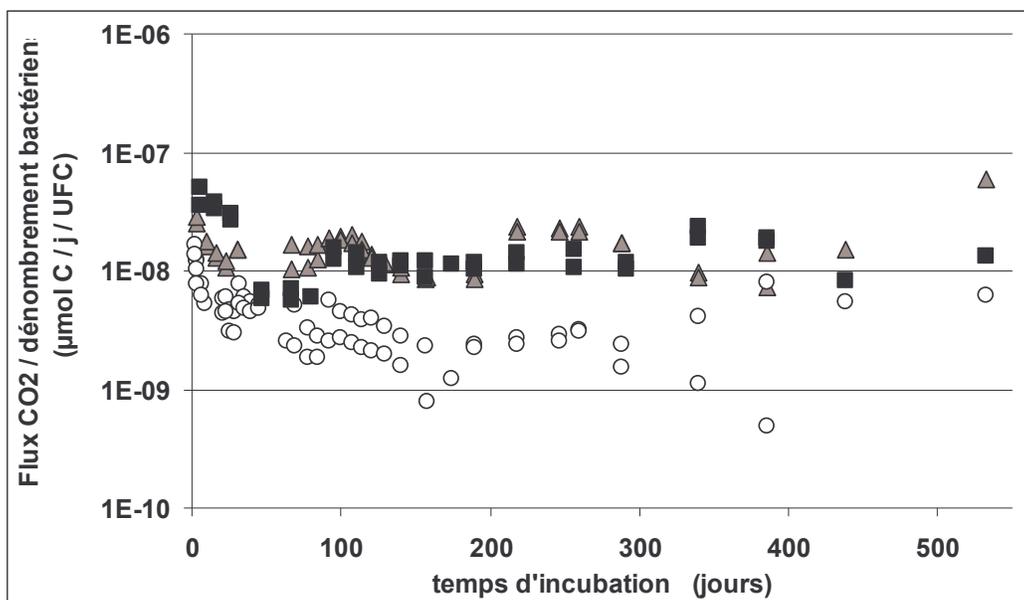


Figure 27 : Flux de CO₂ rapportés aux quantités de microorganismes déterminées par dénombrement sur boîtes de Pétri pour les échantillons de sol Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) témoins et contaminés en sélénium

Ces résultats montrent que les flux de CO₂ rapportés aux quantités de microorganismes sont du même ordre de grandeur pour tous les lots de terre. Aucune évolution significative de ce rapport dans le temps n'est également observée. Les résultats obtenus confirment donc que la quantité de microorganismes présents dans le sol est la variable principale qui influe sur les taux de minéralisation de la MO. Les flux de CO₂ produits ramenés aux quantités de microorganismes sont identiques pour Roth 1 et Roth 2, de l'ordre de $10^{-8} \mu\text{mol C.j}^{-1}.\text{UFC}^{-1}$, quel que soit le temps d'incubation. En revanche, ils sont légèrement inférieurs pour le lot de terre Roth 3. La qualité chimique de la MO du sol est connue pour influencer sur la production de CO₂ (Zech *et al.* 1997) et peut donc expliquer le rendement obtenu pour Roth 3. Cependant, il est également probable que les dénombrements bactériens du lot de terre Roth 3 aient été surestimés par rapport à ceux de Roth 1 et Roth 2, entraînant une légère sous-estimation des flux de minéralisation par microorganismes. En effet, les quantités de bactéries cultivables d'un sol (= capables de se développer sur un milieu de culture, et donc dénombrables sur boîtes de Pétri) sont de l'ordre de 0,3 % des bactéries totales (Robinson and Bruce 2002). Mais les valeurs peuvent généralement fluctuer de 0,1 à 10 % selon le sol étudié (Tate 1995). Or, la limitation de nutriment généralement rencontrée dans des environnements naturels entraîne

un état général viable mais non cultivable de la majeure partie des microorganismes (Robinson and Bruce 2002), qui sont d'autant moins cultivables que le milieu de culture est riche (Tate 1995).

2.2.2. Quotient métabolique (qCO_2)

Les flux de CO_2 rapportés à la biomasse microbienne (Figure 28), nommés quotient métabolique (qCO_2), permettent d'évaluer le rendement d'utilisation du carbone des différents composés organiques par la biomasse microbienne du sol (Saggar *et al.* 2001; Mamilov and Dilly 2002). La biomasse étant une grandeur plus sensible que les dénombrements bactériens, la détermination du quotient métabolique permet une description plus fine de l'utilisation des composés organiques du sol par les microorganismes. Ainsi, plus le qCO_2 est faible, plus le rendement métabolique est bon ; c'est-à-dire que pour une même quantité de MO dégradée les microorganismes du sol assimilent globalement plus de carbone organique au dépend de la part de carbone minéralisée (respiration) (Saggar *et al.* 2001).

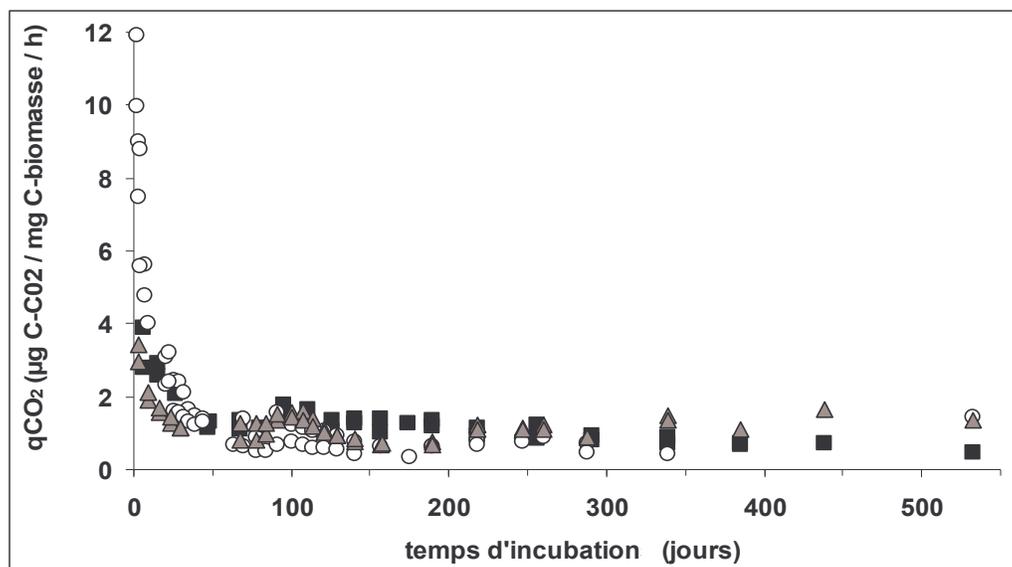


Figure 28 : Evolution du quotient métabolique microbien (qCO_2) des échantillons de sol Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) (témoins et contaminés en sélénium) au cours de l'incubation ; qCO_2 représente le rapport du flux de CO_2 exprimé en $\mu g C-CO_2 \cdot h^{-1}$ par la biomasse microbienne du sol (en mg C)

Les valeurs de qCO_2 initiales sont respectivement de $3,3 \pm 0,6$; $3,2 \pm 0,3$ et $10,9 \pm 1,0 \mu g C_{CO_2}.mg^{-1} C_{Biomasse}.h^{-1}$ pour les lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3. La composition chimique de la MO du sol dégradé par les microorganismes est un facteur influençant fortement le qCO_2 (Ross *et al.* 1996; Saggar *et al.* 2001). Ainsi, l'importance des valeurs de qCO_2 initiales et leur diminution au cours de l'incubation sont liées aux sources de carbone organique facilement dégradables (Dilly and Munch 1996). Les quantités importantes de composés organiques facilement dégradables liées à l'apport d'herbe (Kogel-Knabner 2002) expliquent la forte différence de quotient métabolique observée pour Roth 3. Cependant, les valeurs de qCO_2 initiales sont supérieures à celles généralement trouvées dans la littérature, principalement pour le lot de terre Roth 3. Ceci provient notamment du protocole de calcul du qCO_2 qui est généralement effectué sur des échantillons pré-incubés plusieurs jours, et/ou sur des flux de CO_2 moyennés sur plusieurs jours voir plusieurs semaines. D'autre part, peu d'étude se sont intéressées à des amendements organiques similaires au notre. Quelques études considérant cette première phase d'incubation d'échantillons de sol amendés ont permis d'obtenir des valeurs importantes proches de $6 \mu g C_{CO_2}.mg^{-1} C_{Biomasse}.h^{-1}$ après au moins 3 jours de conditionnement à $22^\circ C$ (Dilly and Munch 1996) et $3 \mu g C_{CO_2}.mg^{-1} C_{Biomasse}.h^{-1}$ après 7 jours d'incubation à $22^\circ C$ (Mamilov and Dilly 2002). Dans le cas du lot de terre amendé (Roth 3), le qCO_2 initial de $10,9 \pm 1,0 \mu g C_{CO_2}.mg^{-1} C_{Biomasse}.h^{-1}$ bien que très important, décroît rapidement dès les premiers jours d'incubation avec des valeurs de $8,2 \pm 0,8$; $5,2 \pm 0,4$ et $4,0 \pm 0,4 \mu g C_{CO_2}.mg^{-1} C_{Biomasse}.h^{-1}$ après respectivement 3 ; 7 et 10 jours d'incubation à $28^\circ C$. Les valeurs obtenues bien que légèrement supérieures à celles trouvées dans la littérature peuvent s'expliquer par une température d'incubation plus importante dans notre étude. Il est par conséquent probable que la température ait un impact sur le rendement d'assimilation de la MO rapidement dégradé.

Quel que soit le lot de terre étudié, le quotient métabolique (qCO_2) décroît rapidement au début de l'incubation pour atteindre après 1 mois d'incubation une valeur quasi-constante de $1,1 \mu g C_{CO_2}.mg^{-1} C_{Biomasse}.h^{-1}$ pour Roth 1 et Roth 2 et de $0,8 \mu g C_{CO_2}.mg^{-1} C_{Biomasse}.h^{-1}$ pour Roth 3. Ces valeurs de qCO_2 à l'équilibre, de l'ordre du $1 \mu g C_{CO_2}.mg^{-1} C_{Biomasse}.h^{-1}$, sont en accord avec la littérature (Fließbach and Mader 2000; Saggar *et al.* 2001). A l'équilibre, le quotient métabolique plus faible

pour Roth 3 que pour Roth 1 et Roth 2 suggère une meilleure assimilation du carbone par les microorganismes du lot de terre Roth 3. Dans le cas de sols ayant reçu des apports organiques, une augmentation du rendement d'utilisation du carbone par les microorganismes par rapport aux sols de référence (= non amendé) a été reportée dans des conditions naturelles, après dégradation des composés facilement dégradables (Fliessbach and Mader 2000; Saggar *et al.* 2001). Ces différences de qCO_2 sont fréquemment attribuées aux différences de structure des communautés microbiennes (Dilly and Munch 1996; Fliessbach and Mader 2000; Saggar *et al.* 2001; Mamilov and Dilly 2002). En effet, la composition chimique de la MO des sols est très complexe ; impliquant une multitude de composés chimiques différents, plus ou moins facilement dégradables (Kogel-Knabner 2002). Selon les bactéries, la capacité de dégradation de certains composés organiques peut différer de façon importante (Robinson and Bruce 2002). Par exemple, certaines vont être capables de dégrader la cellulose, alors que d'autres dégraderont plus facilement la chitine (Robinson and Bruce 2002). Ainsi, une diversité microbienne plus importante impliquerait une meilleure efficacité métabolique de la MO du sol (Fliessbach and Mader 2000; Saggar *et al.* 2001).

2.3. Evolution de la matière organique particulaire (MOP)

La matière organique particulaire, de taille supérieure à 50 μm , a été séparée de la phase minérale par fractionnement granulo-densimétrique (Balesdent 1996). La MOP est composée de débris végétaux à des états de décomposition variés (Cambardella and Elliot 1992).

2.3.1. Etat initial des lots de terre

Les trois lots de terre présentaient des quantités de MOP initiales radicalement différentes. Roth 1 était quasiment exempt de MOP ($< 0,3 \text{ g C.kg}^{-1}_{\text{sol}}$, représentant moins de 0,2 % de la masse du sol). Roth 1 correspondant au sol Roth 2 dépourvu d'apport organique pendant environ 40 ans, l'absence de MOP dans le lot de terre Roth 1 suggère clairement que dans des conditions naturelles la MOP est totalement dégradée en moins de 40 ans. De plus, les résultats obtenus dans notre étude sont en accord avec ceux de Balesdent (1996) où le taux de

renouvellement de la MOP supérieure à 200 μm était de l'ordre de 0,5 à 3 ans et de 18 ans pour la MOP comprise entre 50 et 200 μm . Pour Roth 3, l'amendement d'herbe fraîche est partiellement retrouvé dans la fraction $\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$, avec une masse de fraction représentant 1,20 et 1,82 % de la masse du lot de terre pour Roth 2 et Roth 3 respectivement. De par la forte teneur en carbone de la $\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$, sa contribution dans la teneur organique totale des échantillons de sol Roth 2 et Roth 3 est initialement importante. Malgré les quantités massiques relativement faibles de la $\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$, elle représentait respectivement 4,2 et 6,4 $\text{g C.kg}^{-1}_{\text{sol}}$. L'amendement d'herbe a donc conduit à une augmentation de la fraction $\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$ (+ 2,2 $\text{g C.kg}^{-1}_{\text{sol}}$). En revanche la fraction de MOP comprise entre 50 et 200 μm n'a pas été augmentée de manière significative, mais les erreurs dues à la méthode de séparation sont plus importantes pour la $\text{MOP}_{50-200 \mu\text{m}}$ que pour la $\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$.

2.3.2. Evolution temporelle

L'évolution de la MOP a été suivie au cours de l'incubation des lots de terre (Figure 29) et comparée à l'état initial décrit dans le paragraphe précédent.

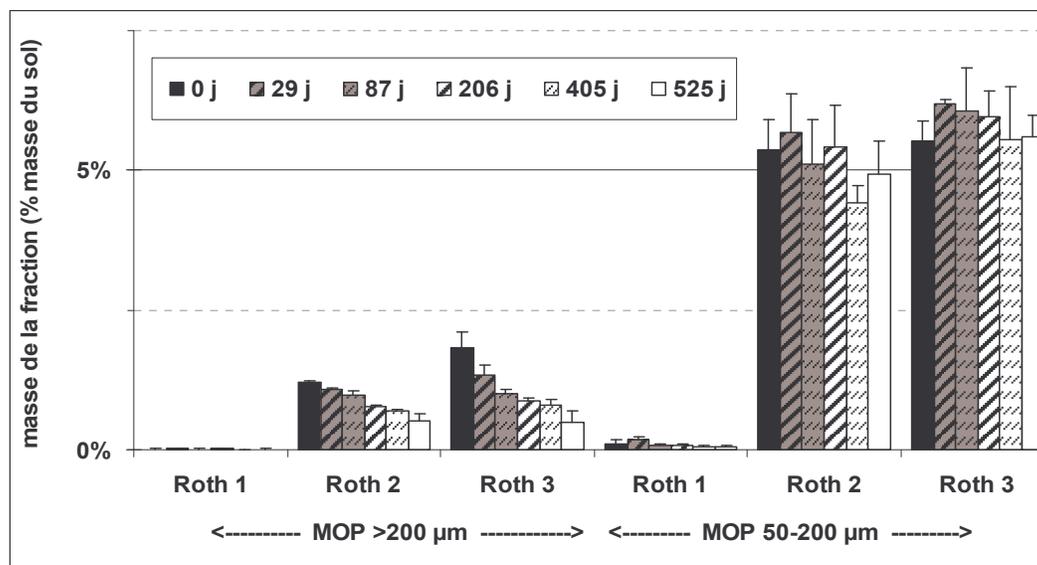


Figure 29 : Evolution temporelle de la proportion massique des fractions de matière organique particulaire ($\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$ et $\text{MOP}_{50-200 \mu\text{m}}$) des lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3 témoins et contaminés en sélénium, séparées par fractionnement granulodensimétrique

Par ailleurs, les teneurs massiques en carbone organique de chacune des fractions de MOP sont restées constantes au cours de l'incubation (résultats non présentés) : la MOP_{>200 μm} était composée de 350 mg_{C.gfraction} de carbone organique et la fraction MOP_{50-200 μm} contenait 140 mg_{C.gfraction} de carbone organique, quel que soit le lot de terre. Ainsi, l'évolution des proportions de carbone organique des échantillons de sol représentées par chacune des fractions de MOP au cours de l'incubation est similaire à celle des masses de fraction.

Le suivi des fractions de MOP pendant l'incubation confirme l'hypothèse que sa dégradation est fonction de sa taille (Christensen 1992; Meijboom *et al.* 1995; Barrios *et al.* 1996). Ainsi, la MOP_{50-200 μm} n'a pas évolué de manière significative pendant les 18 mois d'incubation des lots de terre, représentant en moyenne 7,2 et 8,2 g C.kg⁻¹_{sol} pour Roth 2 et Roth 3 respectivement. Dans le même temps, la fraction de taille supérieure (MOP_{>200 μm}) a diminué de plus de 50 % pour Roth 2 et de plus de 75 % pour Roth 3. La dégradation importante de cette fraction organique aboutit après 18 mois d'incubation à une quantité de MOP_{>200 μm} identique pour les deux lots de terre (Roth 2 et Roth 3) représentant environ 0,5 % de la masse de l'échantillon de terre (1,7-1,8 g C.kg⁻¹_{sol}). Les résultats obtenus sont en accord avec ceux d'une autre étude portant également sur des sols de prairies (Hassink 1995). En effet, Hassink (1995) a montré que la décomposition de la MOP supérieure à 150 μm était plus rapide que celle de la MOP de taille inférieure et que les taux de dégradation de la MOP inférieure à 150 μm étaient similaires quelle que soit la taille considérée. La part de l'apport organique (effectué sur le lot de terre Roth 3) retrouvée dans la MOP_{>200 μm} s'est avérée rapidement dégradée. En effet, après un mois d'incubation du lot de terre Roth 3, la MOP_{>200 μm} représentait 1,35 % de la masse du lot de terre, soit une valeur proche de celle du lot de terre avant l'amendement d'herbe.

3. Les principales propriétés physico-chimiques des lots de terre

3.1. Le pH

L'acidité du sol a été suivie durant l'incubation des lots de terre par mesure du pH_{eau} et du pH_{KCl} (Figure 30). Les lots de terre étudiés sont des sols acides présentant des valeurs initiales de pH_{eau} respectivement de 5,2 ; 5,5 et 5,8 pour Roth 1, Roth 2 et Roth 3. L'augmentation du pH généralement observée après l'addition de quantités importantes de résidus végétaux (Fernandes *et al.* 1997) s'est avérée relativement limitée dans le cas du lot de terre Roth 3. En effet, la différence de pH entre Roth 2 et Roth 3 est inférieure à 0,4 unité pH pour le pH_{eau} et 0,6 unité pH pour le pH_{KCl} quel que soit le temps d'incubation. Les différences importantes au niveau de leur teneur en carbone organique n'ont donc pas influé de façon significative le pH du sol, autorisant ainsi une comparaison plus représentative entre ces deux échantillons de sol par rapport à leur réactivité chimique.

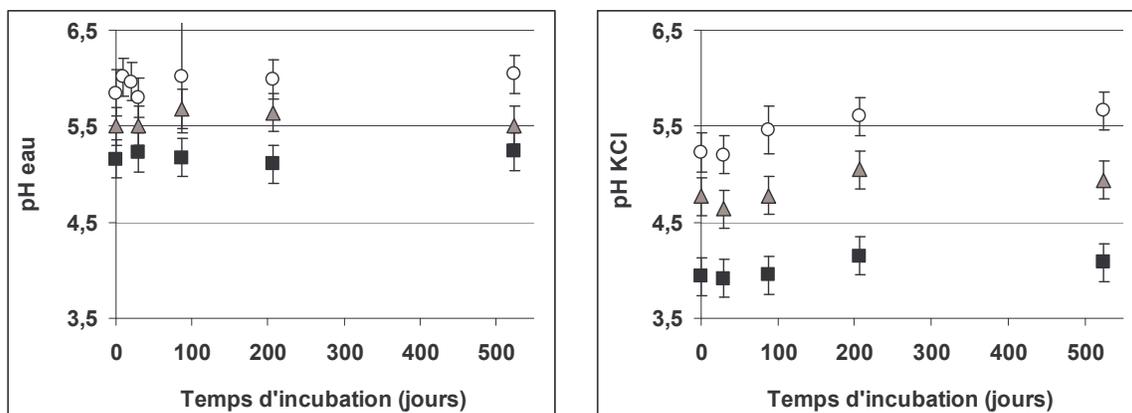


Figure 30 : Suivi du pH_{eau} (à gauche) et du pH_{KCl} (à droite) des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (O) (témoins et contaminés en sélénium) au cours de l'incubation

Le pH_{KCl} est inférieur au pH_{eau} , la différence entre pH_{eau} et pH_{KCl} étant d'autant plus faible que le sol est organique. Les différences entre les deux pH mesurés représentent respectivement 1,2, 0,7 et 0,5 unité pH pour Roth 1, Roth 2 et Roth 3. Le KCl permettant un déplacement plus important (que l'eau) des protons fixés par échange avec le K^+ en excès (Gobat *et al.* 1998), notamment dans les feuillets

interfoliaires des argiles. La présence de MO semble diminuer cet échange consécutivement au recouvrement (« coating ») possible des phases minérales par la MO.

Les résultats ne montrent pas d'évolution temporelle significative du pH quels que soient les lots de terre (Figure 30), même dans le cas du lot amendé. L'absence d'évolution du pH avait été reportée dans une étude similaire (échantillons de sol et conditions d'incubation comparables), mais sur des temps d'incubation beaucoup plus courts (Boucher *et al.* 2005).

3.2. La capacité d'échange cationique (CEC)

La CEC des échantillons de sol les plus organiques (Roth 2 et Roth 3) est supérieure à celle du lot de terre Roth 1 avec des valeurs d'environ 11,5 et 8,0 $\text{cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{sol}}$ respectivement, obtenues par la méthode Cu-trien (correspondant à une CEC cobaltihexamine de 17,0 et 9,9 $\text{cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{sol}}$). Ces échantillons de sol ayant une composition minéralogique similaire (mêmes quantités et types d'argiles), les résultats suggèrent que la différence observée est une résultante des teneurs contrastées en MO. L'influence de la MO sur la CEC est connue (Brady 1990; Pansu and Gautheyrou 2003). La CEC a également été déterminée sur les fractions de MOP des échantillons de sol étudiés par la méthode Cu-trien. Les résultats ont donné une valeur de CEC de $18,6 \pm 2,2 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{sol}}$ pour la fraction $\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$ et de $23,8 \pm 2,7 \text{ cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{sol}}$ pour la $\text{MOP}_{50-200 \mu\text{m}}$. Ainsi, compte tenu de son abondance massique, la MOP est responsable pour environ 1,5 à 1,8 $\text{cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{sol}}$ de la CEC Cu-trien des lots de terre Roth 2 et Roth 3. L'absence de MOP dans le sol Roth 1 explique donc partiellement les différences observées, la MO inférieure à 50 μm devant également jouer un rôle similaire.

L'évolution de la CEC a été suivie au cours de l'incubation (Figure 31). En effet, Zech *et al.* (1997) ont suggéré que la minéralisation importante de la MO du sol pouvait entraîner une diminution de la capacité d'échange cationique. Ainsi, après 18 mois d'incubation, la CEC a légèrement diminué de 12 à 19 % pour Roth 2 et de 5 à 11 % pour Roth 3. En revanche, la CEC du lot de terre Roth 1 n'a pas évolué de manière significative durant l'incubation (diminution non significative de 2 à 3 %). La diminution de la CEC observée sur les lots de terre Roth 2 et Roth 3 doit provenir de la dégradation de la MO (des fractions de MOP et de la MO inférieure à 50 μm)

durant l'incubation. Cependant, le seul aspect quantitatif ne permet d'expliquer que partiellement les évolutions observées. D'autres phénomènes, plus difficiles à appréhender, doivent jouer un rôle important dans la détermination et l'évolution de la CEC du sol. Notamment l'évolution de la composition de la MO du sol (= « qualité de la MO ») et les phénomènes de protection physique de la MO par les phases minérales (Hassink *et al.* 1993; Balesdent *et al.* 2000) doivent faire partie de ces phénomènes impactant la CEC.

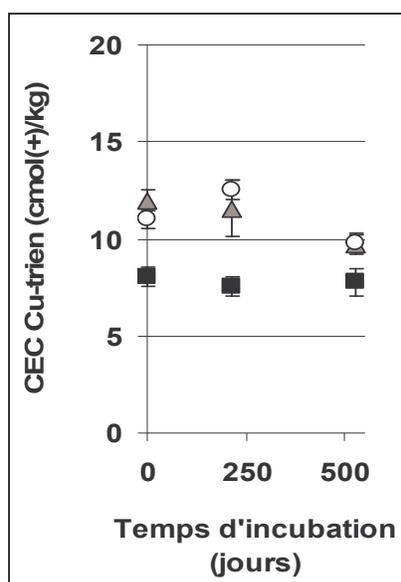


Figure 31 : CEC des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (O) déterminée par la méthode Cu-trien au cours de l'incubation

3.3. La stabilité des agrégats

La matière organique étant un des facteurs essentiels de la structuration des sols, son évolution quantitative et/ou qualitative peut en modifier la structure (Feller and Beare 1997; Bronick and Lal 2005). Cependant, la méthode de détermination de la stabilité des agrégats par granulométrie laser n'a permis de déceler aucune évolution temporelle au cours de l'incubation. Cette absence d'évolution peut être liée (i) à un manque de sensibilité de la méthode, notamment pour mettre en évidence de petites évolutions structurales des sols et/ou (ii) à un faible impact de la dégradation de la matière organique sur la structure du sol au cours des 18 mois d'incubation.

4. Confrontation des résultats expérimentaux avec la modélisation Roth C (Coleman and Jenkinson 1996)

4.1. Carbone organique total des sols

La donnée généralement confrontée avec la modélisation de l'évolution du carbone est la valeur de la teneur en carbone organique total des sols. C'est en fait la valeur la plus facilement accessible surtout dans le cas d'études sur le terrain (Coleman *et al.* 1997; Smith *et al.* 1997; Shirato *et al.* 2005). Cependant, cette grandeur reste peu discriminante. En effet, la détermination du carbone organique des sols est entachée d'erreurs relativement importantes (Glendinning and Poulton 1996), notamment au niveau analytique (erreur de 5 à 10 %). De plus les évolutions quantitatives du carbone organique des sols sont assez faibles et interviennent à des échelles de temps relativement longues.

La modélisation par le modèle Roth C a été confrontée aux données expérimentales de carbone organique total, recueillies tout au long de l'incubation de chacun des lots de terre étudiés. Ainsi, dans notre étude, aucune évolution des teneurs en carbone organique de Roth 1 n'a été mesurée. Cet état d'équilibre apparent du lot de terre Roth 1 est en adéquation avec les résultats de la modélisation (Figure 32) où la perte en carbone calculée ne représente que 4,0 % en 18 mois d'incubation (l'évolution est donc inférieure aux erreurs analytiques). Concernant Roth 2, la diminution des quantités de carbone résultant de la minéralisation de la MO est détectable sur 18 mois d'incubation (Figure 32) avec une diminution d'environ 17 % d'après la modélisation qui est en accord avec les valeurs expérimentales obtenues (diminution de 15 %). En revanche, elle devient à peine détectable sur 1 an (= 13 %), et nos outils sont peu sensibles pour suivre son évolution dans le temps. Par conséquent, seule l'évolution organique du lot de terre amendé (Roth 3) est vraiment sensible, avec une évolution donnée par la modélisation d'environ 29 % de carbone organique minéralisé en 18 mois (dont 25 % en 1 an). Les résultats obtenus pour le lot de terre Roth 3 sont en adéquation avec la modélisation (Figure 32).

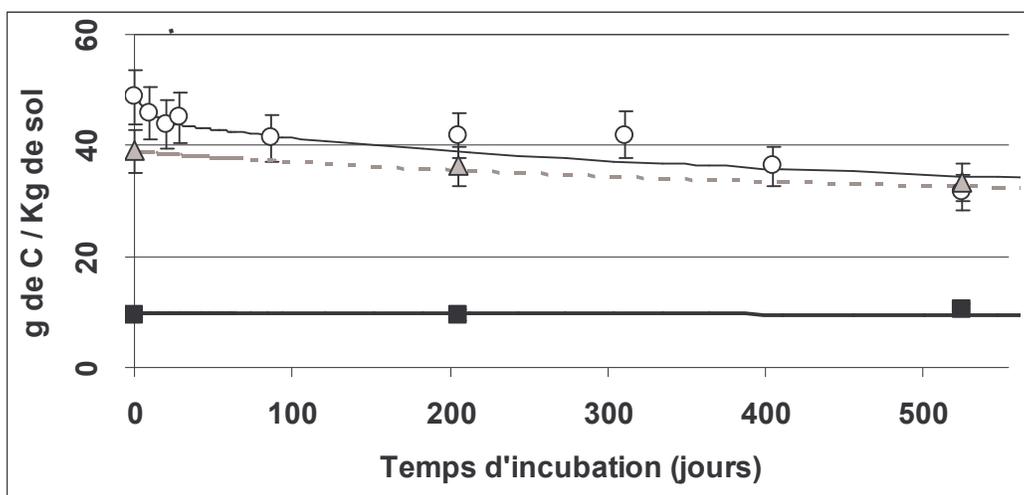


Figure 32 : Modélisation Roth C (Roth 1 — ; Roth 2 - - ; Roth 3 —) confrontée aux données expérimentales de la dégradation du carbone organique des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) au cours de l'incubation

4.2. Flux de CO₂ et détermination de la fraction IOM

La minéralisation de la MO peut être appréhendée de façon plus précise que la simple mesure du carbone organique du sol. En effet, les suivis de production du CO₂ formé sont fiables mais ne peuvent pas être obtenus facilement dans des études sur le terrain. Ce n'est pas le cas pour les études en laboratoire. Les résultats obtenus expérimentalement sont en adéquation avec les valeurs issues de la modélisation (Figure 33). La valeur estimée de la fraction IOM du modèle Roth C – matière organique inerte (non dégradable) – a un impact très fort sur les quantités de CO₂ produit pour le lot de terre Roth 1 ; en revanche elle affecte très peu la modélisation du CO₂ produit pour Roth 2 et Roth 3. La quantité de matière organique inerte (IOM) a été estimée à l'aide de l'équation de Falloon *et al.* (1998) (cf. Annexe IV : Modèle Roth C).

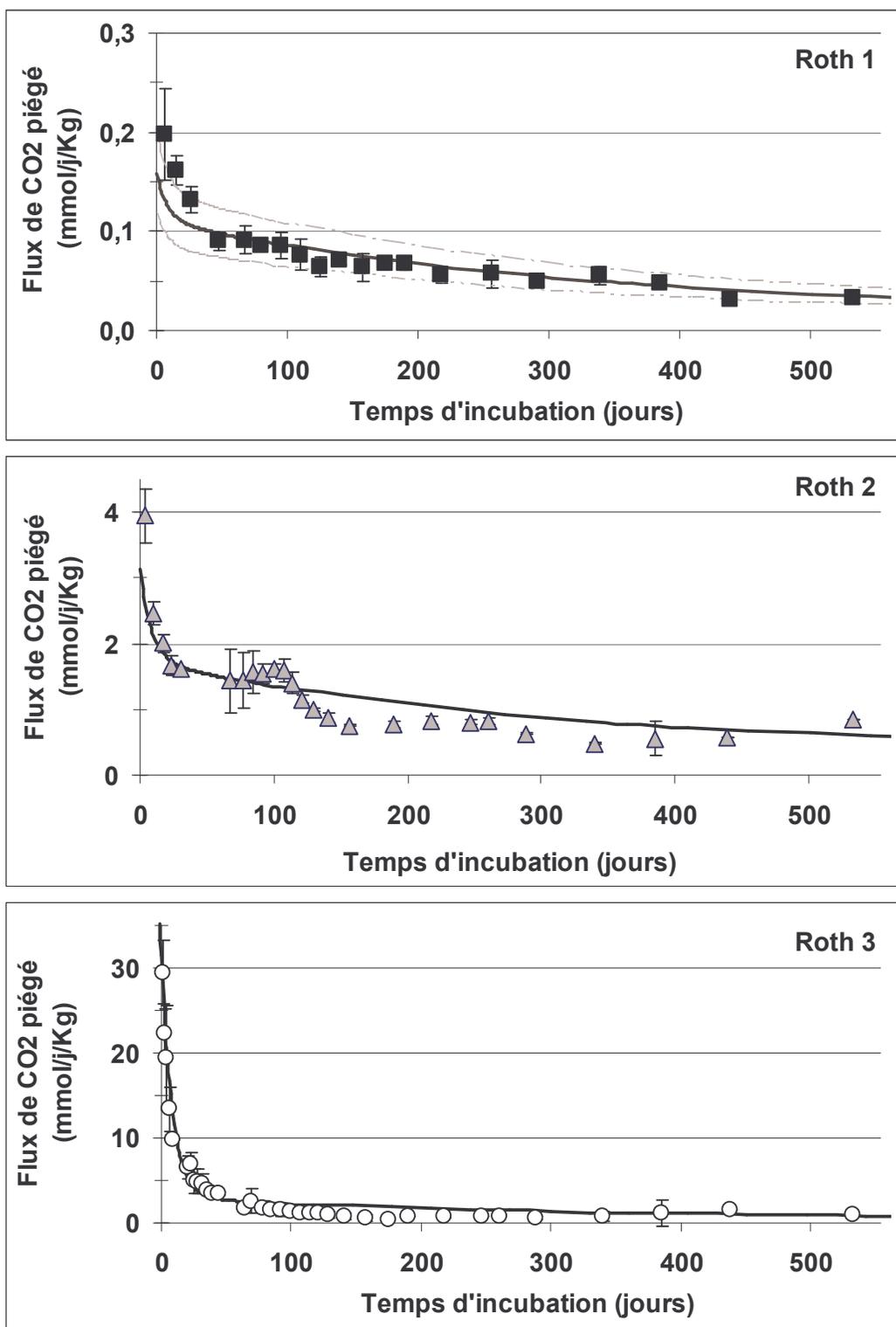


Figure 33 : Modélisation des flux de production du CO₂ par le modèle Roth C (—) et comparaison avec les données expérimentales obtenues pour les lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) au cours de l'incubation

La modélisation des flux de CO₂ produit pour le lot de terre Roth 1 est également représentée avec des valeurs de IOM calculées (Falloon *et al.* 1998) avec + et – 5 % d'erreur sur la valeur du carbone organique de Roth 1 (Figure 33, courbes grises en pointillés). Les données expérimentales de CO₂ produit pour ce lot de terre sont comprises dans l'intervalle obtenu en tenant compte de cette erreur sur la teneur en carbone organique du sol. Il est important de noter que la valeur de IOM ainsi calculée (8,307 g C.kg⁻¹_{sol}) est très éloignée de la valeur fixée par défaut dans le modèle RothC (de 380 g C.m⁻² (Jenkinson *et al.* 1992), soit environ 0,3 g C.kg⁻¹_{sol}) et qui conduit dans notre cas à des résultats très différents des résultats expérimentaux. La valeur de IOM retenue indique que la MO de Roth 1 est composée d'environ 83 % de MO non dégradable à nos échelles d'observation. Une telle composition de la MO de Roth 1 pourrait expliquer l'absence d'évolution apparente de l'état microbiologique du sol précédemment observée (§ 1).

Pour Roth 2 et Roth 3, la modélisation est assez proche des valeurs expérimentales (Figure 33), principalement dans les premiers mois d'incubation. Cependant pour le lot de terre amendé, les flux de CO₂ produits sont légèrement surestimés par la modélisation après 3 mois d'incubation. Cette surestimation provient certainement de la difficulté de prendre en compte les différences de quotient métabolique (qCO₂) observées à l'équilibre entre les lots de terre non amendé et le lot de terre amendé. En effet, la meilleure assimilation du carbone organique du sol après un amendement (cf. Figure 28, Roth 3 (O)) n'est pas encore assez bien comprise pour être décrite simplement par un modèle conceptuel tel que RothC.

4.3. La biomasse du sol

La seule fraction de MO du modèle Roth C accessible expérimentalement est la fraction de Biomasse (BIO) ; l'évolution du carbone organique du sol et le CO₂ produit n'étant pas des fractions du modèle mais des grandeurs résultant de la dégradation de la MO. La détermination de la biomasse, obtenue par fumigation-extraction, n'est qu'une estimation basée sur des facteurs d'extraction empiriques (Vance *et al.* 1987b; Vance *et al.* 1987a; Joergensen 1996). Néanmoins le calage entre modélisation et valeurs expérimentales est assez pertinent (Figure 34),

principalement dans le cas des lots de terre non amendés. En revanche pour le lot de terre amendé (Roth 3), la dynamique de cette fraction est moins bien modélisée, principalement entre 1 et 3 mois (la diminution des quantités de biomasse par la modélisation est beaucoup plus étalée dans le temps que les données expérimentales).

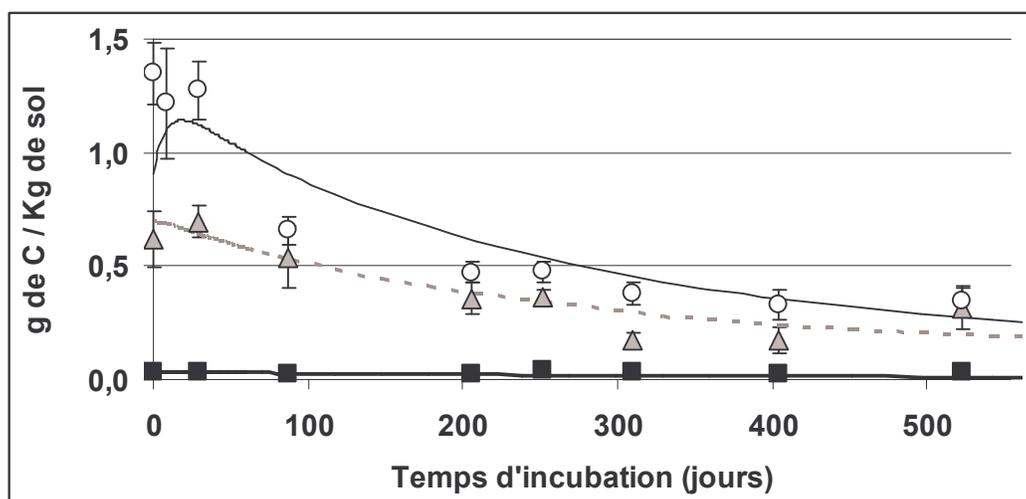


Figure 34 : Comparaison entre la modélisation de la fraction BIO (modèle Roth C : Roth 1 — ; Roth 2 - - ; Roth 3 —) et les données expérimentales de biomasse des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) au cours de l'incubation

4.4. Autres fractions définies dans le modèle Roth C

Dans une deuxième approche, nous avons tenté de relier les autres fractions de la MO définies dans le modèle Roth C à des fractions « mesurables » du sol. Cependant concernant la fraction HUM, nous n'avons pas pu comparer efficacement les résultats expérimentaux avec la modélisation. En effet, l'évolution de cette fraction prévue par le modèle est trop faible, représentant seulement une diminution de 4,6 à 8,4 % après 18 mois d'incubation dans nos conditions et selon les lots de terre. D'autre part, la difficulté d'extraction des humines (Grasset and Ambles 1998) rend laborieuse l'obtention d'une valeur précise pour l'ensemble des substances humiques (= acide humiques + acides fulviques + humines).

Concernant les fractions DPM et RPM correspondant aux résidus végétaux présents dans les sols, nous avons tenté de corréliser ces fractions aux quantités de MOP obtenues par fractionnement granulo-densimétrique. Ce choix se justifie d'une

par par le fait que les échantillons de sol utilisés dans notre étude proviennent de sols de prairie où la MOP est constituée quasiment exclusivement de débris végétaux (Cambardella and Elliot 1992), ce qui a été vérifié sur nos échantillons par Microscopie Electronique à Balayage (Chabrouillet *et al.* 2006). D'autre part l'étude de Balesdent *et al.* (1996) suggère que ce type de MO pourrait correspondre relativement bien aux fractions facilement dégradables du modèle Roth C.

L'évolution des fractions DPM & RPM modélisée ne semble pas être corrélée avec celle obtenue pour les fractions de MOP (ni à la somme des fractions de MOP, ni à $MOP_{>200 \mu m}$, ni à $MOP_{50-200 \mu m}$). Néanmoins, pour le lot de terre amendé, la diminution importante des quantités de $MOP_{>200 \mu m}$ observée dans le premier mois (-26 %) doit correspondre en partie à la dégradation de la fraction DPM. La composition chimique de la MOP explique en partie l'absence de corrélation avec les fractions DPM et RPM du modèle (rapidement dégradables). En effet, la MOP est composée en partie par des substances humiques difficilement dégradables. Ainsi 24,1 % et 27,8 % du carbone organique des fractions $MOP_{>200 \mu m}$ et $MOP_{50-200 \mu m}$ constitue des substances humiques extraites par la soude ($NaOH 0,1 mol.L^{-1}$).

5. Conclusion

Cette étude montre que l'état organique initial (à la fois en quantité et en qualité) joue un rôle prépondérant au niveau du type de MO présent dans les échantillons de sol (MOP, MO facilement dégradable,...) et au niveau de leur état microbiologique. La dégradation de la MO des échantillons de terre étudiés engendre des modifications importantes sur les différents types de MO et les microorganismes. Les modifications de l'état microbiologique des lots de terre, engendrées par la transformation de la MO, interviennent à la fois du point de vue quantitatif (biomasse et dénombrement) que du point de vue qualitatif en affectant les structures des communautés microbiennes. Ainsi, l'ensemble des données microbiologiques couplées aux données concernant la MO (C_{total} , MOP, Roth C) et sa dégradation durant les 18 mois d'incubation semble indiquer que :

les trois lots de terre étudiés possèdent initialement des états organiques distincts très contrastés ;

l'amendement organique initialement apporté (Roth 3) est rapidement résorbé après quelques mois (environ 3 mois), rendant alors difficile les distinctions entre les lots de terre Roth 2 et Roth 3 (issus tout deux du même échantillon de sol, respectivement sans et avec amendement) ;

les lots de terre organiques (Roth 2 et Roth 3) privés de tout apport organique tendent à se rapprocher du lot Roth 1, ce dernier n'évoluant quasiment pas.

