



Influence des transformations minéralogiques sur la mobilité de l'arsenic dans les milieux anoxiques - Application au cas des eaux souterraines du delta du Bengale

André Burnol

► To cite this version:

André Burnol. Influence des transformations minéralogiques sur la mobilité de l'arsenic dans les milieux anoxiques - Application au cas des eaux souterraines du delta du Bengale. Géochimie. Université Joseph-Fourier - Grenoble I, 2009. Français. NNT : . tel-00462119

HAL Id: tel-00462119

<https://theses.hal.science/tel-00462119>

Submitted on 8 Mar 2010

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.

Université Joseph Fourier – Grenoble I

Ecole Doctorale Terre, Univers, Environnement

Laboratoire de Géophysique interne et Tectonophysique (LGIT)

Influence des transformations minéralogiques sur la mobilité de l'arsenic dans les milieux anoxiques

Application au cas des eaux souterraines du delta du Bengale

Par André BURNOL

Thèse de Doctorat

Spécialité : Sciences de la Terre, de l'Univers et de l'Environnement

Dirigée par Laurent CHARLET

Présentée et soutenue publiquement le 27 Novembre 2009

Devant un jury composé de :

Kappler Andreas	rapporteur	Pr, Universität Tübingen, Deutschland
De Windt Laurent	rapporteur	Dr, Ecole des Mines de Paris, France
Pili Eric	examineur	Dr, CEA DAM, Bruyères-le-Châtel, France
Martin-Garin Arnaud	examineur	Dr, IRSN, Saint-Paul-Lez-Durance, France
Gaucher Eric	examineur	Dr, BRGM, Orléans, France
Charlet Laurent	examineur	Pr, Université Joseph Fourier Grenoble-I, France

Université Joseph Fourier – Grenoble I

Ecole Doctorale Terre, Univers, Environnement

Laboratoire de Géophysique interne et Tectonophysique (LGIT)

**Influence des transformations minéralogiques sur la
mobilité de l'arsenic dans les milieux anoxiques**

Application au cas des eaux souterraines du delta du Bengale

Par André BURNOL

Thèse de Doctorat

Spécialité : Sciences de la Terre, de l'Univers et de l'Environnement

Dirigée par Laurent CHARLET

Présentée et soutenue publiquement le 27 Novembre 2009

Devant un jury composé de :

Kappler Andreas	rapporteur	Pr, Universität Tübingen, Deutschland
De Windt Laurent	rapporteur	Dr, Ecole des Mines de Paris, France
Pili Eric	examineur	Dr, CEA DAM, Bruyères-le-Châtel, France
Martin-Garin Arnaud	examineur	Dr, IRSN, Saint-Paul-Lez-Durance, France
Gaucher Eric	examineur	Dr, BRGM, Orléans, France
Charlet Laurent	examineur	Pr, Université Joseph Fourier Grenoble-I, France

Avant-propos

C'est avec un grand plaisir que je peux aujourd'hui remercier tous ceux qui ont permis directement ou indirectement l'existence de cette thèse :

J'exprime tout d'abord ma vive reconnaissance à Laurent Charlet pour avoir pris le risque de diriger mes recherches : un salarié ayant quitté depuis longtemps les bancs de l'école et qui se lance dans un tel projet, en parallèle de ses autres activités professionnelles, ce n'était vraiment pas gagné d'avance. Merci Laurent de m'avoir à chaque rencontre stimulé et relancé, toujours avec le même optimisme. Ton exemple m'a aussi montré que la recherche pouvait se faire à toute heure et dans les lieux les plus improbables ...

Ensuite, je remercie le Brgm, pour les bonnes conditions de travail que le Bureau a pu m'offrir lors de ces quatre années. Je remercie notamment Eric Gaucher pour avoir dès le départ soutenu ce projet et d'avoir permis qu'il se réalise dans les meilleures conditions au sein de son unité. Je voudrais également exprimer une reconnaissance particulière à Francis Garrido qui m'a initié au vaste domaine de la microbiologie. Ce monde invisible est toujours un peu mystérieux pour moi et sans son aide, ce projet n'aurait pu aboutir. Merci également à Fabienne Battaglia-Brunet et à toute l'équipe de biologistes du Brgm, je pense à Marie-Christine Dictor, Catherine Jouliau, Caroline Michel, Valérie Laperche ... sans oublier Patrick D'Hugues, qui a permis de m'aérer l'esprit lors de nombreuses courses à pied. Merci aussi à Dominique Breeze et Catherine Crouzet pour leur disponibilité. Je n'oublie non plus les collègues de mon unité, Catherine Lerouge, Francis Claret, Nicolas Marty, Stéphane Gaboreau et Christophe Tournassat qui ont su ne pas trop me solliciter pour que je puisse terminer mes travaux de thèse à temps.

Enfin, je remercie ma mère pour m'avoir mis très tôt dans la tête ce projet. Tu vois, Maman, ton fils t'a finalement écouté ! Merci aussi à mon frère Jean-François pour son constant soutien. Je dédie enfin à titre posthume cette thèse à mon père, toujours présent à chacun de mes pas dans la vie.

« Le mal qui est dans le monde vient presque toujours de l'ignorance, et la bonne volonté peut faire autant de dégâts que la méchanceté, si elle n'est pas éclairée. »

Albert Camus, La Peste (1947)

Table des matières

Avant-propos	5
Objectifs et démarche de la thèse - Thesis objectives and approach	11
1. Introduction	17
1.1 Bref aperçu des contaminations à l'arsenic dans l'histoire	17
1.2 Risques pour la santé humaine d'une contamination à l'arsenic	19
1.2.1 Voies d'exposition à l'arsenic	19
1.2.2 Contaminations aiguës ou chroniques	20
1.2.3 Troubles de type systémique ou cancérigène	21
1.2.4 Résumé	22
1.3 Biogéochimie de l'arsenic	23
1.3.1 Propriétés physico-chimiques générales de l'élément As	23
1.3.2 Les phases minérales riches en As	24
1.3.3 L'adsorption/désorption d'As sur les (hydr)oxydes de fer	25
1.3.4 L'adsorption/désorption d'As sur les (hydr)oxydes de manganèse	26
1.3.5 Rôle des bactéries dans la spéciation de l'As	28
1.3.6 Résumé	32
1.4 Le delta du Bengale : une contamination à l'arsenic, naturelle et à grande échelle	33
2. Matériau et Méthodologie	39
2.1 Choix des (hydr)oxydes de fer de référence dopés à l'arsenic	39
2.1.1 Protocole de synthèse de la ferrihydrite 2L avec sorption d'As(V)/As(III)	40
2.1.2 Protocole de synthèse de la ferrihydrite 2L co-précipitée avec As(V)	43
2.1.3 Stabilité du solide après 6 mois et après stérilisation	44
2.2 Choix des différents codes de calcul et des données thermodynamiques	46
2.2.1 Revue bibliographique sur la modélisation des processus microbiens	46
2.2.2 Cas particulier de la réduction de l'arséniate As(V) et du Fe(III) solide	50
2.2.3 Codes et bases thermodynamiques utilisés	51
3. Expériences de laboratoires	53
3.1 Réduction de la ferrihydrite arsénée en présence de bactéries ferri-réductrices <i>"Decoupling of arsenic and iron release from ferrihydrite suspension under reducing conditions: a biogeochemical model"</i>	53
3.1.1 Avant-propos	53
3.1.2 Abstract	54
3.1.3 Background	55
3.1.4 Methods	56
3.1.5 Experimental results	64
3.1.6 Discussion and modeling	72
3.1.7 Conclusion	86
3.1.8 Acknowledgements	86
3.1.9 References	87
3.1.10 Additional file 1 "Composition of growth media and phylogenetic characterization"	91
3.2 Réduction de la ferrihydrite arsénée en présence de sulfure d'hydrogène	95
3.2.1 Avant-propos	95
3.2.2 Expériences en batch avec une atmosphère à 0.001 atm H ₂ S	96
3.2.3 Premier test avec une bactérie sulfato-réductrice <i>D. norvegicum</i>	99
3.2.4 Expérience en colonne avec la ferrihydrite As(III)-2LFh	101

3.2.5	Annexe 1 «Analyse de l'eau arsénisée prélevée à Bracieux (Loir et Cher)» ..	113
3.2.6	Annexe 2 «Présence de thioarsénites dans la colonne»	115
3.2.7	Annexe 3 «Milieu de culture pour bactéries ferri-réductrices et gène de fonction <i>dsrAB</i> (dissimilatory sulfite reductase)»	117
4.	Données de terrain et modélisation	119
4.1	Données 2000-2002 à Chakdaha (Inde) et modélisation “ <i>Mobility of arsenic in the sub-surface environment: An integrated hydrogeochemical study and sorption model of the sandy aquifer materials</i> ”	119
4.1.1	Avant-propos	119
4.1.2	Summary	120
4.1.3	Introduction	121
4.1.4	Materials and methods	122
4.1.5	Results and discussion	127
4.1.6	Conclusions	145
4.1.7	Acknowledgements	146
4.1.8	References	146
4.1.9	Appendix A. Supplementary material	152
4.2	Données 2005 à Chakdaha (Inde) et modélisation 1D “ <i>Fe(II)-Fe(III)-bearing Phases as a Mineralogical Control on the Heterogeneity of Arsenic in Southeast Asian Groundwater</i> ”	159
4.2.1	Avant-propos	159
4.2.2	Abstract	161
4.2.3	Introduction	161
4.2.4	Models	163
4.2.5	Results and Discussion	170
4.2.6	References	182
4.2.7	Supporting Information	186
5.	Synthèse des résultats et perspectives	197
5.1	Rappel des principaux acquis expérimentaux	198
5.2	Principales observations sur le site de Chakdaha (Inde)	200
5.3	Considérations sur la représentativité des expériences	201
5.4	Considérations sur les modèles couplant le transport réactif et la microbiologie ..	204
6.	Summary of results and prospects	207
6.1	Summary of the main experimental achievements	208
6.2	Principal observations from the Chakdaha site (India)	210
6.3	Representativeness of the experiments	211
6.4	Coupling of reactive transport models with microbiology	213
Tables	217
Figures	217
Annexe 1	« Coefficient de distribution (K_d) de l'arsenic sur des phases solides Fe(II)/Fe(III) à partir d'isothermes de sorption (pH 7 et 7,5) »	219
Annexe 2	« Fichier d'entrée PHREEQC du modèle de transfert réactif 1D »	221
Bibliographie	229

Objectifs et démarche de la thèse

- Thesis objectives and approach

Objectif

Cette thèse a pour objectif de décrire les interactions entre les transformations minéralogiques dans les aquifères et les processus microbiens en conditions anoxiques afin de mieux comprendre la mobilité de l'arsenic dans les aquifères deltaïques du Bengale. Le passage de l'arsenic de la phase solide à la phase aqueuse dans les aquifères du delta du Bengale est à l'origine d'un des plus importants empoisonnements de masse de l'Histoire. L'idée consiste à développer un modèle intégré expliquant les transformations minéralogiques dans ces aquifères, qu'elles soient d'origine biotiques ou abiotiques et qui conduisent au relargage de l'arsenic. L'objectif est également de quantifier les couplages entre les différents processus hydrauliques, géochimiques et microbiens qui produisent *in fine* les pics de concentration d'arsenic observés aussi bien sur le site étudié dans cette thèse de Chakdaha au Bengale Occidental (Inde) que dans une grande partie des aquifères deltaïques d'Asie du Sud-Est (Bangladesh, Cambodge, Vietnam...).

Objective

The objective of the thesis is to describe the interactions between mineralogical transformations in aquifers and microbial processes under anoxic conditions so as to obtain a better understanding of arsenic mobility within the aquifers of the Bengal Delta Plain. The passage of arsenic from the solid phase to the aqueous phase in these aquifers is the cause of the one of greatest mass poisonings in history. The idea is to develop an integrated model explaining the mineralogical transformations, whether of biotic or abiotic origin, that result in releasing the arsenic into these aquifers. The aim is also to quantify the couplings between hydraulic, geochemical and microbial processes which ultimately produce the peaks of arsenic concentration observed at the thesis study site at Chakdaha in West Bengal (India) and in almost the whole deltaic Southeast Asian aquifers (Bangladesh, Cambodia, Vietnam...).

Démarche adoptée

L'interdépendance entre les processus biotiques et abiotiques dans les problèmes environnementaux est un domaine de la recherche scientifique en plein essor (par exemple la bioénergétique). Afin de répondre aux objectifs de cette thèse, nous avons restreint notre étude aux conditions anoxiques. Nous avons choisi une approche combinant l'expérimentation en batch (en atmosphère contrôlée) et l'élaboration d'un modèle couplant les processus géochimiques avec les processus microbiens. Il s'agissait d'abord d'acquérir des connaissances sur ces phénomènes puis de les traduire, par conceptualisation, en modèles mathématiques. Ces modèles mathématiques ont ensuite été numérisés grâce à des codes de calculs existants en développant des fonctionnalités spécifiques. L'élaboration d'un modèle énergétique couplant explicitement les processus microbiens et les transformations géochimiques (dissolution/précipitation, adsorption, complexation en phase aqueuse) a constitué une première étape dans l'élaboration d'un modèle plus global décrivant le transfert réactif de l'arsenic dans les aquifères du site de Chakdaha au Bengale Occidental (Inde). Pour développer et tester la validité du modèle, nous avons commencé par des incubations anaérobies en batch avec différentes communautés bactériennes avant de concevoir, dans un second temps, une colonne pour décrire les processus de transfert 1D en représentant les hétérogénéités du milieu naturel. Un modèle de transfert réactif 1D couplé aux processus microbiens a été développé et comparé aux données de terrain du site de Chakdaha (Inde). Différents scénarios concernant les processus abiotiques et microbiens ont été ensuite testés et comparés à l'aide de ce modèle.

Adopted approach

The interdependence between biotic and abiotic processes in environmental problems is a growing field of scientific research (e.g. bioenergetics). In order to meet the objectives of this thesis, we restricted our study to the anoxic environment. We chose an approach combining batch experiments (in a controlled atmosphere) and the development of a model coupling geochemical and microbial processes. To begin with we had to obtain knowledge about these phenomena and then translate this, by conceptualization, into mathematical models. The mathematical models were then digitized using existing computer codes and developing specific functionalities. The development of an energetically-driven model explicitly coupling

microbial processes and geochemical transformations (dissolution/precipitation, adsorption, complexation in the aqueous phase) was a first step in developing a more comprehensive model describing the reactive transfer of arsenic in the aquifers of the Chakdaha site in West Bengal (India). To develop and test the validity of the model, we began with batch anaerobic incubations of different bacterial communities (iron-reducing and sulfate-reducing) before designing a column test to describe the 1D transfer processes by representing a spatial heterogeneity. We then developed a 1D reactive transfer model coupled with the microbial processes and compared it with the field data from the Chakdaha site (India). Various scenarios of abiotic and microbial processes were finally tested and compared using this model.

Structure du mémoire

Ce mémoire s'articule en cinq grands chapitres :

- Dans une première partie introductive (Chapitre 1), j'ai souhaité élargir le sujet de thèse proprement dit et donner un bref aperçu des contaminations à l'arsenic dans l'Histoire et de l'impact d'une intoxication à l'arsenic sur la santé humaine. La géochimie générale de l'arsenic est ensuite décrite avec notamment l'impact majeur sur la mobilité de l'arsenic du couplage entre la sorption sur les (hydr)oxydes de fer et les activités microbiennes anaérobies. Une description du problème général de la contamination à l'arsenic des aquifères dans le Bengale Occidental (Inde) termine cette introduction.
- Le deuxième chapitre est consacré à la méthodologie dans cette thèse. Une première partie concerne le choix et la synthèse des phases solides porteuses de l'arsenic. Une seconde partie concerne une revue sur les modèles existants dans la littérature scientifique décrivant les processus avec des accepteurs terminaux d'électrons en conditions anoxiques. Suite à cette revue, j'explique le choix de différents codes de calcul ainsi que des bases de données thermodynamiques pour le cas particulier du Fe(III) solide et de l'As(V).
- Le troisième chapitre rassemble l'ensemble des résultats expérimentaux acquis lors de cette thèse. Une première partie concerne les expériences en batch des particules de ferrihydrite dopées avec de l'arséniate incubées avec des bactéries ferri-réductrices. Le modèle qui a été développé pour expliquer les résultats des

expériences a été également appliqué aux résultats d'incubations de sédiments provenant du Bengale Occidental en Inde (Islam et al., 2004). Ces travaux ont été publiés en Octobre 2007 dans la revue *Geochemical Transactions* sous le titre «Decoupling of arsenic and iron release from ferrihydrite suspension under reducing conditions: a biogeochemical model». Une seconde partie concerne des expériences en batch avec des particules de ferrihydrite dopées avec de l'arséniate ou dopées avec de l'arsénite en présence d'une atmosphère contenant du sulfure d'hydrogène H_2S . Une troisième partie concerne des expériences d'incubation de la ferrihydrite dopée avec de l'arsénite avec des bactéries sulfato-réductrices en batch ou en colonne. Ces deux dernières parties n'ont pas encore fait l'objet d'une soumission d'article.

- Le quatrième chapitre rassemble l'ensemble des données de terrain sur le site de Chakdaha au Bengale Occidental (Inde). Une première partie concerne une analyse sur un échantillon de points avec des mesures sur 3 années consécutives entre 2000 et 2002 ainsi que la modélisation des expériences de sorption d'As(V) sur un échantillon des sédiments prélevés sur cette zone. Ces travaux ont été publiés en Janvier 2009 dans la revue *Journal of Hydrology* sous le titre « Mobility of arsenic in the sub-surface environment: An integrated hydrogeochemical study and sorption model of the sandy aquifer materials ». Une seconde partie concerne une campagne en 2005 sur le même site mais sur des nouveaux puits avec une analyse de la phase solide du ratio Fe(II)/Fe. Un modèle 1D avec différents scénarios sur le choix de la séquence entre les différents accepteurs d'électrons a été développé et comparé aux observations de terrain, notamment vis-à-vis du ratio solide Fe(II)/Fe et de l'arsenic en solution. Un article issu de ces travaux a été préparé pour soumission à la revue *Environmental Science & Technology* sous le titre « Fe(II)-Fe(III)-bearing Phases as a Mineralogical Control on the Heterogeneity of Arsenic in Southeast Asia Groundwaters ».
- Le cinquième chapitre est la synthèse de l'ensemble des résultats expérimentaux et des résultats de la modélisation des données de terrain. Ce chapitre se termine par des considérations générales sur la représentativité des expériences réalisées par rapport aux conditions *in situ* dans le delta du Bengale ainsi que par rapport au développement des modèles couplant le transport réactif des éléments chimiques

(comme l'arsenic) avec les processus microbiens, ce qui nous permet, en guise de conclusion, de tracer quelques perspectives aux travaux de cette thèse.

Structure of the thesis

This thesis is divided into five main chapters:

- In the Introduction (Chapter 1), the idea was been to broaden the actual thesis subject by providing a brief outline of arsenic contaminations in history and describing the impact of chronic arsenic intoxication on human health. The general geochemistry of arsenic is then described, emphasizing the major impact on arsenic mobility of arsenic sorption on iron (hydr)oxides coupled with anaerobic microbial activities. A description of the general problem of arsenic contamination in the aquifers of West Bengal (India) completes the Introduction.
- The second chapter concerns the methodology used for the thesis work. The first part relates to the choice and synthesis of the arsenic-bearing solid phases. The second part reviews existing models, taken from the scientific literature, that describe the processes with terminal electron acceptors under anoxic conditions. Following this review, the selected computer codes and thermodynamic databases are described.
- The third chapter considers all the experimental results acquired during the thesis work. The first section deals with the batch experiments of arsenate-doped ferrihydrite particles incubated with ferri-reducing bacteria. The model developed to explain the results of the experiments was also applied to the incubation results of sediments from West Bengal, India (Islam et al., 2004). This part of the work was published in October 2007 in *Geochemical Transactions* under the title "Decoupling of arsenic and iron release from ferrihydrite suspension under reducing conditions: biogeochemical model". A second section deals with the batch experiments with arsenate- or arsenite-doped ferrihydrite particles in the presence of an atmosphere with H_2S . A third section describes the batch and/or column incubation experiments of arsenite-doped ferrihydrite with sulfate-reducing bacteria. The work of the last two sections has yet to be submitted for publication.

- The fourth chapter considers all the field data from the Chakdaha site in West Bengal (India). The first section deals with an analysis based on a sample of points measured over three consecutive years between 2000 and 2002, as well as with modeling the As(V) sorption experiments on collected sediments from this zone. This work was published in January 2009 in the *Journal of Hydrology* under the title "Mobility of arsenic in the sub-surface environment: An integrated hydrogeochemical study and sorption model of the sandy aquifer materials". The second section concerns a 2005 field program at the same site but on new wells with an analysis of the solid phase of the solid Fe(II)/Fe ratio. A 1D model was developed with different sequence scenarios between the various electron acceptors and compared against the field observations, in particular with respect to the Fe(II)/Fe ratio and arsenic in solution. This work has been prepared for submission to *Environmental Science & Technology* under the title "Fe(II)-Fe(III)-bearing Phases as a Mineralogical Control on the Heterogeneity of Arsenic in Southeast Asian Groundwater".
- The fifth chapter in french (or the sixth chapter in english) summarizes all the experimental results and the field-data modeling results. It ends with general considerations on the representativeness of the experiments in relation to the *in situ* conditions in the Bengal Delta as well as in relation to the development of models coupling the reactive transport of chemical elements (e.g. arsenic) with microbial processes. This enabled us, as a conclusion, to outline some ideas for following up this thesis work.

1. Introduction

N.B. : les textes de cette introduction sont en partie issus d'une synthèse de travaux de R&D sur la thématique Arsenic écrite à l'occasion d'une journée d'échanges sur l'Arsenic organisée par le Brgm et l'Ademe à Orléans la source le 23 Novembre 2004. Pour la petite histoire, c'est d'ailleurs pendant cette journée que j'ai discuté pour la première fois du projet de cette thèse avec mon futur directeur de thèse. J'invite donc le lecteur désireux d'obtenir plus de détails à consulter les 2 rapports publics suivants (disponibles sur le catalogue en ligne du Brgm <http://www.brgm.fr/publication.jsp>) :

- Laperche V. *et al.* (2003) - Guide méthodologique de l'arsenic, appliqué à la gestion des sites et sols pollués. BRGM/RP-52066-FR, 90 p.
- Dictor M.C *et al.* (2004) Synthèse des travaux de R&D en France (1999-2003) sur la thématique Arsenic. BRGM/RP-53252-FR, 130 p.

1.1 Bref aperçu des contaminations à l'arsenic dans l'histoire

La forte toxicité de l'arsenic est reconnue depuis longtemps par l'homme. Non seulement cet élément a été utilisé pour éliminer des animaux nuisibles mais historiquement cette substance a également servi aux empoisonnements d'origine criminelle, certains historiens estimant qu'à certaines époques jusqu'à plus de 30 % des empoisonnements criminels seraient liés à l'utilisation de l'arsenic comme poison. La présence fréquente de l'arsenic à faible teneur dans les sols, l'environnement voire les corps humains a été spectaculairement proclamée par le chimiste français François-Vincent Raspail en 1840 à l'occasion du fameux procès dans l'affaire «Marie Lafarge». Les contaminations criminelles à l'arsenic de l'homme, notamment après l'exhumation pour autopsie, ont été des sujets récurrents de controverse en médecine légale, un autre cas célèbre et encore très controversé est celui de l'empoisonnement de Napoléon lors de son exil sur l'île de Saint-Hélène en 1821.

Les propriétés thérapeutiques, à faible dose, de l'arsenic sont déjà connues au XV^e siècle et décrites par l'alchimiste Paracelse (de son vrai nom Théophrastus Bombast von

Hohenheim) et ses effets stimulants dans l'alimentation du bétail étaient soulignés et parfois exploités. Au XIX^e siècle, l'arsenic était considéré comme un médicament précieux mais d'un usage délicat, nécessitant les plus grandes précautions pour des usages externes, comme par exemple des maladies de peau difficiles à traiter. L'attitude générale de l'homme au XIX^e siècle vis-à-vis de l'arsenic, comme vis-à-vis des autres éléments chimiques, a été marquée par le précepte de Paracelse selon lequel c'est uniquement la dose de l'élément qui fait de cet élément un poison. Il paraissait alors logique de rechercher des actions thérapeutiques à très faible dose. Le principe énoncé par Claude Bernard est alors que les organes humains souffrant suite à l'ingestion d'un élément à forte dose peuvent être stimulés bénéfiquement par de plus faibles doses. L'arsenic a ainsi été utilisé pendant des années à des fins médicales par l'homme, par exemple les composés organiques de l'arsenic constituaient avant l'apparition des antibiotiques un traitement spécifique pour la syphilis. La notion d'oligo-élément n'est apparue que plus tard au XX^e siècle et reste l'objet aujourd'hui d'incertitudes liées à l'existence du seuil de toxicité pour ces éléments.

Les activités humaines (combustion du charbon, fonderies et autres activités industrielles), depuis le XIX^e siècle jusqu'à aujourd'hui, constituent la majorité des apports d'arsenic dans l'environnement de surface (Reese, 1998). L'essentiel de la production mondiale d'arsenic se fait aujourd'hui sous forme de trioxyde d'arsenic ou « arsenic blanc » (As_2O_3), la Chine étant le principal producteur et les Etats-Unis, qui ne produisent plus de trioxyde d'arsenic depuis 1985, étant les principaux consommateurs, avec 88,2 % pour traiter le bois de charpente, 5,2 % pour les produits agricoles, 2,3 % pour la fabrication du verre, 3,3 % pour la confection d'alliages non-ferreux et 1 % pour d'autres utilisations (Reese, 1998). Les arsénates de Pb et Ca ont longtemps été utilisés en tant que fongicides, herbicides et insecticides. Le seul pesticide à base d'arsenic encore récemment utilisé en France pour le traitement antifongique de la vigne est l'arsenite de sodium ($\text{As}_2\text{O}_4\text{Na}_2$). Son utilisation en France a été interdite seulement depuis le 8 Novembre 2001 sans délai d'écoulement des stocks. Outre son utilisation à des fins agricoles, l'arsenic est aujourd'hui principalement employé pour traiter le bois (conservation) avec des sels ou des oxydes à base de As_2O_5 comme les CCA (Cuivre Chrome Arsenic).

L'arsenic se trouve également accumulé dans les stériles des mines et d'usines d'enrichissement du minerai, à partir desquels il peut être rejeté dans le réseau hydrographique où il peut contaminer les sols attenants. Dans ces conditions, l'arsenic peut

être libéré lors des processus d'oxydation des minerais sulfurés (libération chimique) ou il peut être disséminé par l'envol des poussières des stériles dans l'atmosphère (voie physique).

L'inquiétude sur un risque plus général de transfert de ces éléments en traces comme l'arsenic mais aussi d'autres polluants métalliques (Pb, Cd, Hg, ...) dans l'environnement est apparue seulement au cours de la deuxième moitié du XX^e siècle. Le cas en France de Salsigne, près de Carcassonne, qui fut la plus grande mine d'or d'Europe au XX^e siècle, a montré que les envols de poussières n'avaient pas été sans conséquence sur la santé des populations exposées autour du site (Dondon *et al.*, 2005). Le problème de l'accumulation dans les sols et des risques liés aux cycles longs des éléments en traces (Pb, Cd, Hg, As ...) n'a été envisagé que dans les dernières décennies et sera certainement un enjeu majeur de santé publique au XXI^e siècle.

1.2 Risques pour la santé humaine d'une contamination à l'arsenic

L'arsenic est un oligo-élément essentiel à la vie (Neuzil, 1990). Les besoins en arsenic pour l'homme ont été évalués entre 10 et 20 $\mu\text{g jour}^{-1}$ (Jacotot et Le Parco, 1990). Un apport trop important peut cependant s'avérer néfaste pour les végétaux, les animaux et l'homme. Par exemple, l'exposition au gaz d'hydrogène arsénié (arsine de formule AsH_3) à des concentrations supérieures à 250 mg kg^{-1} provoque la mort quasi-instantanément et l'inhalation même brève de 100 mg kg^{-1} entraîne le décès dans les 30 minutes (Testud, 1993). Une dose orale pour l'homme de 110 mg d'arsenic inorganique, présent dans une eau de boisson contaminée, soit 1 à 2 mg As kg^{-1} de poids corporel, est potentiellement mortelle (Armstrong *et al.*, 1984 ; Testud, 1993). La concentration totale en arsenic ne suffit pas cependant pour évaluer le risque lié à cet élément. La toxicité de l'arsenic dépend en effet de sa spéciation, c'est-à-dire de la forme chimique sous laquelle il se trouve, mais aussi de la voie d'absorption et du type de contamination (aigüe ou chronique).

1.2.1 Voies d'exposition à l'arsenic

L'arsenic est absorbé par la voie digestive (nourriture ou boisson), plus facilement que par la voie respiratoire. Il est éliminé par les urines ou par les matières fécales (en plus faible quantité) et dans une période de quelques jours (au maximum une semaine). Il peut être accumulé dans certains tissus humains comme les phanères (cheveu, peau et ongles).

Cependant, l'accumulation dans l'organisme humain dans les cas d'une exposition prolongée est encore mal connue. Alors que l'absorption digestive d'arsenic inorganique est très importante, entre 80 à 100 % de la dose ingérée selon la forme chimique, les formes organiques au contraire ne sont pas fixées par les tissus et sont éliminés sans aucune transformation (Testud, 1993). En milieu anaérobie, des bactéries méthanogènes peuvent donner lieu à la production de composés organo-métalliques arséniés volatils. Cependant, bien que peu ou pas de données soient disponibles sur l'adsorption et la toxicité de ces composés méthylés volatiles, ils seraient également moins toxiques que les formes inorganiques de l'arsenic. La principale voie d'exposition à l'arsenic est l'ingestion d'eau ou d'aliments contaminés. Dans les pays où la concentration dans les eaux de boisson dépasse $50 \mu\text{g L}^{-1}$, on peut considérer que l'apport par les autres aliments est négligeable. L'eau de boisson contenant de l'arsenic représente donc le plus grand danger pour la santé publique mondiale.

1.2.2 Contaminations aiguës ou chroniques

L'intoxication chronique par l'arsenic due à une exposition prolongée par le biais de l'eau de boisson est différente de l'intoxication aiguë. Les symptômes immédiats caractéristiques d'une intoxication aiguë comprennent des effets digestifs, de type nausées, vomissements, douleurs oesophagiennes et abdominales et diarrhées sanguinolentes en « eau de riz ». Ces effets sont également observés pour des expositions prolongées à plus faibles doses mais pas systématiquement. Dans les intoxications aiguës ou subaiguës, une toxicité différentielle des différentes formes de l'arsenic existe mais dans le cas des intoxications chroniques à de plus faibles doses, peu de données existent sur une toxicité chronique différentielle des différentes formes inorganiques de l'arsenic. La forme trivalente As(III), l'arsénite, est souvent considérée comme plus toxique que la forme pentavalente As(V), l'arséniate. Les deux formes inorganiques de l'arsenic ont cependant des effets délétères sur le fonctionnement des cellules de l'organisme : les ions arsénite $\text{As}(\text{OH})_3$ ont une forte affinité pour les groupements sulfhydriles SH^- contenus dans les enzymes perturbant ainsi de multiples réactions cellulaires comme par exemple les synthèses protéiques (Testud, 1993) ; les ions arsénates HAsO_4^{2-} interfèrent avec les mécanismes ATP-ADP inhibant ainsi la phosphorylation oxydative, provoquant une chute du métabolisme (Sanders et Vermersh, 1982). Les organismes internationaux, du fait des phénomènes de transformations et de métabolisation *in vivo*, ne font d'ailleurs pas de différence entre les deux formes inorganiques

de l'arsenic dans l'eau de boisson. L'exposition chronique à l'arsenic entraîne des troubles de type systémique ou cancérigène décrits dans la suite.

1.2.3 Troubles de type systémique ou cancérigène

En ce qui concerne les effets systémiques, la peau est l'un des organes cibles des dérivés inorganiques de l'arsenic. Des lésions d'hyperkératose des paumes de mains et de la plante des pieds, des excroissances, ainsi que des zones d'hyper-pigmentation et d'hypo-pigmentation sur la face, le cou et le dos sont décrites dans la majorité des études lors d'exposition sub-aiguës ou chroniques. L'exposition chronique à l'arsenic entraîne des troubles cutanés de type « maladie des pieds noirs » ou en anglais BFD pour *Black Foot Disease* (encore appelé mélanodermie plantaire). Cette maladie est en fait une altération des petites artères périphériques qui est la cause d'une altération progressive de la circulation sanguine périphérique dans les pieds, se manifestant par l'installation d'une sensation de froid et d'engourdissement, entraînant à terme des ulcérations, une coloration noire des pieds et évolue finalement vers une gangrène sèche. Dans la région de Taïwan, la maladie des pieds noirs s'est développée de manière endémique, lors de l'ingestion d'eau de boisson contenant de l'arsenic à des niveaux de l'ordre de 0,17 à 0,8 mg L⁻¹ (Tseng, 1977). Ces concentrations dans l'eau correspondent à des doses quotidiennes de 0,014 à 0,065 mg As par jour et par kg de poids corporel (mg kg⁻¹ j⁻¹) (Albernathy *et al.*, 1989).

Les rapports entre l'exposition à l'arsenic et d'autres effets sanitaires sont moins évidents. Ainsi, certaines études ont fait état d'hypertension et de maladies cardio-vasculaires, de diabète et d'effets sur la procréation. Un excès de mortalité par cardiopathie ischémique a ainsi été mis en évidence dans cette population touchée par la mélanodermie plantaire (Chen *et al.*, 1985). Les effets cardiovasculaires sont liés à des troubles du rythme ventriculaire et des altérations du système vasculaire. Trois études constatent une élévation de la pression artérielle sanguine avec l'exposition à l'arsenic (Chen *et al.*, 1985 ; Rahman *et al.*, 1999 ; Jensen et Hansen, 1998). De nombreuses études rapportent l'apparition d'effets hématologique, comme par exemple l'anémie, suite à l'ingestion de dérivés inorganiques de l'arsenic. Ces effets n'ont pas été cependant observés pour des niveaux d'exposition inférieurs ou égaux à 0,07 mg kg⁻¹ j⁻¹ et lors de l'exposition par inhalation. Des atteintes du système nerveux ont aussi été observées pour des expositions chroniques ou sub-aiguës pour des doses comprises entre 0,019 à 0,05 mg kg⁻¹ j⁻¹, et notamment des neuropathies symétriques avec

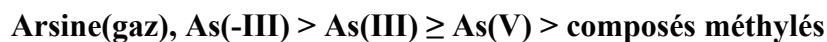
atteinte des nerfs moteurs et sensoriels. Ces effets neurologiques ne sont pas observés pour des plus faibles doses inférieures ou égales à $0,01 \text{ mg kg}^{-1} \text{ j}^{-1}$.

En ce qui concerne les effets cancérogènes, l'Union Européenne (UE) a classé certains dérivés de l'arsenic (pentaoxyde d'arsenic, trioxyde d'arsenic et arséniate de plomb) dans la catégorie 1, c'est-à-dire parmi les substances cancérogènes pour l'homme, sans classer l'arsenic en tant que tel dans cette catégorie. Le Centre International de Recherches sur le Cancer (CIRC) de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) en 1987, ainsi que l'agence américaine de la protection environnementale (US EPA) en 1998, ont classé l'arsenic et ses composés dans la catégorie des substances cancérogènes pour l'homme. Dans le milieu professionnel, c'est le cancer du poumon qui semble être le principal effet cancérogène alors qu'en milieu non professionnel, ce serait les cancers de la peau. Une étude épidémiologique sur la période la période 1968-1994 concernant le site de Salsigne en France a montré un excès de mortalité lié au cancer du pharynx très significatif (environ 110 %) dans la population exposée sur la période 1968-1994 (Dondon *et al.*, 2005). D'autres études épidémiologiques ont montré une augmentation du risque de cancer de la vessie, des reins, du foie et du poumon pour des niveaux d'exposition supérieurs à $100 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ dans l'eau de boisson (Chen *et al.*, 1985 ; Chen et Wang, 1990, Bates *et al.*, 1995).

1.2.4 Résumé

Pour résumer les impacts sanitaires d'une contamination à l'arsenic, la principale voie d'exposition est la voie hydrique. Cette contamination a de multiples effets sanitaires, cancérogènes et non cancérogènes. Ces effets dépendent à la fois de la dose et de la durée de l'exposition. A partir de deux études épidémiologiques sur la « maladie des pieds noirs », un NOAEL (No Observed Adverse Effect Level, la dose sans effet toxique) de $9 \text{ } \mu\text{g/L}$, converti en $0,8 \text{ } \mu\text{g/kg/j}$ et un LOAEL (Lowest Observable Adverse Effect Level, la dose minimale pour observer un effet indésirable) de $170 \text{ } \mu\text{g/L}$, converti en $14 \text{ } \mu\text{g/kg/j}$ ont été déterminées (Tseng, 1977 ; Tseng et al., 1968). Des niveaux d'exposition supérieurs à environ $170 \text{ } \mu\text{g L}^{-1}$ dans l'eau de boisson suffisent donc pour l'apparition des premiers effets cutanés et un excès de risque significatif de cancers de la vessie et de la peau. De plus, le rôle de l'arsenic dans l'eau de boisson est fortement soupçonné pour d'autres cancers comme par exemple le cancer du foie ou pour des maladies du système nerveux et cardio-vasculaire. La concentration totale en arsenic ne suffit cependant pas pour évaluer précisément le risque lié à cet élément, la

toxicité pour l'homme diminue par oxydation de l'élément et également par méthylation (liée aux processus microbiens) :



1.3 Biogéochimie de l'arsenic

La mobilité de l'arsenic est contrôlée par de nombreux processus comme les réactions de dissolution/précipitation, les réactions d'adsorption/désorption et l'activité bactérienne. Ces trois processus et leur importance relative vis-à-vis de la mobilité de l'arsenic sont décrits dans la suite de cette section.

1.3.1 Propriétés physico-chimiques générales de l'élément As

L'arsenic appartient au groupe Va de la classification périodique. Il possède ainsi de nombreuses propriétés communes avec les éléments voisins (azote, phosphore, bismuth, antimoine). L'électronégativité de cet élément est trop élevée pour lui donner un caractère métallique : l'arsenic appartient au groupe des métalloïdes. Les propriétés physico-chimiques principales de l'élément arsenic sont présentées dans le Table 1.

Table 1: General chemical and physical properties of As element

Element	As
Atomic number	33
Atomic mass (g mol ⁻¹)	74,92
Electron configuration	3d ¹⁰ 4s ² 4p ³
Valence	-3, 0, +3, +5
Ionic radius As ³⁺ (Å)	0,58
Ionic radius As ⁵⁺ (Å)	0,46

L'arsenic existe sous plusieurs formes et à différents degrés d'oxydations dans les eaux et les sols. Dans les eaux, l'arsenic peut se présenter avec différents états de valence (+5, +3, 0, -3). Dans les sols, l'arsenic existe principalement sous forme trivalent, arsénite As(III) ou pentavalent, arséniate As(V). Dans les eaux souterraines, l'arsenic tend à former des oxyanions et le comportement des arsénates est analogue à celui des phosphates à cause de la similarité chimique entre As et P. Pour des valeurs de pH proches de celles que l'on rencontre généralement dans le milieu naturel, As(V) va avoir tendance à être piégé en plus grande quantité sur les phases de type oxyhydroxyde de fer qu'As(III). L'arsenic est donc très sensible aux variations de potentiels rédox et sa mobilité va être étroitement liée aux conditions rédox du milieu.

1.3.2 Les phases minérales riches en As

L'arsenic est chalcophile, c'est-à-dire montre une forte affinité pour le soufre. Dans la partie superficielle de l'écorce terrestre, sa concentration moyenne est évaluée à 2 mg/kg mais localement le fond géochimique peut atteindre des valeurs beaucoup plus élevées (200 mg/kg dans les dépôts calcaires, phosphatés ou dans les schistes). Plus de 200 minéraux contenant de l'arsenic ont été identifiés, qui correspondent à des arsénates, des sulfures et sulfosels ou encore des oxydes comme le montre le Table 2. Le minéral le plus commun est l'arsénopyrite (FeAsS). Les principaux minéraux exploités pour extraire de l'arsenic ont été, outre l'arsénopyrite, l'orpiment (As₂S₃), le réalgar (AsS).

Table 2: List of principal arsenic-rich minerals (from Matera, 2001)

Type	Presence	Exemple (name, chemical formula)	
Arseniate	Represents 60 % of As-rich minerals (O'Neill, 1995)	scorodite	FeAsO ₄ .2H ₂ O
		pharmacosidérite	Fe ₄ (AsO ₄) ₃ (OH) ₃ .6H ₂ O
		pharmacolite	CaHAsO ₄
Sulfide, salt	Stable under reducing conditions, 20 % of As-rich minerals	arsénopyrite	FeAsS
		orpiment	As ₂ S ₃
		réalgar	AsS

Type	Presence	Exemple (name, chemical formula)	
Oxide	High solubility, sale form	claudetite	As ₂ O ₃
		arsenolite	As ₂ O ₃

1.3.3 L'adsorption/désorption d'As sur les (hydr)oxydes de fer

L'adsorption/désorption de l'arsenic sur les surfaces dans phases minérales dans les sols et les sédiments est un processus majeur vis-à-vis de la mobilité de cet élément. Parmi les phases minérales susceptibles de piéger les deux formes As(III) et As(V) de l'arsenic, on peut citer les oxyhydroxydes métalliques (Fe, Al, Mn, ...), les argiles et la matière organique. Parmi ces phases porteuses, la présence ou l'absence des oxydes et hydroxydes de fer jouent un rôle essentiel, qu'elles soient amorphes ou plus cristallisés :

- l'oxyde de fer hydraté (HFO) ou ferrihydrite (Pierce et Moore, 1982 ; Dzombak et Morel, 1990 ; Wilkie et Hering, 1996 ; Waychunas *et al.*, 1993 ; Fuller *et al.*, 1993 ; Raven *et al.*, 1998 ; Jain et Loeppert, 2000) ;
- la goethite (Bowell, 1994 ; Dixit et Hering, 2003) ;
- divers oxydes et oxyhydroxydes de fer cristallisés tels que l'hématite et la lépidocrocite (Bowell, 1994), trois polymorphes cristallins de FeOOH : α (goethite), β (akaganéite), γ (lépidocrocite) (Waychunas *et al.*, 1993), deux rouilles vertes avec Fe₄(II)Fe₂(III)(OH)₁₂SO₄.3H₂O (Randall *et al.*, 2001) et la fougérite Fe(II)₄Fe(III)₂(OH)₁₂CO₃.2H₂O (Jönsson *et al.*, 2008).

L'adsorption de l'arsenic sur ces phases ferriques est décrite par des phénomènes de complexation de surface. Comme d'autres espèces anioniques, l'adsorption de l'arsenic As(V) sera le plus souvent faible pour des pH élevés (pH > 8). Certains éléments chimiques tels que les phosphates vont représenter des ions compétiteurs importants vis-à-vis de l'adsorption de l'arsenic sur ces phases (Jain and Loeppert, 2000).

Parmi ces (hydr)oxydes de fer, les phases présentant une surface spécifique maximale pour la sorption de l'arsenic sont les phases amorphes comme la ferrihydrite 2 L (« 2-line ») ou les HFO (« Hydrrous Ferric Oxides »). L'adsorption de As(III) et As(V) à température ambiante sur ces phases amorphes a été largement étudiée notamment par Pierce and Moore (1982), Fuller *et al.* (1993), Wilkie (1996), Raven *et al.* (1998) et par Jain et Loeppert (2000). Pierce et Moore (1982) ont montré notamment que cette adsorption était rapide et fortement dépendante du pH. Pour la forme As(V), ces mêmes auteurs montrent que l'adsorption atteint un maximum pour un pH compris entre 4 et 5. Pour la forme As(III), leurs résultats montrent que le maximum d'adsorption est atteint entre pH 5 et pH 8. Cette adsorption diminue ensuite pour des pH plus alcalins. Les travaux plus récents réalisés avec un ajustement continu du pH et de la température remettent toutefois en cause la validité des résultats de Pierce et Moore (1982). Les résultats de Raven *et al.* (1998) montrent en effet que l'adsorption de As(V) est maximale pour pH 3-7,5 puis décroît ; Par contre, les mêmes quantités maximales de As(III) peuvent être adsorbées sans influence notable du pH de pH 3 à pH 10 (0,27-0,8 mol As kg⁻¹ ferrihydrite), ce qui peut s'expliquer par sa forme neutre As(OH)₃ dans cette gamme de pH.

1.3.4 L'adsorption/désorption d'As sur les (hydr)oxydes de manganèse

Les oxydes et hydroxydes de manganèse sont également capables d'adsorber de l'arsenic mais selon des mécanismes plus complexes que ceux décrits dans le cas de l'adsorption de l'arsenic par des (hydr)oxydes de fer. Les phénomènes d'adsorption de l'arsenic par des (hydr)oxydes de manganèse sont en effet intimement liés à des processus d'oxydation de l'arsenic et de réduction du manganèse.

Par exemple, l'oxydation de l'As(III) en As(V) dans des sédiments de différents lacs au Canada se produit en 48 heures (Oscarson *et al.*, 1983). Si 10 µg/ml d'As(III) sont ajoutés initialement sur des sédiments de cinq lacs au Canada, plus de 90 % de l'As ajouté est sorbé en 72 heures (Figure 1). Pendant la réaction, le pH des suspensions As-sédiment variait entre 8,0 et 8,2 pour le sédiment de Buffalo Pound et de 7,3 à 7,6 pour les 4 autres sédiments. Une analyse du solide faite par Tournassat *et al.* (2002) montre que l'oxydation de l'arsenic As(III) en As(V) s'accompagne d'une réduction abiotique du Mn(IV) en Mn(III) dans la phase solide (birnessite) (Figure 2).

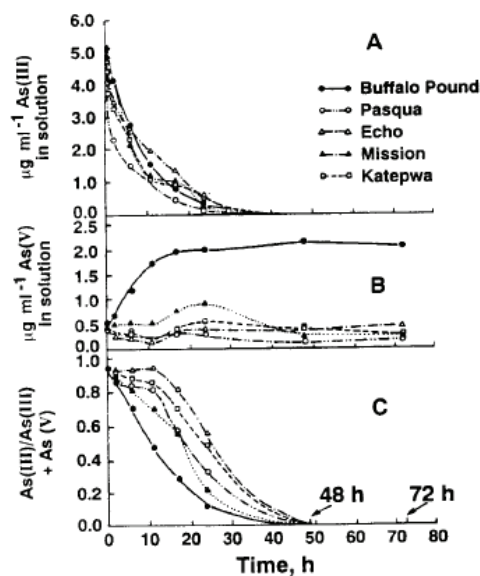


Figure 1: Time profile of aqueous As(III) oxidation with different lake sediments (A) As(III), (B) As(V), (C) As(III)/As_T in aqueous phase (Oscarson et al., 1983)

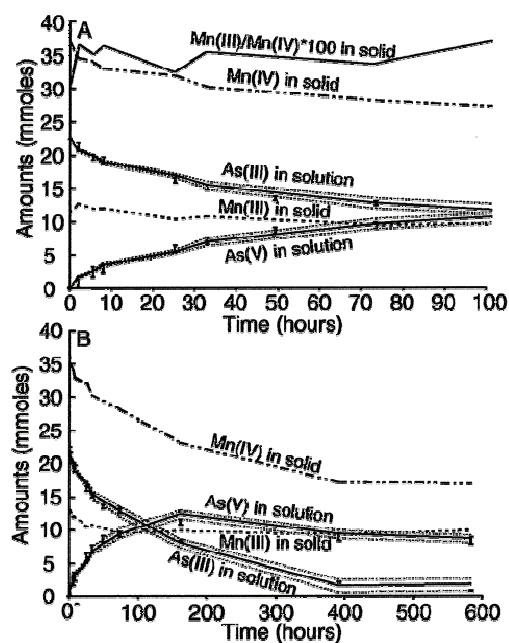


Figure 2: Time profile of As(III) oxidation in aqueous phase and increase of molar ratio Mn(III)/Mn(IV) in solid phase (A) between 0 and 100 h (B) between 0 et 600 h (Tournassat et al., 2002)

Dans les aquifères du delta du Bengale, les quantités d'oxydes et hydroxydes de manganèse sont nettement moins importantes que les (hydr)oxydes de fer (par exemple environ 2 ordres de grandeur de moins sur le site étudié de Chakdaha au Bengale Occidentale, cf. section 4.1.5.2). Ces phases présentent donc une surface de sorption moins importante vis-à-vis de l'arsenic en solution que les phases ferriques.

1.3.5 Rôle des bactéries dans la spéciation de l'As

1.3.5.1 Quelques définitions de base sur les processus microbiens

Autotrophe : les micro-organismes sont capables de synthétiser tous leurs constituants à partir de sources minérales uniquement. En microbiologie, ce qualificatif désigne les bactéries pouvant fixer le gaz carbonique (CO_2), car les autres éléments sont communément apportés aux cellules bactériennes par des sources minérales (ammonium, sulfate, phosphate...).

Hétérotrophe : les bactéries hétérotrophes ont besoin d'une source de carbone organique.

Chimiotrophe : les bactéries chimiotrophes tirent leur énergie d'une oxydation chimique (par opposition aux **phototrophes** qui tirent leur énergie de la lumière).

Lithotrophes : les bactéries lithotrophes sont des chimiotrophes qui oxydent des composés inorganiques pour obtenir de l'énergie (par opposition aux **organotrophes** qui soutirent de l'énergie de l'oxydation de composés organiques).

Chimio-lithoautotrophe : micro-organisme autotrophe qui utilise le CO_2 comme seule source de carbone en tirant son énergie de l'oxydation d'un substrat non organique.

Chimio-hétérotrophe : micro-organisme qui utilise des composés organiques en tirant le plus gros de son énergie de l'oxydation d'un substrat non organique.

Chimio-lithotrophe : micro-organisme tirant toute son énergie de l'oxydation d'un substrat non organique.

Réduction dissimilatrice (ou dissimilative) : il s'agit d'une réaction de réduction chimique couplée à la croissance des bactéries. On dit aussi que la bactérie « respire » la substance ou que la substance est utilisée en tant qu'accepteur final d'électrons dans le processus de respiration de la bactérie.

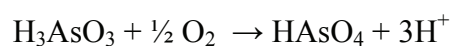
Aérobic : micro-organisme utilisant l'oxygène pour son métabolisme.

Anaérobie : métabolisme se déroulant en absence d'oxygène.

1.3.5.2 Rôle direct des bactéries sur le cycle de l'As

Les bactéries sont généralement dix fois plus résistantes à l'arséniate qu'à l'arsénite (Tamaki and Frankenberg Jr, 1992). Des micro-organismes bactériens, résistant à de hautes teneurs en arsenic, capables d'oxyder As(III) en un composé moins toxique As(V), ont été identifiés dès 1918, en Afrique du Sud, dans des bacs destinés à la désinfection du bétail. En 1954, Legge and Turner (1954) découvrent que l'oxydation de l'arsénite est liée à la synthèse d'une enzyme soluble, qu'ils nomment *arsénite deshydrogénase*. En dépit des résultats de Legge and Turner concernant le couplage de l'*arsénite deshydrogénase* à la chaîne de transport d'électrons, l'idée selon laquelle des microorganismes pourraient utiliser l'arsenic en tant que substrat de croissance a été longtemps réfutée, en raison du caractère extrêmement toxique de cet élément. Il est maintenant démontré que si l'oxydation de l'arsénite est un simple processus de détoxification pour certains organismes, cette oxydation peut également fournir de l'énergie pour la croissance de certaines espèces bactériennes. D'autres bactéries utilisent au contraire la réduction de l'arséniate comme source d'énergie. Ces bactéries résistantes à l'arsenic ou/et capables d'oxyder ou de réduire l'arsenic inorganique (arséniate ou arsénite) appartiennent donc à des familles et des genres bactériens très variés.

- Oxydation hétérotrophe ou autotrophe $\text{As(III)} \rightarrow \text{As(V)}$. L'enzyme impliquée dans le mécanisme d'oxydation est l'As(III)-oxydase (Silver and Phung, 2005). C'est une enzyme périplasmique composée de deux sous-unités codées par les gènes *aoxA* et *aoxB*. L'expression de ces gènes, organisés en opéron, est induite en présence d'arsenic (Muller et al., 2002, Inskeep et al., 2007). Ces bactéries oxydent l'As(III) en As(V) :

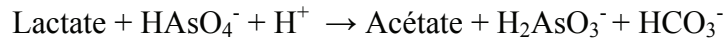


Les bactéries As(III) oxydantes sont phylogénétiquement diverses et ont été isolées d'environnement variés. Il y a 2 voies d'oxydation de l'arsenic : la première est réalisée par les bactéries chimiolithoautotrophes qui vont se développer en utilisant l'énergie dégagée par l'oxydation de As(III), la seconde est

un mécanisme de détoxification où la croissance microbienne n'est pas couplée à l'oxydation de As(III) :

- L'enzyme *arsenite deshydrogénase* est inductible, c'est-à-dire que sa synthèse est stimulée en présence d'arsenic dans l'environnement et son activité semble couplée au transport des électrons jusqu'à l'oxygène. Les bactéries découvertes en premier étaient des organismes hétérotrophes (*Pseudomonas*, *Xanthomonas*, *Achromobacter*, *Alcaligenes*).
- Des micro-organismes autotrophes sont capables de se développer en utilisant l'arsénite comme donneur d'électron, l'oxygène comme accepteur d'électron et le carbone inorganique (CO_2 ou HCO_3^-) comme source de carbone. Le premier micro-organisme chimio-autotrophe oxydant As(III) en As(V) a été isolé des effluents provenant d'une mine d'or (Ilyaletdinov and Abdrashitova, 1979). Cette bactérie, *Pseudomonas arsenoxidans*, se développe sur un milieu minéral contenant $1,3 \text{ g.L}^{-1}$ d'arsénite avec un temps de génération de l'ordre de 2 jours. Une souche bactérienne chimiolithoautotrophe (NT-26) capable d'oxyder l'arsénite en arséniate a aussi été isolée d'un résidu issu d'une mine d'or du territoire nord-australien (Santini *et al.*, 2000). Elle serait apparentée à la branche des *Agrobacterium/Rhizobium* de la famille des α -Protéobactéries (analyse des séquences d'ADN ribosomal 16S).
- Réduction dissimilatrice $\text{As(V)} \rightarrow \text{As(III)}$. La réduction dissimilatrice de l'As(V) produit l'énergie nécessaire à la croissance des bactéries qui couple cette réduction à l'oxydation de composés organiques ou inorganiques (lactate, H_2). Ce mécanisme de transfert d'électrons est d'une importance majeure d'un point de vue biogéochimique, car il permet la réduction de l'As(V) associé à des phases solides et la libération d'As(III) dans les aquifères. Certaines bactéries réduisent aussi l'As(V) au cours d'un mécanisme d'excrétion de l'arsenic, ce qui leur permet de résister à cet élément, ce mécanisme de résistance est cependant peu fréquent dans l'environnement par rapport à la réduction dissimilatrice d'As(V). L'As(V)-réductase est elle aussi une enzyme hétérodimérique localisée dans le périplasme (Silver and Phung, 2005). Les deux sous-unités sont codées par les gènes *arraA* et *arrB*. Ces deux gènes sont également organisés en opéron (Saltikov and Newman,

2003). Par exemple, les bactéries sont capables d'utiliser As(V) comme accepteur d'électrons en présence d'une source de carbone comme le lactate :



La réduction dissimilatrice couplée au métabolisme de croissance est réalisée par des bactéries au niveau de la zone de transition aérobie-anaérobie des sédiments de lacs ou des sédiments marins, ou encore dans des sols sédimentaires ou d'eau douce, ce qui prouve la distribution très large de ce type de métabolisme (Dowdle *et al.*, 1996). Une dizaine de micro-organismes respirant l'arséniate ont été isolés d'environnements contaminés aux USA et en Australie (Stolz et Oremland, 1999). Les donneurs d'électrons suivants accélèrent la réduction de l'arsenic par les sédiments : l'hydrogène moléculaire, le lactate, le glucose et l'acétate dans une moindre mesure. La réduction des arsénates As(V) est réalisée préférentiellement par rapport à celle des sulfates.

1.3.5.3 Rôle indirect des bactéries : les bactéries ferri-réductrices et sulfato-réductrices

Les mécanismes bactériens influençant la mobilité de l'As peuvent aussi être indirects, le cycle et du soufre et celui du fer étant liés au cycle de l'As. Ainsi, certains microorganismes impliqués dans le cycle du soufre et/ou du fer vont avoir une incidence dans le cycle de l'arsenic. Les bactéries sulfato-réductrices et les bactéries ferri-réductrices sont les deux principales familles de bactéries pouvant jouer un indirect sur la mobilité de l'arsenic.

- Les bactéries sulfato-réductrices (BSR) sont anaérobies et couplent l'oxydation de composés organiques, comme le lactate ou l'acétate, avec la réduction des sulfates comme accepteurs d'électrons (Le Gall, 1975). Elles forment un groupe physiologiquement homogène mais phylogénétiquement disparate. Elles sont abondantes dans les environnements terrestres et aquatiques, notamment dans les sédiments. Deux groupes métaboliques peuvent être distingués : les BSR qui oxydent totalement le donneur d'électron en CO₂ et celles qui l'oxydent partiellement pour produire de l'acétate et du CO₂ (Marchal, 1999). La réduction dissimilative des sulfates est réalisée par une enzyme dimérique codée par les

gènes *dsrAB*. Cette réaction est fréquente dans les eaux présentant de fortes teneurs en sulfate et un potentiel red-ox faible (Geets *et al.*, 2005). Les produits formés (H_2S , HS^- , S^{2-}) peuvent ensuite se complexer avec l'As mais aussi avec le fer en solution. Dans les eaux réductrices et en absence de fer, des espèces solubles de sulfures d'As(III), les thio-arsenites, peuvent représenter la majorité des espèces d'As, en présence de concentrations élevées en ions sulfure (Wilkin *et al.*, 2003). Elles représentent par exemple une fraction majoritaire de l'As réduit dans la zone anoxique du lac Mono (CA, USA) (Hollibaugh *et al.*, 2005). Ces espèces chimiques aqueuses thioarsenites sont peu connues car elles sont instables. Les espèces du soufre (H_2S , HS^- , S^{2-}) provoquent aussi la réduction du Fe(III) solide des (hydr)oxydes de fer en Fe(II) (Poulton, 2003). Si ces phases ferriques sont porteuses d'As adsorbé, celui-ci peut être relâché en solution (Pedersen *et al.*, 2006).

- Certaines bactéries peuvent mettre en œuvre des phénomènes de dissolution qui sont des réactions concernant plus spécifiquement les minéraux, c'est le cas des bactéries ferri-réductrices (). Ces sont des aéro-anaérobies, mais en absence d' O_2 , elles utilisent le Fe(III) solide comme accepteur d'électrons. Elles sont retrouvées dans les sédiments d'aquifères, d'estuaires ou de sol (Cummings *et al.*, 1999). La réduction des (hydr)oxydes de fer porteurs d'arsenic peut entraîner également une libération de l'As en solution.

1.3.6 Résumé

Il existe un fort couplage entre les processus géochimiques abiotiques et les processus microbiens en ce qui concerne le cycle de l'arsenic dans les aquifères sédimentaires. Les deux phénomènes majeurs sur la mobilité de l'arsenic sont, d'une part les réactions d'adsorption/désorption sur les (hydr)oxydes de fer, d'autre part les interactions directes ou indirectes avec la communauté bactérienne présentes dans les sédiments, et notamment les bactéries ferri-réductrices et sulfato-réductrices présentes dans des zones confinées. L'étude du couplage entre les processus géochimiques abiotiques et les processus microbiens dans des expériences de laboratoire avec des conditions contrôlées apparaît donc comme une étape nécessaire pour évaluer la mobilité de l'arsenic dans les eaux souterraines du delta du Bengale.

1.4 Le delta du Bengale : une contamination à l'arsenic, naturelle et à grande échelle

Les eaux souterraines au Bengale Occidental, que ce soit les nappes peu profondes ou les nappes confinées plus profondes, ont longtemps été considérées comme une ressource en eau saine pour les populations locales, à l'opposé de nombreuses zones en Inde dont les eaux souterraines à faible profondeur étaient déclarées non potables. Depuis les années 1970, en raison d'une augmentation rapide de la demande en eau pour l'irrigation et de l'alimentation en eau potable, des millions de forages ont été creusés dans le bassin alluvionnaire de la plaine du Gange (Figure 3), c'est une conséquence de la révolution verte (« The Green Revolution »).

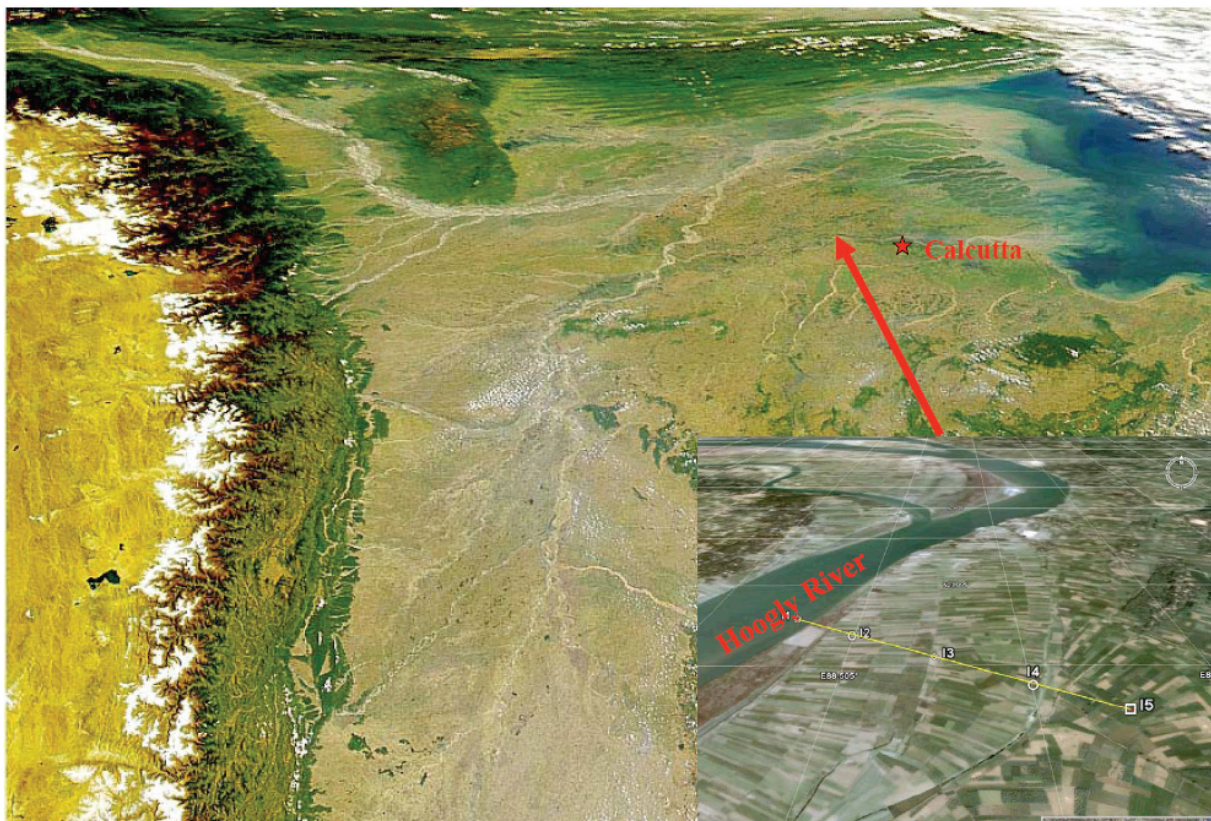


Figure 3: Map of the Bengal delta and of the study area with the Hooghly River transect at Chakdaha (India)

Il en a résulté une consommation massive de ces eaux souterraines. Malheureusement, ce que l'on appelle aujourd'hui le « bon état chimique » des eaux, n'avait pas été à l'époque

bien vérifié. Les concentrations élevées d'arsenic dans les eaux souterraines dans cette zone de l'Inde, de même que dans toute la zone de la plaine du delta du Bengale et notamment le Bangladesh, avec des valeurs pouvant atteindre $2000 \mu\text{g L}^{-1}$, n'ont donc pas été pendant longtemps connues des populations locales. La contamination à grande échelle des habitants de cette zone a été finalement découverte par les médecins sur place pour la première fois seulement au milieu des années 1980.

Aujourd'hui, ce ne sont pas moins de neuf districts du Bengale Occidental en Inde (Figure 4) qui présentent officiellement des « hautes concentrations » d'arsenic dans les eaux prélevées pour la boisson (Figure 5) et ce sont des millions de personnes (Yu *et al.*, 2003) qui sont ainsi exposés à un risque élevé d'une contamination chronique à l'arsenic par voie hydrique avec toutes les conséquences potentielles sur la santé publique décrites dans le chapitre 1.2.



Figure 4: Groundwater arsenic contamination status in West Bengal, India (till September 2006) (<http://www.soesju.org/arsenic/wb.htm>)



Figure 5: A rural handpump in India and a child playing with water

La source d'As dans les eaux souterraines du delta du Gange est d'origine naturelle et en grande partie limitée aux sédiments de la période géologique de l'Holocène (Bhattacharya *et al* , 1997 ; BGS and DPHE, 2001). Depuis la découverte de ces contaminations, plusieurs scénarii et modèles ont été proposés pour expliquer les processus de relargage de l'arsenic des sédiments dans la phase aqueuse :

- Certains scientifiques ont d'abord pensé à l'« hypothèse de l'oxydation » supposant que l'arsenic pouvait être libéré en grande quantité de la phase solide lors de l'oxydation des phases porteuses que ce soit l'arsénopyrite ou la pyrite arsénifère suite à l'abaissement du niveau de la nappe superficielle. Cette hypothèse ne peut pas expliquer cependant pourquoi le maximum de concentration d'arsenic dissous est atteint entre 15 et 20 m de profondeur. De plus, il n'a pas été observé une baisse du niveau de cette nappe superficielle à long terme. En outre, cette hypothèse n'explique pas pourquoi l'As ainsi libéré n'est pas ré-adsorbé sur des phases comme des (hydr)oxydes de fer qui ont une grande capacité d'adoption vis-à-vis de cet élément (cf. section 1.3.3).
- Une autre hypothèse est actuellement retenue par la majorité de la communauté scientifique : la dissolution réductrice d'(hydr)oxydes de fer serait à l'origine du

passage de l'arsenic de la phase solide à la phase aqueuse (Bhattacharya et al., 1997; Nickson et al., 2000; BGS and DPHE, 2001; Smedley and Kinniburgh, 2002). Bien que présents à un faible pourcentage dans ces sédiments, les (hydr)oxides de fer sont en effet des minéraux bien connus pour leur grande capacité à sorber l'arsenic (Jain and Loeppert, 2000). La réduction de ces phases porteuses peut entraîner plus ou moins directement la mise en solution de l'arsenic (Pedersen, 2006). Cette réduction du fer solide peut être une conséquence d'une activité bactérienne directe ou indirecte :

- Soit une réduction dissimilative du fer par des bactéries ferri-réductrices qui utilisent le fer comme accepteur d'électrons dans leur métabolisme (Figure 6)
- Soit une réduction chimique du fer par le sulfure d'hydrogène HS^- produit par des bactéries sulfato-réductrices

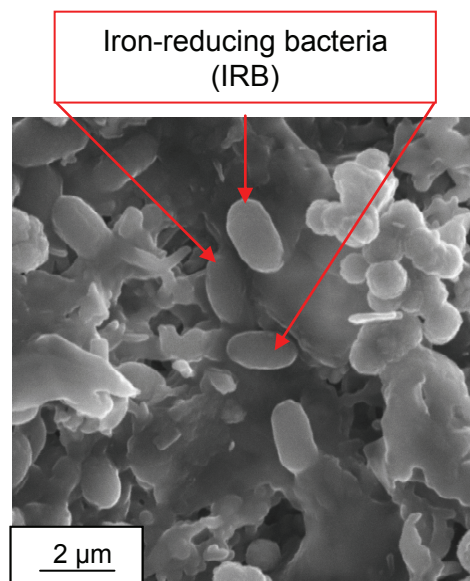


Figure 6: Ferrihydrite with iron reducing bacteria

Dans le cadre de cette thèse, différentes expériences seront mis en place afin de reproduire en laboratoire ces deux voies possibles de libération de l'arsenic en solution en présence de bactéries. L'étude dans les conditions contrôlées de laboratoire nous permettra de développer des modèles qui seront ensuite appliqués aux données de terrain du site d'étude de Chakdaha dans le Bengale Occidental (Inde).

2. Matériau et Méthodologie

2.1 Choix des (hydr)oxydes de fer de référence dopés à l'arsenic

Les oxydes de fer sont, au même titre que les oxydes d'aluminium ou de manganèse, les argiles ou encore les carbonates, des minéraux constitutifs des sédiments des aquifères du delta du Bengale. La capacité de piégeage d'éléments en traces (métaux lourds et métalloïdes) par ces constituants est très variable, il dépend notamment du pH et du potentiel d'oxydo-réduction Eh mais aussi des ions compétiteurs pour les sites de sorption.

Le fer, généralement très présent dans la matrice minérale des sols, joue un rôle prépondérant quant à la fixation d'éléments en traces. Présent sous forme d'oxydes et d'hydroxydes, il s'organise en nodules, concrétions ou pellicules à la surface des particules du sol, et constitue parfois un ciment, liant ces particules entre elles. Ces minéraux présentent une grande réactivité et de larges surfaces spécifiques. Ils jouent un rôle majeur dans les phénomènes de rétention au niveau des sols via les mécanismes principaux correspondant à l'adsorption par complexation de surface et à la co-précipitation (précipitation simultanée). La nature, le degré d'oxydation des éléments piégés mais aussi l'état de cristallinité des oxydes de fer sont des paramètres majeurs dans la compréhension des modes de piégeage et de leur efficacité.

Les oxydes de fer hydratés, faiblement cristallisés, de type ferrihydrite se présentent sous forme de petites particules colloïdales ou d'agglomérats avec un début d'organisation, à courte distance, identifiable en diffraction des rayons X par des bosses de diffusion diffuse. Le terme ferrihydrite se rapporte à deux oxydes de fer hydratés ou oxy-hydroxydes, mal cristallisés ; ils présentent 6 raies de diffusion diffuse (6L ferrihydrite) ou simplement deux raies pour les plus mal organisés 2L-ferrihydrite ou protoferrihydrite (Figure 7) (Schwertmann et Fisher, 1973). La ferrihydrite a été identifiée dans les milieux naturels comme les sols et les sédiments, et peut être synthétisée en laboratoire. Elle est très souvent utilisée comme adsorbant dans les expériences car c'est un matériau uniforme avec des propriétés de surface bien connues et facilement reproductibles. Ce sera pour cette raison le matériau de référence porteur d'arsenic dans l'ensemble de nos expériences.

Après de nombreuses controverses, la structure de la ferrihydrite (2L-Fh et 6L-Fh) qui diffère de celle des polymères aqueux intermédiaires a été modélisée par trois composantes correspondant à 3 types d'associations des octaèdres entre eux. La différence entre les deux ferrihydrites proviendrait essentiellement de la taille des domaines de cohérence, plus petits pour 2L-Fh (Drits et al. 1993). Récemment, l'identification structurale de la ferrihydrite a été poursuivie par Manceau et al. (1997) en s'intéressant aux sphères d'hydratation de la surface. Leur formulation n'a pas été clairement établie : $\text{Fe}_2\text{O}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}_5\text{HO}_8 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, $\text{Fe}_6\text{O}(\text{O}_4\text{H}_3)_3$, $\text{Fe}_2\text{O}_3 + \text{FeOOH} \cdot 2,6\text{H}_2\text{O}$ (Schwertmann et Fisher, 1991). Eggleton and Fitzpatrick (1988) donnent les formules brutes moyennes $\text{Fe}_4(\text{O},\text{OH},\text{H}_2\text{O})_{12}$ et $\text{Fe}_{4,6}(\text{O},\text{OH},\text{H}_2\text{O})_{12}$ pour 2L-Fh et 6L-Fh respectivement, synthétisés à partir de sels de nitrate.

Deux protocoles (adsorption et coprécipitation) ont été mis en œuvre pour synthétiser des échantillons d'oxydes de fer, de type ferrihydrite (noté 2L-Fh), dopés à l'arséniate As(V) à pH et température contrôlés (pH 6 ; $T = 25^\circ\text{C}$). Le même protocole d'adsorption a été utilisé pour synthétiser de la ferrihydrite dopée à l'arsénite As(III) par adsorption. Les protocoles sont adaptés de Fuller et al. (1993) et Wilkie et al. (1996) en utilisant des chlorures à la place des nitrates pour éviter de favoriser des bactéries utilisant le nitrate comme accepteur d'électrons. Les échantillons de 2L-Fh riches en arsenic adsorbé sont préparés en deux étapes qui consistent à précipiter dans un premier temps un sel de chlorure de fer en ferrihydrite à pH 6, puis lorsque l'équilibre est atteint à ajouter l'arséniate As(V) en solution. Les échantillons co-précipités sont préparés en une seule étape qui consiste à mettre en solution les sels de fer et d'arséniate avant d'élever le pH pour précipiter un solide mixte. Les solides obtenus selon les deux protocoles, récupérés par filtration sous forme de gâteau, présentent une humidité de l'ordre de 90 %. L'étape classique de centrifugation et de lavage à l'eau MilliQ pour éliminer les chlorures a été simplifiée, car contrairement aux nitrates leur présence ne perturbe pas l'activité bactérienne.

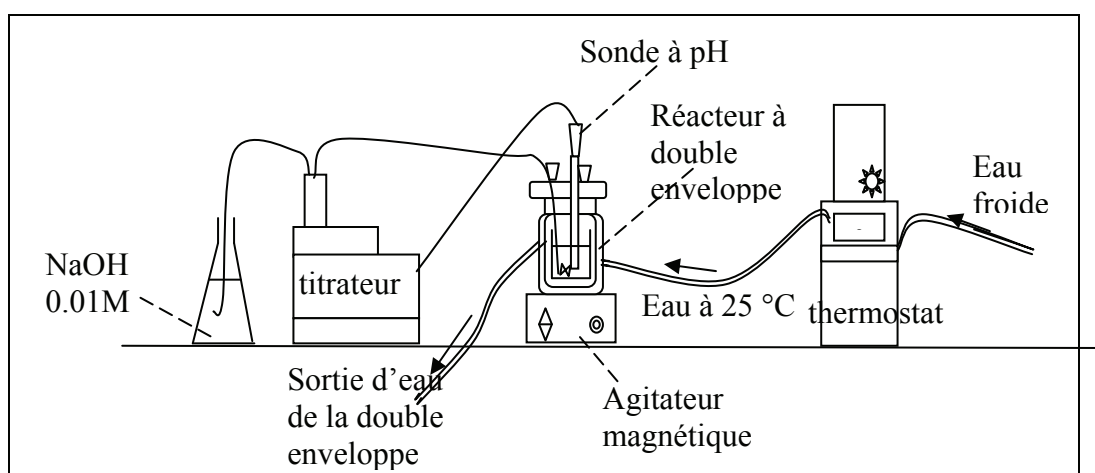
2.1.1 Protocole de synthèse de la ferrihydrite 2L avec sorption d'As(V)/As(III)

- Matériel
 - Réacteur à double enveloppe avec réacteur interne en PET de 2 L
 - Bain thermostaté
 - Moteur avec palle d'agitation en téflon
 - Electrode pH (à gel) (METTLER TOLEDO pH37, InLabo R 418)
 - Titrateur pour ajuster en continu le pH (METTLER DL21)

- Filtre 0,1 μm (SARTORIUS, nitrate de cellulose)
- Plate-forme pour mélanger (Innova 2000)
- Centrifugeuse CR412 JOUAN
- Seringues filtrantes à 0,1 μm en VVPP (téflon hydrophile) Durapore R

- Réactifs

- Sel de fer III : $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (270,30 g/mol) MERCK
- Sel d'As(V) : $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (311,9 g/mol) min 98.5% de pureté MERCK
- Oxyde d'As(III) : As_2O_3 (197,84 g/mol) PROLABO
- Solutions de HCl suprapur, HNO_3 à 65% suprapur (MERCK)
- Solution de NaOH 10M, 1M
- Eau MilliQ (résistivité > 18 $\text{M}\Omega/\text{cm}$)



- Introduction d'eau dans le réacteur en verre pour assurer le contact entre double enveloppe et réacteur interne en PET
- Mise en route de la circulation d'eau dans la double enveloppe du réacteur pour atteindre $T = 25 \pm 0,2$ °C.
- Préparation de la solution de Fe(III) :
 - Dans le réacteur, sous agitation, dissolution de 130 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ solide dans 1,3 L d'eau MilliQ (sur une base de masse finale de solide Fe(OH)_3 de 50 g)
 - Mesure du pH initial ($\text{pH} < 2$)
- Obtention de la ferrihydrite à pH 6 :

- titration manuelle par ajout de NaOH 10 M jusqu'à obtention du pH6 +0.2 unité pH (à titre indicatif, il faut 144 mL de NaOH 10M pour précipiter tout le fer sous forme $\text{Fe}(\text{OH})_3$).
- ajustement en continu à pH 6,0 (titrateur) avec NaOH 1M
- Mise à l'équilibre pendant 1 heure

(Etude de la performance de la précipitation – Prélèvement 5 mL à 1/2h, 1h, filtration 0,1 μm pour doser Fe en solution)

- Ajout de la solution d'arsenic As(V) ou As(III) avec pH ajusté à pH 6 :
 - Préparation séparément de 150 mL d'une solution d'As(V) par dissolution de 10,408 g de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ solide dans 150 cc d'eau MilliQ. (env. pH 8,7)
 - Préparation séparément de 187,5 mL d'une solution à 10 g As(III) L^{-1} par dissolution de As_2O_3 solide (pH ~ 5,32)
 - Ajustement à pH 6 puis introduction de la solution dans le réacteur.
- Analyse des quantités totales en Fe, As : prélèvement de 5 mL de pulpe et acidification par HNO_3 concentré pour doser Fe et As totaux.
- Mise à l'équilibre pendant 2 heures au total

(Etude de la performance de l'adsorption - Prélèvement 5 mL à 1h, 2h, filtration 0,1 μm pour doser Fe, As)

- Centrifugation 10min à 2200tr/min de la solution finale. Récupération d'une partie du surnageant que l'on filtre à 0,1 μm . Acidification d'une partie du filtrat avec HNO_3 concentré pour le dosage de As, Fe et non acidifié pour dosage Cl.
- Lavages :
 - Remise en suspension du culot avec environ 6000 mL d'eau MilliQ (répartition du culot en 4 avec 4x150 cc) remise en suspension (spatule) puis centrifugation pendant 10 min. Reprise 3 fois. Prélèvement pour analyses As, Fe, Cl
 - Récupération du culot humide pour essais biologiques (stockage au frigo)
- Analyse du filtrat et des eaux de lavage :

- As par spectroscopie d'absorption atomique four (gamme 5-60 $\mu\text{g/L}$) et flamme (gamme 5-50 mg/L), Fe total par colorimétrie (gamme 0,05-4 mg/L) et SAA flamme (gamme 1-100 mg/L) et Cl^- par chromatographie ionique (5-50 mg/L).
- Analyse du solide (culot) :
 - Mesure d'humidité à 105°C sur environ 2 g humide (environ 90% H_2O)
 - Attaque d'environ 2 g de culot humide, séché à 40°C (pour éviter départ As) par 8 mL d' HCl 5N pendant 4 heures à 50°C dans un tube scellé puis analyse de la solution obtenue (Fe, As).
 - Congélation puis lyophilisation de 2g humide pour analyse en DRX.

2.1.2 Protocole de synthèse de la ferrihydrite 2L co-précipitée avec As(V)

- Préparation de la solution de Fe(III) :
 - Directement dans le réacteur, sous agitation, dissolution de 130 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ solide dans 1,3 L d'eau MilliQ (sur une base de masse finale de solide $\text{Fe}(\text{OH})_3$ de 50 g)
 - Mesure du pH initial ($\text{pH} < 2$)
- Préparation de la solution d'arsenic As(V) :
 - Préparation séparément de 150 mL d'une solution d'As(V) par dissolution de 10,408 g de $\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ solide dans 150cc d'eau MilliQ. (pH 8,7)
 - Remarque : il n'est pas nécessaire d'ajuster le pH à ce stade
- Obtention du co-précipité à pH 6 :
 - Ajout de la solution de As(V) dans la solution de FeIII – Mesure du pH
 - Titration manuelle par ajout de NaOH 10 M jusqu'à obtention pH 6 + 0.1 unité pH
 - Ajustement précis et en continu à pH 6,00 grâce au titrateur avec NaOH 1M
- Analyse des quantités totales en Fe, As : prélèvement de 5 mL de pulpe et acidification par HNO_3 concentré pour doser Fe et As totaux.

- Mise à l'équilibre pendant 2 heures au total.

2.1.3 Stabilité du solide après 6 mois et après stérilisation

Les gels ferriques hydratés sont en général peu stables et tendent à évoluer vers des composés cristallisés plus stables thermodynamiquement. En fonction des conditions ($T^{\circ}\text{C}$, pH), la ferrihydrite peut évoluer plus ou moins rapidement vers de la goethite (α FeOOH) ou de l'hématite (α Fe₂O₃) qui représentent les oxydes cristallisés les plus présents dans l'environnement. On parle de vieillissement des gels ferriques. La structure de ces gels se décrit à partir d'octaèdres Fe(O,OH)₆ reliés par des arêtes pour former des double chaînes d'octaèdres. Les différents modes d'arrangement de ces double chaînes sont à l'origine de nombreux composés bien cristallisés (goethite, hématite, lepidocrocite, akaganéite). L'étape de nucléation ainsi que les mécanismes de croissance des espèces polycationiques formées tout au long de l'hydrolyse ont pu être précisés récemment grâce à la spectroscopie d'absorption des rayons X (XANES/EXAFS). L'environnement de l'ion Fe(III) en solution présente, pour tous les sels étudiés, une coordination octaédrique Fe(O,OH,OH₂)₆ (Combes et al., 1989). Par contre, la forme des espèces intermédiaires dépend des anions des sels de départ. Si les ligands faibles comme Cl⁻ et NO₃⁻ sont facilement exclus de la structure ferrique au cours de l'hydrolyse, il n'en est pas de même en présence d'anions phosphates (Masion et al. 1997, Rose et al. 1996, 1997), silicates. Notamment, PO₄³⁻, en fonction du rapport P/Fe peut bloquer le processus de polymérisation du fer au stade du dimère (Rose et al 1997). La présence d'ions arsénates AsO₄³⁻ auront le même effet inhibiteur que les phosphates sur la cristallisation de ces phases (Fuller and Waychunas, 1993).

Une analyse de l'humidité des composés et du pourcentage molaire d'arsenic par rapport au fer a ainsi été réalisée pour contrôler la cristallinité initialement, 6 mois après la synthèse et également après l'étape de stérilisation (Table 3). Les composés de synthèse sont stérilisés à l'autoclave en présence du milieu de culture (3 cycles avec une montée en température à 105°C pendant une heure à 24 heures d'intervalle).

Les résultats du Table 3 montrent que la ferrihydrite dopée avec de l'arsenic est stabilisée par la présence de cet élément quel que soit le protocole suivi (adsorption ou co-précipitation).

Table 3: 2LFh-As characterization, initial state and after 6 months

	AD-As(V)	CP-As(V)	AD-As(III)
Synthesis mechanism	Adsorption	Co-precipitation	Adsorption
Initial moisture content %	87.7 %	87.7 %	87.6 %
After 6 months moisture content %	82.4 %	-	85.6 %
Initial molar solid As/Fe (%) ¹	5.5	5.5	6.6
Initial solid As(III)/As (%) ¹	< 5	< 5	100
After 6 months solid As(III)/As (%) ¹	< 5	< 5	79.5
After 6 months solid composition ²	2LFh	2LFh	2LFh
After heat sterilization (100 °C)	2LFh	2LFh	-

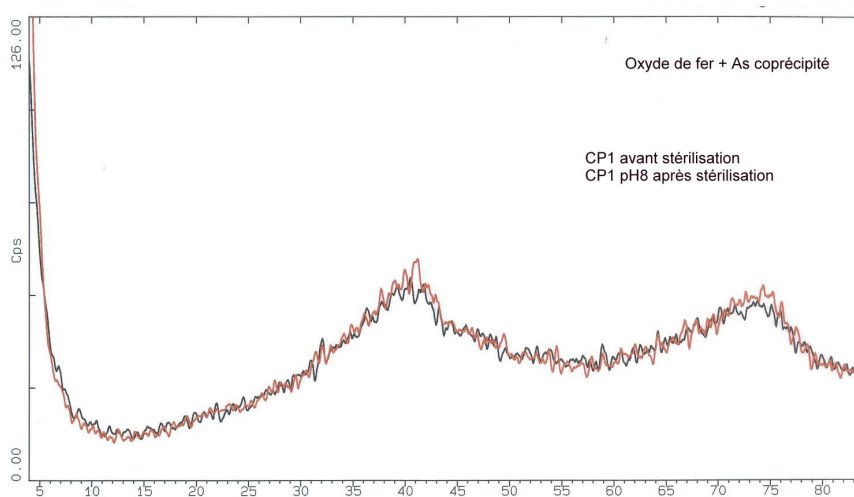
¹ From chemical extraction.² From XRD

Figure 7: XRD analysis of 2L-Fh with co-precipitated As(V) (CP) before and after sterilization step with high temperature

Les solides sont caractérisés par diffraction des rayons X (DRX) et par microscopie électronique à balayage (MEB). Cette étape de stérilisation avec une montée en température à 105 °C ne provoque pas la cristallisation des solides AD-As(V) ou CP-As(V) comme le montre l'analyse par DRX (Figure 7).

En ce qui concerne AD-As(III), un autre protocole de stérilisation qui ne devrait pas modifier *a priori* la cristallinité du solide, a été testé et validé : la stérilisation par irradiation. Au bout de 6 mois, une oxydation partielle de l'As(III) solide a été observée: environ 20 % de l'arsenic se trouve sous forme d'arséniate As(V) (Table 3).

2.2 Choix des différents codes de calcul et des données thermodynamiques

2.2.1 Revue bibliographique sur la modélisation des processus microbiens

La méthode classique pour modéliser les processus microbiens que ce soit les processus avec des accepteurs terminaux d'électrons (« terminal electron accepting processes TEAP») ou encore les processus fermentaires est basée sur des approches de type Monod ou Michaelis-Menten (Hunter et al., 1998) selon la loi cinétique suivante :

$$\nu = \nu_{\max} \left(\frac{[D]}{K_D + [D]} \right) \left(\frac{[A]}{K_A + [A]} \right)$$

avec ν (ν_{\max}) la vitesse (maximale) de la réaction enzymatique, $[D]$ la concentration du donneur d' e^- , $[A]$ la concentration de l'accepteur d' e^- , K_D (ou K_A) les constantes de Michaelis pour le donneur d' e^- (l'accepteur d' e^-). Ces constantes de Michaelis sont par définition les concentrations pour lesquelles la vitesse de la réaction enzymatique ν est divisée par deux par rapport à la vitesse maximale ν_{\max} .

Cette approche est cependant une simplification qui ne tient pas compte de la compétition exclusive entre différents accepteurs d'électrons et de l'impossibilité thermodynamique de certaines réactions. Le taux cinétique de la réaction modélisée via cette approche peut donc être positif alors que la réaction est impossible sans apport énergétique externe (réaction endergonique). Depuis une vingtaine d'années, il est apparu différentes approches en modélisation afin de coupler des lois purement cinétiques avec des contraintes

thermodynamiques, que soit dans une première étape de fermentation ou bien dans les processus avec des accepteurs terminaux d'électrons (TEAP), ou encore dans les deux étapes.

L'une des premières tentatives est celle publiée par Mc Nab et Narasimhan (1994) avec le modèle de déséquilibre partiel d'oxydoréduction (« partial redox disequilibrium »). Ce modèle consiste à considérer d'une part la dégradation de la matière organique à l'aide de cinétique du premier ordre alors que, d'autre part, les réactions chimiques inorganiques sont simulées avec des équilibres thermodynamiques. Cependant, dans cette approche, l'hydrogène H_2 n'est pas pris en compte en tant que produit intermédiaire et aucun seuil énergétique n'est considéré explicitement. Hoh et Cord-Ruwisch (1996) ont ajouté dans l'étape préliminaire des processus fermentaires produisant l'hydrogène un facteur multiplicatif Φ défini par l'équation suivante :

$$\nu^* = \nu \times \Phi \quad \text{avec} \quad \Phi = 1 - \frac{Q}{K}$$

avec Q le produit ionique des activités des réactifs et K la constante d'équilibre de la réaction produisant l'hydrogène. Si l'on considère l'énergie *in situ* biodisponible, c'est à dire l'enthalpie libre de la réaction chimique noté ΔG_r :

$$\Delta G_r = \Delta G_r^0 + RT \ln Q$$

avec R la constante des gaz parfaits ($8.314 \text{ J mol}^{-1} \text{ K}^{-1}$) et T la température absolue et ΔG_r^0 l'enthalpie libre standard de réaction. L'équilibre thermodynamique est atteint quand l'enthalpie libre de réaction est nulle $\Delta G_r = 0$ avec $Q = K$ par définition :

$$0 = \Delta G_r^0 + RT \ln K \quad \rightarrow \quad \Delta G_r = RT \ln \frac{Q}{K}$$

Le facteur multiplicatif thermodynamique Φ peut donc s'écrire en fonction de l'enthalpie libre de la réaction chimique :

$$\Phi = 1 - \frac{Q}{K} = 1 - \exp\left(\frac{\Delta G_r}{RT}\right)$$

Loin de l'équilibre, le modèle donne des résultats très proches du modèle de Michaelis-Menten car dans ce cas $\Phi \sim 1$. Fennel et Gosset (1998) ont utilisé une approche similaire en introduisant cependant un terme représentant une énergie minimale, ΔG_{crit} , qui est soustraite du terme d'énergie de Gibbs suivant l'équation suivante :

$$\Phi = 1 - \exp\left(\frac{\Delta G_r - \Delta G_{crit}}{RT}\right)$$

Le terme Φ est aussi un facteur multiplicatif du terme classique de Michaelis-Menten et dans ce cas l'équilibre est atteint quand $\Delta G_r = \Delta G_{crit}$. Dans ce modèle, le processus avec accepteur terminal d'électrons (qui est le PCE dans cet exemple) est simulé uniquement par une cinétique de type Michaelis-Menten sans le terme supplémentaire lié à enthalpie libre de la réaction chimique. Une concentration « seuil » pour l'hydrogène est cependant fixé pour pouvoir reproduire les résultats des expériences. Cette approche ne permet donc pas de tenir compte explicitement des contraintes énergétiques *in situ*. Quelques années plus tard, Liu et al. (2001) décrit la réduction bactérienne de la goethite avec le même type de loi que dans le modèle de fermentation de Fennel et Gosset (1998). L'idée d'une énergie critique ΔG_{crit} (« threshold energy limit») pour décrire les processus avec des accepteurs terminaux d'électrons est introduite également par Curtis et al. (2003) avec un modèle cinétique contraint énergétiquement (« energy limited kinetics ELK »). Ce modèle impose que le terme Φ est non nul tant que ΔG_r est plus négatif que ΔG_{crit} et nul sinon :

$$\begin{aligned}\Phi &= 1 - \exp\left(\frac{\Delta G_r - \Delta G_{crit}}{RT}\right) && \text{si } \Delta G_r \leq \Delta G_{crit} \\ \Phi &= 0 && \text{si } \Delta G_r > \Delta G_{crit}\end{aligned}$$

Ce terme Φ est un terme multiplicatif dans une loi cinétique de type Michaelis-Menten. De manière similaire, Jin et Bethke (2002, 2005) ont présenté des lois cinétiques avec un facteur F_T lié à la thermodynamique et équivalent au terme Φ (« thermodynamic potential factor TPF »). Ce facteur tient compte d'un contrôle énergétique lié au métabolisme des processus microbiens. Contrairement à Liu et al. (2001), le terme d'énergie minimale ΔG_{crit} n'est pas une valeur de calage obtenue expérimentalement mais une expression dépendant de contraintes énergétiques liées à la synthèse de l'ATP :

$$F_T = 1 - \exp\left(\frac{\Delta G_{redox} + m\Delta G_P}{\chi RT}\right)$$

avec ΔG_{redox} le changement d'énergie libre standard de Gibbs de la réaction d'oxydo-réduction, ΔG_P le potentiel de phosphorylation pour synthétiser ATP à partir de l'ADP et de P (~50 kJ par mole ATP environ), m le nombre de mole ATP synthétiser dans la réaction globale d'oxydo-réduction, χ le nombre stœchiométrique moyen pour la réaction d'oxydo-réduction globale qui correspond au nombre de fois où les protons traversent la membrane lors de la respiration cellulaire. Les bactéries peuvent conserver une part de l'énergie totale disponible ($-\Delta G_{redox}$) et la somme ($\Delta G_{redox} + m\Delta G_P$) est la variation d'énergie libre de la

réaction d'oxydo-réduction compte-tenu de la respiration microbienne. Par exemple pour la réaction de sulfato-réduction, Jin and Bethke (2005) propose de prendre $m=1/3$ et $\chi=2$ pour un transfert de $2 e^-$. Ces nombres m et χ dépendent cependant de la stœchiométrie de la réaction d'oxydo-réduction considérée, c'est-à-dire du nombre d' e^- transférés dans la réaction rédox.

Ces contraintes thermodynamiques ont aussi été incorporées dans les modèles de transport réactif. Brun and Engesgaard (2002) et Brun et al. (2002) séparent explicitement les réactions de la décomposition de la matière organique, d'une part l'hydrolyse et la fermentation simulée par une loi cinétique, d'autre part les autres réactions géochimiques dont les processus avec accepteurs terminaux d'électrons simulées à l'équilibre. Ce modèle à deux étapes (« two-step model ») correspond à ce qu'on appelle aussi l'approche à l'équilibre partiel (« partial equilibrium approach PEA»). Plus récemment, Jakobsen and Cold (2007) incorporent les seuils énergétiques directement dans les constantes d'équilibre de la base de données thermodynamiques. Ces logK effectifs sont ensuite utilisées par un code de spéciation comme par exemple PHREEQC. Une description de quelques codes de transport réactif couplés aux processus microbiens est donnée dans la Table 4.

Table 4: Review of existing coupled reactive transport and microbial processes codes

Reference	Microbial processes	Reactive transport code	Coupling method ¹	Biomass growth	Kinetics type ¹
Salvage et Yeh (1998)	BIOKEMOD	HBGC123D	one-step	Yes	Monod
Chilakapati (1998)	-	RAFT	one-step	Yes	Monod
Bethke (2002)	REACT	The Geochemist's Workbench	one-step	Yes	Monod and ELK
Prommer (2002)	PHREEQC	PHT3D	two-step (PEA)	Yes	Monod
Basberg and Engesgaard (1999)	PHREEQC	PHAST	two-step (PEA)	No	Zero Order

Reference	Microbial processes	Reactive transport code	Coupling method [†]	Biomass growth	Kinetics type [†]
Hunter (1998)	-	BIORXNTRN	two-step (only kinetics)	No	First Order
Brun et al. (2002)	-	-	two-step (PEA)	Yes	Monod
Curtis (2003)	-	RATEQ	two-step (PEA or kinetics)	No	Monod and ELK
Jakobsen and (2007)	PHREEQC	PHAST	two-step (PEA)	No	ELK

[†] see text : partial equilibrium approach (PEA), energy limited kinetics (ELK)

2.2.2 Cas particulier de la réduction de l'arséniate As(V) et du Fe(III) solide

Alors que la contrainte thermodynamique est un effet majeur lors de la réduction des sulfates ou lors de l'acétogenèse ou la méthanogenèse, ce facteur est *a priori* moins important pour les processus avec des accepteurs d'électrons plus énergétiques (« high energy TEAP »). La dénitrification par exemple est un cas à haute énergie dans lequel le contrôle thermodynamique ne semble pas s'exercer (Hoehler et al., 1998). Comme les énergies en jeu sont grandes par rapport aux besoins liés au métabolisme, les limitations contrôlant la réaction sont essentiellement d'ordre cinétique dans ce cas. Les réactions avec d'autres accepteurs d'électrons comme les oxydes de fer ou l'arséniate As(V) sont des réactions produisant des énergies moins importantes, des énergies dites intermédiaires (« intermediate energy TEAP »), pour lesquelles l'importance du facteur thermodynamique est moins claire. Par exemple, les cinétiques de réduction bactérienne des oxydes de fer semblent dépendre de la cristallinité de ces oxydes et donc de leur solubilité (Bonneville et al., 2004). En ce qui concerne la réduction d'arséniate As(V) en As(III), une étude récente montre que la contrainte thermodynamique ne semble pas jouer un rôle prédominant sur les concentrations en hydrogène H₂ (Heimann et al. 2007). Une récente comparaison du gain énergétique en fonction des différents donneurs d'e⁻ (H₂, acétate et lactate) et différents accepteurs d'e⁻ (ferrihydrite, goethite, hématite, sulfate) montre que la réduction de l'arséniate est en général

plus favorable énergétiquement dans les conditions géochimiques des aquifères de l'Asie du Sud-Est (Kocar et al., 2009).

2.2.3 Codes et bases thermodynamiques utilisés

2.2.3.1 The Geochemist's Workbench et la base LLNL

Le code utilisé dans les expériences avec réduction bactérienne de ferrihydrite 2LFh dopé avec l'arséniate As(V) (chapitre 3.1) est le code The Geochemist's Workbench développé par Bethke (2002). Comme il a été en effet dit dans la section 2.2.2, les processus avec Fe(III) ou As(V) comme accepteurs terminaux d'électrons sont des réactions à relativement haute énergie par rapport aux besoins énergétiques des bactéries et le facteur thermodynamique (« Thermodynamic Potential Factor ») ne semble donc pas prédominant dans ce cas. Si la réduction de Fe(III) et As(V) produit suffisamment d'énergie pour le métabolisme bactérien, il est cependant intéressant d'étudier laquelle de ces deux réactions apportera le plus d'énergie. En théorie en effet, le gain d'énergie de la réduction des accepteurs d'électrons couplée à l'oxydation des composés organiques doit être maximal pour permettre une croissance bactérienne optimale. La production et l'accumulation en solution de Fe(II) due à la réduction de la ferrihydrite induit en effet une baisse de gain énergétique ($-\Delta G_r$). Il existera alors une concentration seuil de Fe(II) en solution pour laquelle les deux potentiels redox seront égaux. Le facteur potentiel thermodynamique défini par Jin and Bethke (2005) (cf. section 2.2.1) n'a pas été utilisé sous sa forme standard mais sous une forme modifiée avec un terme prenant en compte l'évolution de la différence de potentiel redox entre les couples du fer et de l'arsenic (ce que j'ai appelé le « Redox Potential Factor »). Ce code a été choisi car il permet notamment de développer rapidement des cinétiques en langage MS Visual Basic. La base de données thermodynamiques utilisée est la base du LLNL (« Lawrence Livermore National Laboratory ») version 8, release 6 appelé « thermo.com.V8.R6+.dat ». Cependant, les données concernant la complexation de l'arsenic a été extraite d'une revue bibliographique faite par Whiting (1992). D'autres données concernant la sorption de différents compétiteurs possibles de l'arsenic (carbonates, phosphates ...) sur la ferrihydrite ont été choisies parmi les dernières valeurs publiées dans la littérature scientifique.

2.2.3.2 Visual Minteq et la base MinteqA2

Le code utilisé pour analyser les campagnes de terrain entre 2000 et 2002 à Chakdaha (Chapitre 4.1) est le code Visual Minteq. La spéciation des carbonates en fonction des cations, en particulier le fer en solution, a permis de déterminer précisément la $p\text{CO}_2$ et de tracer ensuite le diagramme $\text{pH} - p\text{CO}_2$ pour les points mesurés entre 2000 et 2002 et les comparer le domaine de stabilité des différents carbonates (sidérite, rhodochrosite ...). Afin que la base de données reste cohérente, il a été choisi de prendre la base de données thermodynamique associée appelé MinteqA2 version 4.0. Cette base de données, récemment mise à jour en 2003, est reconnue pour être plutôt complète et fiable en ce qui concerne les métaux et métalloïdes.

2.2.3.3 Phreeqc et la base Wateq4F

Le code utilisé pour simuler un profil 1D est le code de transport réactif Phreeqc. La base de donnée utilisée est la base Wateq4F qui contient notamment des données de spéciation de l'arsenic introduites récemment par Nordstrom and Archer (2002).

3. Expériences de laboratoires

3.1 Réduction de la ferrihydrite arséniée en présence de bactéries ferri-réductrices

“Decoupling of arsenic and iron release from ferrihydrite suspension under reducing conditions: a biogeochemical model ”

3.1.1 Avant-propos

Lors d'une première série d'expériences en réacteur, une ferrihydrite de synthèse dopée avec environ 5 % d'arséniates As(V) a été incubée avec une communauté de bactéries ferri-réductrices avec différents ratios solide sur liquide. La concentration du carbone organique (lactate et acétate) est toujours en excès afin d'éviter que la disponibilité du donneur d'électron n'affecte les cinétiques de réduction microbienne. La production de Fe(II) dissous mesurée régulièrement pendant les incubations nous a permis d'évaluer le taux de réduction microbienne d'un hydroxyde de fer riche en arsenic. En plus de cet aspect cinétique, la réduction bactérienne de ces particules peut être aussi limitée thermodynamiquement du fait de la bioénergétique : la production et l'accumulation en solution de Fe(II) due à la réduction du Fe(III) induit en effet une baisse de gain énergétique ($-\Delta G_r$) pour les micro-organismes. En théorie, le gain d'énergie de la réduction des accepteurs d'électrons couplée à l'oxydation des composés organiques doit être maximal pour permettre une croissance bactérienne optimale. J'ai évalué à l'aide d'un modèle le gain énergétique de la réduction des arséniates en arsénites par rapport à la réduction des nano-particules de ferrihydrite dans nos expériences. J'ai ensuite appliqué le même modèle énergétique à des données publiées par Islam et al. (Nature, 2004) avec des sédiments du Bengale Occidental incubés avec un ajout d'acétate (Islam et al., 2004). Ce modèle permet ainsi de simuler le découplage entre la libération du fer et de l'arsenic en solution observé sur le terrain et en laboratoire.

Decoupling of arsenic and iron release from ferrihydrite suspension under reducing conditions: a biogeochemical model

André Burnol^{1,3}, Francis Garrido¹, Philippe Baranger¹, Catherine Joulain¹, Marie-Christine Dictor¹, Françoise Bodéan¹, Guillaume Morin² and Laurent Charlet³

¹BRGM, Bureau de Recherches Géologiques et Minières, Environment and Process Division, 3, avenue Claude Guillemin, BP 6009, 45060 Orléans Cedex 2, France

²IMPMC, Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés (IMPMC), UMR 7590 – CNRS – Universités Paris 6&7 – IPGP, 140, rue de Lourmel, 75015 Paris, France

³Environmental Geochemistry Group, LGIT-OSUG, Grenoble University, 38041 Grenoble Cedex 9, France

Geochemical Transactions 2007, **8**:12doi:10.1186/1467-4866-8-12

The electronic version of this article is the complete one and can be found online at:

<http://www.geochemicaltransactions.com/content/8/1/12>

3.1.2 Abstract

High levels of arsenic in groundwater and drinking water are a major health problem. Although the processes controlling the release of As are still not well known, the reductive dissolution of As-rich Fe oxyhydroxides has so far been a favorite hypothesis. Decoupling between arsenic and iron redox transformations has been experimentally demonstrated, but not quantitatively interpreted. Here, we report on incubation batch experiments run with As(V) sorbed on, or co-precipitated with, 2-line ferrihydrite. The biotic and abiotic processes of As release were investigated by using wet chemistry, X-ray diffraction, X-ray absorption and genomic techniques. The incubation experiments were carried out with a phosphate-rich growth medium and a community of Fe(III)-reducing bacteria under strict anoxic conditions for two months. During the first month, the release of Fe(II) in the aqueous phase amounted to only 3% to 10% of the total initial solid Fe concentration, whilst the total aqueous As remained almost constant after an initial exchange with phosphate ions. During the second

month, the aqueous Fe(II) concentration remained constant, or even decreased, whereas the total quantity of As released to the solution accounted for 14% to 45% of the total initial solid As concentration. At the end of the incubation, the aqueous-phase arsenic was present predominately as As(III) whilst X-ray absorption spectroscopy indicated that more than 70% of the solid-phase arsenic was present as As(V). X-ray diffraction revealed vivianite $\text{Fe(II)}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ in some of the experiments. A biogeochemical model was then developed to simulate these aqueous- and solid-phase results. The two main conclusions drawn from the model are that (1) As(V) is not reduced during the first incubation month with high Eh values, but rather re-adsorbed onto the ferrihydrite surface, and this state remains until arsenic reduction is energetically more favorable than iron reduction, and (2) the release of As during the second month is due to its reduction to the more weakly adsorbed As(III) which cannot compete against carbonate ions for sorption onto ferrihydrite. The model was also successfully applied to recent experimental results on the release of arsenic from Bengal delta sediments.