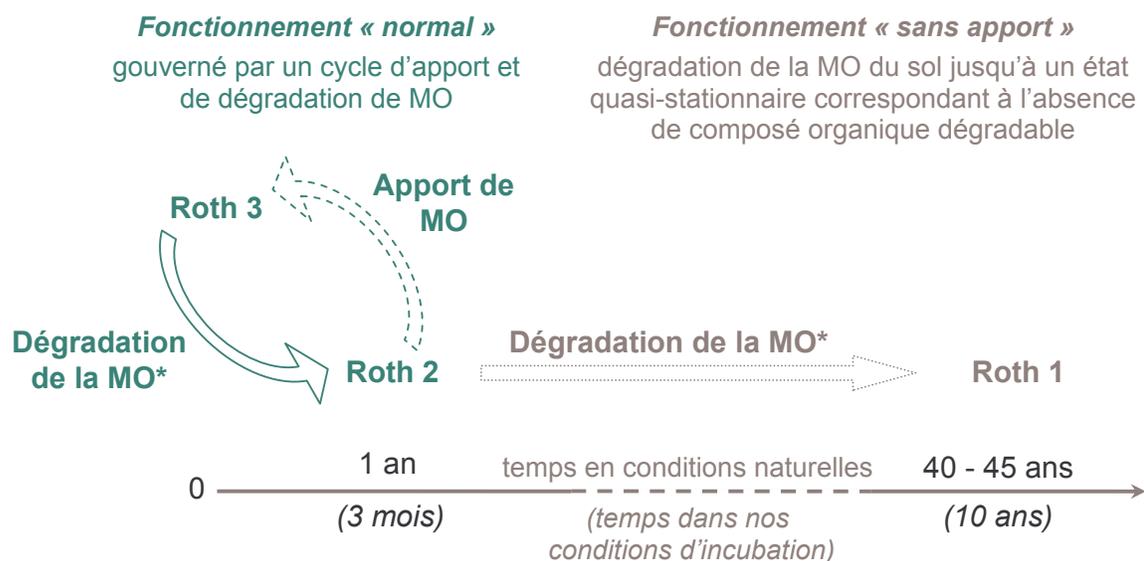
De plus, l'exposition chronique (18 mois) au sélénium en faible concentration ($2,2 \cdot 10^{-9} \text{ g}_{\text{Se}} \cdot \text{g}_{\text{sol}}^{-1} \cdot \text{sec}$) n'a eu aucun effet visible sur les microorganismes que ce soit au niveau des quantités de microorganismes (biomasse totale et dénombrements bactériens), des activités de dégradation de la MO (production de CO_2) et des structures des communautés bactériennes (ARISA) qui sont similaires pour les lots de terre témoins et contaminés. Ces résultats, bien qu'étant attendus, n'ont à notre connaissance jamais été mis en évidence. De plus, l'ajout de ^{75}Se radioactif peut être considéré comme un bon radio-traceur du sélénium (à l'activité étudiée, initialement de $1,1 \cdot 10^4 \text{ Bq} \cdot \text{g}_{\text{sol}}^{-1} \cdot \text{sec}$) dans le sens où le niveau de radioactivité ajouté n'a pas affecté le compartiment biotique du sol.

Plusieurs grandeurs physico-chimiques du sol (stabilité des agrégats, CEC, pH_{eau} et pH_{KCl}) pouvant influencer sur la rétention du sélénium, se sont révélées relativement constantes au cours des 18 mois d'incubation. L'absence d'évolution de ces grandeurs présente un avantage certain : cela permet de comparer l'évolution du comportement du sélénium au cours du temps dans un système où les seules variables sont la quantité et la qualité de la MO (incluant les microorganismes).

Enfin, sur le plan méthodologique, la confrontation des variables mesurables expérimentalement (teneur en carbone organique des sols, quantité de CO_2 produite, évolution de la biomasse totale) avec les prédictions du modèle Roth C a permis de mettre en avant la pertinence de cet outil pour les sols étudiés. Le modèle Roth C a fourni une prédiction relativement juste de l'évolution de la MO du sol, démontrant ainsi la possibilité d'utiliser cet outil à l'échelle du laboratoire. Compte tenu du scénario d'évolution de la MO choisi (pas d'apport régulier de MO, température et humidité constantes), ce constat est limité à des situations de fonctionnement simples et devra être vérifié pour des cas plus complexes (variations saisonnières, apports de MO, ...).

6. Bilan sur l'évolution des lots de terre étudiés

L'ensemble des résultats obtenus dans ce chapitre a permis de mettre en évidence l'équivalence de comportement des différents lots de terre dans le temps. Ce travail peut simuler l'étude d'un seul sol de prairie (Roth 2) à différentes étapes du cycle de la MO (Figure 35). Ainsi en fonctionnement « normal » et dans des conditions naturelles, il existe une alternance entre le sol Roth 2 et son état amendé Roth 3 qui simule l'apport organique naturel, dégradé dans l'année (correspondant à environ 3 mois dans nos conditions d'incubation). Dans un tel schéma de fonctionnement, le sol Roth 2 ne peut tendre vers Roth 1. Par contre dans le cas où un sol est privé de tout apport de MO, le sol tend vers un état quasi-stationnaire caractérisé par une absence de composés organiques rapidement dégradables (correspondant dans notre étude à Roth 1). Ce fonctionnement « sans apport » peut notamment être considéré comme un scénario possible de gestion d'une contamination radiologique d'un sol.



* dégradation quantitative et qualitative

Figure 35 : Evolution temporelle schématisée des lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3 montrant l'équivalence des sols au cours de l'incubation en conditions contrôlées et la transposition au cycle naturel : Roth 3, après dégradation de l'amendement organique (environ 3 mois), est devenu équivalent à Roth 2 avant l'incubation / Roth 2 semble se rapprocher lentement de Roth 1 / Roth 1, étant composé majoritairement de MO non dégradée (IOM), est à un état quasi-stationnaire

L'évolution des lots de terre (ainsi démontrée dans le chapitre précédent) peut avoir des impacts considérables sur le comportement du sélénium. Nous avons donc cherché à définir et à quantifier les impacts éventuels de ces transformations sur le sélénium. Ainsi, nous nous sommes dans un premier temps attachés à la caractérisation du comportement du sélénium en fonction de l'état organique initial des lots de terre (Chap. IV), pour pouvoir dans un second temps appréhender l'impact de leur vieillissement sur le sélénium (Chap. V).

Chap. IV : Effet de l'état organique initial du sol sur la mobilité et la partition solide du sélénium

1. Comportement bio-géochimique du sélénite dans les échantillons de terre Roth 1 et Roth 2

1.1. Sorption du sélénite

1.1.1. Cinétique de sorption

La cinétique de la réaction de sorption du sélénite sur Roth 1 et Roth 2 a été réalisée à des temps variant de 2 à 480 h ; la concentration en sélénite utilisée dans ces expériences était de $0,5 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$. La réaction de sorption s'est avérée rapide avec un plateau (maximum de sorption) observé pour des temps inférieurs à 2 h pour Roth 1 et compris entre 4 et 16 h pour Roth 2 (Figure 36). Les cinétiques rapides de sorption du sélénite observées dans cette étude sont du même ordre de grandeur que celle obtenues dans la littérature (Neal *et al.* 1987a; Goh and Lim 2004). Les quantités de sélénium sorbées une fois le plateau atteint sont de l'ordre de 89 – 91 % pour Roth 1 et de 79 – 81 % pour Roth 2. La cinétique et les quantités de sélénium sorbées semblent être fonction de la teneur en carbone organique du sol ; plus la teneur en MO est forte moins la quantité de sélénium sorbée est importante et plus la cinétique est lente. Cette observation peut résulter de phénomènes (i) de répulsions électrostatiques provenant de la charge globale négative de la MO (Masset *et al.* 2000) ; (ii) de compétitions par formation de liaisons covalentes entre la MO et les phases porteuses du sélénite (Dynes and Huang 1997) ; (iii) de recouvrements des argiles et des oxydes métalliques par la MO, générant ainsi une difficulté d'accès du sélénite aux phases minérales (Saeki and Matsumoto 1994a).

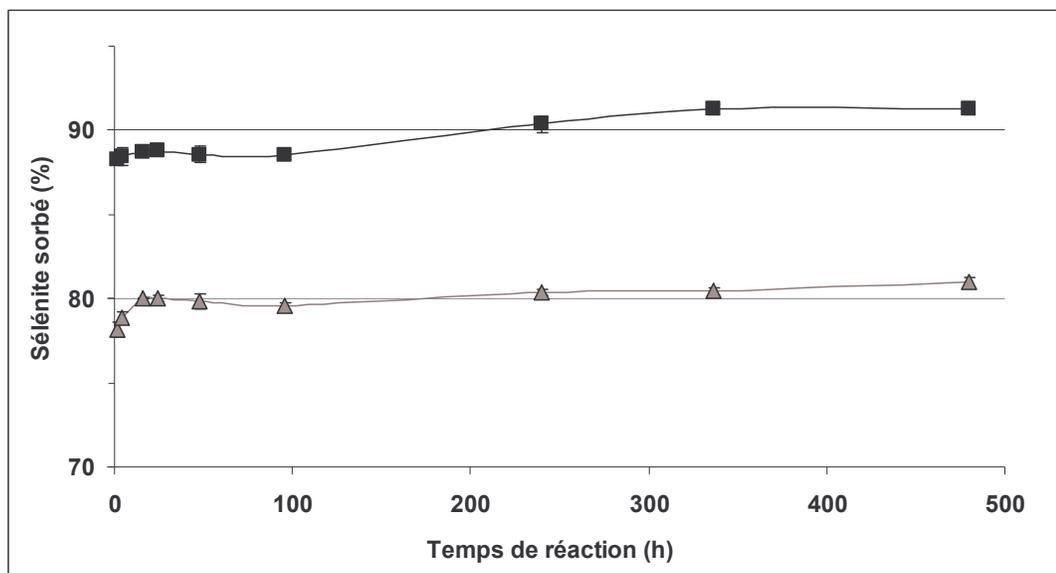


Figure 36 : Cinétique de sorption du sélénite sur les lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) ; ratio m/V = 1/5 ; [Se] initiale = C_i : $0,5 \cdot 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ (erreur 2σ incluse dans la taille des symboles)

Pour des temps de réaction relativement longs (supérieurs à 96 h), les résultats montrent une légère augmentation des quantités de sélénite sorbées sur les échantillons de terre Roth 1 et Roth 2. Cette augmentation, probablement d'origine biotique (Février 2003), s'est montrée relativement négligeable, représentant moins de $2,8 \pm 0,8$ et $1,4 \pm 0,7$ % des quantités de sélénium sorbées à 48 h pour Roth 1 et Roth 2 respectivement. Au vu de la très faible augmentation de la sorption pour des temps longs, des temps de contact de 48 h ont été appliqués dans la suite des expérimentations.

1.1.2. Isotherme de sorption

Les isothermes de sorption du sélénite ont été réalisées pour les deux échantillons de sols de prairie étudiés (Roth 1 et Roth 2). Dans la gamme de concentration investiguée (C_i : 10^{-8} à $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$), les résultats de sorption du sélénite ne montrent a priori pas de saturation des échantillons de terre vis-à-vis du sélénite (Figure 37).

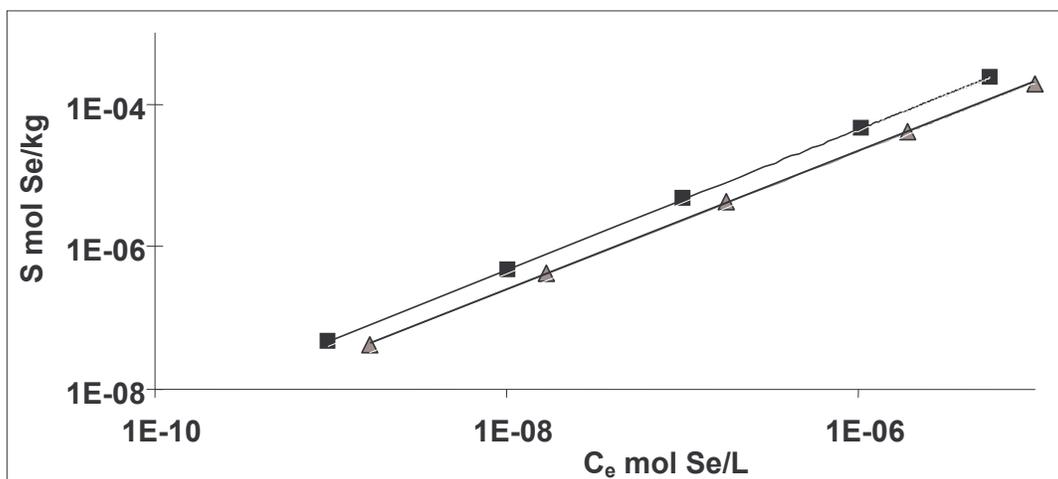


Figure 37 : Isotherme de sorption du sélénite sur les lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h ; [Se] initiale = C_i : 10^{-8} ; 10^{-7} ; 10^{-6} ; 10^{-5} ; $5 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (erreur 2 σ confondue avec la taille des symboles)

Les quantités de sélénite sorbées pour la plus forte concentration testée ($5 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹) ont représenté respectivement 18,4 et 15,5 mg.kg⁻¹_{sol} pour Roth 1 et Roth 2. Dans la littérature, les quantités maximales de sélénite sorbées varient de 109 à 461 mg.kg⁻¹_{sol} selon les sols étudiés (Dhillon and Dhillon 1999; Dhillon and Dhillon 2000; Goh and Lim 2004). Les résultats de sorption du sélénite ont été comparés à des isothermes linéaire (K_d , Equation 4) et de type Freundlich (Equation 5) (Tableau XIV) :

$$\text{Equation 4} \quad S = K_d \times C_e$$

$$\text{Equation 5} \quad S = K_F \times C_e^n$$

Où S (mol_{Se}.kg⁻¹) est la quantité de sélénium sorbée sur l'échantillon de terre, C_e (mol_{Se}.L⁻¹) est la concentration à l'équilibre du sélénium en solution, K_d (kg.L⁻¹) le coefficient de l'isotherme linéaire, n et K_F (kg.L⁻ⁿ) sont des constantes de l'équation de Freundlich. La constante n reflète l'effet de la concentration à l'équilibre sur les quantités de sélénium sorbées.

Tableau XIV : Ajustement des données expérimentales des isothermes de sorption du sélénite des lots de terre Roth 1 et Roth 2 (Figure 37) avec l'équation de Freundlich et la loi de fixation linéaire de type Kd

	Freundlich	Linéaire (Kd)
■ Roth 1	$S = 36,305 C_e^{0,9858}$ ($R^2 = 0,9999$)	$S = 42,069 C_e$ ($R^2 = 0,9998$)
▲ Roth 2	$S = 14,764 C_e^{0,9712}$ ($R^2 = 0,9999$)	$S = 19,750 C_e$ ($R^2 = 0,9994$)

Ces résultats complétés des données trouvées dans la littérature, suggèrent qu'il est peu probable d'observer une saturation des sites de sorption du sélénite dans des conditions environnementales où les concentrations en sélénium dissous sont généralement largement inférieures à $5 \cdot 10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ ($\approx 4 \text{ mg.L}^{-1}$, (Lakin 1972; Bourrelier and Berthelin 1998) et les concentrations moyennes généralement observées dans les sols de $0,4 \text{ mg.kg}^{-1}_{\text{sol}}$ (Coughtrey *et al.* 1983; Sposito 1989). Compte tenu de la valeur de la constante n de l'équation de Freundlich qui est très proche de 1 (Tableau XIV), l'isotherme peut être réduite à une relation linéaire. Les valeurs ainsi obtenues (K_d : 20 – 42 L.kg^{-1} , Tableau XIV) sont dans la gamme des valeurs de K_d généralement trouvées dans la littérature pour le sélénite (Neal *et al.* 1987a; Dhillon and Dhillon 1999; Dhillon and Dhillon 2000; Roussel-Debet and Colle 2005). La sorption du sélénite plus importante pour le lot de terre Roth 1, le moins organique ($K_{d \text{ Roth1}} \approx 2 K_{d \text{ Roth2}}$), est en accord avec les résultats obtenus par Saeki et Matsumoto (1994). En effet, par comparaison entre des échantillons de sol avant et après attaque de la MO au peroxyde d'hydrogène, les auteurs ont obtenu des sorptions supérieures sur les échantillons contenant moins de MO. De plus, une expérience identique réalisée sur les échantillons de sol de notre étude a montré les mêmes résultats (Coppin *et al.* 2006b).

1.2. Désorption : hystérésis sorption / désorption

Pour Roth 1, les quantités de sélénium désorbées sont comprises entre 3,7 et 4,0 % du sélénium sorbé, indépendamment des quantités de sélénite initialement sorbées. Les quantités désorbées pour Roth 2 sont inférieures à 1,0 %. Quel que soit le lot de terre, les quantités de sélénium extraites sont relativement faibles. Ces

niveaux de désorption du sélénite sont classiquement obtenus sur des échantillons de terre provenant de sols acides (Dhillon and Dhillon 1999; Nakamaru *et al.* 2005). D'autre part, il semble que la présence de MO influe sur la désorption du sélénium en la diminuant. Une diminution des quantités de sélénium désorbées a déjà été rapportée pour des sols et des sédiments après amendement organique (Calderone *et al.* 1990; Neal and Sposito 1991).

Dans le cas d'une sorption réversible, les K_d obtenus (K_d de 42 $L.kg^{-1}$ pour Roth 1 et 20 $L.kg^{-1}$ pour Roth 2) devraient conduire respectivement à une désorption de 10,5 % et 20 % du sélénium sorbé pour les lots de terre Roth 1 et Roth 2. Les coefficients de distribution (K_d), calculés à partir des expériences de désorption varient de 95 à 102 $L.kg^{-1}$ pour Roth 1 et de 103 à 196 $L.kg^{-1}$ pour Roth 2 (Figure 38).

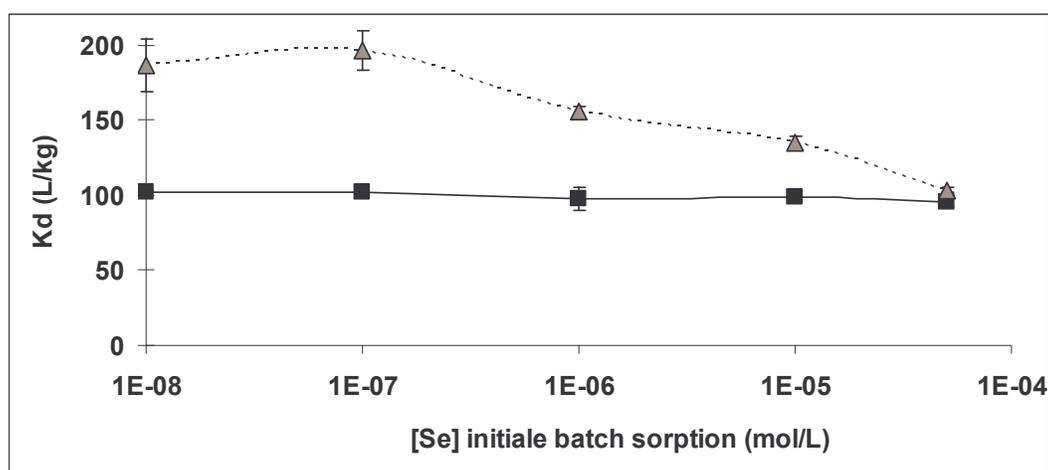


Figure 38 : Valeurs des coefficients K_d de désorption des lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) en fonction des concentrations en sélénite initiale des expériences de sorption ; ratio $m/V = 1/5$; 48 h (erreur 2σ)

Par conséquent, la comparaison des résultats de sorption et de désorption montrent clairement que les deux processus n'obéissent pas à une loi équivalente complètement réversible. Cette irréversibilité partielle, précédemment observée sur de nombreux sols (Nakamaru *et al.* 2005; Wang and Liu 2005; Nakamaru *et al.* 2006), peut notamment résulter (i) soit d'une réduction du sélénite en $Se(0)$, (ii) soit d'une substitution sélénium-souffre, (iii) soit de la formation de liaison covalente forte entre le sélénite et les différentes composantes du sol (Koch-Steindl and Pröhl

2001), comme notamment les oxydes métalliques et les argiles (Hayes *et al.* 1987; Zhang and Sparks 1990; Peak *et al.* 2006). Cependant, pour obtenir des réponses quand à cette irréversibilité il est nécessaire de maîtriser la spéciation solide du sélénium.

Pour Roth 1, les expériences de désorption fournissent une valeur de K_d constante pour toutes les concentrations de sélénite utilisées (Figure 38). Pour Roth 2 une diminution de la valeur de K_d est observée pour des concentrations supérieures à 10^{-6} mol.L⁻¹ (Figure 38).

Le sol étant un mélange complexe de différentes composantes minérales et organiques, de nombreux sites de sorption du sélénite y coexistent. Or, l'affinité et la capacité de sorption du sélénite est plus ou moins forte selon la nature des différents sites (Saeki and Matsumoto 1994b), impactant également la désorption. La répartition du sélénium sorbé sur les différents sites doit probablement différer selon les quantités de sélénium sorbées. Ainsi, les résultats de désorption de Roth 1 (Figure 38) doivent correspondre principalement à la réactivité des phases minérales du sol. Pour le lot de terre Roth 2, une réactivité de « type organique », provenant de la MO, s'ajoute à celle des phases minérales. Les résultats de désorption du sélénium de Roth 2 (à partir de 10^{-6} mol.L⁻¹, Figure 38) sont donc compatibles avec une saturation des certains sites de « type organique » au fur et à mesure que la quantité de sélénite sorbée augmente. L'hypothèse de saturation rapide des sites de « type organique » est en adéquation avec l'étude de (Saeki and Matsumoto 1994b) qui observent une absence de sorption du sélénite sur des acides humiques pour des concentrations en sélénite de l'ordre de 10^{-3} mol.L⁻¹ (largement supérieures à celles étudiées ici). Néanmoins, à notre connaissance, aucune étude de sorption du sélénite sur des substances humiques n'a été effectuée à des concentrations inférieures, ne permettant pas d'appuyer ou de contredire cette hypothèse.

2. Extraction du sélénium par différents anions

Le sélénite ($\text{HSeO}_3^- / \text{SeO}_3^{2-}$) étant un oxyanion, il peut potentiellement être extrait par d'autres oxyanions via des réactions d'échange anionique. Dans cette étude, les oxyanions testés (H_2PO_4^- , NO_3^- et SO_4^{2-}) ont été choisis de par leurs utilisations importantes dans l'agriculture en tant que fertilisants. D'autre part, ces anions ont un impact connu sur la sorption du sélénite (Dhillon and Dhillon 2000), diminuant plus ou moins les capacités de sorption du sélénium des sols. En revanche, l'effet de ces ions sur la désorption du sélénium est à notre connaissance peu et mal appréhendée (Lim and Goh 2005). Dans notre étude, les expériences ont été réalisées à un pH d'environ 4,8 (proche du pH_{eau} de Roth 1 et Roth 2) quel que soit l'anion étudié ; de plus les solutions ont toutes été préparées avec des sels possédant le même contre-ion (Na^+).

Les proportions de sélénium extraites des lots de terre Roth 1 et Roth 2 par différents anions (Cl^- , H_2PO_4^- , NO_3^- et SO_4^{2-}) à différentes concentrations variant de $5 \cdot 10^{-4}$ à $0,5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ont été comparées sur les échantillons de terre pré-contaminés. Pour les deux lots de terre, la concentration des ions chlorure n'a pas affecté les quantités de sélénium désorbées ($\text{NaCl} \square$; Figure 39). De plus, les quantités désorbées sont les mêmes que celles obtenues dans l'eau mise en contact pendant 48 h avec les lots de terre (eau ---- ; Figure 39). La force ionique (I), imposée par les concentrations en NaCl n'a donc pas eu d'impact sur la désorption du sélénium quel que soit le sol. Ces résultats, associés à la faible réversibilité de la sorption du sélénite, renforcent l'hypothèse de la formation préférentielle de liaisons covalentes (Hayes *et al.* 1988; Sposito 1989) entre le sélénite et les différentes composantes du sol.

Pour les deux lots de terre étudiés, aucun impact des nitrates sur la désorption n'a été observé quelle que soit la concentration étudiée ($\text{NaNO}_3 \bullet$; Figure 39).

Concernant les sulfates ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \ast$; Figure 39), aucun effet n'a été relevé sur Roth 2. En revanche, les quantités de sélénium extraites pour Roth 1 ont été doublées quelle que soit la concentration en sulfate utilisée, représentant ainsi environ 2,8 % du sélénium sorbé. L'effet des sulfates a déjà été reporté en tant que compétiteur sur la sorption du sélénite (Dhillon and Dhillon 2000; Goh and Lim 2004)

variant fortement selon les lots de terre étudiés. Leurs effets sur la désorption n'ont à notre connaissance pas été mis en évidence (Goh and Lim 2004).

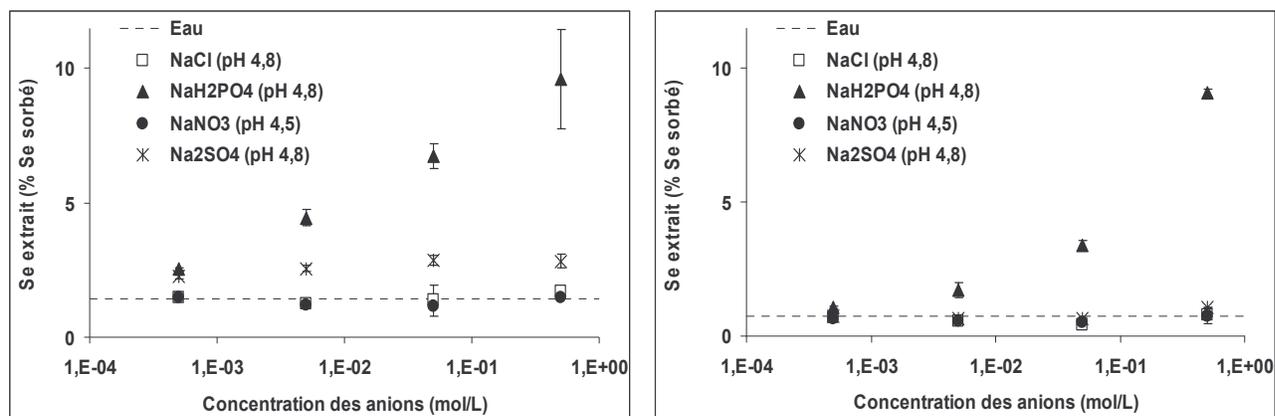


Figure 39 : Extraction du sélénium sorbé sur Roth 1 (à gauche) et Roth 2 (à droite) par différents anions en fonction de leurs concentrations ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h (erreur 2σ)

L'effet des phosphates est clairement observé quel que soit le sol. Les quantités de sélénium extraites varient respectivement de 2,5 à 9,6 % pour Roth 1 et de 1,0 à 9,0 % pour Roth 2 selon la concentration en ions phosphates étudiée (NaH₂PO₄ ▲ ; Figure 39). Ces résultats sont cohérents avec l'étude de (Jackson and Miller 2000) qui ont observé que les quantités de sélénium extrait sur des oxydes de fer étaient fonction des concentrations en ions phosphates utilisées.

L'extraction préférentielle du sélénium sorbé par les ions phosphates s'explique par la nature du lien entre ces oxyanions et les principales composantes minérales du sol. En effet, les résultats obtenus dans la littérature montrent que ces anions forment tous deux des liaisons identiques (complexes de sphère interne bidentate) à nos conditions de pH (Davis and Kent 1990; Hiemstra and Van Riemsdijk 1999). Les ions Cl⁻, NO₃⁻ et les SO₄²⁻ forment quant à eux des liaisons de types sphères externes (comme le Séléniate) (Hayes *et al.* 1988; Davis and Kent 1990). Cependant, pour les ions sulfates et le séléniate, la formation de faible proportion de complexes de sphère interne monodentate a été reportée pour des pH inférieurs à 6 sur des oxydes de fer et d'aluminium (Wijnja and Schulthess 2000b). Ainsi, pour Roth 1, une fraction du sélénite sorbée par un complexe de sphère interne bidendate a éventuellement pu s'oxyder formant un complexe monodentate échangeable par les sulfates.

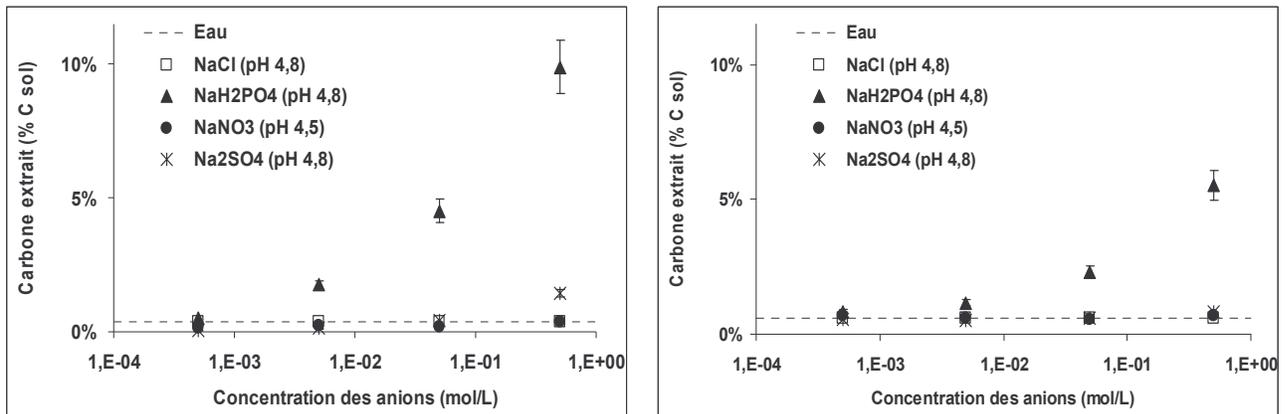


Figure 40 : Quantité de carbone organique extraite pour Roth 1 (à gauche) et Roth 2 (à droite) par différents anions en fonction de leurs concentrations ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h (erreur de 10%)

Les quantités de carbone organique extraites lors des expériences menées avec les phosphates sont corrélées aux quantités de sélénium extraites (Figure 40). Ces quantités de carbone varient de 10 à 200 mg.L⁻¹ pour Roth 1 et de 60 à 400 mg.L⁻¹ pour Roth 2, correspondant respectivement à 0,5 – 9,9 % et 0,8 – 5,5 % du carbone organique du sol. Par contre, les autres anions testés ne conduisent qu'à une extraction de carbone organique représentant 0,4 % pour Roth 1 et 0,6 % du carbone organique total pour Roth 2 quelle que soit la concentration étudiée, et ne diffèrent pas des extractions observées avec de l'eau en équilibre avec les échantillons de terre. La solubilisation de quantités importantes de carbone organique lors de l'extraction du sélénium par les ions phosphates est un phénomène déjà reporté dans des conditions similaires (batch ; NaH₂PO₄ 0,1 mol.L⁻¹) par Nakamaru *et al.* (2006), représentant pour leurs échantillons de sol entre 20 et 50 % du carbone organique du sol. Cependant, en l'absence de corrélation entre les données de sélénium et de carbone extraits par les phosphates, les auteurs ont négligé l'effet éventuel de la MO.

L'extraction par les ions phosphates est censée cibler le sélénite sorbé spécifiquement sur les argiles et les oxydes métalliques (Jackson and Miller 2000; Wright *et al.* 2003; Dhillon *et al.* 2005). Cependant, il est difficile de savoir si les phosphates interagissent uniquement avec le sélénium sorbé sur les phases minérales ou si la désorption observée est également liée au relargage de carbone organique. Dans ce dernier cas, une partie du sélénium extrait par les phosphates

peut être associée à la MO solubilisée par cet anion, provenant soit de composés organiques du sélénium, soit de sélénium sorbé sur la MO.

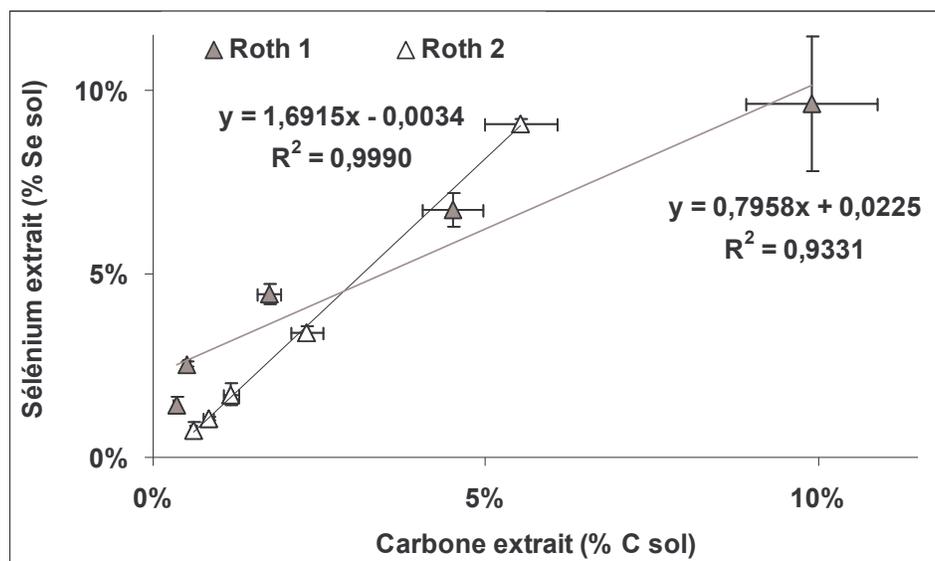


Figure 41 : Relation entre les quantités de carbone organique et de sélénium extraites pour Roth 1 et Roth 2

Ces résultats suggèrent que l'utilisation de fertilisants phosphatés peut induire une solubilisation importante d'une partie du sélénium sorbé sur les sols. De plus, Jackson et Miller (2000) ont montré que le pH de la solution de phosphate influait sur la désorption du sélénite, expliquant les différences observées entre les quantités de sélénium extraites par NaH_2PO_4 (pH 4,8) et celles extraites par K_2HPO_4 (pH 7) durant les extractions séquentielles (cf. § 4.1.1).

3. Impact d'un amendement organique

3.1. Rappel des effets sur les caractéristiques du sol

Le lot de terre Roth 2 a été artificiellement amendé en matière organique fraîche ($25 \text{ g.kg}^{-1}_{\text{sol sec}}$ d'herbe broyée). Les principales propriétés physico-chimiques du lot de terre ainsi amendé, nommé Roth 3, sont données dans le tableau ci-après.

Tableau XV : Principales propriétés physico-chimiques de Roth 3 (= Roth 2 + 25 g.kg^{-1} herbe) comparées à celles de Roth 2

Caractéristiques du lot de terre amendé	Roth 3	Δ Roth 3/Roth 2	
C organique (g.kg^{-1})	49,50	+ 10,5	(+ 27%)
N total (g.kg^{-1})	3,68	+ 0,44	(+ 14%)
Rapport C/N	13,5	+ 0,8	(+ 6%)
pH _{eau}	5,62	+ 0,12	(+ 2%)
pH _{KCl}	5,15	+ 0,48	(+ 10%)
CEC cobaltihexamine (cmol+.kg^{-1})	17,1	+ 0,3	(+ 2%)
CEC Metson (cmol+.kg^{-1})	18,9	- 1,4	(- 7%)
< 2 μm (%)	31,8	+ 1,1	(+ 4%)
2-20 μm (%)	23,7	- 0,3	(- 1%)
20-50 μm (%)	27,8	+ 0,9	(+ 3%)
50-200 μm (%)	11,8	- 1,1	(- 9%)
200-2000 μm (%)	4,9	- 0,6	(- 11%)

Cet apport ne semble affecter ni le pH, ni la CEC, ni le fractionnement granulométrique du sol. En revanche, l'apport d'herbe fraîche change considérablement l'état microbiologique du sol (Tableau XVI). En effet, la biomasse du lot de terre amendé (Roth 3) est environ deux fois supérieure à celle de Roth 2 (respectivement $1350 \mu\text{g C.g}^{-1}$ et $620 \mu\text{g C.g}^{-1}$). Cette augmentation est également observée au niveau des dénombrements bactériens passant d'environ 10^8 à 10^9 UFC.g^{-1} , pour Roth 2 et Roth 3 respectivement.

Tableau XVI : Principales propriétés biologiques du lot de terre Roth 3 comparées à celle de Roth 2

Caractéristiques du lot de terre amendé	Roth 2	Roth 3
Biomasse C ($\mu\text{g C.g}^{-1}$)	620	1350 ($\times 2,2$)
Dénombrement bactérien (UFC.g^{-1})	$1,5 \cdot 10^8$	$2,0 \cdot 10^9$ ($\times 13$)

3.2. Impact sur la mobilité du sélénium

3.2.1. Sorption du sélénite

L'isotherme de sorption du lot de terre Roth 3 est peu différente de celle du lot de terre non amendé Roth 2, les valeurs expérimentales étant confondues (Figure 42).

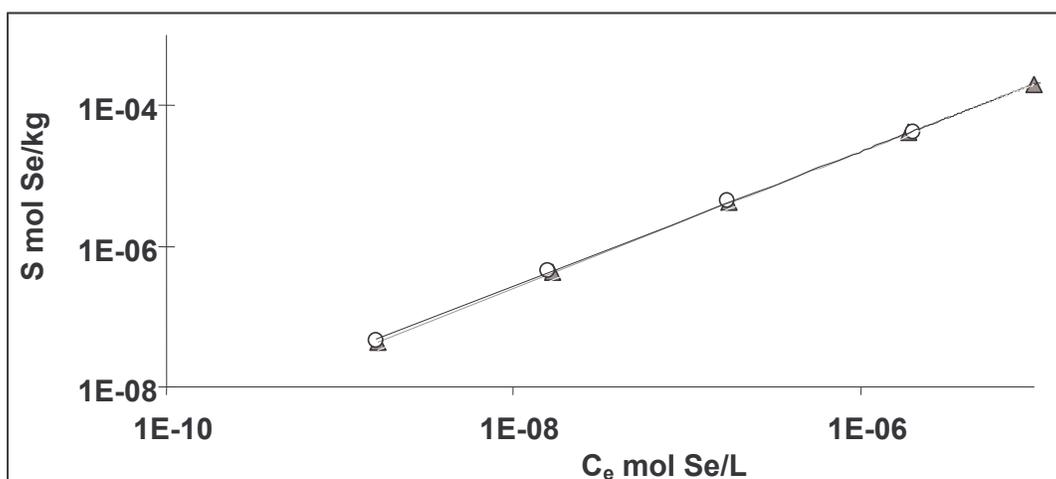


Figure 42 : Isotherme de sorption du sélénite sur le lot de terre Roth 3 (○) ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h ; [Se] initiales = C_i : 10^{-8} ; 10^{-7} ; 10^{-6} ; 10^{-5} ; $5 \cdot 10^{-5}$ mol.L⁻¹ (erreur 2σ confondue avec la taille des symboles)

Les données expérimentales de l'isotherme de sorption du sélénite sur Roth 3, comme dans le cas de Roth 2, s'ajustent parfaitement avec l'équation de Freundlich ($R^2 = 0,9996$). La valeur de la constante de Freundlich n étant également proche de 1 ($n = 0,9537$), l'isotherme du lot de terre Roth 3 peut donc être

approximée par la relation linéaire $S = K_d C_e$. Les résultats obtenus montrent que l'amendement n'a pas affecté significativement l'affinité du sol vis-à-vis du sélénium.

L'apport de matière organique semble en revanche affecter la cinétique de la réaction de sorption du sélénite (Figure 43). Un pseudo-équilibre est atteint au bout de 24 h de réaction alors qu'avant l'amendement l'équilibre se produisait pour des temps plus courts (entre 4 et 16 h).

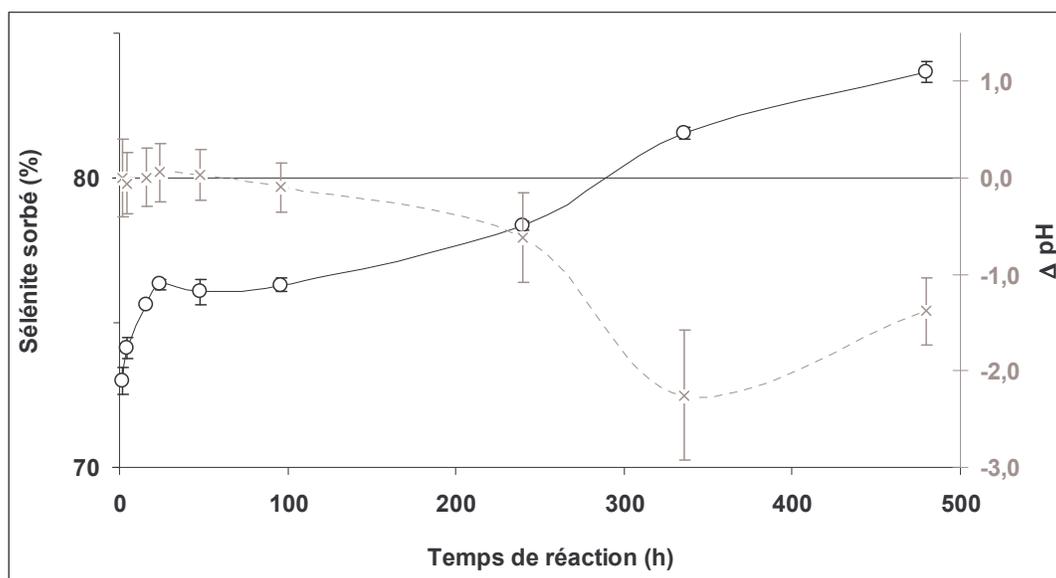


Figure 43 : Cinétique de sorption du sélénite sur le lot de terre Roth 3 (O) et suivi des variations de pH (x) durant la cinétique ; ratio m/V = 1/5 ; [Se] initiale = $C_i : 10^{-8} \text{ mol.L}^{-1}$ (erreur 2σ)

De plus, pour des temps supérieurs à 96 h une augmentation des quantités sorbées est observée. L'augmentation d'environ 10 % des quantités de sélénite sorbées est corrélée à une acidification du milieu (Figure 43), ce qui est en accord avec la littérature (Neal *et al.* 1987a; Dhillon and Dhillon 1999; Goh and Lim 2004). Des phénomènes de fermentation, envisageables pour des temps longs, peuvent expliquer cette acidification (Deneux-Mustin *et al.* 2003).

Le système fermé « batch » engendre des conditions particulières d'anoxie pour des temps importants, conduisant à cette fermentation. Ainsi, dans le cas de sols possédant des teneurs en carbone organique importantes, l'utilisation de temps trop longs peut conduire à une augmentation des capacités de sorption du sélénite

qui ne sont pas représentatives des capacités de sorption du sol en conditions oxiques.

3.2.2. Désorption

Les quantités de sélénium désorbées pour le lot de terre Roth 3 sont sensiblement identiques à celles de Roth 2 (non amendé) et ne concernent qu'une toute petite partie du sélénium initialement introduit (inférieure à 1 %). Les valeurs de K_d pour les lots de terres Roth 2 et Roth 3 sont donc équivalentes (Figure 44).