3.1.3 Background

High concentrations of arsenic in natural waters represent a major health problem for humans in many places around the world [1], and particularly in South Asia (West Bengal, Bangladesh) where tens, and possibly hundreds, of millions of people consume groundwater containing arsenic levels exceeding the $10 \mu\text{gL}^{-1}$ guideline value defined by the World Health Organization [2]. The processes controlling the solubilization of arsenic have been studied intensively over the last decade [3-6], but still remain a subject of debate [7]. For the Bangladesh and West Bengal aquifers, however, the most widely accepted mechanism for the cause of high aqueous arsenic concentrations is the microbial reductive dissolution of iron oxyhydroxides and concomitant release of arsenic.

The abiotic and biotic processes which could lead to the mobilization of iron-associated arsenic may be intimately coupled. An indirect mechanism of biotic As(V) release has been reported in experiments with synthetic scorodite $\text{Fe(III)AsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ in the presence of Fe(III)-respiring *Shewanella Alga*, although this organism did not reduce As(V) [8]. Conversely, an arsenic-resistant *Clostridium*, CN8, is capable of reducing As(V) but not Fe(III) in ferrihydrite, or As(V) adsorbed on ferrihydrite [9]. A direct mechanism of arsenic mobilization has been reported from experiments with As-rich ferrihydrite in the presence of *Sulfurospirillum barnesii*, a bacterium that respire both As(V) and Fe(III) [10]. The authors

report the ability of this microorganism to reduce As(V) adsorbed on synthetic ferrihydrite. Only a single strain was used in these experiments, and the key question concerning the role of a diverse community of dissimilatory iron-reducing bacteria (DIRB) in arsenic release was left unanswered.

Recent observations on the incubation of Bengal delta sediments have demonstrated that anaerobic metal-reducing bacteria can play a key role in the mobilization of arsenic. Moreover, the incubation experiments revealed that arsenic and iron release can be decoupled: most of the leachable arsenic, but only a small fraction of the leachable iron, can be released over a 2-month period [11] and arsenic release can appear after Fe(III) reduction, rather than simultaneously [12].

In this paper, we investigate the release of arsenic sorbed on or co-precipitated with iron oxyhydroxides, and more specifically the question of the uncorrelated release of dissolved Fe and As observed both in the laboratory [12] and in the field [13-15]. We discuss the results of batch experiments on the bacterial reduction of synthetic As-rich 2-line ferrihydrite (As-2LFh) by an Fe(III)-reducing bacterial community (FR) that was obtained by enrichment from a soil containing high concentrations of heavy metals (See Additional File 1). The experiments, using microbiology in combination with aqueous- and solid-phase speciation analysis, were carried out under controlled anoxic laboratory conditions over a period of two months.

The objectives of the study were to (1) investigate abiotic and biotic processes in the release of arsenic sorbed on or co-precipitated with ferrihydrite, (2) compare the results with recent observations on the decoupling of As and Fe release after incubation of Bengal Delta Plain sediments [12], and (3) evaluate different explanations of the As release using a biogeochemical model.

3.1.4 Methods

3.1.4.1 Incubation experiments with As-2LFh

The protocols for obtaining synthetic arsenate-doped 2-line ferrihydrite by adsorption (initial AD samples) or co precipitation (initial CP samples) were adapted from standard methods [16,17]. Chlorinated salts were preferred over ferric nitrates in order to avoid any use of nitrates as a growth electron acceptor by bacteria. The conventional steps of centrifugation and washing with MilliQ water to remove chlorides were simplified. A first 0.36 M FeCl₃ solution (10 L at pH < 2) was prepared in a continuously stirred reactor and labeled "Solution

A", and a second 0.22 M Na_2HAsO_4 solution (600 ml at pH 8.7) was prepared and labeled "Solution B". The initial AD samples were prepared by adding an appropriate amount of 10 M NaOH solution to 5 L of the continuously stirred Solution A so as to obtain a pH of ~6 and precipitate the hydrous ferric oxide (2LFh). The pH was then maintained constant by automatic titration (Mettler DL21) with a 1 M NaOH solution, and equilibrated for 1 hour. The next step was to add 300 mL of Solution B, regulated to pH ~6 by the addition of a 1 M HCl solution, and continuously stir the mixture for 2 hours. The initial CP samples were prepared by adding 300 mL of Solution B to 5 L of continuously stirred Solution A (at pH 2). The co-precipitation of As-2LFh was achieved by neutralizing this mixture to pH 6, using an appropriate amount of 10 M NaOH. The pH was then maintained constant by automatic titration with a 1 M NaOH solution and equilibrated for 2 hours.

In both preparations, the solids were washed twice with 1 L of deionized water and recovered by Büchner filtration. The initial AD and CP solids had a moisture content of about 85–90 wt.% and were stored at 4°C until used. The As/Fe molar ratio in the freeze-dried solids was about 5.5% (Table 1) as measured after hot HCl extraction [18].

Table 1. Solids characterization using hot HCl extraction, XRD and XANES for all experiments at 0 day (initial), 21 days and 63 days (n.d.: no data).

	AD1	CP1	AD5	CP5
Synthesis mechanism	Adsorption	Co-precipitation	Adsorption	Co-precipitation
Initial solid As (mM) ¹	0.17	0.17	0.84	0.84
Initial solid Fe (mM) ¹	3.06	3.06	15.3	15.3
Initial molar solid As/Fe (%) ¹	5.48	5.48	5.55	5.55
Initial solid As(III)/As (%) ²	< 5	< 5	< 5	< 5
After 21 days solid As(III)/As (%) ²	9	8	n.d.	n.d.
After 63 days solid As(III)/As (%) ²	16	n.d.	29	n.d.
Initial solid composition ³	2LFh	2LFh	2LFh	2LFh

	AD1	CP1	AD5	CP5
After 21 days solid composition ³	2LFh	2LFh	2LFh	2LFh
After 63 days solid composition ³	2LFh, Vivianite, Bobierite	2LFh, Vivianite	2LFh	2LFh

¹ From hot HCl extraction.

² From XANES (accuracy on the molar As(III)/As ratio is $\pm 3\%$).

³ From XRD.

The AD and CP experiments consisted in incubating various amounts of As-2LFh in a growth medium both with and without FR. The experiments were conducted under sterile conditions (three 100°C cycles of one hour at 24-hour intervals) in 600 mL plasma flasks under a CO₂ atmosphere at 20 °C with continuous stirring for about two months. For the biotic experiments, 50 mL of FR inoculum were added to 450 mL of a selective liquid medium called CAsR1; this growth medium had been used previously for growing arsenic-reducing bacteria [19] and the composition is described in Additional File 1. All biotic experiments were performed in duplicate. The same experiments with 500 mL of culture medium CAsR1, but without bacteria, served as control.

Experiments AD1 and CP1 were essentially identical and used 3.1 mM Fe and 0.17 mM As (respectively adsorbed or co-precipitated). Experiments AD5 and CP5 used 15.3 mM Fe and 0.84 mM As (respectively adsorbed or co-precipitated; see Table 1).

3.1.4.2 Sampling and analysis

The supernatant in all the experiments was sampled (10 mL) weekly with a syringe under anaerobic conditions. After filtration at 0.1 µm and acidification with HCl, total iron was analyzed by Atomic Absorption Spectrometry (AAS) (Varian SpectrAA 300 Zeeman) with a detection limit of 0.06 mg L⁻¹. The Fe(II) concentration was measured colorimetrically with the ferrozine reagent using an Agilent 8453E UV-Visible [20]. An aliquot of the filtered sample was immediately passed through an anionic exchange column that retains As(V) but not As(III) [21] and, after acidification, analyzed by AAS with a detection limit of 5 µg L⁻¹.

The solid concentrations of contained Fe and As were measured after hot HCl extraction [18] and are listed in Table 1. The solid phases were recovered by centrifugation (Jouan CR412, 15 minutes at 6000 rpm) and freeze-dried. The dry solids were maintained under anaerobic conditions until mineralogical characterization.

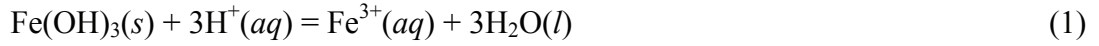
Microscopic observations and qualitative analyses were performed at the University of Orléans using a Philips CM20 Transmission Electron Microscope (TEM) with a CCD Gatan camera at 200 kV. The TEM samples were prepared by dispersing the powdered samples in alcohol by ultrasonic treatment, dropping them onto a porous carbon film supported on a copper grid, and then drying them in air. Crystalline phases were determined by X-ray powder diffraction (XRD), the XRD data being analyzed using a diffractometer with a Bragg Brentano geometry (Siemens D5000) equipped with a monochromator and based on cobalt $K_{\alpha 1}$ radiation ($\lambda = 1.78897 \text{ \AA}$). Acquisition time for the XRD patterns in the $4-84^{\circ}2\theta$ interval was set at one second per $0.02^{\circ}2\theta$ step (= 1 hour) for rotating samples. The crystalline phases were then identified using Diffrac-AT software in conjunction with the Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDS) database. Samples were loaded on aluminum plates.

The arsenic oxidation state was measured by X-ray Absorption Near Edge Spectroscopy (XANES), using the procedure described by Morin *et al.* [22]. The data were recorded at the As K-edge (11859 eV) at room temperature in transmission mode on the D44 bending-magnet beamline at the LURE (Orsay, France). A Si(511) double-crystal monochromator yielded an energy resolution of approximately 0.5 eV, the energy being calibrated by a double-transmission setup using an Au foil as reference. Summing 6 scans for each sample yielded reliable signal/noise ratios. Proportions of As(III) and As(V) were determined by linear least squares fitting of the XANES spectra using the spectra of two relevant model compounds, cpp3 and cpp5, consisting of Fe(III)-As(III) and Fe(III)-As(V) amorphous hydroxides, respectively. Absolute accuracy on the As(III)/As(total) ratio was $\pm 3\%$ [22]. According to this calibration procedure, components lower than 5% are not significant. The absence of As(III) oxidation due to the X-ray beam was checked by replicating the spectra at the same points. Taking into account what it is known about the photo-oxidation of As(III) onto iron oxides, only a very weak oxidation was expected in these samples because of the high As/Fe molar ratio (about 5.5%). Moreover, in contrast to the new generation of beamlines, the intensity of the LURE (Orsay) beam was quite low.

Total bacteria were counted under an optical light microscope (Nikon, with magnification $\times 400$) using a Thoma cell. The isolation and identification of pure strains from the FR community with phylogenetic characterization are described in Additional File 1.

3.1.4.3 Thermodynamic and kinetic modeling

When redox reactions proceed under thermodynamic equilibrium, the solubility of an Fe(III) oxyhydroxide can be obtained by measuring the redox potential Eh of the suspension. Taking, for example, pure Fe(III) oxyhydroxide



and combining this with the redox half-reaction



we obtain the redox potential Eh (in mV):

$$E_H(\text{Fe}) = 59 \times \left(\log(K_{sp}K_{red}) - 3pH - \log a_{\text{Fe}^{2+}} \right) \quad (3)$$

where K_{sp} is the solubility product for Eq. (1), K_{red} ($= 10^{13.05}$ at 25 °C) the equilibrium constant for Eq. (2), and $a_{\text{Fe}^{2+}}$ the activity of aqueous ferrous iron.

When the crystal grain is infinitely large, the solubility product K_{sp} can approximate the crystal solubility K_{so} . In the case of small particles with a large surface, the solubility K_{so} of the particles is highly dependent on the surface energy [23]:

$$\log K_{so} = \log K_{sp} + \frac{2}{3} \alpha V \frac{1}{\ln(10)RT} \frac{\gamma_S}{2r} \quad (4)$$

where α is a geometric factor of the nucleus (e.g. $\alpha = 3$ for a sphere), r the radius of a spherical particle, V the molar volume (m^3/mol), R the ideal gas constant (J/K/mol), T the temperature (K), and γ_S the mean surface free energy (surface tension in J/m^2).

The surface tension γ_S can be regarded as the total surface energy divided by the total surface area of the crystal grain. Although this relationship has only been established for colloidal particles, it is assumed that it also holds for nano-particles. The radius of the particles and the associated size-dependent term of the solubility depend in turn on the procedure followed to synthesize the solid (e.g. on aging time, impurities, etc.). In a suspension containing As-rich ferrihydrite, the redox potential (in mV) imposed by the Fe(III)/Fe(II) couple between pH 5 and 9 is given by:

$$E_H(Fe) = 59 \times \left(\log(*K_{so}K_{red}) - 3pH - \log a_{Fe^{2+}} \right) \quad (5)$$

where $*K_{so}$ is the solubility of As-rich ferrihydrite.

The redox potential imposed by the As(V)/As(III) couple between pH 5 and 6.96 is similarly given by the equilibrium between $H_2AsO_4^-$ and H_3AsO_3 :

$$E_H(As) = 59 \times \left(\frac{1}{2} \log K_1 - \frac{3}{2} pH + \frac{1}{2} \log \left(\frac{a_{H_2AsO_4^-}}{a_{H_3AsO_3}} \right) \right) \text{ if } pH < 6.96 \quad (6)$$

where $K_1 (= 10^{21.76}$ at $25^\circ C$) is the reduction reaction constant of $H_2AsO_4^-$ to H_3AsO_3 .

At pH above 6.96, the same redox potential is given by the equilibrium between $HAsO_4^{2-}$ and H_3AsO_3 :

$$E_H(As) = 59 \times \left(\frac{1}{2} \log K_2 - 2pH + \frac{1}{2} \log \left(\frac{a_{HAsO_4^{2-}}}{a_{H_3AsO_3}} \right) \right) \text{ if } pH > 6.96 \quad (7)$$

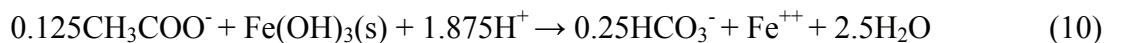
where $K_2 (= 10^{28.7}$ at $25^\circ C$) is the reduction reaction constant of $HAsO_4^{2-}$ into H_3AsO_3 .

The threshold Fe^{2+} activity (called Fe_{cr}) for which $E_H(Fe)$ and $E_H(As)$ are equal, is given between pH 5 and pH 9 by:

$$\log Fe_{cr} = \log \frac{K_{red} * K_{so}}{K_1^{0.5}} - \frac{3}{2} pH - \frac{1}{2} \log \left(\frac{a_{H_2AsO_4^-}}{a_{H_3AsO_3}} \right) \text{ if } pH < 6.96 \quad (8)$$

$$\log Fe_{cr} = \log \frac{K_{red} * K_{so}}{K_2^{0.5}} - pH - \frac{1}{2} \log \left(\frac{a_{HAsO_4^{2-}}}{a_{H_3AsO_3}} \right) \text{ if } pH > 6.96 \quad (9)$$

Assuming that the redox reactions proceed under kinetic constraints due to microbial activities rather than thermodynamic equilibrium, the successive use of terminal electron acceptors can be rationalized in terms of the redox reaction energy yields [24]. When initial $E_H(As)$ is lower than initial $E_H(Fe)$ then As-rich ferrihydrite is initially more susceptible to bacterial reduction than aqueous As(V) [12]. The bacterial reductive dissolution of ferrihydrite could first occur according to the reaction:

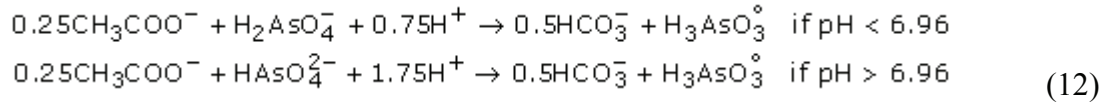


at a rate R_1 given by the law:

$$R_1 = v_{\max} N \frac{[Fe(III)]}{K_m + [Fe(III)]} RPF \quad RPF = 1 - \frac{a_{Fe^{2+}}}{Fe_{cr}} \quad (11)$$

where v_{\max} is the maximum specific Fe(III) reduction rate per cell, N the cell density for the biomass 1 in cells mL^{-1} , K_m the half saturation constant in mM, $[Fe(III)]$ the substrate concentration in mM, and RPF the Redox Potential Factor with Fe_{cr} the maximum value of $Fe^{2+}(aq)$ activity calculated by Eq. (8) or (9).

The first term in the equation (11) predicts that DIRB will continue to metabolize until the concentration of the Fe(III) substrate vanishes (Monod empirical law). The second term of this rate law (RPF) gives an energetic explanation for a threshold phenomenon [25,26]: when the RPF is lower than a threshold value (e.g. $RPF = 0.1$), the bacterial reduction of As(V) in solution could also occur according to the redox reaction:



at a rate R_2 which is equal to zero if $RPF > 0.1$ and which otherwise is given by:

$$\begin{aligned} R_2 &= v_{\max}^* N^* \frac{(H_2AsO_4^-)}{K_m^* + (H_2AsO_4^-)} RPF^* \quad \text{if pH} < 6.96 \\ R_2 &= v_{\max}^* N^* \frac{(HAsO_4^{2-})}{K_m^* + (HAsO_4^{2-})} RPF^* \quad \text{if pH} > 6.96 \end{aligned} \quad RPF^* = \left(1 - \frac{a_{H_3AsO_3}}{As_{\max}}\right) \quad (13)$$

where v_{\max}^* is the maximum specific As(V) reduction rate per cell, N^* is the cell density for the biomass 2 in cells mL^{-1} , K_m^* is the half saturation in mM, $(H_2AsO_4^-)$ and $(HAsO_4^{2-})$ are the concentrations of As(V) in mM, and RPF^* is the Redox Potential Factor with As_{\max} a maximum activity of H_3AsO_3 .

It should be noted here that bacterial reaction in the model is assumed to proceed only in the forward direction; the case in which aqueous Fe(II) decreases after an initial increase, which should stop As(V) reduction ($RPF > 0.1$), is not be considered.

Interactions between aqueous species and the solid are described by a two-layer surface complexation model [27] with two types of adsorption site being considered, $\equiv(s)FeOH$ and $\equiv(w)FeOH$ for strong and weak sites, respectively. The two sites are assumed to have equal

acid-base intrinsic constants and different affinities for sorbate ions (Table 2). Recommended site densities used for HFO, which has a surface area of about $600 \text{ m}^2\text{g}^{-1}$, are 0.005 mol/mol Fe for $\equiv(\text{s})\text{FeOH}$ and 0.2 mol/mol Fe for $\equiv(\text{w})\text{FeOH}$ [27]. These densities are based on maximum sorption densities, although there are substantial discrepancies in estimates of the maximum sorption density on HFO for arsenic. Adsorption maxima of 0.31, 0.4 and $0.6 \text{ mol As (mol Fe)}^{-1}$ have been achieved for As(III), and $0.25 \text{ mol As (mol Fe)}^{-1}$ for As(V) [28,29]. It should be noted that Dixit and Hering [30] recently observed an increase of 0.4 mol As(III) per mol Fe(II) adsorbed. Here we used a value of 0.4 mol/mol Fe for weak sites concentration in the modeling of our high As/Fe molar ratio experiments and 0.2 mol/mol Fe in the modeling of Bengali sediments experiments with a lower As/Fe molar ratio. This sorption site concentration decreases linearly with the solid Fe concentration.

Table 2. Complexation reactions with the constants used in the model

Aqueous and surface reactions	log K (I = 0 M, 25°C)	Reference
$\text{H}_3\text{AsO}_4^\circ = \text{H}_2\text{AsO}_4^- + \text{H}^+$	-2.25	[32]
$\text{H}_2\text{AsO}_4^- = \text{HAsO}_4^{2-} + \text{H}^+$	-6.96	[32]
$\text{HAsO}_4^{2-} = \text{AsO}_4^{3-} + \text{H}^+$	-11.5	[32]
$\text{FeH}_2\text{AsO}_4^+ = \text{H}_2\text{AsO}_4^- + \text{Fe}^{2+}$	-2.86	[32]
$\text{FeHAsO}_4^\circ + \text{H}^+ = \text{H}_2\text{AsO}_4^- + \text{Fe}^{2+}$	3.42	[32]
$\text{FeAsO}_4^- + 2\text{H}^+ = \text{H}_2\text{AsO}_4^- + \text{Fe}^{2+}$	11.04	[32]
$\text{H}_3\text{AsO}_3^\circ = \text{H}_2\text{AsO}_3^- + \text{H}^+$	-9.22	[33]
$\text{H}_2\text{AsO}_3^- = \text{HAsO}_3^{2-} + \text{H}^+$	-12.11	[33]
$\text{HAsO}_3^{2-} = \text{AsO}_3^{3-} + \text{H}^+$	-13.41	[33]
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeOH}_2^+$	7.29	[27]
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} = \equiv(\text{w})\text{FeO}^- + \text{H}^+$	-8.93	[27]
$\equiv(\text{s})\text{FeOH} + \text{H}^+ = \equiv(\text{s})\text{FeOH}_2^+$	7.29	[27]
$\equiv(\text{s})\text{FeOH} = \equiv(\text{s})\text{FeO}^- + \text{H}^+$	-8.93	[27]
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{AsO}_4^{3-} + 3\text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeH}_2\text{AsO}_4 + \text{H}_2\text{O}$	29.88	[28]
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{AsO}_4^{3-} + 2\text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeHAsO}_4^- + \text{H}_2\text{O}$	24.43	[28]

Aqueous and surface reactions	log K (I = 0 M, 25°C)	Reference
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{AsO}_4^{3-} + \text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeAsO}_4^{2-} + \text{H}_2\text{O}$	18.10	[28]
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{AsO}_3^{3-} + 3\text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeH}_2\text{AsO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	38.76	[28]
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{AsO}_3^{3-} + 2\text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeHASO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$	31.87	[28]
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{CO}_3^{2-} + \text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeOCO}_2^- + \text{H}_2\text{O}$	12.78	[34]
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeOCO}_2\text{H} + \text{H}_2\text{O}$	20.37	[34]
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{Fe}^{2+} = \equiv(\text{w})\text{FeOFe}^+ + \text{H}^+$	-2.98	[34]
$\equiv(\text{s})\text{FeOH} + \text{Fe}^{2+} = \equiv(\text{s})\text{FeOFe}^+ + \text{H}^+$	-0.95	[34]

Modeling geochemical speciation, sorption and microbial reactions was done with the program REACT included in the Geochemist's Workbench[®] Release 4.0.3 [31]. Activity coefficients in REACT were calculated using the Debye Hückel law (at an ionic strength of about 0.04 M). Aqueous reaction constants used for thermodynamic calculations are the values included in the LLNL version 8, release 6 dataset (called "thermo.com.V8.R6+.dat" by REACT), except for some arsenate and arsenite complexes listed in Table 2. The protonation and ferrous complexation constants of arsenate were recommended by Whiting (1992) as a result of a literature research [32]. The protonation constants of arsenite, being consistent with the sorption data calculated by Dixit and Hering [28], were extracted from the MINEQL V4.5 database [33]. The equilibrium sorption constants used in REACT are based on data reported by Dzombak and Morel (1990) [27], apart from more recent data for arsenate As(V) and arsenite As(III) [28] and for ferrous iron Fe(II) and carbonate species [34], which are listed in Table 2.

3.1.5 Experimental results

3.1.5.1 Iron speciation

The XRD diagrams show that As-2LFh synthesized in the laboratory corresponds to 2-line ferrihydrite, clearly characterized by two diffuse bands at 2.55 and 1.45 Å. The As-2LFh sterilization step in the culture medium at 100 °C had no measurable effect on the crystallinity of the solid. Moreover, most of the solids after two months of incubation were still 2-line ferrihydrite. Vivianite $\text{Fe}(\text{II})_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ was also clearly identified by X-ray diffraction

analysis, but to a lesser extent and only after the second month of experiments AD1 and CP1 with FR (Table 1). A close association between vivianite and 2-line ferrihydrite in experiment CP1 with FR was noted from Scanning Transmission Electron Microscopy observations (Fig. 1). No green-rust or magnetite was identified, but bobierite $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ was characterized in experiment AD1.

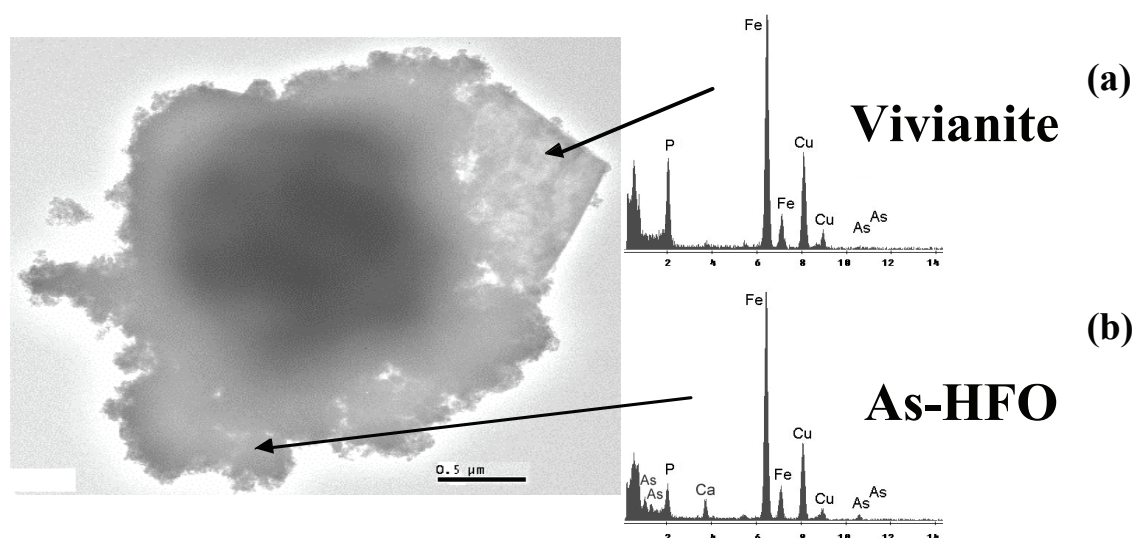


Figure 1. TEM image in CP1 experiment with FR after 2 months. Scale bar = 0.5 μm . EDS insets indicate two kinds of Fe-minerals: (a) Vivianite crystal with high amounts of Fe and P, (b) 2LFh containing minor amounts of As, P and Ca.

Iron concentrations in the aqueous phase were monitored during the incubations under strict anaerobiosis at initial pH ~ 6 , both with and without inoculation of FR.

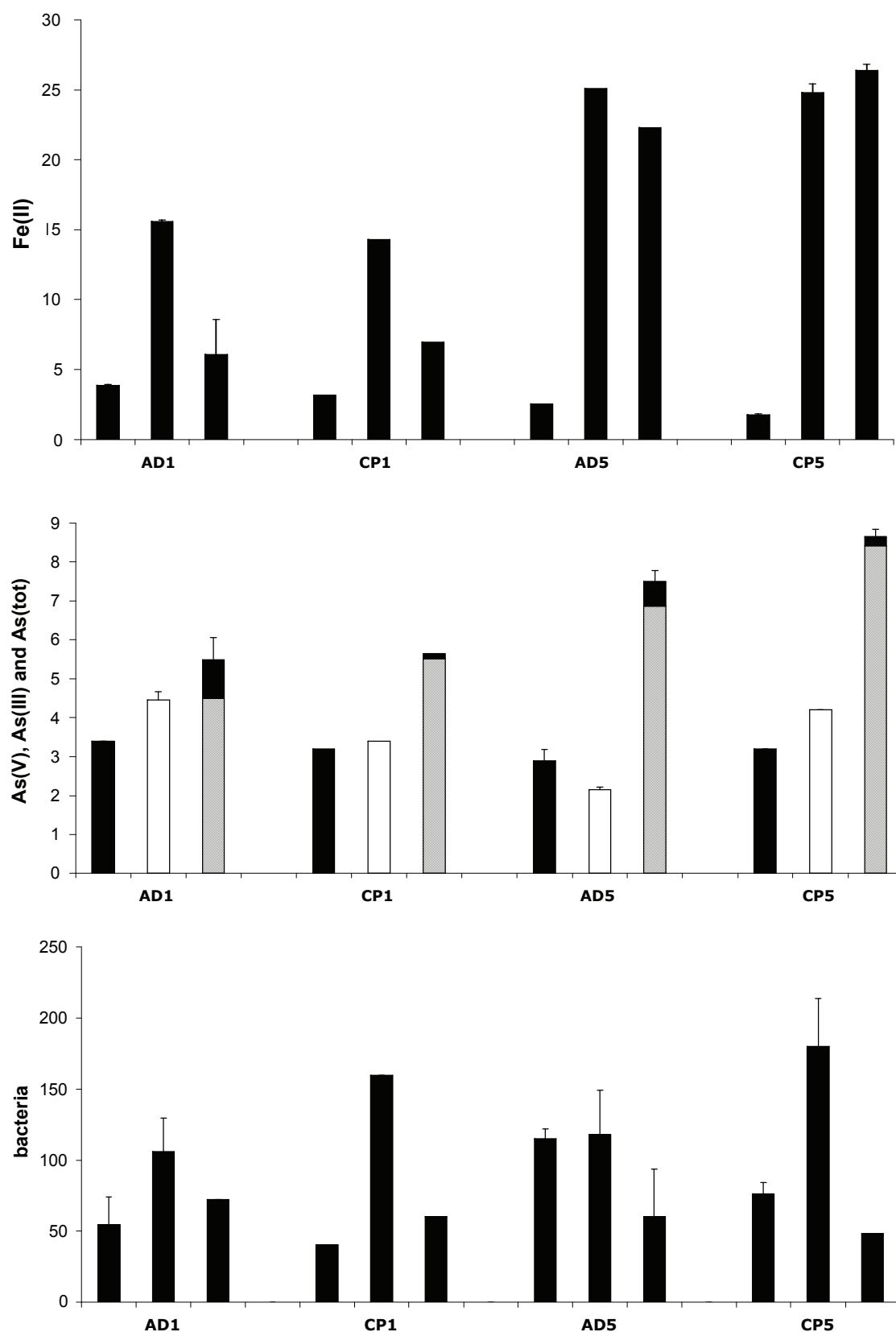


Figure 2. Concentrations of aqueous Fe(II) in mg/L, of aqueous As(V) (black bars), As(III) (gray bars) and As(tot) (white bars) in mg/L, and of bacteria in million cells/mL. Each group of 3 bars includes data of experiments AD1, CP1, AD5, CP5 after 1 day, 28 days and 63 days of As-2LFh incubation. Error bars represent the standard deviation of duplicated measurements.

Because FR cell suspensions were maintained with Fe(III) as growth electron acceptor (See Additional File 1), the inoculum was not free of Fe(II); consequently there was an initial concentration of aqueous Fe(II) in the incubation experiments with FR bacteria (Fig. 2). In addition, ferrous iron Fe(II) was the predominant valence state of iron at the beginning of incubation in the experiments with FR. Fe release was observed only in samples inoculated with FR, and not in the control experiments (Fig. 3). Moreover, the kinetics of Fe(III) reductive dissolution occurred in two phases during the two-month period of incubation: a first phase of increasing dissolved iron concentration Fe(II) during the first month (Figs. 2 and 3), associated with bacterial growth (Fig. 2) and a decrease of Eh (Fig. 4); a second phase, during the second month, marked by a stabilization of aqueous Fe concentrations in experiments AD5 and CP5 and even by a decrease in experiments AD1 and CP1. The maximum Fe release was about 3% in experiments CP5 and AD5 and 8–10% in experiments CP1 and AD1 (Fig. 3). The initial reduction rate was higher in the CP than the AD experiments (Table 3), but there was no difference in the percentage of released Fe at the end of the experiments (Fig. 3).

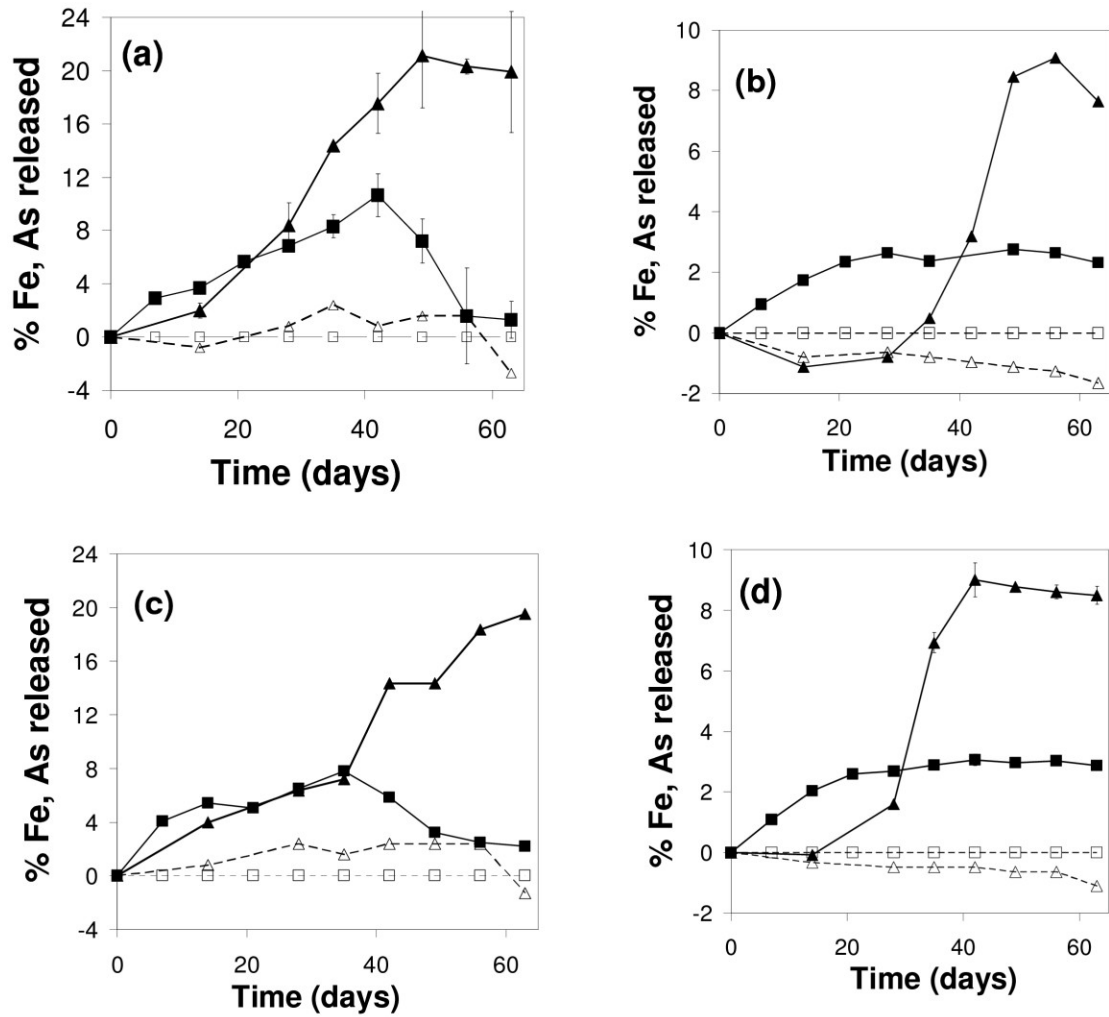


Figure 3. Aqueous Fe (squares) and As (triangles) concentrations released during experiments AD1 (a), AD5 (b), CP1 (c), CP5 (d). Empty symbols represent control experiments without bacteria. Proportions of released Fe and As are calculated by subtracting the concentration at the beginning of each experiment (Fig. 2) from the concentrations measured over time, and then dividing the differences by the initial solid content of Fe and As (Table 1), respectively. Error bars represent the standard deviation of duplicated measurements.

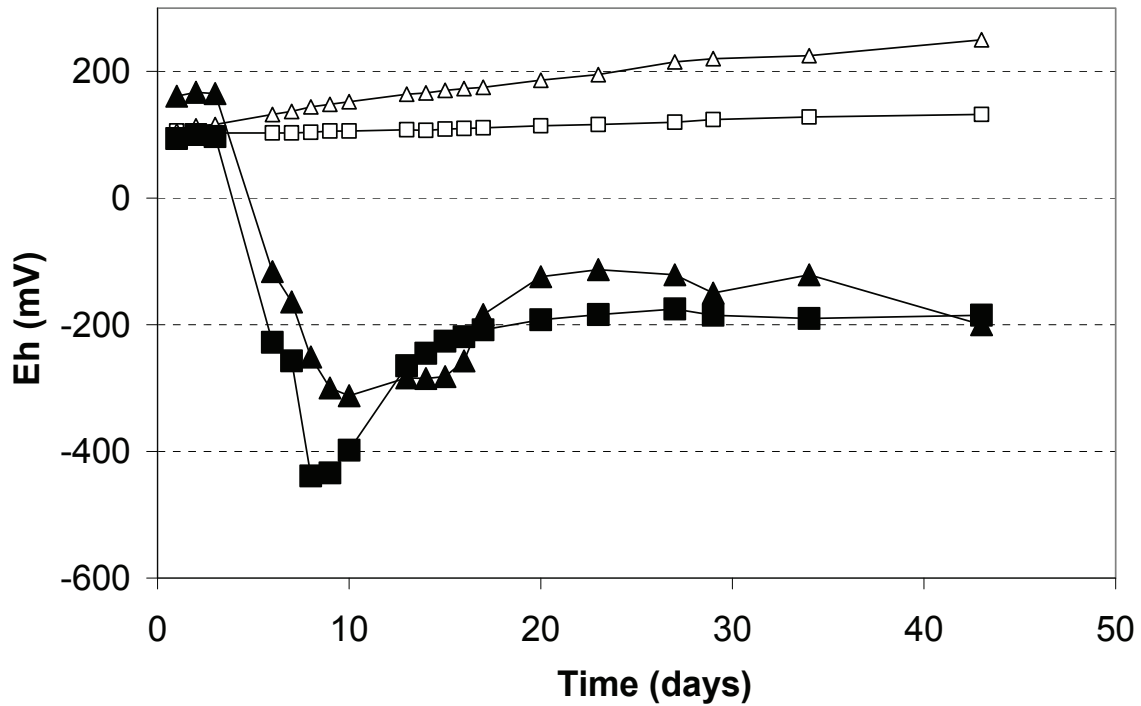


Figure 4. Eh recorded during experiments CP1 (squares) and CP5 (triangles). Empty symbols represent control experiments without bacteria.

Table 3. Experimental conditions and initial rates of bacterial reductive dissolution of As-2LFh compared to As-free 2LFh experiment and literature data.

	AD1	CP1	AD5	CP5	2LFh	HFO ^a
Bacteria	FR	FR	FR	FR	FR	<i>Shewanella putrefaciens</i>
Initial cell density (10^6 cells/mL)	54	40	11	76	no data	100
Initial R_1 (10^{-7} mM s ⁻¹)	1.5	2	2.4	2.7	17.2	18.6

^a Taken from [43]

3.1.5.2 Arsenic speciation

Analytical results indicate that about the same concentration of As was solubilized in pentavalent form within few hours after each incubation with and without FR. This initial solubilization of about 3 mg L^{-1} ($\sim 40 \text{ } \mu\text{M}$ in Table 4), which represents about 5% of the total As quantity for experiments AD5 and CP5 and 25% for AD1 and CP1, seems not to depend on the initial solid concentration of As-2LFh (Fig. 2). So as to distinguish between abiotic and biotic release of As, and also to facilitate comparison between As and Fe release, the

proportions of As and Fe release have been calculated in Figure 3 by subtracting the As and Fe concentrations after initial equilibrium from the concentrations measured over time, and normalizing the differences to the total quantity of As and Fe (Table 1).

Table 4. Final aqueous concentrations after 63 days for the CP5 incubation experiment with and without (control) FR bacteria.

Aqueous concentrations	With FR bacteria	Without bacteria
As (μM)	120	40
molar As(III)/As (%)	97	0
Fe (μM)	466	36
PO_4 (μM)	153	252
Ca (μM)	735	638
Mg (μM)	506	477
Na (mM)	41.3	40
NH_4 (mM)	2.8	3.9
HCO_3^- (mM)	18.7	12.3
Acetate (mM)	8.5	18.6

During the first month of experiments AD1 and CP1 with FR, the release of arsenic seemed to be congruent with the release of iron, i.e. about the same proportion of Fe and As was released (Fig. 3). Conversely, there was no congruent release of arsenic during the first month of incubation with experiment CP5 with FR, and even a small decrease of aqueous As concentration in experiment AD5.

For the second month of incubation with FR, no difference was observed between the CP and AD experiments with respect to the final percentage of As released. About 20% of arsenic was released in experiments AD1 and CP1 and about 9% in experiments AD5 and CP5 (Fig. 3). At the end of the two-month incubation with FR, the analytical results showed that more than 90% of the aqueous As was in the trivalent form As(III) (Fig. 2). The oxidation state of sorbed and co-precipitated As was measured directly by XANES (Fig. 5). Before incubation and also after abiotic incubation, the solid As was only in its pentavalent form As(V). After

21 days of incubation with FR, X-ray absorption analysis indicated that the solid phase was still As(V) dominant (>70%) (Table [1](#)).

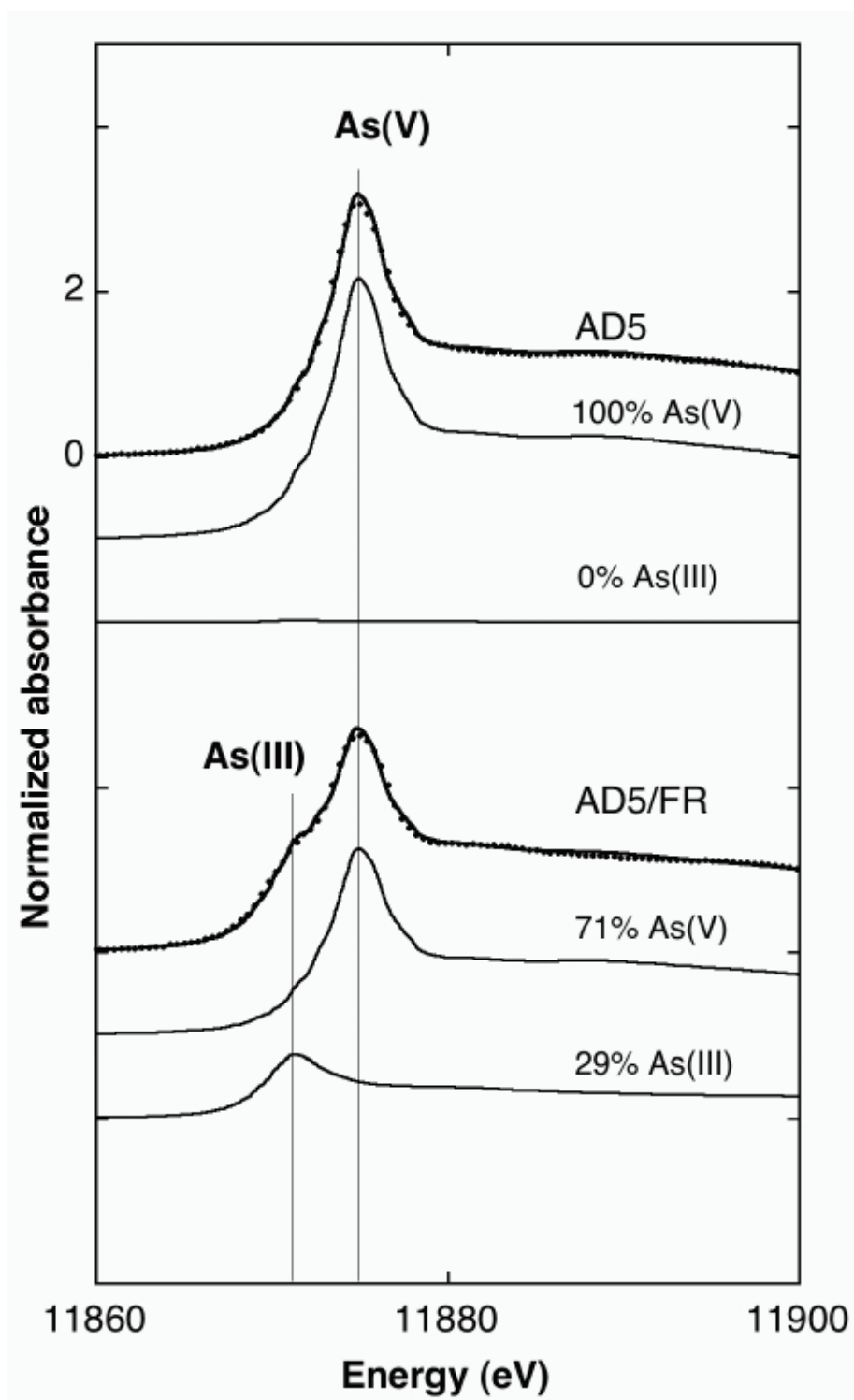


Figure 5. As K-edge XANES spectra after 63 days. Abiotic (AD5), biotic with FR (AD5/FR). Dots: experimental; Plain line: linear least-squares fit. Weighted spectra of the fitting components (see text) are plotted as plain lines below each fitted spectrum.

3.1.5.3 Isolation of a single arsenate-reducing strain from the FR

The tests conducted in the selective medium for dissimilatory arsenic-reducing bacteria (DARB) described by Kuai *et al.* [35] clearly show that at least one strain within the FR community was able to respire As(V). This strain, FRB1 which respire both Fe(III) and As(V), was isolated from the FR community and characterized by molecular biology tools. Supplemental data supporting the given assignments are available in Additional File 1.

3.1.5.4 Incubation experiments with Bengali sediments (Islam *et al.*, 2004)

The biogeochemical regime described for the incubation of Bengali sediments by Islam *et al.* (2004) is very close to our experiments [12]. The observed release of arsenic during incubation with an amendment of 4 g L⁻¹ sodium acetate seemed to follow exactly the same pathway as in our As-2LFh experiments: a limited release of Fe(II) during the first 20 days followed by an arsenic release over about 10 days, and a co-existence in the final state of a dominant As(V) solid phase and a dominant As(III) aqueous phase.

3.1.6 Discussion and modeling

3.1.6.1 Iron reductive dissolution

3.1.6.1.1 Transformation of solid iron

Amorphous ferrihydrite is known to transform rapidly to more crystalline minerals with temperature [36] and/or time [16]. Several authors, however, have shown that the evolution of 2LFh crystallinity with time is largely reduced or inhibited in the presence of namely arsenic [37] or phosphate [38]. The inhibiting role of high arsenic or phosphate contents for crystallization could therefore explain why most of the solid phase detected by XRD remained as As-2LFh after the heat sterilization step. The detection limit of the XRD method is around 1–5 wt.%, depending namely on the mineral's degree of crystallinity and symmetry. Thus XRD identification of new, poorly crystallized phases present in minor amounts is difficult.

In experiments AD1 and CP1, a kinetic precipitation of some ferrous phase such as siderite, magnetite or vivianite [39,40] could explain the dramatic drop in soluble iron that appears

during the second month (Figs. 2 and 3). The scenario of a redox reaction involving aqueous As(V) reduction by aqueous Fe(II) is rejected because this reaction is known to be kinetically limited at circumneutral pH [41]. An equilibrium modeling using the experimental data of aqueous Fe(II) after 1 day, 28 days and 63 days and the logK listed in Table 5 suggests that the solution was always undersaturated with respect to siderite and always oversaturated with respect to magnetite (Fig. 6). In fact neither siderite nor magnetite were detected by XRD in our experiments. The logK of magnetite is perhaps not well defined and underestimated due to the nano-size of the amorphous precursors. Alternatively, the XRD detection limit was perhaps not low enough to detect the formation of this phase in small amounts and/or in amorphous form. The solution was undersaturated with respect to vivianite $\text{Fe(II)}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, at the beginning of experiments AD1 and CP1, oversaturated after 28 days, and not far from equilibrium after 63 days (Fig. 6). This modeling result is consistent with the XRD detection of vivianite after 63 days in experiments AD1 and CP1 (Table 1), and with the hypothesized process of a kinetic precipitation of vivianite in these experiments.

Table 5. Iron(II,III) minerals and the solubility constants used in the model

Reactions	Log K_{so} ($I = 0 \text{ M}$, 25°C)	Reference
$\text{Fe(OH)}_3(\text{s}) + 3 \text{H}^+ = 3 \text{H}_2\text{O} + \text{Fe}^{3+}$	5.66	(1)
$\text{As-2LFh} + 3 \text{H}^+ = 3 \text{H}_2\text{O} + \text{Fe}^{3+}$	5.6	From Eq. (4)
$\text{Siderite} + \text{H}^+ = \text{Fe}^{2+} + \text{HCO}_3^-$	-0.19	(1)
$\text{Magnetite} + 8 \text{H}^+ = \text{Fe}^{2+} + 4 \text{H}_2\text{O} + 2 \text{Fe}^{3+}$	10.47	(1)
$\text{Vivianite} + 2 \text{H}^+ = 3 \text{Fe}^{2+} + 8 \text{H}_2\text{O} + 2 \text{HPO}_4^{2-}$	-11.07	[62]

(1) Taken from LLNL version 8, release 6 dataset (thermo.com.V8.R6+.dat)

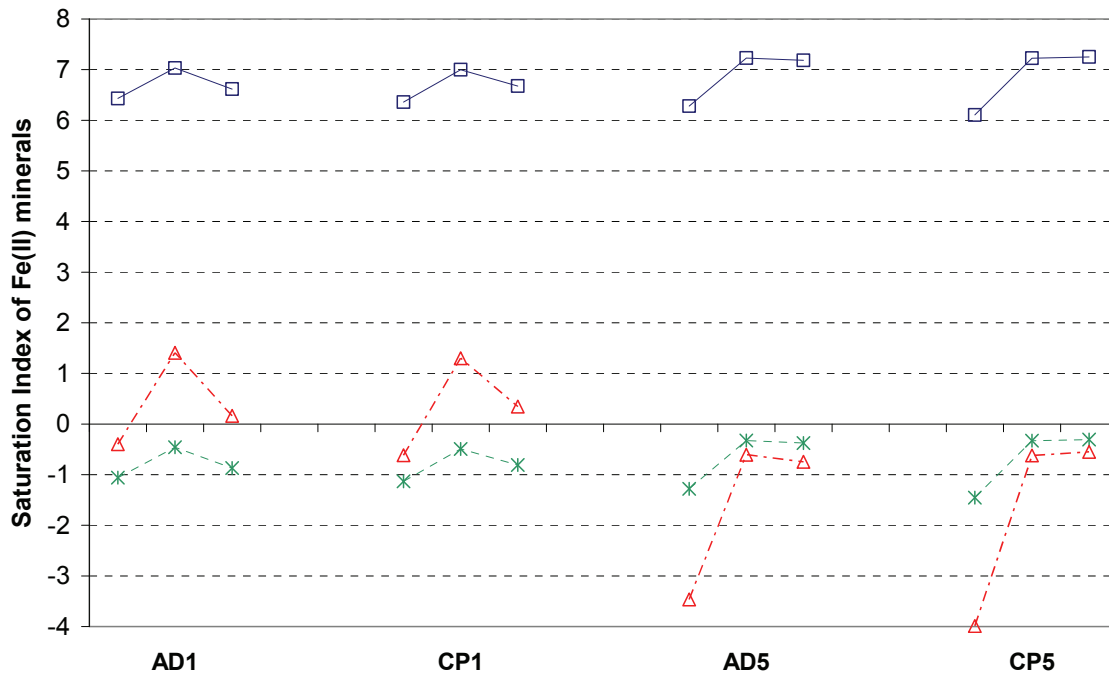


Figure 6. Saturation index of Fe(II) minerals siderite (stars), vivianite (triangles) and magnetite (squares). Each group of 3 points includes data of experiments AD1, CP1, AD5, CP5 after 1 day, 28 days and 63 days of As-2LFh incubation, assuming pH = 6.