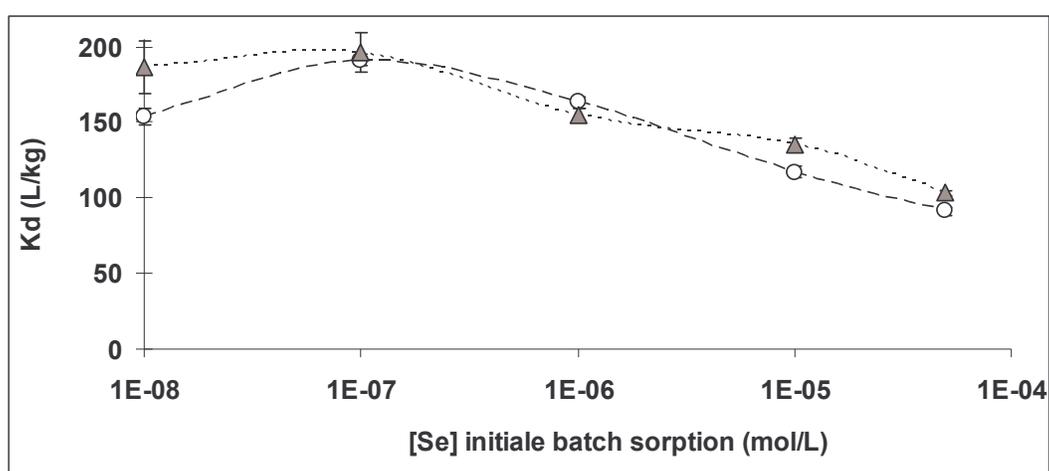


Figure 44 : Valeurs des coefficients K_d de désorption du lot de terre Roth 3 (○), comparées à celles de Roth 2 (▲), en fonction des concentrations en sélénite initiales des expériences de sorption ; ratio $m/V = 1/5$; 48 h (erreur 2σ)

4. Partition solide du sélénium

La fraction de sélénium remobilisable étant faible (< 4 % du sélénium total), il est nécessaire de s'intéresser à la partition solide du sélénium dans le sol et à la stabilité des composés formés.

4.1. Extractions séquentielles

Les résultats d'extractions séquentielles (Figure 45) renseignent (i) sur la disponibilité du sélénium, c'est-à-dire sur son éventuelle remobilisation et (ii) sur la spéciation solide du sélénium, dans la mesure où le sélénium extrait correspond aux phases ciblées par l'extractant. Le sélénium extrait peut ainsi être classé en sélénium facilement, potentiellement et difficilement remobilisable suivant les extractants utilisés.

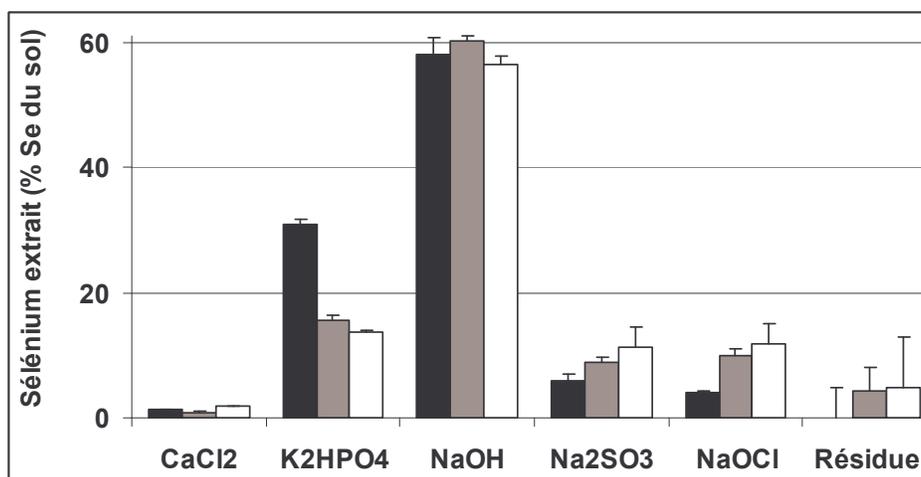


Figure 45 : Proportion du sélénium extraite par extractions séquentielles des lots de terre Roth 1 (en noir), Roth 2 (en gris) et Roth 3 (en blanc) (erreur 2σ)

4.1.1. Sélénium extrait par CaCl₂ et K₂HPO₄ (facilement remobilisable)

L'extraction au CaCl₂, précédemment discutée (= désorption § 1.2 et 3.2.2), conduit à une faible extractabilité du sélénite par CaCl₂. L'extraction par le K₂HPO₄ conduit à une remobilisation de respectivement 30,8 ; 15,6 et 13,7 % du sélénium initialement présent dans les lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3. Ces résultats suggèrent aussi que l'état organique initial du sol joue un rôle important à cet égard,

car plus la teneur en MO est importante, plus les quantités de sélénium extraites sont faibles. Les phosphates étant censés extraire principalement le sélénium sorbé sur certaines phases minérales du sol – argiles et oxydes métalliques – (Wright *et al.* 2003; Dhillon *et al.* 2005), les différences observées peuvent être expliquées (i) par des phénomènes de recouvrement des phases minérales (coating) (Saeki and Matsumoto 1994a) et/ou (ii) par des associations entre le sélénium et la MO (Abrams *et al.* 1990; Gustafsson and Johnsson 1992) ; l'augmentation des teneurs en MO entraînant une diminution des quantités de sélénium liées aux phases minérales. Pour les sols les plus organiques, le recouvrement des phases minérales par la MO peut entraver l'accessibilité des ions phosphates pour la fraction de sélénium liée aux phases minérales. Cette dernière hypothèse d'interaction des phosphates avec la MO peut notamment être justifiée par les quantités importantes de carbone organique extraites par les phosphates (Figure 46).

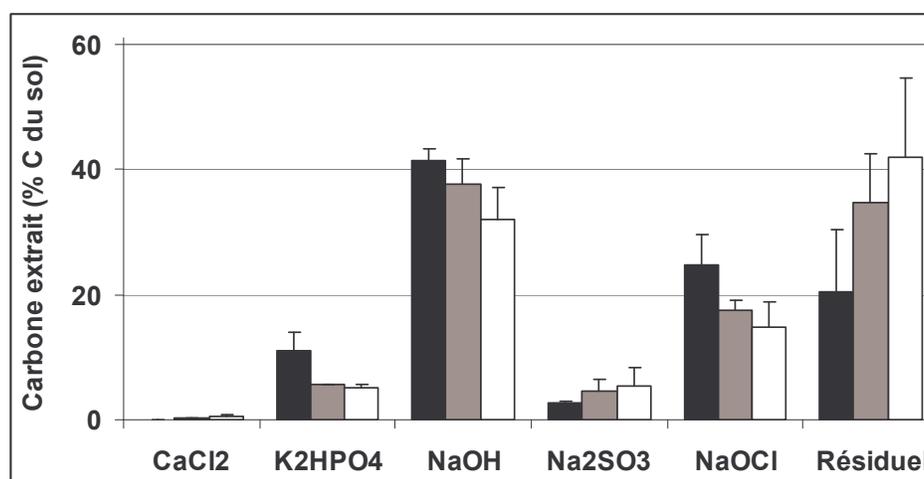


Figure 46 : Proportion du carbone organique du sol extraite lors des extractions séquentielles des lots de terre Roth 1 (en noir), Roth 2 (en gris) et Roth 3 (en blanc) (erreur 2 σ)

4.1.2. Sélénium extrait par NaOH (potentiellement remobilisable)

L'étape d'extraction par NaOH est censée cibler préférentiellement le sélénium associé aux substances humiques (Wright *et al.* 2003; Zawislanski *et al.* 2003). Les résultats d'extractions séquentielles obtenus ont montré qu'environ 60 %

du sélénium était extrait avec la soude quel que soit le sol. Les résultats obtenus, bien qu'étant en adéquation avec ceux obtenus dans la littérature (Abrams *et al.* 1990; Gustafsson and Johnsson 1992), sont assez inattendus car indépendants de la teneur en MO des échantillons de terre. En effet, les quantités de substances humiques extraites par NaOH sont différentes selon les lots de terre ($4,0 \pm 0,1$; $15,4 \pm 0,9$ et $15,6 \pm 1,3 \text{ mg}_C \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol}}$ respectivement pour Roth 1, Roth 2 et Roth 3) ; néanmoins, elles ont représenté pour tous les échantillons de terre une proportion relativement similaire du carbone organique du sol (Figure 46, variant entre $41,4 \pm 1,8 \%$ pour Roth 1 et $31,9 \pm 5,2 \%$ pour Roth 3). Les quantités de sélénium dans les lots de terre étudiés étant de l'ordre du ppb ($2,2 \cdot 10^{-9} \text{ g}_{\text{Se}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol}}$), les sites de sorption du sélénite présents sur les substances humiques doivent être en large excès. Dans ce cas, une faible quantité de substances humiques ($< 4,0 \pm 0,1 \text{ mg}_C \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol}}$) pourrait suffire à expliquer la forte proportion de sélénium associé (60 % du sélénium du sol), sans influence des quantités de MO du sol.

L'extraction des substances humiques observée (acides humiques + acides fulviques) par la soude est indéniable car c'est l'utilisation de ce protocole d'extraction (NaOH $0,1 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$) qui est à l'origine de la définition des substances humiques (IHSS). Cependant, concernant le sélénium, la spécificité de la soude est assez ambiguë. En effet, les ions hydroxydes à de telles concentrations sont notamment susceptibles d'altérer les aluminosilicates et les argiles (Gleyzes *et al.* 2002) et, par conséquent, d'extraire partiellement le sélénium lié à ces phases minérales. De plus, le sélénium associé aux oxydes de fer est totalement extrait dans ces conditions (Jackson and Miller 2000). L'extraction par la soude du sélénium sorbé sur les phases minérales du sol devrait être négligeable de par l'extraction précédente utilisant le K_2HPO_4 . Or, certains auteurs ont démontré que, dans le cas des oxydes de fer, la fraction du sélénite sorbée, non extraite par les phosphates, représentait environ 20 % pour la goethite (Jackson and Miller 2000; Wright *et al.* 2003) et 60 % dans le cas d'oxydes amorphes (Jackson and Miller 2000).

Par conséquent, les quantités de sélénium extraites doivent être interprétées avec prudence et peuvent représenter en partie le sélénium associé aux substances humiques ou bien provenir des phases minérales (notamment des oxydes de fer ; (Nakamaru *et al.* 2005), la proportion du sélénium organique et minéral étant difficilement accessible.

4.1.3. Sélénium extrait par Na₂SO₃ et NaOCl et sélénium résiduel (difficilement remobilisable)

Plus le sol est organique, plus les quantités de sélénium extraites par l'ensemble de Na₂SO₃ et NaOCl sont importantes (respectivement de 10,0 ± 1,3 %, 18,8 ± 1,9 % et 23,0 ± 6,4 % pour Roth 1, Roth 2 et Roth 3). Ces résultats suggèrent que la MO du sol conduit à la formation d'associations plus stables (plus difficilement extractibles) du sélénium avec certaines composantes du sol.

L'efficacité et la sélectivité de l'extraction du sélénium élémentaire par Na₂SO₃ a été vérifiée et optimisée par Wright *et al.* (2003) sur des phases pures. Étant en condition aérobie, la réduction abiotique du sélénium doit être négligeable par rapport à celle d'origine biotique. Lors de cette étape, respectivement 5,9 ± 1,0 %, 8,8 ± 0,9 % et 11,2 ± 3,2 % de sélénium sont extraits pour Roth 1, Roth 2 et Roth 3. Ces résultats suggèrent que la formation de sélénium élémentaire est plus importante pour des sols organiques qui contiennent des biomasses plus importantes. Cependant, les quantités de sélénium extraites, semblent aussi corrélées au carbone extrait. Le Na₂SO₃ pouvant également extraire partiellement du sélénium (-II) (Wright *et al.* 2003) et le sélénium organique étant généralement à cet état d'oxydation, les quantités extraites peuvent aussi être des composés organiques du sélénium non extraits par l'étape NaOH précédente.

L'extraction au NaOCl est une étape d'oxydation de l'échantillon conduisant à une destruction de la MO tout en minimisant l'attaque de la phase minérale (Gleyzes *et al.* 2002). Bien que Wright *et al.* (2003) aient reporté qu'une fraction du sélénium associée à la pyrite pouvait être extraite par NaOCl, cette hypothèse peut être négligée de par nos conditions expérimentales (contamination récente en conditions oxygènes). Ainsi, dans notre schéma d'extractions séquentielles, l'étape d'extraction par NaOCl doit principalement solubiliser le sélénium associé à la MO réfractaire. Ce pool correspond à la MO difficilement attaquant en partie les humines. La fraction du sélénium qui est associée à ce type de MO est donc très difficilement remobilisable. Les quantités de sélénium extraites lors de l'attaque au NaOCl confirment cette relation avec la MO, avec des valeurs de sélénium extrait très nettement inférieures pour le lot de terre Roth 1 (4,1 ± 0,3 % du sélénium total)

comparées aux lots de terre Roth 2 et Roth 3 (respectivement $10,0 \pm 1,0$ et $11,8 \pm 3,2$ % du sélénium total). Bien que de nombreuses réserves puissent être formulées sur les associations sélénium-MO lors des précédentes extractions, ces résultats tendent à prouver l'existence d'un tel lien. Dans ce cas, la difficile extractabilité du sélénium tend à suggérer la formation de liaisons fortes entre le sélénium et la MO réfractaire.

La fraction résiduelle est en fait obtenue par différence entre le sélénium sorbé sur le solide et la somme du sélénium extrait par les différents extractants. L'erreur associée à la fraction résiduelle étant la somme des erreurs (2σ) de chaque extraction. La fraction résiduelle ne représente que $0 \pm 4,9$ % du sélénium total pour Roth 1, $4,3 \pm 3,7$ % pour Roth 2 et $4,9 \pm 8,0$ % pour Roth 3. Ces résultats indiquent donc que le protocole utilisé permet une extraction quasi-complète du sélénium sorbé.

4.2. Fractionnement granulo-densimétrique

La partition solide du sélénium obtenue par le fractionnement granulo-densimétrique est très différente selon le lot de terre considéré. La Figure 47 représente le pourcentage pondéral des différentes fractions séparées par la méthode de fractionnement granulo-densimétrique (Figure 47 A), le pourcentage de sélénium associé à chaque fraction (Figure 47 B) et les proportions de carbone organique du sol que représentent chacune des fractions (Figure 47 C et D).

Quels que soient les lots de terre étudiés, la fraction inférieure à $50 \mu\text{m}$ (non représentée Figure 47) est majoritaire, représentant respectivement environ 85 % de la masse de Roth 1 et 73 % de la masse des lots de terre Roth 2 et Roth 3. Cette fraction composée de limon et d'argile contient également environ 70 % du carbone organique de Roth 2 et Roth 3 et la quasi-totalité de la MO de Roth 1. De telles quantités de carbone organique, ainsi que la forte affinité du sélénium pour les phases minérales présentes dans la fraction $< 50 \mu\text{m}$ (argiles et oxydes métalliques) expliquent les quantités de sélénium retrouvées de l'ordre de 85 % pour les échantillons de terre organiques Roth 2 et Roth 3 et de plus de 90 % pour Roth 1.

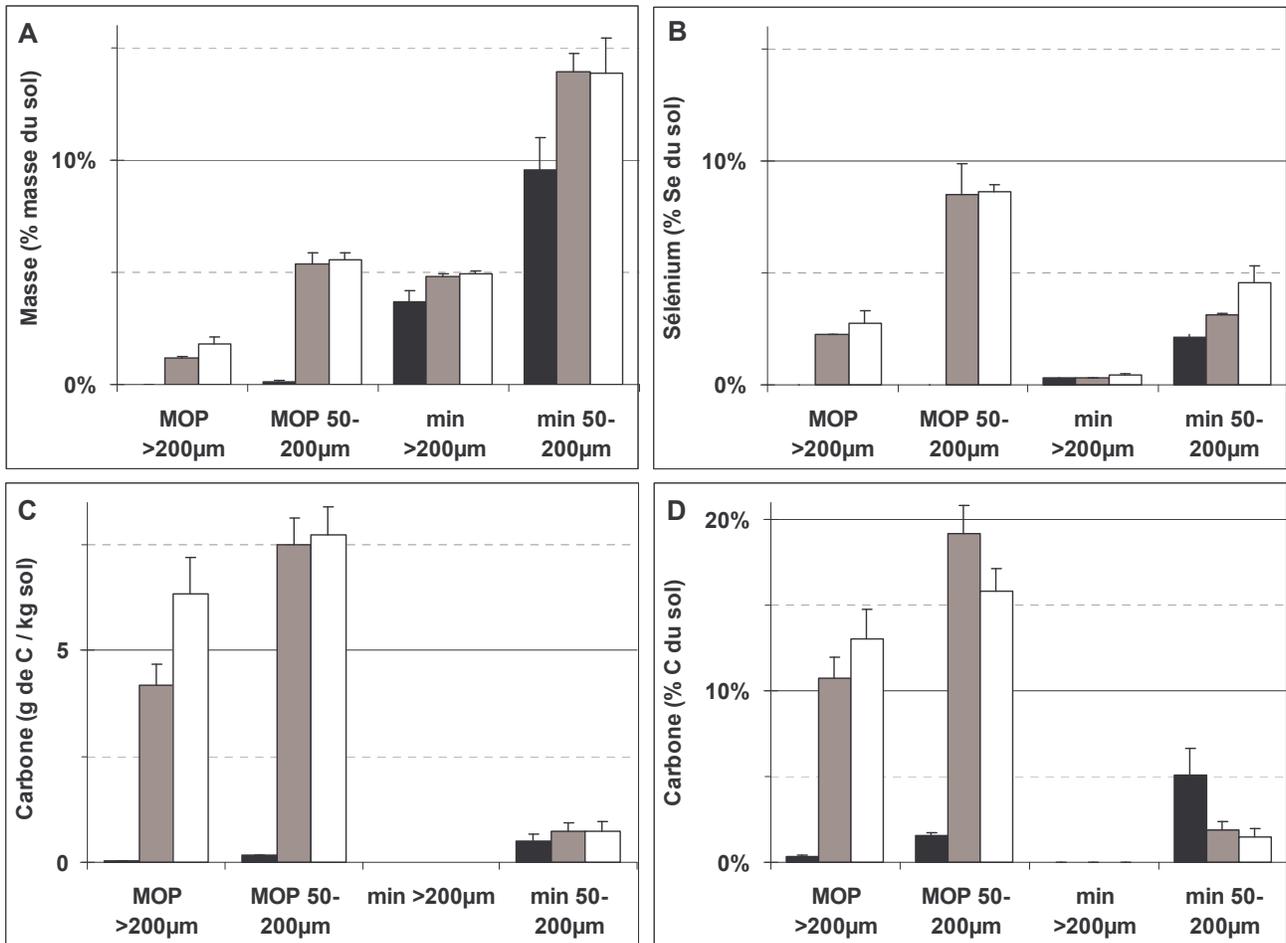


Figure 47 : Séparation granulo-densimétrique des lots de terre Roth 1 (en noir), Roth 2 (en gris) et Roth 3 (en blanc) à T_0 : (A) masse des fractions isolées, (B) sélénium associé à ces fractions, (C) proportion du carbone organique du sol exprimée en $g_C \cdot kg^{-1}_{sol}$ et (D) exprimée en % du carbone du sol

Les quantités de sélénium initialement associées aux fractions de MOP représentent respectivement 0,03 ; 10,7 et 11,4 % du sélénium des lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3 (Figure 47 B). Les résultats obtenus montrent donc qu'une proportion relativement importante du sélénium est associée aux fractions de MOP lorsque celles-ci sont présentes dans les sols (fractions négligeables dans Roth 1, Figure 47 A). La réactivité de la MOP a déjà été étudiée pour certains métaux lourds, révélant la présence de quantités significatives de zinc, de plomb, de cadmium et de cuivre associées à cette fraction organique (Balabane *et al.* 1999; Besnard *et al.* 2001; Balabane and Van Oort 2002). Cependant ces observations ne concernaient que des cations. Les résultats obtenus dans notre étude prouvent donc que les

anions peuvent également interagir avec la MOP du sol. L'existence du lien entre le sélénium et la MOP est un résultat important car, d'une part, la MOP représente près d'un tiers du carbone organique du sol (Figure 47 D) et d'autre part car elle est censée être dégradée plus rapidement que la MO inférieure à 50 μm (Hassink 1995; Balesdent 1996). Ainsi, la dégradation de cette fraction peut conduire à une modification de la partition solide du sélénium, voire à sa remobilisation.

Les teneurs en sélénium des fractions minérales supérieures à 50 μm sont largement inférieures à celles des fractions organiques de même granulométrie, représentant respectivement 2,5 ; 3,4 et 5,0 % du sélénium total pour Roth 1, Roth 2 et Roth 3. Dans le détail, la fraction minérale la plus grossière ($\text{min}_{>200 \mu\text{m}}$) ne contient en moyenne que 0,4 % ($\pm 0,1$) du sélénium quel que soit le sol. La fraction $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$ est la fraction contenant la majeure partie du sélénium associée à la fraction minérale supérieure à 50 μm . Cependant, cette fraction minérale contient également du carbone organique, soit respectivement 153, 205 et 214 $\text{mg}_\text{C} \cdot \text{kg}^{-1}_\text{sol}$ pour Roth 1, Roth 2 et Roth 3. La présence de carbone organique dans cette fraction contrairement à la fraction $\text{min}_{>200 \mu\text{m}}$, représente une petite partie de la $\text{MOP}_{50-200 \mu\text{m}}$ non séparée de la fraction minérale. Par extrapolation, la MOP présente dans la fraction $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$ peut contribuer à environ 0,6 et 0,8 % du sélénium du sol respectivement pour Roth 1 et pour les lots de terre Roth 2 et Roth 3.

D'autre part, la répartition du sélénium des échantillons de terre entre les fractions de MOP ($\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$ et $\text{MOP}_{50-200 \mu\text{m}}$) et les fractions minérales ($\text{min}_{>200 \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$) sont proportionnelles à la masse de ces deux types de fraction (Figure 48). Ainsi, les teneurs en sélénium de chacune des fractions isolées par fractionnement granulo-densimétrique (Tableau XVII) confirment les observations précédentes. En effet, quel que soit le sol, la fraction $< 50 \mu\text{m}$ contient des quantités de sélénium équivalentes à celles du sol pris dans sa globalité, avec respectivement $2,2 \cdot 10^{-9}$ et $2,6 \cdot 10^{-9} \text{g}_{\text{Se}}/\text{g}_{\text{fraction}}$ pour la fraction $< 50 \mu\text{m}$ et pour le sol. En revanche, avec environ $3,5 - 3,8 \cdot 10^{-9} \text{g}_{\text{Se}}/\text{g}_{\text{fraction}}$ pour les fractions $\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$ et $\text{MOP}_{50-200 \mu\text{m}}$, la MOP montre un enrichissement en sélénium au détriment des fractions minérales $\text{min}_{>200 \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$ (qui contiennent entre $0,2 - 0,6 \cdot 10^{-9} \text{g}_{\text{Se}}/\text{g}_{\text{fraction}}$). Ces résultats montrent que les quantités de sélénium associées à chaque fraction (i) sont fonction de la nature organique ou minérale de la fraction, (ii) ne varient pas selon l'état organique et microbiologique du sol, et (iii) dépendent peu de la taille des fractions

considérées. Or, la MOP des échantillons de terre étudiés est constituée de débris végétaux à différents stade de dégradation répartis dans les différentes fractions (Cambardella and Elliot 1992; Chabroulet *et al.* 2006). Cela se traduit notamment par des compositions chimiques distinctes avec 350 et 140 mg_C.g_{fraction} de carbone organique pour les fractions MOP_{>200 μm} et MOP_{50-200 μm} respectivement. Les résultats obtenus suggèrent donc que l'association du sélénium pour la MO est indépendante de l'état de dégradation de la MO et donc de la nature chimique des composés organiques (Kogel-Knabner 2002).

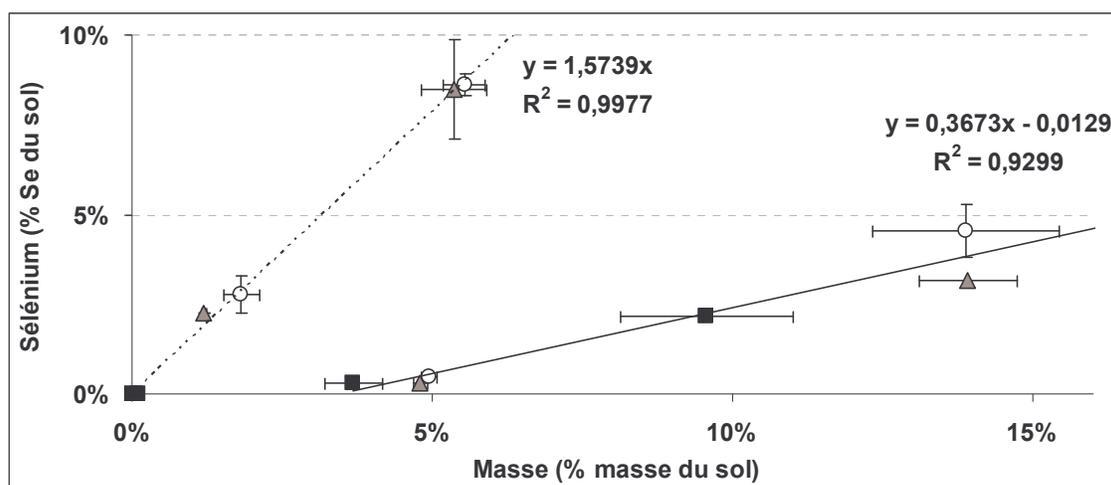


Figure 48 : Sélénium associé à chacune des fractions séparées par fractionnement granulo-densimétrique en fonction de la masse de ces fractions pour les lots de terre Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (O); corrélations obtenues pour les fractions minérales (—) et les fractions de MOP (- - -)

Tableau XVII : Quantités de sélénium associées à chacune des fractions isolées par séparation granulo-densimétrique exprimées en 10⁻⁹g_{Se}/g_{fraction} (ppb)

10 ⁻⁹ g _{Se} /g _{fraction}	Roth 1	Roth 2	Roth 3	moyenne
MOP _{>200 μm}	-	4,1 (± 0,2)	3,4 (± 1,2)	3,8 (± 0,5)
MOP _{50-200 μm}	-	3,5 (± 0,9)	3,4 (± 0,4)	3,5 (± 0,1)
min _{>200 μm}	0,19 (± 0,04)	0,13 (± 0,02)	0,21 (± 0,03)	0,18 (± 0,04)
min _{50-200 μm}	0,50 (± 0,10)	0,50 (± 0,04)	0,72 (± 0,21)	0,57 (± 0,13)
Sol <50 μm	2,5 (± 0,2)	2,6 (± 0,2)	2,3 (± 0,1)	2,5 (± 0,2)
Sol	2,2 (± 0,2)			

5. Conclusion

Les trois lots de terre étudiés sont quasi-identiques du point de vue de leurs compositions minéralogiques et de leurs principales caractéristiques physico-chimiques, tout en présentant des états organiques très contrastés. Ainsi, les expériences réalisées ont pu montrer que le taux de sorption du sélénite dépendait de l'état organique du sol ; plus le sol est organique, moins le sélénite est sorbé. L'ajout d'un amendement organique, jouant principalement sur la nature des composés organiques présent dans le sol, n'a que peu affecté la quantité de sélénite sorbée. Ces résultats suggèrent donc que la capacité de sorption du sélénite est plus influencée par la quantité de MO que par la nature des composés organiques présents.

D'autre part, le sélénium est apparu comme étant très faiblement mobile quel que soit le sol, avec des quantités de sélénium désorbées de l'ordre du pourcent. Par conséquent, la désorption s'est avérée être peu influencée par l'état organique du sol. La connaissance de la « spéciation solide » du sélénium (98 % du sélénium total) est capitale afin d'appréhender son éventuelle remobilisation en fonction des conditions environnementales. Ainsi, les résultats obtenus ont montré que l'extraction du sélénium par les phosphates est d'autant plus importante que le sol est peu organique. La fraction facilement extractible représente environ un tiers du sélénium sorbé pour le sol le moins organique. Les résultats de cette étude tendent à démontrer que l'exploitation agricole de sols contaminés (exemple, l'utilisation d'engrais phosphatés (apport $\text{PO}_4^{2-}/\text{HPO}_4^-$)) peut avoir des répercussions significatives sur la mobilité du sélénium.

Une fraction importante du sélénium sorbé sur le sol peut être considérée comme étant associée à la MO. Cette association a été observée en particulier avec la MO supérieure à 50 μm (environ 11 % du sélénium associé à la MOP des lots de terre organiques Roth 2 et Roth 3), mais également avec la MO prise dans son ensemble. Ces associations sont (i) très probables avec la MO réfractaire (extraction par NaOCl de respectivement 4,1 ; 10,0 et 11,8 % du sélénium pour Roth 1, Roth 2 et Roth 3) ; (ii) probables avec les substances humiques (représentant une partie des 60 % du sélénium extrait par NaOH quel que soit le sol) et (iii) hypothétiques avec une fraction de la MO extraite par les phosphates. De plus, il apparaît intéressant

d'aller plus loin dans la définition des associations entre le sélénium et la MOP, notamment (i) en essayant de faire le lien entre cette partie du sélénium et les résultats d'extractions séquentielles et (ii) en précisant le(s) type d'association(s) existant entre la MOP et le sélénium (associations « directes » c'est-à-dire sélénium-composés organiques ou « indirectes » par exemple sélénium sorbé sur des phases minérales associées à la MOP).

Bien que les résultats obtenus tendent à démontrer l'existence de liaisons fortes entre le sélénium et les différentes composantes du sol, l'existence d'associations avec la MO peut conduire à des modifications temporelles importantes résultant de la dégradation biotique de la MO du sol. Dans ce sens, l'évolution de la contamination en sélénium du sol de prairie avec et sans amendement organique (Roth 2 et Roth 3) est d'autant plus intéressante à suivre dans le temps qu'ils possèdent initialement (T_0) un comportement quasi-identique vis-à-vis du sélénium. En effet, les différences importantes de l'état microbiologique du sol et des cinétiques de dégradation de la MO liées à l'apport d'herbe (Chap. III) peuvent impacter différemment les associations initialement observées entre le sélénium et les différentes composantes du sol.

Chap. V : Effet du vieillissement des lots de terre sur le comportement du sélénium

1. Remobilisation du sélénium

Les quantités de sélénium désorbées pour chacun des lots de terre contaminés ont été suivies tout au long de l'incubation (Figure 49), afin de voir si la dégradation de la MO du sol impactait cette désorption.

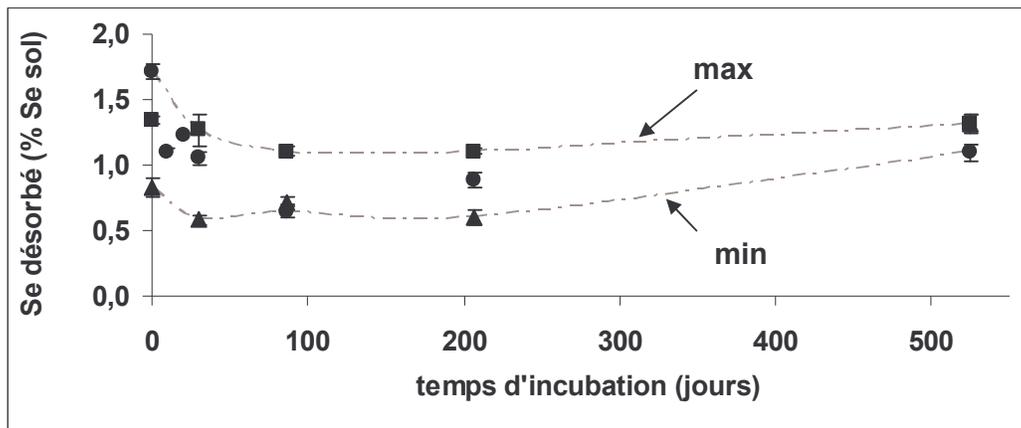


Figure 49 : Quantité de sélénium désorbée pour les sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (●) au cours de l'incubation ; ratio m/V = 1/5 ; 48 h (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)

Quel que soit l'état organique initial du sol, le sélénium était peu remobilisé (Chap. IV). De plus, la désorption du sélénium s'est avérée globalement très peu sensible à la dégradation de la MO du sol résultant de cette incubation (Figure 49). En effet, quel que soit l'état organique du sol, les quantités de sélénium désorbées étaient comprises entre 0,6 et 1,7 %. Ainsi, les différences observées au cours de l'incubation restent peu importantes en comparaison des 98,3 à 99,4 % de sélénium restant fixés sur les sols. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus sur le sélénium pour des sols acides (Dhillon and Dhillon 1999). Ces taux de désorption inférieurs à 1 % sont également classiquement obtenus pour d'autres éléments

comme le cadmium, le cuivre, le zinc, le manganèse ou le cobalt (Hesterberg 1998; Tagami and Uchida 1998).

L'étude du devenir d'un contaminant sur des périodes et des conditions similaires étant très rarement réalisée, la comparaison des données expérimentales obtenues avec la littérature s'avère difficile. Néanmoins, la diminution des quantités désorbées au cours d'incubation de sol de longue durée a été reportée avec d'autres éléments chimiques dont la remobilisation est très faible. C'est notamment le cas du manganèse, du cobalt, du technétium, du zinc (Tagami and Uchida 1998), du cuivre et de l'aluminium (Martinez *et al.* 2003). Cette diminution de la désorption généralement observée ne semble pas être liée à l'évolution du sol, mais plutôt au temps de contact entre le sol et le polluant. Ainsi, d'après McLaughlin (2001), plus le contaminant est en contact avec le sol, plus fortes sont les liaisons formées. Cette augmentation des forces de liaison pourrait résulter (i) soit de réarrangements du polluant sur la surface des phases solides du sol (McLaughlin 2001), (ii) soit d'une diffusion du contaminant sorbé de la surface vers l'intérieur de la structure cristalline des phases minérales du sol (McLaughlin 2001).

2. Interaction sélénium – microorganismes du sol

Les interactions entre le sélénium et les microorganismes sont nombreuses (Chap. I). Elles conduisent notamment à la formation d'espèces volatiles du sélénium par des phénomènes de réduction suivis de biométhylation (Frankenberger and Karlson 1994; Chasteen 1998) et également à l'internalisation de sélénium, soit par assimilation dans le métabolisme, soit par réduction et accumulation de sélénium élémentaire (Garbisu et al. 1996; Roux et al. 2001), soit éventuellement par sorption à la surface. Ainsi, les microorganismes du sol peuvent représenter une voie de transport du sélénium, soit par passage dans la phase gazeuse (volatilisation), soit par transport colloïdal (sélénium associé à la biomasse).

2.1. Volatilisation

Contrairement aux études purement microbiologiques (Azaizeh *et al.* 2003; Coquillat *et al.* 2005) ou à celles réalisées sur des sols ou sédiments sélénifères (Karlson and Frankenberger 1988b; Stork *et al.* 1999; Guo *et al.* 2001) où les flux de volatilisation en sélénium peuvent représenter 1 à 10 % du sélénium initialement introduit dans le système en seulement quelques jours d'incubation, la volatilisation du sélénium dans nos conditions expérimentales est un phénomène relativement faible. En effet, la proportion cumulée de sélénium volatilisé est inférieure à 0,2 % du sélénium total présent dans le sol sur une période de 18 mois (Figure 50). Bien qu'étant un phénomène globalement relativement faible dans notre étude, la volatilisation a tout de même représenté l'équivalent de 5 à 20 % du sélénium désorbable total des sols étudiés.

La cinétique de production de ces espèces volatiles du sélénium diffère grandement au cours de l'incubation et selon les lots de terre étudiés (Figure 51). Ainsi, la volatilisation observée pour Roth 1 était quasi constante au cours des 18 mois d'incubation, avec des flux journaliers moyens de 0,0002 % du sélénium du sol volatilisé par jour (Figure 51). Pour les sols plus organiques, une volatilisation plus importante est observée au début de l'incubation, avec respectivement 0,043 % et 0,084 % du sélénium total volatilisé le premier mois pour Roth 2 et Roth 3 (contre 0,006 % pour Roth 1).

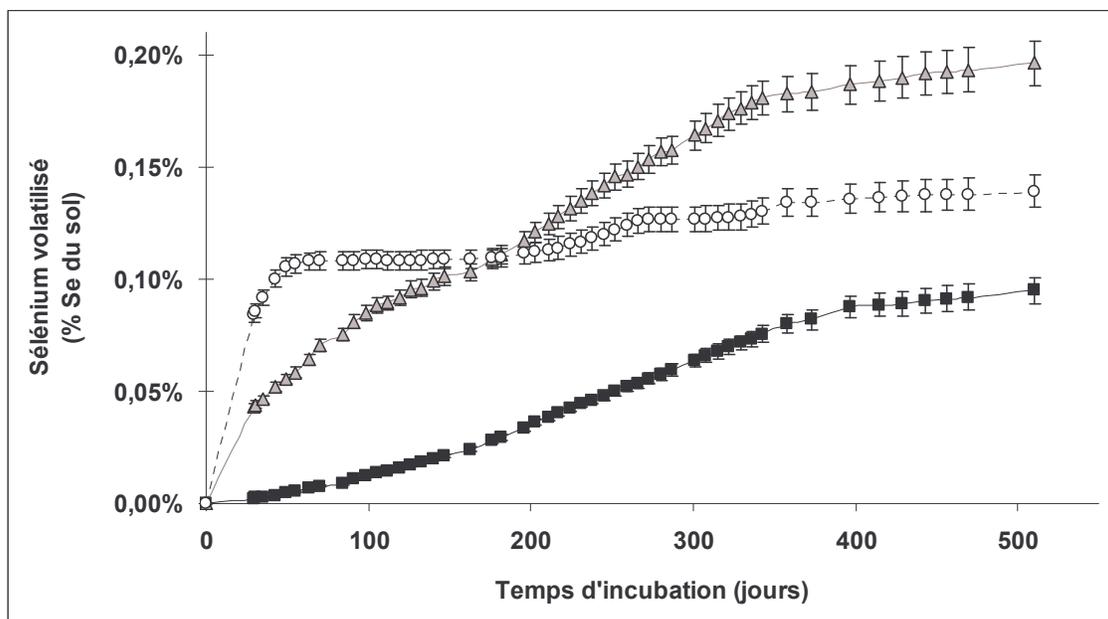


Figure 50 : Proportion cumulée de sélénium volatilisé pendant l'incubation des sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)

Ces quantités volatilisées correspondent respectivement à des flux journaliers moyens de 0,0015 et 0,0029 % du sélénium du sol volatilisé par jour. Ces flux observés durant le premier mois d'incubation semblent être fonction de l'état organique du sol. Plus le sol contient de carbone organique, plus les quantités volatilisées sont importantes. Cette augmentation de la volatilisation du sélénium a déjà été reportée dans le cadre de sols et de sédiments amendés en matière organique (Abu-Erreish *et al.* 1968; Calderone *et al.* 1990). Cependant, cette volatilisation intense en début d'incubation (pour les sols Roth 2 et Roth 3) décroît avec le temps d'incubation (Figure 51). Cette diminution est plus rapide pour le sol amendé qui atteint un flux journalier inférieur à celui de Roth 1 ($< 0,0002$ % du sélénium total volatilisé par jour) après seulement deux mois d'incubation. Pour le sol Roth 2, cette diminution est moins accentuée et relativement constante dans le temps.

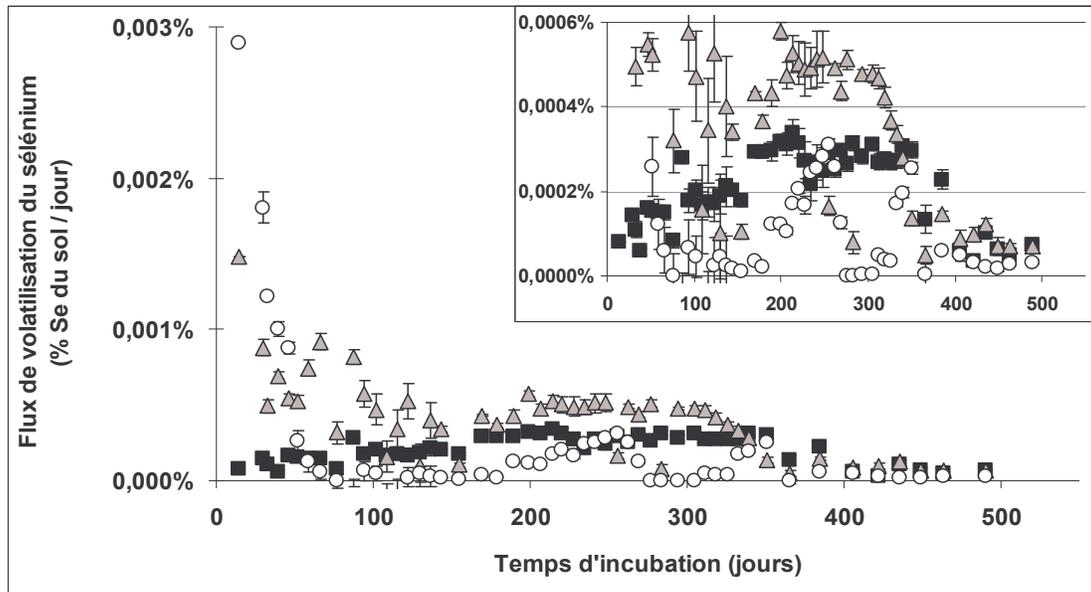


Figure 51 : Flux journaliers de volatilisation du sélénium pour les sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)

Ce phénomène de volatilisation du sélénium reste donc actuellement peu compris et aucune corrélation évidente n'a pu être établie entre les flux de volatilisation du sélénium obtenus durant les 18 mois d'incubation, les différents variables des sols étudiées (état organique, état microbiologique, etc.) et les données recueillies concernant le sélénium (sélénium désorbé, extrait par K_2HPO_4 , etc.).

La volatilisation du sélénium pourrait être influencée par la qualité de la MO (Calderone *et al.* 1990; Stork *et al.* 1999) ; ce qui expliquerait la diminution du flux de sélénium volatil plus importante pour Roth 3. De plus, la volatilisation du sélénium peut également dépendre des quantités de sélénium soluble (Abu-Erreish *et al.* 1968). Ainsi, si quel que soit le sol la volatilisation du sélénium représente de 5 à 20 % du sélénium total remobilisable, ce phénomène peut s'avérer relativement important concernant le fonctionnement global du sélénium, notamment dans les sols basiques où la fraction de sélénium soluble est généralement plus importante (Dhillon and Dhillon 1999; Nakamaru *et al.* 2006).