No secondary phase was detected by XRD in experiments AD5 and CP5 (Table 1) and the equilibrium model shows that the solution was always undersaturated with respect to vivianite (Fig. 6) because of a higher available sorption surface for phosphates.

Recent results from Root et al. [42] on arsenic sequestration in high-iron sediments show from X-ray Absorption Spectroscopy (XAS) that "the HFO floc had been reduced to a mixed Fe(II,III) solid with a local structure similar to that of synthetic green rust (GR)", but also show that there is no evidence from XRD for the formation of a crystalline GR phase.

The Fourier transform infrared spectrometry (FTIR) technique was used in conjunction with XRD to identify the presence of other slightly crystalline phases. Spectra of the raw products were recorded using a Bruker Equinox IFS55 spectrometer with a spectral resolution of 4 cm^{-1} , and the attenuated total reflectance (ATR) mode was adopted directly on the powder with a $4000\text{--}550 \text{ cm}^{-1}$ range. The FTIR shows the presence of 2LFh and of sorbed species such as phosphates and arsenic already identified by energy-dispersive X-ray analysis (EDS), but does not show the presence of any new Fe- and/or As-bearing phases.

3.1.6.1.2 Dissimilative or assimilative iron reduction

Control experiments without FR (Fig. 3) show that the observed ferric iron reduction was due to a biological mechanism, which could be a priori either dissimilative or assimilative. The residual glucose present in the inoculum was measured at the beginning of each experiment: a maximum glucose value of 10 mg/L was found in the CasR1 medium, whilst 10 g/L were initially in the Bromfield medium used for FR maintenance (See Additional File 1). Consequently the main carbon sources in the experiments were not glucose (a well-known fermentable carbon source), but acetate and lactate, which are commonly used by DIRB. Moreover, the decrease of acetate concentration after 2 months (Table 4) would not be observed if fermenting bacteria were present at much higher abundance than DIRB in the FR community.

The values of initial aqueous Fe(II) production rate are calculated for AD1, CP1, AD5 and CP5 experiments with FR and compared to the maximum dissimilatory reduction rate v_{\max} of HFO by *S. putrefaciens* reported by Bonneville *et al.* (2004) [43] (Table 3). The observed rates in all experiments are one order lower than the As-free HFO dissimilatory reduction rate. Moreover, this initial rate does not explain the observed evolution of Fe release with time, i.e. why the As-2LFh was incompletely reduced in all the experiments (between 3 and 10% release of Fe in Fig. 3). A similar limited release has been reported in batch studies with metal-substituted goethite [44], and a greater Fe(II)/Fe_{tot} ratio of 40 to 60% was achieved by reduction of HFO by *S. putrefaciens* CN32 [39].

In order to clarify this important point, additional reduction experiments were carried out with 2LFh, but without As, in order to study the specific role of arsenic. The results (Fig. 7) show that the FR population was able to reduce about 50% of the 2LFH, like other known DIRB such as *S. putrefaciens* with a similar initial rate (Table 3).

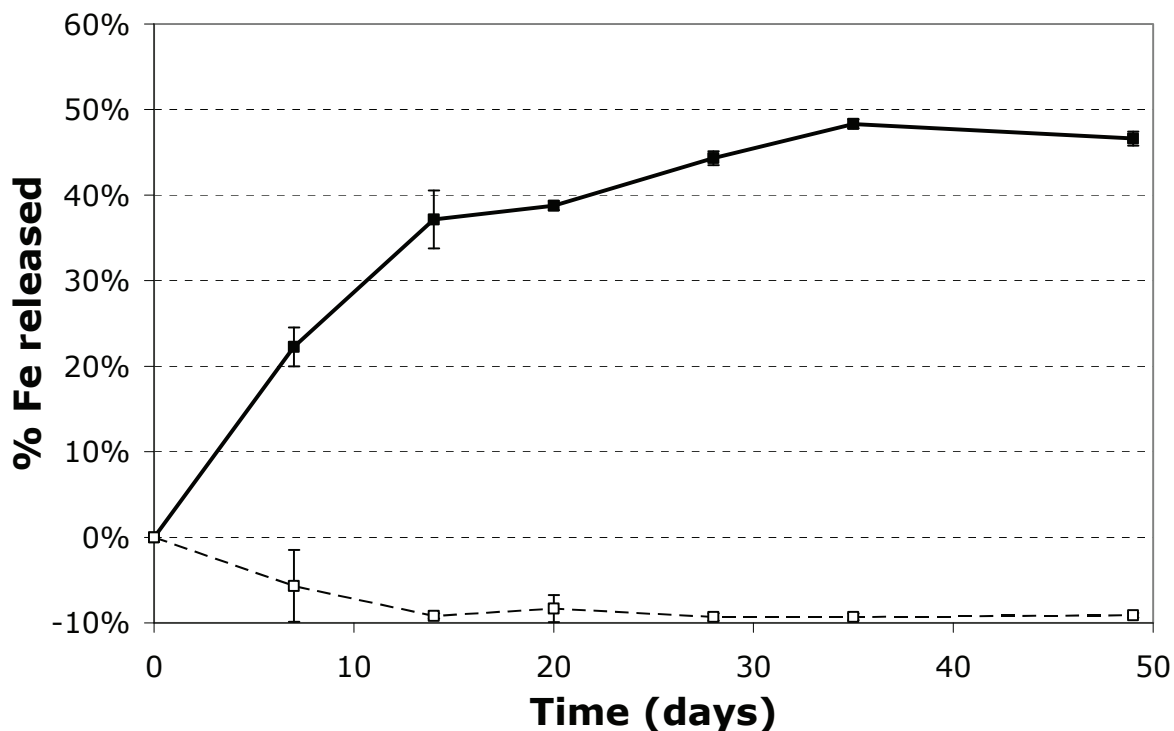


Figure 7. Aqueous Fe over time during As-free 2LFh experiment (full line with filled squares). Empty symbols are used for the control experiment without bacteria. Proportion of Fe released is calculated by subtracting the concentration at the beginning from the concentrations measured over time and by dividing these differences by the initial solid content of Fe. Error bars represent standard deviation of duplicated measurements.

DIRB were therefore probably also present in high abundance in the experiments with As-2LFh, with arsenic directly or indirectly playing an inhibiting role during the dissimilative iron reduction of As-2LFh. The inhibiting role of arsenic in As-2LFh experiments is discussed in more detail in the next section.

3.1.6.2 Arsenic release

3.1.6.2.1 Initial ion exchange with phosphates

A similar initial solubilization of arsenic occurred both in the experiments with FR and in the control experiments without FR (data not shown). This result indicates that a chemical, and not a biotic, mechanism led to an initial release of As during the equilibrium of the solid As-2LFh with the growth medium. Additional experiments then showed that the initial release of As(V) depends on the initial concentration of phosphates. In fact, it was already known that phosphates in growth media have a high affinity for iron-oxide surfaces and can compete with arsenate for adsorption sites [45]. For the sorption of the different oxyanions onto As-2LFh

during experiments AD5 and CP5, we used the surface complexation model of Dzombak and Morel (1990) [27] with the intrinsic surface complexation constants given in Table 2. The model, set with a pH of 6.3, correctly simulated the initial aqueous concentration of As(V) corresponding to 5% of total As, i.e. a sorbed fraction of 95%.

3.1.6.2.2 Congruent dissolution with iron

After the initial chemical release of As, the release during the first month depended on the initial solid concentration of As-2LFh.

In experiments AD1 and CP1 with FR, the proportion of As release was very similar to the proportion of Fe release (Fig. 3). Bousserhine (1999) [46,47] similarly shows that the release of co-precipitated metals like Co or Mn from goethite is congruent with that of Fe(II); a result consistent with the hypothesis that As(V) was uniformly distributed within the co-precipitate. This is a result that was expected in experiment CP1, but not in experiment AD1 where As was added to a preformed 2LFh precipitate. Both samples showed a similar molar ratio (about 5.5% in Table 1), so perhaps some early transformation could explain a uniform distribution of the As during the preparation of the AD1 sample.

Conversely, there was no congruent release of As during this first month of incubation with FR during experiment CP5, and there was even a small decrease during experiment AD5 (Fig. 3). This could mean that the re-sorption of released As(V) in experiments CP5 and AD5 was higher because of the larger available sorption surface. It should be noted that Pedersen *et al.* (2006) [48] have recently shown that a congruent release of arsenic and iron during abiotic reductive dissolution of iron oxides cannot be expected at an As/Fe molar ratio of less than 0.5%.

3.1.6.2.3 Bacterial reduction

As there was no measured aqueous As(III) in the control experiments, an indirect or direct bacterial activity must have been the cause of As(V) reduction. As(V) reduction by aqueous Fe(II) or adsorbed Fe(II) produced by biotic As-2LFh dissolution would be an indirect biotic mechanism. Note that we have rejected the scenario of a redox reaction involving aqueous As(V) reduction by aqueous Fe(II) because this reaction is known to be kinetically limited at circumneutral pH [41]. Charlet *et al.* (2002) [49] suggest another abiotic mechanism that was observed in the reduction of U(VI) by surface Fe(II) [50] – the reduction of As(V) coupled to the oxidation of adsorbed Fe(II). Although this indirect mechanism cannot be excluded, a direct biotic As(V) reduction would be also consistent with the observation that dissimilatory

As(V)-reducing bacteria were present in the FR community. The incubation of FR in a selective medium for DARB did indeed show the presence of such microorganisms within the FR [35]. One strain (FRB1) isolated from the FR belongs to the genus *Clostridium* which is able to respire both electron acceptors, Fe(III) and As(V) (see Additional File 1).

As(V) is used as a terminal electron acceptor by several phylogenetically diverse bacteria, and there are recent reports on the implication of *Clostridium* species in As(V)-reducing activity: e.g. sp. OhilAs (Oremland and Stolz, 2003), ARCL1 and AKAR3 (Rhine *et al.*, 2005) used As(V) as a respiratory electron acceptor. However, the 16S RNA sequences of these species were not available in databases and could not be compared to the sequence of strain FRB1 (See Additional File 1). Such comparison is necessary to know whether strain FRB1 is related to these *Clostridium* microorganisms. Nevertheless, despite its close phylogenetic relationship with *C. pasteurianum* on 16S rRNA genes and because of its ability to reduce As(V), strain FRB1 could represent a novel species of the genus *Clostridium*. Although Islam *et al.* (2004) [12] recently retrieved sequences related to *Clostridium* species from sediments in West Bengal, there is no evidence that these organisms are also As(V)-reducing bacteria.

The recent work of Campbell *et al.* (2006) [51] addresses the relative order of microbial As(V) and Fe(III) reduction, as well as the effect of sorbed As(V) and As(III) on rates of Fe reduction. Synthetic iron oxyhydroxides HFO were incubated with two types of microbial inoculum: one a microbial community from the Haiwee reservoir and the other a well-studied laboratory strain, *Shewanella* sp. strain ANA-3 wild type (WT), which is capable of both Fe(III) and As(V) reduction. In all the experiments, As(V) was reduced simultaneously with or prior to Fe(III), and the As(V) adsorbed onto the surface of HFO enhanced the rate of microbial Fe(III) reduction by the pure strain ANA-3 WT, i.e. the exact opposite of our experiments. Note, however, that our FR community a) was not selected from an As-impacted field site like the Haiwee reservoir, but from a site contaminated by heavy metals, and b) was obtained by enrichment of Fe(III)-reducing bacteria. In our opinion, the Haiwee bacterial community has a much lower DIRB than DARB abundance, whereas the opposite is probable in our FR community.

3.1.6.3 Decoupling of iron and arsenic release

Based on the results described in the previous sections, and in agreement with Islam *et al.* (2004), we suggest that solid Fe(III) and As(V) will be used by the biomass sequentially and we show that the sequence can be explained by the energy yield of both reduction reactions. This yield depends on redox potentials: at the beginning of bacterial growth, As-rich

ferrihydrite reduction is energetically more favorable than arsenic reduction, but with increasing Fe(II) concentration, a point is reached where aqueous As(V) reduction becomes an alternative for the FR community bacteria, which can respire both As(V) and Fe(III). Our biogeochemical model assumes that the biomass growth is in two parts in Eq (11) and (13): biomass 1 with only DIRB species, and a initial minor amount of biomass 2 with species like FRB1 that can respire both As(V) and Fe(III). In the mathematical modeling, therefore, given the potential energy changes, the more efficient growth microbes (biomass 2) suppress the less efficient growth microbes (biomass 1).

This energetically driven model was tested both on our own results and on those obtained from the incubation experiments with Bengal delta sediments [12].

3.1.6.3.1 The As-ferrihydrite system

In the As-ferrihydrite experiments run in the present study, the Fe(III)/Fe(II) redox potential E_h in mV is given by Eq. (5). Thus the more Fe(III) that is released in solution and the more soluble the solid phase, the higher the E_h . The solubility of synthetic pure ferrihydrite reported in the literature varies over two orders of magnitude with $\log K_{so}$ ranging from 4.3 [52] to 2.5 [53]. The highest value was measured for fresh precipitates and the minimum value for partially crystallized particles. It has been shown that oxyanions, like arsenate, silicate and phosphate, poison the growth of precursor particles during the course of ferrihydrite precipitation [37,54,55]. Therefore, As-rich ferrihydrite can be expected to have a greater solubility than As-free ferrihydrite. The particle size of ferrihydrite was found to be 8–15 Å in the initial stages of polymerization [37]. The solubility of 15 Å-diameter particles of amorphous As-rich ferrihydrite is estimated by a value of $\log^*K_{so} = 5.6$ using Eq. (4), with a interfacial tension $\gamma_s = 1.6 \text{ J/m}^2$ [56], a solubility $\log K_{sp} = -2.1$ for a well-crystallized goethite [57], and a molar volume $V = 20.6 \text{ cm}^3 \text{ mol}^{-1}$. It should be noted that the resultant \log^*K_{so} is equal to the solubility of As-free Fe(OH)_3 ($\log K = 5.66$) given in the LLNL V8 R6 thermodynamic database (Table 5). This reveals the large uncertainty in the \log^*K_{so} of 2-line ferrihydrite and As-2LFh. Assuming this value of \log^*K_{so} and an initial $\text{Fe}^{2+}(\text{aq})$ activity of $4 \cdot 10^{-6}$ corresponding to an initial concentration of 1.76 mg/L of Fe(II), an $E_h(\text{Fe})$ of about 300 mV is calculated using Eq. (5) at pH 6.3. Then assuming an initial As(V) dominant aqueous phase with an As(V)/As(III) activity ratio between 10 and 10^5 , the range of $E_h(\text{As})$ is calculated, using Eq. (6), as +112 to +230 mV, in all cases lower than the initial $E_h(\text{Fe})$. Therefore, As-rich ferrihydrite is initially more susceptible to bacterial reduction than aqueous As(V). The selected values in Eq. (11) for K_m , $v_{\max}N$ and Fe_{cr} and in Eq. (13) for K^*_m ,

$v_{\max}^*N^*$ and As_{\max} are listed in Table 6. The initial As(III) concentration is under the detection limit (about $5 \mu\text{g L}^{-1}$) and, therefore, the critical Fe^{2+} activity (Fe_{cr}) can not be deduced from Eq. (8). The value of Fe_{cr} was fitted using the observed maximum Fe(II) concentration (25 mg L^{-1}). Afterwards, an As(V)/As(III) activity ratio of about $6.1 \cdot 10^4$ was calculated using Eq. (8) with this value of Fe_{cr} .

Table 6. Kinetic parameters used in the model

Parameters for Eq. (11) and (13)	Modeling of AD5 CP5 experiment	Modeling of Islam's experiment (2004)
$v_{\max}N$ (10^{-7} mMs^{-1})	2.74	15
K_m (uM)	520	520
$\text{Fe}_{\text{cr}} \cdot 10^3$	0.0845 ^a	2.1 ^b
$v_{\max}^*N^*$ (10^{-7} mMs^{-1})	3.3	0.14
K_m^* (uM)	1.4	0.001
$As_{\max} \cdot 10^6$	92	0.15

^a fitted value obtained using the observed maximum Fe(II) concentration

^b From Eq. (9)

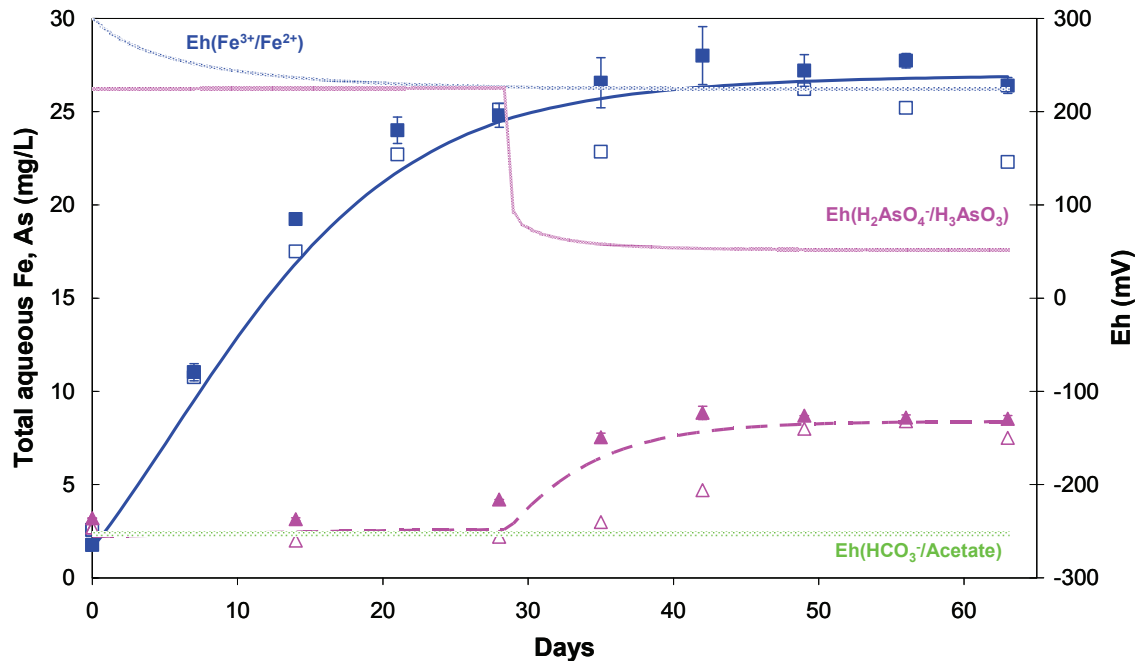


Figure 8. Comparison between experimental data and REACT model: aqueous Fe (squares) and As (triangles) concentrations over time during CP5 (filled symbols) and AD5 (empty symbols) experiments. Monod kinetics was used to model Fe (filled line) and As (dotted line). Eh was computed by the model from simulated redox couples $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$, $\text{H}_2\text{AsO}_4^-/\text{H}_3\text{AsO}_3^0$, $\text{HCO}_3^-/\text{Acetate}$.

Simulated As release is controlled in the model by the difference of Fe(III)/Fe(II) and As(V)/As(III) redox potentials: the bacterial As(V) reduction first occurred when both calculated potentials were very close ($RPF = 0.1$, see Fig. 8), i.e. when $a_{Fe^{2+}} = 0.9 Fe_{cr}$. Over the 63 days of the experiment, total aqueous Fe and As concentrations were correctly simulated with these parameters for experiments AD5 and CP5 (Fig. 8). The parameters are, however, better adapted for experiment CP5 than for experiment AD5.

We also compared the final speciation of As in the aqueous and solid phases calculated by the model and experimental results. The model provided evidence of the possible co-existence of a dominant As(V) solid phase and a dominant As(III) aqueous phase: calculated As(III)/As(Total) was about 82% in the aqueous phase and about 13% in the solid phase, while the experimental values were more than 90% in the aqueous phase (Fig. 2 and Table 4) and less than 29% in the solid phase (Fig. 5 and Table 1). This result is actually not related to fitting parameters, but is constrained by the intrinsic sorption constants of Table 2 (values from the literature).

The model result for the aqueous phase was imposed by the fitting parameter AS_{MAX} introduced to simulate the fact that not all As(V) was bioavailable for microbial reduction. Two scenarios are proposed to explain why bacterial As(V) reduction stopped: one is a lack of phosphate availability (phosphate being essential for the biomass growth) as suggested by the decrease in phosphate concentration in Table 4, and the other is the toxicity of As(III) which could inhibit cell growth.

3.1.6.3.2 The Bengali sediment system

The model was applied to the results of the experiment of [12] using the same solubility of As-rich ferrihydrite ($\log^*K_{so} = 5.6$) and the same carbonate and phosphate concentrations. The main differences with the modeling of AD5 and CP5 experiments are: (1) an initial Fe solid concentration of 62.68 mM instead of 15.3 mM, (2) an initial molar ratio As/Fe in the solid of only 0.019% instead of 5.55%, (3) pH of 7 instead of 6.

The maximum activity Fe_{cr} of $2 \cdot 10^{-3}$ was not fitted but calculated by using Eq. (9). All others parameters are fitting parameters and listed in Table 6. The initial Fe reduction rate $v_{max}N$ from Eq. (11) was increased by about a factor of five in comparison with that used to describe the present study with As-2LFh ($15 \cdot 10^{-10}$ instead of $2.74 \cdot 10^{-10} Ms^{-1}$). This value for As-poor sediment is still lower but quite close to the reduction rate of As-free 2LFh experiment and to the value found by Bonneville *et al.* (2004) (Table 3).

The corresponding maximum Fe(II) concentration of 11 mM is correctly observed after about 15 days in the modeling with these parameters (Fig. 9).

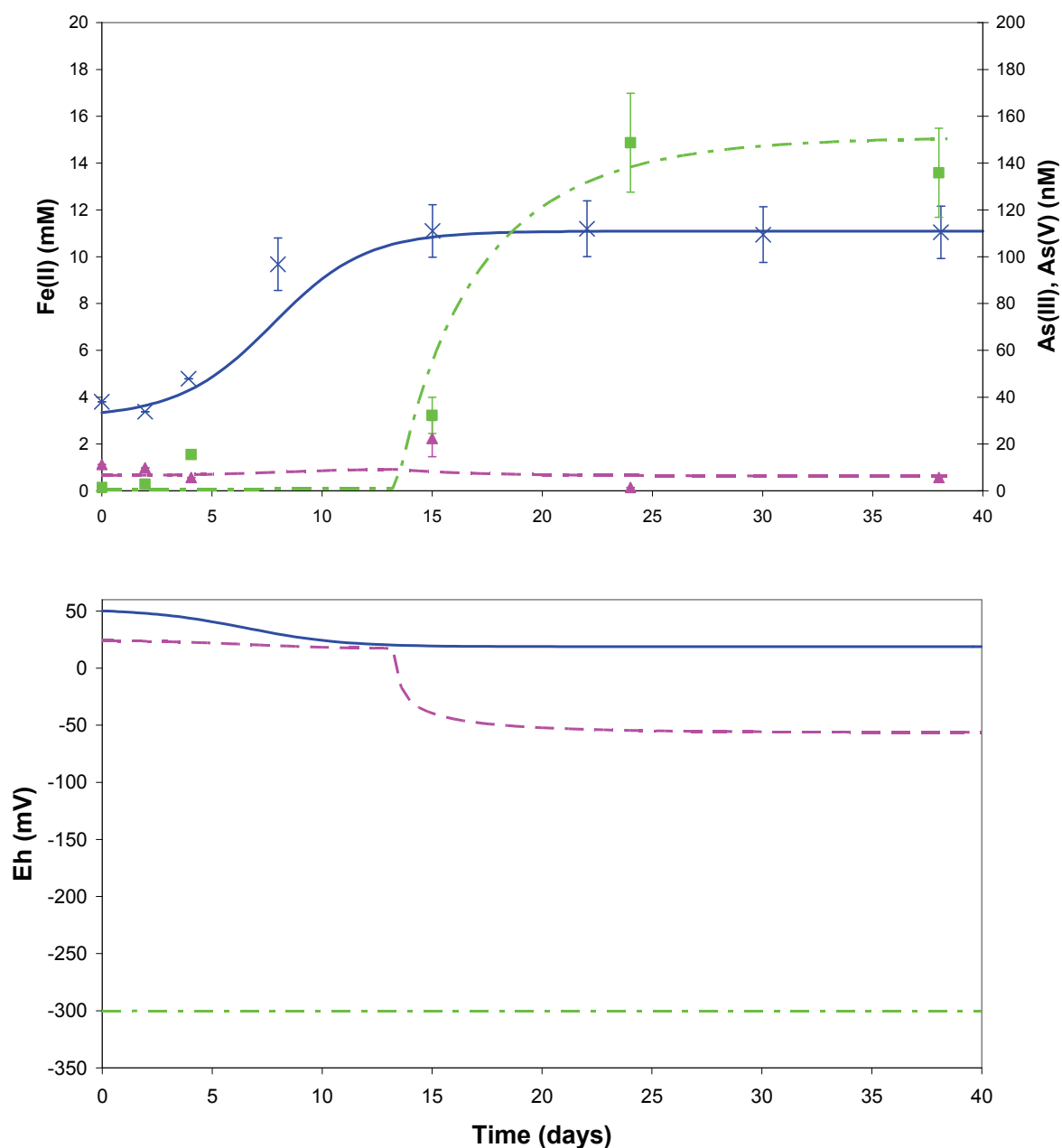


Figure 9. Comparison between Islam *et al.*'s data (2004) and REACT model: aqueous Fe (crosses), As(V) (triangles) and As(III) (squares) concentrations over time during Islam's experiment. Monod kinetics was used to model Fe (full line), As(V) (dashed line) and As(III) (dashed-dotted line). Eh was computed by the model from simulated redox couples $\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}$ (full line), $\text{HAsO}_4^{2-}/\text{H}_3\text{AsO}_3^0$ (dashed line) and $\text{HCO}_3^-/\text{Acetate}$ (dashed-dotted line).

The biogeochemical model, initially developed on our data is therefore successfully applied to an independent dataset with natural sediments (Islam *et al.*, 2004). This does not, in itself, provide evidence that the sequential microbial reduction of Fe(III) and As(V) is taking place, but it does indicate that this postulated process could take place with two quite different Fe

and As solid concentrations. Islam *et al.* (2004) also observed the possible co-existence of a dominant As(V) solid phase and a dominant As(III) aqueous phase, as in the As-2LFh experiments. They suggest that not all the solid As(V) in Bengali sediments was bioavailable for microbial reduction "possibly through its association with recalcitrant crystalline Fe oxides". Our experiments show that this was also the case even with amorphous iron oxyhydroxides like 2-line As-rich ferrihydrite.

3.1.6.4 Competition between As, phosphates and carbonates at 2LFh surface sites

In the previous section, the plausibility of a sequential microbial reduction of Fe(III) and As(V) controlled by the relative energy gain of the two processes was tested with a model. We then decided to apply a model sensitivity analysis to evaluate the plausibility of other possible explanations for the decoupled release, such as: (1) a release of As induced by the release of phosphates due to the microbial reduction of iron oxides, which is a scenario described by the British Geological Survey as one of several possible mechanisms for the "*iron oxide reduction hypothesis*" [58]; and (2) a release of As induced by the competition with carbonates for surface sites [34], a scenario whereby the reduction of iron oxides and the dissolution of carbonate produce the bicarbonate that triggers the desorption of As.

The calculated sorbed As(III) and As(V) fractions were systematically investigated with the model for a pH between 5 and 9 (Fig. 10). This sensitivity analysis showed that phosphate is a stronger competitor than carbonate for As(V) (notably in the pH 8–9 range), but that the reverse is true for As(III). In the pH 5–7 range, the calculated sorbed As(III) fraction depends strongly on the pH. For example, about 50% of As(III) was sorbed in the reference simulation at pH 6.3. Eliminating the sorption of phosphate species onto As-2LFh provided only a slight increase in the sorbed As(III) fraction (about 65% at pH 6.3), whereas by eliminating the sorption of carbonate species onto 2LFh resulted in a strong increase (about 95% at pH 6.3). $\equiv(w)\text{FeOCO}_2\text{H}$ (Table 2) was indeed the dominant predicted sorbate. Because As(III) and carbonate species are both by-products of the bacterial redox reaction combining the reduction of As(V) and the oxidation of acetate (Eq. 12), the mobilization of arsenic could be controlled by the competition of arsenite As(III) with carbonates for the sorption sites of 2LFh. One of the above listed processes, i.e. the hypothesis of Appelo *et al.* (2002), could therefore account for uncorrelated release of aqueous Fe and As in both our and Islam's (2004) experiments.

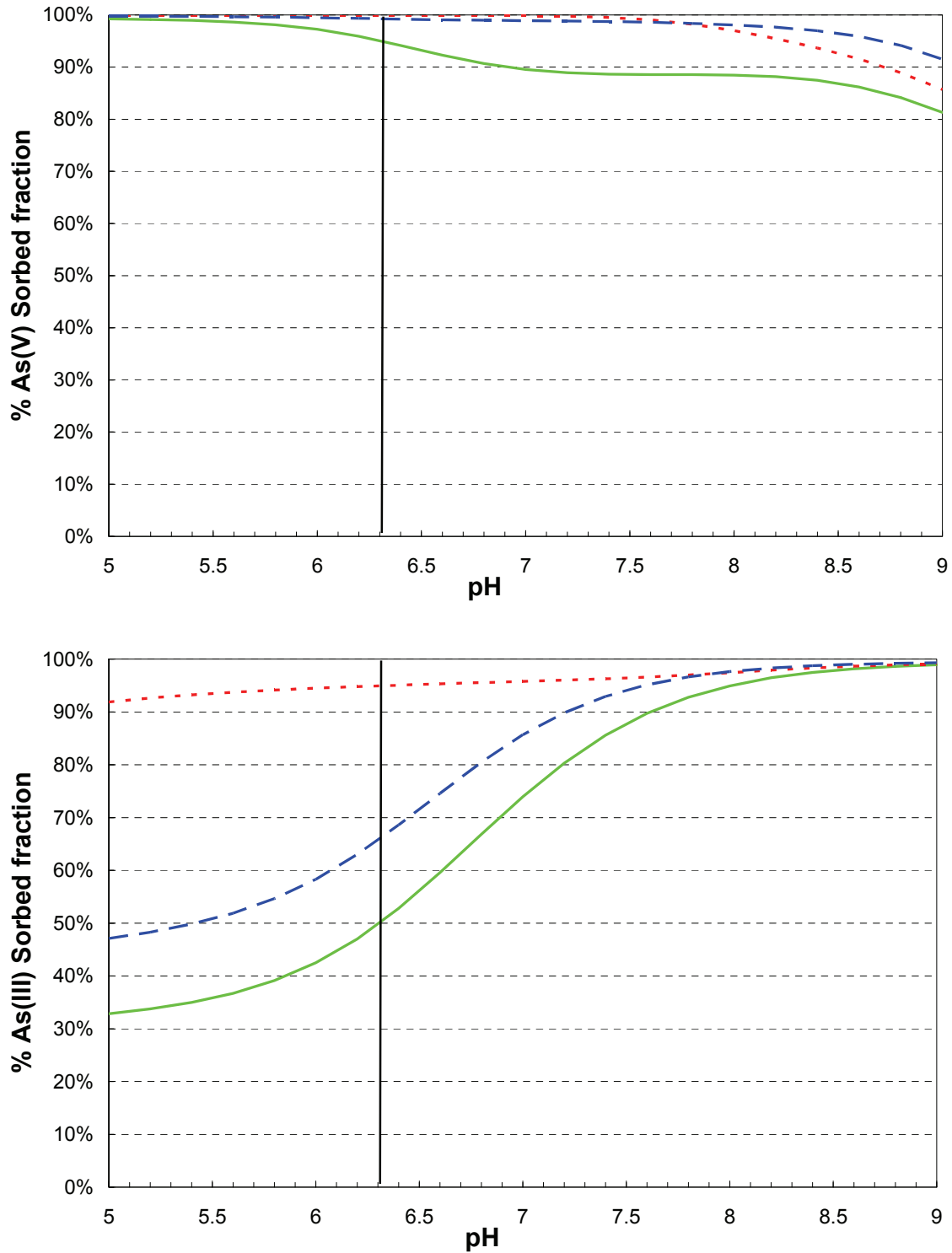


Figure 10. Model simulation of As(V) and As(III) sorption onto 2LFh (15.3 mM) with sorption of phosphates and carbonates (solid line) and without sorption of phosphates (dashed line) or carbonates (dotted line). Total carbonate and phosphate concentrations are 14.75 mM and 1.47 mM, respectively.

This conclusion is not inconsistent with the experimental results of Radu *et al.* (2005) [59], who studied the effect of dissolved carbonate on As(V) and As(III) adsorption to iron-oxide-

coated sand at pH 7. Radu *et al.* conclude that the competition effect between As(V) and dissolved carbonate was relatively small. Their result concerning the competition with As(III) was, however, more important (see expt 5, in Radu *et al.*).

3.1.6.5 Alternative mechanisms omitted in the biogeochemical model

Other mechanisms that were not included in our modeling can explain some experimental observations. For example, the model did not consider the consumption of carbon and phosphorus by metabolic active microorganisms. Here, ATP production could be an explanation for the decrease in phosphate concentrations (Table 4). As for carbon, in order to test its stoichiometric molar balance, the transformed moles of acetate were compared with the produced moles of bicarbonates in experiment CP5 with FR (Table 4): after 2 months, 10.1 mM of acetate, corresponding to a potential production of 20.2 mM of bicarbonates, had been transformed whereas only 6.4 mM of bicarbonates had been produced (Table 4). The bicarbonate increase is therefore not sufficient to explain the acetate decrease (Table 4). One explanation is that acetate can be used by dissimilatory bacteria not only as an energy source (oxidation) but also as a carbon source (biosynthesis).

Other explanations for the delayed solubilization of arsenic were also omitted in the modeling: thus it might be possible that the microbiological As reducing factor is expressed only in the presence of As(V) in solution or, conversely, that the reduction of As(V) occurs on the surface of 2LFh after sorption of Fe(II). In the first case, a prerequisite for As(V) reduction is the release of As(V) without re-adsorption; in the second case, it is a reduction of solid Fe(III) or the release and re-adsorption of Fe(II). The abiotic case, i.e. the reduction of As(V) coupled to the oxidation of adsorbed Fe(II), has indeed been observed with the reduction of U(VI) by surface Fe(II) [49,50,60]. Moreover, a recent article concerning the re-oxidation of uranium effectively showed that both As(V) reduction theories (biotic and abiotic) are not mutually exclusive as mechanisms of As mobilization [61].

It may also be possible that released As above a certain threshold is toxic for DIRB, which could explain why iron-reducing bacteria became metabolically inactive after one month and only arsenic-reducing organisms maintained their metabolic activity.

3.1.7 Conclusion

The experimental and modeling results with synthetic As-2LFh in the presence of a community of metal-reducing bacteria have significant implications with regard to the mobility of arsenic in groundwater, particularly in the Bengal Delta Plain. Recent incubations of sediments from Bengal have clearly shown that arsenic is "strongly adsorbed on or incorporated in the predominantly Fe(III) oxyhydroxides" [11]. One hypothesis is that the transport and the delivery of organic carbon from surface to subsurface bacterial communities may play a key role in enhancing arsenic mobility by reducing a significant proportion of Fe(III) hydroxides [3,6]. We provide further convincing evidence with our experiments that direct biotic reduction of As(V) may also explain why a limited release of iron (e.g. 3%) can be followed by a more significant release of arsenic (e.g. 9%), as was recently observed with the incubation of Bengali sediments [11,12].

The biogeochemical model developed to simulate these results in both the aqueous and solid phases provides us with two main conclusions: (1) 2LFh reduction is energetically more favorable than arsenic reduction at the beginning of the incubations, and (2) once arsenic reduction is energetically possible, the release of As is due to its reduction to more weakly adsorbed As(III). A sensitivity analysis of this model has shown that the mobility of arsenic may be controlled by the competition of arsenite with carbonate species for sorption onto ferrihydrite, i.e. the two by-products of dissimilatory As(V) reduction.

The model was also successfully applied to recent experimental results on the release of arsenic from Bengal delta sediments [12]. We therefore suggest that competition between the two by-products of dissimilatory As(V) reduction, arsenite As(III) and carbonate species, may also control the mobilization of arsenic in alluvial aquifers, such as those of the Bengal delta. Additional research is nevertheless required to determine the role of other competitors such as silicates and phosphates and of other sorbents such as iron sulfides. The biogeochemical model approach may, in the future, be a significant aid for understanding the mobility of arsenic associated with iron oxides in subsurface environments and in predicting its behavior under different management scenarios.

3.1.8 Acknowledgements

We should like to thank the anonymous reviewers for their helpful comments on the initial manuscripts. Our research was supported by the *Agence de l'Environnement et de la Maîtrise*

de l'Energie (ADEME) and the French Geological Survey (BRGM). We should also like to thank Catherine Crouzet, Dominique Breeze and Claire Bény from BRGM for their technical contributions.

3.1.9 References

1. Smedley PL, Kinniburgh DG: **A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters.** *Applied Geochemistry* 2002, **17**:517-568.
2. Charlet L, Polya DA: **Arsenic in shallow, reducing groundwaters in southern Asia: an environmental health disaster.** *Elements* 2006, **2**:91-96.
3. Swartz CH, Blute NK, Badruzzman B, Ali A, Brabander D, Jay J, Besancon J, Islam S, Hemond HF, Harvey CF: **Mobility of arsenic in a Bangladesh aquifer: Inferences from geochemical profiles, leaching data, and mineralogical characterization.** *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2004, **68**:4539-4557.
4. Kirk MF, Holm TR, Park J, Jin Q, Sanford RA, Fouke BW, Bethke CM: **Bacterial sulfate reduction limits natural arsenic contamination in groundwater.** *Geology (Boulder)* 2004, **32**:953-956.
5. Bodéan F, Baranger P, Piantone P, Lassin A, Azaroual M, Gaucher E, Braibant G: **Arsenic behaviour in gold-ore mill tailings, Massif Central, France: hydrogeochemical study and investigation of in situ redox signatures.** *Applied Geochemistry* 2004, **19**:1785-1800.
6. Harvey CF, Swartz CH, Badruzzaman ABM, Keon-Blute N, Yu W, Ali MA, Jay J, Beckie R, Niedan V, Brabander D, Oates PM, Ashfaq KN, Islam S, Hemond HF, Ahmed MF: **Arsenic Mobility and Groundwater Extraction in Bangladesh.** *Science* 2002, **298**:1602-1606.
7. Polizzotto M, Harvey C, Li G, Badruzzman B, Ali A, Newville M, Sutton S, Fendorf S: **Solid-phases and desorption processes of arsenic within Bangladesh sediments.** *Chemical Geology* 2006, **228**:97-111.
8. Cummings DE, Caccavo F, Fendorf S, Rosenzweig RF: **Arsenic mobilization by the dissimilatory Fe(III)-reducing bacterium *Shewanella alga* BrY.** *Environmental Science & Technology* 1999, **33**:723-729.
9. Langner HW, Inskeep WP: **Microbial reduction of arsenate in the presence of ferrihydrite.** *Environmental Science & Technology* 2000, **34**:3131-3136.
10. Zobrist J, Dowdle PR, Davis JA, Oremland RS: **Mobilization of Arsenite by Dissimilatory Reduction of Adsorbed Arsenate.** *Environmental Science & Technology* 2000, **34**:4747-4753.
11. van Geen A, Rose J, Thorai S, Garnier JM, Zheng Y, Bottero JY: **Decoupling of As and Fe release to Bangladesh groundwater under reducing conditions. Part II: Evidence from sediment incubations.** *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2004, **68**:3475-3486.
12. Islam FS, Gault AG, Boothman C, Polya DA, Charnock JM, Chatterjee D, Lloyd JR: **Role of metal-reducing bacteria in arsenic release from Bengal delta sediments.** *Nature* 2004, **430**:68-71.
13. Nickson RT, McArthur JM, Ravenscroft P, Burgess WG, Ahmed KM: **Mechanism of arsenic release to groundwater, Bangladesh and West Bengal.** *Applied Geochemistry* 2000, **15**:403-413.
14. Horneman A, van Geen A, Kent DV, Mathe PE, Zheng Y, Dhar RK, O'Connell S, Hoque MA, Aziz Z, Shamsudduha M: **Decoupling of As and Fe release to**

- Bangladesh groundwater under reducing conditions. Part I: Evidence from sediment profiles.** *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2004, **68**:3459-3473.
15. van Geen A, Zheng Y, Cheng Z, Aziz Z, Horneman A, Dhar RK, Mailloux B, Stute M, Weinman B, Goodbred S: **A transect of groundwater and sediment properties in Araihaazar, Bangladesh: Further evidence of decoupling between As and Fe mobilization.** *Chemical Geology* 2006, **228**:85-96.
 16. Fuller CC, Davis JA, Waychunas GA: **Surface chemistry of ferrihydrite; Part 2, Kinetics of arsenate adsorption and coprecipitation.** *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1993, **57**:2271-2282.
 17. Wilkie JA, Hering JG: **Adsorption of arsenic onto hydrous ferric oxide: effects of adsorbate/adsorbent ratios and co-occurring solutes.** *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 1996, **107**:97-110.
 18. Heron G, Crouzet C, Bourg ACM, Christensen TH: **Speciation of Fe(II) and Fe(III) in contaminated aquifer sediments using chemical extraction techniques.** *Environmental Science & Technology* 1994, **28**:1698-1705.
 19. Battaglia-Brunet F, Dictor M, Garrido F, Crouzet C, Morin D, Dekeyser K, Clarens M, Baranger P: **An arsenic(III)-oxidizing bacterial population: selection, characterization, and performance in reactors.** *Journal of applied microbiology* 2002, **93**:656-667.
 20. Lovley DR, Phillips EJP: **Rapid Assay for Microbially Reducible Ferric Iron in Aquatic Sediments.** *Applied and Environmental Microbiology* 1987., **53**: 12 ref
 21. Kim MJ: **Separation of Inorganic Arsenic Species in Groundwater Using Ion Exchange Method.** *Bulletin of environmental contamination and toxicology* 2001, **67**:46-51.
 22. Morin G, Juillot F, Casiot C, Bruneel O, Personne J, Elbaz-Poulichet F, Leblanc M, Ildefonse P, Calas G: **Bacterial Formation of Tooeleite and Mixed Arsenic(III) or Arsenic(V)-Iron(III) Gels in the Carnoules Acid Mine Drainage, France. A XANES, XRD, and SEM Study.** *Environmental Science & Technology* 2003, **37**:1705-1712.
 23. Enustun BV, Turkevich J: **Solubility of fine particles of strontium sulfate.** *Journal of American Chemical Society* 1960, **32**:4502-4509.
 24. Van Cappellen P, Gaillard J: **Biogeochemical dynamics in aquatic sediments.** In *Reactive transport in porous media*. The Mineralogical Society of America; 1996:335-376.
 25. Jin Q, Bethke CM: **A New Rate Law Describing Microbial Respiration.** *Applied and Environmental Microbiology* 2003, **69**:2340-2348.
 26. Jin Q, Bethke CM: **The thermodynamics and kinetics of microbial metabolism.** *American Journal of Science* 2007, **307**:643-677.
 27. Dzombak DA, Morel FMM: *Surface complexation modeling; hydrous ferric oxide*. New York: John Wiley & Sons; 1990.
 28. Dixit S, Hering JG: **Comparison of arsenic(V) and arsenic(III) sorption onto iron oxide minerals: Implications for arsenic mobility.** *Environmental Science & Technology* 2003, **37**:4182-4189.
 29. Raven KP, Jain A, Loeppert RH: **Arsenite and Arsenate Adsorption on Ferrihydrite: Kinetics, Equilibrium, and Adsorption Envelopes.** *Environmental Science & Technology* 1998, **32**:344-349.
 30. Dixit S, Hering J: **Sorption of Fe(II) and As(III) on goethite in single- and dual-sorbate systems.** *Chemical Geology* 2006, **228**:6-15.
 31. Bethke CM: *The Geochemist's Workbench®. A user's guide to Rxn, Act2, Tact, React, and Gplot. Release 4.0*. Urbana: University of Illinois; 2002.

32. Whiting KS: *PhD thesis*. Colorado School of Mines, Golden, CO; 1992.
33. Schecher WD, McAvoy DC: *MINEQL+, V4.5, Users Manual*. ME: Hallowell; 1998.
34. Appelo CAJ, Van Der Weiden MJJ, Tournassat C, Charlet L: **Surface Complexation of Ferrous Iron and Carbonate on Ferrihydrite and the Mobilization of Arsenic**. *Environmental Science & Technology* 2002, **36**:3096-3103.
35. Kuai L, Nair AA, Polz MF: **Rapid and Simple Method for the Most-Probable-Number Estimation of Arsenic-Reducing Bacteria**. *Applied and Environmental Microbiology* 2001, **67**:3168-3173.
36. Cornell RM, Schwertmann U: *The Iron Oxides: structure, properties, reactions, occurrences and uses*. Weinheim: Wiley-VCH; 2003.
37. Waychunas GA, Rea BA, Fuller CC, Davis JA: **Surface chemistry of ferrihydrite; Part 1, EXAFS studies of the geometry of coprecipitated and adsorbed arsenate**. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1993, **57**:2251-2269.
38. He QH, Leppard GG, Paige CR, Snodgrass WJ: **Transmission electron microscopy of a phosphate effect on the colloid structure of iron hydroxide**. *Water research* 1996, **30**:1345-1352.
39. Glasauer S, Weidler PG, Langley S, Beveridge TJ: **Controls on Fe reduction and mineral formation by a subsurface bacterium**. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2003, **67**:1277-1288.
40. Zachara JM, Kukkadapu RK, Fredrickson JK, Gorby YA, Smith SC: **Biomining of Poorly Crystalline Fe(III) Oxides by Dissimilatory Metal Reducing Bacteria (DMRB)**. *Geomicrobiology Journal* 2002, **19**:179-207.
41. Cherry JA, Shaikh AU, Tallman DE, Nicholson RV: **Arsenic species as an indicator of redox conditions in groundwater; Contemporary hydrogeology; the George Burke Maxey memorial volume**. *Journal of Hydrology* 1979, **43**:373-392.
42. Root R, Dixit S, Campbell K, Jew A, Hering J, O'Day P: **Arsenic Sequestration by Sorption Processes in High-Iron Sediments**. *Geochimica et Cosmochimica Acta*, in press. Accepted Manuscript
43. Bonneville S, Van Cappellen P, Behrends T: **Microbial reduction of iron(III) oxyhydroxides: effects of mineral solubility and availability**. *Chemical Geology* 2004, **212**:255-268.
44. Zachara JM, Fredrickson JK, Smith SC, Gassman PL: **Solubilization of Fe(III) oxide-bound trace metals by a dissimilatory Fe(III) reducing bacterium**. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2001, **65**:75-93.
45. Jain A, Loeppert RH: **Effect of competing anions on the adsorption of arsenate and arsenite by ferrihydrite**. *Journal of environmental quality* 2000, **29**:1422-1430.
46. Bousserhine N: *PhD thesis*. Univ. Nancy; 1995.
47. Bousserhine N, Gasser UG, Jeanroy E, Berthelin J: **Bacterial and chemical reductive dissolution of Mn-, Co-, Cr-, and Al-substituted goethites**. *Geomicrobiology Journal* 1999, **16**:245-258.
48. Pedersen H, Postma D, Jakobsen R: **Release of arsenic associated with the reduction and transformation of iron oxides**. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 2006, **70**:4116-4129.
49. Charlet L, Bosbach D, Peretyashko T: **Natural attenuation of TCE, As, Hg linked to the heterogeneous oxidation of Fe(II): an AFM study**. *Chemical Geology* 2002, **190**:303-319.
50. Liger E, Charlet L, Van Cappellen P: **Surface catalysis of uranium(VI) reduction by iron(II)**. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1999, **63**:2939-2955.

51. Campbell KM, Malasarn D, Saltikov CW, Newman DK, Hering JG: **Simultaneous Microbial Reduction of Iron(III) and Arsenic(V) in Suspensions of Hydrous Ferric Oxide.** *Environmental Science & Technology* 2006, **40**:5950-5955.
52. Byrne RH, Kester DR: **Solubility of hydrous ferric oxide and iron speciation in seawater.** *Marine Chemistry* 1976, **4**:255-274.
53. Langmuir D, Whittemore DO: **Variations in the Stability of Precipitated Ferric Oxyhydroxides; Nonequilibrium systems in natural water chemistry.** *Advances in Chemistry Series* 1971, **106**:209-234.
54. Rose J, Manceau A, Bottero J-, Masion A, Garcia F: **Nucleation and Growth Mechanisms of Fe Oxyhydroxide in the Presence of PO₄ Ions. 1. Fe K-Edge EXAFS Study.** *Langmuir* 1996, **12**:6701-6707.
55. Châtellier X, West M, Rose J, Fortin D, Leppard G, Ferris F: **Characterization of Iron-Oxides Formed by Oxidation of Ferrous Ions in the Presence of Various Bacterial Species and Inorganic Ligands.** *Geomicrobiology Journal* 2004, **21**:99-112.
56. Steefel CI, Van Cappellen P: **A new kinetic approach to modeling water-rock interaction: The role of nucleation, precursors, and Ostwald ripening.** *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1990, **54**:2657-2677.
57. Langmuir D: **The Gibbs free energies of substances in the system Fe-O₂-H₂O-CO₂ at 25 degrees C.** In *Geological Survey research 1969*. Publications of the U. S. Geological Survey; 1969:B180-B184.
58. BGS AND DPHE: In *Arsenic contamination of groundwater in Bangladesh.* *Keyworth.* Edited by: Kinniburgh DG, Smedley PL. 2001.
59. Radu T, Subacz JL, Phillippi JM, Barnett MO: **Effects of Dissolved Carbonate on Arsenic Adsorption and Mobility.** *Environmental Science & Technology* 2005, **39**:7875-7882.
60. Charlet L, Silvester E, Liger E: **N-compound reduction and actinide immobilisation in surficial fluids by Fe(II); the surface identical with Fe (super III) OFe (super II) OH degrees species, as major reductant; The geochemistry of crustal fluids.** *Chemical Geology* 1998, **151**:85-93.
61. Sani RK, Peyton BM, Dohnalkova A, Amonette JE: **Reoxidation of Reduced Uranium with Iron(III) (Hydr)Oxides under Sulfate-Reducing Conditions.** *Environmental Science & Technology* 2005, **39**:2059-2066.
62. Al-Borno A, Tomson M: **The temperature dependence of the solubility product constant of vivianite.** *Geochimica et Cosmochimica Acta* 1994, **58**:5373-5378.

3.1.10 Additional file 1 “Composition of growth media and phylogenetic characterization”

The data provided describe the both growth media and the phylogenetic affiliation of the pure strains which were isolated from the FR bacterial community.

3.1.10.1 Selection of iron-reducing bacteria (FR) with the Bromfield medium

The bacterial community FR was selected from a soil containing high concentrations of heavy metals without contamination with As (industrial site). FR was selected for its ability to reduce Fe(III) to Fe(II) in controlled conditions at pH 6. A modified Bromfield medium (BR) was used for selection and maintenance. The composition of BR growth medium is available in Table S1.

Table S1

Bromfield medium composition (ref. [1])

Component	Quantity
Glucose	9 g
Yeast Extract	0.15 g
KH ₂ PO ₄	0.5 g
(NH ₄) ₂ SO ₄	1 g
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0.5 g
CaCO ₃	4 g
Amorphous oxyhydroxide of iron (HFO)	0.5 g
Deionized water	1000 mL

Particles of HFO from BR, which were prepared as described in Materials and Methods but without addition of arsenic were poured together into a hermetically closed glass flask and autoclaved three times for 1 hour at 110°C at 24 hours intervals. Selection of the FR community was achieved by incubating 70 g of soil in 500 mL of BR medium containing HFO under a CO₂ atmosphere in a 1 L bottle. After one month of incubation, 10 mL of this enrichment were transferred to a 250 mL CO₂-tight flask containing 90 mL of BR medium.

The BR medium which contained glucose was only used for initial selection and maintenance of a microbial population, including probably dissimilatory iron-reducing bacteria (DIRB) and/or fermenting bacteria. Because glucose is a well known fermentable carbon source, we used for all experiments a different culture medium called CAsR1 with acetate and lactate instead of glucose as carbon sources, in order to select mainly DIRB rather than fermenting bacteria.