Dans notre étude les concentrations en sélénium utilisées sont relativement faibles (3 ordres de grandeur en dessous) par rapport à celles généralement trouvées dans la littérature (Karlson and Frankenberger 1988b; Stork *et al.* 1999; Guo *et al.* 2001). La volatilisation étant fréquemment considérée comme un

processus de détoxification (Garbisu *et al.* 1996), la teneur en sélénium du sol peut être un facteur déterminant du processus de biométhylation. En effet, les enzymes responsables de la biométhylation du sélénium, comme la thiopurine méthyltransférase (Ranjard *et al.* 2002), peuvent probablement être plus ou moins activées selon la concentration en sélénium environnante. Enfin, l'évolution potentielle de la volatilisation du sélénium doit être étudiée dans le cas de nouveaux apports organiques, lors de changements drastiques de communautés microbiennes, ou encore au niveau de la rhizosphère (où les quantités de microorganismes peuvent être plus importantes).

2.2. Sélénium associé à la biomasse

Les mesures des concentrations en sélénium dans les extraits fumigés et non-fumigés ont permis d'obtenir une estimation des quantités de sélénium associées à la biomasse par l'utilisation de la relation suivante dérivée de l'équation de Vance *et al.* (1987) :

$$\text{Equation 6} \quad \text{Se associé à la biomasse} = E_{\text{Se}} : k_{\text{ESe}}$$

Où E_{Se} est la différence entre les quantités de sélénium extraites par K_2SO_4 $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ des échantillons de sol fumigé et celles des échantillons non-fumigé ; k_{ESe} est une constante inconnue, permettant de relier les quantités de sélénium extraites aux quantités associées à la biomasse. Par défaut, nous avons considéré cette valeur égale à 1.

Les valeurs ainsi obtenues représentent initialement 0,2 % ($\pm 0,1$ %), 1,3 % ($\pm 0,2$ %) et 1,9 % ($\pm 0,3$ %) du sélénium sorbé sur les sols Roth 1, Roth 2 et Roth 3 respectivement. Cependant, ces valeurs de sélénium associé à la biomasse peuvent être fortement sous-estimées. En effet, les quantités de sélénium associées à la biomasse seraient par exemple doublées si la constante k_{ESe} était du même ordre de grandeur que celle reliant les quantités de carbone extraites aux valeurs de biomasse, représentant ainsi jusqu'à près de 4 % du sélénium total pour le lot de terre amendé.

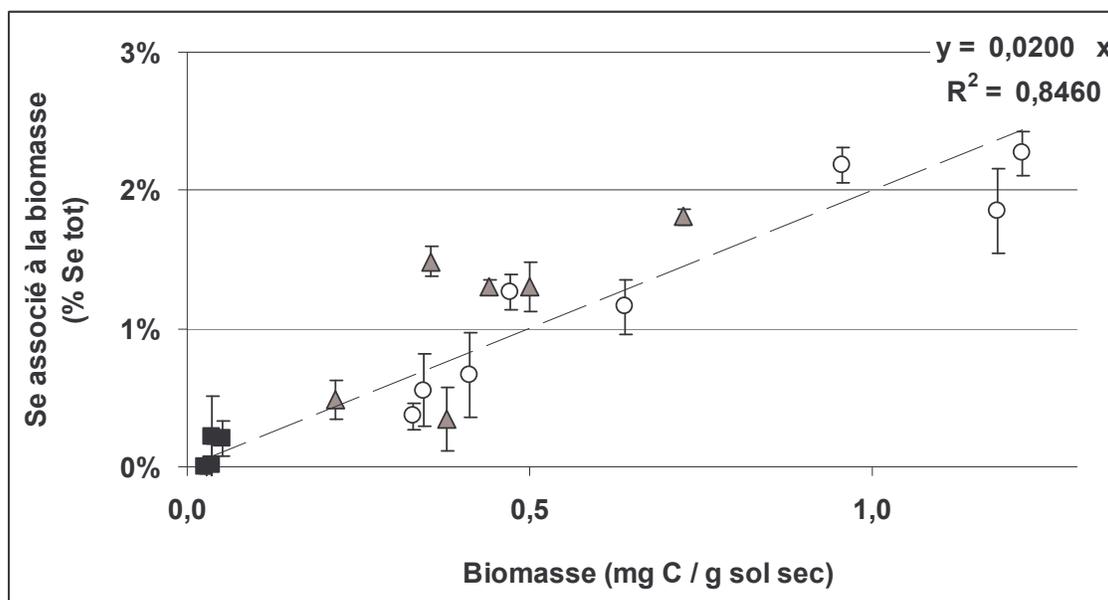


Figure 52 : Relation obtenue pour les sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) entre les quantités de sélénium associées à la biomasse et les valeurs de biomasse (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)

Les quantités de sélénium associées à la biomasse, obtenues pour les trois lots de terre à différents temps d'incubation, semblent être corrélées aux quantités de biomasse du sol ($R^2 = 0,8460$; Figure 52). L'incubation des sols organiques Roth 2 et Roth 3 conduisant à une diminution des quantités de biomasse (Chap. III), les quantités de sélénium associées à cette biomasse décroissent de la même façon au cours du temps. Les quantités de sélénium associées à la biomasse sont donc indirectement liées à l'état organique du sol. De plus, ces résultats montrent que le sélénium est rapidement associé à la biomasse, sans modification de ces quantités au cours du temps.

Les résultats obtenus dans cette étude permettent (i) de confirmer l'importance des interactions entre le sélénium et les microorganismes du sol et (ii) de fournir des ordres de grandeurs des associations sélénium-biomasse qui ne sont pas disponibles dans la littérature. De plus, la biomasse pouvant être un vecteur de transport colloïdal, la fraction de sélénium associée peut potentiellement migrer (Fontes *et al.* 1991; Guine *et al.* 2003). L'intensité de cette dispersion dépendra de la nature des interactions sélénium-biomasse (sélénium en surface des

microorganismes ou internalisé) et de l'évolution de la biodisponibilité du sélénium au cours du vieillissement d'un sol contaminé.

La spéciation du sélénium associé à cette fraction biotique du sol semble difficilement accessible de par la diversité microbienne des échantillons de terre (Chap. III) et la multitude de processus intervenant entre le sélénium et la biomasse selon les microorganismes en question (Chap. I). Cette fraction du sélénium du sol peut être partiellement (i) sous forme de composés organiques (Cooke and Bruland 1987; Stolz and Oremland 1999) et/ou (ii) sous forme élémentaire, Se (0), (Garbisu *et al.* 1996; Roux *et al.* 2001) et/ou (iii) sorbé à la surface des membranes des microorganismes et/ou (iv) dans le cytoplasme des microorganismes, sous forme inorganique complexée ou non.

3. Evolution de la partition solide du sélénium

Les résultats obtenus montrent la très faible mobilité du sélénium (desorption ~1 %) et ce quel que soit l'état organique du sol et de son évolution. Il reste cependant à s'assurer que les 98 – 99 % de sélénium resteront associés au sol. En particulier, de nombreux facteurs peuvent potentiellement conduire à une remobilisation de cette fraction. C'est pourquoi il est nécessaire de bien connaître la partition solide du sélénium et son évolution temporelle afin de mieux prédire son éventuelle remobilisation.

3.1. Extractions séquentielles

3.1.1. Extraction par les phosphates

Le suivi des quantités de sélénium extraites par les phosphates durant les 18 mois d'incubation (Figure 53 et Figure 55) a permis d'appréhender l'effet du vieillissement de la contamination sur la fraction disponible, potentiellement remobilisable dans l'environnement.

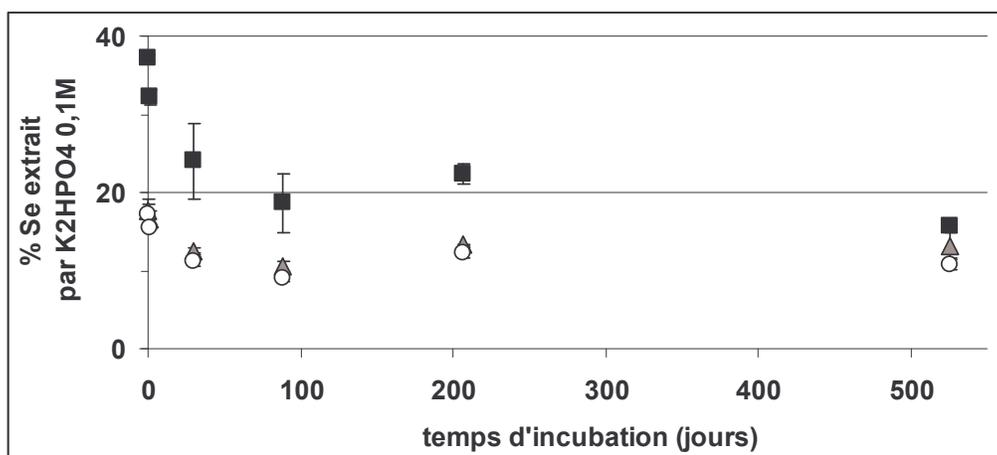


Figure 53 : Quantité de sélénium extraite des sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) par une solution de K_2HPO_4 0,1 M (erreur 2σ) ; résultats obtenus pour les sols contaminés au cours de l'incubation (à T_0 et après 29, 87, 206 et 525 jours d'incubation à $28^\circ C$) et pour les sols témoins non incubés après une étape de sorption du sélénite (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que le sélénium sorbé sur la phase solide du sol pouvait être solubilisé de façon conséquente par les ions phosphates, atteignant initialement au maximum environ 37 et 17 % respectivement pour le sol Roth 1 et pour les sols Roth 2 et 3 (quantités maximales obtenues pour les lots de terre témoins contaminés, résultats non présentés dans le Chap. IV). Cependant, cette fraction potentiellement disponible a diminué d'un facteur deux, principalement dans les trois premiers mois d'incubation, quel que soit le lot de terre considéré (Figure 54).

D'autre part, les quantités de carbone organique extraites par K_2HPO_4 n'ont pas évoluées au cours du temps d'incubation (Figure 54), contrairement à celle du sélénium. Ainsi, bien que les phosphates entraînent une solubilisation de quantités importantes de carbone organique, l'absence de relation entre le sélénium et la MO extraites corrobore l'hypothèse selon laquelle le carbone organique solubilisé par K_2HPO_4 n'est pas le facteur principal qui détermine le comportement du sélénium extrait par les phosphates (Nakamaru *et al.* 2006).

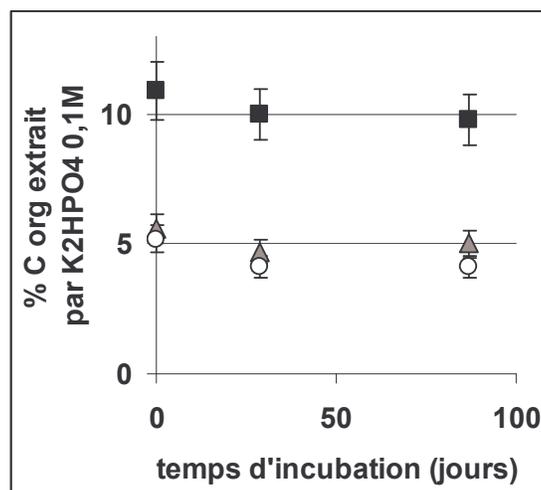


Figure 54 : Quantité de carbone organique extraite des sols Roth 1 (■), Roth 2 (▲) et Roth 3 (○) par une solution de K_2HPO_4 0,1 M (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)

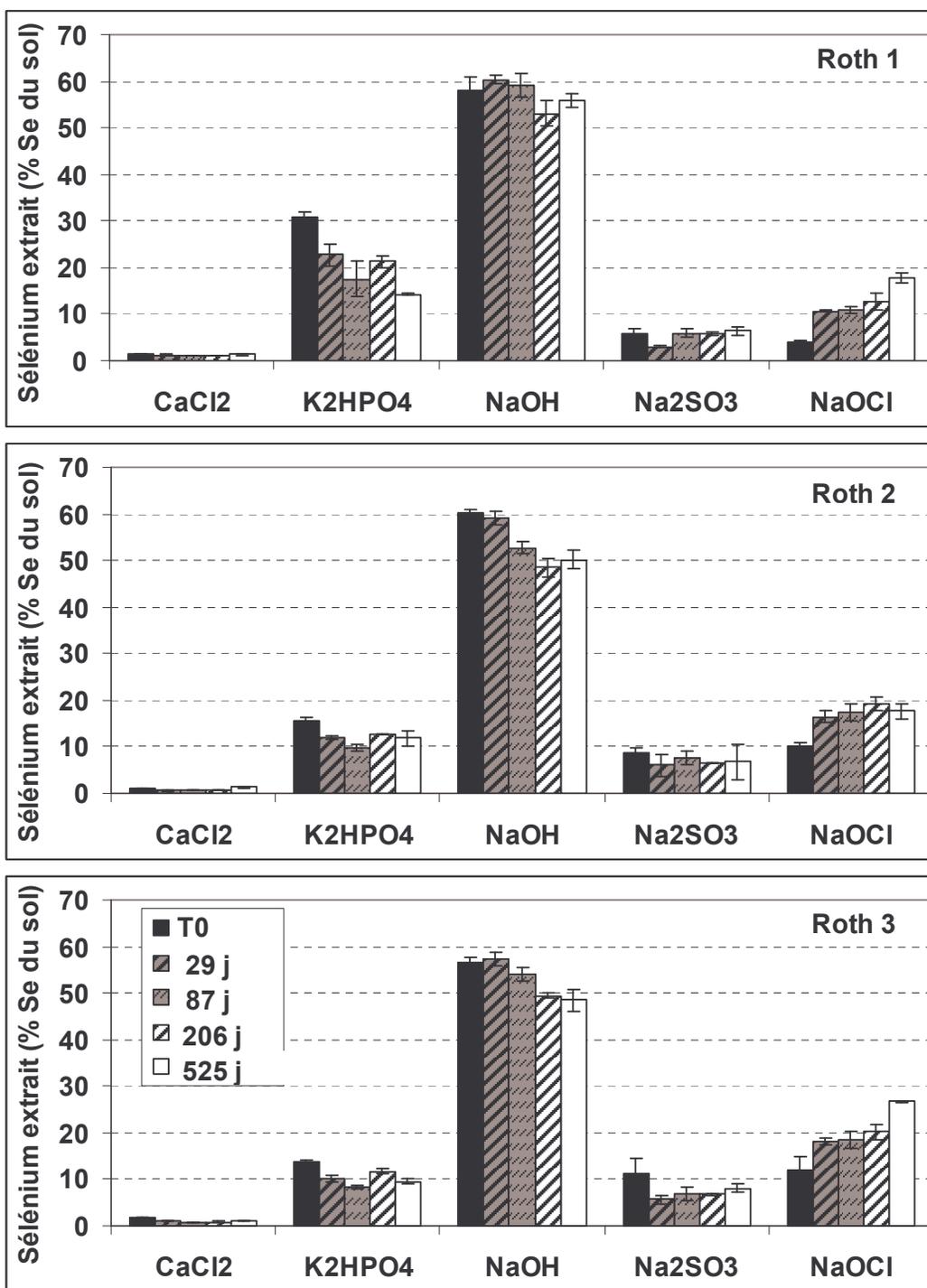


Figure 55 : Proportion de sélénium extraite par extractions séquentielles sur les sols Roth 1 (en haut), Roth 2 (au milieu) et Roth 3 (en bas) réalisées durant l'incubation des sols (à T₀, et après 29, 87, 206 et 525 jours d'incubation à 28°C) ; (erreur 2σ)

3.1.2. Extraction par NaOH 0,1 M

Les quantités de sélénium extraites par la soude diminuent également durant l'incubation, principalement pour les sols les plus organiques Roth 2 et Roth 3. (Figure 55). De plus, aucune modification significative des substances humiques extraites n'a été observée durant les 18 mois d'incubation aussi bien en termes de quantité globale que de répartition entre acides humiques / acides fulviques.

Ces résultats peuvent être expliqués soit (i) par une diminution de l'affinité de la liaison sélénium-phase solide ciblée par NaOH ; (ii) par une augmentation de l'affinité d'autres phases solides (ciblées par d'autres extractants) entraînant une redistribution du sélénium au sein du sol; (iii) par des transformations biotiques du sélénium modifiant la spéciation solide du sélénium.

3.1.3. Extraction par Na₂SO₃ et NaOCl

Au cours de l'incubation des sols, les diminutions des fractions de sélénium les plus facilement extractibles (par ordre d'accessibilité CaCl₂, K₂HPO₄ et NaOH) sont logiquement associées à une augmentation des fractions de sélénium les plus difficilement accessibles. Les quantités de sélénium extraites par Na₂SO₃ restent relativement stables dans le temps, seules les quantités extraites par NaOCl ont été augmentées.

L'augmentation des quantités de sélénium extraites par NaOCl peut être imputée en partie à l'évolution de la MO des sols au cours de l'incubation. Cette augmentation des quantités de sélénium associées à la MO réfractaire peut provenir de la dégradation de la MO. Celle-ci comprend une minéralisation des composés les plus facilement dégradables (probablement extraits avant l'étape NaOCl), mais également la formation de macromolécules organiques qui peuvent posséder plus de sites de sorption (composés aromatiques vs composés aliphatiques). Ces résultats peuvent également être attribués à une diffusion lente du polluant dans la structure des minéraux et/ou à la formation de liaisons plus stables entre le sélénium et la phase minérale (McLaughlin 2001).

3.1.4. Conclusion sur les modifications globales de la partition solide du sélénium

Les modifications de la spéciation solide du sélénium survenues pendant l'incubation des différents lots de terre étudiés ont clairement montré une stabilisation de la contamination au cours du temps, se traduisant par une diminution de la disponibilité du sélénium. Cependant, les résultats d'extractions séquentielles obtenus dans cette étude suggèrent tout de même une relative stabilité des associations initialement formées entre le sélénium et les différentes composantes du sol (Figure 55). En effet, les modifications de la spéciation solide du sélénium intervenues pour des temps d'incubation relativement longs (1,5 ans d'incubation, simulant près de 7 années en conditions naturelles) n'ont pas révélé de changements drastiques du comportement du sélénium dans les sols ; y compris dans le cas du lot de terre amendé qui a pourtant subi des modifications quantitatives et qualitatives importantes de sa MO et de son état microbiologique (chap. III).

3.2. Fractionnement granulo-densimétrique

L'évolution des quantités de sélénium associées aux fractions minérales (Figure 56) et organiques (Figure 57), séparées par fractionnement granulo-densimétrique a été suivie durant les 18 mois d'incubation des sols.

Les résultats obtenus n'ont pas révélé de modification significative des quantités de sélénium associé aux fractions minérales (Figure 56 et Figure 58 —▲— et —■—). Ces résultats suggèrent que les associations initialement formées avec ces fractions minérales sont relativement stables dans le temps. En revanche les associations entre le sélénium et la MOP ont évolué pendant l'incubation sauf dans le cas de Roth 1. En effet, Roth 1 ne possédant initialement quasiment pas de MOP (0,2 % de la masse du sol), l'association du sélénium sur cette fraction est logiquement demeurée quasi-inexistante (moins de 0,2 % du sélénium présent dans le sol) durant la totalité de l'expérience. Les proportions de sélénium associées à la MOP des sols Roth 2 et Roth 3, bien qu'étant initialement identiques, n'ont pas évolué de la même façon (Figure 57). L'augmentation légère de ces quantités pour Roth 2 était non significative car comprise dans l'incertitude (2σ). Pour Roth 3, le

sélénium associé à la MOP a fortement augmenté durant l'incubation pour atteindre $16,7 \pm 1,7$ % du sélénium du sol (erreur 2σ), soit une augmentation d'environ $\frac{1}{2}$ du sélénium initialement lié aux fractions de MOP.

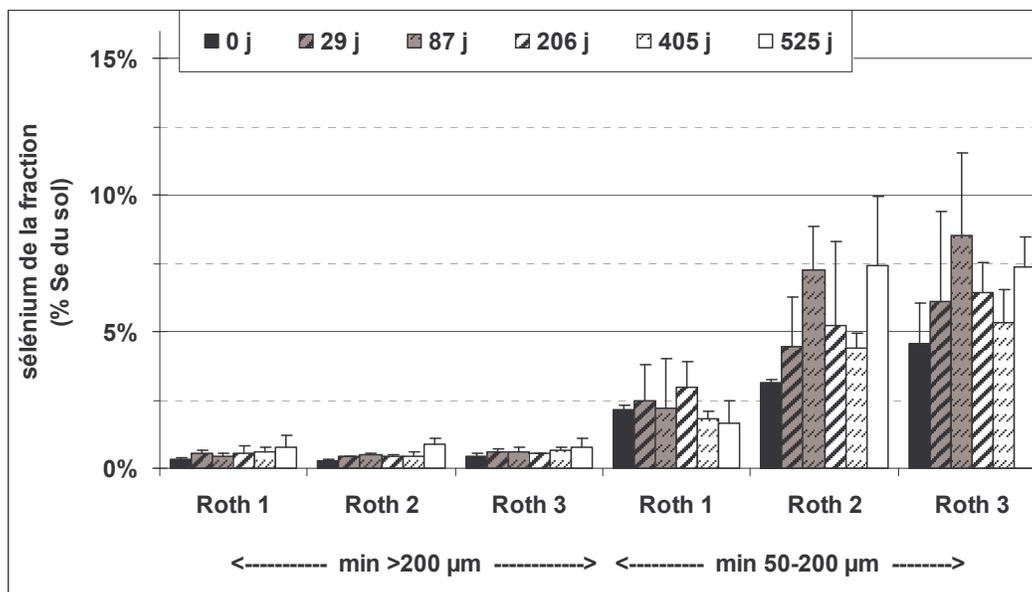


Figure 56 : Evolution temporelle des proportions de sélénium du sol associées aux fractions minérales ($\text{min}_{>200 \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$) des sols Roth 1, Roth 2 et Roth 3 séparées par fractionnement granulo-densimétrique (erreur 2σ)

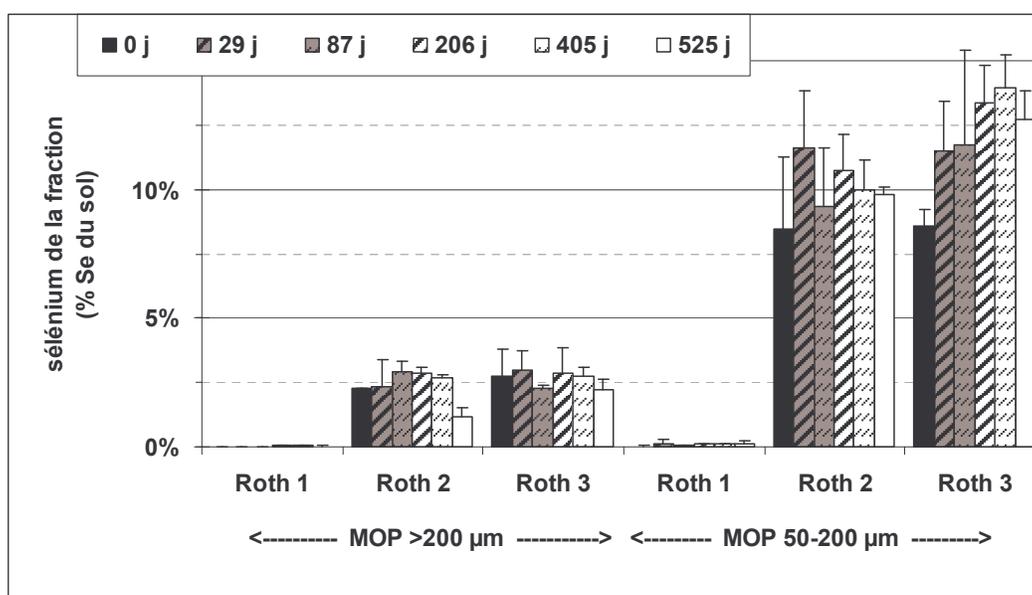


Figure 57 : Evolution temporelle des proportions de sélénium du sol associées aux fractions de matières organiques particulières ($\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$ et $\text{MOP}_{50-200 \mu\text{m}}$) de Roth 1,

Roth 2 et Roth 3 séparées par fractionnement granulo-densimétrique (erreur 2σ)

En effet, la proportion de sélénium initialement associée à la $MOP_{>200\ \mu\text{m}}$ a peu évolué pour les sols Roth 2 et Roth 3 au cours de l'incubation (Figure 57), excepté pour le sol Roth 2 après 525 jours. Or les quantités de cette fraction organique ont fortement diminué tout au long de l'incubation (cf. Chap. vieillissement des sols). La stabilité des proportions de sélénium associé à la $MOP_{>200\ \mu\text{m}}$, malgré les changements massiques importants de cette fraction (perte de $\frac{1}{2}$ pour Roth 2 et $\frac{3}{4}$ pour Roth 3 en 18 mois d'incubation) correspond donc à une augmentation des quantités de sélénium par masse de $MOP_{>200\ \mu\text{m}}$ (de $4,6$ à $6,4-8,6 \cdot 10^{-9}\ \text{g}_{\text{Se}} \cdot \text{g}^{-1}_{MOP_{>200\ \mu\text{m}}}$ pour Roth 2 et de $3,2$ à $7,2 \cdot 10^{-9}\ \text{g}_{\text{Se}} \cdot \text{g}^{-1}_{MOP_{>200\ \mu\text{m}}}$ pour Roth 3 ; Figure 58). Le sélénium associé à la $MOP_{50-200\ \mu\text{m}}$ n'a pas évolué significativement dans le sol Roth 2. En revanche, pour Roth 3 cette association a augmenté significativement (Figure 57), principalement au début de l'incubation, passant de $3,3$ à $4,8 \cdot 10^{-9}\ \text{g}_{\text{Se}} \cdot \text{g}^{-1}_{MOP_{50-200\ \mu\text{m}}}$ (Figure 58).

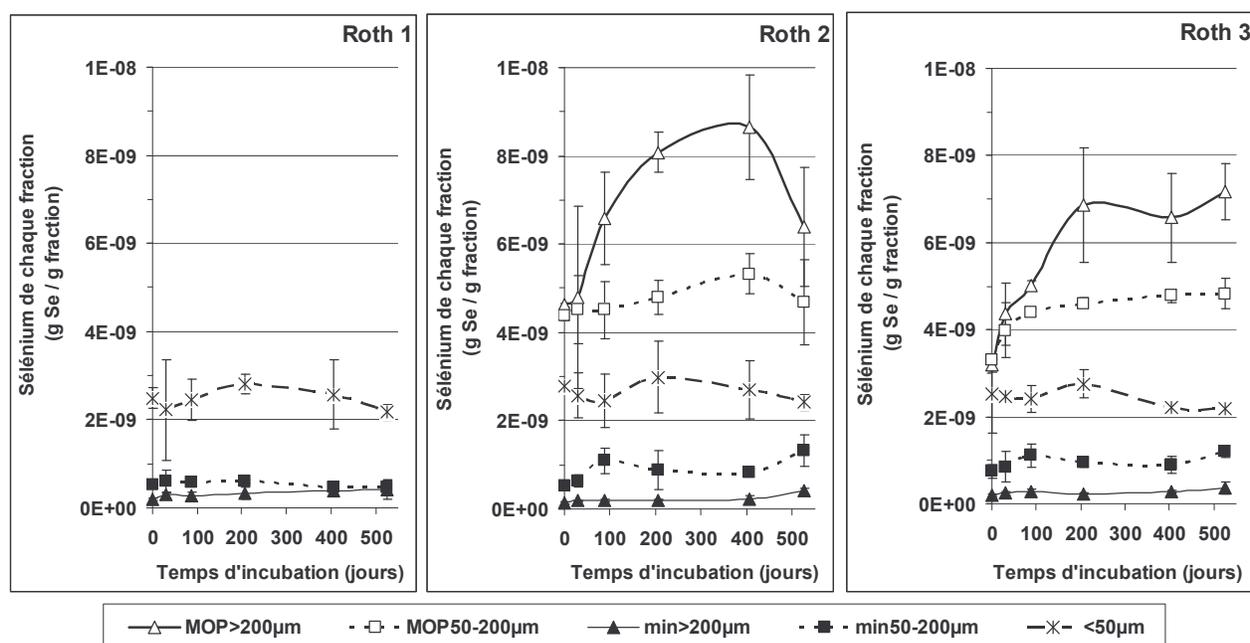


Figure 58 : Evolution des quantités de sélénium associées aux fractions $MOP_{>200\ \mu\text{m}}$, $MOP_{50-200\ \mu\text{m}}$, $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$, $\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$, et à la fraction inférieure à $50\ \mu\text{m}$ au cours de l'incubation des sols Roth 1, Roth 2 et Roth 3 (erreur 2σ , ou confondue avec les symboles)

4. Conclusion

Les résultats permettent d'affirmer que le sélénium, dans nos conditions expérimentales, est un élément relativement peu mobile (c'est-à-dire avec une faible capacité de passage du sol vers les aquifères), quel que soit l'état organique du sol et son évolution temporelle (sélénium désorbé < 4 % du sélénium total). Cependant, les seuls résultats de désorption semblent un peu simplistes pour estimer la mobilité du sélénium, car de nombreux vecteurs de dispersion du sélénium existent et peuvent conduire à la remobilisation de quantités importantes de sélénium. Ainsi, la connaissance de la partition solide (par des extractions séquentielles) a montré que l'extraction du sélénium par les ions phosphates peut atteindre jusqu'à 30% du stock initialement présent dans le sol. Par conséquent, l'apport d'engrais phosphatés peut entraîner une remobilisation importante du sélénium dans des systèmes réels or ce processus n'est actuellement pas pris en compte lors de l'évaluation des risques. De plus, l'état organique initial du sol joue un rôle important à cet égard, car plus la teneur en matière organique (MO) est importante, plus les quantités de sélénium extraites sont faibles et inversement.

L'existence d'interactions fortes entre le sélénium et la matière organique particulaire (MOP = débris organiques > 50 µm) a été démontrée dans le chapitre IV. De plus, la dégradation de cette MOP ne semble pas conduire à une remobilisation du sélénium. Le vieillissement du sol, caractérisé par la dégradation de la MO (Chap. III), conduit à une stabilisation de la contamination, c'est-à-dire une diminution des quantités de sélénium les plus facilement extractibles (*i.e.* par les ions phosphates) au profit de phases plus difficilement extractibles (*i.e.* par NaOCl). Si l'on considère la fraction de sélénium extraite par NaOCl comme étant principalement associée à la MO réfractaire, les associations entre le sélénium et la MO semblent se renforcer au cours de l'incubation (augmentation des quantités liées à MOP et des quantités extraites par NaOCl). Les résultats obtenus suggèrent que le vieillissement de la contamination est plus impactée par les modifications qualitatives (*i.e.* humification) de la MO, conduisant à une complexification des composés organiques initiaux, que par les aspects quantitatifs (*i.e.* minéralisation), n'entraînant pas de remobilisation du sélénium associé à la MO au cours de sa dégradation (notamment visible pour la MOP_{>200 µm}).

De plus, concernant les interactions sélénium-microorganismes, nous avons pu quantifier la volatilisation tout au long de l'incubation. Les quantités volatilisées cumulées sur 18 mois ont représenté moins de 0,2 % du sélénium sorbé sur le sol. Ces résultats sont particulièrement intéressants, car actuellement le processus de biométhylation du sélénium n'avait été reporté que dans des environnements sélénifères. Dans ces études, les quantités de sélénium volatilisées sur des périodes plus courtes sont 5 à 50 fois supérieures à celles obtenues dans notre étude (Karlson and Frankenberger 1988b; Stork *et al.* 1999; Guo *et al.* 2001). Ainsi, dans un contexte de contamination radiologique par le ^{79}Se , les valeurs de sélénium volatilisées prédites auraient été largement surestimées.

Enfin, la détermination des quantités de sélénium associées à la biomasse par l'utilisation de la fumigation-extraction semble permettre une estimation assez correcte du lien entre les microorganismes et le sélénium, même si les quantités obtenues sont certainement sous-estimées. Ainsi, dans les lots de terre étudiés les quantités de sélénium associées à la biomasse ont varié de 0,2 à 2,0 % du sélénium total selon les quantités de biomasse (ces quantités de sélénium étant proportionnelles à la biomasse). Ces résultats permettent de quantifier la résultante des processus biotiques largement décrits en cultures pures, mais relativement peu appréhendés dans les sols, qui plus est à de faibles concentrations. La connaissance des associations entre le sélénium et la biomasse est particulièrement intéressante et laisse envisager une possibilité de transport colloïdal biotique (*i.e.* bactérien) du sélénium.

L'analyse bibliographique et les résultats de cette étude tendent à montrer que la MO joue un rôle important dans la rétention du Se sur la phase solide. En ce sens, nous avons tenté d'explicitier les associations entre le sélénium et la MOP, notamment en essayant de faire le lien entre le sélénium lié à la MOP et les résultats obtenus par extractions séquentielles et en précisant le type d'associations existant entre la MOP et le sélénium (associations « directes » c'est-à-dire Se-composés organiques ou « indirectes » par exemple sélénium sorbé sur des phases minérales associées à la MOP).

De plus, le chapitre suivant propose une étude critique du schéma d'extraction séquentielle, particulièrement de l'étape NaOH censée cibler le sélénium lié aux substances humiques. En effet, le lien entre cette fraction de sélénium extraite et les substances humiques semble discutable, car la quantité de Se extraite s'est révélée constante quel que soit l'état organique du sol.

Chap. VI : Vers une meilleure compréhension de la partition solide du sélénium

1. Préambule

Ce chapitre est constitué de deux paragraphes, suivis d'une conclusion englobant l'ensemble des résultats de ce chapitre.

Le premier paragraphe vise principalement (i) à mieux définir et caractériser les fractions de sol isolées par fractionnement granulo-densimétrique (MOP / min / < 50 μm) et (ii) à relier les résultats précédemment obtenus (Chap. IV et V) par les deux approches de la partition solide (extractions séquentielles et fractionnement granulo-densimétrique). Ce paragraphe est également l'occasion de discuter des associations généralement admises entre le sélénium et la MO extraite à l'étape NaOH.

Le second paragraphe est une publication (non soumise) qui a pour but principal de clarifier la nature des associations entre le sélénium et la MOP (association « directe » sélénium-composés organiques et/ou « indirecte » par exemple sélénium sorbé sur des phases minérales associées à la MOP ?).

2. Partition solide sur les fractions isolées de sol obtenues par fractionnement granulo-densimétrique

2.1. Fractionnement granulo-densimétrique de Roth 2 (sol témoin à T₀) : caractéristiques morphiques et chimiques des différentes fractions isolées

2.1.1. Répartition du carbone organique

La contribution massique de chacune des fractions isolées, exprimée en proportion de masse et de carbone organique de Roth 2 est rappelée Figure 59.

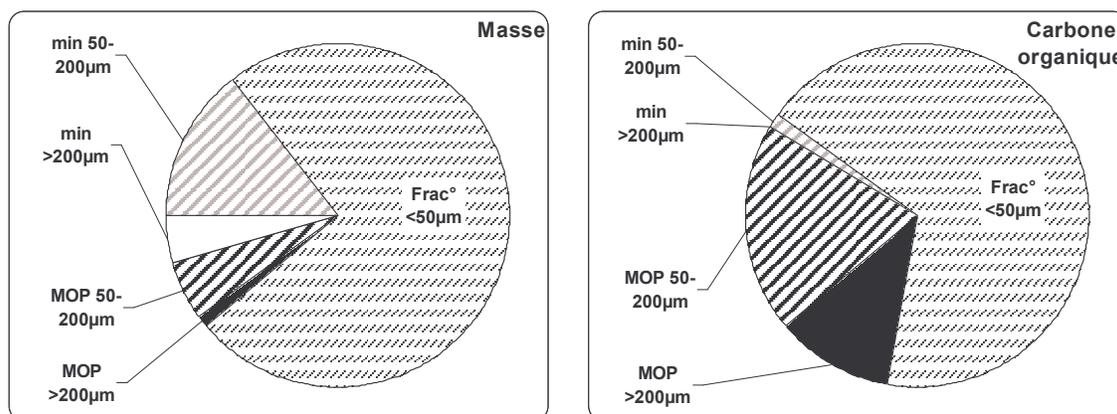


Figure 59 : Répartition en masse (à gauche) et en carbone organique (à droite) des différentes fractions de Roth 2 isolées par fractionnement granulo-densimétrique

Roth 2 étant issu d'un sol de type limono-argileux fin, la fraction inférieure à 50 µm représente logiquement une part très importante de l'échantillon de terre avec près de 73 % de la masse de Roth 2. Cette fraction représente également la plus grosse part du carbone organique de Roth 2 (67,2 %) qui doit être principalement présent sous forme de substances humiques.

Les fractions minérales ($\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$) ne contiennent logiquement pas ($< \text{LD}$ pour $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$) ou très peu de carbone organique ($\sim 3,3\ \text{mg}_C \cdot \text{g}_{\text{fraction}}$ pour $\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$; représentant 1,2 % du carbone organique du sol), ce qui démontre l'efficacité de la séparation densimétrique. Enfin, les fractions de MOP, bien que

représentant une faible proportion massique de Roth 2, constituent plus de 30 % du carbone organique de l'échantillon de terre.

2.1.2. Répartition de l'aluminium, du fer et du manganèse de Roth 2 dans les différentes fractions

2.1.2.1. Composition de Roth 2

L'échantillon de terre, avant fractionnement granulo-densimétrique, présente de très nombreux agrégats de silicates et de MO associée (Figure 60). Ces agrégats sont généralement composés de carbone, de silice, d'aluminium, de fer et d'oxygène (déterminée par MEB couplé à une sonde X-EDS).

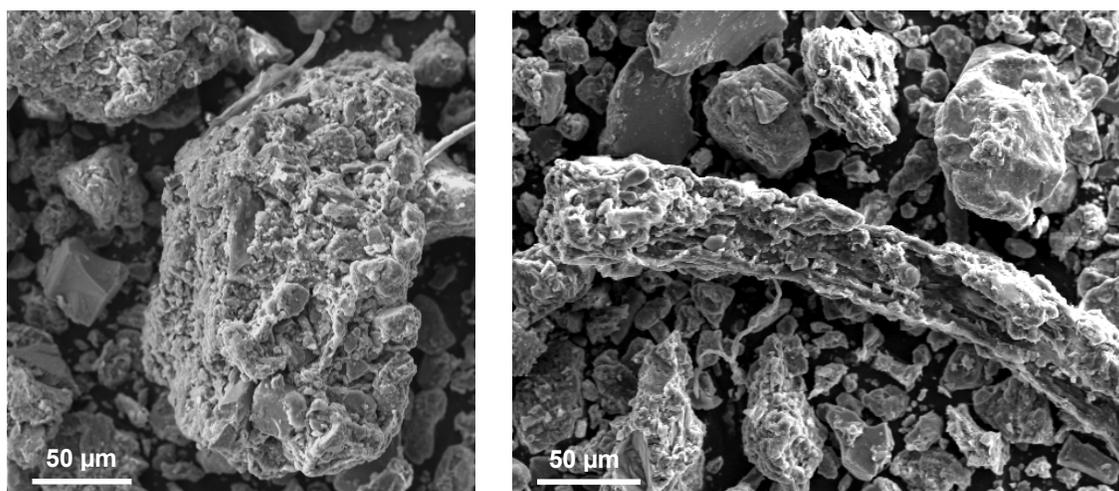


Figure 60 : Exemples d'agrégats composés de silicates et de MO de Roth 2, observés par microscopie électronique à balayage. Agrégats de tailles comprises entre 50-200 µm et > 200 µm (image de gauche) ; fibre végétale de taille > 200 µm recouverte de silicates (image de droite)

La fraction < 50 µm de Roth 2 est composée principalement de quartz, d'argile et de micas. Les résultats obtenus par diffraction des rayons X (Analyses BRGM) ont montré que la fraction argileuse moyenne était composée principalement de kaolinite (62 %) et de micas et/ou d'illite (33 %) ; la présence de vermiculite étant également probable (5 %). La fraction < 50 µm, de par sa composition, présente donc des quantités importantes d'aluminium (composant principale des argiles et des

micas) et de fer (présent dans les micas, l'illite, la vermiculite et les oxyhydroxydes de fer).

De plus, l'étude morphoscopique de Roth 2 n'a révélée aucune présence d'oxyde d'aluminium, quelle que soit la classe granulométrique analysée. L'aluminium du sol semble donc être principalement présent sous forme de silicates (notamment argiles et micas). Le fer a été fréquemment observé sous forme d'oxyhydroxydes de fer principalement sous forme amorphe ; les formes cristallines (hématite et magnétite) étant plus rarement observées. Les teneurs en manganèse de Roth 2 étant relativement faibles ($1,12 \text{ mg}_{\text{Mn}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol}}$), les oxydes de manganèse ont seulement été trouvés à l'état de traces sans distinction de classe granulométrique.

Outre la MO, Roth 2 présente donc de nombreuses phases minérales qui possèdent de fortes capacités de sorption du sélénite (Bar-Yosef and Meek 1987; Saeki and Matsumoto 1994b). La connaissance de la répartition de ces minéraux dans les différentes fractions isolées par fractionnement granulo-densimétrique apparait importante afin de mieux comprendre leur réactivité vis-à-vis du sélénium.

2.1.2.2. Les fractions isolées de Roth 2

La Figure 61 montre l'aspect des fractions $\text{MOP}_{>200 \mu\text{m}}$, $\text{MOP}_{50-200 \mu\text{m}}$, $\text{min}_{>200 \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$ observées par microscopie électronique à balayage.

La répartition de l'aluminium (Figure 62) et du fer (Figure 63) de Roth 2 montre que ces éléments sont majoritairement présents dans la fraction $< 50 \mu\text{m}$. L'aluminium contenu dans la fraction $< 50 \mu\text{m}$ provient principalement des argiles et des micas qui constituent essentiellement cette fraction ($44,5 \text{ mg}_{\text{Al}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{sol}}$). Le fer contenu dans cette fraction résulte aussi de la présence de ces silicates (micas, illites, vermiculites) d'une part, mais aussi de la présence d'oxydes de fer.