3.1.10.2 Composition of growth medium CAsR1 used in experiments

A growth medium was used previously for growing arsenic-reducing bacteria by Battaglia *et al.* (2002) [2]. It contains mainly acetate and lactate and also trace elements (Table S2). It was used for all experiments AD1, CP1, AD5, CP5.

Table S2**CAsR1 medium composition (ref. [2])**

Component	Quantity
Na-Lactate	2.2 g
Na-Acetate, 3H ₂ O	2.0 g
KH ₂ PO ₄	0.2 g
NaCl	0.5 g
NH ₄ Cl	0.2 g
MgCl ₂ , 6H ₂ O	0.1 g
CaCl ₂ , 2H ₂ O	0.1 g
<i>Trace elements solution</i> *	1 mL
Deionized water	1000 mL

*Trace elements solution

HCl solution (25%)	6.5 mL
FeCl ₂ , 4H ₂ O	1.5 g
H ₃ BO ₃	60 mg
MnSO ₄ , H ₂ O	117 mg
CoCl ₂ , 6H ₂ O	25 mg
ZnCl ₂	70 mg
NiCl ₂ , 6 H ₂ O	25 mg
CuCl ₂ , 2H ₂ O	15 mg
Na ₂ MoO ₄ , 2 H ₂ O	25 mg
Deionized water	1 000 mL

3.1.10.3 Experimental method for isolation of pure strains from FR with phylogenetic characterization

Five successive dilutions of FR community were performed in sterile deionized water and 0.1 mL of each dilution were inoculated on Petri dishes containing solid Bromfield medium. Incubations were performed at 25°C in anaerobic boxes containing an oxygen trap (Anaerocult Merck). Different types of isolated colonies were inoculated separately in 10 mL of Bromfield medium and immediately transferred to a 250 mL CO₂-tight flask containing 90 mL of Bromfield medium and 0.05 g of HFO. To conserve each pure strain, 10 mL of the cultures were monthly transferred into the same medium.

Genomic DNA was extracted from cell pellets by bead beating using the FastDNA[®] MH Kit and the Bio101 FastPrep[®] Instrument (Bio101, Vista, Ca.). Small-subunit ribosomal RNA (16S rRNA) genes were amplified by PCR using the bacterial primers 9F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') and 1492R (5'-TACGGTTACCTTGTTACGAC-3'), an annealing temperature of 55°C, and 30 cycles. PCR products were purified with the GeneClean Turbo Kit (Qbiogene, Montreal, Canada) and cloned with the pGEM-T Easy Cloning Kit (Promega, San Luis Obispo, Calif.). Plasmids containing the insert of the right length (ca. 1.5 kb) were purified using the Wizard Plus SV Miniprep DNA Purification Kit (Promega). Inserts were sequenced by Genome Express (Grenoble, France) with primers SP6 (5'-ATTTAGGTGACACTATAGAA-3') and T7 (5'-TAATACGACTCACTATAGGG-3') targeting the plasmid. Partial 16S rRNA sequences were aligned with reference sequences using the sequence editor BioEdit [3]. Only unambiguously aligned sequence positions (1415 nucleotides) were exported to Treecon version 1.3b program [4], and distance analyses were

performed by the method of Jukes and Cantor [5]. 16S rRNA gene sequences have been deposited to GenBank under accession numbers AY925091, AY925092 and AY925093.

The capacity of the pure strains as well as the FR community to use As(V) as terminal electron acceptor was tested in the selective medium for dissimilatory As(V)-reducing bacteria described by Kuai *et al.* [6].

3.1.10.4 Phylogeny of pure strains isolated from FR

After one week of incubation at 25°C in anaerobic boxes, three morphologically different types of colonies (FRB1, FRB2 and J) were observed and maintained in axenic cultures. Among these pure strains, only FRB1 was able to reduce aqueous As(V) to As(III) under anaerobic conditions. Phylogenetic analyses of 16S rRNA gene sequences (1415 bp) clearly affiliated strains FRB1 and J to the Gram-positive genus *Clostridium*, and to the species *C. pasteurianum* and *C. tyrobutyricum*, respectively (> 99% identities). Strain FRB2 belonged to the Gram-positive genus *Sporolactobacillus*, being most closely related to *S. nakayamae* subsp. *nakayamae* (> 99.5% identities).

Based solely on 16S rRNA phylogeny, none of the isolated strain can be considered as a new species, identity values being higher than the recommended limit of 97% for species definition [7].

3.1.10.5 Phylogenetic affiliation of the isolated strain

FRB1

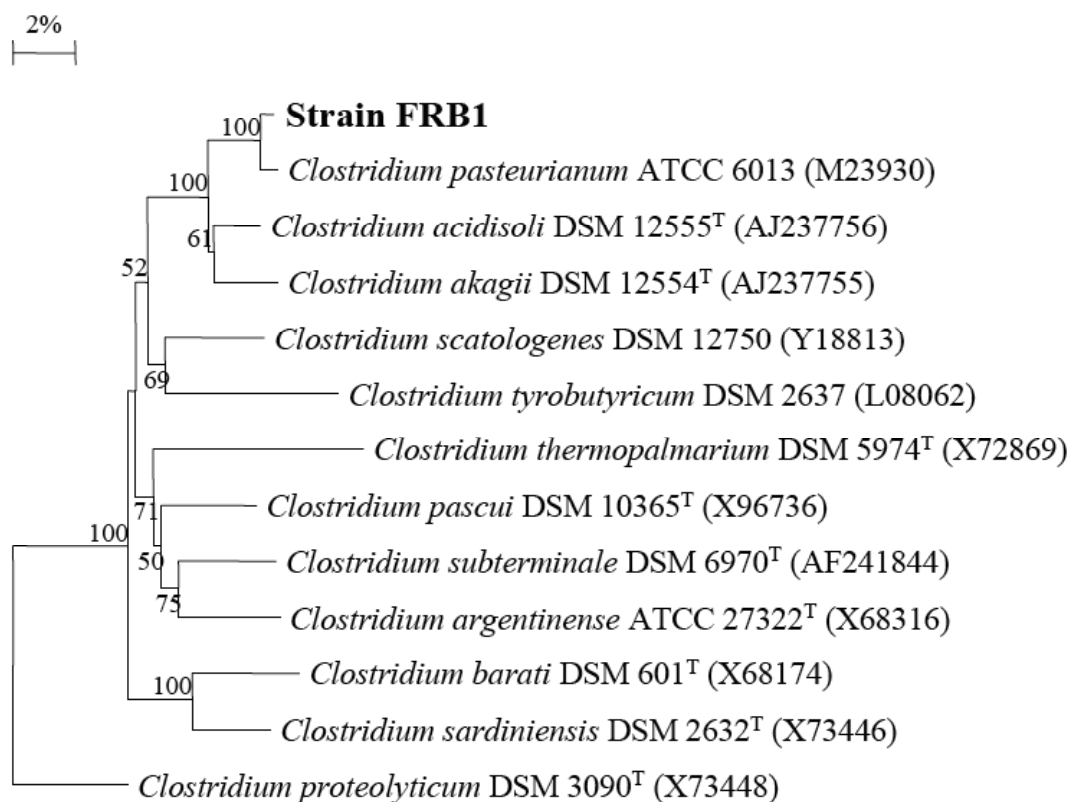


Figure S1 : Phylogenetic affiliation of FRB1 isolated from FR community (which respire Fe(III) and As(V)). The 16S rDNA sequence of *Clostridium proteolyticum* was used to root the tree.

There are recent reports on the implication of *Clostridium* species in As(V)-reducing activity: sp. OhilAs [8], ARCL1 and AKAR3 [9]. However, the 16S RNA sequences of these species were not available in databases and could not be compared to the sequence of strain FRB1.

Additional References

1. Bousserhine N. *PhD thesis*. Univ. Nancy 1995.
2. Battaglia-Brunet F, Dictor M, Garrido F, Crouzet C, Morin D, Dekeyser K, Clarens M, Baranger P: *Journal of applied microbiology* 2002, **93**:656-667.
3. Hall TA: *Nucleic acids Symp* 1999, **41**:95-98.
4. Van de Peer Y. and De Wachter R: *Comp Applic Biosci* 1994, **10**:569-570.
5. Jukes TH and Cantor CR: **Evolution of protein molecules**. In *Mammalian Protein Metabolism* Edited by Munro H. N., New York: Academic Press; 1969:211-232.
6. Kuai L, Nair AA, Polz MF: *Appl. Environ. Microbiol.* 2001, **67**:3168-3173.
7. Wayne LG, Brenner DJ, Colwell RR, Grimont PAD, Kandler O, Krichevsky MI, Moore LH, Moore WEC, Murray RGE: *Int J Syst Bacteriol* 1987, **37**:463-464.
8. Oremland RS and Stolz JF: The ecology of arsenic. *Science* 2003, 300:939-944.
9. Rhine ED, Garcia-Dominguez E, Phelps CD, Young LY: Environmental Microbes Can Speciate and Cycle Arsenic. *Environmental Science & Technology* 2005, 39:9569-9573.

3.2 Réduction de la ferrihydrite arséniée en présence de sulfure d'hydrogène

3.2.1 Avant-propos

La présence de bactéries sulfato-réductrices (BSR) dans les zones anoxiques des aquifères du delta du Bengale est vraisemblable. Sa présence comme celle des bactéries ferri-réductrices fait actuellement l'objet de recherches par différentes équipes de microbiologistes (Gault et al., 2005). Ces bactéries produisent du sulfure d'hydrogène en solution, HS^- , qui en réduisant les phases porteuses de l'arsenic, peut ensuite libérer une partie de l'arsenic des sédiments.

Lors de cette seconde série d'expériences comme dans la première série d'expériences décrite dans le chapitre précédent (Chapitre 3.1), la ferrihydrite de synthèse dopée avec de l'arsenic (As(III) et As(V)) est placée en réacteur, soit dans une atmosphère anoxique contenant du sulfure d'hydrogène, soit en présence d'ions sulfates et d'une communauté bactérienne contenant des bactéries sulfato-réductrices.

La réduction des (hydr)oxydes de fer par HS^- a déjà étudiée (Afonso and Stumm, 1992 ; Poulton, 2003) et l'objectif de ces premières expériences abiotiques en batch est d'observer la réduction chimique par HS^- de la ferrihydrite arséniée en présence de sulfate afin de définir *un point de comparaison et de référence* pour les expériences en présence de bactéries sulfato-réductrices.

Une première expérience est réalisée en batch avec une souche pure sulfato-réductrice. Afin de se rapprocher des conditions *in situ*, une eau prélevée dans un aquifère arsénié (Bracieux) avec sa microflore endogène a été utilisée dans une expérience en colonne à percolation ascendante. La colonne préalablementensemencée par l'eau de Bracieux est ensuite alimentée par une eau contenant des ions sulfate et du lactate. Cette partie n'a pas été encore soumise à publication.

3.2.2 Expériences en batch avec une atmosphère à 0.001 atm H₂S

3.2.2.1 Matériel et Méthodes

Dans les expériences en batch, le matériel a été décrit dans le chapitre précédent (Chapitre 3.1). Les différences principales sont, d'une part, le milieu de culture MS2 (Table 5) et d'autre part l'atmosphère du réacteur mélange d'azote et de sulfure d'hydrogène (10⁻³ atm). MS2 est un milieu de culture habituellement utilisé pour des bactéries sulfato-réductrices (par exemple *D. norvegicum*) mais modifié pour tenir des contraintes géochimiques :

- les phosphates sont absents pour éviter la compétition vis-à-vis des sites de sorption de 2LFh avec l'arsenic (arséniate ou arsénite)
- les oligo-éléments (EDTA, Fe, Mn, Zn, Co ...) sont remplacés par la ferrihydrite 2LFh seule ou la ferrihydrite arséniée 2LFh-As(III) ou 2LFh-As(V)

Table 5: Modified growth medium MS2*

NH ₄ Cl	1 g	
Na ₂ SO ₄	1.4 g	18 mM Sulfates (1729 mg/L)
MgSO ₄ , 7H ₂ O	2 g	
Glycerol 5 mM	1.5 g	
Demineralized water	1000 mL	
pH	6	

*phosphates are not included in MS2 to avoid any competition with arsenic for sorption sites onto 2LFh. Also trace elements (EDTA, Fe, Mn, Zn, Co ...) are replaced in the growth medium by 2LFh.

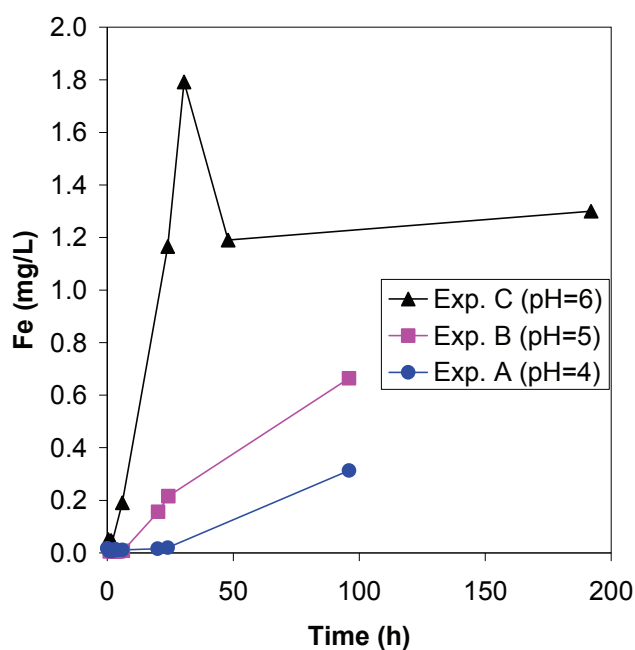
Les expériences sont réalisées sur une période d'environ 9 jours. Les prélèvements (de 12 ml chacun) sont d'abord effectués à intervalle de temps rapproché (environ toutes les 2 heures) puis à intervalle de temps croissant au fur et à mesure de l'expérience. Une analyse du pH et du potentiel redox est effectuée immédiatement sur une partie de l'échantillon et l'autre partie est acidifiée pour une analyse ultérieure du Fer total et de l'As total par Spectrométrie d'Absorption Atomique (AAS) (Varian SpectrAA 300 Zeeman).

Table 6: Experiments with 2LFh, 2LFh-As(III) and 2LFh-As(V)

Name	pH	Solid	Aqueous
Exp. A	4	1.36 g 2LFh	500 mL MS2
Exp. B	5	1.36 g 2LFh	500 mL MS2
Exp. C	6	1.36 g 2LFh	500 mL MS2
Exp. D	6	1.36 g 2LFh-As(III)	500 mL MS2
Exp. E	6	1.36 g 2LFh-As(V)	500 mL MS2

3.2.2.2 Résultats et discussion

Poulton (2003) a comparé, à différents pH, la réduction de la ferrihydrite par le sulfure d'hydrogène dans une solution de NaCl. Il a montré qu'il existe un pH entre 5 et 6 pour lequel la réduction de la ferrihydrite est maximale, ce qui correspond simultanément à une forte concentration de l'anion HS^- en solution et à une forte protonation de la surface (« Reaction rates are maximized at a pH coinciding with a high degree of surface protonation and the presence in solution of significant concentrations of the HS^- ion »). Le pH est un facteur qui joue aussi un grand rôle sur le taux de réduction des hydroxydes de fer dans nos expériences avec la ferrihydrite 2LFH et le milieu MS2 : plus le pH diminue (respectivement pH 4 et 5 dans les expériences A et B), plus la cinétique de réduction de 2LFh diminue (Figure 8).

Figure 8: Effect of pH on 2LFh reduction rate with 0.001 atm H_2S

Poulton (2003) a comparé la réduction dans une solution de NaCl sans et avec sulfates et il a montré que le taux de réduction de la ferrihydrite diminue avec l'augmentation de la concentration en sulfate. Poulton (2003) suggère que l'augmentation des sulfates en solution augmente la complexation des sulfates avec la surface de la ferrihydrite, ce qui inhibe la réduction par HS^- du fait de la compétition des deux anions (« The effect of sulfate on the rate of Fe(II) dissolution may be attributable to the formation of the $>\text{FeSO}_4$ surface complex »). La présence sur la surface de la ferrihydrite d'arsénates As(V), et dans une moindre mesure d'arsénite As(III), inhibe la réduction du solide 2LFh par les sulfures à pH 6 (Figure 9). La complexation des anions arsénates AsO_4^{3-} sur la surface de la ferrihydrite joue probablement un rôle similaire à celui joué par les anions SO_4^{2-} dans les expériences de Poulton (2003). Dans le cas de l'arsénite sous forme neutre $\text{As}(\text{OH})_3(\text{aq})$, la compétition avec les ions HS^- est probablement moins importante.

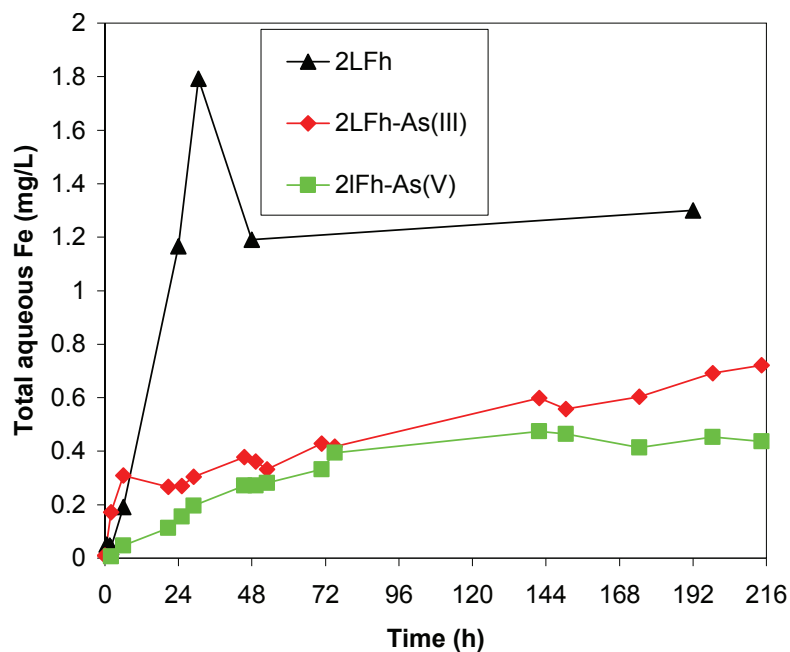


Figure 9: Fe release from 2LFh, 2Fh-As(III) and 2Lfh-As(V) (10^{-3} atm H_2S)

La libération de l'arsenic est plus importante initialement dans le cas avec le solide As(III)-2LFh que dans le cas avec As(V)-2LFh. Au bout de 9 jours, cette différence cependant s'estompe et la concentration en arsenic en solution dans les deux expériences est très proche (Figure 10).

L'objectif de cette étude préliminaire n'est cependant pas de faire une étude de sensibilité complète de la réduction de la ferrihydrite dopé à l'arsenic mais de déterminer la cinétique pour une pression partielle de sulfure d'hydrogène donnée (10^{-3} atm) afin d'avoir *un point de comparaison et de référence* pour les expériences avec du sulfure d'hydrogène biogénique (c'est à dire produit par des bactéries sulfato-réductrices).

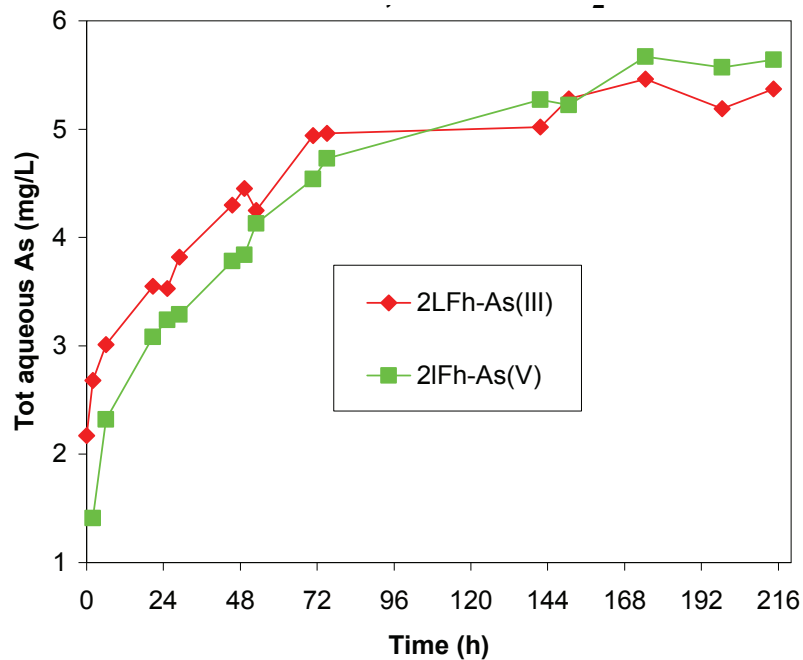


Figure 10: As release from 2LFh-As(III) and 2LFh-As(V) (10^{-3} atm H_2S)

3.2.3 Premier test avec une bactérie sulfato-réductrice *D. norvegicum*

3.2.3.1 Résultat

Une bactérie sulfato-réductrice *D. norvegicum* a été cultivée dans le milieu MS2 non modifié (c'est-à-dire avec des phosphates et des oligo-éléments). La croissance de cette espèce *D. norvegicum* est étudiée dans le milieu MS2 qui est un milieu appauvri en phosphates et en oligo-éléments et en présence du solide 2LFh.

Un inoculum de 5 mL contenant *D. norvegicum* est introduit dans le réacteur et l'évolution du nombre de bactéries ainsi que la concentration en sulfate sont suivis en parallèle. Les résultats donnés dans la Figure 11 ne permettent pas de conclure que la souche

D. norvegicum peut pousser sur un milieu MS2, avec très peu de phosphate et d'oligo-éléments : soit les bactéries ont perdu leur viabilité, soit elles sont en croissance très lente.

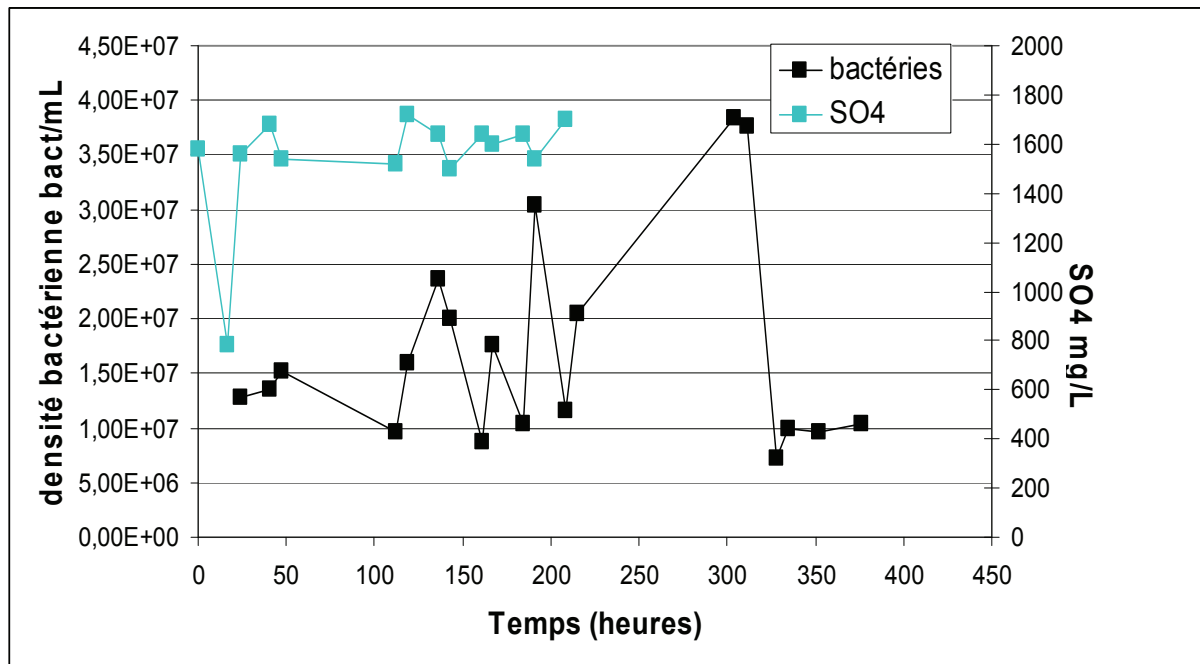


Figure 11: Growth of *D. norvegicum* in MS2 medium with 2LFh

3.2.3.2 Discussion sur la mise en place d'une colonne

Suite à cette expérience préliminaire en batch avec la souche pure *D. norvegicum*, et afin de se placer dans des conditions plus proches des conditions *in situ*, il a été décidé d'étudier dans les expériences en colonne non pas une souche pure sulfato-réductrice (comme la souche *D. norvegicum*) mais une communauté bactérienne issue d'un aquifère faiblement arsénié (13 µg/L dans l'eau de Bracieux, cf. Annexe 1). Ces eaux moyennement sulfatées et faiblement arséniée doivent contenir *a priori* des bactéries capables de réduire les sulfates dans leur métabolisme en présence d'arsenic.

Les particules de fer amorphes sont très solubles et donc d'un point de vue énergétique très favorables pour les bactéries qui peuvent aussi utiliser le fer comme accepteur d'électrons. L'étude du gain énergétique lié aux contraintes thermodynamiques par Kocar *et al* (2009) montre que, pour un pH de 7, la réduction des sulfates est généralement moins favorable énergétiquement que la réduction d'hydroxydes de fer amorphes et plus favorable que la réduction d'oxydes de fer plus cristallisés (goethite, hématite). De même, la réduction de l'arséniate peut-être également plus favorable que la réduction des sulfates

(Kocar *et al* 2009). Afin d'éviter de sélectionner des bactéries utilisant la ferrihydrite ou l'arséniate dans leur métabolisme, il a été choisi de créer une colonne à percolation ascendante à deux niveaux :

- le niveau inférieur de la colonne contenant uniquement du sable près de l'injection
- Un niveau supérieur de la colonne contenant un mélange de sable et de ferrihydrite arsénisée As(III)-2LFh

3.2.4 Expérience en colonne avec la ferrihydrite As(III)-2LFh

3.2.4.1 Eau d'injection

L'eau utilisée pour inoculer la colonne provient d'une nappe phréatique qui s'étend sous la commune de Bracieux dans le Loir et Cher (41). Elle a été choisie car c'est une eau à teneur naturellement élevée en As et donc susceptible de contenir des bactéries résistantes vis-à-vis de la toxicité de cet élément. Elle présente les caractéristiques suivantes : pH entre 7 et 8, fer total : 91 µg/L, sulfates : 8,6 mg/L, arsenic : 13 µg/L (Annexe 1). Le débit de la colonne est faible (2 mL/h) pour favoriser l'attachement des bactéries au sable et la formation éventuelle de biofilms. La température de l'eau d'injection est fixée à 25° C pour accélérer la croissance initiale et après 54 jours baissée à 14 °C qui est la température dans l'aquifère. La composition complète est donnée dans l'Annexe 1.

3.2.4.2 Installation de la colonne

Une colonne verticale en verre a été utilisée de diamètre intérieur de 3,5 cm, mesure 32 cm pour une contenance de 400 mL. Elle possède une double enveloppe permettant le contrôle de la température par circulation d'une eau thermostatée (25°C ou 13°C). Les 2 extrémités sont aménagées et permettent la percolation ascendante d'un fluide le long de la colonne. Cinq dispositifs de prélèvement équipés de septum sont répartis à égale distance le long de la colonne (à environ 5 cm jusque 25 cm de l'injection). Les septa 1 et 2 sont dans la zone inférieure, le septum 3 est près de l'interface, les septa 4 et 5 sont dans la zone supérieure (Figure 12).

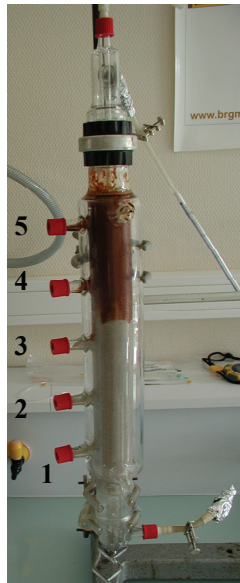


Figure 12: 1D column with ascending flow percolation and five septa. Low level with only sand and top level with a mixture sand/As(III)-2LFh

- Un niveau inférieur contenant uniquement du sable avec un pourcentage massique 99.8 % de quartz et moins de 0,003 % d'(hydr)oxydes de fer.
- Un niveau supérieur contenant un mélange de sable avec un pourcentage massique 5.4 % de ferrihydrite arsénisée As(III)-2LFh

La colonne est remplie de sable. Ce matériel est choisi car il est simple à utiliser en colonne et est un des composants principaux des sédiments du delta du Bengale, c'est donc un bon analogue pour une expérimentation en colonne. Le sable est lavé avec une solution d'HCl à 1% puis autoclavé. La colonne est divisée en 2 parties (Figure 12). La partie inférieure est remplie en premier par 320 g de sable. La partie supérieure est ensuite ajoutée avec un mélange de 320 g de sable et de 18,3 g d'oxy-hydroxydes de fer amorphes ferrihydrite (2LFh) dopés à l'As(III) (avec un ratio massique As/Fe de 8,9 %, cf. Table 3). La quantité de fer 5.4 wt.% est plus importante que dans les aquifères du Bengale (0.009 wt.%, cf section 4.1).

Une fois la colonne remplie, de l'azote est injecté par les septa à l'aide d'une seringue pour chasser l'oxygène et établir l'anaérobiose. Les solutions d'alimentation sont prélevées grâce à une pipette reliée à un tuyau directement connecté à une pompe.

3.2.4.3 Méthodologie

- 1 Inoculation de la colonne (jours 1 à 17) : la phase d'ensemencement dure environ 17 jours pendant lesquels on injecte l'eau de Bracieux avec sa microflore endogène.
- 2 Modification de l'alimentation (jours 17 à 54) : Afin de stimuler la croissance bactérienne et déclencher l'activité des espèces sulfato-réductrices, l'alimentation de la colonne est modifiée après 17 jours (T0). Une solution est préparée en dissolvant 370 mg de sulfate de sodium, 250 mg d'extrait de levure et 830 mg de lactate de sodium (60 %) dans 1L d'eau de Bracieux filtrée. La solution est autoclavée puis son pH est ajusté à 7,5 avec une solution d'H₂S diluée au 1/5. Durant cette période, les flacons placés à la sortie de la colonne sont changés 2 fois par jour.
- 3 Profil temporel en sortie de colonne : La mesure du pH des échantillons est faite immédiatement après la collecte. Tous les échantillons collectés à la sortie de la colonne sont filtrés à 0,45 µm avant l'analyse. Le dosage du sulfate, dans le cadre de la détermination du temps de séjour et du suivi de la colonne, est réalisé par chromatographie ionique (ICS 3000, Dionex). Le dosage de l'As et du fer total est réalisé par spectromètre d'absorption atomique par électrothermie (SpectrAA 220 – Zeeman, Varian). Les échantillons sont acidifiés avant dosage par de l'acide nitrique (HNO₃).
- 4 Prélèvement et conditionnement des échantillons (jours 43, 44, 48) : Dès le démarrage visible de la sulfato-réduction, des prélèvements sont réalisés sur les 5 septa en commençant par le haut de la colonne. Les analyses chimiques sont réalisées sur la phase liquide tandis que les analyses microbiologiques sont faites sur la phase solide. La phase liquide est prélevée à l'aide d'une seringue munie d'une longue aiguille. Avant chaque prélèvement, l'ensemble est rincé à l'azote pour limiter l'oxydation des substances en solution. Le potentiel d'oxydo-réduction de chaque échantillon est mesuré sous flux d'azote. Le pH est également relevé. 2 mL de solution sont filtrés à 0,45 µm dans un tube contenant 200 µL d'hypochlorite de sodium (NaOCl) à 50 % afin de doser l'arsenic total. En parallèle, 2 mL de solution sont filtrés à 0,45 µm dans un tube contenant 300 µL

d'acétate de zinc ($\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$) à 100 g/L pour déclencher la précipitation des sulfures en un complexe stable. Le dosage des sulfures est réalisé par colorimétrie à 666 nm. Le dosage du sulfate, du thiosulfate, et la détection (qualitative) des thioarsénites sont réalisés par chromatographie ionique. Le dosage de l'arsenic total est réalisé par spectrométrie d'émission atomique à source plasma à couplage inductif (ICP-AES). Le sable est prélevé à chaque septum à l'aide d'une pipette, par carottage. Il servira à l'étude des communautés microbiennes par biologie moléculaire.

- 5 Baisse de la température (du jour 54 au jour 100) : Afin de se rapprocher des conditions *in situ* de l'eau de Bracieux (Annexe 1), une température de 13°C est imposé à partir du jour 54 jusqu'au jour 100. Cette baisse de température est un stress pour les bactéries et les réactions seront temporairement ralenties.

3.2.4.4 Dénombrement par le nombre le plus probable (NPP) des bactéries ferri-réductrices

Le dénombrement des bactéries ferri-réductrices est réalisé en milieu liquide selon la technique du nombre le plus probable (NPP) à partir du sable prélevé de la colonne. Une quantité de sable variant de 0,64 à 1,61 mg de sable humide est inséré dans des flacons contenant 10 mL d'eau de Bracieux filtrée. Les communautés sont cultivées sur un milieu spécifiques en tube de Hungate (Table 8, Annexe 3).

3.2.4.5 Observation visuelle et profil temporel en sortie de colonne

- Durant le fonctionnement de la colonne, le débit d'alimentation oscille de 1,5 à 2 mL/h. La ferrihydrite 2LFh mélangée au sable donne initialement une couleur orangée à la zone supérieure alors que le sable est gris dans la zone inférieure (a).
- Après ajout des sulfates et de lactate ($T_0=17$ jours), un précipité noir apparaît après 35 jours ($T_0 +18$ jours) dans la zone située à l'interface des deux zones (b) et fournit une indication visuelle de l'activité sulfato-réductrice.
- La couleur noire se propage de manière ascendante dans la phase supérieure durant la phase et un prélèvement est réalisé les jours 43, 44 et 48 dans les 5 septa (c).

- A partir du jour 54, la température de la colonne initialement de 25°C est diminuée à 14°C, ce qui stoppe temporairement les réactions.

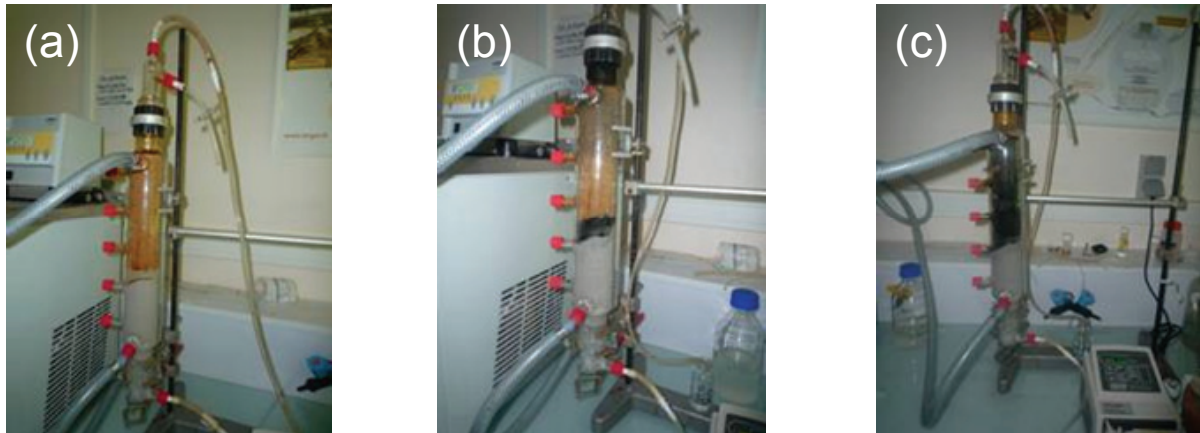


Figure 13: day 17 is the start of percolation with lactate and sulphate (a), first black precipitate at the interface day at day 35 (b) extraction of eluates and solids from the five septa at days 43, 44, 45 (c)

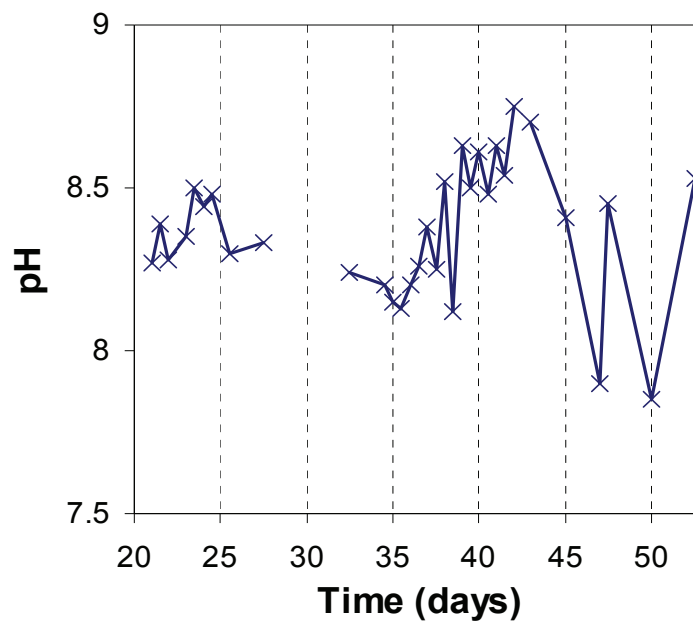


Figure 14: pH change at the outlet of the column between 20 days and 54 days (Sulfate injection after 20 days, decrease of T° after 54 days)

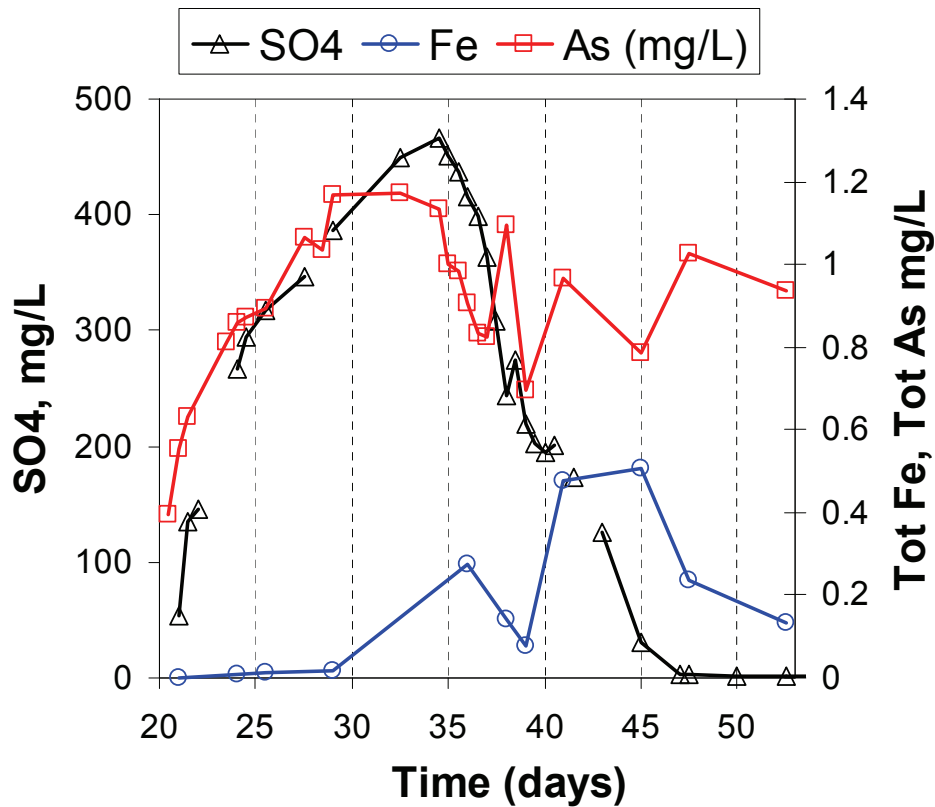


Figure 15: Total As (open square), Total Fe (open circle) and SO4 (open triangles) elution as a function of time between 20 days and 54 days

- L'alimentation d'eau de Bracieux stérilisée dopée en sulfate et lactate débute à partir du temps T0 (17 jours). Après percolation dans la colonne, la concentration en ions sulfate retrouvée en sortie augmente (Figure 15). Elle atteint 450 mg/L. Cette valeur maximale peut s'expliquer par la combinaison des ions sulfate ajoutées et de l'ajustement du pH avec de l'acide sulfurique. Cette augmentation de la concentration des ions sulfates est fortement corrélée à l'augmentation de l'arsenic en solution (Figure 15) jusque 37 jours. Entre 35 et 42 jours, la concentration des ions sulfates diminue en parallèle à une légère augmentation du pH de 8,1 à 8,8 entre 35 et 42 jours (Figure 14).
- La phase porteuse constituée par la ferrihydrite 2LFh dopée à l'As(III) est peu soluble. Au bout de 36 jours, peu après l'apparition du précipité noir, la concentration en fer retrouvée en sortie de colonne augmente et atteint un

maximum de 0.5 mg/L suivie d'une phase d'oscillations (Figure 15). Après la diminution de la température (jour 54), la concentration de fer augmente jusque 86 jours et ensuite diminue jusqu'au jour 100 (Figure 16). Cette augmentation de la concentration en fer est corrélée avec celle en arsenic.

- Le maximum d'As est atteint en sortie de colonne près 79 jours.

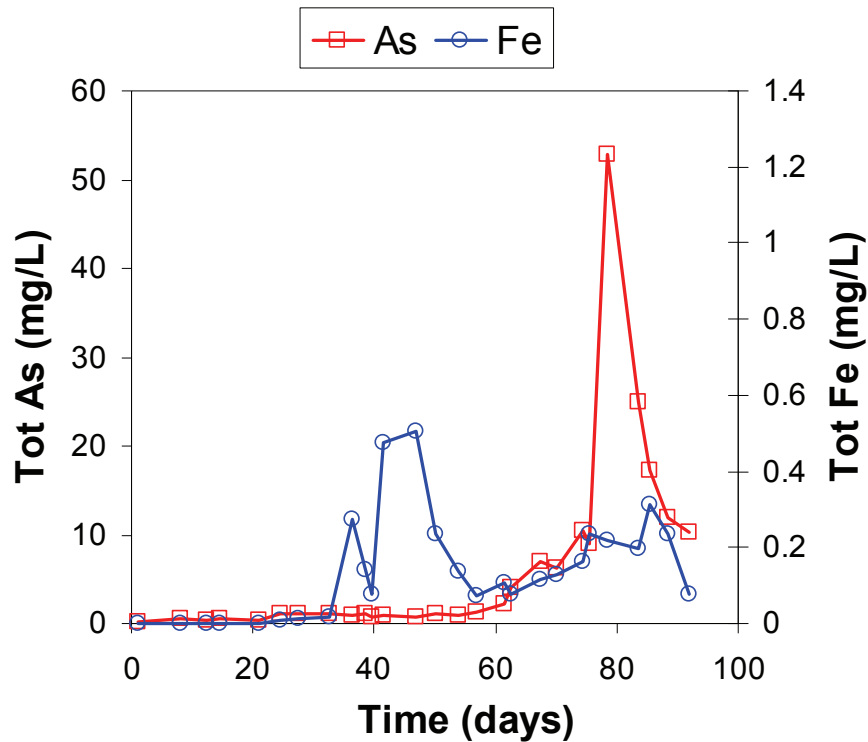


Figure 16: Total As and Fe elution as a function of time until 100 days

3.2.4.6 Profil spatial aux jours 43, 44 et 48

La campagne de prélèvement de la phase liquide a été réalisée 8 jours après l'apparition du précipité de sulfure de fer au niveau de l'interface de la colonne (jours 43, 44 et 48). Les résultats des analyses sont présentés dans les figures 12-13-14 avec les profils chimiques obtenus pour les 5 septa de la colonne.

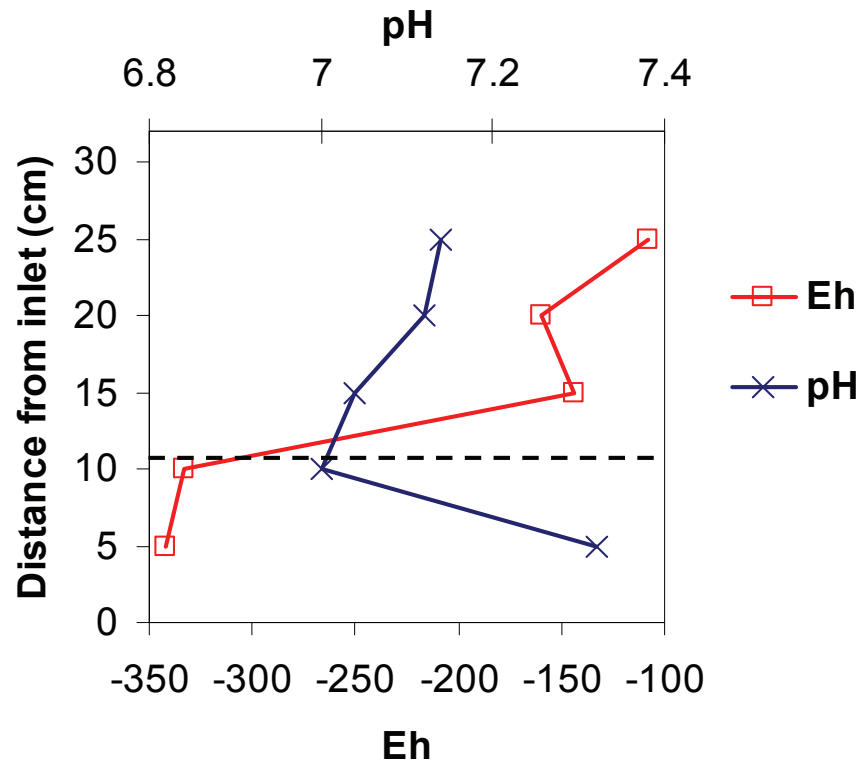


Figure 17: pH and Eh within column porewater as a function of distance from inlet (dashed line represents boundary between sand/2LFh, above, and clean quartz sand, below)

- Le pH est relativement homogène le long de la colonne et proche de la neutralité (entre 7 et 7.32), il est plus faible dans la zone inférieure d'injection. L'eau de la zone supérieure a un potentiel d'oxydo-réduction Eh variant de -108 à -160 mV. La zone inférieure d'injection est une zone plus réductrice avec des valeurs d'Eh entre -333 et -342 mV (Figure 17).
- La concentration en ions sulfates est maximale proche de la zone d'injection (158 mg/L) et pour les 2 septa du bas (Figure 18). Dans la zone supérieure, les concentrations en sulfate sont plus faibles et varient de 15 à 51 mg/L. Les sulfures présents dans la partie inférieure de la colonne sont très réducteurs et imposent un potentiel d'oxydo-réduction très négatif dans cette zone (-300 mV). La Figure 19 montre que les concentrations en sulfure dans la zone supérieure avec du fer solide sont 100 fois inférieures à celles analysées dans le sable seul.

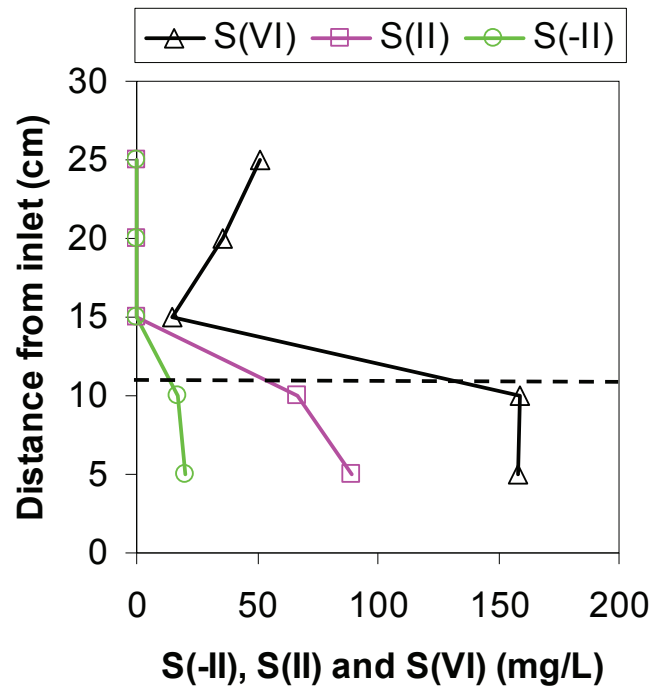


Figure 18: Sulfate S(VI), thiosulfate S(II) and sulfide S(-II) as a function of distance from inlet

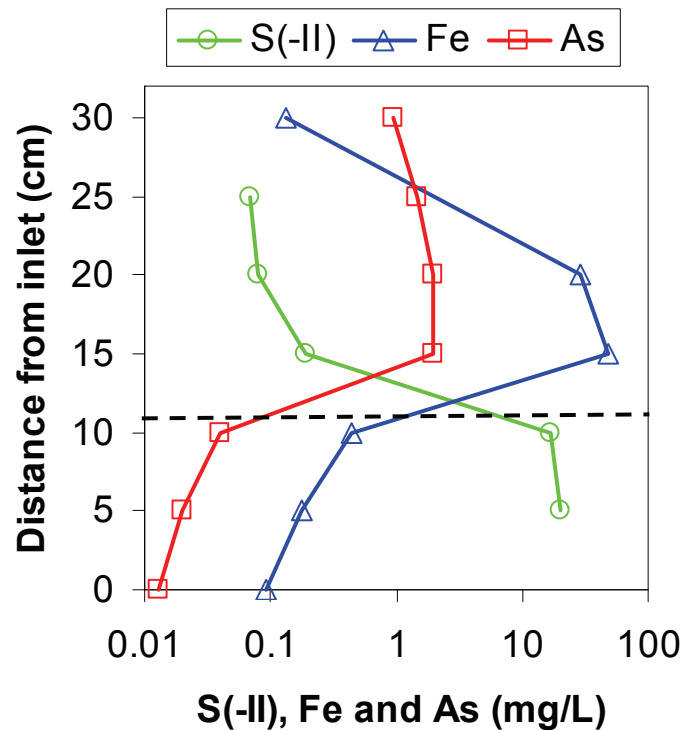


Figure 19: Sulfate S(VI), total Fe and total As as a function of distance from inlet (dashed line represents boundary between sand/2LFh, above, and quartz sand, below)

- La concentration d'arsenic initialement présente dans l'eau d'injection est de 13 µg/L d'As (cf. Annexe 1). Dans la zone supérieure, les concentrations en arsenic sont entre 1 et 2 mg/L alors que les concentrations sont de l'ordre de 20 à 40 µg/L dans la zone inférieure, soit environ 50 fois plus importante (Table 7). Il existe un maximum d'arsenic en solution au niveau de l'interface entre le sable et le mélange sable/ferrihydrate.
- La présence de thio-arsénites au niveau des trois septa supérieurs, est révélée par l'apparition de 3 pics sur le chromatogramme correspondant à la signature de 3 espèces thio-arséniées distinctes (Table 7 et Annexe 2). Les thio-arsénites sont présents en plus grande quantité au septum 3 qu'aux septa 4 et 5 (Table 7) dans la zone où la concentration d'arsenic est la plus élevée (Figure 19).
- Des thiosulfates sont mis en évidence dans la partie inférieure de la colonne, là où les sulfures sont en contact avec le sulfate. Le degré d'oxydation du thiosulfate, sulfure et sulfate est respectivement S(+II), S(-II), S(VI). Ce sont des produits intermédiaires de la réduction du sulfate par les bactéries sulfato-réductrices (Le Gall, 1975).
- Des bactéries ferri-réductrices sont présentes au niveau des 5 septa, leur nombre est approximativement homogène le long de la colonne (Table 7). Le gène *dsrAB* est également détecté dans toute la colonne (Table 7 et Annexe 3).

Table 7: Presence of thioarsenite, IRB and *dsrAB* gene in the column (days 43,44, 48)

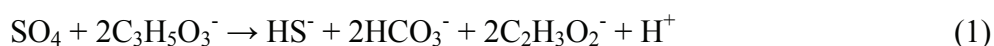
Septum	Mixture Sand-Ferrihydrite			Sand	
	5	4	3	2	1
ΣSulfide (mg/L)	0.07	0.08	0.19	17	20
Tot As (µg/L)	1480	1970	1986	40	20
Thioarsenites	+	+	++	-	-
Iron-reducing bacteria number per sand gram	$3,3.10^5$	$3,5.10^5$	$1,3.10^5$	$3,1.10^5$	$2,2.10^5$
<i>dsrAB</i> gene	+	+	+	+	+

(-) absence, (+) presence, (++) strong presence

3.2.4.7 Discussion

L'augmentation des concentrations en sortie de colonne lors de l'ajout des sulfates est probablement liée à une compétition entre les ions sulfates et l'arsenic pour les sites de sorption de la ferrihydrite 2LFh.