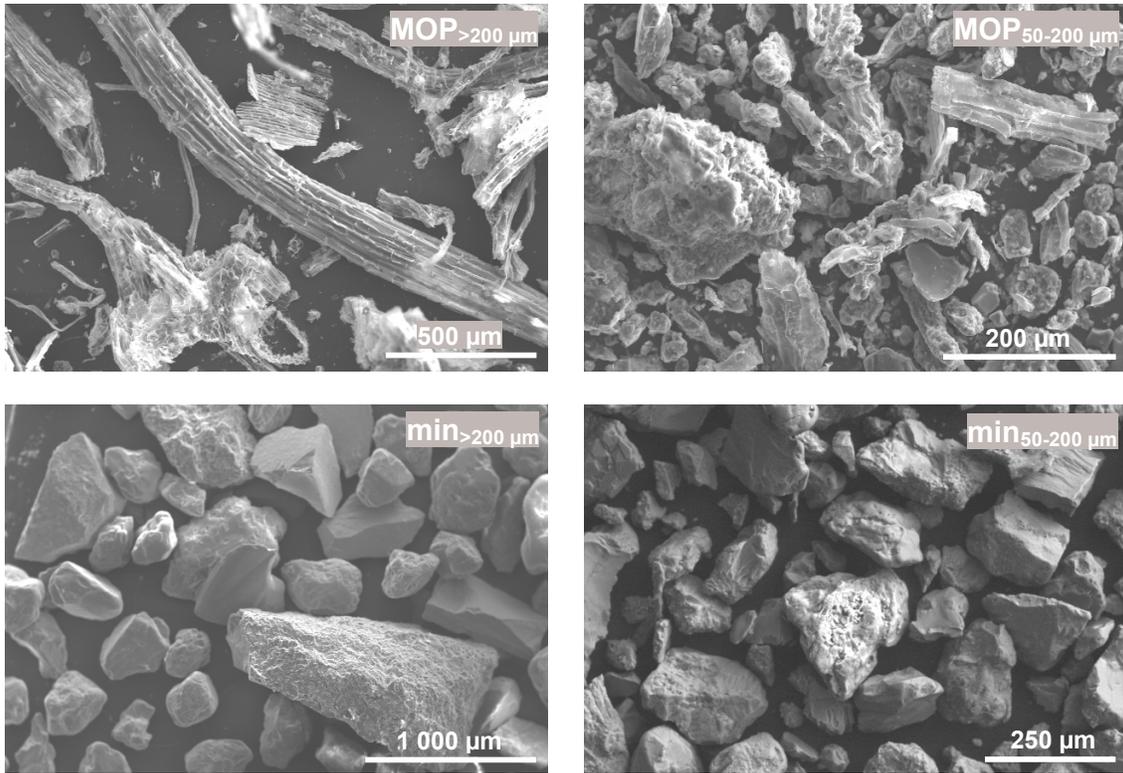


Figure 61 : Observations des fractions MOP_{>200 μm}, MOP_{50-200 μm}, min_{>200 μm} et min_{50-200 μm} par microscopie électronique à balayage.

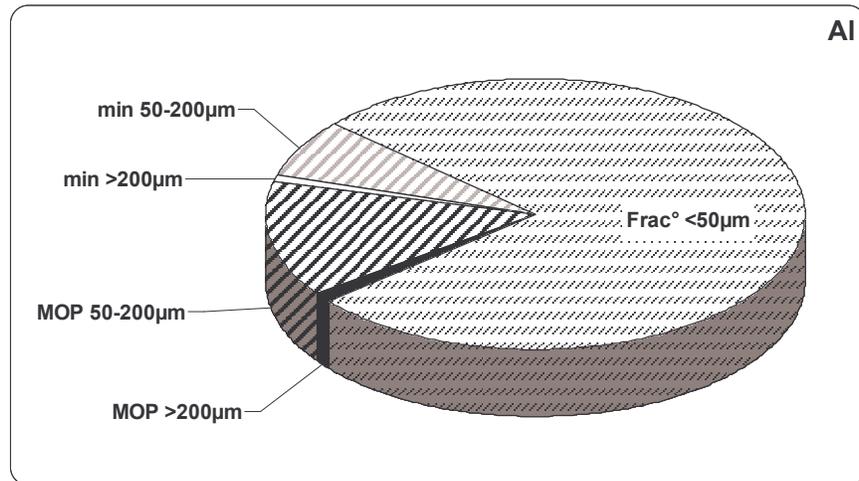


Figure 62 : Contribution de chacune des fractions isolées à la teneur totale en aluminium de Roth 2

Les fractions comprises entre 50 et 200 μm ($\text{MOP}_{50-200\ \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$) contribuent significativement à la teneur de ces deux éléments du lot de terre (Figure 62). Ces résultats peuvent s'expliquer par la présence de « plaques » d'argiles, de micas et d'oxydes de fer de quelques μm sur ces fractions. De plus, la présence de micro-agrégats organo-minéraux a été observée dans la fraction $\text{MOP}_{50-200\ \mu\text{m}}$ (Figure 61). Ces agrégats proviennent des macro-agrégats précédemment observés sur l'échantillon de terre Roth 2 (Figure 60).

A contrario, l'aluminium est assez peu retrouvé dans les fractions $> 200\ \mu\text{m}$ ($\text{MOP}_{>200\ \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$; Figure 62). L'aluminium de Roth 2 provenant a priori quasi-exclusivement des silicates, ces résultats suggèrent que les fractions $\text{MOP}_{>200\ \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$ contiennent peu de silicates. Pour ces fractions contenant de faibles teneurs en aluminium (Figure 62), le fer provient majoritairement d'oxydes de fer (Figure 63). Concernant la $\text{MOP}_{>200\ \mu\text{m}}$, ces résultats indiquent que les agrégats supérieurs à 200 μm ont été dispersés efficacement au cours du fractionnement granulo-densimétrique. Ce résultat est confirmé par les observations MEB de la $\text{MOP}_{>200\ \mu\text{m}}$ (Figure 61) montrant une absence de « plaques » de minéraux recouvrant les débris végétaux.

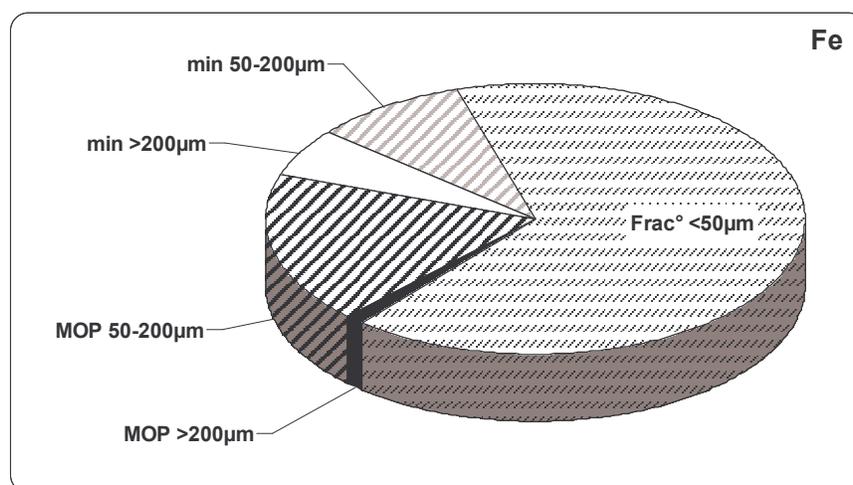


Figure 63 : Contribution de chacune des fractions isolées à la teneur totale en fer de l'échantillon de terre Roth 2

Compte tenu des faibles teneurs en manganèse de Roth 2, la répartition du manganèse n'est pas commentée car la précision des analyses pour cet élément n'est pas suffisante.

2.2. Extractions du sélénium sur les différentes fractions isolées

Les quantités de sélénium extraites au cours des extractions séquentielles réalisées sur les différentes fractions isolées sont représentées Figure 64. Par souci de simplification et vu les précédentes remarques, l'étape Na_2SO_3 n'a pas été réalisée.

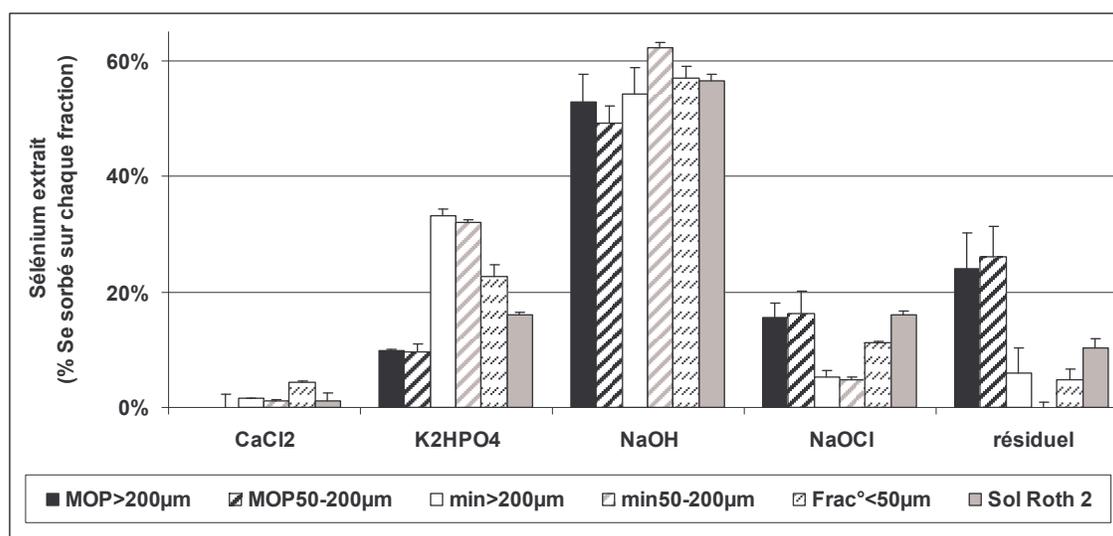


Figure 64 : Quantités de sélénium extraites sur les différentes fractions isolées et sur l'échantillon de terre entier au cours de l'extraction séquentielle.

Quelle que soit l'étape considérée, l'extraction du sélénium sorbé sur les fractions de MOP était équivalente pour les deux fractions granulométriques (Figure 64). Pourtant, ces deux fractions avaient des teneurs en carbone organique contrastées (différents stades de dégradation de la MO, (Cambardella and Elliot 1992)). D'autre part, l'extraction du sélénium sorbé sur les fractions minérales ($\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$ et $\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$) était également équivalente, bien que ces fractions aient une composition différentes (beaucoup de silicates et de quartz dans la fraction $\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$ et peu dans la $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$ qui contient plus d'(hydr)oxydes de fer).

De par la faible désorption du sélénite généralement constatée dans les sols acides (Dhillon and Dhillon 1999), les résultats montrent logiquement une faible

extraction par le CaCl_2 (étape de désorption) pour l'échantillon de terre entier et quelle que soit la fraction étudiée.

Les quantités de sélénium remobilisées par les phosphates sont plus importantes à partir des fractions minérales ($33,2$ et $32,1$ % du sélénium extrait pour les fractions $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$ et la $\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$ respectivement) que pour les fractions de MOP ($9,7$ et $9,5$ % du sélénium extrait pour la $\text{MOP}_{>200\ \mu\text{m}}$ et la $\text{MOP}_{50-200\ \mu\text{m}}$ respectivement). La fraction mixte (organique et minérale), inférieure à $50\ \mu\text{m}$, présente une extraction par le K_2HPO_4 de $22,6$ % du sélénium, soit une quantité extraite comprise entre les fractions organiques et minérales. Ces résultats sont en accord avec la littérature où il est généralement admis que le K_2HPO_4 cible le sélénium sorbé sur les phases minérales, principalement sur les argiles et les oxydes de fer (Wright *et al.* 2003; Dhillon *et al.* 2005). Aussi, la partie du sélénium des fractions $\text{MOP}_{>200\ \mu\text{m}}$ et $\text{MOP}_{50-200\ \mu\text{m}}$ extraite par K_2HPO_4 peut résulter d'associations entre le sélénium et les éléments inorganiques (fer, aluminium, manganèse, ...) présents sur les fractions de MOP.

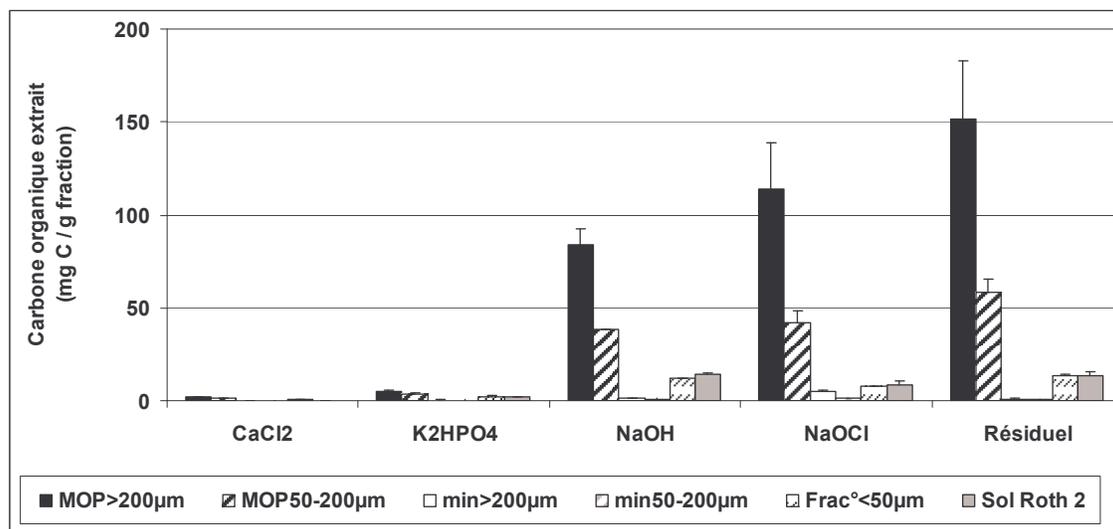


Figure 65 : Quantités de carbone organique extraites sur les différentes fractions isolées et sur l'échantillon de terre entier au cours de l'extraction séquentielle.

L'extraction à la soude permet d'extraire la plus grande proportion du sélénium (56 ± 6 % du sélénium sorbé) quelle que soit la fraction considérée. Pour les fractions de MOP, cette étape contribue à solubiliser plus du quart du carbone organique de la fraction et il est tentant d'associer le sélénium extrait aux substances

humiques solubilisées. Curieusement, les quantités de sélénium extraites à cette étape sont quasi-identiques quelle que soit la fraction considérée (Figure 64). Bien que de nombreuses études attribuent le sélénium extrait par NaOH à une preuve du lien entre la MO et le sélénium (Abrams *et al.* 1990; Gustafsson and Johnsson 1992; Wright *et al.* 2003; Zawislanski *et al.* 2003), les résultats obtenus dans notre étude tendent à prouver qu'il pourrait s'agir, au moins en partie, d'une erreur. Conformément à ce qui avait été observé pour les lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3 (Chap. IV), cette étape semble peu dépendante des teneurs en carbone organique des fractions considérées (Figure 59). Etant donné la quasi-absence de MO dans les fractions minérales, le sélénium extrait par NaOH semble difficilement fiable à une fraction de sélénium associée aux substances humiques. Par ailleurs, les quantités de fer et d'aluminium extraites par NaOH (Figure 66) démontrent que les silicates et/ou les oxydes métalliques sont soit attaqués par la soude, soit associés aux substances humiques solubilisées. Même si la solubilisation de ces éléments (inférieure à 7 %) prouve que la dissolution de ces phases minérales n'est que partielle, elle n'a été observée que lors de l'extraction à la soude (Figure 66, en dehors du relargage d'aluminium des fractions minérales à l'étape NaOCl). Certains auteurs ont démontré que le sélénium sorbé sur des oxydes de fer amorphe était extrait à 40 % seulement par le K_2HPO_4 (Jackson and Miller 2000; Wright *et al.* 2003). Les 60 % restants étaient solubilisés dans la soude (Jackson and Miller 2000). En effet, un changement de pH important (pH initial < 7 ; pH d'environ 13 avec NaOH 0,1 mol.L⁻¹) semble entraîner une désorption du sélénium associé à ces phases minérales (Jackson and Miller 2000) ; même si la liaison formée est vraisemblablement un complexe de sphère interne (Koch-Steindl and Pröhl 2001). La MOP n'est pas constituée uniquement de composés organiques et elle comprend des quantités importantes d'aluminium et de fer (Figure 62 et Figure 63). De par la capacité de sorption importante des oxydes métalliques (Saeki and Matsumoto 1994b; Su and Suarez 2000; Schulthess and Hu 2001) ou des argiles (Frost and Griffin 1977; Bar-Yosef and Meek 1987), ces éléments peuvent avoir un impact sur la sorption du sélénium.

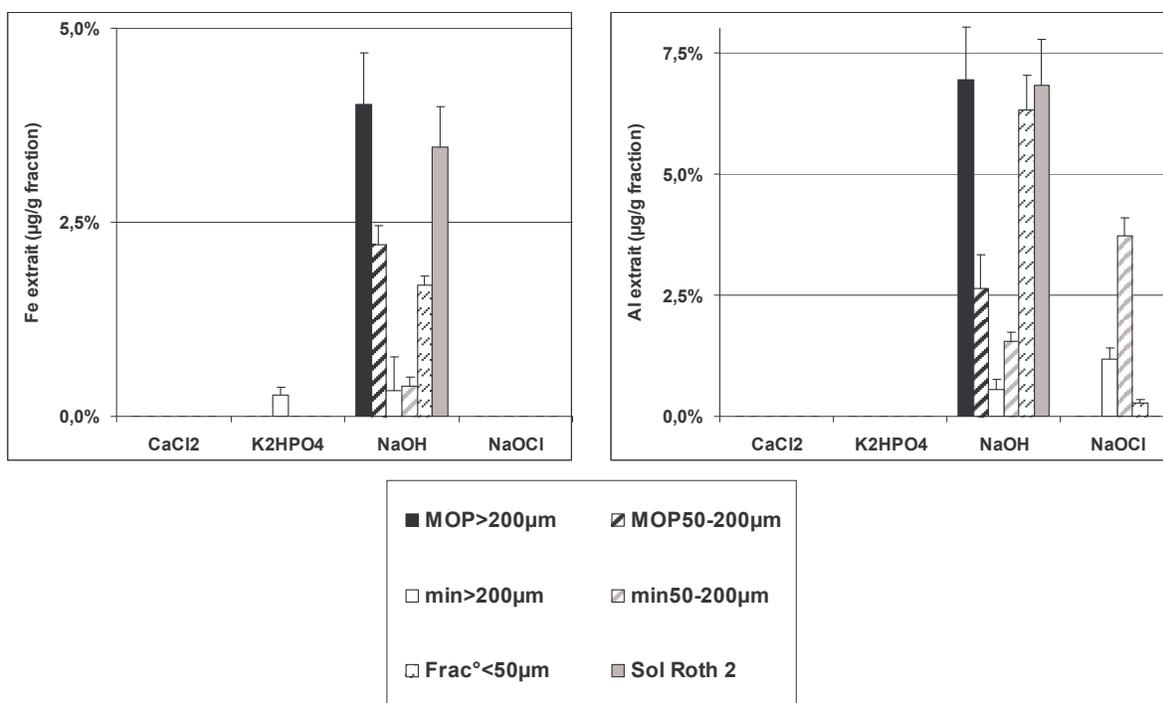


Figure 66 : Fer et aluminium extraits des différentes fractions et de l'échantillon de terre entier au cours des extractions séquentielles.

Les quantités de sélénium extraites par NaOCl sont beaucoup plus faibles pour les fractions minérales (environ 5 %) que pour les fractions de MOP (environ 16 %) ; la quantité de sélénium extraite de la fraction < 50 µm étant encore une fois comprise entre ces deux fractions (11 %). Ces résultats sont en adéquation avec les quantités importantes de carbone organique extraites pour les fractions de MOP contrairement aux fractions minérales (Figure 65). Ces résultats vont dans le sens des observations généralement trouvées dans la littérature, où le NaOCl est supposé extraire principalement le sélénium lié aux composés organiques difficilement extractibles (Wright *et al.* 2003; Zawislanski *et al.* 2003).

Une quantité importante du carbone organique n'a pas été extraite au cours des extractions (> 35 % du carbone organique) sur les fractions MOP, < 50 µm et sur l'échantillon de terre entier. Pour les fractions de MOP uniquement, ce constat s'accompagne d'une partie du sélénium non extraite relativement importante puisqu'elle représente 25 % du sélénium sorbé (< 5 % pour les autres échantillons). Ces résultats peuvent suggérer l'existence de liaison forte entre une partie du sélénium et la MO réfractaire (humines).

3. Selenite interactions with particulate organic matter: TEM & SEM observations of the different soil fractions

3.1. Introduction

Selenium (Se) is a micronutrient, characterised by a narrow range between its deficient and toxic concentrations (Barceloux 1999). Se is present in the terrestrial crust at a low mean concentration of 0.05 mg.kg^{-1} (Sposito 1989; Masscheleyn *et al.* 1991), varying from places with a lack of Se (ex. China (Tan *et al.* 2002)) to natural highly concentrated spots (ex. San Joaquin Valley, California (USA) (Masscheleyn *et al.* 1991; Skorupa 1998)). Furthermore, anthropogenic activities such as coal combustion (Ex. Belews Lake, North Carolina (USA)) or nuclear industry are responsible of Se polluted areas. In the latter cases, ^{79}Se isotope, a high life fission product of ^{235}U , is one of the most worrying radionuclides in the context of nuclear waste repository studies (Zhang *et al.* 2002). Thus, due to Se high toxicity (Barceloux 1999) and the numerous pollution sites, there is still a need for investigations on selenium behavior in soil in order to better understand the mobility and the (radio)toxicological impact of this element.

Selenium speciation is a key factor controlling its behavior in soil. It depends on numerous factors (pH, soil solution composition...) as well as it is controlled by the biotic or abiotic soil components. Thus, selenium exists in four oxidation states - selenate(+VI), selenite(+IV), elemental selenium(0) and selenide(-II) - and forms different mineral and organic compounds. Selenite is one of the most probable oxidation state in oxic and suboxic soils (Lakin 1972) and it has been previously reported that selenite can be strongly associated with different solid phases (Saeki and Matsumoto 1994b; Séby *et al.* 1998). Se(IV) interactions with pure minerals have been extensively studied during the last two decades, leading to the identification of selenium sorption mechanisms on numerous mineral phases. Metallic oxi-hydroxides (Fe, Al, Ti), particularly, are known to sorb important amount of Se(+IV) (Saeki and Matsumoto 1994b; Dynes and Huang 1997; Wijnja and Schulthess 2000b), as it is also the case for some clay minerals (Frost and Griffin 1977; Bar-Yosef and Meek 1987). However, it is often difficult to simply apply the results obtained on pure

mineral phases to model natural soils. This is generally due to the presence of phases that are not totally pure (eg. co-precipitation) or to the superimposition of the soil components. This is particularly true with the soil organic matters which largely modify the surface reactivity of inorganic minerals (i.e. coating phenomena (Brady 1990)). In fact, the role of soil organic matter (SOM) on the Se sorption in soil, especially, is not yet elucidated. Although Se associations with particulate organic matter (i.e. fragments of leaves, roots... bigger than $> 50 \mu\text{m}$) has been already observed (Coppin *et al.* 2006a), these interactions were not clearly explained. In the latter study, the authors used a size-density fractionation procedure allowing to the separation of the soil into different fractions following Balesdent *et al.* 1987.

In the present work, we used the same size-density fractionation method with an agricultural soil sample. Our objectives were (i) to determine the Se sorption capacity of each soil fraction compared to the raw soil, (ii) to determine the nature of Se-surface associations and (iii) to underline the direct or indirect link between Se and the organic fractions. The sorption capacity of each fraction was assessed by sorption experiments in batch reactors incubated during 48 hours. Two different Se concentrations (10^{-5} and $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$) were used to favor some microscopic observations realized by scanning and transmission electronic microscopy (SEM and TEM).

3.2. Materials and Methods

3.2.1. Size-density fractionation

The soil sample used in this study was collected at the Rothamsted Institute (UK). The soil sample, named Roth 2 in the following, was a silty clay loam soil coming from the grassland area, known as Highfield. The main characteristics of the soil sample are given in Tableau XVIII.

Tableau XVIII : Main soil sample characteristics

Soil parameters	Roth 2
pH water	5.50
pH KCl	4.67
Water extracted organic C (g.kg ⁻¹) (m:v : 1:5)	0.59
CEC cobaltihexamine (cmol+/kg)	16.8
CEC Metson (cmol+/kg)	20.3
CaCO ₃ (g.kg ⁻¹)	<1
Organic C (g.kg ⁻¹)	41.00
Organic N (g.kg ⁻¹)	3.24
C/N	12.7
< 2 µm (%)*/main identified minerals	30.7
2-20 µm (%)*	24.0
20-50 µm (%)*	26.9
50-200 µm (%)*	12.9
200-2000 µm (%)*	5.5
	~ 62 % Kaolinite
DRX identification	~ 33 % Illite and/or micas
	~ 5 % vermiculite

The size-density fractionation method is based on Balesdent *et al.* (1991). It consisted in a three steps procedure through which only pure water was used in order to limit the modifications of the soil components. In the first step, a soil dispersion was achieved by stirring 16 g of dry soil, 54 g of pure water and 4 glass beads (5 mm diameter) in a polycarbonate tube, for 15 hrs, in a 3D orbital mixer (62 rpm). Secondly, the suspension was wet-sieved at 200 µm and the fraction < 200 µm was then wet-sieved at 50 µm. The third step consisted in a density separation that permitted the organic and mineral fractions contained in the > 200 µm and 50 to 200 µm fractions to be separated. Five fractions were thus isolated: POM_{>200 µm} (light organic fraction, greater than 200 µm); POM_{50-200 µm} (light organic fraction, between 50 and 200 µm); min_{>200 µm} (heavy mineral fraction, greater than

200 μm); $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$ (heavy mineral fraction, between 50 and 200 μm); $\text{Soil}_{<50 \mu\text{m}}$ (fraction $<50 \mu\text{m}$). The $\text{Soil}_{<50 \mu\text{m}}$ fraction was constituted by a suspension of approximately 0.5 L containing all the effluents from the different steps of the procedure. The isolated fractions were weighed after oven-drying (48 hrs, 70°C) to determine their mass contribution (Tableau XIX). In addition, the distribution of SOM and the major oxy-hydroxides of metals among the different fractions were also assessed. Analyses of solid organic carbon were carried out on the different fractions (Shimadzu, TOC 5000 A coupled with SSM 5000). Total iron, aluminum and manganese concentrations were also measured in each fraction and in the soil by Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectrometer (ICP-AES, Perkin Elmer) after a fluorhydric acid digestion.

Tableau XIX : Weight distribution of the separated fractions in the raw soil

	Mass fraction (% soil mass)	Organic carbon		$\text{CEC}_{\text{Cu-trien}}$ ($\text{cmol}(+)\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{frac}^\circ}$)	%	
		($\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}_{\text{frac}^\circ}$)	(% soil carbon)		Fe	Al
POM $_{>200 \mu\text{m}}$	1.2	357	11	18	1.5	2.0
POM $_{50-200 \mu\text{m}}$	5.4	144	20	24	5.7	5.8
min $_{>200 \mu\text{m}}$	4.3	< DL	0	0	2.2	0.5
min $_{50-200 \mu\text{m}}$	14.2	3	1	0	1.0	1.1
Soil $_{<50 \mu\text{m}}$	72.7	36	67	5	1.5	2.4
Soil	-	39	100	11	3.4	3.0

3.2.2. Selenite sorption experiments

Sorption experiments were performed to compare the properties of the different fractions and the raw soil for Se sorption at two Se concentrations.

The experiments were carried out in batch reactors. $\text{Se}(+\text{IV})$ solutions (as Na_2SeO_3), at 10^{-3} or $10^{-5} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, were mixed with a precise mass of the different fractions in polycarbonate centrifuge tubes. The mass/volume (m/V) ratio was 1/5, except from the $\text{POM}_{>200 \mu\text{m}}$ fraction which was 1/20. The low density of this fraction did not permit a 1/5 ratio. The suspensions were prepared in triplicate.

The tubes were stirred at 300 rpm for a 48 h equilibration period as it was expected that Se(+IV) sorption was fast (Neal *et al.* 1987a). Each tube was then centrifuged at 10,000 g for 25 minutes. Selenium was analyzed in the supernatant by ICP-AES. The amount of Se sorbed was deduced from the difference between the initial and final Se aqueous concentrations. In addition, desorption experiments were performed to determine the reversibility of sorption processes. Ultra-pure water was used to fit as much as possible to the size-density fractionation procedure. Thus, the desorption experiments were carried out on each fraction in two different extraction steps: the first endured 15 hours according to the dispersion step and the second went on 1 hour, corresponding to the size-density separation step duration. Similar shaking and centrifuge parameters to those of the sorption experiments were used.

3.2.3. Organic/mineral competition sorption experiments

In order to estimate the impact of competition between organic and mineral phases, batch sorption experiments were realized by mixing the POM_{50-200 μm} fraction with the min_{50-200 μm} (two ratios: 1/1 and 1/3 (w/w)). Similar protocol to that used for selenite sorption experiments on isolated fractions was applied. A 10⁻⁵ mol.L⁻¹ selenite solution, radio-labeled with ⁷⁵Se, was used to increase the sensitivity of solid and liquid fractionation analyses. After a first sorption step (48 h) and centrifugation of the tubes, ⁷⁵Se was measured in the supernatants by liquid scintillation. Then, the POM and mineral fractions of the pellet were re-separated by density fractionation. These fractions were weighed after oven-drying (48 hrs, 70°C) and the selenium sorbed on each fraction was determined by γ-spectrometry (reducing both detection limit and inaccuracy).

3.2.4. Transmission Electron Microscopy (TEM) coupled with energy dispersive spectrometry

After the solid materials containing Se have been isolated by centrifugation and dried, the pellets were analysed to identify the Se solid speciation.

The two POM fractions were embedded in Nanoplast resin. Thin slices (between 70 and 300 nm) were prepared using a diamond-knife ultramicrotome (UCT, Leica) and mounted on copper grids.

TEM observations were performed using a Tecnai G2 Biotwin (FEI) TEM-STEM equipped with an EDAX SAPPHIR (Super Ultra Thin Window) X-ray energy dispersive spectrometer (EDS). The accelerating voltage was set to 100 kV. EDS analyses were carried out in both TEM mode and by scanning in transmission mode (STEM).

3.2.5. Scanning Electron Microscopy (SEM) coupled with EDS

SEM observations and analyses combined with EDS (Hitachi S-3500 N and Oxford Isis EDS system) were performed under high vacuum, using carbon-coated samples under 15-20 kV and a beam current intensity of $6 \cdot 10^{-9}$ and $1 \cdot 10^{-8}$ A. SEM analyses were mainly realised with $\text{min}_{>200 \mu\text{m}}$ and $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$ fractions. For the two POM fractions, SEM was mainly used to confirm TEM observations.

3.3. Results and Discussion

3.3.1. Sorption experiments

The results obtained for the Se sorption on separated fractions and raw soil at $10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ are presented in Figure 67. After 48 h, selenite was nearly totally sorbed (97-100 %) on the different fractions, except from $\text{POM}_{>200 \mu\text{m}}$ (60 %). Surprisingly, all the fractions (except from $\text{POM}_{>200 \mu\text{m}}$, resulting probably of the different M/V ratio) had the same affinity for Se even their composition was largely different. Particularly, quartz, that is through to be the dominant mineral in the $\text{min}_{>200 \mu\text{m}}$ and $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$ fractions, is not usually considered as a strong Se carrier phase (Saeki and Matsumoto 1994b). In our experimental conditions, it has to be considered that minor phases, certainly present in every fraction, played a key role in Se sorption.

At $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, larger discrepancies were observed between the amounts of Se sorption, indicating that the different fractions had not the same Se sorption affinity for high Se concentration (Figure 68). The raw soil sample and the fraction $< 50 \mu\text{m}$ behave similarly for Se sorption. This finding was in accordance with the large abundance of the fraction $< 50 \mu\text{m}$ (about $\frac{3}{4}$) within the raw soil composition. It appeared that the $\text{POM}_{50-200 \mu\text{m}}$ fraction had the highest sorption affinity for selenium (400 mg.kg^{-1}), the mineral fractions having the lowest ones ($< 250 \text{ mg.kg}^{-1}$).

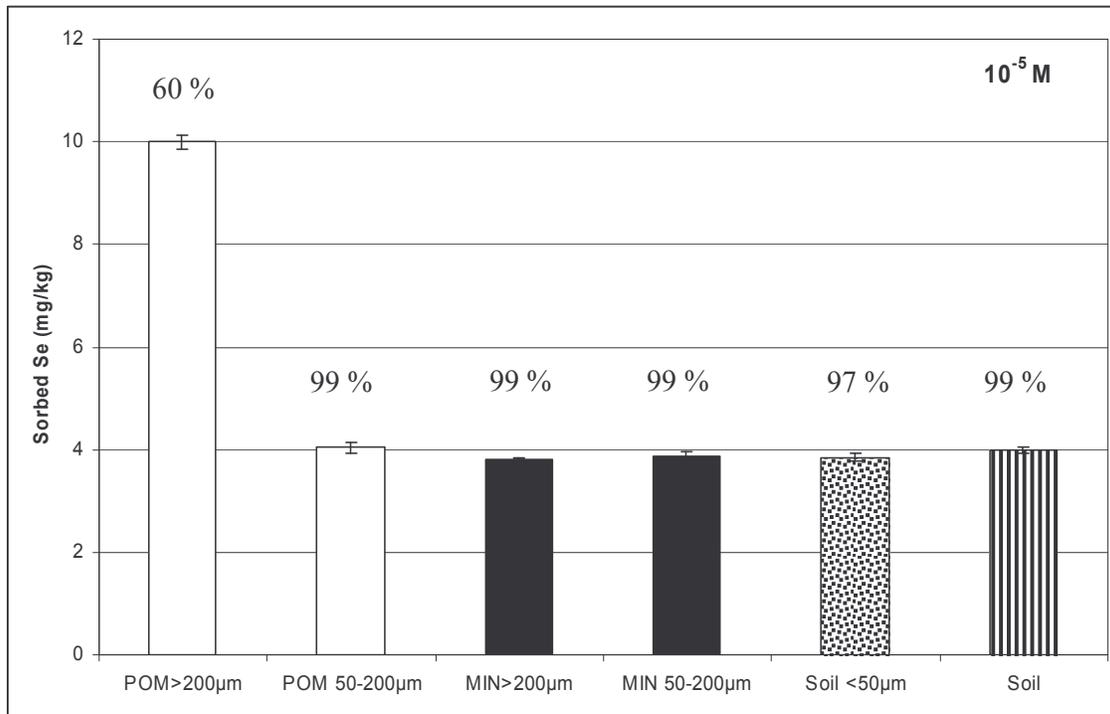


Figure 67: Selenite sorption at $10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$ The indicated percentages are the percentage of Se sorbed on the solid phase

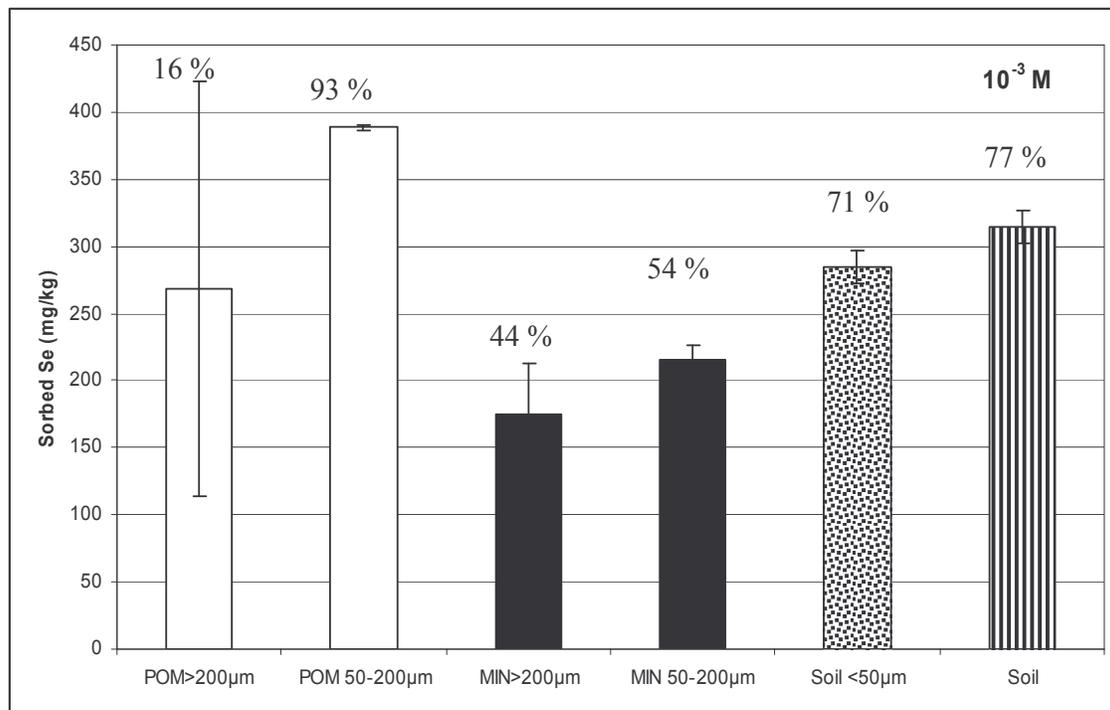


Figure 68: Selenite sorption at $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ The indicated percentages are the percentage of Se sorbed on the solid phase

Combining the different Se sorption levels onto the soil fractions and their different mass ratio in the raw soil sample, we calculated the theoretical Se fractionation at 10^{-5} and 10^{-3} mol.L⁻¹ within the raw soil sample. We hypothesized that there was no competing effect between the fractions (Figure 69). The theoretical Se fractionation indicated that the POM_{>200 μm} and min_{>200 μm} were the lowest selenium carrier phases whereas the min_{50-200 μm} and POM_{50-200 μm} fractions were the highest ones (the fraction < 50 μm is excluded for this comparison). We compared these results to those obtained by Coppin *et al.* (2006) who performed a similar size-density fractionation with the same raw soil, after artificial contamination at 10^{-8} mol.L⁻¹ of Se(IV) (Figure 69). The comparison revealed large differences between the real and calculated Se fractionations. That is, the contribution of the POM_{50-200 μm} fraction was probably underestimated whereas the contribution of the min_{>200 μm} and min_{50-200 μm} fractions were overestimated in our theoretical calculation.

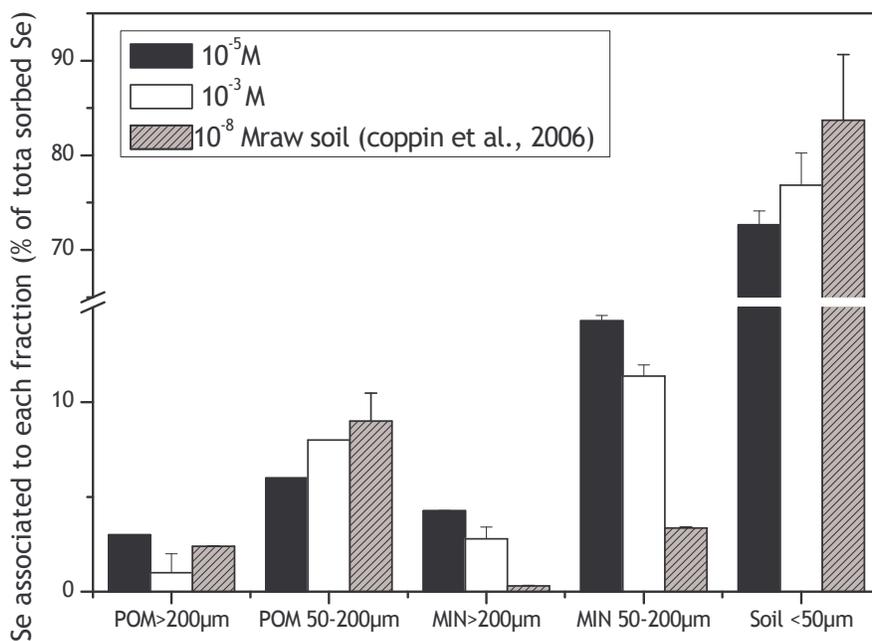


Figure 69 : Soil recombination at 10^{-5} M and 10^{-3} M by taking into account the fraction mass ratios and their Se affinity. Comparison with the original soil (Coppin *et al.* 2006a)

The preferential association of Se with the organic materials was confirmed by the results obtained with the POM_{50-200 μm} / min_{50-200 μm} mixtures (Figure 70). For the 1/1 mixtures, 62 % of Se were sorbed on the organic fraction (i.e. 38 % for the mineral phase). There was a little decrease (43 %) of this distribution with the 1/3 mixture, although it corresponded to a larger POM-Se association.

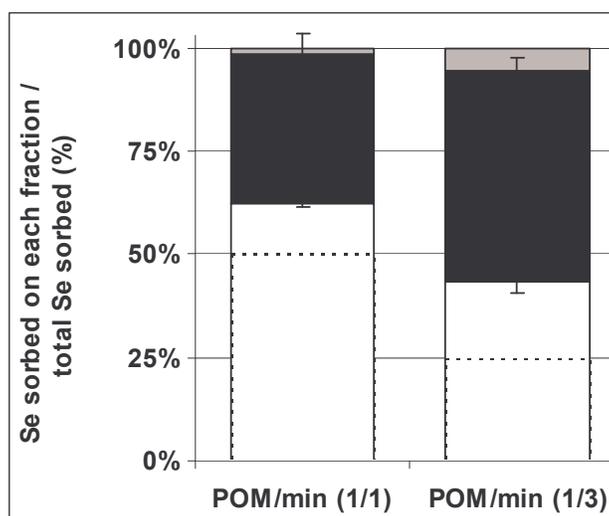


Figure 70 : Selenite sorption on mixtures of fractions at 10^{-5} mol.L⁻¹ (radio labeled with ⁷⁵Se)

The preferential sorption of Se on organic fraction was possibly related to (i) a redistribution of Se between the organic and mineral phases during the size-density fractionation and/or (ii) a kinetic competition between the organic and the mineral phases and/or (iii) a coating effect leading to mineral coverage by the POM fractions (discarded in our mixed experiments) and/or (iv) a different nature of Se sorption sites in the organic and mineral phases and/or (v) a different amount of Se sorption sites in the organic and mineral phases.

Considering hypothesis (i), we checked that Se was not desorbed from the different fractions during the size-density separation (desorption by pure water < 1 % of Se sorbed for each fraction). Thus, redistribution of selenium between the different materials was negligible during the size-density fractionation of the samples. For hypothesis (v), the preferential Se sorption on organic fractions would only result from the higher sites density of the POM fractions or from its higher capacity to sorb another reactive material. Particularly, further investigations showed that selenite

sorption was well correlated with iron and aluminum contents of each fraction, except from the heterogeneous $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$ fraction (Figure 71). The $\text{POM}_{50-200\ \mu\text{m}}$ fraction which contained the higher Fe concentration owned the higher selenite sorption affinity. Iron oxides and aluminum oxides (Saeki and Matsumoto 1994b; Dynes and Huang 1997; Wijnja and Schulthess 2000b) and clays (Frost and Griffin 1977; Bar-Yosef and Meek 1987) have been previously reported as good selenite carrier phases.

We looked up iron oxides, aluminum oxides and clays at the surface of each organic and mineral fraction combined with Se research.