Le gène *dsrAB* (dissimilatory sulfite reductase) code une des enzymes bactériennes responsables de la production d'H₂S. Cet enzyme est responsable de la réduction du sulfite S(IV) en S(-II). Il nous a servi d'indicateur de la production potentielle de sulfures par voie microbienne. La présence de ce gène est montrée dans les 5 septa de la colonne après 43 jours alors même que ce gène n'est pas initialement détecté dans l'eau de Bracieux (Annexe 3). Des bactéries sulfato-réductrices étaient certainement présentes dans l'eau de Bracieux, mais de façon minoritaire, et donc non détectables par les méthodes moléculaires. Leur nombre a augmenté dès que les conditions favorables à leur croissance ont été établies, c'est-à-dire après l'apport de lactate (donneur d'e⁻) et des sulfates (accepteurs d'e⁻). La détection de sulfure dissous confirme que ce potentiel a été effectivement exprimé. L'activité bactérienne sulfato-réductrice produit de l'acétate et du sulfure d'hydrogène par oxydation du lactate :



Cette réaction produit de l'acidité, ce qui peut expliquer la diminution du pH de 7.3 à 7 entre le septum 1 et 2 près de la zone d'injection avec une eau à 7.5 (Figure 17). Les sulfures transportés par l'eau d'injection, réduisent les 2LFh en produisant du soufre solide S⁰ (Poulton, 2003).



Cette réaction consomme de l'acidité, ce qui peut expliquer la montée du pH après 35 jours en sortie de colonne (Figure 14). Le sulfure d'hydrogène peut être aussi produit par l'oxydation du soufre élémentaire dans un second temps :



Le Fe(II) libéré à l'interface peut précipiter avec les ions HS⁻ résiduels ou formés par l'oxydation de S⁰ pour former du monosulfure de fer amorphe Fe(II)S de couleur noire :



La consommation des HS⁻ empêche la formation de sulfure d'arsenic comme l'orpiment amorphe As₂S₃ ou le réalgar AsS.

La présence de bactéries ferri-réductrices a aussi été mis en évidence dans toute la colonne (Table 7). La baisse de la concentration en fer (jours 50 à 54) est probablement liée soit à une cinétique de précipitation du monosulfure de fer FeS, soit à l'inhibition de l'activité des bactéries ferri-réductrices par le sulfure dissous. **Une synergie entre les deux activités bactériennes peut également exister car le produit de la sulfato-réduction (HS⁻) est consommé par le Fe(II), ce qui diminue l'effet toxique du HS⁻ et favorise énergétiquement les deux réactions de sulfato-réduction et de ferri-réduction via la consommation de leurs produits Fe(II) et HS⁻.**

Lorsque la sulfato-réduction débute à l'interface, la concentration en arsenic mesurée en sortie de colonne ne change pas significativement entre 35 et 50 jours (Figure 15). L'arsenic libéré peut très probablement se ré-absorber sur la ferrihydrite résiduelle située au-dessus (en aval) dans la colonne car les sites de sorption ne sont pas saturés *a priori*. Une autre explication possible est que l'arsenic n'est pas libéré en solution tant que les nanoparticules de fer ne sont pas entièrement dissoutes. Cet effet de latence de la libération de l'arsenic sorbé sur de la ferrihydrite a déjà été mis en évidence par Pedersen *et al* (2006). Ce n'est qu'après environ 80 jours que l'arsenic est relargué lorsque la ferrihydrite est réduite sur l'ensemble de la zone supérieure de la colonne (Figure 16). Un bilan massique montre qu'après 100 jours, environ 15 % de l'arsenic initialement présent dans le système est relargué, alors que moins de 0.01 % du fer a été lixivié.

Cette expérience met en évidence un couplage entre les cycles biogéochimiques des éléments soufre, fer et arsenic. Les quantités aqueuses de sulfates et solides d'arsenic et de fer sont cependant initialement plus élevées que celles observées dans les sédiments sableux/silteux du delta du Bengale. Le chemin réactionnel mis en évidence est donc probablement un des chemins possibles parmi d'autres.

3.2.5 Annexe 1 «Analyse de l'eau arsénisée prélevée à Bracieux (Loir et Cher)»



Préfecture de LOIR ET CHER
DIRECTION DEPARTEMENTALE DES AFFAIRES SANITAIRES ET SOCIALES
Service Santé-Environnement

Contrôle sanitaire des EAUX DESTINEES A LA CONSOMMATION HUMAINE

Résultats à afficher en mairie

Blois, le 5 juillet 2007

ARRIVE LE,

09 JUL. 2007

SAUR
LA CHAUSSEE ST VICTOR

MONSIEUR LE DIRECTEUR
SAUR DE LA CHAUSSEE ST VICTOR
Rue du château d'eau
41260 LA CHAUSSEE SAINT VICTOR

COMMUNE DE BRACIEUX

Prélèvement 00028407
Installation CAP 000006 BRACIEUX F2 "LES LOGES"
Point de surveillance P 000000006 LE BOURG
Localisation exacte EAU BRUTE
Commune BRACIEUX
Prélevé le : mardi 29 mai 2007 à 10h30
par : LDA -Karine ROQUIN
Type visité : RP

Mesures de terrain

Saisi le

10 AOUT 2007

Température de l'eau
pH La Chaussée St Victor

Résultats

13,7 °C
7,8 unitépH

Limites de qualité

inférieures supérieures

25,00

Analyse laboratoire

Analyse effectuée par : LABORATOIRE DEPARTEMENTAL D'ANALYSE DE LOIR ET CHER, BLOIS 4101
Type d'analyse : RP-41 Code SISE de l'analyse : 00033494 Référence laboratoire : 20070529-05964

Résultats

Limites de qualité

inférieures supérieures

CARACTERISTIQUES ORGANOLEPTIQUES

Aspect (0=r.a.s., sinon =1, cf comm.)

0 qualit.

Turbidité néphélométrique

0,30 NTU

EQUILIBRE CALCO-CARBONIQUE

Carbonates

0,0 mg/CO3

CO2 libre calculé

5,4 mg/l

Hydrogencarbonates

232,0 mg/l

pH

7,90 unitépH

Titre alcalimétrique

<0,1 °F

Titre alcalimétrique complet

19,0 °F

Titre hydrolimétrique

18,7 °F

FER ET MANGANESE

Fer total

91 µg/l

Manganèse total

<5 µg/l

MINERALISATION

Calcium

65,2 mg/l

Chlorures

8,5 mg/l

Conductivité à 25°C

390 µS/cm

Magnésium

5,1 mg/l

Potassium

3,3 mg/l

Silicates (en mg/L de SiO2)

34,0 mg/l

Sodium

11,0 mg/l

Sulfates

8,6 mg/l

200,00

200,00

250,00

OLIGO-ELEMENTS ET MICROPOLLUANTS M.

DDASS 41 Santé-environnement 41 rue d'Auvergne 41018 BLOIS CEDEX Tél: 02 54 55 78 79 Fax: 02 54 74 29 20

Analyse effectuée par : LABORATOIRE DEPARTEMENTAL D'ANALYSE DE LOIR ET CHER, BLOIS
Type de l'analyse : RP-A1

Code SISE de l'analyse : 00033494

4101

Référence laboratoire : 20070529-05984

	Résultats	Limites de qualité	
		Inférieures	Supérieures
OLIGO-ELEMENTS ET MICROPOLLUANTS M.			
Antimoine	<5 µg/l		
Arsenic	13 µg/l		100,00
Bore mg/L	< 0,05 mg/l		
Cadmium	<0,5 µg/l		5,00
Fluorures mg/L	0,21 mg/l		
Nickel	<5 µg/l		
Sélénium	<5 µg/l		10,00
OXYGENE ET MATIERES ORGANIQUES			
Carbone organique total	< 0,4 mg/l C		10,00
PARAMETRES AZOTES ET PHOSPHORES			
Ammonium (en NH4)	<0,05 mg/l		4,00
Nitrates (en NO3)	<1 mg/l		100,00
Nitrites (en NO2)	<0,05 mg/l		
Phosphore total (en P2O5)	<0,2 mg/l		
PARAMETRES MICROBIOLOGIQUES			
Entérocoques /100ml-MS	0 n/100ml		10000
Escherichia coli /100ml -MF	0 n/100ml		20000

Analyse effectuée par : LABORATOIRE DE L'IRH GENIE DE L'ENVIRONNEMENT, VANDOEUVRE
Type de l'analyse : RP-ST

Code SISE de l'analyse : 00033495

5401

Référence laboratoire : C07-14955-P02

	Résultats	Limites de qualité	
		Inférieures	Supérieures
COMPOSES ORGANOHALOGENES VOLATILS			
Tétrachloroéthylène-1,1,2,2	<0,5 µg/l		
Trichloroéthylène	<1,0 µg/l		
DIVERS MICRO POLLUANTS ORGANIQUES			
Hydrocarbures dissous ou émulsionnés	<0,10 mg/l		1,00
METABOLITES DES TRIAZINES			
Alrazine-délsopropyl	<0,03 µg/l		2,00
Alrazine déséthyl	<0,03 µg/l		2,00
PESTICIDES AMIDES, ACETAMIDES, ...			
Alachlore	<0,02 µg/l		2,00
Isoxaben	<0,05 µg/l		2,00
Métazachlore	<0,02 µg/l		2,00
Métolachlore	<0,02 µg/l		2,00
Napropamide	<0,02 µg/l		2,00
Oryzalin	<0,05 µg/l		2,00
Tébutam	<0,05 µg/l		2,00
PESTICIDES ARYLOXYACIDES			
2,4-D	<0,02 µg/l		2,00
2,4-MCPA	<0,05 µg/l		2,00
Clodinafop-propargyl	<0,10 µg/l		2,00
Dichlorprop	<0,05 µg/l		2,00
Diclofop méthyl	<0,05 µg/l		2,00
Haloxypop-méthyl (R)	<0,04 µg/l		2,00
Mécoprop	<0,05 µg/l		2,00
Triclopyr	<0,05 µg/l		2,00
PESTICIDES CARBAMATES			
Aldicarbe	<0,02 µg/l		2,00
Carbendazime	<0,03 µg/l		2,00
Carbofuran	<0,015 µg/l		2,00
Méthiocarb	<0,02 µg/l		2,00
PESTICIDES DIVERS			
Aciflufen	<0,050 µg/l		2,00
AMPA	<0,10 µg/l		2,00
Benoxacor	<0,10 µg/l		2,00
Bentazone	<0,05 µg/l		2,00
Bromacil	<0,10 µg/l		2,00
Captane	<0,020 µg/l		2,00
Clopyralid	<0,05 µg/l		2,00
Cyprodinil	<0,05 µg/l		2,00
Diflufenicanil	<0,005 µg/l		2,00
Fenpropiidin	<0,05 µg/l		2,00
Fenpropiomorphe	<0,05 µg/l		2,00

3.2.6 Annexe 2 «Présence de thioarsénites dans la colonne»

La stoechiométrie exacte des espèces thioarsénites n'est pas clairement définie et est un objet de recherche (Wood et al., 2002). Comme il n'existe pas encore de standards, il est seulement possible de mettre en évidence leur présence ou absence, la comparaison de la taille des pics sur un chromatogramme donnant une indication « qualitative » sur leur abondance. La détection de ces complexes, particulièrement instables et difficiles à analyser, est encore en cours de développement au service analyse du Brgm.

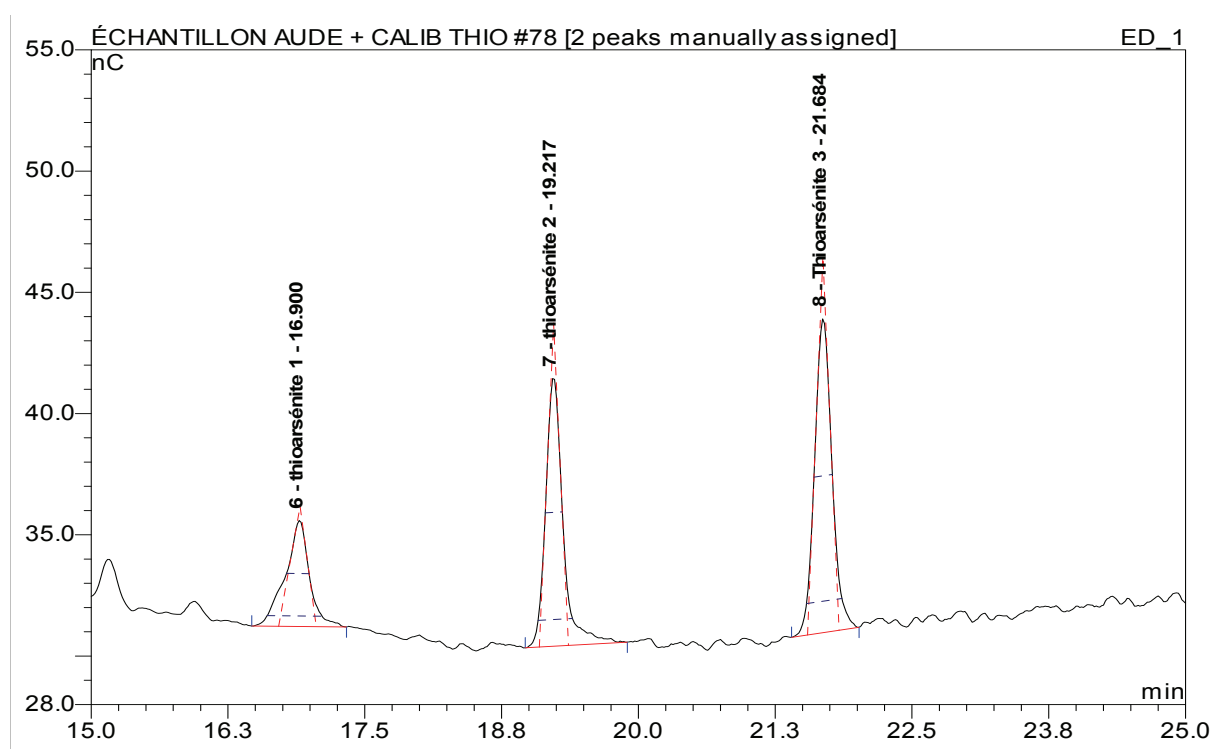


Figure 20: Chromatogram showing three different thioarsenite species identified at the interface between sand and ferrihydrite coated sand

3.2.7 Annexe 3 «Milieu de culture pour bactéries ferri-réductrices et gène de fonction *dsrAB* (dissimilatory sulfite reductase)»

3.2.7.1 Indicateur de bactéries ferri-réductrices

Un mL de chaque tube de Hungate est filtré à 0,45 µm dans un tube contenant 3 mL de tampon acétate pH 4,5 et 0,1 mL de phénantroline à 0,5 %. Les tubes qui virent au rouge sont positifs.

Table 8: Growth medium for iron-reducing bacteria

NH ₄ Cl	2 g
MgCl ₂ , 7 H ₂ O	0.5 g
K ₂ HPO ₄	0.5 g
Sodium acetate	0.5 g
Sodium lactate	6 g
NaCl	1 g
2LFh	5 g
Trace elements	1 ml
Rezazurine	0.5 ml
Bracieux water	1000 mL
pH	7.2

3.2.7.2 Indicateur moléculaire de bactéries sulfato-réductrices

Le gène bactérien *dsrAB* (dissimilatory sulfite reductase) code une des enzymes bactériennes responsables de la production d'H₂S et nous sert d'indicateur de la production potentielle de sulfures par voie microbienne. L'amplification des gènes *dsrAB* avec les amorces DGGE (Denaturing Gradient Gel electrophoresis) décrit dans le Table 9 génère un fragment d'environ 400 pb comme ceux retrouvés dans les échantillons provenant de la colonne. La migration des produits PCR DGGE sur gel 30%-70% fournit des profils identiques pour les 5 échantillons provenant de la colonne (Figure 21). La répartition des BSR est homogène le long de la colonne.

Table 9: Primers used to amplify by PCR *dsrAB* functional gene

Primer name	Target Gene	Type	5' > 3'	Amplified fragment size (pb)
DSR1Fdeg DRS4Rdeg	<i>dsrAB</i>	forward reverse	ACSCAYTGGAARCACG GTGTARCAGTTDCCRCA	1 900

L'amplification à partir de l'ADN de l'eau de Bracieux ne fournit cependant pas le fragment attendu. Les BSR ne sont donc pas détectables par cette méthode dans l'eau de Bracieux bien que détectables dans la colonne.

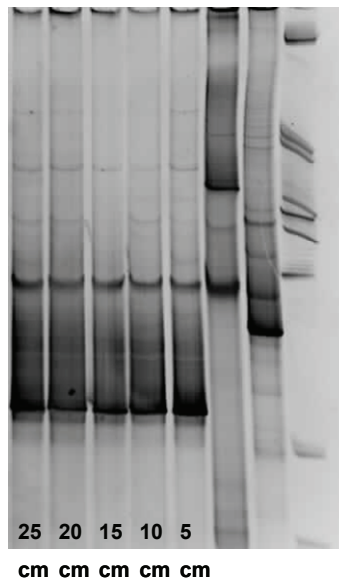


Figure 21: DGGE gels from the 5 septa (5 cm to 25 cm from inlet)

4. Données de terrain et modélisation

4.1 Données 2000-2002 à Chakdaha

(Inde) et modélisation *“Mobility of arsenic in the sub-surface environment: An integrated hydrogeochemical study and sorption model of the sandy aquifer materials”*

4.1.1 Avant-propos

Dans le chapitre précédent (Chapitre 3) consacré aux expériences de laboratoire, nous avons étudié les transformations minéralogiques du milieu expérimental en les comparant aux dynamiques des populations microbiennes anaérobies (ferri-réductrices, sulfato-réductrices). Il s’agit dans ce chapitre d’étudier les conditions géochimiques *in situ* sur le site de Chakdaha au Bengale Occidental (Inde) à partir des campagnes de terrain effectuées entre 2000 et 2002.

Ma contribution dans cet article a consisté d’une part à étudier les corrélations entre les concentrations en solution des éléments arsenic, fer et manganèse et d’autre part à étudier les transformations de phases solides contrôlant éventuellement la mobilité de l’arsenic. Une étude sur l’ensemble des données en solution à l’aide du logiciel de géochimie MINTEQ a permis de montrer dans un premier temps que les carbonates étaient proches de la saturation, seule la sidérite étant légèrement sur-saturée. D’autre part, deux transversales à la rivière Hoggly ont mis en évidence une corrélation négative entre l’arsenic en solution et le manganèse en solution. L’ensemble de ces observations ont permis de proposer un scénario de (bio)réduction dissimilatrice des oxydes de manganèse et de fer suivie par une précipitation de carbonates, comme la rhodochrosite. Ce scénario se traduit par un relargage de l’arsenic qui se sorbe beaucoup plus sur ces oxydes que sur les carbonates. J’ai ensuite testé ce scénario en utilisant les résultats des données de sorption de l’arsenic sur le matériau sableux prélevé dans l’aquifère et le pourcentage de carbonates observé dans ce sédiment.

Mobility of arsenic in the sub-surface environment: An integrated hydrogeochemical study and sorption model of the sandy aquifer materials

Bibhash Nath^{a, b}, Sudipta Chakraborty^{b, c, d}, André Burnol^{d, e}, Doris Stüben^f, Debashis Chatterjee^b and Laurent Charlet^d

^aSchool of Environmental Systems Engineering, The University of Western Australia, M015, 35 Stirling Highway, Crawley 6009, Australia

^bDepartment of Chemistry, University of Kalyani, Nadia 741 235, West Bengal, India

^cDepartment of Chemistry, Kanchrapara College, University of Kalyani, Kanchrapara 743 145, West Bengal, India

^dEnvironmental Geochemistry Group, LGIT-OSUG, Grenoble University, BP 53, 38041 Grenoble Cedex 9, France

^eBRGM, Bureau de Recherches Géologiques et Minières, Environment and Process Division, 3, Avenue Claude Guillemin, BP 6009, 45060 Orléans Cedex 2, France

^fInstitute für Mineralogie und Geochemie, Universität Karlsruhe, D-76128 Karlsruhe, Germany

[Journal of Hydrology](#)

[Volume 364, Issues 3-4](#), 30 January 2009, Pages 236-248

4.1.2 Summary

Groundwater and aquifer materials have been characterized geochemically at a field site located in the Chakdaha municipality of West Bengal, India. Sorption experiments were also carried out on a sandy aquifer material to understand the mobility of arsenic (As) in the sub-surface environments. The result shows that the areas associated with high groundwater As (mean: 1.8 μM) is typically associated with low Eh (mean: -129 mV), and high Fe (mean: 0.11 mM), where $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}(\text{OH})_3$ couple is controlling groundwater redox potential. Analysis of the aquifer material total concentrations showed the dominance of As (range: 8.9–22 mg kg^{-1}), Fe (range: 3.0–9.7% as Fe_2O_3) and Mn (range: 0.05–0.18% as MnO) in the silt-/clay-rich sediments; whereas fine-/medium-sand rich sediment contains considerably lower amount of As ($<8.1\text{ mg kg}^{-1}$), Fe (range: 1.6–3.9% as Fe_2O_3) and Mn (range: 0.02–0.08% as MnO). The acid extractable As do not correlate with ascorbate extractable Fe-oxyhydroxide, however Fe-oxyhydroxide is generally high in the sediments from low groundwater As areas. Chemical speciation computations indicated Fe(II), Ca(II), Mg(II) and Mn(II) to be at equilibrium (with respect to calcite, dolomite and rhodochrosite) or slightly over-saturated (with respect to siderite). These carbonate minerals may therefore participate to the As

immobilization. The measured total organic carbon ($\sim 1\%$) and groundwater temperature (26–32 °C) coupled with sorption studies strongly favors microbially mediated Fe(III)-oxyhydroxide reduction as the dominant mechanism for the release of As in the groundwater. Oscillations of As, Mn and Fe concentrations with depth reflected $p\text{CO}_2$ oscillations consecutive to microbial respiration intensity.

4.1.3 Introduction

Occurrence of As in groundwater has long been detected in tube well and drinking water supplies in SE Asia (e.g., Thailand, Vietnam, Lao PDR, Cambodia and Myanmar), India, Bangladesh, China, Mongolia, Nepal and Pakistan ([[Smedley and Kinniburgh, 2002](#)], [[Bhattacharyya et al., 2003a](#)], [[Sun et al., 2004](#)], [[Polya et al., 2005](#)], [[Stanger et al., 2005](#)], [[Kohnhorst, 2005](#)], [[Nickson et al., 2005](#)], [[Tetsuro et al., 2006](#)], [[Nath et al., 2008a](#)] and [[Berg et al., 2008](#)]). It was estimated that more than 100 million people are at risk due to consumption of harmful toxic groundwater in these countries (e.g., [[Nordstrom, 2002](#)], [[Sun et al., 2004](#)] and [[SOES, 2008](#)]). Currently, the situation in Bengal delta plain (BDP, West Bengal and Bangladesh) is a subject of concern, since a large portion of the inhabitants (>40 million), mostly in rural villages depend on As-enriched groundwater for drinking purpose ([[Nordstrom, 2002](#)] and [[SOES, 2008](#)]). This may results in the exposure to As, which is a significant cause of skin pigmentation, hyperkeratosis, carcinogenicity, cardiovascular disease and may affect mental development of children, among other possible adverse effects (e.g., [[Guha Majumder et al., 1988](#)], [[Smith et al., 2000](#)], [[Bhattacharyya et al., 2003b](#)] and [[Kapaj et al., 2006](#)]).

As-enriched groundwaters are typically observed in the young quaternary deltaic environments where groundwater is mostly under reducing condition. Numerous studies on groundwater As have been conducted to understand the release mechanism and the cause for its heterogeneous distribution. However, there are a lot of ambiguities concerning release and distribution of As in the sub-surface environment. The most common and widely accepted mechanism is attributed to Fe(III)-reduction model ([[Bhattacharya et al., 1997](#)], [[Nickson et al., 1998](#)] and [[McArthur et al., 2001](#)]), validated by many others (e.g., [[BGS and DPHE, 2001](#)], [[Bhattacharyya et al., 2003a](#)] and [[Nath et al., 2008a](#)]). [McArthur et al. \(2004\)](#) observed that high groundwater As ($>0.66 \mu\text{M}$) was associated with extensive reduction of Fe-oxyhydroxide (i.e., grey aquifer sediments); whereas low groundwater As ($<0.66 \mu\text{M}$) was characterized by incomplete reduction (i.e., brown aquifer sediments). The extensive

groundwater pumping may have triggered Fe(III)-oxyhydroxide reduction, by inducing and enhancing groundwater flow, associated organics flow and thus release sorbed As (e.g., [Harvey *et al.*, 2002] and [Acharyya, 2002]). However, [Nath *et al.* (2008b)] found no relation between high groundwater As and high groundwater pumping. Beside Fe-oxyhydroxides in the sediments, Fe-bearing minerals such as biotite, chlorite and carbonates were found to be the main carrier phases of As, and they may act as potential As pollutants in groundwater ([Pal *et al.*, 2002] and [Nath *et al.*, 2008c]). In particular siderite, carbonate green rust and calcite have been shown to be excellent As scavengers ([Jönsson and Sherman, 2008] and [Román-Ross *et al.*, 2006]). Recently, [Polizzotto *et al.*, 2006] and [Polizzotto *et al.*, 2008] suggested that As may be released at the oxic–anoxic boundaries, i.e., closed to the surface, and be drawn down from the near-surface through the aquifer to well-depths. Contrary, [Sengupta *et al.* (2008)] observed that surface recharge (through pond) does not pose any threat to As contamination. However, none of these studies convincingly addressed why neighbouring wells may have very contrasting aqueous geochemical behavior, as illustrated in Bangladesh by [van Geen *et al.* (2003)].

The purpose of this study is to characterize an aquifer close to the Hooghly river, the largest tributary of the Ganges in West Bengal, India, in terms of groundwater chemistry, redox peculiarities in aqueous phase, sediment geochemistry and sorption behaviour of the aquifer materials. The study site is located 65 km North of Kolkata, beside Hooghly river. The hydrochemical study was made to highlight the behaviour and distribution of redox species (e.g., As, Fe and Mn) in groundwater, while geochemical characterization of the sediments to evaluate the role of lithology (e.g., grain size) and mineral species (e.g., carrier phases: sources and sink) on the distribution of As in the sub-surface environments. The sorption model of the sandy aquifer material enhanced our understanding to decipher natural geochemical processes that have an important control on groundwater geochemistry.

4.1.4 Materials and methods

4.1.4.1 Geology and physiographic setting

The study area ($\sim 16 \text{ km}^2$, Chakdaha Municipality, West Bengal, [Fig. 1](#)) is an integral part of the BDP, the world largest delta, by its size, density of population and low elevation leading to frequent flooding. The BDP has a characteristic geomorphic and geologic feature. Various geomorphological units were mapped ([Morgan and McIntire, 1959], [Umitsu, 1987] and [Brammer, 1996]), which include piedmont plains, fluvial flood plains (e.g., the moribund

delta), the Chandina plain (Bangladesh) and upland Pleistocene terraces (Barind and Madhupur tracts of Bangladesh). Throughout the Holocene period, BDP seems to have acted as a fluvial-estuarine-marine platform between the marine (lower part of delta) and non-marine (upper delta and valley margin fan) sedimentation. The sedimentary succession of estuarine-fluviatile deposit of the study area generally comprises of Fe-coated micaceous sand, silt, clay and with fining upward sequence of variable thickness ([Bhattacharya et al., 1997](#)). The drainage pattern of the area is principally controlled by the Hooghly–Bhagirathi river. The area is also adorned with various surfacial features such as swamps, flood basins, inter-distributary swamps, meander scars, abandoned channels, oxbow lakes, etc. These surfacial features are often found in the low-lying areas rich in organic matter/humas and high in aqueous As ([Nath et al., 2005](#)).

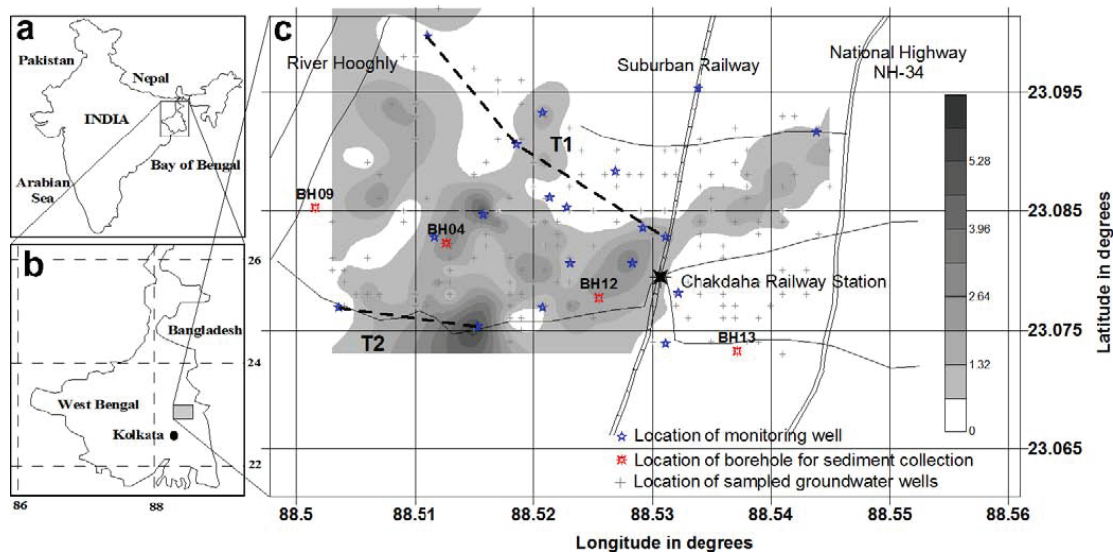


Figure 1. Map of the study area (16 km², Chakdaha Municipality, West Bengal, India) showing spatial distribution of dissolved As (µM). Location of groundwater wells, monitoring wells (for temporal study), boreholes and both transects (T1 and T2) are shown. Hooghly river is bound to NW; latitude and longitude units are in degrees. Note that high As (>0.66 µM) areas are shown as grey shade (light to dark in order of increasing concentration levels).

The climate is tropical, hot and humid (temperature ranges between 8 and 42 °C and mean relative humidity >65%, range: 40–93%), and is comparatively drier in winter and summer than rest of the year. Rainfall of the area is ranging between 1295 and 3945 mm with a mean of 2620 mm.

4.1.4.2 Sampling method and analysis

4.1.4.2.1 Groundwater collection and analysis

In June 2002, preliminary survey was carried out to locate low ($\text{As} < 0.66 \mu\text{M}$) and high ($\text{As} > 0.66 \mu\text{M}$) groundwater As areas. The groundwater samples ($n = 160$) have been measured for pH, Eh, electrical conductivity (EC) and temperature as well as for total As and Fe concentrations. The physical groundwater parameters have been measured using WTW (Germany) multimeters. The detailed sampling strategy and analytical procedure have been described elsewhere ([\[Charlet *et al.*, 2005\]](#) and [\[Charlet *et al.*, 2007\]](#)). Total As concentration was measured using spectrophotometer (following silver dithiodicarbamate method) and ICP-AES (Perkin Elmer 3300 DV Optima), while total Fe concentration was measured colorimetrically (with spectrophotometer, Perkin Elmer Lambda-20) using the o-phenanthroline method, but after reduction with hydroxylamine hydrochloride ([Vogel, 1989](#)). In the detailed survey, 62 wells have been selected based on spatial distribution (obtained from preliminary study) of As and Fe in groundwater to observe geochemical variability and to highlight the As release mechanism. The samples have been measured for dominant ions (cations and anions) using ion chromatography. The samples for As speciation [As(III) and As(V)] have been collected following the procedure described in [Meng and Wang \(1998\)](#) and analyzed using ICP-AES technique. Fe(II) concentrations were measured colorimetrically in the field (with spectrophotometer, Perkin Elmer Lambda-20) using o-phenanthroline method ([Vogel, 1989](#)). The Fe(III) concentrations were calculated by subtracting Fe(II) from total iron concentrations.

Temporal and vertical variation of some redox sensitive elements (e.g., As, Fe and Mn) were also studied. Based on detailed survey, 20 wells (8 from low As and 12 from high As areas) have been selected for this study. The redox behaviours were also observed along groundwater flow path demarcated as T1 and T2 transects. The detailed study concerning hydrogeology (groundwater flow) already presented elsewhere ([Nath *et al.*, 2008b](#)). This two transects lies equidistance above and below transect of [Charlet *et al.* \(2007\)](#). [Charlet *et al.* \(2007\)](#) modeled the groundwater chemistry to predict contaminant plume propagation.

4.1.4.2.2 Sediment collection and analysis

The sediment samples were collected from the boreholes (BH-09, BH-04, BH-12 and BH-13) to study detailed geochemical characteristics of the sediments ([Fig. 1](#)). The borehole drillings

were executed using a conventional house-hold technique (hand percussion and reversed circulation) described in [Horneman *et al.* \(2004\)](#). Immediately upon collection, the samples were transferred to an icebox under nitrogen atmosphere and stored at 4 °C.

The collected samples were opened under anaerobic condition at LGIT, France and analyzed for particle sizes, mineralogical compositions, acid digestion for total As and ascorbate extraction for amorphous Fe-oxyhydroxides ([Kostka and Luther, 1994](#)). For particle size analysis, air-dried sample (~ 0.5 g) was initially disaggregated with an ultrasonic probe using water as a dispersant medium and were determined for particle sizes using laser diffraction based particle size analyzer (Mastersizer 2000, HydroG). The mineralogical studies (X-ray diffraction, Siemens) were carried out using a Cu K α radiation and operating (40 kV and 37.5 mA) with the help of a computer program DIFFRAC/AT version 3.3 by using the JCPDS database. The selective grains of micas were also examined under scanning electron microscope (SEM, Hitachi, model S415A).

The bulk sediment samples have been characterized geochemically at IMG, Universität Karlsruhe and measured for carbon content, minor and trace element concentration. The total (TC) and inorganic (IC) carbon contents were measured using carbon water analyzer (CWA 5003, Leybold Heraeus), and calculated for total organic carbon (TOC) contents by subtracting IC from TC. As, Fe (as an assumed Fe₂O₃ phase) and Mn (as an assumed MnO phase) contents were measured using energy dispersive X-ray fluorescence (ED-XRF) (SPECTRACE 5000, Becker Huges). Prior to analysis, the bulk samples were ground to fine powders and homogenized. Arsenic content was measured using a Pd primary filter to optimize the excitation, which led to a detection limit of ~ 2 mg kg⁻¹. Accuracy was checked by analyzing the certified reference material GXR-2 in each analytical batch, while precision based on repeated measurements of the standards was found to be better than $\pm 5\%$ for about 30 mg kg⁻¹ As.

4.1.4.3 Batch sorption study of arsenate on bulk sediment

The bulk sediments used in this study were collected from borehole ‘BH-09’ (depth: 18.3–18.5 m), ~ 100 m away from the present riverbank of Hooghly ([Fig. 1](#)). Conventional batch method was employed for this study. In this sorption study, we used As(V) as this is the dominant fraction of total As in the investigated aquifer (see “Results and discussion”). Appropriate stock solutions of As(V) were prepared by dissolving reagent-grade sodium arsenate (Na₂HAsO₄·7H₂O; Fluka Chemika) in deionized water (Millipore Milli-Q 18 M Ω).

Standard solutions for ICP were prepared by diluting 1000 ppm Alpha & Merck standards. The bulk sediment ($\sim 42 \text{ g L}^{-1}$) was shaken overnight with 10^{-3} M NaNO_3 (Fluka Chemika). After 15 h of pre-equilibration, As(V) stock solution of appropriate concentrations was added. The pH values were adjusted by adding 0.1 M HNO_3 or NaOH with As(V) ranging from 1.6×10^{-6} to $6 \times 10^{-5} \text{ M}$. After shaking at room temperature ($24 \pm 1^\circ \text{C}$) for 168 h, the supernatant solutions were analyzed for pH with an Orion glass combined electrode. The tubes were then centrifuged at 14,400 rpm for 10 min, filtered through a $0.45 \mu\text{m}$ cellulose ester filter membrane and the filtrate was stored at 4°C after acidification with 1% HNO_3 until analyzed in ICP-AES (Perkin Elmer 3300 DV optima with a detection limit of $0.3 \mu\text{mol L}^{-1}$ for As) for As(V). The sorbed As was calculated from the difference between the concentration before and after equilibration with the sediment particles. Blanks were also prepared and analyzed similarly, no detectable As was found to be sorbed on the walls of either the centrifuge tube or magnetic stirrer bar. Kinetics of arsenate sorption onto sand ($\sim 42 \text{ g L}^{-1}$) was carried out in a 10^{-3} M NaNO_3 background ionic media, at initial concentrations of $1.4 \times 10^{-5} \text{ M}$. All solutions were prepared in a background of 10^{-3} M NaNO_3 . Samples (5 ml) were collected at time intervals of 24, 48, 120 and 168 h and were filtered through $0.45 \mu\text{m}$ filter paper and analyzed with ICP for As(V).

4.1.4.4 Sorption modeling

Arsenic surface excess Γ (mol As kg^{-1}) and equilibrium As concentration C (mol L^{-1}) were fitted with the Freundlich equation:

$$\Gamma = K_f C^n \quad (1)$$

where K_f (L kg^{-1}) and n are constants.

The Freundlich equation can be transformed to a linear equation as $\log \Gamma = \log K_f + n \log C$. When $n = 1$, Eq. (1) reduces to a linear relationship and the Freundlich K_f is equivalent to K_d (distribution coefficient, i.e., the ratio of the amount of As sorbed to the equilibrium solution concentration) given by $K_d = \Gamma/C$.

If the distribution coefficient K_d tends to a finite constant as the surface excess Γ tends to zero, and if K_d extrapolates to zero at some finite value of the surface excess, then Γ can always be fit to a two-term series of the form (Sposito, 2004):

$$\Gamma = b_1 K_1 C / (1 + K_1 C) + b_2 K_2 C / (1 + K_2 C) \quad (2)$$

where b_1 , K_1 , b_2 , K_2 are empirical parameters. This decomposition in two-terms has no particular chemical significance in terms of sorption reactions but these parameters are convenient for evaluating according to (2) both maxima values namely the maximum value of $K_{d \max} = \Gamma/C = (b_1 K_1 + b_2 K_2)$ as C tends to zero and the maximum value of $\Gamma_{\max} = (b_1 + b_2)$ as C tends to infinite.

4.1.5 Results and discussion

4.1.5.1 Groundwater quality and redox chemistry

4.1.5.1.1 Chemical characteristics of the groundwater

The results from preliminary survey reveals that the study area can be categorized into two major domains, high (mean: 1.8 μM) and low groundwater As areas (mean: 0.28 μM). In high groundwater As areas, the As concentrations generally varies 3–4 orders of magnitude and remain above National standard (0.66 μM or 0.05 mg L^{-1}) and WHO (0.13 μM or 0.01 mg L^{-1}) guidelines, the later being itself one order of magnitude lower than our “high”/“low” As content limit. The groundwaters have low Eh (range: –153 to –73 mV; mean: –121 mV) and high bicarbonate (range: 5.8–11 mM; mean: 7.8 mM), irrespective of dissolved As concentration. The groundwater is fresh, electrical conductivity (range: 493–1480 $\mu\text{S cm}^{-1}$; mean: 850 $\mu\text{S cm}^{-1}$) is generally less than 1000 $\mu\text{S cm}^{-1}$ in 76% of the wells and having near-neutral pH (range: 6.8–7.3; mean: 7.0) ([Table 1](#)). The results demonstrate decreasing trend of As concentration with depth, except for a slight increase observed between 70 and 80 m up to (\sim 2.6 μM). However, deeper groundwaters (>80 m depth) are not entirely free from As (0.75 μM > As > 0.13 μM) with respect to stipulated WHO guidelines ([Fig. 2](#)). This contradicts with previously reported As distribution scenario in the BDP (e.g., [\[PHED, 1993\]](#), [\[Bhattacharya *et al.*, 1997\]](#) and [\[BGS and DPHE, 2001\]](#)), highlighting the need for sustainable use of groundwater resources. The possible reason for such decreasing trend could be related to increase in Eh values with depth ([Supplementary data, Table A](#)). The data further shows negative correlation between Eh values and As concentration in groundwater. Moreover, shallow aquifer (15–50 m) have low Eh values compare to deeper aquifer (>50 m) ([Supplementary data, Table A](#)).

Table 1. Measured and analyzed parameters of the groundwater collected during June 2002; (A) preliminary survey and (B) detailed survey.

<i>(A) Preliminary survey (n=160)</i>					
<i>Parameters</i>	<i>Min</i>	<i>Max</i>	<i>Mean</i>	<i>Median</i>	<i>SD</i>
Depth (m)	9.1	159	33	26	25
pH	6.8	7.3	7.0	7.0	0.10
Eh (mV)	-153	-73	-121	-120	17
log pCO ₂ (atm)	-1.7	-1.0	-1.3	-1.3	0.13
EC (μS/cm)	493	1480	850	777	209
Temperature (°C)	26	32	27	27	0.76
Fe (mM)	BDL	0.25	0.10	0.09	0.05
As (μM)	BDL	6.4	0.99	0.60	1.1
<i>(B) Detailed survey (n=62)</i>					
As (μM)	0.11	7.3	2.4	1.5	1.9
As(III) (μM)	0.05	3.3	0.97	0.51	0.87
As(V) (μM)	0.06	4.8	1.4	1.1	1.2
Fe (mM)	0.02	0.36	0.14	0.13	0.07
Fe-II (mM)	0.01	0.25	0.12	0.12	0.06
Fe-III (mM)	0.01	0.11	0.02	0.02	0.02
Mn (μM)	0.92	30	8.4	6.4	6.5
Na (mM)	0.30	3.7	1.1	0.90	0.73
K (mM)	0.03	0.72	0.10	0.09	0.09
Ca (mM)	2.1	5.3	3.3	3.2	0.66
Mg (mM)	0.72	2.1	1.4	1.3	0.32
HCO ₃ (mM)	5.8	11	7.8	7.8	1.2
Cl (mM)	0.09	3.1	0.99	0.40	1.1
SO ₄ (mM)	0.02	0.37	0.15	0.07	0.14
NO ₃ (mM)	0.004	0.20	0.09	0.07	0.08

Note: BDL-below detection limit.

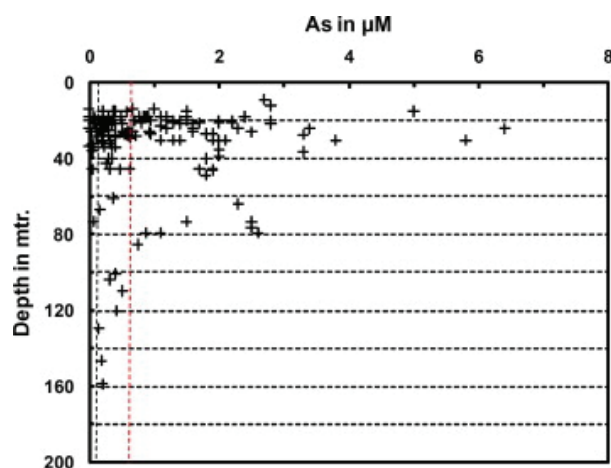


Figure 2. Depth distribution of As contents in groundwater. The National drinking water safe limit (0.66 μM , marked with red dotted line) and WHO guideline value (0.13 μM , marked with black dotted line) is shown in the figure. (For interpretation of the references in colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article).

The detailed survey shows high values of dissolved Fe (range: 0.02–0.36 mM; mean: 0.14 mM), where Fe(II) (range: 0.01–0.25 mM; mean: 0.12 mM) is dominant over Fe(III) (range: 0.01–0.11 mM; mean: 0.02 mM). However, As(V) is itself dominant in the groundwater (range: 0.06–4.8 μM ; mean: 1.4 μM) compare to As(III) (range: 0.05–3.3 μM ; mean: 0.97 μM) ([Supplementary data, Table B](#) and [Table 1](#)). Mn (range: 0.92–30 μM ; mean: 8.4 μM) contents also shows high values in groundwater. The ionic composition depicts Ca–Mg– HCO_3 type groundwater. The detailed geochemical data are also consistent with previously reported studies on As-enriched reducing groundwater (e.g., [Welch, 2000](#), [BGS and DPHE, 2001](#), [Smedley and Kinniburgh, 2002](#), [Shrestha *et al.*, 2003](#) and [Charlet and Polya, 2006](#)).

4.1.5.1.2 Temporal and vertical variations of As, Fe and Mn in groundwater

Groundwater samples have been collected from the tube wells ($n = 20$) during April 2000, March 2001 and June 2002 to study variation of As, Fe and Mn, which normally released to groundwater consistent with the change in redox status of the aquifer ([Appelo and Postma, 1993](#)). The results from each year have been compared, and show irregular increase and decrease of aqueous As, Fe and Mn concentrations ([Table 2](#)). The distributions of the above mentioned species show a decrease in 2001 and increase in 2002 relative to that in 2000 ([Fig. 3](#)). [Aggett and O'Brien \(1985\)](#) estimated a temporal increase (~ 10 –20%, between 1980 and 1982) of As concentration in the lake water from New Zealand, which is typically due to lake stratification and corresponding biological activity (e.g., depletion of oxygen level).

[Wagner et al. \(2005\)](#) executed field studies in Maldah district of West Bengal during 2002 and 2003. They observed an increase in As concentration, which corresponds with a shift toward lower redox potential of the groundwater and link this phenomena to an ongoing dynamic process. Unlike to these, the present study does not show any systematic increase/decrease in the concentrations of redox species with time, which could be due to local redox conditions, dissolution and precipitation of As-bearing carrier phases and groundwater recharge.

Table 2. Variation of redox sensitive species (As, Fe and Mn) in groundwater during 2000–2002.

	As (μM)		Fe (mM)		Mn (μM)		References
	range	mean	range	mean	range	mean	
April 2000	0.69-6.3	2.3	0.04-0.33	0.14	3.1-24	8.6	Charlet et al., 2001
March 2001	0.63-5.6	2.3	0.01-0.18	0.11	2.2-20	7.4	Charlet et al., 2007
June 2002	0.30-5.8	2.4	0.03-0.35	0.16	3.0-21	7.8	This study

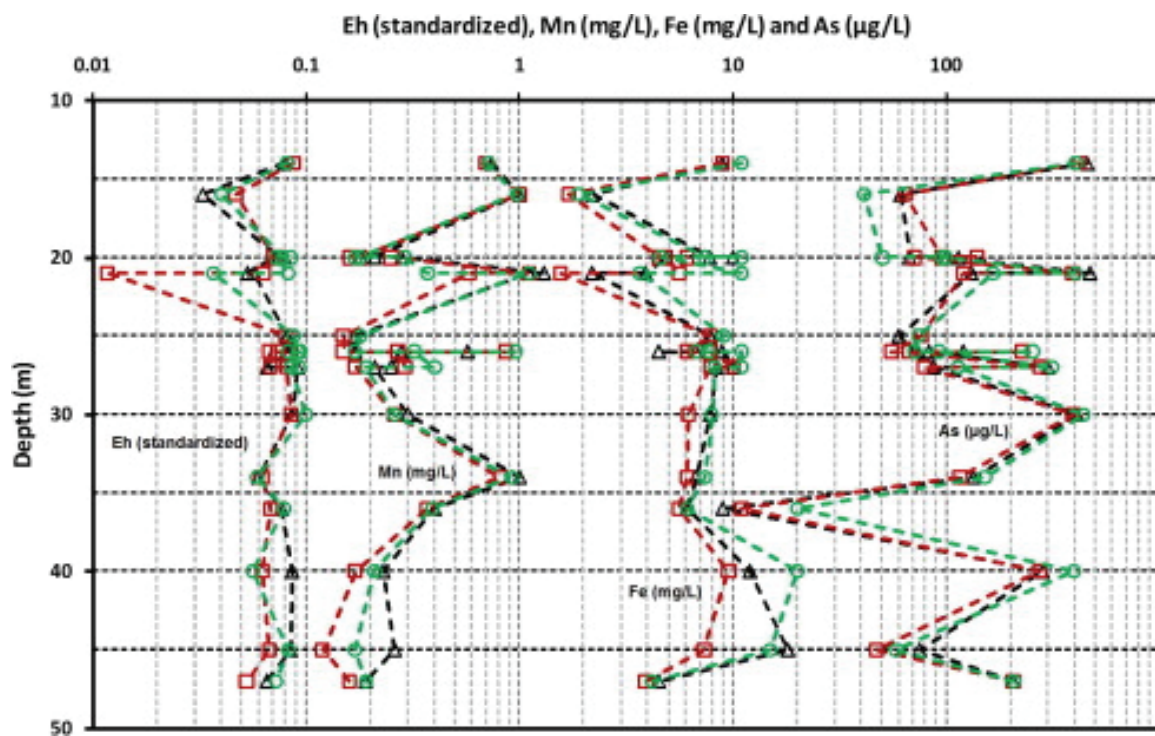


Figure 3. Temporal variation of Eh (standardized), Mn (mg L^{-1}), Fe (mg L^{-1}) and As ($\mu\text{g L}^{-1}$) with well depth (m). April 2000 (Δ , black dotted line) (Charlet *et al.*, 2001); March 2001 (\square , brown dotted line) (Charlet *et al.*, 2007) and June 2002 (\circ , green dotted line) (this study). Measured Eh values (mV) have been divided by -1530 to get the standardized values (For interpretation of the references in colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article).

Vertically the data show significant patterns ([Fig. 3](#)), namely the coincidence or near coincidence at -16 m, -21 m, -26 m and -34 m of As and Fe minima with Mn maxima. We shall see below how these concentrations are controlled by the solubility of carbonate solid phases, via $p\text{CO}_2$, i.e., via microorganism respiration.

4.1.5.1.3 Aqueous speciation

The modeled speciation of the dissolved species was calculated using MINTEQA2 (version 3.3) software. The result shows that both Fe(II) and Mn(II) is primarily present as free ions [Fe(II): 88–94%, and Mn(II): 71–90%], along with labile carbonate and bicarbonate complexes [MnHCO_3^+ accounting for 6–9%, $\text{MnCO}_3(\text{aq})$ for 3–19%, and FeHCO_3^+ for 4–7%] in groundwater ([Fig. 4](#)). The result is also consistent with the calculation (using MINTEQA2) of [Jensen et al. \(1998\)](#) for Fe- and Mn-rich groundwater in an anaerobic polluted plume, where free Fe(II) and Mn(II) species (>65%) dominated the dissolved fraction, whereas 19% Fe(II) and 20% Mn(II) present as bicarbonate complexes. Similarly, our field data shows that Fe(II) concentration accounts for 70–95% of the total dissolved Fe concentration. However, minor amount of Fe(III) present in groundwater as colloids ([Supplementary data, Table B](#)).

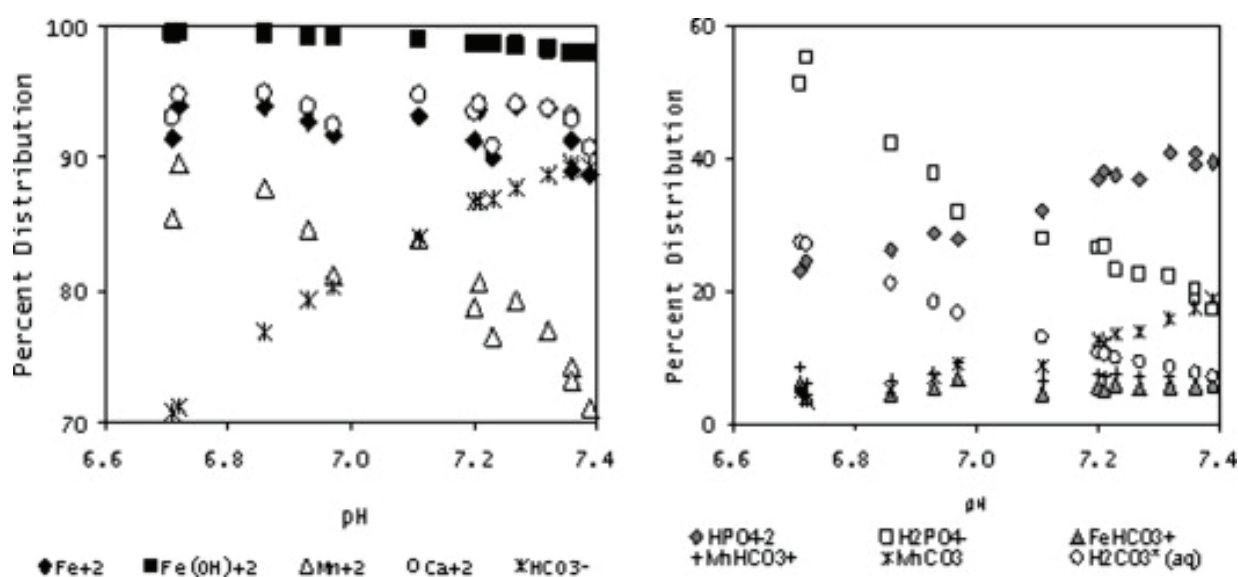


Figure 4. Distribution of different dissolved species (%) as a function of groundwater pH calculated by MINTEQA2.

4.1.5.1.4 Redox species and $p\text{CO}_2$

The measured p_e ($= -\log [e^-]$; $[e^-]$ is the activity of electrons) values of the groundwater were plotted against pH, and compared with those calculated from different redox couples ([Fig. 5](#)). The data shows that the calculated p_e values from $\text{As}^{+3}/\text{As}^{+5}$ and $\text{Fe}^{+2}/\text{Fe}(\text{OH})_3$ couples were

higher than the measured values, which reflects non-equilibrium between these couples. However, pe values calculated from $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}(\text{OH})_3$ couples (where Fe^{2+} is assumed to be equal to total Fe) are more closer to the measured values. This demonstrates that the groundwater redox potential is primarily controlled by the $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}(\text{OH})_3$ couple, and not by the other couple (e.g., sulfide/sulfate) observed in the BDP (Harvey *et al.*, 2002) and elsewhere (Appelo and Postma, 1993). The reason could be due to presence of As(V) as dominant species in groundwater at this study site (Table 1), and slow redox conversion. In contrast As(III) and sulfur (present as amorphous acid volatile sulfides) are dominant elsewhere (Harvey *et al.*, 2002) and Métral *et al.*, 2008). Under these reducing conditions, As(III), which is less strongly sorbed than As(V) on Fe-oxides/hydroxides (e.g., Dixit and Hering, 2003) and (Sherman and Randall, 2003), could be adsorbed to some extent on $\text{FeS}_{(s)}$ (Wolthers *et al.*, 2005) or/and carbonates (Jönsson and Sherman, 2008).

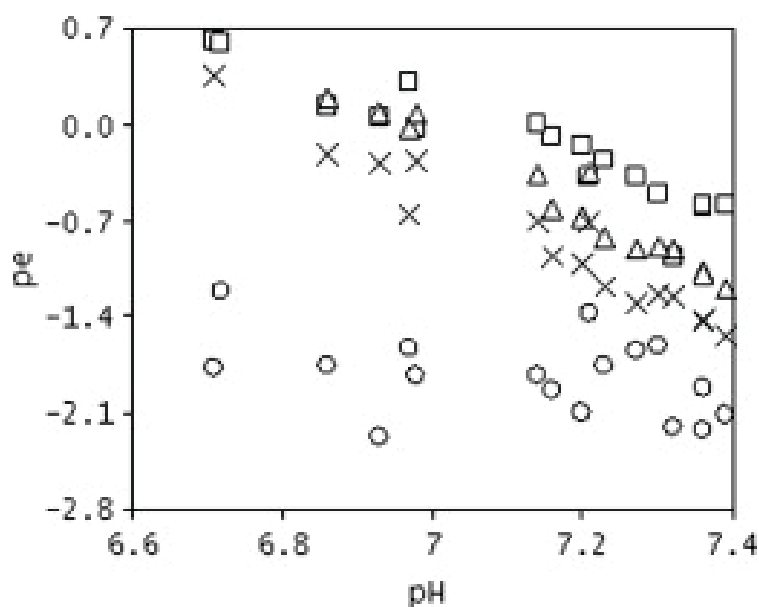


Figure 5. pe-pH diagram showing difference between measured (\circ) and calculated pe values. The later were compared based on following redox couples: $\text{As}^{+3}/\text{As}^{+5}$ (\square), $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}(\text{OH})_3$ (Δ) and $\text{Fe}^{2+}/\text{Fe}(\text{OH})_3$ (\times). For the last case, concentration of Fe^{2+} assumed to be equal to total Fe.

Water chemistry of the surveyed well reveals that the groundwater is mostly neutral and bicarbonate is the major anion. The windows version of MINTEQA2 called Visual MINTEQ (release 2.40 accessed at <http://www.lwr.kth.se/english/OurSoftware/vminteq/>) was used to calculate pCO_2 and the index of saturation of carbonate mineral phases. The calculated pCO_2 values ($\log \text{pCO}_2 = \log \text{activity} (\text{HCO}_3^-) + 7.82 - \text{pH}$) are ranging from $10^{-1.03}$ to $10^{-1.66}$ atm (mean: $10^{-1.34}$ atm) (Fig. 6). The pCO_2 values further indicates that 35% of the sample pCO_2 lies within $10^{-1.3}$ – $10^{-1.4}$ atm, whereas 37% of the sample $\text{pCO}_2 > 10^{-1.3}$ atm and 28% below $10^{-1.4}$ atm. The relationship between bicarbonate and pH for various pCO_2 values

shows that the variation of $p\text{CO}_2$ is minimum ($10^{-1.3}$ – $10^{-1.4}$ atm) in 35% of the wells, whereas As and Fe shows large variation (range: BDL–2.8 μM ; mean: 0.66 μM and range: 0.01–0.25 mM; mean: 0.09 mM, respectively, ([Supplementary data, Table A](#)).

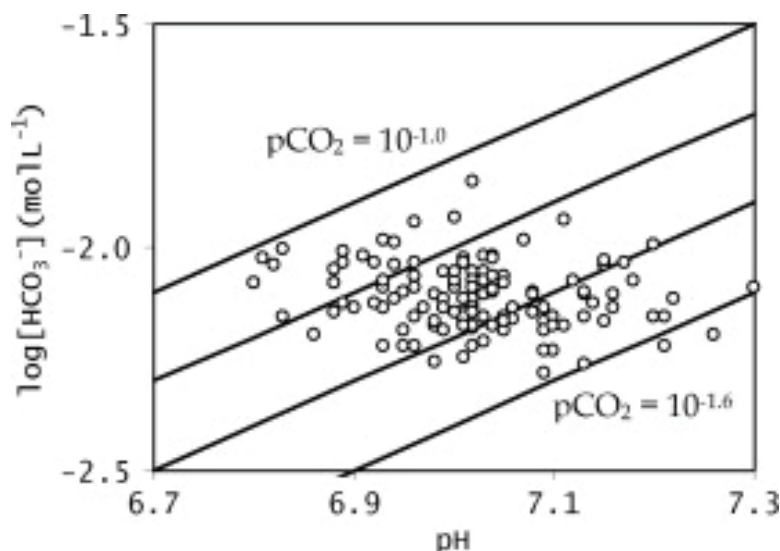


Figure 6. Correlation between pH and bicarbonate, the relation is based on first H_2CO_3 dissociation constant at different $p\text{CO}_2$ ($10^{-1.0}$ – $10^{-1.6}$ atm, computed lines).

The $p\text{CO}_2$ –pH diagram were drawn with stability lines for siderite, rhodochrosite, calcite and dolomite calculated on the basis of the mean values of log activities of Fe, Mn, Ca and Mg. The $p\text{CO}_2$ –pH measured points show significant spatial standard deviation. Waters are slight over-saturated with respect to siderite and at local equilibrium with respect to rhodochrosite, calcite and dolomite ([Fig. 7](#)): the saturation index (SI) is +0.83 for siderite and –0.06 for rhodochrosite, +0.12 for calcite and +0.00 for dolomite (see MINTEQ database log K in [Table 3](#)). The precipitation kinetics of rhodochrosite could occur actually faster than the precipitation of siderite ([Jensen et al., 2002](#)), using often siderite as a template for its own precipitation ([Versin et al., 1989](#)). An other explanation could be the organic complexation of Fe(II) which could explain an over-saturation of siderite as this complexation is not taken into account in our MINTEQ speciation calculation.

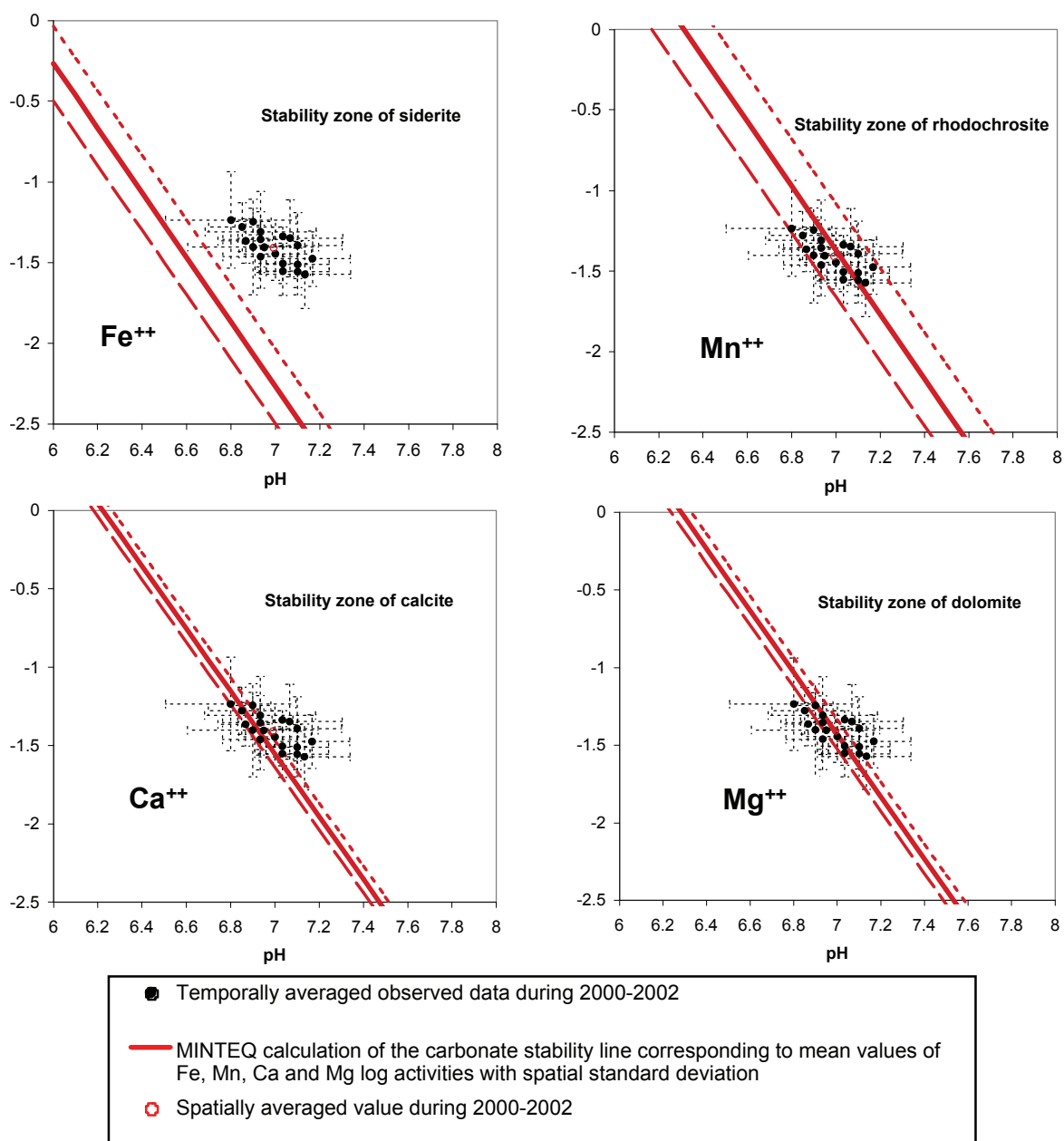


Figure 7. pH-pCO₂ diagram of observed data and comparison with the stability zone of carbonate phases (siderite, rhodochrosite, calcite and dolomite).

Table 3. Carbonate phases with solubility constants used by MINTEQA. SI are saturation index of the carbonates calculated for mean values of log activities during 2000–2002.

Carbonates	Log K_{so} (I = 0 M, 25°C)	SI
Siderite + $H^+ = Fe^{2+} + HCO_3^-$	-0.26	+0.83
Rhodochrosite + $H^+ = Mn^{2+} + HCO_3^-$	-0.67	-0.06
Calcite + $H^+ = Fe^{2+} + HCO_3^-$	1.85	+0.12
Dolomite + 2 $H^+ = Ca^{++} + Mg^{++} + 2 HCO_3^-$	3.57	+0.00

Arsenic and Mn concentrations are compared in two transects T1 and T2 of Hooghly river. Although As and Mn seemed not to be correlated when all the data are considered ([Fig. 3](#)), an increase of As and a decrease of Mn is however clearly observed in both transects T1 and T2 during the period 2000–2002 with the distance from Hooghly river ([Fig. 8](#)). This result is consistent with the scenario of a microbial conversion of transported dissolved organic carbon (DOC) through Fe-/Mn-oxides dissimilatory reduction: this microbial reduction will produce low values of pe (lower than -2 in [Fig. 7](#)) and high aqueous As concentration due to a weaker sorption on carbonates or sulfides than on Fe-/Mn-oxides ([Burnol et al., 2007](#)). On the other hand, the dissimilatory reduction of oxides will produce high concentrations of Fe(II) and bicarbonate. The increase of pCO_2 could explain a simultaneous decrease of aqueous Mn due to a faster precipitation of rhodochrosite $MnCO_3$ than siderite $FeCO_3$ ([Jensen et al., 2002](#)). This scenario is consistent with the observation during 2000–2002 of a large negative correlation (-0.5) between aqueous Fe(II) and Mn concentrations, a medium positive correlation (+0.4) between pCO_2 and Fe(II) and a medium negative correlation (-0.3) between pCO_2 and Mn ([Fig. 9](#)). The [Fig. 10](#) shows also that the low groundwater As (<0.66 μM) are associated with low pCO_2 (range: $10^{-1.66}$ – $10^{-1.49}$ atm) and low dissolved Fe (range: 0.01–0.06 mM), presumably in suboxic conditions ([Métral et al., 2008](#)), whereas high groundwater As (>0.66 μM) are associated with high pCO_2 (range: $10^{-1.20}$ – $10^{-1.03}$ atm) and high dissolved Fe (range: 0.06–0.17 mM), in more reductive local spots.

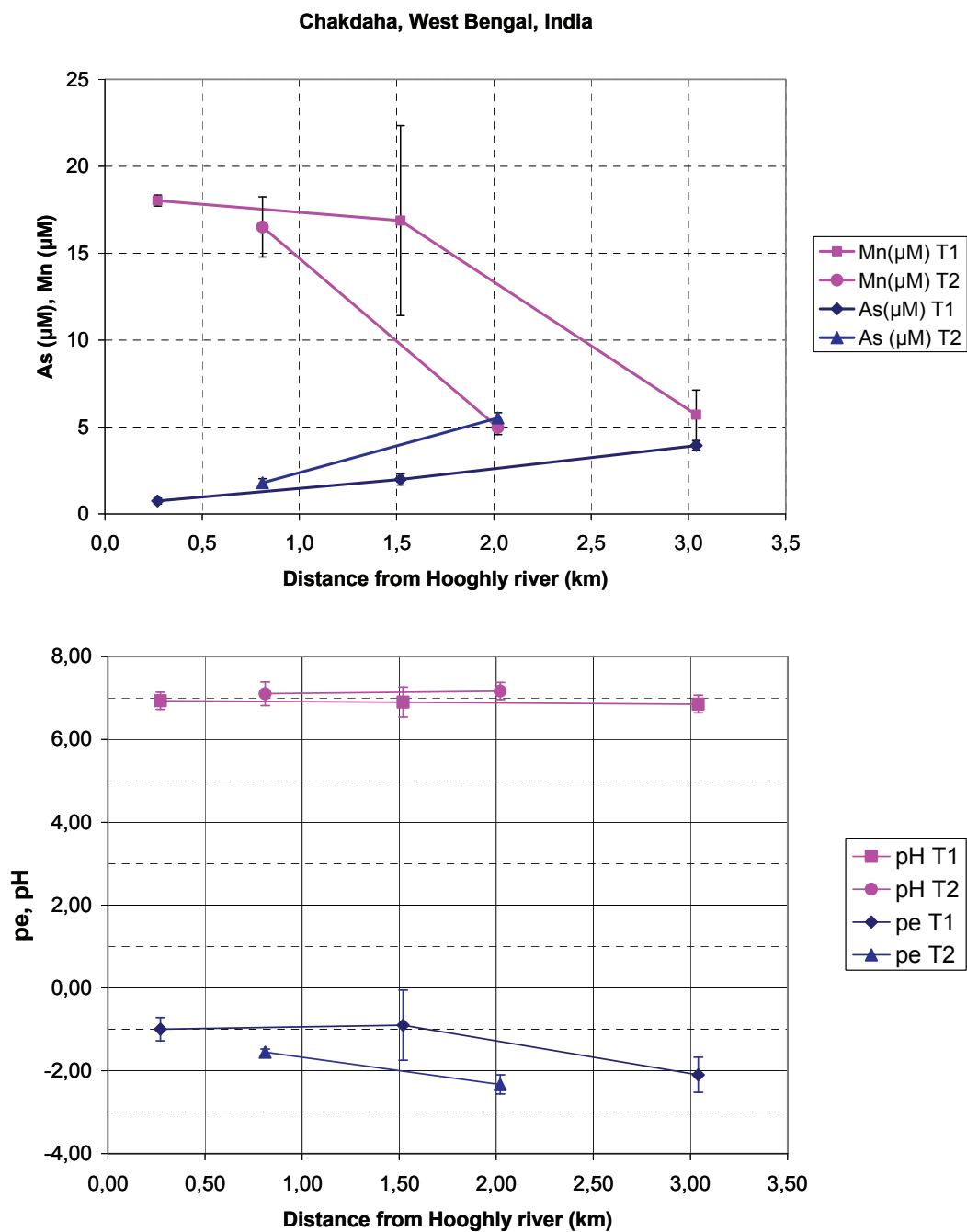


Figure 8. pH, Eh, Mn and As concentration during the period 2000–2002 with standard deviation vs. distance from Hooghly river in both transects T1 and T2 ([Fig. 1](#)).

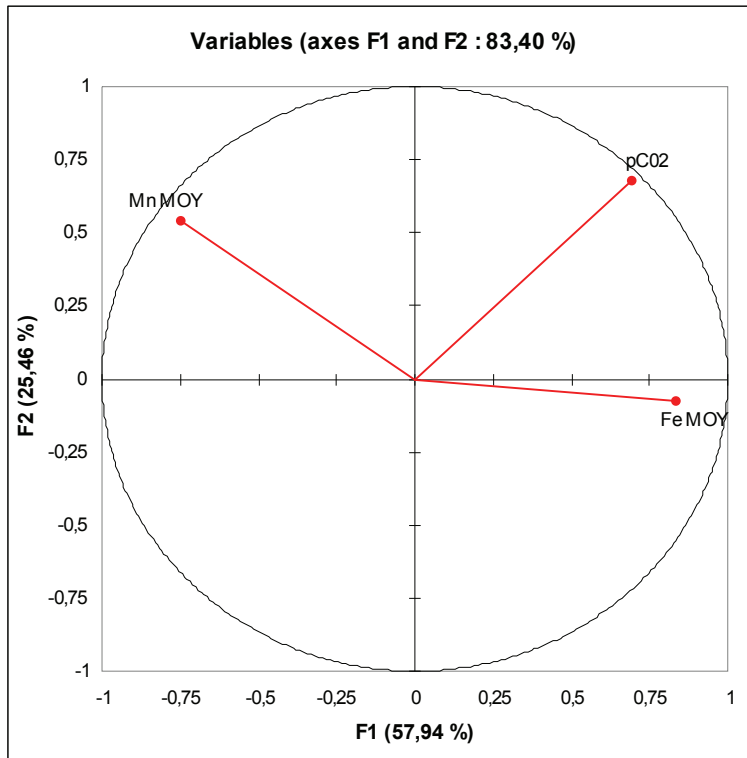


Figure 9. Correlation circle with the two main factors F1 and F2 (57.9% and 25.5% contribution to the total variance, respectively) showing the positive correlation between mean values during 2000–2002 of $p\text{CO}_2$ with Fe concentration and the negative correlation of $p\text{CO}_2$ with Mn concentration and between Fe and Mn concentrations.

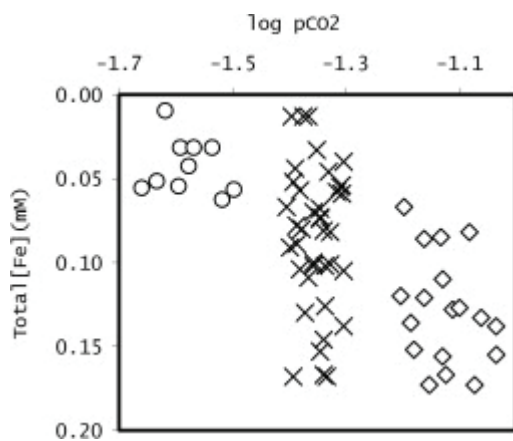


Figure 10. Variation in Fe concentration in groundwater as a function of $p\text{CO}_2$ (circles represent Fe for $\text{As} < 0.66 \mu\text{M}$; diamonds that for $\text{As} > 0.66 \mu\text{M}$, and crosses for large variation of As).

4.1.5.2 Mineralogy and sediment chemistry

4.1.5.2.1 Mineral species and granulometric analysis

XRD analyses reveal that the principal mineral present in the aquifer sediments are quartz (60–70%), feldspar (10–25%), mica (5–15%), carbonate (5–10%) and clay minerals mainly

clinochlore chlorite, kaolinite ($\sim 5\text{--}10\%$). Quartz/feldspar/mica are relatively abundant in the sandy aquifer materials, whereas clay minerals (clinochlore chlorite, kaolinite) and carbonates are least abundant. During drilling iron-rich clastic minerals (e.g., illite, magnetite, ilmenite, biotite, chlorite and iron coated grains etc.) are also encountered in the sediment and their local regeneration could produce Fe-oxide/hydroxide coating on the surfaces and also on the surfaces of fine grained aquifer materials.

The lithology of the borehole indicates the presence of multiple aquifer system (at least near the river), with an upper aquitard 5–15 m deep dominated by silt and clay, and gradually transform to the Holocene aquifer containing thick clay layers at the top away from the Hooghly river. Fine to medium sand (unconsolidated) is underlain by silt/clay layers and beneath which lays the Pleistocene aquifer consisting of medium to coarse sand separated through thin clay layer. The grain size characteristics also reflects the similar picture, which demonstrate four dominant classes where silt and silty-loam, represent non-aquifer material, while loamy sand and sand represent aquifer material. The above features are also consistent with the studies performed elsewhere in the BDP (e.g., [BGS and DPHE, 2001](#)), suggesting that the sediments have been deposited under low to moderate energy condition of fluvial environment. Our data shows that grain size of the sediments had a strong relation with solid phase As, with evidently high concentration of As and Fe in the fine grained sediments ([Fig. 11](#)). Comparing As and Fe content of different lithofacies particle fractions shows the dominance of silty (or finer) fractions in the sediments which can contain considerable amount of As ([Fig. 11](#)) and organic matter ([Table 4](#)).

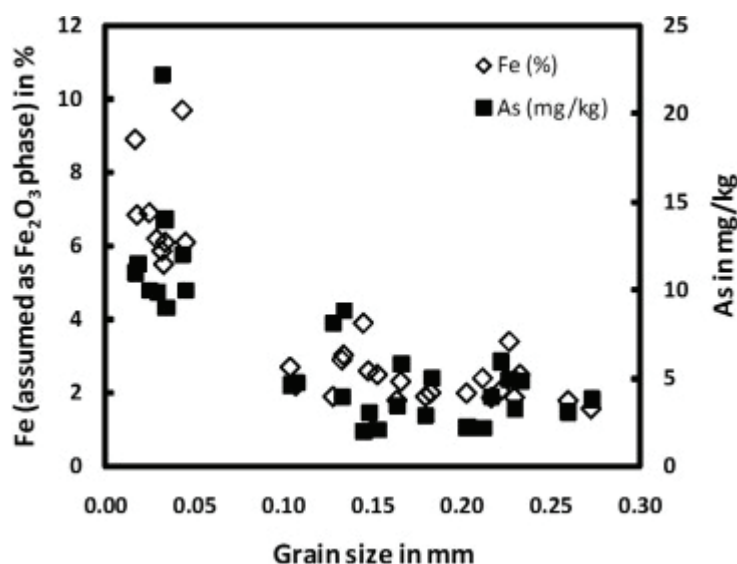


Figure 11. Correlation between grain size of the aquifer sediment with As and Fe (assumed as Fe₂O₃ phase) contents.

Table 4. Grain size (mm) and weight% of total carbon (TC), total organic carbon (TOC), MnO, Fe₂O₃ and As (mg kg⁻¹) in different lithological units.

Borehole	Lithology	Depth (m)	Grain-size (mm)	TC (%)	TOC (%)	MnO (%)	Fe ₂ O ₃ (%)	As (mg/kg)
BH-09	Silty clay	0.75	0.134	0.66	0.09	0.05	3.0	8.9
	Silty clay	3	0.032	1.2	0.21	0.09	5.9	22
	Fine sand	5.25	0.166	0.51	0.08	0.03	2.3	5.8
	Medium sand	9.15	0.222	0.35	0.04	0.03	2.1	5.9
	Medium to coarse sand	11.1	0.273	0.29	0.07	0.02	1.6	3.8
	Medium to coarse sand	18.4	0.260	0.37	0.07	0.03	1.8	3.1
	Medium sand	25.05	0.217	0.37	0.05	0.03	1.9	3.9
	Silty clay	28.05	0.018	1.5	0.29	0.18	6.8	11
	Medium sand	29.1	0.230	0.37	0.05	0.03	1.9	3.3
BH-04	Silty clay	4.6	0.033	1.1	0.09	0.07	5.5	14
	Fine sand with mica	10.7	0.128	0.33	0.04	0.04	1.9	8.1
	Fine sand	13.7	0.183	0.34	0.03	0.04	2.1	5.1
	Fine sand with mica	17.4	0.18	0.3	0.01	0.04	1.9	2.9
	Silty clay	19.8	0.029	1.3	0.25	0.09	6.2	9.9
	Fine sand with mica	22.6	0.107	0.49	0.04	0.04	2.2	4.8
	Medium sand with mica	29	0.212	0.51	0.07	0.04	2.4	2.2
	Fine sand with mica	30.5	0.148	0.43	0.03	0.06	2.6	3.0
	Fine sand	39.6	0.153	0.46	0.05	0.04	2.5	2.1
BH-12	Silty clay	1.5	0.034	0.57	0.1	0.08	6.1	9.2
	Silty clay	10.4	0.017	1.4	0.29	0.15	8.9	11
	Silty clay	13.4	0.045	1.3	0.27	0.08	6.1	10
	Fine sand with mica	14	0.104	0.67	0.06	0.04	2.7	4.6
	Fine sand	17.4	0.164	0.32	0.03	0.03	1.8	3.4
	Medium sand with mica	26.8	0.203	0.35	0.04	0.03	2.3	2.2
BH-13	Silty clay	3.5	0.025	1.4	0.71	0.08	6.9	10
	Medium sand	7.2	0.233	0.36	0.06	0.05	2.5	4.8
	Silty clay	11.4	0.043	2.2	1.4	0.12	9.7	12
	Medium sand	17.5	0.227	0.74	0.11	0.08	3.4	4.9
	Fine sand	23.6	0.133	0.6	0.02	0.06	2.9	3.9
	Fine sand	27.7	0.145	0.62	0.16	0.05	3.9	2.1

Sorption of As onto mineral and organics surfaces is an important process that affects its potential bioavailability in natural systems. In particular, Fe-oxide/hydroxide has been shown to have a high affinity for As since both arsenite and arsenate are strongly chemisorbed ([Sun and Doner, 1996] and [Fendorf et al., 1997]). However, the potential bioavailability and toxicity of As in the environment depends upon its chemical form as well as numerous

chemical, physical and biological factors including pH, redox potential, microbial populations and the presence of ligands that can compete for sorption sites on mineral surfaces ([\[Tamaki and Frankenberger, 1992\]](#) and [\[Grafe et al., 2001\]](#)). In this case, the mineral species e.g., Fe-/Al-oxides and carbonates may act as potential source of As in the sub-surface environment, which under appropriate condition can release As to groundwater.

In conclusion, the silty fraction in the multi-layered aquifer system plays a significant role in maintaining reducing condition in the sub-surface, in controlling the infiltration and recharge of the groundwater, e.g., by monsoon rainwater, and thus in the diffusion of atmospheric oxygen, all factor controlling the mobility of As in the sub-surface.

4.1.5.2.2 Sediment geochemistry

The minor (wt.%) and trace (mg kg^{-1}) element concentrations of the aquifer material are presented in [Table 4](#). The concentration of As ($n = 30$) ranges between 2.1 mg kg^{-1} and 22 mg kg^{-1} and are within the typical range for soils and sediments ([\[Smedley and Kinniburgh, 2002\]](#)). Typically, $8.9\text{--}22 \text{ mg kg}^{-1}$ As, $3.0\text{--}9.7\%$ Fe (can be assumed as Fe_2O_3) and $0.05\text{--}0.18\%$ Mn (can be assumed as MnO) concentrations were found in the silt-/clay-rich layers, whereas sandy layer (fine to medium) contains considerably lower concentration of As, Fe and Mn ($<8.1 \text{ mg kg}^{-1}$, $1.6\text{--}3.9\%$ and $0.02\text{--}0.08\%$, respectively) ([Table 4](#)). The study reveals that As is positively correlated with Fe as well as Mn ($R^2 = 0.52$ and 0.40 , respectively). In Bangladesh, [\[Nickson et al. \(2000\)\]](#) observed similar distribution pattern in a sediment where As in groundwater was assumed to be mostly derived from reductive dissolution of Fe-oxyhydroxides in the sediments. The TOC content in the silt-/clay-rich sediment is also high (mean: 0.37%), whereas sandy sediment contains considerably low amount of TOC (mean: 0.06%). TOC contents also show positive correlation with As, Fe and Mn contents in the sediments ([Table 4](#)). This supports the common hypothesis that mobilization of As from sedimentary phase to groundwater can be triggered through microbial metabolism of available organic matter ([\[McArthur et al., 2004\]](#) and [\[Berg et al., 2008\]](#)). Therefore, our study further strengthen the understanding that sedimentary As, Fe, Mn and TOC contents are closely related to the texture, grain size, and thus specific surface area of the materials.

The sequential extraction data presented by [\[Gault et al. \(2003\)\]](#) suggest that the bulk of As in sediment is associated with amorphous ($51\text{--}57\%$) and well crystallized ($30\text{--}34\%$) hydrous oxides of Fe and Al, while minor amount of As is associated with carbonate fractions ($\sim 5\%$). In contrast, [\[Charlet et al. \(2007\)\]](#) shows that As is associated with amorphous Fe oxides ($34 \pm 8\%$) and carbonate fractions ($19 \pm 7\%$). Our acid digestion for As and ascorbate extraction for amorphous Fe-oxyhydroxide in sediments show that the top soils of three borehole sites (BH-04, BH-12 and BH-13) are enriched with As, while low in Fe-

oxyhydroxides (Fig. 12). The result further confirm [Métral et al. \(2008\)](#) observations, namely shows that sediments from high groundwater As areas contains lower amount of Fe-oxyhydroxides (range: 1.1–2.7 g kg⁻¹), a sign of rather anoxic local environment, whereas higher amount of Fe-oxyhydroxides (e.g., 10 g kg⁻¹ at 10.7–12.2 m and 12 g kg⁻¹ at 12.2–14.3 m depth), signature of suboxic environments, was observed in the sediments from low As area (BH-13) (Fig. 12). According to [Brannon and Patrick, 1987](#) and [Métral et al., 2008](#), mobilization of As is most likely to occur from anoxic sediments low in Fe and CaCO₃. Therefore, the observed low amount of Fe-oxyhydroxides in high groundwater As area suggests the presence of reductive enough conditions, leading to the release of As from solid phase ([McArthur et al., 2004](#) and [Métral et al., 2008](#)).

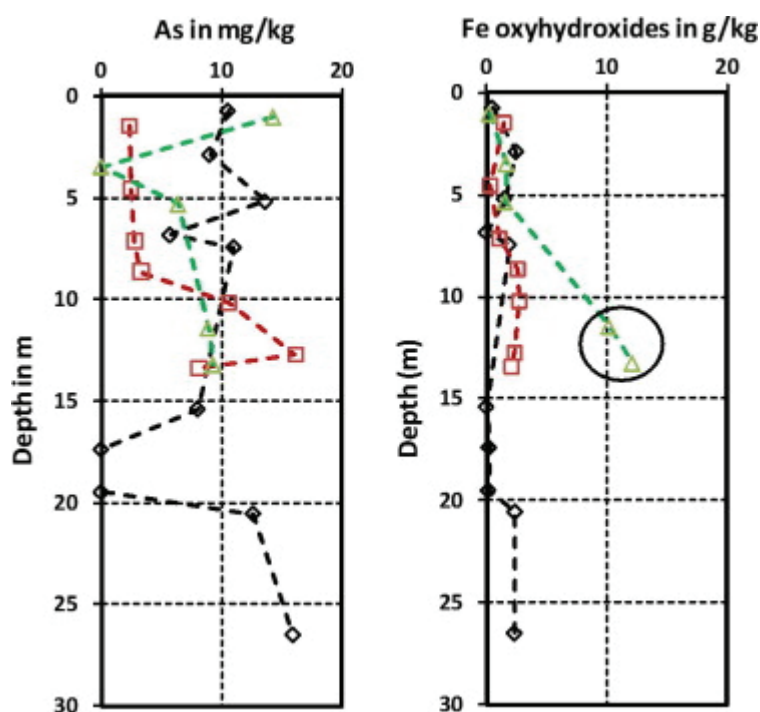


Figure 12. Variation of As (mg kg⁻¹) and Fe-oxyhydroxides (g kg⁻¹) in the sediments with depth, BH-04 (◇, black dotted line), BH-12 (□, brown dotted line), BH-13 (Δ, green dotted line). Large variation in Fe-oxyhydroxides content is highlighted with a circle. (For interpretation of the references in colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article)

4.1.5.3 Sorption of arsenate on sandy aquifer materials

The physical and chemical characteristics of the sediment used for sorption experiment are listed in [Table 5](#). The mineralogy is dominated by quartz (90–95%), muscovite (2–5%) with clinocllore chlorite, microcline and albite in low abundances (<2%). The presence of Fe-oxyhydroxide in the sediment (although in low abundance) advocates an authigenic growth

of Fe in the sand particles. The SEM micrograph of the mica grain ($>425\ \mu\text{m}$ in size) collected from the sandy aquifer material showed evidence of weathering ([Fig. 13](#)).

Table 5. Physico-chemical characteristics of the sediment sample used for sorption study.

Sample ID	Depth (m)	Texture	% of clay	% of silt	% of sand	TOC (%)	Porosity	[Fe(III) _{amr.oxide}] (g kg ⁻¹)
BH-09	18.3-18.5	Sand	0	1.5	98.5	0.07	0.41	0.09

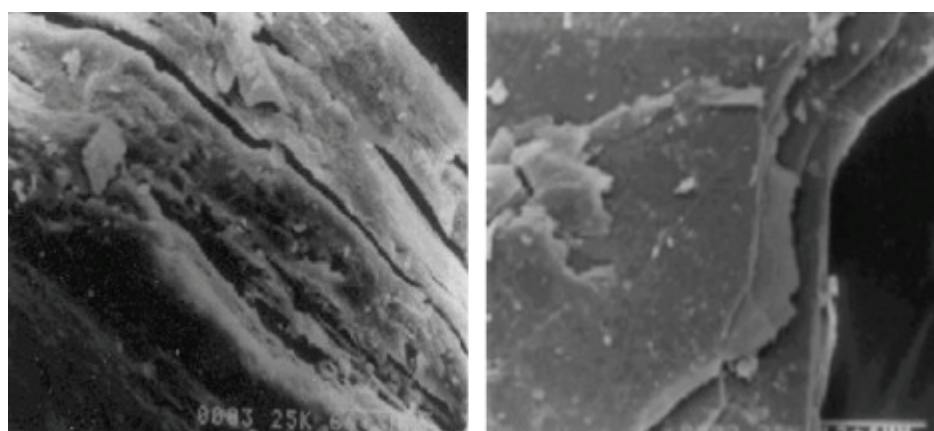


Figure 13. SEM micrographs of mica particle, showed the evidence of weathering (size $> 425\ \mu\text{m}$).

Isotherm plot for $[\text{As}]_{\text{ads}}$ vs. $[\text{As}]_{\text{aq}}$ ([Fig. 14](#)) indicated linear behaviour of sorption as described by a Freundlich isotherm in our experimental conditions ([Table 6](#)). [Carrillo and Drever \(1998\)](#) also measured As sorption isotherm on natural aquifer material composed of quartz, feldspar, calcite, chlorite, illite and magnetite/hematite collected from mining area in Mexico, and showed As to be mostly sorbed onto Fe-oxyhydroxide. [Darland and Inskeep \(1997a\)](#) came also made to a similar conclusion for sorption of arsenate on Fe-oxyhydroxide-rich sand. However, in the present case, lower K_d value is expected because the abundance of Fe-oxyhydroxide and mica is low in sandy materials that are enriched with As in groundwater. The sorption of arsenate is thus rather attributed to weathered phyllosilicates present in the materials ([Fig. 13](#)).

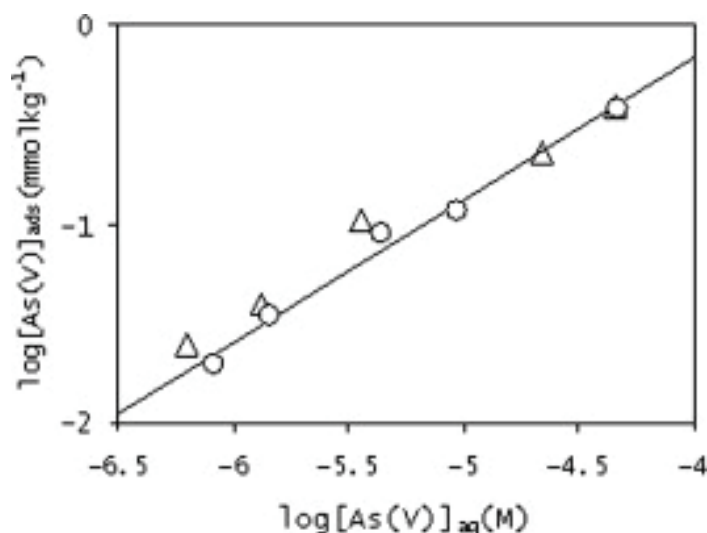


Figure 14. Sorption isotherm of As(V) onto sand (at pH 7.52 ± 0.01 , and $[\text{solid}] = 41.23 \pm 1.05 \text{ g L}^{-1}$ (Δ); at pH $= 7.70 \pm 0.02$, and $[\text{solid}] = 41.24 \pm 1.02 \text{ g L}^{-1}$ (\circ); Ionic strength $= 10^{-3} \text{ M NaNO}_3$).

Table 6. Parameters of both modeling of adsorbed As vs aqueous As: (1) power n and K_f of the Freundlich model, (2) K_d maxima and surface excess Γ maxima extrapolated from the two-term series model (see “Materials and methods” and [Fig. 15](#)).

pH	n	K_f (L kg^{-1})	R^2	$K_d \text{ max}$ (L kg^{-1})	Γ_{max} (mmol/kg)
7.52 ± 0.01	0.632	0.218	0.983	42.7	0.95
7.70 ± 0.02	0.716	0.499	0.986	28.5	0.95

When the distribution coefficient K_d is plotted against the surface excess Γ of As(V) adsorbed on sandy aquifer material, at pH 7.52 or 7.7 ([Fig. 15](#)), the plots show a typical 2-site behaviour, and the two y-intercepts give the $K_d \text{ max}$ for both pH, namely 42.7 L kg^{-1} and 28.5 L kg^{-1} , respectively. These $K_d \text{ max}$ values are within or close to the K_d found by [van Geen et al. \(2008\)](#) in different SE Asia aquifers ($4 < K_d < 40 \text{ L kg}^{-1}$). The unique x-intercept for both pH in [Fig. 15](#) gives the maximum surface excess Γ value, i.e., $0.95 \text{ mmol As(V) kg}^{-1}$ ([Table 6](#)). If only the amorphous iron oxides in the sandy material are considered as reactive materials, the $0.95 \text{ mmol kg}^{-1}$, and a 0.09 g kg^{-1} ([Table 5](#)) reactive fraction of amorphous iron oxide (molar mass of 84.35 g mol^{-1}) convert to $0.89 \text{ mol As/mol Fe}$. Since this molar ratio is higher than the observed As/Fe molar ratio, e.g., with ferrihydrite, it suggests that another Fe-rich phase interact with As(V) in the sandy material. Assuming that this sorbent is e.g., siderite, a weight fraction of siderite in the aquifer material, needed to fit the observed $K_d \text{ max}$, is found equal to 4.8–6.5 wt.% depending on pH ([Table 7](#)), a fraction indeed of the same order of magnitude than the “carbonate and AVS” As fraction obtained above in the

sequential extraction. Therefore carbonates must be considered as a major sorbent in BDP aquifers, or at least in our study site.

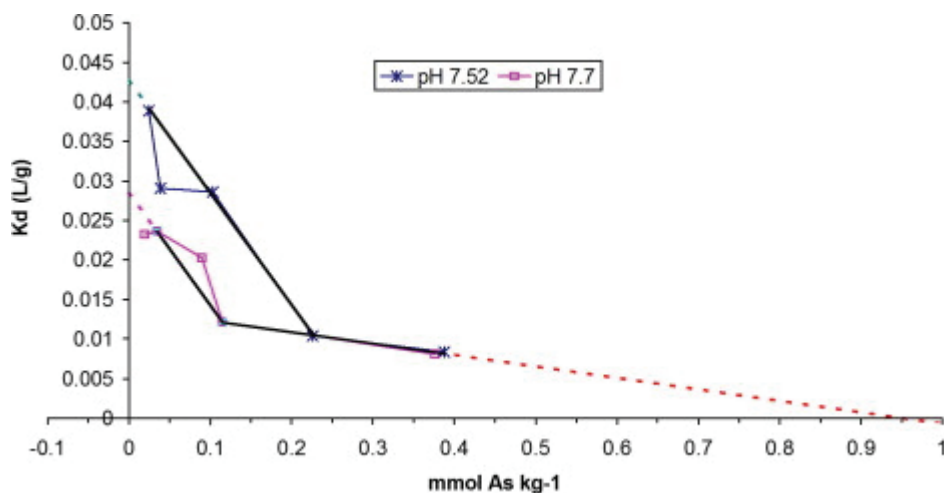


Figure 15. Distribution coefficient K_d vs. adsorbed As(V) on sandy aquifer material. The x-intercept of the linear expression is the maximum surface excess Γ for both pH. Two y-intercepts give the maximum K_d for both pH.

Table 7. Percentage of siderite needed to explain the observed K_d max for both pH.

pH	Experimental K_d of As(V) on sandy aquifer material (L kg ⁻¹)	K_d of As(V) on siderite (Jönsson and Sherman, 2008) (L kg ⁻¹)	Calculated wt.% of siderite to explain As(V) adsorption
7.52 ± 0.01	42.7	653	6.5
7.70 ± 0.02	28.5	600	4.8

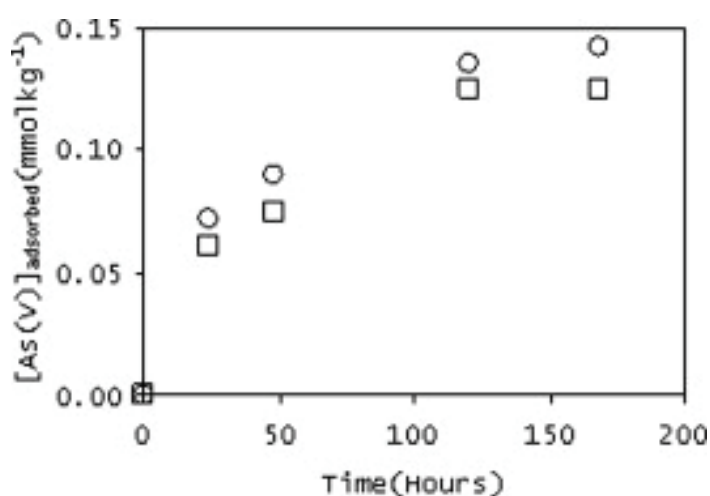


Figure 16. Sorption kinetics of As(V) on sand ($[As]_0 = 1.4 \times 10^{-5}$ M; at pH = 7.62 ± 0.01 and $[solid] = 41.09$ g L⁻¹ (○); at pH 7.80 ± 0.01 and $[solid] = 40.88$ g L⁻¹ (□); Ionic strength = 10^{-3} M NaNO₃).

Finally As(V) slow sorption kinetics has been observed with natural sandy aquifer material (Fig. 16). The ~70% pseudo-equilibrium maximum sorbed concentration reached after 168 hrs contrasts with the ~97% sorption often observed within 24 h (e.g., Darland and Inskeep, 1997b) (Table 8). This slow kinetics of As(V) may be due to a physical diffusion controlled processes, such as film (e.g., Fe-oxyhydroxide coatings of weathered micas particles, Fig. 13) and/or intra particle diffusion (e.g., within carbonated green rust; Jönsson and Sherman, 2008). Thus the low K_d values observed on the present study at groundwater near-neutral pH and the slow kinetics show that As immobilization on sandy aquifer material may occur either on Fe-oxyhydroxide coating micas particles or on carbonates, both solid phases being present in the aquifer material in relatively in low abundance.

Table 8. Comparison of arsenate retention on sandy aquifer material in the present study with that on coarse sand at longer equilibration time (Darland et al., 1997b).

	This study		Study by Darland and Inskeep (1997b)	
	Kinetics	Isotherm	Kinetics	Isotherm
pH	7.6-7.8	7.5-7.7	4.0-5.0	4.0-4.6
Equilibration time (h)	24-168	168	2-168	168
Ionic strength	10^{-3} M NaNO ₃		10^{-2} M KCl	
Suspension density (g L ⁻¹)	42		1000	500
[As] ₀ (μM)	14	1.6-60	150	1.33-667
Particle size (μm)	> 50		250-500	
Porosity	0.41 (measured)		0.41 (calculated)	
Mineralogy	Quartz, muscovite as major components with clinocllore chlorite, microcline and albite in low abundances		Quartz, orthoclase, plagioclase, feldspars	
Fe oxide (wt. %)	0.009		0.01	

4.1.6 Conclusions

The occurrence of simultaneous high groundwater As and Fe concentrations and high pCO₂ shows that As mobilization (through reductive dissolution of Fe-oxyhydroxides via organic matter decomposition) is active where Fe concentration is controlled by siderite, or possibly green rust (observed by Jönsson and Sherman, 2008). High groundwater As areas are found

where Fe-oxyhydroxide and mica are rare, which suggests a release of As from these sorbent solid phases. The sorption experiment further favor a kinetically controlled immobilization of As on sandy aquifer material. The dominance of organic matter rich silty fraction in the multi-layered aquifer system plays a significant role in maintaining reducing condition in the sub-surface and control the infiltration and recharge of water and aqueous As, as well as the influx and diffusion of atmospheric oxygen in these media.

4.1.7 Acknowledgements

The authors gratefully acknowledge RGNDWM, Govt. of India, IFCPAR and CNRS (EC2CO Programme) for giving financial support. One of the authors (BN) is thankful to the Deutscher Akademischer Austausch Dienst (DAAD) for a fellowship and the Institute für Mineralogie und Geochemie, Universität Karlsruhe, Germany for laboratory support. Thanks for analytical assistance from Dr. U. Kramar for ED-XRF analysis and Dr. Zsolt Berner for his support during this research.

4.1.8 References

- [Acharyya, 2002](#) S.K. Acharyya, Arsenic contamination in groundwater affecting major parts of southern West Bengal and parts of western Chhattisgarh: source and mobilization process, *Current Science* **82** (2002), pp. 740–744.
- [Aggett and O'Brien, 1985](#) J. Aggett and A.G. O'Brien, Detailed model for the mobility of arsenic in Lacustrine sediments based on measurements in lake Ohakuri, *Environmental Science and Technology* **19** (1985), pp. 231–238
- [Appelo and Postma, 1993](#) C.A.J. Appelo and D. Postma, *Geochemistry, Groundwater and Pollution*, Balkema, Rotterdam (1993).
- [Berg et al., 2008](#) M. Berg, P.T.K. Trang, C. Stengel, J. Buschmann, P.H. Viet, N.V. Dan, W. Giger and D. Stüben, Hydrological and sedimentary controls leading to arsenic contamination of groundwater in the Hanoi area, Vietnam: the impact of iron-arsenic ratios, peat, river bank deposits, and excessive groundwater abstraction, *Chemical Geology* **249** (2008), pp. 91–112.
- [BGS and DPHE, 2001](#) BGS and DPHE, 2001. In: Kinniburgh, D.G., Smedley, P.L. (Eds.), *Arsenic Contamination of Groundwater in Bangladesh*. British Geological Survey WC/00/19, Keyworth.
- [Bhattacharya et al., 1997](#) P. Bhattacharya, D. Chatterjee and G. Jacks, Occurrence of arsenic contaminated groundwater in alluvial aquifers from delta plains, Eastern India: options for safe drinking water supply, *Water Resources Development* **13** (1997), pp. 79–92.
- [Bhattacharyya et al., 2003a](#) R. Bhattacharyya, J. Jana, B. Nath, S.J. Sahu, D. Chatterjee and G. Jacks, Groundwater As mobilization in Bengal delta plain, the use of ferralite as a possible remedial measure – a case study, *Applied Geochemistry* **18** (2003), pp. 1435–1451.
- [Bhattacharyya et al., 2003b](#) R. Bhattacharyya, D. Chatterjee, B. Nath, J. Jana, G. Jacks and M. Vahter, High arsenic groundwater: mobilization, metabolism and mitigation – an overview in the Bengal delta plain, *Molecular and Cellular Biochemistry* **253** (2003), pp. 347–355.
- [Brammer, 1996](#) H. Brammer, *The Geography of the Soils of Bangladesh*, University Press Ltd., Dhaka (1996).