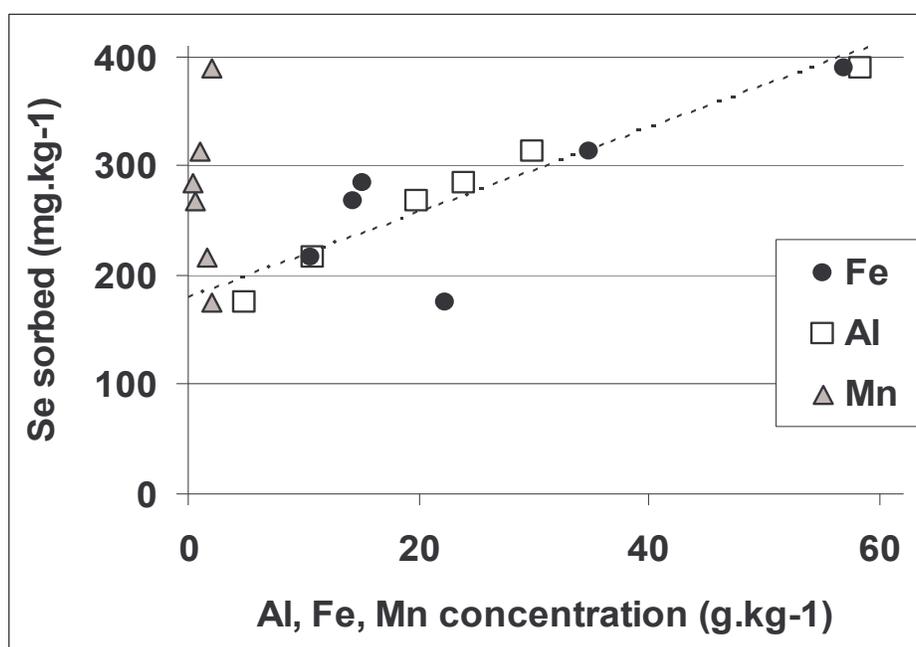


Figure 71 : Correlation between selenite sorption and Fe, Al contents of the raw soil sample and the soil fractions (except from $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$ because of its heterogeneity).

3.3.2. SEM-EDS analysis of the mineral fractions

The SEM observations were carried out on the pellets coming from the 10^{-3} mol.L⁻¹ sorption experiments. The concentrations of the pellets were 175 ± 20 and 215 ± 6 mg.kg⁻¹ of selenite for $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$ and $\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$ fractions respectively. Despite these levels, the technique was not enough sensitive to detect Se if it has been homogeneously distributed on the whole fraction. Thus, the EDS technique was

only suitable to detect Se hot spots and to identify the corresponding selenium enriched particles.

In accordance with the mineralogical analyses and observations (microscope), SEM-EDS showed that quartz (EDS: Si > O) was the principal constituent of the finest mineral fraction ($\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$). Other minor minerals were also observed as clays (EDS: Si, Al, > K) and iron oxides (EDS: Fe > O). Some iron inclusions were also detected on quartz (EDS: Si, Fe > O)) (Figure 72).

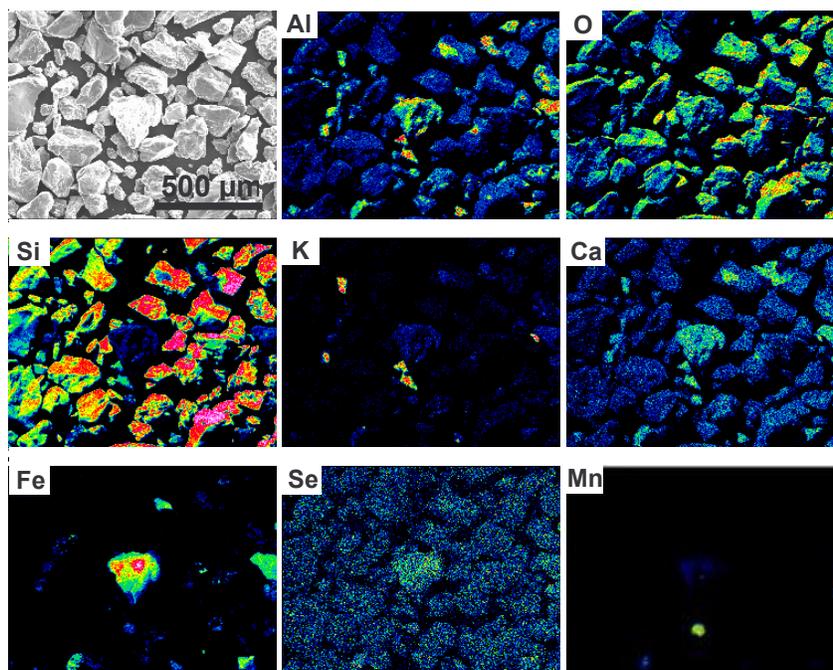


Figure 72: Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS) mapping of the $\text{min}_{50-200\ \mu\text{m}}$ fraction

Starting from the DRX analyses of the $\text{Soil}_{<50\ \mu\text{m}}$ fraction (Tab. 1), we hypothesized that the most important mineral observed (EDS: Si, Al, eventually K) corresponded to kaolinite which was the main clay mineral (62 %, Tableau XVIII) whereas the other minerals containing Si, Al and Fe corresponded to mica, illite and in minor proportion vermiculite, which were also identified by DRX.

It was not possible to localize any Se hot spots associated with quartz or clays minerals. It is generally thought that quartz is a bad carrier phase for selenite (Saeki and Matsumoto 1994b), although some clays are usually considered as a good support for retention (Frost and Griffin 1977; Bar-Yosef and Meek 1987). In the

opposite, Se hot spots were localized on the iron rich particles (Figure 72) as it is often reported in the literature (Saeki and Matsumoto 1994b; Dynes and Huang 1997; Wijnja and Schulthess 2000b). These observations were confirmed by the examination of the $\text{min}_{>200\ \mu\text{m}}$ fraction.

3.3.3. TEM-EDS and SEM-EDS analysis of the organic fractions

$\text{POM}_{50-200\ \mu\text{m}}$ particles were identified as a mixture of decomposed vegetal debris (EDS: O, no major elements), quartz (EDS: Si > O), clays (EDS: Si, Al, eventually K or Fe), iron oxides (EDS: Fe > O), titanium oxides (EDS: Ti > O, sometimes with Fe). The SEM-EDS observations and TEM-EDS analyses revealed that a lot of mineral particles were localized at the surface of the organic debris or included in them (Figure 73 and Figure 74).

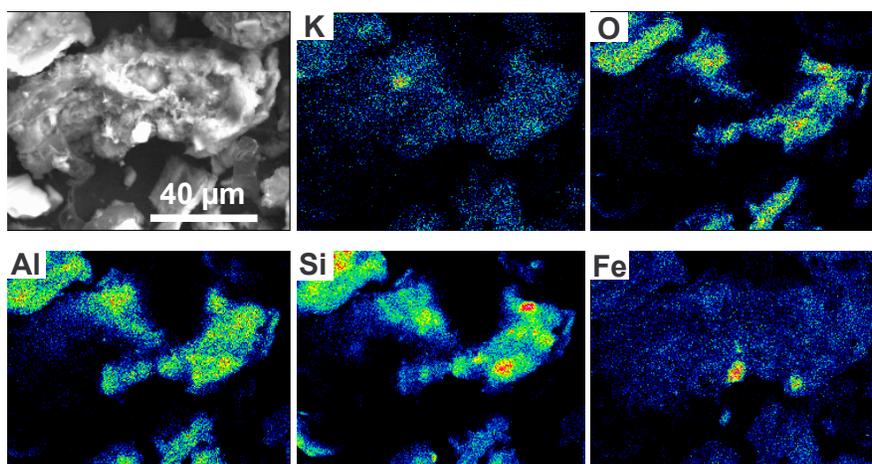


Figure 73 : Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS) mapping of the $\text{POM}_{50-200\ \mu\text{m}}$ fraction

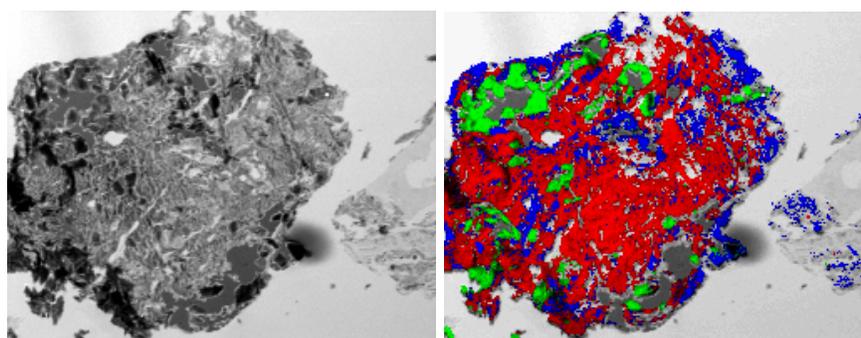


Figure 74: Transmission Electron Microscopy (TEM) of the $\text{POM}_{50-200\ \mu\text{m}}$ fraction: Fe/Al/Si relative abundance (Red: iron; Blue: Al; Green: Si)

Focusing on the surface of POM_{50-200 μm} particles, we measured high silicon and aluminum contents, sometimes associated with potassium in a lower proportion (Figure 73). Some iron hot spots were also observed, corresponding to iron oxides (EDS: Fe > O) and to micas or illite when these iron hot spots were associated with silicon and aluminum (EDS: Fe, Si, Al, O).

In all POM_{50-200 μm} particles observed, selenium was spread onto the whole POM, as iron was. In more details, selenium hot spots were principally located at the vicinity of iron hot spots and, for a smaller proportion, in association with aluminum and silicon. On the contrary, it was not possible to find selenium associated with quartz, clays or pure organic materials without the presence of iron. Although, direct interactions between organic matter and selenium was not excluded according to the nature of particles aggregates and the detection limits of the EDS analysis.

The POM_{>200 μm} fraction allowed to go further in the observations. Contrary to the POM_{50-200 μm} fraction, it was easy to recognize vegetal organic debris constituting the POM_{>200 μm} fraction. Low signals of silicon, aluminum, iron and potassium revealed the presence of small traces of inorganic mineral (< 2-3 μm) spread onto the POM surface (Figure 75) or localized in the apical cells of the organic debris (TEM observations, Figure 76).

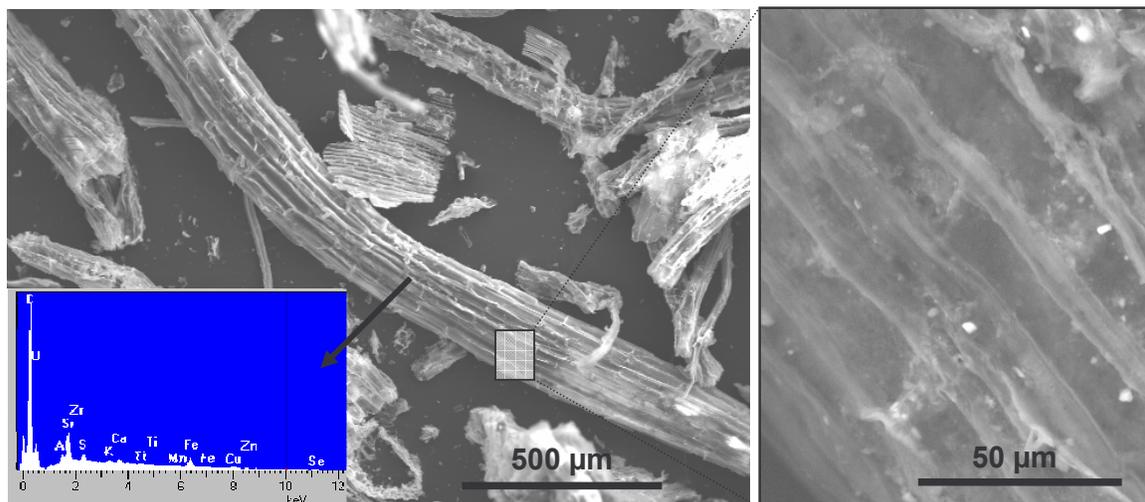


Figure 75: Scanning Electron Microscopy (SEM-EDS) mapping of the POM_{>200 μm} fraction (white parts corresponds to few mineral particles, clays and metal oxides)

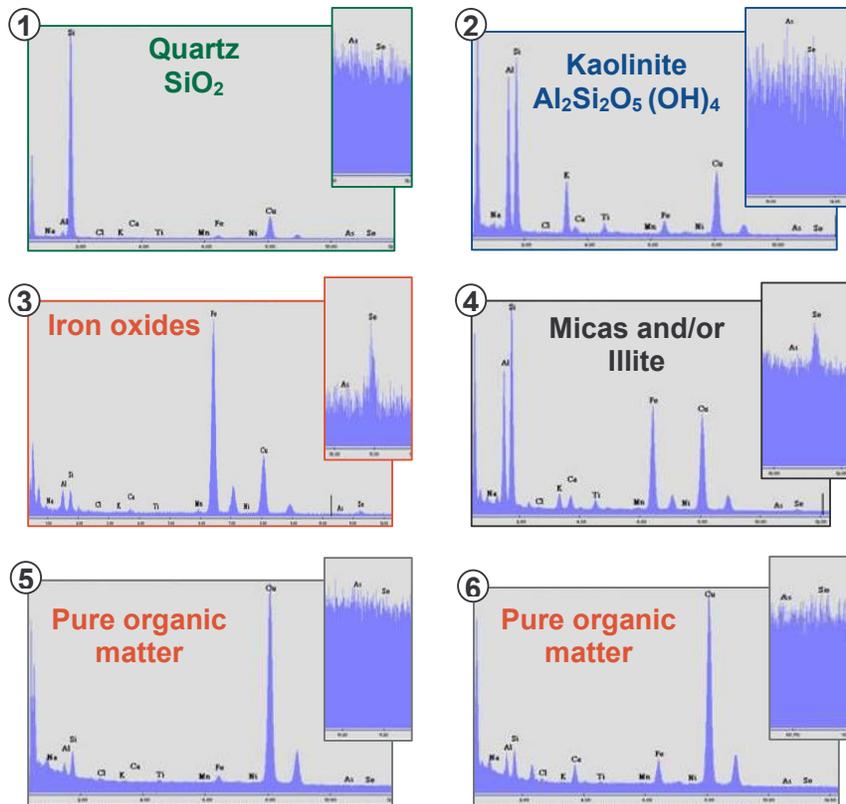
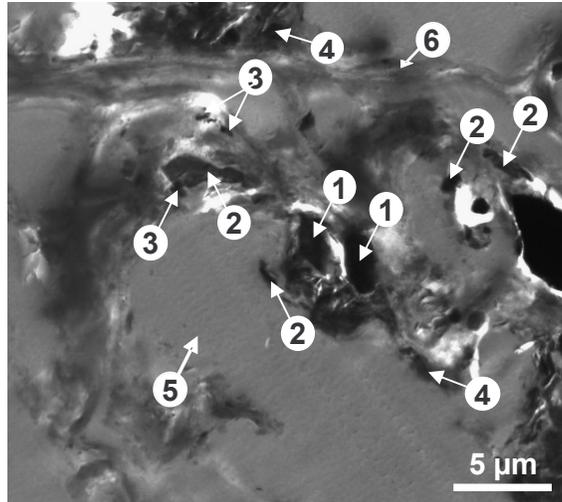


Figure 76: Transmission Electron Microscopy (TEM) of thin slice of the POM > 200 μm fraction : Apical cells inside a POM > 200 μm vegetal debris

X-rays EDS analysis (for both SEM and TEM observations) never detected selenium hot spots in “pure” organic matter (i.e. surface of debris, membrane or in cytoplasm of the apical cells). As it was observed with the POM_{50-200 μm} fraction, it

was not possible to superimpose Se signals with quartz (EDS: Si > O), manganese oxides (EDS: Mn > O), titanium oxides (EDS: Ti > O) or kaolinite (EDS: Si, Al > K,) whereas Se hot spots were clearly associated with iron oxides (EDS: Fe > O), mica, illite or, for a smaller extend vermiculite. (EDS: Si, Al > Fe).

Although kaolinite is known to sorb selenite (Bar-Yosef and Meek 1987), it was not possible to observe this type of association whereas it was not the case for mica, illite and in minor proportion vermiculite. Although Se sorption on mica, illite or vermiculite had not been investigated yet, some extrapolation could be made from the montmorillonite property (2:1 clay containing iron) which is known to be a better selenite carrier phase than kaolinite (Frost and Griffin 1977). Assuming that selenium sorption capacities of montmorillonite, mica and illite are comparable, it was not surprising to find Se hot spots on this mineral and not on kaolinite.

Manganese oxides was expected to be a weak Se carrier phase because of electrostatic repulsion between selenite ($\text{HSeO}_3^-/\text{SeO}_3^{2-}$) and manganese oxides negative surface charge ($\text{pH}_{\text{ZPC}} = 2-3$) (Foster et al 2003) but we were thinking that Ti-oxides which is presented as a good Se carrier phase (Saeki et Matsumoto 1994) would have concentrated more Se in our different fractions.

3.4. Conclusion

All the soil fractions (except from $\text{POM}_{>200 \mu\text{m}}$) isolated by size-density fractionation had the same affinity for Se for a low concentration of $10^{-5} \text{ mol.L}^{-1}$. According to these first results, environmental low concentrations of Se was expected to sorb without saturating the different type of solid materials which it interacts with.

For higher Se concentration ($10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$), the $\text{POM}_{50-200 \mu\text{m}}$ had a more important sorption capacity than the other fractions ($\text{POM}_{50-200 \mu\text{m}} > \text{POM}_{>200 \mu\text{m}} > \text{Soil}_{<50 \mu\text{m}}$, or raw soil > mineral fractions). This result was confirmed when we recombined a mineral fraction with that organic fraction (1/1). In this condition, for same mass fractions we observed that the $\text{POM}_{50-200 \mu\text{m}}$ was able to sorb 1.6 times more Se than $\text{min}_{50-200 \mu\text{m}}$. Iron and aluminum were certainly responsible for Se preference for organic matter as the POM fractions contained twice as much Fe more than the mineral fractions. This ratio was of the order of magnitude than the different sorption capacities of the fractions. SEM and TEM observations confirmed the

correlation between Se sorption and iron. That is, Se hot spots were mainly associated with iron and in less proportion with aluminum. As the organic matter was considered as a strong and large iron carrier phase within the soil sample, it was expected that the organic fractions were the dominant carrier phase of Se due to an indirect interaction.

Further investigations have to be made to precise the carrier phases of selenium. Decreasing the detection limit will allow to quantify the proportion of the different Se carrier phases in the soil sample and to check if direct OM-Se interactions exist or not.

4. Conclusion (du chapitre)

Le sélénium associé à la MOP s'est avéré globalement plus difficile à solubiliser que celui lié aux fractions minérales (les extractions séquentielles permettant d'extraire 75 % du sélénium des fractions de MOP contre plus de 90 % pour les autres fractions et le sol). La MO semble donc jouer un rôle important dans la stabilisation de la contamination en sélénium. Les résultats d'extractions séquentielles ont également montré que l'extraction du sélénium était indépendante de la taille des fractions, indiquant l'existence de 2 types de « comportements » distincts selon la nature des fractions : un comportement lié à la MO et l'autre lié aux phases minérales. Enfin, les résultats obtenus pour la fraction inférieure à 50 µm et ceux de l'échantillon de terre Roth 2 entier présentent un comportement intermédiaire compatible avec leur composition mixte organique et minérale.

Les quantités de sélénium extraites par NaOH sont indépendantes de la composition organique ou minérale des fractions de sol étudiées. Or, c'est ce type d'extraction qui représente la plus grande part de solubilisation du sélénium (56 ± 6 % du sélénium extrait quelle que soit la fraction). Ce constat a déjà été fait dans la littérature, néanmoins les résultats obtenus ici contredisent l'idée que le sélénium extrait par NaOH est la partie du sélénium exclusivement liée aux substances humiques (Abrams *et al.* 1990; Gustafsson and Johnsson 1992; Zhang and Moore 1996; Wright *et al.* 2003; Zawislanski *et al.* 2003). Dans notre étude, la MOP n'est pas seulement constituée de composés organiques et elle présente des teneurs importantes en fer et aluminium. Le lien entre le sélénium et la MOP peut donc résulter en partie (voir totalement ?) d'association « indirecte » avec la MOP, le sélénium étant dans ce cas lié aux éléments métalliques présents à la surface et à l'intérieur des débris végétaux constituant la MOP.

Les expériences ont également permis de relier les résultats de fractionnement granulo-densimétrique à ceux des extractions séquentielles précédemment obtenus sur les lots de terre Roth 1, Roth 2 et Roth 3, à T₀ (Chap. IV). Ainsi, de par l'absence de MOP dans sa composition (Chap. III), Roth 1 possède logiquement un comportement proche de celui des fractions minérales (Chap. IV). Les légères différences observées durant les extractions séquentielles des lots de

terre Roth 2 et Roth 3 (Chap. IV), sont vraisemblablement liées à la légère augmentation des quantités de $MOP_{>200\ \mu m}$ suite à l'amendement en herbe (Chap. III). De plus, les évolutions temporelles observées au travers des résultats issus de ces deux méthodes sont cohérentes. En effet, le sélénium lié à la MOP étant plus difficilement extractible par rapport au sélénium lié aux fractions minérales, l'augmentation des quantités de sélénium associé à la MOP (Chap. V) va bien dans le sens d'une stabilisation de la contamination, caractérisée par l'augmentation des quantités extraites par NaOCl (Chap. V).

Chap. VII : Conclusion générale

1. Synthèse

Ce travail de thèse s'est focalisé principalement sur la caractérisation des effets de l'évolution de la matière organique (minéralisation et humification) sur le comportement du sélénium. Le but était de déterminer si les modifications qu'elle engendre au niveau de la bio-physico-chimie du sol impliquent une redistribution du sélénium entre les différents constituants du sol (matière organique, minéraux, microorganismes, ...) et entraînent une modification de la mobilité de cet élément au cours du temps. Le suivi de l'évolution temporelle de 6 lots de terre durant 18 mois d'incubation a permis de recueillir un jeu de données conséquent qui n'a pu être raisonnablement traité que partiellement dans ce manuscrit.

La méthodologie pluridisciplinaire développée possède un potentiel important afin de rendre compte :

(i) de l'effet de vieillissement de la MO d'un sol sur certaines de ses propriétés physico-chimiques essentielles dans le transport d'eau et de polluants,

(ii) de l'impact de la dégradation de la MO sur la mobilité des polluants grâce à des analyses bio-physico-chimiques, pertinentes, complètes et sensibles. Les outils ont prouvé leur efficacité aussi bien pour l'étude du vieillissement du sol, que pour déterminer son effet sur une contamination. De ce fait, les nombreux développements analytiques et méthodologiques réalisés font désormais partie intégrante du savoir faire du laboratoire (dispositif d'incubation, modélisation Roth C, fractionnement granulo-densimétrique, extraction/purification d'ADN bactérien, fluorescence 3D, extractions séquentielles, suivi de la biomasse, etc.). De plus, ces techniques ont été adaptées aux contraintes liées à l'utilisation d'un isotope radioactif (^{75}Se), ce qui permettra de les transposer facilement à d'autres systèmes, d'autres sols et d'autres polluants.

Dans le cas du sélénium, cette méthodologie a permis de mettre en évidence que, quel que soit l'état organique du sol, le sélénium était fortement associé au sol et très peu remobilisable (quantités désorbées < 4 % du sélénium sorbé). L'étude approfondie de la mobilité du sélénium a montré que le comportement « moyen » de cet élément dans les sols ne pouvait efficacement être pris en compte par des

processus de sorption réversibles (sous tendus par l'utilisation du K_d dans les modèles opérationnels simples) de par la quasi-irréversibilité de la sorption du sélénium. Cela s'est traduit par un K_d différent pour la sorption et la désorption du Se (K_d sorption : 20-50 L.kg⁻¹ ; K_d désorption : 100-500 L.kg⁻¹).

Bien que les faibles quantités de sélénium désorbées tendent à montrer que cet élément est faiblement mobile, certains phénomènes transitoires peuvent néanmoins conduire à une remobilisation plus ou moins importante du sélénium à différentes échelles de temps. Dans le cadre de cette étude, nous nous sommes intéressés à l'impact (i) des échanges anioniques (amendements sur sols agricoles) et (ii) de l'activité des microorganismes.

(i) Dans le cadre d'une exploitation agricole des sols, l'utilisation d'engrais phosphatés (apport $PO_4^{3-}/HPO_4^{2-}/H_2PO_4^-$) est fréquente et peut avoir des répercussions sur la mobilité du sélénium. En effet, les phosphates ont conduit à une remobilisation importante du sélénium associé à nos échantillons de terre, pouvant atteindre jusqu'à près de 40 % du sélénium sorbé à de fortes concentrations ($[P] \geq 0,1 \text{ mol.L}^{-1}$). Cette remobilisation dépendait de l'état organique initial du sol : plus le sol était organique, plus la contamination en sélénite semblait être stabilisée. Outre la quantité de MO, le vieillissement des sols a également conduit à une diminution de cette remobilisation, entraînant une augmentation des quantités de Se liées à la matière organique réfractaire (fraction la plus difficilement extractible). Après 3 mois d'incubation, le système semblait avoir atteint un état d'équilibre apparent.

(ii) Les interactions entre le sélénium et les microorganismes ont pu être quantifiées (volatilisation) ou seulement estimées (Se associé à la biomasse) dans nos échantillons de terre. La volatilisation du sélénium est un phénomène quantitativement peu important, inférieur à 0,2 % du sélénium total sur une période de 18 mois. Cependant, ce phénomène prend une importance relative forte puisqu'il représente l'équivalent de 5 à 20 % du sélénium total remobilisable. De plus, bien que les quantités volatilisées soient faibles, la biométhylation du sélénium peut quand même être une voie de dispersion du ⁷⁹Se non négligeable à de très longues échelles de temps. La comparaison des flux issus des différents lots de terre a montré la complexité du phénomène de volatilisation, nécessitant une étude spécifique de ce phénomène afin de déterminer tant les paramètres qui contrôlent

l'intensité des flux, que les situations particulières pouvant les amplifier ou les inhiber. La fraction de sélénium associée à la biomasse dépend de l'état organique du sol car elle est directement corrélée à la quantité de microorganismes présents dans le sol. Elle a atteint plus de 2 % du sélénium total dans le cas d'un sol fraîchement amendé. La biomasse pouvant être un vecteur de transport colloïdal, la fraction de sélénium qui y est associée peut donc potentiellement migrer (Fontes et al. 1991). L'intensité de cette dispersion dépendra de la nature des interactions sélénium-biomasse (sélénium en surface des microorganismes ou internalisé) et de l'évolution de la biodisponibilité du sélénium au cours du vieillissement d'un sol contaminé.

Cette étude aboutit à une meilleure compréhension du cycle biogéochimique du sélénium dans les sols au cours du temps, elle a aussi mis en évidence certaines difficultés concernant la modélisation du comportement de cet élément. En effet, bien qu'il soit relativement facile de modéliser séparément la dégradation de la MO (Roth C) et le devenir du sélénium (par une approche alternative au K_d) lorsqu'on ne considère que le fonctionnement « moyen » du système, le couplage de ces deux types de modèles s'avère complexe. Une autre limite importante provient de la multitude des phénomènes transitoires pouvant se greffer à ce comportement moyen (échange anionique, volatilisation, transport colloïdal, etc.). Le challenge principal consiste alors à déterminer l'importance de chacun de ces processus sur le fonctionnement global du sol afin de ne prendre en compte dans la modélisation que ceux qui sont prépondérants.

2. Perspectives

Cette thèse, a souligné certains manques importants qui devront être comblés afin d'aboutir à une meilleure compréhension du comportement bio-géo-chimique réel du sélénium dans les sols. Notamment, la nécessité de définir les associations (ou leur absence) entre le sélénium et la MO est apparue évidente. Pour cela, des études de sorption détaillées (isothermes de sorption et désorption, effet des variations de pH et de force ionique,...) sur différents composés organiques purifiés (par exemples AH/AF) semblent être inévitables. Il semblerait également intéressant d'étudier le transport colloïdal des cellules bactériennes dans les sols en lien avec la

mobilité du sélénium. En effet, le sélénium se prête bien à ce type d'étude de par les possibilités de formation de sélénium élémentaire intra et extracellulaire.

De nombreux phénomènes transitoires n'ont pas été appréhendés dans cette étude et peuvent jouer un rôle important. Les variations de pH peuvent avoir diverses origines (par exemple alcalinisation par chaulage ou épandage de cendres) et conduisent généralement à des changements importants dans les propriétés biogéochimiques des sols pouvant modifier la mobilité du sélénium. Les cycles climatiques (température, assèchement/humectation, ...) peuvent conduire à des changements microbiologiques importants dont les conséquences sur le devenir du sélénium restent encore à approfondir. Enfin, les variations des régimes hydriques dans le sol sont souvent à l'origine de phénomènes transitoires capables de mobiliser une quantité plus ou moins importante de particules minérales, organiques ou de colloïdes biotiques. Enfin, les apports organiques réguliers peuvent avoir des impacts importants sur le comportement du sélénium dans les sols en augmentant par exemple l'ensemble des processus microbiens de transformation du sélénium. Ces quelques pistes de réflexion ne sont pas exhaustives.

Enfin, il semble indispensable d'utiliser ce type d'étude pour des polluants dont les associations avec la MO sont mieux caractérisées (par exemple des cations) afin de déterminer si l'évolution temporelle des sols affecte leur mobilité et dans quelle proportion. Il est aussi tout à fait envisageable de complexifier un peu plus le système précédemment étudié en ajoutant une ou plusieurs des composantes du sol qui ont été écartées de notre étude par soucis de simplification. On pensera principalement aux plantes, qui ajoutent une interface intéressante vis-à-vis de ses interactions directes (transferts sélénium-plante) ou indirectes (modifications de l'environnement bio-physico-chimique).

Références bibliographiques

Abrams M.M., Burau R.G. and Zasoski R.J. (1990). "Organic Selenium Distribution in Selected California Soils." *Soil Sci Soc Am J* 54: 979-982.

Abu-Erreish G.M., Whitehead E.I. and Olson O.E. (1968). "Evolution of volatile selenium from soils." *Soil Science* 106(6): 415-420.

AFSSA (2004). Evaluation des risques sanitaires liés aux situations de dépassement des limites de référence de qualité des eaux destinées à la consommation humaine. (Fiche 6 : Evaluation des risques sanitaires liés au dépassement de la limite de qualité du sélénium dans les eaux destinées à la consommation humaine).

ANDRA (2003). Recherche pour le stockage des déchets radioactifs - Bilan des études et travaux.

ANDRA (2005). Dossier 2005 Argile - Evaluation de sûreté du stockage géologique.

Azaizeh H.A., Salhani N., Sebesvari Z. and Emons H. (2003). "The Potential of Rhizosphere Microbes Isolated from a Constructed Wetland to Biomethylate Selenium." *J. Environ. Qual.* 32(1): 55-62.

Balabane M., Faivre D., Van Oort F. and Dahmani-Muller H. (1999). "Mutual effects of soil organic matter dynamics and heavy metals fate in a metallophyte grassland." *Environmental Pollution* 105(1): 45-54.

Balabane M. and Van Oort F. (2002). "Metal enrichment of particulate organic matter in arable soils with low metal contamination." *Soil Biology and Biochemistry* 34(10): 1513-1516.

Balesdent J. (1996). "The significance of organic separates to carbon dynamics and its modelling in some cultivated soils." *European Journal of Soil Science* 47: 485-493.

Balesdent J., Chenu C. and Balabane M. (2000). "Relationship of soil organic matter dynamics to physical protection and tillage." *Soil and Tillage Research* 53(3-4): 215-230.

Balesdent J., Pétraud J.-P. and Feller C. (1991). "Effets des ultrasons sur la distribution granulométrique des matières organiques des sols." *Science du sol* 29(2): 95-106.

Balistreri L.S. and Chao T.T. (1990). "Adsorption of selenium by amorphous iron oxyhydroxide and manganese dioxide." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 54(3): 739-751.

- Banerjee D. and Nesbitt H.W. (2000). "XPS study of reductive dissolution of birnessite by H₂SeO₃ with constraints on reaction mechanism." *American Mineralogist* 85(5-6): 817-825.
- Barceloux D.G. (1999). "Selenium." *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology* 37(2): 145-172.
- Barrios E., Buresh R.J. and Sprent J.I. (1996). "Organic matter in soil particle size and density fractions from maize and legume cropping systems." *Soil Biology and Biochemistry* 28(2): 185-193.
- Bar-Yosef B. and Meek D. (1987). "Selenium adsorption by kaolinite and montmorillonite." *Soil Science* 144(1): 11-19.
- Bernal M.P., Sanchez-Monedero M.A., Paredes C. and Roig A. (1998). "Carbon mineralization from organic wastes at different composting stages during their incubation with soil." *Agriculture, Ecosystems & Environment* 69(3): 175-189.
- Besnard E., Chenu C. and Robert M. (2001). "Influence of organic amendments on copper distribution among particle-size and density fractions in Champagne vineyard soils." *Environmental Pollution* 112(3): 329-337.
- B'Hymer C. and Caruso J.A. (2006). "Selenium speciation analysis using inductively coupled plasma-mass spectrometry." *Journal of Chromatography A* 1114: 1-20.
- Boucher U., Lamy I., Cambier P. and Balabane M. (2005). "Decomposition of leaves of the metallophyte *Arabidopsis halleri* in soil microcosms: Fate of Zn and Cd from plant residues." *Environmental Pollution* 135(2): 323-332.
- Bourelle P.-H. and Berthelin J. (1998). *Contamination des sols par les éléments en traces : les risques et leur gestion*. Académie des sciences. Paris. Rapport n°42.
- Boyle-Wight E.J., Katz L.E. and Hayes K.F. (2002). "Spectroscopic studies of the effects of selenate and selenite on cobalt sorption to γ -Al₂O₃." *Environmental Science and Technology* 36(6): 1219-1225.
- Brady N.C. (1990). *The nature and properties of soils*. New York, Macmillan Publishing Company.
- Braun B., Bockelmann U., Grohmann E. and Szewzyk U. (2006). "Polyphasic characterization of the bacterial community in an urban soil profile with in situ and culture-dependent methods." *Applied Soil Ecology* 31(3): 267-279.
- Bronick C.J. and Lal R. (2005). "Soil structure and management: a review." *Geoderma* 124(1-2): 3-22.
- Burton J., G. Allen, Giddings T.H., DeBrine P. and Fall R. (1987). "High incidence of selenite-resistant bacteria from a site polluted with selenium." *Appl. Envir. Microbiol.* 53(1): 185-188.

- Butterman W.C. and Brown Jr. R.D. (2004). Selenium. U.S. Department of the Interior and U.S. Geological Survey, 03-018.
- Calderone S.J., Frankenberger J., W. T., Parker D.R. and Karlson U. (1990). "Influence of temperature and organic amendments on the mobilization of selenium in sediments." *Soil Biology and Biochemistry* 22(5): 615-620.
- Cambardella C.A. and Elliot E.T. (1992). "Particulate soil organic-matter changes across a grassland cultivation sequence." *Soil Science Society of America Journal* 56(3): 777-783.
- Chabrouillet C., Coppin F., Martin-Garin A., Floriani M., Tinseau E. and Gaudet J.-P. (2006). "Se-soil organic matter interactions: Direct or indirect association?" *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70(18, Supplement 1): 15.
- Chasteen T.G. (1998). Volatile Chemical Species of Selenium. *Environmental Chemistry of Selenium*. New York, Frankenberger Jr. W.T. and Engberg R.A. p 589-612.
- Chen F., C. Burns P. and Ewing R.C. (1999). "⁷⁹Se: geochemical and crystallochemical retardation mechanisms." *Journal of Nuclear Materials* 275(1): 81-94.
- Cheng L., Lyman P.F., Sturchio N.C. and Bedzyk M.J. (1997). "X-ray standing wave investigation of the surface structure of selenite anions adsorbed on calcite." *Surface Science* 382(1-3): L690-L695.
- Chotte J.L., Ladd J.N. and Amato M. (1998a). "Measurement of biomass C, N and ¹⁴C of a soil at different water contents using a fumigation-extraction assay." *Soil Biology and Biochemistry* 30(8-9): 1221-1224.
- Chotte J.L., Ladd J.N. and Amato M. (1998b). "Sites of microbial assimilation, and turnover of soluble and particulate ¹⁴C-labelled substrates decomposing in a clay soil." *Soil Biology and Biochemistry* 30(2): 205-218.
- Christensen B.T. (1992). "Physical fractionation of soil and organic matter in primary particle size and density separates." *Advances in soil science* 20: 1-90.
- Christensen B.T. (1996). Matching measurable soil organic matter fractions with conceptual pools in simulation models of carbon turnover: revision of model structure. *Evaluation of soil organic matter models*. J. U. Smith. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag. Vol. 38. p 143-160.
- Coleman K. and Jenkinson D.S. (1996). RothC-26.3 - A model for the turnover of carbon in soil. *Evaluation of soil organic matter models*. J. U. Smith. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag. Vol. 38. p 237-246.
- Coleman K., Jenkinson D.S., Crocker G.J., Grace P.R., Klir J., Korschens M., Poulton P.R. and Richter D.D. (1997). "Simulating trends in soil organic carbon in long-term experiments using RothC-26.3." *Geoderma* 81: 29-44.
- Cooke T.D. and Bruland K.W. (1987). "Aquatic chemistry of selenium: evidence of biomethylation." *Environmental Science and Technology* 21: 1214-1219.

Coppin F., Chabroullet C., Martin-Garin A., Balesdent J. and Gaudet J. (2006a). "Methodological approach to assess the effect of soil ageing on selenium behaviour: first results concerning mobility and solid fractionation of selenium." *Biology and Fertility of Soils* 42(5): 379-386.

Coppin F., Hurtevent P., Martin-Garin A. and Chabroullet C. (2006b). "Impact of soil organic matter content on Se migration and solid partition." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70(18, Supplement 1): 113.

Coquillat J., Chabroullet C., Février L. and Martin-Garin A. (2005). Etude des transformations du selenium par une bactérie du sol : *Ralstonia Metallidurans* CH34. IRSN, Rapport de stage (Master 2).

Coughtrey P.J., Jackson D. and Thorne M.C. (1983). Selenium. Radionuclide distribution and transport in terrestrial and aquatic ecosystems. A. A. Balkema. Rotterdam. Vol. 3. p 102-148.

Davis J.A. and Kent D.B. (1990). Surface Complexation Modeling in Aqueous Geochemistry. Mineral-Water Interface Geochemistry. A. F. White. Chelsea, Mineralogical Society of America. Vol. 23. p 177-260.

Deneux-Mustin S., Roussel-Debet S., Mustin C., Henner P., Munier-Lamy C., Colle C., Berthelin J., Garnier-Laplace J. and Leyval C. (2003). Mobilité et transfert racinaire des éléments en traces: influence des micro-organismes du sol. Paris, Lavoisier.

Dhillon K.S. and Dhillon S.K. (1999). "Adsorption-desorption reactions of selenium in some soils of India." *Geoderma* 93(1-2): 19-31.

Dhillon K.S., Dhillon S.K. and Pareek N. (2005). "Distribution and bioavailability of selenium fractions in some seleniferous soils of Punjab, India." *Archives of Agronomy and Soil Science* 51(6): 633-643.

Dhillon S.K. and Dhillon K.S. (2000). "Selenium adsorption in soils as influenced by different anions." *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 163: 577-582.

Di Gregorio S., Lampis S. and Vallini G. (2005). "Selenite precipitation by a rhizospheric strain of *Stenotrophomonas* sp. isolated from the root system of *Astragalus bisulcatus*: a biotechnological perspective." *Environment International* 31: 233-241.

Dilly O. and Munch J.-C. (1996). "Microbial biomass content, basal respiration and enzyme activities during the course of decomposition of leaf litter in a black alder (*Alnus glutinosa* (L.) Gaertn.) forest." *Soil Biology and Biochemistry* 28(8): 1073-1081.

Doran J.W. and Alexander M. (1977). "Microbial transformations of selenium." *Applied and Environmental Microbiology* 33(1): 31-37.

Dowdle P.R. and Oremland R.S. (1998). "Microbial oxidation of elemental selenium in soil slurries and bacterial cultures." *Environmental Science and Technology* 32(23): 3749-3755.

Duc M., Lefevre G. and Fedoroff M. (2006). "Sorption of selenite ions on hematite." *Journal of Colloid and Interface Science* 298(2): 556-563.

Duc M., Lefevre G., Fedoroff M., Jeanjean J., Rouchaud J.C., Monteil-Rivera F., Dumonceau J. and Milonjic S. (2003). "Sorption of selenium anionic species on apatites and iron oxides from aqueous solutions*1." *Journal of Environmental Radioactivity* 70(1-2): 61-72.

Dungan R.S. and Frankenberger J., W. T. (1999). "Microbial transformations of selenium and the bioremediation of seleniferous environments." *Bioremediation Journal* 3: 171-188.

Dungan R.S., Yates S.R. and Frankenberger J., W. T. (2003). "Transformations of selenate and selenite by *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from a seleniferous agricultural drainage pond sediment." *Environmental Microbiology* 5: 287-295.

Dynes J.J. and Huang P.M. (1997). "Influence of organic acids on selenite sorption by poorly ordered aluminum hydroxides." *Soil Science Society of America Journal* 61(3): 772-783.

Edwards A.P. and Bremner J.M. (1967). "Dispersion of soil particles by sonic vibration." *Journal of Soil Science* 18(1): 47-63.

Ehrlich H.L. (1997). "Microbes and metals." *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 48: 687-692.

Engberg R.A., Westcot D.W., Delamore M. and Holz D.D. (1998). Federal and State Perspectives on Regulation and Remediation of Irrigation-Induced Selenium Problems. *Environmental Chemistry of Selenium*. New York, Frankenberger Jr. W.T. and Engberg R.A. p 1-25.

Falloon P., Smith P., Coleman K. and Marshall S. (1998). "Estimating the size of the inert organic matter pool from total soil organic carbon content for use in the rothamsted carbon model." *Soil Biology and Biochemistry* 30(8-9): 1207-1211.

Feller C. and Beare M.H. (1997). "Physical control of soil organic matter dynamics in the tropics." *Geoderma* 79(1-4): 69-116.

Fernandes E.C.M., Motavalli P.P., Castilla C. and Mukurumbira L. (1997). "Management control of soil organic matter dynamics in tropical land-use systems." *Geoderma* 79(1-4): 49-67.

Février L. (2003). Rôle des micro-organismes sur le comportement du sélénium dans le sol: Approche expérimentale. IRSN, Rapport DEI / SECRE / 2003 - 001.

Fisher M.M. and Triplett E.W. (1999). "Automated Approach for Ribosomal Intergenic Spacer Analysis of Microbial Diversity and Its Application to Freshwater Bacterial Communities." *Appl. Environ. Microbiol.* 65(10): 4630-4636.

Fliessbach A. and Mader P. (2000). "Microbial biomass and size-density fractions differ between soils of organic and conventional agricultural systems." *Soil Biology and Biochemistry* 32(6 SU -): 757-768.

FNSEA (1990). Agriculture, Environnement et Nucléaire: Comment réagir en cas d'accident.

Fontes D.E., Mills A.L., Hornberger G.M. and Herman J.S. (1991). "Physical and chemical factors influencing transport of microorganisms through porous media." *Applied and Environmental Microbiology* 57(9): 2473-2481.

Foster A.L., Brown J., Gordon E. and Parks G.A. (2003). "X-ray absorption fine structure study of As(V) and Se(IV) sorption complexes on hydrous Mn oxides." *Geochimica et Cosmochimica Acta* 67(11): 1937-1953.

Frankenberger J., W. T. and Karlson U. (1994). Microbial Volatilization of Selenium from Soils and Sediments. *Selenium in the Environment*. New York, Frankenberger Jr. W.T. and Benson S. p 369-387.

Frost R.R. and Griffin R.A. (1977). "Effect of pH on adsorption of arsenic and selenium from landfill leachate by clay minerals." *Soil Science Society of America Journal* 41(1): 53-57.

Garbisu C., Ishii T., Leighton T. and Buchanan B.B. (1996). "Bacterial reduction of selenite to elemental selenium." *Chemical Geology* 132: 199-204.

George M.W., U.S. Geological Survey (2004). Minerals Yearbook. Selenium and Tellurium, online at <http://minerals.usgs.gov/minerals/pubs/commodity/selenium/selenmyb04.pdf> (Accessed July 17, 2006).

Glendining M.J. and Poulton P.R. (1996). Interpretation difficulties with long-term experiments. Evaluation of soil organic matter models. J. U. Smith. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag. Vol. 38. p 101-109.

Gleyzes C., Tellier S. and Astruc M. (2002). "Fractionation studies of trace elements in contaminated soils and sediments: a review of sequential extraction procedures." *TrAC Trends in Analytical Chemistry* 21(6-7): 451-467.

Gobat J.-M., Aragno M. and Matthey W. (1998). *Le Sol vivant*. Lausanne, Presses polytechniques et universitaires romandes.

Goh K.-H. and Lim T.-T. (2004). "Geochemistry of inorganic arsenic and selenium in a tropical soil: effect of reaction time, pH, and competitive anions on arsenic and selenium adsorption." *Chemosphere* 55(6): 849-859.

Gossart P. (2001). Contribution à l'étude des interactions de la matière organique des sols avec les métaux lourds. Etude structurale et analytique de molécules modèles. Lille, Université des sciences et technologies de Lille: 134.

Grasset L. and Ambles A. (1998). "Structure of humin and humic acid from an acid soil as revealed by phase transfer catalyzed hydrolysis." *Organic Geochemistry* 29(4): 881-891.

Gregorich E.G., Kachanoski R.G. and Voroney R.P. (1988). "Ultrasonic dispersion of aggregates: distribution of organic matter in size fractions." *Canadian Journal of Soil Science* 68(2): 395-403.

Guine V., Martins J. and Gaudet J.P. (2003). Facilitated transport of heavy metals by bacterial colloids in sand columns. *Journal De Physique*. IV : JP.

Guo L., Jury W.A. and Frankenberger J., W. T. (2001). "Coupled production and transport of selenium vapor in unsaturated soil: evaluation by experiments and numerical simulation." *Journal of Contaminant Hydrology* 49(1-2): 67-85.

Gustafsson J.P. and Johnsson L. (1992). "Selenium retention in the organic matter of Swedish forest soils." *Journal of Soil Science* 43(3): 461-472.

Handbook of Chemistry and Physics, 79th Edition. (1998-1999). Lide D.R., Boca Raton, CRC Press.

Hasany S.M., Shamsi A.M. and Rauf M.A. (1997). "Sorption of selenium at micromolar levels onto hydrous titanium oxide from aqueous solutions using radiotracer technique." *Applied Radiation and Isotopes* 48(5): 595-600.

Hassink J. (1995). "Decomposition rate constants of size and density fractions of soil organic matter." *Soil Sci Soc Am J* 59: 1631-1635.

Hassink J., Bouwman L.A., Zwart K.B., Bloem J. and Brussaard L. (1993). "Relationships between soil texture, physical protection of organic matter, soil biota, and c and n mineralization in grassland soils." *Geoderma* 57(1-2): 105-128.

Hayes K.F., Papelis C. and Leckie J.O. (1988). "Modeling ionic strength effects on anion adsorption at hydrous oxide/solution interfaces." *Journal of Colloid and Interface Science* 125(2): 717-726.

Hayes K.F., Roe A.L., Brown G.E., Hodgson K.O., Leckie J.O. and Parks G.A. (1987). "In situ X-ray absorption study of surface complexes: selenium oxyanions on α -FeOOH." *Science* 238(4828): 783-786.

Haygarth P.M. (1994). Global Importance and Global Cycling of Selenium. *Selenium in the Environment*. New York, Frankenberger Jr. W.T. and Benson S. p 1-27.

Hesterberg D. (1998). "Biogeochemical cycles and processes leading to changes in mobility of chemicals in soils." *Agriculture, Ecosystems & Environment* 67(2-3): 121-133.

Hiemstra T. and Van Riemsdijk W.H. (1999). "Surface structural ion adsorption modeling of competitive binding of oxyanions by metal (Hydr)oxides." *Journal of Colloid and Interface Science* 210(1): 182-193.

IAEA (1994). Handbook of parameter values for the prediction of radionuclides transfer in temperate environments. Technical report series N° 364. Vienne, International Atomic Energy Agency.

- Iscioglu B. and Henden E. (2004). "Determination of selenoamino acids by gas chromatography-mass spectrometry." *Analytica Chimica Acta* 505(1): 101-106.
- Jackson B.P. and Miller W.P. (2000). "Effectiveness of Phosphate and Hydroxide for Desorption of Arsenic and Selenium Species from Iron Oxides." *Soil Sci Soc Am J* 64(5): 1616-1622.
- Jacquier P., Meier P. and Ly J. (2001). "Adsorption of radioelements on mixture of minerals - experimental study." *Applied Geochemistry* 16: 85-93.
- Jenkinson D.S., Haarkness D.D., Vance E.D., Adams D.E. and Harrison A.F. (1992). "Calculating net primary production and annual input of organic organic matter to soil from the amount and radiocarbon content of soil organic matter." *Soil Biol. Bioch.* 24(4): 295-308.
- Jiang S., He M., Diao L., Li C., Gou J. and Wu S. (2002). "Re-measurement of the half-life of ⁷⁹Se." *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section A: Accelerators, Spectrometers, Detectors and Associated Equipment* 489(1-3): 195-201.
- Joergensen R.G. (1996). "The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the kEC value." *Soil Biology and Biochemistry* 28(1): 25-31.
- John M.K., Saunders W.M.H. and Watkinson J.H. (1979). "Selenium adsorption by New Zealand soils." *New Zealand Journal of Agricultural Research* 19: 143-151.
- Karlson U. and Frankenberger J., W. T. (1988a). "Determination of gaseous selenium-75 evolved from soil." *Soil Sci Soc Am J* 52: 678-681.
- Karlson U. and Frankenberger J., W. T. (1988b). "Effects of carbon and trace element addition on alkylselenide production by soil." *Soil Sci Soc Am J* 52: 1640-1648.
- Kessi J., Ramuz M., Wehrli E., Spycher M. and Bachofen R. (1999). "Reduction of selenite and detoxification of elemental selenium by the phototrophic bacterium *Rhodospirillum rubrum*." *Applied and Environmental Microbiology* 65(11): 4734-4740.
- Koch-Steindl H. and Pröhl G. (2001). "Considerations on the behaviour of long-lived radionuclides in the soil." *Radiation and Environmental Biophysics* 40(2): 93-104.
- Kogel-Knabner I. (2000). "Analytical approaches for characterizing soil organic matter." *Organic Geochemistry* 31(7-8): 609-625.
- Kogel-Knabner I. (2002). "The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter." *Soil Biology and Biochemistry* 34(2): 139-162.
- Lakin H.W. (1972). "Selenium Accumulation in Soils and Its Adsorption by Plants and Animals." *Geol Soc Amer Bull* 83: 181-190.

- Lejon D.P.H., Chaussod R., Ranger J. and Ranjard L. (2005). "Microbial community structure and density under different tree species in an acid forest soil (Morvan, France)." *Microbial Ecology* 50(4): 614-625.
- Lemly A.D. (1997). "A Teratogenic Deformity Index for Evaluating Impacts of Selenium on Fish Populations." *Ecotoxicology and Environmental Safety* 37(3): 259-266.
- Lenoble V., Chabrouillet C., Al Shukry R., Serpaud B., Deluchat V. and Bollinger J.-C. (2004a). "Dynamic arsenic removal on a MnO₂-loaded resin." *Journal of Colloid and Interface Science* 280(1): 62-67.
- Lenoble V., Laclautre C., Serpaud B., Deluchat V. and Bollinger J.-C. (2004b). "As(V) retention and As(III) simultaneous oxidation and removal on a MnO₂-loaded polystyrene resin." *Science of the Total Environment* 326(1-3): 197-207.
- Lim T.-T. and Goh K.-H. (2005). "Selenium extractability from a contaminated fine soil fraction: implication on soil cleanup." *Chemosphere* 58(1): 91-101.
- Lobinski R., Edmonds J.S., Suzuki K.T. and Uden P.C. (2000). "Species-selective determination of selenium compounds in biological materials." *Pure applied chemistry* 72(3): 447-461.
- Lortie L., Gould W.D., Rajan S., McCready R.G.L. and Cheng K.-J. (1992). "Reduction of selenate and selenite to elemental selenium by a *Pseudomonas stutzeri* isolate." *Applied and Environmental Microbiology* 58(12): 4042-4044.
- Losi M.E. and Frankenberger J., W. T. (1997). "Reduction of selenium oxyanions by *Enterobacter cloacae* SLD1a-1: isolation and growth of the bacterium and its expulsion of selenium particles." *Applied and Environmental Microbiology* 63(8): 3079-3084.
- Lovely D.R. (1995). "Microbial reduction of iron, manganese, and other metals." *Advances in Agronomy* 54: 175-231.
- Mamilov A.S. and Dilly O.M. (2002). "Soil microbial eco-physiology as affected by short-term variations in environmental conditions." *Soil Biology and Biochemistry* 34(9): 1283-1290.
- Marhaba T.F., Van D. and Lippincott L. (2000). "Rapid identification of dissolved organic matter fractions in water by spectral fluorescent signatures." *Water Research* 34(14): 3543-3550.
- Martinez C.E., Jacobson A.R. and McBride M.B. (2003). "Aging and temperature effects on DOC and elemental release from a metal contaminated soil." *Environmental Pollution* 122(1): 135-143.
- Martinez M., Gimenez J., de Pablo J., Rovira M. and Duro L. (2006). "Sorption of selenium(IV) and selenium(VI) onto magnetite." *Applied Surface Science* 252(10): 3767-3773.

Masscheleyn P.H., Delaune R.D. and W.H. Patrick J. (1991). "Biogeochemical behavior of selenium in anoxic soils and sediments : An equilibrium thermodynamics approach." *Journal of Environmental Science and Health A26*(4): 555-573.

Masset S., Monteil-Rivera F., Dupont L., Dumonceau J. and Aplincourt M. (2000). "Influence of humic acid on sorption of Co(II), Sr(II), and Se(IV) on goethite." *Agronomie* 20(5): 525-535.

McGill W.B. (1996). Review and classification of ten soil organic matter (SOM) models. Evaluation of soil organic matter models. J. U. Smith. Berlin Heidelberg, Springer-Verlag. Vol. 38. p 111-132.

McLaughlin M.J. (2001). Ageing of metals in soils changes bioavailability. Fact Sheet on Environmental Risk assesment, International Council on Metals and the Environment (ICME). Vol. 4. p 1-6.

Meier L.P. and Kahr G. (1999). "Determination of the cation exchange capacity (CEC) of clay minerals using the complexes of copper(II) ion with triethylenetetramine and tetraethylenepentamine." *Clays and Clay Minerals* 47(3): 386-388.

Meijboom F.W., Hassink J. and Van Noordwijk M. (1995). "Density fractionation of soil macroorganic matter using silica suspensions." *Soil Biology and Biochemistry* 27(8): 1109-1111.

Monteil-Rivera F., Fedoroff M., Jeanjean J., Minel L., Barthes M.-G. and Dumonceau J. (2000). "Sorption of Selenite (SeO₃²⁻) on Hydroxyapatite: An Exchange Process." *Journal of Colloid and Interface Science* 221(2): 291-300.

Nakamaru Y., Tagami K. and Uchida S. (2005). "Distribution coefficient of selenium in Japanese agricultural soils." *Chemosphere* 58(10): 1347-1354.

Nakamaru Y., Tagami K. and Uchida S. (2006). "Effect of phosphate addition on the sorption-desorption reaction of selenium in Japanese agricultural soils." *Chemosphere* 63(1): 109-115.

Neal R.H. and Sposito G. (1989). "Selenate adsorption on alluvial soils." *Soil Science Society of America Journal* 53: 70-74.

Neal R.H. and Sposito G. (1991). "Selenium mobility in irrigated soil columns as affected by organic carbon amendment." *Journal of Environmental Quality* 20: 808-814.

Neal R.H., Sposito G., Holtzclaw K.M. and Traina S.J. (1987a). "Selenite adsorption on alluvial soils : I. Soil composition and pH effects." *Soil Science Society of America Journal* 51: 1161-1165.

Neal R.H., Sposito G., Holtzclaw K.M. and Traina S.J. (1987b). "Selenite adsorption on alluvial soils : II. Solution composition effects." *Soil Science Society of America Journal* 51: 1165-1169.

North P.F. (1976). "Towards an Absolute Measurement of Soil Structural Stability Using Ultrasound." *Journal of Soil Science* 27(4): 451-459.

Ohlendorf H.M. and Santolo G.M. (1998). Kesterson Reservoir - Past, Present, and Future: An Ecological Risk Assessment. *Environmental Chemistry of Selenium*. New York, Frankenberger Jr. W.T. and Engberg R.A. p 69-117.

Oremland R.S., Herbel M.J., Blum J.S., Langley S., Beveridge T.J., Ajayan P.M., Sutto T., Ellis A.V. and Curran S. (2004). "Structural and Spectral Features of Selenium Nanospheres Produced by Se-Respiring Bacteria." *Appl. Environ. Microbiol.* 70(1): 52-60.

Pansu M. and Gautheyrou J. (2003). *L'analyse du sol*. Paris, Springer-Verlag France.

Papelis C., Brown G.E., Parks G.A. and Leckie J.O. (1995). "X-ray absorption spectroscopic studies of cadmium and selenite adsorption on aluminum oxides." *Langmuir* 11(6): 2041-2048.

Peak D., Saha U.K. and Huang P.M. (2006). "Selenite adsorption mechanisms on pure and coated montmorillonite: An EXAFS and XANES spectroscopic study." *Soil Science Society of America Journal* 70(1): 192-203.

Peak D. and Sparks D.L. (2002). "Mechanisms of selenate adsorption on iron oxides and hydroxides." *Environmental Science and Technology* 36(7): 1460-1466.

Perrier T., Martin-Garin A. and Morello M. (2005). "Am-241 remobilization in a calcareous soil under simplified rhizospheric conditions studied by column experiments." *J. Environ. Radioactiv.* 79(2): 205-221.

Ponce-Hernandez R. (2002). "Modelling SOM turnover with the RothC-26.3 model (Rothamsted Carbon model)." Trent University (Occasional Paper).

Pritchard D.T. (1974). "A method for soil particle-size analysis using ultrasonic de-aggregation." *J. Soil Sci* 25: 34-40.

Ranjard L., Poly F., Lata J.-C., Mougél C., Thioulouse J. and Nazaret S. (2001). "Characterization of Bacterial and Fungal Soil Communities by Automated Ribosomal Intergenic Spacer Analysis Fingerprints: Biological and Methodological Variability." *Appl. Environ. Microbiol.* 67(10): 4479-4487.

Ranjard L., Prigent-Combaret C., Nazaret S. and Courmoyer B. (2002). "Methylation of inorganic and organic selenium by the bacterial thiopurine methyltransferase." *Journal of Bacteriology*: 3146-3149.

Reichstein M., Bednorz F., Broll G. and Katterer T. (2000). "Temperature dependence of carbon mineralisation: conclusions from a long-term incubation of subalpine soil samples." *Soil Biology and Biochemistry* 32(7): 947-958.

Robaux V. (2005). "Assessment of the presence of selenium in drinking waters of the Essonne department: Characterisation and evolution

[Evaluation de la presence de selenium dans des eaux d'alimentation de captages de l'Essonne: Caracterisation, evolution]." *Journal Europeen d'Hydrologie* 36(2): 93-106.

Robinson C.H. and Bruce K.D. (2002). *Natural microbial communities. Interactions of microorganisms with radionuclides.* F. R. Livens. Amsterdam. Vol. 2.

Ros M., Hernandez M.T. and Garcia C. (2003). "Soil microbial activity after restoration of a semiarid soil by organic amendments." *Soil Biology and Biochemistry* 35(3): 463-469.

Ross D.J., Tate K.R. and Feltham C.W. (1996). "Microbial biomass, and C and N mineralization, in litter and mineral soil of adjacent montane ecosystems in a southern beech (*Nothofagus*) forest and a tussock grassland." *Soil Biology and Biochemistry* 28(12): 1613-1620.

Roussel-Debet S. and Colle C. (2005). "Comportement de radionucléides (Cs, I, Sr, Se, Tc) dans le sol : proposition de valeurs de Kd par défaut." *Radioprotection* 40(2): 203-229.

Roux M., Sarret G., Pignot-Paintrand I., Fontecave M. and Coves J. (2001). "Mobilization of selenite by *Ralstonia metallidurans* CH34." *Applied and Environmental Microbiology* 67(2): 769-773.

Saeki K. and Matsumoto S. (1994a). "Influence of organic matter on selenite sorption by andosols." *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 25(19-20): 3379-3391.

Saeki K. and Matsumoto S. (1994b). "Selenite adsorption by a variety of oxides." *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 25(11-12): 2147-2158.

Saggar S., Yeates G.W. and Shepherd T.G. (2001). "Cultivation effects on soil biological properties, microfauna and organic matter dynamics in Eutric Gleysol and Gleyic Luvisol soils in New Zealand." *Soil and Tillage Research* 58(1-2): 55-68.

Sarathchandra S.U. and Watkinson J.H. (1981). "Oxidation of elemental selenium to selenite by *Bacillus megaterium*." *Science* 211: 600-601.

Schulthess C.P. and Hu Z. (2001). "Impact of Chloride Anions on Proton and Selenium Adsorption by an Aluminum Oxide." *Soil Sci Soc Am J* 65(3): 710-718.

Schutter M.E., Sandeno J.M. and Dick R.P. (2001). "Seasonal, soil type, and alternative management influences on microbial communities of vegetable cropping systems." *Biology and Fertility of Soils* 34(6): 397-410.

Schwartz C., Walter C., Claudot B., Aurousseau P. and T. B. (1995). *Synthèse nationale des analyses de terre.* Association Française pour l'Étude des sols, AFES - DERF.

Scott M.J. and Morgan J.J. (1996). "Reactions at oxide surfaces. 2.Oxidation of Se(IV) by synthetic birnessite." *Environmental Science and Technology* 30: 1990-1996.

Séby F., Potin-Gautier M., Giffaut E. and Donard O.F.X. (1998). "Assessing the speciation and the biogeochemical processes affecting the mobility of selenium from a geological repository of radioactive wastes to the biosphere." *Analisis* 26: 193-198.

See K.A., Lavercombe P.S., Dillon J. and Ginsberg R. (2006). "Accidental death from acute selenium poisoning." *Medical Journal of Australia* 185(7): 388-389.

Seiler R.L. (1998). Prediction of Lands Susceptible to Irrigation-Induced Selenium Contamination of Water. *Environmental Chemistry of Selenium*. New York, Frankenberger Jr. W.T. and Engberg R.A. p 397-418.

Senesi N. (1990). "Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals : Part II. The fluorescence spectroscopy approach." *Analytica Chimica Acta* 232: 77-106.

Shirato Y., Paisanchoen K., Sangtong P., Nakviro C., Yokozawa M. and Matsumoto N. (2005). "Testing the Rothamsted Carbon Model against data from long-term experiments on upland soils in Thailand." *European Journal of Soil Science* 56(2): 179-188.

Sierra M.M.D., Giovanela M., Parlanti E. and Soriano-Sierra E.J. (2005). "Fluorescence fingerprint of fulvic and humic acids from varied origins as viewed by single-scan and excitation/emission matrix techniques." *Chemosphere* 58(6): 715-733.

Skjemstad J.O., Spouncer L.R., Cowie B. and Swift R.S. (2004). "Calibration of the Rothamsted organic carbon turnover model (RothC ver. 26.3), using measurable soil organic carbon pools." *Australian Journal of Soil Research* 42(1): 79-88.

Skorupa J.P. (1998). Selenium Poisoning of Fish and Wildlife in Nature: Lessons from Twelve Real-World Experiences. *Environmental Chemistry of Selenium*. New York, Frankenberger Jr. W.T. and Engberg R.A. p 315-354.

Smith P., Smith J.U., Powlson D.S., McGill W.B., Arah J.R.M., Chertov O.G., Coleman K., Franko U., Frolking S. and Jenkinson D.S. (1997). "A comparison of the performance of nine soil organic matter models using datasets from seven long-term experiments." *Geoderma* 81: 153-225.

Sollins P., Homann P. and Caldwell B.A. (1996). "Stabilization and destabilization of soil organic matter: mechanisms and controls." *Geoderma* 74(1-2): 65-105.

Sposito G. (1989). *The chemistry of soils*. New York, Oxford University Press.

Sterckeman T., Douay F., Proix N., Fourrier H. and Perdrix E. (2002). "Assessment of the contamination of cultivated soils by eighteen trace elements around smelters in the north of France." *Water, Air, and Soil Pollution* 135: 173-194.

Stolz J.F. and Oremland R.S. (1999). "Bacterial respiration of arsenic and selenium." *FEMS Microbiology Reviews* 23: 615-627.

Stork A., Jury W.A. and Frankenberger J., W. T. (1999). "Accelerated volatilisation rates of selenium from different soils." *Biological Trace Element Research* 69: 217-234.

Strawn D., Doner H., Zavarin M. and McHugo S. (2002). "Microscale investigation into the geochemistry of arsenic, selenium, and iron in soil developed in pyritic shale materials." *Geoderma* 108(3-4): 237-257.

Su C. and Suarez D.L. (2000). "Selenate and Selenite Sorption on Iron Oxides: An Infrared and Electrophoretic Study." *Soil Sci Soc Am J* 64(1): 101-111.

Switzer Blum J., Burns Bindi A., Buzzelli J., Stolz J.F. and Oremland R.S. (1998). "*Bacillus arsenicoselenatis*, sp. nov., and *Bacillus selenitireducens*, sp. nov.: two haloalkaliphiles from Mono Lake, California that respire oxyanions of selenium and arsenic." *Arch Microbiol* 171: 19-30.

Tagami K. and Uchida S. (1998). "Aging effect on bioavailability of Mn, Co, Zn and Tc in Japanese agricultural soils under waterlogged conditions." *Geoderma* 84(1-3): 3-13.

Tam S.-c., Chow A. and Hadley D. (1995). "Effects of organic component on the immobilization of selenium on iron oxyhydroxide." *The Science of The Total Environment* 164(1): 1-7.

Tan J., Zhu W., Wang W., Li R., Hou S., Wang D. and Yang L. (2002). "Selenium in soil and endemic diseases in China." *The Science of The Total Environment* 284: 227-235.

Tate R.L. (1995). *Soil microbiology*. New York, Wiley.

Tessier A., Campbell P.G.C. and Bisson M. (1979). "Sequential extraction procedure for the speciation of particulate trace metals." *analytical chemistry* 51(7): 844-851.

Tessier L., Gregorich E.G. and Topp E. (1998). "Spatial variability of soil microbial biomass measured by the fumigation extraction method, and KEC as affected by depth and manure application." *Soil Biology and Biochemistry* 30(10-11): 1369-1377.

Tomei F.A., Barton L.L., Lemanski C.L. and Zocco T.G. (1992). "Reduction of selenate and selenite to elemental selenium by *Wolinella succinogenes*." *Can. J. Microbiol.* 38: 1328-1333.

Van Fleet-Stalder V., Chasteen T.G., Pickering I.J., George G.N. and Prince R.C. (2000). "Fate of selenate and selenite metabolized by *Rhodobacter sphaeroides*." *Applied and Environmental Microbiology* 66(11): 4849-4853.

Vance E.D., Brookes P.C. and Jenkinson D.S. (1987a). "An extraction method for measuring soil microbial biomass C." *Soil Biology and Biochemistry* 19(6): 703-707.

Vance E.D., Brookes P.C. and Jenkinson D.S. (1987b). "Microbial biomass measurements in forest soils: The use of the chloroform fumigation-incubation method in strongly acid soils." *Soil Biology and Biochemistry* 19(6): 697-702.

Wang W.J., Dalal R.C., Moody P.W. and Smith C.J. (2003). "Relationships of soil respiration to microbial biomass, substrate availability and clay content." *Soil Biology and Biochemistry* 35(2): 273-284.

Wang X. and Liu X. (2005). "Sorption and desorption of radioselenium on calcareous soil and its solid components studied by batch and column experiments." *Applied Radiation and Isotopes* 62(1): 1-9.

Widmer F., Rasche F., Hartmann M. and Fliessbach A. (2006). "Community structures and substrate utilization of bacteria in soils from organic and conventional farming systems of the DOK long-term field experiment." *Applied Soil Ecology* 33(3): 294-307.

Wijnja H. and Schulthess C.P. (2000a). "Interaction of carbonate and organic anions with sulfate and selenate adsorption on an aluminum oxide." *Soil Science Society of America Journal* 64(3): 898-908.

Wijnja H. and Schulthess C.P. (2000b). "Vibrational Spectroscopy Study of Selenate and Sulfate Adsorption Mechanisms on Fe and Al (Hydr)oxide Surfaces." *Journal of Colloid and Interface Science* 229(1): 286-297.

Wright M.T., Parker D.R. and Amrhein C. (2003). "Critical evaluation of the ability of sequential extraction procedures to quantify discrete forms of selenium in sediments and soils." *Environmental Science and Technology* 37(20): 4709-4716.

Yannarell A.C. and Triplett E.W. (2005). "Geographic and environmental sources of variation in lake bacterial community composition." *Applied and Environmental Microbiology* 71(1): 227-239.

Zawislanski P.T., Benson S.M., Terberg R. and Borglin S.E. (2003). "Selenium speciation, solubility, and mobility in land-disposed dredged sediments." *Environmental Science and Technology* 37(11): 2415-2420.

Zech W., Senesi N., Guggenberger G., Kaiser K., Lehmann J., Miano T.M., Miltner A. and Schroth G. (1997). "Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics." *Geoderma* 79(1-4): 117-161.

Zhang P. and Sparks D.L. (1990). "Kinetics of selenate and selenite adsorption/desorption at the goethite/water interface." *Environmental Science and Technology* 24(12): 1848-1856.

Zhang P.-C., Krumhansl J.L. and Brady P.V. (2002). *Introduction to Properties, Sources and Characteristics of Soil Radionuclides. Geochemistry of Soil Radionuclides.* P. V. Brady. Madison, Soil Science Society of America. Vol. SSSA Special Publication no. 59. p 1-20.

Zhang Y. and Moore J.N. (1996). "Selenium Fractionation and Speciation in a Wetland System." *Environmental Science and Technology* 30: 2613-2619.

Zhou C.-M. and Wu Z.-D. (2006). "Calculation of half-life for ⁷⁹Se decay." *Nuclear Science and Techniques* 17(1): 21-23.

Zuyi T., Taiwei C., Jinzhou D., XiongXin D. and Yingjie G. (2000). "Effect of fulvic acids on sorption of U(VI), Zn, Yb, I and Se(IV) onto oxides of aluminum, iron and silicon." *Applied Geochemistry* 15(2): 133-139.

Annexe I : Principales utilisations du sélénium¹⁰

1. Utilisations de ses propriétés chimiques

L'industrie du verre représente une des principales sources d'utilisation du sélénium (entre 1/3 et 1/4 de la production mondiale du sélénium). Selon sa forme chimique, le sélénium est utilisé pour contrer la coloration provenant des oxydes de fer ou au contraire pour le teinter afin de créer des verres rouges (Haygarth 1994). Le sélénium, principalement sous forme de sulfoséléniure de cadmium, est utilisé dans la fabrication de pigments allant du jaune-orangé au marron. Le coût relativement élevé de ces pigments a limité leur utilisation à certains plastiques et certaines peintures où une résistance importante à la chaleur, à la lumière, aux conditions climatiques et chimiques est nécessaire (George 2004). Toutefois, ce marché est en déclin de par la législation contraignante qui vise à interdire ou limiter l'utilisation de ces matières (présence de cadmium) associée à la mise au point de nouveaux produits de remplacement. Le sélénium est également utilisé sous diverses formes dans l'industrie chimique et pétrochimique dans de nombreuses applications très spécifiques, comme par exemple l'oxydation des oléfines (hydrocarbures), la fabrication d'acide acétique, etc. (Butterman and Brown Jr. 2004). Cette utilisation couplée à la fabrication de pigment représente approximativement 20 % des besoins en sélénium. Enfin, le sélénium est utilisé dans la métallurgie principalement afin d'améliorer l'usinabilité¹¹ de certains matériaux (cuivre, plomb, aciers inoxydables, etc.) afin de diminuer les temps de production (Butterman and Brown Jr. 2004).

¹⁰ La production mondiale du sélénium est d'environ 1600 tonnes par an, obtenues principalement comme sous-produit du raffinement du cuivre (Haygarth P.M. (1994).

¹¹ L'usinabilité est l'aptitude d'un matériau solide à se laisser usiner

2. Utilisations de ses propriétés physiques

Le sélénium possède des propriétés photovoltaïque¹² et photoconductrice¹³ intéressantes. Ces propriétés photosensibles ont fait du sélénium un élément largement employé dans la fabrication des cellules photo-électriques (réglage des appareils photographiques), pour animer des systèmes d'alarme, mettre en marche des escaliers roulants, fermer des portes d'ascenseurs, etc. Il a été également très utilisé au cours des années 70-80 dans la Xérographie¹⁴ pour reproduire des documents et ce malgré les gros investissements engendrés par les équipements à base de sélénium ultra-pur (Haygarth 1994). Les applications électriques et électroniques ont représenté les principales utilisations du sélénium (plus du tiers de la production mondiale) jusqu'à la fin des années 90 (Butterman and Brown Jr. 2004). Néanmoins, les progrès technologiques considérables réalisés dans le domaine des photorécepteurs organiques à faible coût ont entraîné une forte diminution de l'utilisation de sélénium dans ce domaine (George 2004) (passage de plus de 30 % à environ 10 % des applications en à peine 10 ans).

¹² Action photovoltaïque : la lumière est convertie directement en électricité

¹³ Action photoconductrice : la résistance électrique décroît avec l'augmentation de l'éclairage

¹⁴ Xérographie : procédé d'impression numérique inventé par Chester F. Carlson pour la société Xerox.

3. Les recherches sur le sélénium

Les recherches sur le sélénium représentent environ 0,10 % du volume total des publications de ces 20 dernières années, sans augmentation ou diminution notable de cette proportion jusqu'en 1999 (Figure 77). Entre 2000 et 2004, une augmentation significative de l'intérêt porté à cet élément s'est fait ressentir (augmentation du nombre de publication). Cet intérêt nouveau résulte certainement de la prise de conscience récente de la toxicité du sélénium (Lemly 1997), jusque là principalement considéré comme un oligoélément et la mise en évidence de pollution dans certains sites principalement aux Etats-Unis (Skorupa 1998).

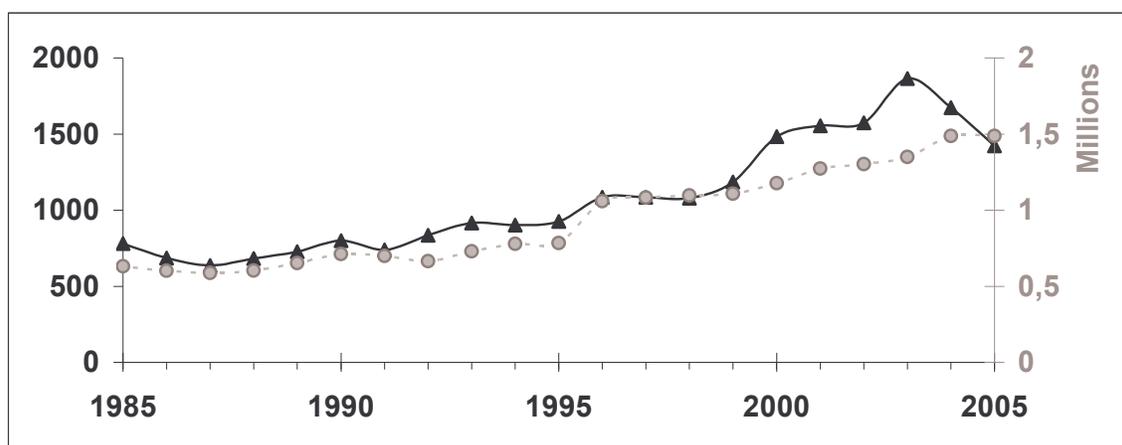


Figure 77 : Evolution du nombre de publications concernant le sélénium (—▲—), comparée à l'évolution du nombre total de publications référencées (...•...); recherche effectuée avec le moteur de recherche SCOPUS, avec le mot-clé « selenium » et sans mot-clé.

Annexe II : Rôle physiologique et toxicité du sélénium

Une des particularités du sélénium provient de son double statut d'oligo-élément et d'élément toxique. En effet, sa courbe dose-réponse en forme de U présente une marge très étroite séparant les « faibles doses » où l'on observe un syndrome de carence (sélénium = oligo-élément) des « fortes doses » pour lesquelles une toxicité est observée (sélénium = élément toxique), aussi bien pour l'homme que pour les animaux (Barceloux 1999).

1. Effets engendrés par une carence en sélénium

Le sélénium est essentiel pour la plupart des organismes vivants, mais dans une gamme de concentrations très étroite, au-delà de laquelle il devient toxique. A faible concentration, il permet de lutter contre les dommages engendrés par le stress oxydant. En effet, c'est un composant essentiel d'une enzyme (la glutathion peroxydase) impliquée dans la protection lipidique des membranes polyinsaturées contre la dégradation oxydative (Barceloux 1999). Les effets sur la santé humaine causés par des déficiences en sélénium semblent conduire à diverses pathologies généralement réversibles, dont notamment des troubles neurologiques et du rythme cardiaque, ainsi que des anomalies de la peau (Bourrelier and Berthelin 1998). Le lien entre la carence en sélénium et la maladie de Keshan (cardiomyopathie) est plus ou moins bien justifiée (Tan *et al.* 2002). Il est en fait basé sur une étude de la distribution géographique du sélénium et de cette maladie. Bien que cette relation soit bien corrélée, il n'y a pas de mise en évidence directe de la contribution du déficit en sélénium avec le développement de cette maladie chronique (Barceloux 1999). De plus, d'autres études épidémiologiques, basées également sur le même type de comparaison, ont montré une relation inverse entre la mortalité par le cancer et un déficit en sélénium ; suggérant ainsi que des carences en sélénium augmenteraient le risque de cancer (Bourrelier and Berthelin 1998; Barceloux 1999). Cependant, à l'heure actuelle, les données disponibles dans la littérature ne sont pas assez probantes pour justifier la recommandation de traitements préventifs des cancers à base de sélénium (Barceloux 1999).

2. Effet toxique d'une contamination en sélénium

2.1. Toxicité chez l'homme

La toxicité du sélénium est fonction de sa spéciation. Ainsi, bien que possédant une biodisponibilité largement supérieure, les formes organiques du sélénium sont globalement considérées comme peu toxiques par comparaison aux formes inorganiques (Iscioglu and Henden 2004). En revanche, l'exposition aiguë au sélénium sous formes inorganiques peut être fatale (See *et al.* 2006), principalement dans le cas d'exposition au sélénite qui semble être la forme la plus toxique (Barceloux 1999). Les cas d'expositions aiguës au sélénium sont assez rares, mais permettent néanmoins d'appréhender les effets toxiques selon la quantité ingérée. Dans le cas d'ingestion de sélénite (forme la plus toxique) une ingestion de l'ordre du gramme est létale ; en revanche, une quantité de l'ordre du milligramme semble entraîner l'apparition de troubles (nausées/vomissements, douleurs abdominales, convulsions) qui disparaissent rapidement (24 h) (Barceloux 1999). L'ingestion de sélénite à des quantités comprises entre le gramme et le milligramme est peu renseignée, suggérant que la dose létale peut être inférieure à 1 g. Les cas d'intoxications chroniques causées par le sélénium sont d'une part assez rares et d'autre part n'interviennent que pour des quantités de sélénium ingérées relativement conséquentes. Ainsi, d'après Barceloux (1999), une dose de sélénium supérieure à $900 \mu\text{g}_{\text{Se}}.\text{jour}^{-1}$ est nécessaire pour causer un effet toxique. C'est notamment une exposition au sélénium largement supérieure qui serait responsable de la sélénose (maladie chronique qui consiste en des modifications morphologiques des ongles des mains) observée dans une zone où les sols sont sélénifères en Chine. Enfin, le sélénium est classé par l'IARC dans le groupe 3, qui rassemble les éléments inclassables quant à leur cancérogénicité pour l'homme. En effet, les composés séléniés ont été testés sur des rats et souris par voie orale, et bien que dans une série d'expérience le sélénium a augmenté la fréquence de tumeur du foie, les données sont insuffisantes pour conclure à une évaluation de la cancérogénicité du sélénium.

2.2. Toxicité des écosystèmes terrestres et aquatiques

Les données concernant la toxicité du sélénium des écosystèmes terrestres sont quasi-inexistantes (Bourrelier and Berthelin 1998). Cependant des impacts toxicologiques ont été observés sur des oiseaux lorsque le sélénium était majoritairement sous forme séléniate. La limite de toxicité pour l'espèce d'oiseaux la plus sensible a été déterminée entre 3 et 4 $\mu\text{g.L}^{-1}$ de sélénium (Skorupa 1998). La toxicité du sélénium est également appréhendée sur de nombreuses bactéries du sol en cultures pures. Les résultats semblent montrer une toxicité relativement faible du sélénite et du séléniate. Ainsi, sur des bactéries sensibles au sélénium aucun effet n'est observé jusqu'à des concentrations de l'ordre du mmol.L^{-1} (Burton *et al.* 1987).

La toxicité du sélénium a été mieux étudiée dans les systèmes aquatiques, la spéciation ayant même été caractérisée dans un grand nombre d'études. Le tableau ci-après (Tableau XX) donne un aperçu de la toxicité du sélénium en comparaison avec quelques uns des principaux polluants inorganiques. Ainsi, les principaux résultats montrent que la toxicité du sélénium est très variable d'une espèce à l'autre, à la fois en terme de concentration et de spéciation. En effet, les algues semblent être relativement peu sensibles au sélénite (par rapport aux daphnies et aux poissons) mais présentent une réponse importante vis-à-vis du séléniate à des concentrations inférieures à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$; à contrario, le sélénite présente chez le poisson une toxicité a priori comparable (voire plus importante) à celle du séléniate.

Tableau XX : Comparaison des effets toxiques du sélénium, de l'arsenic, du chrome et du nickel sur 3 espèces aquatiques classiquement utilisées pour évaluer la toxicité d'un élément (Bourrelier and Berthelin 1998)

Concentrations (mg.L^{-1})	Sélénium (Se)		Arsenic (As)		Chrome (Cr)		Nickel (Ni)
	Se IV	Se VI	As III	As V	Cr III	Cr VI	
Algues CE ₅₀ 72h (**)	25-45**	0,098**	1,7-4**	0,26-4,7**	1**	0,16-1,35**	0,3-0,8**
Daphnies CL ₅₀ 48h (*) CE ₅₀ 48h (**)	0,25-5*	0,02-1,2*	1,4-6,2**	7,4**	30-500**	0,1-2,5**	0,7-86**
Poissons CL ₅₀ 96h (*) CE ₅₀ 96h (**)	0,5-26*	2*	11-50*	10,8-150*	63-375**	20-300**	2-40*

*CL₅₀ (concentration létale 50) : concentration entraînant la mort de 50 % du groupe d'individus étudié

**CE₅₀ : concentration ayant un effet sur 50 % du groupe d'individus étudié ; pour les daphnies, l'effet étudié est généralement l'immobilisation ; chez les algues, on observe soit une diminution de la croissance, soit une réduction de la biomasse.

Ces résultats ne peuvent cependant pas être directement comparés entre eux car les conditions expérimentales de chaque expérience ne sont pas identiques. Il est donc impossible de déterminer avec ces valeurs si le sélénium est plus ou moins toxique qu'un autre élément. Néanmoins, ces données permettent d'illustrer le fait que la toxicité du sélénium est au moins du même ordre de grandeur que celle de l'arsenic, du chrome ou du nickel.

Une étude sur les données toxicologiques de 12 sites contaminés en sélénium a révélé que des concentrations de l'ordre de $5 \mu\text{g.L}^{-1}$, voir même inférieures, présentaient un risque toxicologique pour la faune, principalement aquatique (Skorupa 1998). Ces impacts toxicologiques ont été observés dans tous les cas sur des poissons lorsque le sélénium était majoritairement sous forme sélénite. La déformation des poissons exposés à de trop fortes concentrations en sélénium (effet tératogène, Figure 78) proviendrait de la substitution du soufre par le sélénium dans les protéines, qui entraînerait la formation de protéines ou d'enzymes non fonctionnelles (Lemly 1997).

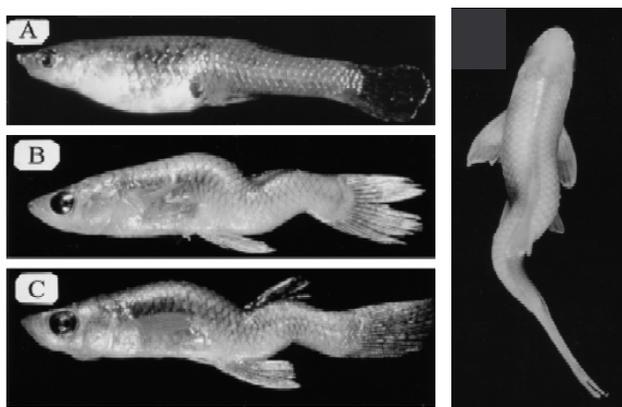


Figure 78 : Effet tératogène du sélénium sur des poissons – comparaison du témoin (A) et de poissons exposés qui présentent une déformation scoliotique (B et C) (Lemly 1997)

Annexe III : Brefs rappels sur la radioactivité

1. Définitions

Les radionucléides (= atomes radioactifs) sont des atomes instables. Ils se désintègrent spontanément en émettant des rayonnements ionisants. Ainsi, ils disparaissent plus ou moins vite au cours du temps suivant leur période (T ou demi-vie) caractéristique. Il existe des rayonnements ionisants de différentes natures (alpha (α), bêta (β), gamma (γ), ...) et de différentes énergies, selon les radionucléides et les modes de désintégration. Ces rayonnements sont des particules émises par les noyaux avec une grande énergie. Elles ont été identifiées respectivement à des noyaux d'hélium (rayonnement α), à des électrons ou positons (rayonnement β) et à des photons de grande énergie (rayonnement γ).

2. Les sources de radioactivité dans l'environnement

L'exposition naturelle représente la principale source de radioactivité à laquelle nous sommes exposés, avec près de 67 % de l'exposition totale. Cette radioactivité naturelle provient majoritairement (à 40 %) du radon qui émane du sol et des matériaux de construction. Les autres sources naturelles sont le rayonnement tellurique (12 %), provenant des éléments radioactifs formés en même temps que la Terre, des rayons cosmiques (9 %) et du rayonnement humain interne (6 %), provenant de la respiration du radon et de l'alimentation (FNSEA 1990).

L'exposition artificielle est la résultante des nombreuses applications médicales comme par exemples la radiothérapie, la radiographie, l'admission de substances radioactives pour les analyses d'imagerie médicale, etc. Les retombées des essais des armes nucléaires dans l'atmosphère sont également perceptibles apportant environ 1 % de l'exposition totale. Enfin, l'utilisation industrielle (dont les centrales nucléaires) et la recherche associée représentent également la même proportion (FNSEA 1990).

3. De la radioactivité à la dose

La radioactivité est mesurée en Becquerel¹⁵ (Bq). Cette mesure représente la quantité d'atomes radioactifs qui se désintègrent pendant une seconde.

La dose absorbée est exprimée en Gray (Gy), elle représente le transfert d'énergie des rayonnements ionisants à la matière qu'ils traversent. Cette dose est fonction de nombreux paramètres dont la nature du rayonnement (α , β , γ , X, ...), son énergie et la distance à la source.

Dans le cas où la matière traversée est un organisme vivant, la dose absorbée est préférentiellement exprimée en équivalent de dose. Ainsi, on évalue la nocivité potentielle de la dose reçue en prenant en compte l'effet produit sur le vivant. Cette dose, exprimée en Sievert (Sv), permet de mieux rendre compte des effets provoqués par un rayonnement ionisant, car pour un même équivalent de dose les effets sont identiques quel que soit le radionucléide et le type d'exposition.

4. Les rayonnements ionisants et l'homme

Les pouvoirs de pénétration des quatre principaux rayonnements sont très différents (Figure 79). Les rayons alpha et bêta étant peu pénétrants, il est facile de s'en protéger : il faut surtout éviter une irradiation interne. Les rayons gamma sont les plus pénétrants, ce qui permet de les détecter à distance en médecine, mais nécessite l'utilisation de protections (ex. écrans, blindages, piscine dans le cas des assemblages sortant des réacteurs, ...). Le cas des neutrons est particulier car leur rayonnement est intense au voisinage du cœur des réacteurs mais il existe des moyens efficaces de les arrêter.

Ainsi, la comparaison du pouvoir de pénétration de rayonnements α , β , γ de même énergie, égale à 4 MeV dans cet exemple (Zhang *et al.* 2002), est telle que :

- Les particules α (noyaux d'hélium) sont stoppées entièrement par un film d'eau de quelques millimètres d'épaisseur ;
- Les électrons β sont totalement arrêtés par 2 cm d'eau ;
- Un faisceau γ n'est réduit que de moitié à travers 20 cm d'eau, et à 90 % lorsqu'il traverse 70 cm d'eau.

¹⁵ 1 Becquerel = 1 désintégration par seconde

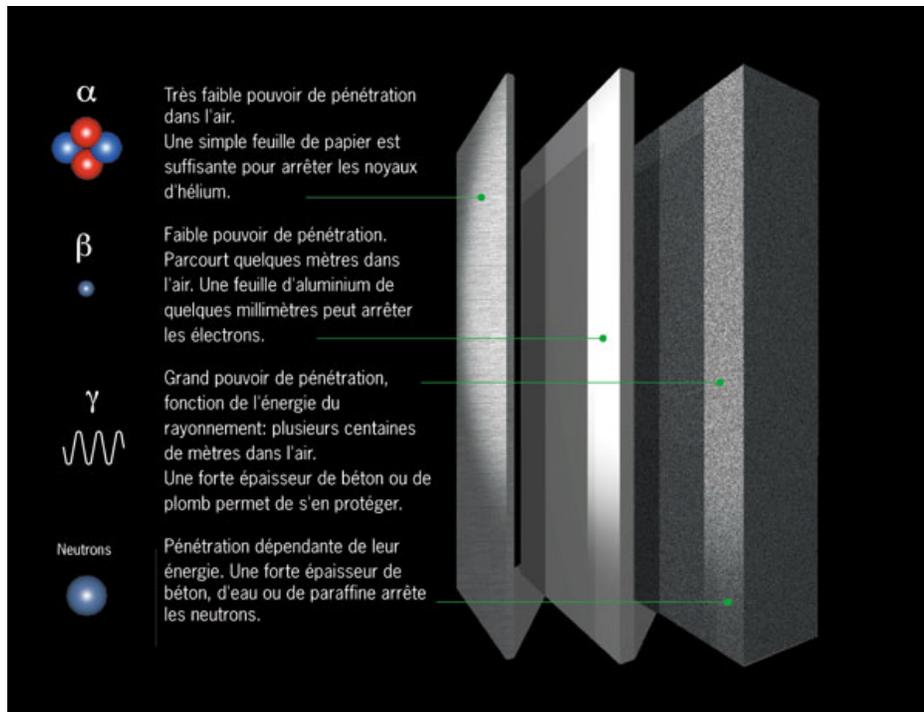


Figure 79 : Illustration du pouvoir de pénétration des principaux types de rayonnement ionisant

Annexe IV : Modèle Roth C

1. Présentation détaillée du modèle Roth C

1.1. Répartition de la MO du sol dans les différents compartiments

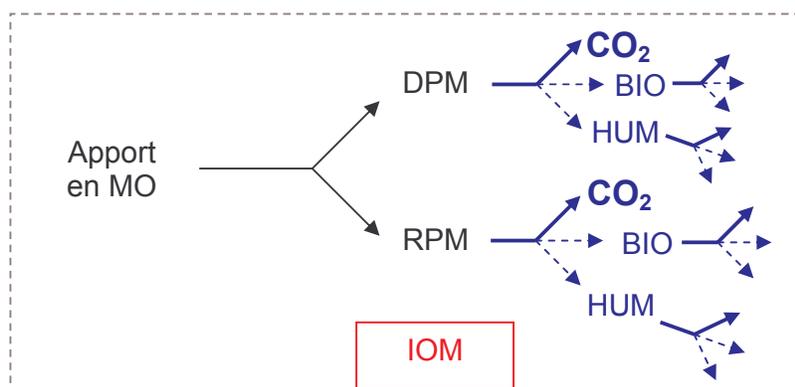


Figure 80 : Modèle de RothC représenté de façon schématique

1.1.1. Matière Organique Inerte

La MO inerte du sol (IOM) correspond à une MO très ancienne et biologiquement inerte, car elle aurait été piégée lors de la formation de la matrice minérale du sol. Par conséquent cette fraction de la MO du sol ne sera pas dégradée. Elle peut être soit estimée par le dosage du ¹⁴C, en considérant que l'âge de cette fraction est de 50000 ans, soit prise arbitrairement égale à 380 g C.m⁻² (Jenkinson *et al.* 1992). Une autre estimation de la fraction IOM est donnée par la formule de Fallon *et al.* (1998) comme suit :

$$\text{Equation 7} \quad IOM = 0,049 \times MO^{1,139}$$

1.1.2. Apport de MO en provenance des plantes : DPM et RPM

Ces deux fractions ne peuvent être mesurées. Elles ne constituent qu'un concept du modèle. La répartition théorique de l'apport en MO provenant des plantes entre les deux compartiments DPM et RPM est estimée via l'utilisation de ratios DPM/RPM prédéfinis pour ce modèle.

Exemples : 1,44 pour les prairies et les sols agricoles,
0,25 pour les régions boisées ou tropicales.

(Coleman and Jenkinson 1996; Ponce-Hernandez 2002)

1.1.3. Répartition de la MO dégradée

La MO du sol est dégradée au cours du temps, notamment par les microorganismes présents dans ce sol. Cette dégradation entraîne principalement la formation de CO₂ (= minéralisation du carbone organique). Cependant des bactéries, ainsi que des substances humiques sont également produites lors de cette dégradation (respectivement assimilation et humification). Le taux de formation de chacune de ces fractions (CO₂ / BIO / HUM) apparaît dans le modèle sous la forme d'un rapport noté r (ratio CO₂ / (BIO + HUM)). Il est défini dans le modèle RothC par une relation empirique simple (Equation 8) et dépend du pourcentage d'argiles granulométriques du sol.

$$\text{Equation 8} \quad r = 1,67 [1,85 + 1,60 \exp(-0,0786 \times \% \text{ argiles})]$$

Ainsi la quantité de CO₂ théoriquement produite lors de la dégradation de la MO peut être calculée sachant que r / (r + 1) correspond au taux de formation du CO₂ et 1 / (r + 1) correspond au taux de formation de microorganismes et de substances humiques cumulés (BIO + HUM).

Pour les sols de Rothamsted où la teneur en argiles moyenne est de l'ordre de 23,4 % :

$$r / (r + 1) \Rightarrow \text{CO}_2 \quad 78\%$$

$$1 / (r + 1) \Rightarrow \text{BIO} + \text{HUM} \quad 22\%$$

La fraction BIO + HUM est arbitrairement séparée par le modèle en 46 % BIO et 54 % HUM quel que soit le sol. Cette partition correspond à un calage établi à l'aide de données d'expériences long-terme provenant du site de Rothamsted.

1.2. Décomposition de la MO du sol par le modèle RothC

La dégradation des différentes fractions de la MO est prise en compte par une cinétique du premier ordre (sauf pour la fraction IOM qui n'est pas dégradée !). Les taux de décomposition (K_i) utilisés dans le modèle sont valables pour des conditions d'humidité et de température données. Selon les conditions utilisées ces valeurs peuvent différer grandement. Le modèle prend en compte ces données par le biais de facteurs correcteurs (a, b, c) appliqués aux taux de décomposition. Dans nos conditions le taux de décomposition (noté K'_i) est donné par l'Equation 9.

$$\text{Equation 9} \quad K'_i = a \times b \times c \times K_i$$

Avec a : facteur de température, b : facteur d'humidité et c : facteur de végétation ; les taux de décomposition variant selon la fraction i de MO du modèle considéré.

Ainsi, si un compartiment contient initialement Y_0 quantité de carbone organique, la perte à un temps t est de $Y_0 e^{-K'_i t}$ quantité de carbone organique. Par conséquent, il reste $Y_0 (1 - e^{-K'_i t})$ quantité de carbone organique dans cette fraction de MO du sol.

1.2.1. Taux de décomposition (K_i)

Les taux de décomposition (K_i), d'après Coleman et Jenkinson (1996), sont donnés en années⁻¹ pour chaque compartiment (i) :

- K_{DPM} : 10,0 an⁻¹
- K_{RPM} : 0,3 an⁻¹
- K_{BIO} : 0,66 an⁻¹
- K_{HUM} : 0,02 an⁻¹

Plus K_i est grand plus la décomposition du compartiment est rapide.

1.2.2. Facteurs modifiant la décomposition

- Facteur de température a :

Le facteur « a » est défini comme suit :

Equation 10
$$a = \frac{47,9}{1 + e^{\left(\frac{106}{T+18,3}\right)}}$$

avec T en °C Quand a = 1 ⇔ T = 9,25°C

Les taux de décomposition, d'après Coleman et Jenkinson (1996), sont donc calculés pour une température moyenne de 9,25°C (= température moyenne à la station expérimentale de Rothamsted).

- Facteur d'humidité b :

Le déficit en humidité ralentit la décomposition de la MO du sol. Dans notre cas, le taux d'humidité est maintenu constant sans déficit, donc aucun facteur correcteur n'est appliqué, soit b = 1.

- Facteur de végétation c :

Le fait que le sol possède un couvert végétal a pour effet de diminuer la décomposition de la MO du sol. Ainsi, si le sol possède un couvert végétal c = 0,6 et s'il est nu, comme dans le cas de notre étude, c = 1,0 (Coleman and Jenkinson 1996; Ponce-Hernandez 2002).

En résumé, pour les conditions expérimentales retenues seule la température affecte la cinétique de dégradation de la MO du sol.

2. Calcul des taux de dégradation de la MO d'après les données expérimentales du Chapitre III

Les constantes (k_{exp}) des taux de dégradation de MO ont été calculées à partir des données expérimentales obtenues pour chacune des fractions de MO (Tableau XXI) en considérant une cinétique de dégradation du premier ordre, comme dans le modèle Roth C. Ces valeurs sont comparées aux taux de décomposition des différentes fractions du modèle Roth C corrigés par le facteur de température (dans nos conditions, $K' = 4,4 K$).

Tableau XXI : Constantes des taux de dégradation des fractions de MO séparées expérimentalement (k_{exp}) et des fractions définies dans le modèle Roth C (K')

k_{exp} (an ⁻¹)	MOP _{>200 μm}	MOP _{50-200 μm}	Fraction <50 μm	Sol
Roth 2	0,53	0,11	0,04	0,09
Roth 3	<i>Roth 2</i> 0,53 <i>+ apport</i> 12,86	0,08	0,27	0,26
K' (ans ⁻¹)	DPM	RPM	BIO	HUM
Roth C	44,00	1,32	2,90	0,09

Les résultats montrent que la MOP_{>200 μm} de Roth 2 est la fraction qui possède la cinétique de dégradation la plus proche de celle de la fraction RPM du modèle Roth C. Le taux de décomposition de la MOP_{>200 μm} du lot de terre Roth 2 est environ deux fois moins important que celui de la fraction RPM, ce qui a déjà été reporté dans la littérature (Skjemstad *et al.* 2004). La composition chimique de la fraction MOP_{>200 μm}, présentant une proportion importante de substances humiques (24,1 % de substances humiques extraites par NaOH 0,1 mol.L⁻¹), permet d'expliquer la valeur du taux de dégradation plus faible obtenue expérimentalement. En effet, cette fraction possède logiquement un taux de dégradation compris entre ceux des fractions RPM et HUM du modèle Roth C. La MOP_{>200 μm} du lot de terre amendé (Roth 3) présente en revanche une dégradation plus complexe qui n'est pas corrélée à une cinétique du premier ordre (contrairement aux fractions du modèle Roth C). Néanmoins, elle peut être subdivisée virtuellement en deux fractions de cinétique différente (Tableau XXI) par comparaison aux résultats obtenus pour le lot de terre

Roth 2 : la première partie, correspondant à la $MOP_{>200\ \mu\text{m}}$ du sol avant amendement (= Roth 2), possède la même cinétique de dégradation que celle de Roth 2 ; la deuxième partie, provenant de l'apport d'herbe, possède un taux de décomposition important suggérant un mélange de fraction DPM et RPM.

Les taux de minéralisation du carbone des fractions de MO comprises entre 50 et 200 μm , inférieure à 50 μm et du sol total ne diffèrent pas de façon significative pour le lot de terre Roth 2 (Tableau XXI). Ainsi, les résultats sont en adéquation avec ceux obtenus par Hassink (1995). Le taux de dégradation de la MO de Roth 2, en dehors de la fraction supérieure à 200 μm , est équivalent à celui de la fraction HUM du modèle Roth C. La fraction $MOP_{50-200\ \mu\text{m}}$ du lot de terre Roth 3 présente un taux de décomposition équivalent à celui de Roth 2, sans effet de l'amendement. En revanche, la MO inférieure à 50 μm , tout comme la MO du sol, possède une cinétique de décomposition plus rapide pour Roth 3 que Roth 2 (et par conséquent supérieure à celle de la fraction HUM). Ces résultats semblent indiquer que les composés les plus rapidement dégradables (DPM et RPM dans le modèle) provenant de l'amendement organique sont répartis dans tout le sol et pas seulement dans les fractions de MOP.

L'ensemble des résultats indique que, dans le cas d'un sol non amendé (lot de terre Roth 2), le fractionnement granulo-densimétrique semble permettre d'accéder en partie à la fraction RPM du modèle Roth C. Cependant, la $MOP_{>200\ \mu\text{m}}$ de Roth 2 représente des quantités de carbone organique inférieures à celle de la fraction RPM (Tableau XXII). L'utilisation de fractionnements granulo-densimétriques permet de séparer des fractions de MO possédant des cinétiques de décomposition proches mais pas égales à celle de la fraction RPM du modèle Roth C (Hassink 1995; Balesdent 1996; Skjemstad *et al.* 2004).

En revanche dans le cas du lot de terre amendé, les fractions de MO séparées sont plus difficilement comparables à des fractions du modèle Roth C, aussi bien au niveau des taux de dégradation, qu'au niveau de la répartition du carbone dans les différentes fractions (Tableau XXII). Cette observation est particulièrement pertinente pour la MO la plus rapidement dégradable, DPM, qui est censée être soluble (Balesdent 1996).

Tableau XXII : Quantité de carbone organique initiale de chaque fraction de MO séparée expérimentalement et définie dans le modèle Roth C (exprimée en % du carbone organique du sol)

	MOP_{>200 µm}	MOP_{50-200 µm}	Fraction <50 µm	Sol
Roth 2	10,7 %	19,2 %	70,1 %	100 %
Roth 3	<i>Roth 2</i> 8,6 % <i>+ apport</i> 4,5 %	15,9 %	71,1 %	100 %
	DPM	RPM	BIO	HUM
Roth 2	0,4 %	14,3 %	2,1 %	83,2 %
Roth 3	10,1 %	21,9 %	2,3 %	65,7 %

Annexe V : Piégeage du CO₂ produit

1. Tests et optimisations du piégeage du CO₂

Bien que le dihydroxyde de Baryum (Ba(OH)₂) soit classiquement utilisé pour piéger le CO₂, notamment dans les études de quantification de la dégradabilité de divers composés chimiques, les tests effectués ont permis de préférer l'utilisation de la soude (NaOH) au Ba(OH)₂. En effet, la formation du précipité de BaCO₃ résultant du piégeage du CO₂ d'une part entraîne une mauvaise répétabilité de dosage (de par la difficulté de prélever une aliquote représentative) et d'autre part nécessite un lavage plus important des flacons entre chaque utilisation. Pour appréhender la capacité de piégeage du CO₂, il était nécessaire de se placer dans des conditions proches de celles utilisées dans les expériences d'incubation. Pour cela, du CO₂ pur a été ajouté avec un débit variant de 0,5 à 3 mL.min⁻¹ (régulé par un débitmètre massique) à l'aide d'une bouteille de CO₂ pur couplée à une bouteille d'air sans CO₂ dont le débit était régulé à 40 mL.min⁻¹ (= débit choisi dans les incubations des lots de terre). Les débits de CO₂ choisis étaient supérieurs aux flux de CO₂ prévus par la modélisation durant nos expériences d'incubation, afin d'être sûr de l'efficacité des pièges, notamment en terme de cinétique de piégeage. Dans un premier temps, la concentration en soude et le temps de piégeage ont été choisis de façon à ce que, une fois le CO₂ piégé, la quantité de soude restante soit proche de la moitié de la quantité initiale. Dans un second temps, un domaine de validité a été établi afin de permettre une souplesse d'utilisation de ces pièges dans nos expériences, sachant que le dimensionnement des pièges est effectué à partir d'un modèle et que les flux réels peuvent différer. C'est d'ailleurs pour cela qu'un deuxième piège est ajouté en série du premier. Les résultats obtenus ont permis d'appréhender les limites de quantification du CO₂ piégé provenant de la titration acide et la capacité maximum de piégeage du CO₂. Ainsi, les résultats obtenus pour des pièges de 250 mL de NaOH 1 mol.L⁻¹ indiquent que les changements de pièges doivent s'effectuer lorsque 60 ± 30 mmol de CO₂ sont volatilisées (prédit par Roth C) ; dans ce cas les quantités de CO₂ obtenues étaient égales à 100 ± 7 % du CO₂ piégés.

2. Dosage par titration acide

Le dosage du CO₂ piégé (Figure 81) se fait par détermination du Titre Alcalimétrique (TA) et du Titre Alcalimétrique Complet (TAC).

$$\text{TA (mol.L}^{-1}\text{)} = [\text{OH}^-] + [\text{CO}_3^{2-}] ; \text{TAC (mol.L}^{-1}\text{)} = [\text{OH}^-] + 2 [\text{CO}_3^{2-}] + [\text{HCO}_3^-]$$

Dans nos conditions (OH⁻ en excès) : TAC (en mol.L⁻¹) ≈ [OH⁻] + 2 [CO₃²⁻].

Il s'agit en fait d'une simple titration acide-base. Chaque piège est dosé en duplicats par titration avec une solution de HCl 1 mol.L⁻¹ à l'aide d'un titrateur automatique (Radiometer Analytical, titralab Tim 900).

Le calcul du CO₂ piégé est donc assez simple : $n_{\text{CO}_2 \text{ piégé}} = [\text{CO}_3^{2-}] \times V_{\text{piège}}$;
avec $[\text{CO}_3^{2-}] = (\text{TAC} - \text{TA}) = (V_{\text{éqTAC}} - V_{\text{éqTA}}) \times [\text{HCl}]$.

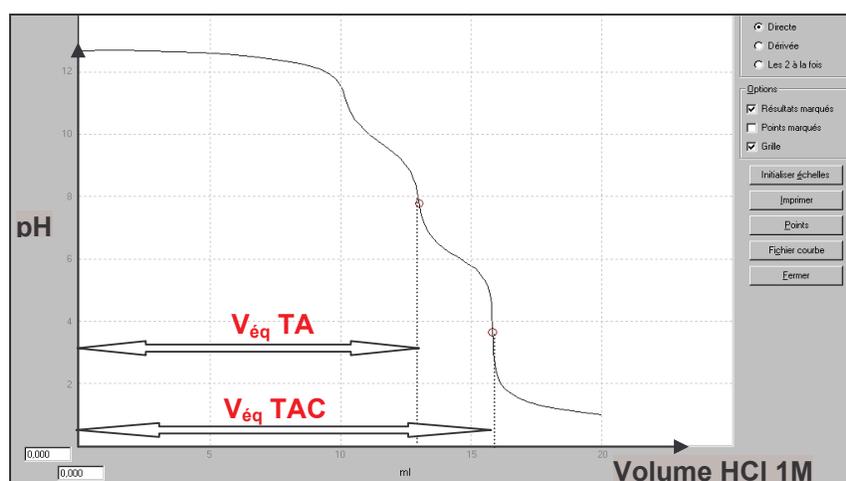


Figure 81 : Courbe de titration d'un piège à CO₂ ; exemple d'un 1^{er} piège en sortie du système d'incubation du lot de terre Roth 2

3. Préparations des pièges

Etant donné les volumes importants de soude à 1 mol.L⁻¹ nécessaires (2 pièges de 250 mL et 6 lots de terre ⇔ 3 litres) et les fréquences de changement de pièges élevées, la soude est préparée en grande quantité dans une nourrice de 10 L par dilution de 1 L de soude à 30 % pour analyse. Le stockage n'a d'impact ni sur le piégeage, ni sur le dosage. En effet, le CO₂ apporté par simple équilibre avec l'air atmosphérique est négligeable devant les quantités piégées en sortie de chambre d'incubation, y compris pour Roth 1 (lot de terre produisant le moins de CO₂).

Annexe VI : Biomasse totale (mode opératoire)

Le mode opératoire utilisé dans notre étude est adapté de Vance *et al.* (1987), les masses d'échantillons de terre ont été réduites afin de mieux correspondre à des manipulations en laboratoire. 10 g de chaque lot de terre (poids sec) sont divisés en deux parties : une qui subie le traitement par fumigation, l'autre non (= témoin) :

- Echantillons fumigés : pour chaque lot de terre, environ 5 g (pesés précisément) sont introduits dans un flacon de scintillation en verre de 20 mL. Ces échantillons sont placés dans un dessiccateur revêtu d'essuie tout humide. Un flacon de scintillation en verre contenant de la chaux sodée est ajouté (il s'agit d'un mélange de soude (hydroxyde de sodium) et de chaux ((hydro)oxyde de calcium), dont la capacité d'absorption du CO₂ est supérieur à 25%). Pendant la fumigation, la présence d'essuie-tout humide et de chaux sodée permet respectivement de conserver une certaine humidité de l'échantillon de terre pendant l'incubation et de piéger le CO₂ (produit par respiration des microorganismes) afin de ne pas tendre vers une atmosphère anaérobie. Ainsi, en maintenant la biomasse dans des conditions optimales, les microorganismes peuvent respirer les vapeurs de chloroforme qui conduiront à leur lyse. Dans un bécher en verre de 100 mL placé au centre du dessiccateur, 20 mL de chloroforme sont introduits ainsi que quelques morceaux de pierre ponce nécessaires à la mise en ébullition du chloroforme. Celle-ci est maintenue pendant 2 minutes, en créant le vide à l'aide d'une pompe à vide (la mise en ébullition du chloroforme ne se fait qu'en créant un vide poussé). Le dessiccateur est incubé pendant 24 h au noir à 28°C. Ensuite, le chloroforme est évacué en ouvrant le dessiccateur pendant quelques minutes; puis les échantillons de terre sont transférés dans des tubes à centrifuger de 50 mL pour l'extraction au K₂SO₄ à 0,5 mol.L⁻¹.

- Echantillons témoins : environ 5 g (pesés précisément) sont directement introduits dans un tube à centrifuger de 50 mL.

20 mL de K₂SO₄ à 0,5 mol.L⁻¹ sont introduits dans les tubes à centrifuger de tous les échantillons (fumigés et témoins). Après 30 minutes d'agitation à

200 rota°/min (table oscillante) les tubes sont centrifugés à 10000 g pendant 25 minutes. Le surnageant est prélevé puis filtré à 0,45 µm (filtre seringue en polyethersulfone (PES)). Le carbone contenu dans les différents extraits est ensuite dosé par un COT-mètre.

Annexe VII : Structure des populations microbiennes par ARISA

1. Extraction de l'ADN bactérien à partir des échantillons de terre

Pour chaque lot de terre et pour chaque temps d'incubation défini dans le calendrier de prélèvement (§ Chap. II :2.4.5) des échantillons de terre ont été congelés. Pour chaque échantillon, l'analyse de la structure des populations microbiennes a été réalisée en triplicats dès la première étape du protocole qui consiste à extraire l'ADN. Les extractions d'ADN des échantillons de terre ont été effectuées avec le kit FastDNA® Spin kit for soil (QBIOGEN). Ce kit permet une extraction directe de l'ADN des échantillons par des traitements mécaniques et chimiques. Les étapes consistent à lyser les cellules présentes dans l'échantillon, puis à récupérer et purifier l'ADN. De par la présence de substances humiques en quantité importantes dans les échantillons provenant des lots de terre Roth 2 et Roth 3, une étape supplémentaire de purification de l'ADN extrait a été réalisée sur tous les échantillons (y compris ceux provenant de Roth 1) en utilisant le kit GeneClean® (QBIOGEN).

2. Amplification de la région intergène 16S-23S par PCR

Les espaces intergènes entre l'ARNr 16S et 23S ont été amplifiés en utilisant les amorces F72-16S (eubacterial rRNA small subunit, 5VTGCGGCTGGATCCCCTCCTT-3V) et F38-23S (eubacterial rRNA large subunit, 5V-CCGGGTTTCCCCATTCGG- 3V). Le mélange réactionnel pour la PCR (d'un volume final de 50 µL) contenait 5 µL de tampon de dilution (10× ; Invitrogen) ; 250 ng protéine T4 gène 32 (Roche) ; 0,5 µmol.L⁻¹ de chaque amorce ; 200 µmol.L⁻¹ de bases dNTP ; 2,5 U de Taq polymérase (Invitrogen) et 5 µL d'échantillon d'ADN purifié.

L'amplification par PCR a été effectuée par une phase préalable de dénaturation à 94°C pendant 3 min, suivie de 25 cycles composés d'une étape de dénaturation à 94°C pendant 45 sec, d'une étape d'hybridation à 55°C pendant 1 min et d'une étape d'élongation à 72°C pendant 1 min. Une élongation finale de 7 min à 72°C est réalisée en fin de PCR.

3. Obtention des profils d'ARISA

Après estimation des quantités d'ADN des amplifias de PCR, environ 1 µL de ces amplifias a été ajouté à du formamide déionisé pour être dénaturé à 90°C pendant 2 min. Les fragments d'ARISA ont ensuite été séparés sur un gel de polyacrylamide 3,7 %, sous un champ électrophorétique de 1500 V/80 W pendant 16 heures sur un séquenceur d'ADN LiCor (ScienceTec). Les données ont ensuite été traitées avec le logiciel 1D-Scan (ScienceTec) qui convertit les résultats de fluorescence en électrophérogramme.

Annexe VIII : Principe du fractionnement-granulo-densimétrique

1. Etape de dispersion

La séparation de la MO associée aux particules minérales d'un échantillon de terre peut être effectuée soit par l'utilisation de dispersants chimiques comme l'hexamétaphosphate de sodium (Cambardella and Elliot 1992) ou l'iodure de sodium (Barrios *et al.* 1996), soit par dispersion mécanique (ultrasons ; agitation ; etc.) dans de l'eau (Balesdent 1996). Dans le but de quantifier le sélénium sur les différentes fractions isolées, principalement la MO, les étapes de dispersion chimique ont été exclues car l'impact du dispersant sur la « localisation » du sélénium (= répartition du Se sur les différentes fractions isolées) est difficile à prendre en compte.

Cette étape consiste à placer 16 g d'échantillon de terre (pesés précisément), 54 g d'eau osmosée et 4 billes de verre (\varnothing 5 mm) dans un tube en polycarbonate de 85 mL qui est agité pendant 15 h à 62 tr.min⁻¹ à l'aide d'un agitateur orbital 3D.

2. Tamisage humide = séparation granulométrique

L'utilisation du fractionnement granulométrique dans les études de la dégradation de la MO des sols repose sur la différence de cinétique de décomposition en fonction de la taille de cette dernière (Christensen 1992). En effet, Balesdent (1996) a défini des temps de renouvellement du carbone organique de 0,5, 3, 18 et 63 ans respectivement pour les fractions de "sol" > 2mm, entre 2000-200 μ m, entre 200-50 μ m et < 50 μ m. Ainsi, plus la MO est grossière, plus elle est dégradée rapidement. Il est donc particulièrement intéressant de séparer les fractions sableuses (2000-200 μ m et 200-50 μ m) des fractions limoneuses et argileuses.

L'étape de tamisage humide est effectuée à l'aide d'un tamis de 200 μ m et d'un de 50 μ m afin d'obtenir 3 types de fractions généralement utilisées pour caractériser l'état de maturation des sols : > 200 μ m ; 50 – 200 μ m ; < 50 μ m. La solution utilisée pour effectuer le tamisage est de l'eau osmosée.

- Tamisage à 200 μm : Le tamis de 200 μm (petit tamis de 13 cm de diamètre) est placé dans un cristalliseur de diamètre légèrement supérieur. Le contenu du tube à centrifuger est intégralement versé sur le tamis (ainsi que l'eau de rinçage du tube). Les billes de verre sont rincées puis retirées du tamis. Dès que l'on a apporté assez d'eau (c'est-à-dire lorsque l'eau recouvre la toile du tamis) cette dernière est utilisée par des mouvements de rotation en enlevant et immergeant périodiquement le tamis (technique proche de la battée). Le tamisage est terminé une fois que les débris organiques et les sables restent seuls sur le tamis. Le refus du tamis est rincé avant d'être récupéré dans un bécher pour l'étape de séparation densimétrique. La séparation densimétrique (§ 3) se fait dans la continuité, afin de récupérer l'eau de cette séparation pour l'utiliser dans le tamisage suivant.

- Tamisage à 50 μm : La suspension passée au travers du tamis 200 μm contenue dans le petit cristalliseur est entièrement versée sur le tamis (ainsi que l'eau de rinçage). Le même procédé est utilisé pour ce tamisage. Pour diminuer le colmatage, un tamis de diamètre supérieur est utilisé (25 cm de diamètre, un cristalliseur de diamètre légèrement supérieur est utilisé).

3. Séparation densimétrique

Le fractionnement densimétrique permet de séparer la MO 'libre' (= MO non associée aux particules minérales) de la partie minérale du "sol". La séparation densimétrique est simplement basée sur la différence de densité de la MO et de la matière minérale. Cette séparation est réalisée par simple décantation dans de l'eau, la MO flottant à la surface et la matière minérale se retrouvant au fond du récipient. Il apparaît donc nécessaire que la MO ne soit pas liée à la fraction minérale, d'où l'étape préalable de dispersion.

La séparation densimétrique est réalisée à l'eau osmosée dans des béchers de 50 mL afin de séparer les fractions organiques et minérales contenues dans les fractions > 200 μm et entre 50 et 200 μm précédemment isolées.

- Pour les fractions > 200 μm , la séparation MO / matière minérale est quasi-instantanée car la fraction minérale décante rapidement. La rapidité de cette séparation observable à l'œil, est confirmée par les calculs de temps de sédimentation d'après la loi de Stokes (Figure 82). Ainsi, le temps de décantation calculé pour les plus petites particules (200 μm) est de l'ordre de 2 secondes pour

une hauteur d'eau de 5 cm. (Remarque : la hauteur de 5 cm correspond à la hauteur d'eau utilisée dans le bécher lors de cette étape de séparation). La fraction flottante (= MO) est versée sur le tamis correspondant, puis une nouvelle séparation est effectuée avec le résidu du bécher (= fraction minérale + résidus de MO) et ainsi de suite. La séparation est répétée environ 10 fois, jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de MO visible dans le bécher.

- La séparation densimétrique des fractions comprise entre 50 et 200 μm est réalisée de la même façon. Cependant, la décantation de la fraction minérale (entre 50 et 200 μm) doit être réalisée avec plus de précaution. En effet, les particules fines décantent plus lentement et pourraient se retrouver dans la phase flottante de la solution si un temps de décantation trop court est utilisé. D'après la loi de Stokes les particules minérales comprises entre 50 et 200 μm mettent entre 2,3 et 36,7 secondes pour se retrouver au fond du bécher. De plus, un temps trop long n'est pas souhaitable car une partie de la $\text{MOP}_{50-200\mu\text{m}}$ contient quelques impuretés minérales qui augmentent sa densité et ont tendance à la faire décanter. Il est donc nécessaire d'attendre une quarantaine de seconde pour chaque décantation.

- Pour la fraction < 50 μm la séparation de la MO et de la matière minérale n'est pas possible dans de l'eau. En effet, d'une part les temps de décantation des particules minérales deviennent vite trop longs (230 s pour des particules de 20 μm et 23000 s pour 2 μm soit plus de 6 heures !) et d'autre part la séparation des complexes argilo-humiques est délicate et incomplète.

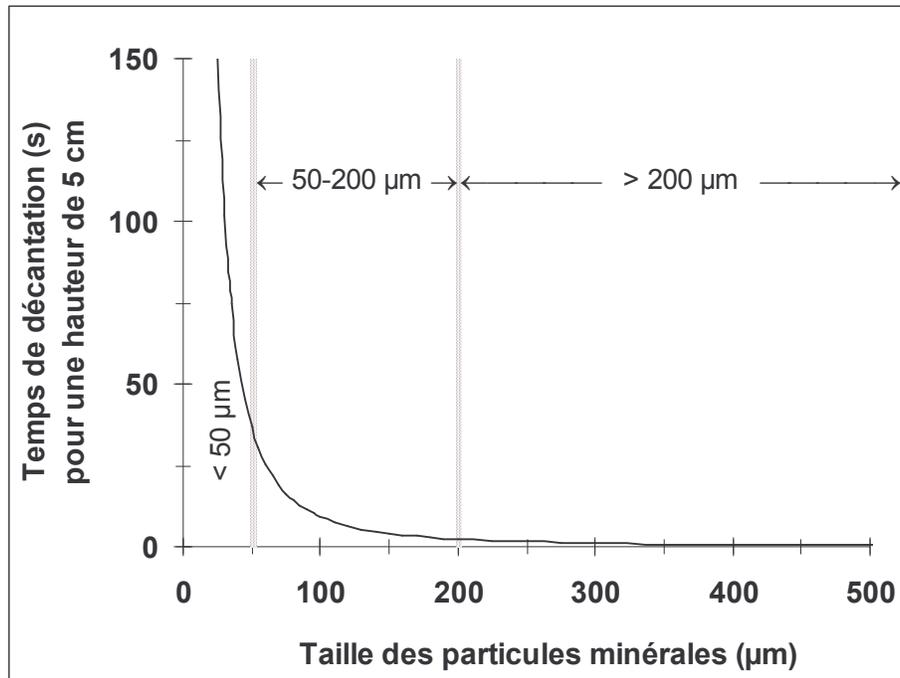


Figure 82 : Temps de décantation en fonction de la taille des particules (calculés selon la loi de Stokes pour des particules de masse volumique égale à 2000 g.L⁻¹ et pour une sédimentation de 5 cm)

La loi de Stokes est rappelée : $v = (\rho_s - \rho_l) \times \frac{g}{18} \times \frac{d^2}{\mu}$

Avec v : vitesse de sédimentation (en m.s⁻¹) ;

$\rho_s = 2000 \text{ kg.m}^{-3}$ (masse volumique de la particule minérale) ;

$\rho_l = 1000 \text{ kg.m}^{-3}$ (masse volumique du liquide, ici l'eau) ;

$\mu = 10^{-3} \text{ kg.m}^{-1}.\text{s}^{-1}$ (viscosité dynamique du liquide, dans notre cas

l'eau) ;

$g = 9,81 \text{ m.s}^{-2}$;

d : diamètre de la particule (en m) ;

Et $t = \frac{h}{v}$; t : temps de décantation (en s)

$h = 0,05 \text{ m}$ (hauteur de chute = hauteur d'eau dans le bécher)

Résumé

L'isotope ^{79}Se du sélénium, produit de fission de l'uranium 235, est un radionucléide à vie longue présent notamment dans les déchets nucléaires. Dans le cadre de l'estimation du risque sanitaire et environnemental, les écosystèmes terrestres sont considérés comme des récepteurs possibles de cet élément. Le but de notre étude est de déterminer dans quelle mesure les interactions avec le sélénium et la matière organique du sol et/ou les microorganismes peuvent influencer sur les variables qui contrôlent la mobilité et la distribution (solide, liquide, gazeuse) du sélénium dans les sols. Une attention particulière est portée à la dimension temporelle qui demeure un des points faibles des modèles d'évaluation pour les simulations à long terme (plusieurs dizaines-centaines de milliers d'années).

La méthodologie développée repose sur le suivi régulier de 3 lots de terre pré-contaminés à de très faibles concentrations de sélénium ($2,2 \cdot 10^{-9} \text{ gSe} \cdot \text{g}_{\text{sol}}^{-1}$) et incubés en conditions contrôlées pendant 1,5 an. Une approche multi-paramétrique permet de confronter au cours du temps la mobilité (sorption, désorption, volatilisation) et la distribution sur la phase solide (fractionnement granulométrique, extractions séquentielles, observations MEB / MET) du sélénium aux propriétés biophysico-chimiques des lots de terre. L'évolution de l'état organique des lots de terre est clairement observée expérimentalement et modélisée (Roth C). En revanche, cette évolution n'affecte pas significativement la mobilité du sélénium dont la sorption sur la phase solide reste quasi-irréversible (K_d sorption : $20\text{-}50 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$ / K_d désorption : $100\text{-}500 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$). A ce comportement s'ajoutent de nombreux phénomènes transitoires qui peuvent entraîner une remobilisation (i.e. solubilisation et volatilisation) importante de sélénium. Nous mettons ainsi en évidence que (i) l'utilisation d'engrais phosphatés peut conduire à la solubilisation de 30 à 40 % du sélénium sorbé, (ii) la faible volatilisation du sélénium par les microorganismes ($\sim 0,2\%$ sur 1,5 an d'incubation) peut être une voie de dispersion non négligeable lorsqu'on considère ce processus sur de très longues échelles de temps et (iii) le transport colloïdal bactérien peut être une source de remobilisation du sélénium qu'il serait nécessaire de mieux caractériser.

Mots-clés : sélénium ; sol ; matière organique (MO) ; mobilité (K_d) ; partition solide ; vieillissement ; approche multi-paramétrique

Abstract

^{79}Se is a high-life fission product presents in high-activity nuclear wastes. Selenium is often taking into account for health and environmental risk assessments as it is usually considered as a mobile and a toxic element. The terrestrial ecosystems are thought to be a potential reservoir of selenium. In this study, we specially studied how the associations between selenium and soil organic matter and/or microorganisms modify soils selenium mobility and partition (solid, liquid and gaseous). A particular attention was paid to the temporal evolution of the retention parameters, which remains one of the weak points of modeling especially for long term simulations (several tens-hundreds of thousand years).

Methodology developed consists on a regular characterization of 3 soils samples pre-contaminated at a very weak selenium concentration ($2.2 \times 10^{-9} \text{ gSe} \cdot \text{g}_{\text{soil}}^{-1}$) and incubated during 1.5 year in controlled conditions. The evolution of the organic status of the soil samples was established and well modeled (Roth C). Alternatively, the selenium-OM associations did not present any significant modification with time affecting selenium mobility. The detailed study of selenium mobility showed that selenium sorption processes was poorly reversible (sorption K_d : $20\text{-}50 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$; desorption K_d : $100\text{-}500 \text{ L} \cdot \text{kg}^{-1}$), whatever the soil organic status. In addition, numerous transitory phenomenons were able to disturb the "basic" behavior of selenium by increasing the amount of soluble selenium. We specially established that: (i) the use of phosphate fertilizers constituted the most important way of selenium remobilization leading to the release of 30-40 % of sorbed selenium in some extreme cases; (ii) the weak selenium volatilization ($\sim 0.2\%$ for 1.5 year of incubation) may constitute a significant biotic way of ^{79}Se dispersion as soon as very long time scales are considered; (iii) the colloidal transport due to the soil microorganisms could also constituted a source of selenium mobilization however this extend of this process has still to be quantify.

Key-words : selenium ; soil ; organic matter (OM) ; mobility (K_d) ; solid partition ; ageing