- [Brannon and Patrick, 1987](#) J.M. Brannon and W.H. Patrick Jr, Fixation, transformation and mobilization of arsenic in sediments, *Environmental Science and Technology* **21** (1987), pp. 450–459.
- [Burnol et al., 2007](#) A. Burnol, F. Garrido, P. Baranger, C. Jouliau, M.C. Dictor, F. Bodéan, G. Morin and L. Charlet, Decoupling of arsenic and iron release from ferrihydrite suspension under reducing conditions: a biogeochemical model, *Geochemical Transactions* **8** (2007), p. 12 [10.1186/1467-4866-8-12](#).
- [Carrillo and Drever, 1998](#) A. Carrillo and J.I. Drever, Adsorption of arsenic by natural aquifer material in San Antonio-EI Triunfo mining area, Baja California, Mexico, *Environmental Geology* **35** (1998), pp. 251–257.
- [Charlet and Polya, 2006](#) L. Charlet and D.A. Polya, Arsenic in shallow, reducing groundwaters in Southern Asia: an environmental health disaster, *Elements* **2** (2006), pp. 91–96.
- [Charlet et al., 2001](#) L. Charlet, A.A. Ansari, M. Dietrich, A.A. Latscha, A. LeBeux, D. Chatterjee and S. Basu Mallick, Contamination à l'arsenic des eaux souterraines du Bengale: étude géochimique et géophysique, *Les techniques de l'Industrie Minérale* **11** (2001), pp. 67–79.
- [Charlet et al., 2005](#) Charlet, L., Chakraborty, S., Varma, S., Tournassat, C., Wolthers, M., Chatterjee, D., Roman-Ross, G., 2005. Adsorption and heterogeneous reduction of arsenic at the phyllosilicate–water interface. In: O'Day, P.A., Vlassopoulos, D., Ming, X., Benning, L.G. (Eds.), *Advances in Arsenic Research: Integration of Experimental and Observational Studies and Implications for Mitigation*, ACS Symposium Series, vol. 915, pp. 41–59.
- [Charlet et al., 2007](#) L. Charlet, S. Chakraborty, C.A.J. Appelo, G. Roman-Ross, B. Nath, A.A. Ansari, M. Musso, D. Chatterjee and S. Basu Mallick, Chemodynamics of an arsenic “hotspot” in a West Bengal aquifer: a field and reactive transport modeling study, *Applied Geochemistry* **22** (2007), pp. 273–1292.
- [Darland and Inskeep, 1997a](#) J.E. Darland and W.P. Inskeep, Effects of pH and phosphate competition on the transport of arsenate, *Journal of Environmental Quality* **26** (1997), pp. 1133–1139.
- [Darland and Inskeep, 1997b](#) E.J. Darland and W.P. Inskeep, Effects of pore water velocity on the transport of arsenate, *Environmental Science and Technology* **31** (1997), pp. 704–709.
- [Dixit and Hering, 2003](#) S. Dixit and G.J. Hering, Comparison of Arsenic(V) and Arsenic(III) sorption onto iron oxide minerals: implications of arsenic mobility, *Environmental Science and Technology* **37** (2003), pp. 4182–4189.
- [Fendorf et al., 1997](#) S. Fendorf, M.J. Eick, P. Grossl and D.L. Sparks, Arsenate and chromate retention mechanisms on goethite. 1. Surface structure, *Environmental Science and Technology* **31** (1997), pp. 315–320.
- [Gault et al., 2003](#) A.G. Gault, D.A. Polya, P.R. Lythgoe, M.L. Farquhar, J.M. Charnock and R.A. Wogelius, Arsenic speciation in surface waters and sediments in a contaminated waterway: IC-ICP-MS and XAS based study, *Applied Geochemistry* **18** (2003), pp. 1387–1397.
- [Grafe et al., 2001](#) M. Grafe, M.J. Eick and P.R. Grossl, Adsorption of arsenate(V) and arsenite(III) on goethite in the presence and absence of dissolved organic carbon, *Soil Science Society of America Journal* **65** (2001), pp. 1680–1687.
- [Guha Majumder et al., 1988](#) D.N. Guha Majumder, A.K. Chakraborty, A. Ghosh, DP. Chakraborty, S.B. Dey and N. Chattopadhyay, Chronic As toxicity from drinking tube well water in rural West Bengal, *Bulletin of the World Health Organization* **66** (1988), pp. 499–506.
- [Harvey et al., 2002](#) C.F. Harvey, C.H. Swartz, A.B.M. Badruzzaman, N.E. Keon-Blute, W. Yu, M.A. Ali, J. Jay, R. Beckie, V. Niedam, D.J. Brabander, P.M. Oates, K.N. Ashfaq, S.

- Islam, H.F. Hemond and M.F. Ahmed, Arsenic mobility and groundwater extraction in Bangladesh, *Science* **298** (2002), pp. 1602–1606.
- [Horneman et al., 2004](#) A. Horneman, A. van Geen, D.V. Kent, P.E. Mathe, Y. Zheng, R.K. Dhar, S. O’Connel, M.A. Hoque, Z. Aziz, M. Shamsudduha, A.A. Seddique and K.M. Ahmed, Decoupling of As and Fe release to Bangladesh groundwater under reducing conditions. Part I: evidence from sediment profiles, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **18** (2004), pp. 3459–3473
- [Jensen et al., 1998](#) D.L. Jensen, J.K. Boddum, S. Redemann and T.H. Christensen, Speciation of dissolved iron(II) and manganese(II) in a groundwater pollution plume, *Environmental Science and Technology* **30** (1998), pp. 2657–2664.
- [Jensen et al., 2002](#) D.L. Jensen, J.K. Boddum, J.C. Tjell and T.H. Christensen, The solubility of rhodochrosite (MnCO_3) and siderite (FeCO_3) in anaerobic aquatic environments, *Applied Geochemistry* **17** (2002), pp. 503–511
- [Jönsson and Sherman, 2008](#) J. Jönsson and D.M. Sherman, Sorption of As(III) and As(V) to siderite, green rust (fougerite) and magnetite: implications for arsenic release in anoxic groundwaters, *Chemical Geology* **255** (2008), pp. 173–181.
- [Kapaj et al., 2006](#) S. Kapaj, H. Peterson, K. Liber and P. Bhattacharya, Human health effects from chronic arsenic poisoning – a review, *Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* **41** (2006), pp. 2399–2428.
- [Kohnhorst, 2005](#) A. Kohnhorst, Arsenic in groundwater in selected countries in South and Southeast Asia: a review, *The Journal of Tropical Medicine and Parasitology* **28** (2005), pp. 73–82.
- [Kostka and Luther, 1994](#) J.E. Kostka and G.W. Luther III, Partitioning and speciation of solid phase iron in saltmarsh sediments, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **58** (1994), pp. 1701–1710.
- [McArthur et al., 2001](#) J.M. McArthur, P. Ravenscroft, S. Safiullah and M.F. Thirlwall, Arsenic in groundwater: testing pollution mechanism for sedimentary aquifers in Bangladesh, *Water Resources Research* **37** (2001), pp. 109–117.
- [McArthur et al., 2004](#) J.M. McArthur, D.M. Banerjee, K.A. Hudson-Edwards, R. Mishra, R. Purohit, P. Ravenscroft, A. Cronin, R.J. Howarth, A. Chatterjee, T. Talumder, D. Lowry, S. Houghton and D.K. Chadha, Natural organic matter in sedimentary basins and its relation to As in anoxic ground water: the example of West Bengal and its worldwide implications, *Applied Geochemistry* **19** (2004), pp. 1255–1293.
- [Meng and Wang, 1998](#) X.G. Meng and W. Wang, Speciation of arsenic by disposable cartridges, *Book of Posters of the Third International Conference on Arsenic Exposure and Health Effects*, Society of Environmental Geochemistry and Health, University of Colorado at Denver (1998).
- [Métral et al., 2008](#) J. Métral, L. Charlet, S. Bureau, S. Basu Mallik, S. Chakraborty, K.M. Ahmed, M.W. Rahman, Z. Cheng and A. van Geen, Comparison of dissolved and particulate arsenic distributions in shallow aquifers of Chakdaha, India, and Araihaazar, Bangladesh, *Geochemical Transactions* **9** (2008), p. 1
- [Morgan and McIntire, 1959](#) J.P. Morgan and W.G. McIntire, Quaternary geology of the Bengal Basin, East Pakistan and India, *Bulletin of the Geological Society of America* **70** (1959), pp. 319–341.
- [Nath et al., 2005](#) B. Nath, Z. Berner, S. Basu Mallik, D. Chatterjee, L. Charlet and D. Stueben, Characterization of aquifers conducting groundwaters with low and high arsenic concentrations: a comparative case study from West Bengal, India, *Mineralogical Magazine* **69** (2005), pp. 841–853.

- [Nath et al., 2008a](#) B. Nath, S.J. Sahu, J. Jana, A. Mukherjee-Goswami, S. Roy, M.J. Sarkar and D. Chatterjee, Hydrochemistry of arsenic-enriched aquifer from rural West Bengal, India: a study of the arsenic exposure and mitigation option, *Water, Air and Soil Pollution* **190** (2008), pp. 95–113.
- [Nath et al., 2008b](#) B. Nath, D. Stueben, S. Basu Mallik, D. Chatterjee and L. Charlet, Mobility of arsenic in West Bengal aquifers conducting low and high groundwater arsenic. Part I: comparative hydrochemical and hydrogeological characteristics, *Applied Geochemistry* **23** (2008), pp. 977–995.
- [Nath et al., 2008c](#) B. Nath, Z. Berner, D. Chatterjee, S. Basu Mallik and D. Stueben, Mobility of arsenic in West Bengal aquifers conducting low and high groundwater arsenic Part II: comparative geochemical profile and leaching study, *Applied Geochemistry* **23** (2008), pp. 996–1011.
- [Nickson et al., 1998](#) R.T. Nickson, J.M. McArthur, W.G. Burgess, K.M. Ahmed, P. Ravenscroft and M. Rahaman, Arsenic poisoning of Bangladesh groundwater, *Nature* **395** (1998), p. 338.
- [Nickson et al., 2000](#) R.T. Nickson, J.M. McArthur, P. Ravenscroft, W.B. Burgess and K.M. Ahmed, Mechanism of As poisoning of groundwater in Bangladesh and West Bengal, *Applied Geochemistry* **15** (2000), pp. 403–413.
- [Nickson et al., 2005](#) R.T. Nickson, J.M. McArthur, B. Shrestha, T.O. Kyaw-Myint and D. Lowry, Arsenic and other drinking water quality issues, Muzaffargarh district, Pakistan, *Applied Geochemistry* **20** (2005), pp. 55–68.
- [Nordstrom, 2002](#) D.K. Nordstrom, Worldwide occurrences of arsenic in groundwater, *Science* **296** (2002), pp. 2143–2144.
- [Pal et al., 2002](#) T. Pal, P.K. Mukherjee and S. Sengupta, Nature of arsenic pollutants in groundwater of Bengal basin – a case study from Baruipur area, West Bengal, India, *Current Science* **82** (2002), pp. 554–561.
- [PHED, 1993](#) PHED, 1993. National Drinking Water Mission project on Arsenic pollution on groundwater in West Bengal. Final report, Steering Committee on As Investigation. Government of West Bengal, India.
- [Polizzotto et al., 2006](#) M.L. Polizzotto, C.F. Harvey, G.C. Li, B. Badruzzman, A. Ali, M. Newville, S. Sutton and S. Fendorf, Solid-phases and desorption processes of arsenic within Bangladesh sediments, *Chemical Geology* **228** (2006), pp. 97–111.
- [Polizzotto et al., 2008](#) M.L. Polizzotto, B.D. Kocar, S.G. Benner, M. Sampson and S. Fendorf, Near-surface wetland sediments as a source of arsenic release to ground water in Asia, *Nature* **454** (2008), pp. 505–508.
- [Polya et al., 2005](#) D.A. Polya, A.G. Gault, N. Diebe, P. Feldman, J.W. Rosenboom, E. Gilligan, D. Fredericks, A.H. Milton, M. Sampson, H.A.L. Rowland, P.R. Lythgoe, C. Middleton and D.A. Cooke, Arsenic hazard in shallow Cambodian groundwaters, *Mineralogical Magazine* **69** (2005), pp. 807–823.
- [Román-Ross et al., 2006](#) G. Román-Ross, G.J. Cuello, X. Turrillas, A. Fernández-Martínez and L. Charlet, Arsenite sorption and co-precipitation with calcite, *Chemical Geology* **233** (2006), pp. 328–336.
- [Sengupta et al., 2008](#) S. Sengupta, J.M. McArthur, A. Sarkar, M.J. Leng, P. Ravenscroft, R.J. Howarth and D.M. Banerjee, Do ponds cause arsenic-pollution of groundwater in the Bengal basin? An answer from West Bengal, *Environmental Science and Technology* **42** (2008), pp. 5156–5164.
- [Sherman and Randall, 2003](#) D.M. Sherman and S.R. Randall, Surface complexation of arsenic(V) to iron(III) (hydr) oxides: structural mechanism from ab initio molecular geometries and EXAFS spectroscopy, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **67** (2003), pp. 4223–4230.

- [Shrestha et al., 2003](#) R.R. Shrestha, M.P. Shrestha, N.P. Upadhyay, R. Pradhan, R. Khadka, A. Maskey, M. Maharjan, S. Tuladhar, B.M. Dahal and K. Shrestha, Groundwater arsenic contamination, its health impact and mitigation program in Nepal, *Journal of Environmental Science and Health, Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering* **38** (2003), pp. 185–200.
- [Smedley and Kinniburgh, 2002](#) P.L. Smedley and D.G. Kinniburgh, A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters, *Applied Geochemistry* **17** (2002), pp. 517–568.
- [Smith et al., 2000](#) A.H. Smith, E.O. Lingas and M. Rahman, Contamination of drinking-water by arsenic in Bangladesh: a public health emergency, *Bulletin of the World Health Organization* **78** (2000), pp. 1093–1103.
- [SOES, 2008](#) School of Environmental Studies, 2008. Jadavpur University, India.
<www.soesju.org>.
- [Sposito, 2004](#) G. Sposito, The Surface Chemistry of Natural Particles, Oxford University Press, New York (2004) p. 242.
- [Stanger et al., 2005](#) G. Stanger, T.V. Truong, L.T.M. K.S. My Ngoc, T.V. Luyen and T.T. Tuyen, Arsenic in groundwaters of the lower Mekong, *Environmental Geochemistry* **27** (2005), pp. 341–357.
- [Sun and Doner, 1996](#) X. Sun and H.E. Doner, An investigation of arsenite and arsenate bonding structures on goethite by FTIR, *Soil Science* **161** (1996), pp. 865–872.
- [Sun et al., 2004](#) G. Sun, J. Liu, T.V. Luong, D. Sun and L. Wang, *Endemic arsenicosis; A clinical diagnostic with photo illustrations*, UNICEF East Asia and Pacific Regional Office, Bangkok, Thailand (2004) ISBN 974-685-040-7.
- [Tamaki and Frankenberger, 1992](#) S. Tamaki and W.T. Frankenberger Jr, Environmental chemistry of arsenic, *In Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* vol. **124**, Springer-Verlag, New York (1992) pp. 79–110.
- [Tetsuro et al., 2006](#) A. Tetsuro, K. Takashi, F. Junko, K. Reiji, B.M. Tu, T.K.T. Pham, I. Hisato, S. Annamalai, H.V. Pham and T. Shinsuke, Contamination by arsenic and other trace elements in tube-well water and its risk assessment to humans in Hanoi, Vietnam, *Environmental Pollution* **139** (2006), pp. 95–106.
- [Umitsu, 1987](#) M. Umitsu, Late quaternary sedimentary environments and landform evolution in the Bengal lowland, *Geographical Review of Japan B* **60** (1987), pp. 164–178.
- [van Geen et al., 2003](#) A. van Geen, Y. Zheng, R. Versteeg, M. Stute, A. Horneman, R. Dhar, M. Steckler, A. Gelman, C. Small, H. Ahsan, J.H. Graziano, I. Hussain and K.M. Ahmed, Spatial variability of arsenic in 6000 tube wells in a 25 km² area of Bangladesh, *Water Resources Research* **39** (2003), pp. 1140–1155.
- [van Geen et al., 2008](#) A. van Geen, K. Radloff, Z. Aziz, Y. Zheng, M.R. Huq, K.M. Ahmed, B. Weinman, S. Goodbred, M. Berg, P.T.K. Trang, L. Charlet, J. Metral, D. Tisserand, S. Guillot, S. Chakraborty, A.P. Gajurel and B. Upreti, Comparison of arsenic concentrations in simultaneously-collected groundwater and aquifer particles from Bangladesh, India, Vietnam, and Nepal, *Applied Geochemistry* **23** (2008), pp. 3244–3251.
- [Vogel, 1989](#) A.I. Vogel, Vogel's Textbook of Quantitative Chemical Analysis, Longman Scientific and Technical (1989).
- [Wagner et al., 2005](#) F. Wagner, Z. Berner and D. Stüben, Arsenic in groundwater of the Bengal delta plain: geochemical evidences for small scale redox zonation in the aquifer. In: J. Bundschuh, P. Bhattacharya and D. Chandrasekharam, Editors, *Natural Arsenic in Groundwater: Occurrences, Remediation and Management*, Taylor and Francis, Balkema (2005), pp. 11–24.
- [Welch, 2000](#) Welch, A.H., 2000. Arsenic in ground water: a perspective from the United States of America. In: Bhattacharya, P., Welch, A.H. (Eds.), *Arsenic in Groundwater of*

Sedimentary Aquifers. Pre-Congress Workshop, 31st International Geological Congress, Rio de Janeiro, Brazil, pp. 81–82.

[Wersin *et al.*, 1989](#) P. Wersin, L. Charlet, R. Karthein and W. Stumm, From adsorption to precipitation: sorption of Mn^{2+} on $\text{FeCO}_3(\text{s})$, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **53** (1989), pp. 2787–2796.

[Wolthers *et al.*, 2005](#) M. Wolthers, L. Charlet, C.H. Van der Weijden, P.R. Van der Linde and D.T. Rickard, Arsenic mobility in the ambient sulphidic environment: sorption of arsenic(V) and arsenic(III) onto disordered mackinawite, *Geochimica et Cosmochimica Acta* **69** (2005), pp. 3483–3492

4.1.9 Appendix A. Supplementary material

Table A. Measured field parameters including analyzed As and Fe concentrations (preliminary survey).

Well no	Latitude	Longitude	Depth (m)	pH	Eh (mV)	log pCO ₂ (atm)	Electrical conductivity (μS/cm)	Temp (°C)	Fe (mM)	As (μM)
AA-0	23.083	88.531	27.1	7	-143	-1.45	818	27.7	0.15	1.9
AA-1	23.092	88.544	26.2	7	-140	-1.34	745	26.6	0.1	0.6
AA-2	23.091	88.534	25.3	7	-134	-1.29	778	27.1	0.14	0.3
AA-3	23.093	88.521	46.3	7	-110	-1.35	702	27.7	0.07	1.9
AA-4	23.1	88.511	15.5	7.1	NA	-1.53	550	27.3	0.03	0.58
AA-5	23.081	88.523	27.1	6.9	NA	-1.11	1212	27	0.13	0.56
AA-8	23.081	88.513	9.1	NA	NA	NA	NA	NA	0.17	2.7
AA-9	23.078	88.532	36	6.9	-121	-1.13	1273	26.5	0.11	0.06
AA-10	23.082	88.536	26.2	7	-130	-1.39	696	29.7	0.08	0.04
AA-11	23.083	88.539	32.3	7	-117	-1.36	772	31.7	0.07	0.06
AA-23	23.083	88.512	21.3	7	-127	-1.36	803	29.2	0.1	2
AA-24	23.091	88.519	14	7	NA	-1.38	736	26.2	0.06	0.67
AA-28	23.081	88.528	36.6	6.9	-86	-1.1	1055	26.9	0.13	3.3
AA-29	23.078	88.543	27.4	7	-104	-1.42	653	27.1	0.05	0.41
AA-34	23.074	88.53	45.7	7	NA	-1.36	654	27.4	0.1	0.32
AA-42	23.077	88.521	26.2	7.1	-145	-1.44	902	29.4	0.12	0.67
AA-47	23.079	88.512	21.3	NA	NA	NA	NA	NA	0.18	2.2
AA-48	23.085	88.516	15.2	NA	NA	NA	NA	NA	0.16	5
AA-49	23.086	88.521	26.2	7	-126	-1.24	1333	26.9	0.2	0.63
AA-50	23.075	88.515	30.5	7.1	-153	-1.46	720	27.2	0.12	5.8
AA-52	23.088	88.527	20.1	7.1	-119	-1.43	769	26.8	0.15	0.22
AA-53	23.084	88.527	20.1	7	-122	-1.34	890	27.3	0.08	0.21
AA-54	23.084	88.529	20.1	7	-130	-1.34	1074	26.6	0.17	0.95
AA-55	23.085	88.523	20.1	7	-111	-1.1	1302	27.4	0.08	BDL
AA-56	23.077	88.504	33.5	NA	NA	NA	NA	NA	0.11	BDL
S-1	23.084	88.522	21.9	7	-120	-1.34	798	27.3	0.15	0.41
S-2	23.086	88.521	79.2	7	-119	-1.23	828	28.1	0.1	2.6
S-3	23.083	88.522	35.4	6.9	NA	-1.15	966	26.7	0.17	2
S-4	23.082	88.521	22.9	NA	NA	NA	NA	NA	0.19	1.1
S-5	23.081	88.518	73.2	NA	NA	NA	NA	NA	0.14	1.5
S-7	23.08	88.513	129.5	NA	NA	NA	NA	NA	0.02	0.15
S-8	23.08	88.513	26.2	NA	NA	NA	NA	27.3	0.08	2.5
S-9	23.093	88.542	21.9	7	-132	-1.37	677	27.1	0.13	0.52
S-10	23.093	88.541	100.6	7	-95	-1.3	756	28.6	0.04	0.41
S-11	23.092	88.537	20.1	7	-138	-1.28	843	27.6	0.12	0.24
S-12	23.09	88.531	20.1	NA	NA	NA	NA	NA	0.11	0.39

Well	Latitude	Longitude	Depth (m)	pH	Eh (mV)	log pCO ₂ (atm)	Electrical conductivity (μS/cm)	Temp (°C)	Fe (mM)	As (μM)
S-13	23.09	88.527	20.1	NA	NA	NA	NA	NA	0.15	0.71
S-14	23.092	88.523	14	6.9	-107	-1.13	1120	27.4	0.09	BDL
S-15	23.102	88.512	14	7.1	-116	NA	729	26.8	0.04	1
S-17	23.096	88.519	158.5	NA	NA	NA	NA	NA	0.02	0.21
S-18	23.078	88.513	109.7	NA	NA	NA	NA	NA	0.03	0.52
S-32	23.073	88.541	40.2	7.1	-114	-1.59	493	26.6	0.06	0.35
S-33	23.074	88.539	73.2	7.1	-137	-1.57	669	27.2	0.04	0.07
S-34	23.074	88.538	34.1	7.1	-107	-1.42	650	26.7	0.08	0.35
S-35	23.074	88.535	31.7	7	-119	-1.33	741	26.7	0.08	0.19
S-36	23.076	88.518	24.4	7.2	-139	-1.39	1270	26.9	0.05	0.19
S-37	23.077	88.518	30.5	7.1	-114	-1.25	1293	26.8	0.08	1.9
S-38	23.078	88.519	48.8	7.2	-146	-1.47	732	27.2	0.12	1.8
S-39	23.076	88.519	24.4	7.2	-140	-1.38	1480	27.1	0.09	BDL
S-40	23.078	88.518	30.5	7	-141	-1.29	1010	26.5	0.17	1.1
S-41	23.078	88.519	85.3	7.3	-97	-1.62	646	26.6	0.01	0.75
S-42	23.079	88.518	27.1	7.1	-139	-1.25	1197	26.5	0.2	0.54
S-43	23.08	88.519	21.9	7.1	-147	-1.39	803	27.3	0.17	2.8
S-44	23.083	88.516	21	7.1	-145	-1.47	844	26.5	0.19	0.8
S-45	23.082	88.516	18.3	7.1	-144	-1.48	730	26.7	0.11	0.77
S-46	23.081	88.515	24.4	7.1	-143	-1.32	976	26.7	0.25	1.2
S-47	23.075	88.519	28	7.3	-105	-1.59	1022	26.8	0.03	0.6
S-50	23.076	88.537	34.1	7	-126	-1.25	1135	26.6	0.1	0.07
S-51	23.077	88.537	34.1	7	-119	-1.27	892	27.5	0.09	0.41
S-52	23.077	88.536	28	6.9	-126	-1.22	899	27.6	0.13	0.11
S-53	23.078	88.541	25.9	7	-120	-1.35	637	27.2	0.07	0.22
S-54	23.076	88.539	34.1	6.9	-118	-1.16	814	27.3	0.09	0.24
S-55	23.08	88.541	45.7	7.1	-125	-1.44	715	27.7	0.1	0.06
S-56	23.08	88.543	24.4	7	-116	-1.44	614	27.7	0.07	0.17
S-57	23.079	88.539	24.4	6.9	-125	-1.35	645	27.8	0.03	0.24
S-58	23.078	88.536	61	6.9	-130	-1.24	776	27.6	0.1	0.37
S-59	23.079	88.536	67.1	7	-73	-1.38	729	28.1	0.01	0.17
S-60	23.074	88.539	30.5	7	-117	-1.44	638	27.6	0.07	0.32
S-61	23.077	88.54	27.4	7	-117	-1.32	747	27.3	0.06	0.19
S-62	23.076	88.536	146.3	7.1	-83	NA	737	27.7	0.05	0.19
S-63	23.088	88.535	28	7.2	-109	-1.5	784	27.4	0.06	0.3
S-64	23.087	88.536	25.9	7	-133	-1.44	594	27.7	0.11	0.6

Well	Latitude	Longitude	Depth (m)	pH	Eh (mV)	log pCO ₂ (atm)	Electrical conductivity (μS/cm)	Temp (°C)	Fe (mM)	As (μM)
S-65	23.086	88.535	30.5	6.9	-135	-1.26	1085	27.6	0.17	1.4
S-66	23.085	88.535	28	7	-129	-1.25	729	28.1	0.13	0.73
S-67	23.087	88.534	18.3	7	-107	-1.25	1277	28.5	0.08	0.3
S-68	23.089	88.537	18.3	7.1	-124	-1.41	672	27.5	0.11	0.07
S-69	23.09	88.538	29.3	6.9	-133	-1.26	721	27.8	0.1	0.63
S-70	23.081	88.536	120.1	7.1	-77	-1.49	751	27.2	0	0.43
S-71	23.083	88.534	26.2	7	-120	-1.38	664	27.1	0.07	0.52
S-72	23.084	88.541	79.2	7.1	-140	-1.46	735	27.3	0.17	0.88
S-73	23.083	88.544	30.5	7	-108	-1.25	946	27.5	0.04	0.22
S-74	23.087	88.541	30.5	6.9	-129	-1.26	814	27.3	0.14	2
S-75	23.085	88.541	45.7	7.1	-108	-1.49	696	27.5	0.06	0.47
S-76	23.088	88.542	20.1	7	-131	-1.46	614	27.8	0.12	1.3
S-77	23.084	88.539	30.5	6.9	-127	-1.23	741	27.5	0.15	1.3
S-78	23.087	88.545	42.7	7	-115	-1.4	632	27.2	0.07	0.26
S-79	23.09	88.545	30.5	7	-138	-1.31	807	28	0.06	2.1
S-80	23.09	88.534	27.4	6.9	-138	-1.18	965	27.8	0.15	0.6
S-81	23.084	88.537	24.4	7	-130	-1.4	693	27.6	0.12	1.6
S-82	23.086	88.538	40.2	6.9	-140	-1.22	797	27.7	0.15	1.8
S-83	23.087	88.538	21.9	7	-140	-1.34	679	27.9	0.13	0.07
S-84	23.088	88.538	20.1	6.8	-144	-1.19	699	28.1	0.14	1.2
S-85	23.084	88.534	20.1	6.9	-142	-1.2	1055	28.1	0.12	2
S-87	23.088	88.529	26.2	7	-127	-1.28	833	27.1	0.1	0.24
S-88	23.089	88.521	26.2	7.1	-119	-1.38	816	27.2	0.1	1.6
S-89	23.088	88.524	21.3	7	-127	-1.34	1042	27.6	0.17	0.26
S-90	23.087	88.523	40.2	7	-124	-1.3	856	27.6	0.1	0.3
S-91	23.088	88.531	20.1	7	-116	-1.08	1110	26.9	0.17	0.35
S-92	23.083	88.53	45.7	7	-113	-1.31	949	26.8	0.14	1.9
S-93	23.085	88.531	20.1	7	-95	-1.26	1014	27.3	0.06	0.07
S-94	23.085	88.529	34.1	7	-89	-1.13	1442	26.9	0.08	0.07
S-95	23.088	88.528	24.4	7.1	-118	-1.33	756	27.2	0.05	0.11
S-96	23.087	88.523	21.3	7	-112	-1.27	966	26.8	0.05	0.28
S-97	23.087	88.527	21.9	7.2	-118	-1.52	672	26.9	0.06	0.35
S-98	23.085	88.525	20.1	7.2	-108	-1.4	1130	26.7	0.09	0.32
S-99	23.088	88.526	20.1	7	-115	-1.26	921	27.2	0.16	0.13
S-100	23.087	88.523	20.1	7.2	-127	-1.4	1124	26.4	0.07	0.17
S-101	23.09	88.532	20.1	7.1	-118	-1.52	1095	26.9	0.17	0.19

Well	Latitude	Longitude	Depth (m)	pH	Eh (mV)	log pCO ₂ (atm)	Electrical conductivity (μS/cm)	Temp (°C)	Fe (mM)	As (μM)
S-103	23.085	88.532	18.9	7.3	-99	-1.66	736	27.3	0.06	0.09
S-104	23.09	88.524	32.3	6.8	-90	-1.06	1090	26.9	0.13	0.32
S-105	23.094	88.519	20.1	7	NA	-1.39	774	27.2	0.09	0.69
S-106	23.088	88.515	15.2	7.1	NA	-1.42	663	27.5	0.01	0.37
S-106a	23.089	88.516	15.2	7	NA	-1.44	541	27	0.07	0.21
S-107	23.091	88.517	15.2	7	NA	-1.31	682	27.4	0.05	0.39
S-110	23.095	88.517	27.4	7	NA	-1.33	746	27.4	0.1	0.3
S-111	23.096	88.517	28.7	7	NA	-1.35	733	27.2	0.07	0.41
S-112	23.097	88.515	15.2	7.1	NA	-1.4	673	27.3	0.01	0.41
S-113	23.077	88.532	45.7	6.9	-83	-1.25	716	27.6	0.08	0.63
S-114	23.078	88.534	30.5	6.8	NA	-1.03	1170	28.6	0.16	0.19
S-115	23.077	88.523	64	6.8	NA	-1.08	953	26.6	0.08	2.3
S-116	23.079	88.523	26.2	7	NA	-1.38	699	27.2	0.08	0.93
S-118	23.079	88.525	20.1	6.9	NA	-1.12	1135	26.8	0.17	2.2
S-119	23.082	88.525	27.1	6.9	NA	-1.13	1172	26.8	0.16	0.95
S-120	23.082	88.522	27.1	NA	NA	NA	NA	NA	0.17	1.8
S-121	23.084	88.517	24.4	NA	NA	NA	NA	NA	0.17	3.4
S-122	23.084	88.52	79.2	NA	NA	NA	NA	NA	0.08	1.1
S-123	23.084	88.521	21.9	NA	NA	NA	NA	NA	0.17	1.6
S-124	23.087	88.52	20.1	NA	NA	NA	NA	NA	0.08	0.26
S-125	23.086	88.518	20.1	NA	NA	NA	NA	NA	0.11	1.5
S-126	23.085	88.517	24.4	NA	NA	NA	NA	NA	0.12	BDL
S-127	23.074	88.518	45.7	NA	NA	NA	NA	NA	0.08	1.7
S-128	23.077	88.516	30.5	NA	NA	NA	NA	NA	0.13	3.8
S-130	23.077	88.511	73.2	NA	NA	NA	NA	NA	0.02	2.5
S-131	23.079	88.52	38.7	NA	NA	NA	NA	NA	0.21	2
S-132	23.079	88.522	20.1	NA	NA	NA	NA	NA	0.13	1.4
S-133	23.08	88.521	20.1	NA	NA	NA	NA	NA	0.19	2.8
S-134	23.076	88.533	103.6	NA	NA	NA	NA	NA	0.03	0.32
FS-7	23.089	88.506	15.2	NA	NA	NA	NA	NA	0.09	0.22
F-7	23.085	88.509	18.3	7.2	-107	-1.56	682	28.7	0.01	BDL
FS-8	23.089	88.506	15.2	NA	NA	NA	NA	NA	0.08	1.5
FS-9	23.088	88.507	21.3	NA	NA	NA	NA	NA	0.04	1.7
F-5	23.086	88.507	12.2	NA	NA	NA	NA	NA	0.08	2.8
FS-12	23.081	88.503	18.3	7	-113	-1.37	821	28.3	0.01	0.84
FS-14	23.084	88.503	18.3	NA	NA	NA	NA	NA	0.03	0.91

Well	Latitude	Longitude	Depth (m)	pH	Eh (mV)	log pCO ₂ (atm)	Electrical conductivity (μS/cm)	Temp (°C)	Fe (mM)	As (μM)
FS-15	23.079	88.504	18.3	7	-113	-1.29	869	29.3	0.06	1.1
FS-17	23.078	88.505	18.3	7	-108	-1.2	944	29.2	0.07	0.86
FS-22	23.084	88.509	18.3	7.1	-102	-1.47	678	27.7	BDL	BDL
FS-23	23.086	88.511	18.3	7.2	-125	-1.63	566	27.7	0.05	0.9
FS-24	23.085	88.516	24.4	NA	NA	NA	NA	NA	0.17	6.4
FS-25	23.086	88.515	27.4	NA	NA	NA	NA	NA	0.07	3.3
FS-26	23.085	88.514	18.3	NA	NA	NA	NA	NA	0.09	2.4
FS-28	23.086	88.515	24.4	NA	NA	NA	NA	NA	0.09	2.3
FS-30	23.089	88.52	18.3	7.1	NA	-1.48	708	27.9	0.06	1.2
B-1	23.077	88.51	21.9	NA	NA	NA	NA	NA	0.05	1.4
B-2	23.078	88.51	18.3	NA	NA	NA	NA	NA	0.09	1.5
B-3	23.078	88.51	21.3	NA	NA	NA	NA	NA	0.07	0.8
B-4	23.078	88.51	21.3	NA	NA	NA	NA	NA	0.07	1.3
B-5	23.077	88.51	18.3	NA	NA	NA	NA	NA	0.01	0.9
B-6	23.078	88.51	18.3	NA	NA	NA	NA	NA	0.06	0.5
B-7	23.084	88.515	76.2	NA	NA	NA	NA	NA	0.05	2.5
Min			9.1	6.8	-153	-1.7	493	26	0	0
Max			159	7.3	-73	-1.0	1480	32	0.25	6.4
mean			33	7.0	-121	-1.3	850	27	0.10	1.04
median			26	7.0	-120	-1.3	777	27	0.09	0.63
SD			25	0.10	17	0.13	209	0.76	0.05	1.1

Note: NA- Not available; BDL- Below detection limit

Table B. Major and trace elements composition including As and Fe speciation data from selected tube wells (detailed survey).

Well no	As-total (μM)	As-III (μM)	As-V (μM)	Fe-total (mM)	Fe-II (mM)	Fe-III (mM)	Mn (μM)	Na (mM)	K (mM)	Ca (mM)	Mg (mM)	HCO ₃ (mM)	Cl (mM)	SO ₄ (mM)	NO ₃ (mM)
AA-0	4.2	1.51	2.69	0.202	0.183	0.019	7.2	1.4	0.1	2.6	1.3	7.5	NA	NA	NA
AA-1	0.94	0.31	0.63	0.122	0.086	0.036	3.1	0.45	0.06	3	1.1	7.6	0.274	BDL	0.197
AA-2	0.98	0.10	0.88	0.161	0.115	0.046	3.2	0.48	0.09	3.2	1.3	7.8	0.356	0.017	0.16
AA-3	2.8	0.34	2.46	0.075	0.063	0.012	3.5	0.79	0.12	2.7	1.1	6.8	0.425	0.053	0.004
AA-4	0.54	0.13	0.41	0.034	0.025	0.009	18	0.3	0.07	2.2	0.77	5.8	0.138	0.022	BDL
AA-5	1.5	0.81	0.69	0.147	0.126	0.021	3.4	2.3	0.72	3.7	2	10	2.536	0.309	BDL
AA-9	0.27	0.17	0.10	0.11	0.088	0.022	7.1	3.1	0.06	4.2	1.5	9.6	3.106	0.318	BDL
AA-23	5.4	2.42	2.98	0.197	0.18	0.017	6.8	0.84	0.09	2.6	1.3	7.3	0.21	BDL	BDL
AA-24	2.2	1.29	0.91	0.066	0.046	0.02	21	0.89	0.08	2.7	1	6	0.615	0.053	BDL
AA-28	5.3	1.04	4.26	0.355	0.25	0.105	3.8	1.3	0.13	3.4	1.8	9.7	1.675	BDL	BDL
AA-29	0.8	0.46	0.34	0.067	0.049	0.018	1.4	0.72	0.06	2.4	1	6.7	0.258	BDL	BDL
AA-34	0.77	0.51	0.26	0.276	0.197	0.079	3	0.6	0.17	2.3	1.1	6.7	0.232	BDL	0.071
AA-42	3.4	0.50	2.90	0.138	0.122	0.016	17	0.84	0.09	3.6	1.4	7.8	0.088	BDL	BDL
AA-47	7.3	2.50	4.80	0.227	0.195	0.032	9.8	1.2	0.1	2.9	1.3	8.4	0.122	BDL	BDL
AA-48	5.4	1.50	3.90	0.193	0.183	0.01	13	1.2	0.08	3.4	1.6	7.3	0.603	BDL	0.01
AA-49	1.2	0.40	0.80	0.197	0.173	0.024	5.8	3.3	0.13	4.3	1.6	9.4	2.831	BDL	BDL
AA-50	5.8	3.27	2.53	0.142	0.124	0.018	4.7	0.75	0.1	2.6	1.1	6.8	0.118	BDL	BDL
AA-52	0.67	0.08	0.59	0.133	0.119	0.014	3.3	0.67	0.06	2.9	1.2	8	0.401	BDL	BDL
AA-53	0.87	0.51	0.36	0.095	0.083	0.012	5.5	0.78	0.09	3.2	1.4	7.8	1.662	0.028	0.07
AA-54	1.3	0.79	0.51	0.187	0.176	0.011	3.1	1.9	0.08	3.5	1.8	7.8	2.682	0.369	BDL
AA-55	1.3	0.30	1.00	0.123	0.096	0.027	5.3	3.7	0.13	4.6	1.9	11	1.404	0.119	BDL
AA-56	2	0.80	1.20	0.133	0.121	0.012	17	1.3	0.11	4.5	2	9.9	2.356	0.245	BDL
S-1	2.4	0.80	1.60	0.168	0.134	0.034	3.3	0.89	0.11	2.8	1.2	8	NA	NA	NA
S-2	4	0.90	3.10	0.111	0.091	0.02	2.9	0.9	0.05	3.1	1.3	8.6	NA	NA	NA
S-5	2.9	1.70	1.20	0.186	0.175	0.011	5.2	1	0.11	3.3	1.7	7.8	NA	NA	NA
S-9	0.58	0.17	0.41	0.127	0.097	0.03	2.7	0.53	0.09	2.7	1.2	6	NA	NA	NA
S-10	0.55	0.23	0.32	0.046	0.034	0.012	1.4	0.9	0.07	3.2	1.2	8.4	NA	NA	NA
S-11	0.62	0.37	0.25	0.153	0.146	0.007	6.8	0.47	0.07	4	1.2	8.3	NA	NA	NA
S-14	0.36	0.17	0.19	0.132	0.121	0.011	11	1.8	0.13	3.9	2.1	8.9	NA	NA	NA
S-18 I	0.91	0.43	0.48	0.027	0.019	0.008	0.92	1.1	0.08	3.1	1.2	NA	NA	NA	NA
S-18 II	4	1.60	2.40	0.187	0.165	0.022	14	0.84	0.11	3.3	1.3	NA	NA	NA	NA
S-36	0.82	0.47	0.35	0.096	0.072	0.024	15	2.5	0.16	4.6	1.6	9.1	NA	NA	NA
S-48	0.11	0.05	0.06	0.244	0.197	0.047	10	1.2	0.07	5.3	1.8	NA	NA	NA	NA
S-49	0.2	0.10	0.10	0.098	0.079	0.019	6.8	0.89	0.04	3.6	0.91	NA	NA	NA	NA
S-53	1	0.48	0.52	0.104	0.086	0.018	5.5	0.53	0.03	2.5	1.1	6.8	NA	NA	NA
S-68	0.35	0.14	0.21	0.172	0.137	0.035	12	0.55	0.1	3	0.82	7	NA	NA	NA

Well no	As-total (μM)	As-III (μM)	As-V (μM)	Fe-total (mM)	Fe-II (mM)	Fe-III (mM)	Mn (μM)	Na (mM)	K (mM)	Ca (mM)	Mg (mM)	HCO ₃ (mM)	Cl (mM)	SO ₄ (mM)	NO ₃ (mM)
S-73	0.3	0.14	0.16	0.099	0.072	0.027	12	0.79	0.04	3.7	1.4	8.8	NA	NA	NA
S-90	1.7	0.50	1.20	0.134	0.109	0.025	10	0.81	0.07	3.6	1.3	8.4	NA	NA	NA
S-101	0.66	0.50	0.16	0.21	0.181	0.029	3.2	1.7	0.1	4.1	1.4	5.8	NA	NA	NA
S-102	0.64	0.22	0.42	0.143	0.127	0.016	6.1	0.45	0.09	3.4	1.2	NA	NA	NA	NA
S-103	BDL	BDL	BDL	0.037	0.029	0.008	2.3	1.3	0.1	2.2	0.72	6.3	NA	NA	NA
S-104	1.3	0.20	1.10	0.165	0.124	0.041	6.3	3.2	0.12	3.6	1.4	9.1	NA	NA	NA
S-106a	1.5	0.50	1.00	0.077	0.062	0.015	21	0.52	0.07	2.1	0.79	6	NA	NA	NA
S-109	0.38	0.17	0.21	0.019	0.014	0.005	21	1.1	0.15	3.8	1.7	NA	NA	NA	NA
S-110	1.5	0.40	1.10	0.102	0.091	0.011	13	0.9	0.08	2.8	1	7.3	NA	NA	NA
S-112	3.4	1.50	1.90	0.129	0.099	0.03	30	0.55	0.07	3.4	1.3	7.3	NA	NA	NA
S-120	3.4	1.54	1.86	0.2	0.181	0.019	5.4	1.3	0.17	4	2	8.1	NA	NA	NA
S-121	5.4	2.50	2.90	0.221	0.182	0.039	8.7	1.1	0.1	3	1.5	7.8	0.4	BDL	BDL
S-122	2.7	1.44	1.26	0.106	0.089	0.017	1.4	0.72	0.05	2.6	1.1	6.6	NA	NA	NA
S-123	3.3	1.68	1.62	0.208	0.182	0.026	6.5	1	0.09	3	1.4	8.1	NA	NA	NA
S-124	1.1	0.50	0.60	0.108	0.089	0.019	4.3	1.2	0.08	3	1.3	7.1	NA	NA	NA
S-125	3.1	1.00	2.10	0.198	0.173	0.025	9.4	1.7	0.07	3.6	1.6	8	0.32	0.07	BDL
S-126	5.2	2.30	2.90	0.139	0.127	0.012	16	1.3	0.09	3.1	1.4	7.5	NA	NA	NA
S-127	2.7	1.06	1.64	0.106	0.089	0.017	22	1.1	0.09	3.9	1.4	8.3	NA	NA	NA
S-128	5.8	2.91	2.89	0.102	0.087	0.015	22	0.55	0.08	3.7	1.4	8.4	NA	NA	NA
S-129	4.3	1.94	2.36	0.218	0.189	0.029	7.7	0.74	0.09	3.1	1.2	NA	NA	NA	NA
S-130	4.6	2.62	1.98	0.016	0.012	0.004	9.2	0.79	0.09	3.3	1.4	7.4	NA	NA	NA
S-131	3.4	1.00	2.40	0.257	0.206	0.051	5.6	0.95	0.08	3.5	1.7	8.7	NA	NA	NA
S-132	3.3	1.54	1.76	0.164	0.144	0.02	3.3	0.59	0.08	2.6	1.3	7.2	NA	NA	NA
S-133	5.2	2.61	2.59	0.242	0.22	0.022	8.2	0.9	0.11	3.6	1.7	10	NA	NA	NA
S-134	1.1	0.45	0.65	0.033	0.025	0.008	1.9	0.68	0.05	2.6	1.1	5.9	NA	NA	NA
B-7	5.2	2.79	2.41	0.055	0.043	0.012	2.2	0.73	0.06	2.7	1.2	NA	NA	NA	NA
Min	0.11	0.05	0.06	0.02	0.01	0.00	0.92	0.30	0.03	2.10	0.72	5.80	0.09	0.02	0.004
Max	7.30	3.27	4.80	0.36	0.25	0.11	30.00	3.70	0.72	5.30	2.10	11.00	3.11	0.37	0.20
mean	2.38	0.97	1.40	0.14	0.12	0.02	8.42	1.12	0.10	3.27	1.36	7.83	0.99	0.15	0.09
median	1.50	0.51	1.10	0.13	0.12	0.02	6.40	0.90	0.09	3.20	1.30	7.80	0.40	0.07	0.07
SD	1.89	0.87	1.16	0.07	0.06	0.02	6.47	0.73	0.09	0.66	0.32	1.20	1.03	0.14	0.08

Note: NA- Not available; BDL- Below detection limit

4.2 Données 2005 à Chakdaha (Inde) et modélisation 1D “*Fe(II)-Fe(III)-bearing Phases as a Mineralogical Control on the Heterogeneity of Arsenic in Southeast Asian Groundwater*”

4.2.1 Avant-propos

Dans le Chapitre 3 consacré aux expériences de laboratoire, nous avons étudié les transformations minéralogiques dans un milieu contrôlé en les comparant aux dynamiques des populations microbiennes anaérobies (ferri-réductrices, sulfato-réductrices). Dans le chapitre précédent (Chapitre 4.1), les conditions géochimiques *in situ* sur le site de Chakdaha au Bengale Occidental (Inde) ont été étudiées à partir des campagnes de terrain effectuées entre 2000 et 2002. Dans la nouvelle campagne en 2005, de nouveaux puits ont été étudiés le long d’une transversale à la rivière Hooghly sur le site Chakdaha avec notamment l’analyse du ratio Fe(II)/Fe de la phase solide qui est un bon indicateur de l’état rédox de l’aquifère.

Dans ce chapitre, je simule de manière générique la transition entre deux environnements géochimiques très contrastés, le premier avec du fer solide majoritairement sous forme ferrique Fe(III), le second plus réduit avec du fer majoritairement sous forme ferreuse Fe(II). Les données des puits I6 et I7 sont comparées dans l’annexe « Supporting Information » à celles issues du Bangladesh et du Cambodge. Le logiciel PHREEQC est utilisé, d’une part, pour décrire la sorption de l’arsénite sur les oxydes ferriques, d’autre part pour simuler la transition entre ces deux environnements et son impact sur la mobilité de l’arsenic (cf. Annexe 2 pour le fichier d’entrée au format PHREEQC). Le modèle développé est un modèle de transport réactif 1D couplé aux processus microbiens avec différents accepteurs terminaux d’électrons (nitrates, sulfates, oxydes de fer). On suppose dans ce modèle générique que l’oxydation du carbone organique est constante le long du chemin réactionnel. Différents scénarios sur les processus de respiration microbienne sont développés et les résultats sont comparés aux observations du site de Chakdaha.

Une étude de sensibilité avec les K_d de l’arsénite sur les différentes phases solides Fe(II) et mixtes Fe(II)-Fe(III) (cf. Annexe 1) permet finalement de proposer différentes combinaisons possibles de minéraux compatibles avec les pics d’arsenic observés dans ces aquifères d’Asie du Sud-Est. Cette étude de sensibilité réalisée à l’aide de MATLAB est décrite plus en détail dans l’annexe « Supporting Information ».

Fe(II)-Fe(III)-bearing Phases as a Mineralogical Control on the Heterogeneity of Arsenic in Southeast Asian Groundwater

ANDRE BURNOL^{§‡}, LAURENT CHARLET[§]*

[§]LGIT-OSUG, University of Grenoble-I, BP 53, F-38041 Grenoble Cedex 9, France.

[‡] BRGM, Bureau de Recherches Géologiques et Minières, Environment and Process Division, 3, avenue Claude Guillemin, BP 36009,

45060 Orléans Cedex 2, France

Prepared for **Environmental Science & Technology**

Brief: Impact of the nature and distribution of Fe(III)-Fe(II)-bearing phases on As
mobilization in Southeast Asian groundwater

*Corresponding author

Phone: +33 476 63 5198; fax: +33 476 63 5252; e-mail address: a.burnol@brgm.fr

4.2.2 Abstract

Although groundwater arsenic constitutes a major hazard to the health of the people of Southeast Asia, the exact mineralogical origin of the arsenic in these fluvial aquifers is still under debate. Fe(III) oxides are the dominant hosts of mobilizable arsenic in the sediments, with the role of secondary Fe(II)-bearing phases like mackinawite, siderite, vivianite, magnetite and carbonate green rust (fougerite) still unclear. Based on published field data from Chakdaha (India) and Araihasar (Bangladesh), the importance of the phases for arsenic mobility is evaluated quantitatively using models of growing complexity. Arsenic heterogeneity in the aquifers can be explained by the presence of two contrasted redox zones in the suboxic environment, with Fe(III) oxide being the dominant sorbent for arsenic in the more oxic zone and Fe(II) sulfides and/or Fe(II) carbonates being the solid-phase hosts for arsenic under more anoxic conditions below impermeable soils or close to rivers where sulfate is reduced. A “1D generic reactive transport model” which simulates the transition between the two environments has been developed and compared to field data. The results show that microbial sulfate reduction followed by abiotic and/or biotic reduction of As(III)-bearing Fe oxides accounts for the spatial heterogeneity of arsenic in such reduced aquifers.

4.2.3 Introduction

The spatial heterogeneity of arsenic in shallow groundwater is well documented in many fluvial regions of Southeast Asia and occurs on very small scales with high arsenic concentrations (>100 ppb) commonly being found within tens of meters of low concentrations (<50 ppb). This may reflect a combination of different lithological structures in such alluvial aquifers, such as highly permeable channel sands and very low permeability channels filled with organic-rich overbank deposits. The interconnectivity of highly permeable channels could be critical in determining groundwater arsenic distribution because of its control on groundwater flow patterns and hence the rate of flushing arsenic from these systems (*1*). Such heterogeneity reflects local heterogeneities in the water recharge, water chemistry and sediment properties inherent to a young depositional floodplain environment.

The interrelationship between redox transformations of iron and arsenic is considered to be a key point in understanding the release of arsenic and further understanding its spatial heterogeneity. The most widely accepted mechanism causing high aqueous arsenic concentrations in the Bangladesh and West Bengal aquifers is microbial reductive dissolution

of iron (hydr)oxides and concomitant release of arsenic (2). The origin of the organic matter that drives such aquifers toward reducing conditions conducive to arsenic release is, however, still under debate. Moreover, there is no clear correlation between the concentrations of dissolved iron and arsenic as would be expected from a congruent dissolution hypothesis. On the contrary, a decoupling of Fe(II) and As(III) release is observed in both the laboratory (e.g. 3, 4, 5) and the field (2). This poor As-Fe correlation could be explained by various scenarios, such as (i) a biotic reduction of As(V) to As(III) which sorbs more weakly onto iron oxyhydroxides in the presence of carbonates (5), (ii) a precipitation of different secondary Fe(II) phases after the reductive dissolution of Fe(III) phases (6), or (iii) a weaker sorption of arsenic by the secondary Fe(II) phases (see (7) and references therein).

The balance of groundwater recharge from oxygen-rich meteoric water and oxygen-poor organic-rich water from ponds and irrigated fields, or more generally the combination of local hydrology and geochemistry, results in two contrasted geochemical environments: a less reduced (hereafter termed “oxic”) environment characterized by low Fe(II)/Fe ratios with relatively high sulfate and low arsenic concentrations ($<100 \mu\text{g/L As}$), and a more reduced (hereafter termed “suboxic”) environment characterized by higher Fe(II)/Fe ratios with lower sulfate and higher As concentrations ($> 100 \mu\text{g/L As}$). These two environments have been observed along the Mekong River in Cambodia (8, 9, 10, and personal communication), along the Red River in Vietnam (11) and at the two sites investigated here (Figure 1), i.e. the Hooghly River in Chakdaha, India (12, 13) and site K in Araihaaz, Bangladesh (1, 14).

In the “suboxic” environment, arsenic mobility would be controlled by the nature and distribution of secondary Fe(II) or mixed Fe(II)/Fe(III) phases like mackinawite Fe(II)S , magnetite $\text{Fe(II)Fe(III)}_2\text{O}_4$, fougérite $\text{Fe(II)}_4\text{Fe(III)}_2(\text{OH})_{12}\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (the mineral analogue of carbonate green rust), siderite Fe(II)CO_3 and vivianite $\text{Fe(II)}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$. These secondary phases have all been suggested as potential sorbents for arsenate and arsenite with the K_d s being evaluated in the circumneutral pH range (6–8) (15, 16, 17). The aim of the present paper is to infer, from the different observations in Southeast Asian aquifers, different scenarios of arsenic release and quantitatively test these scenarios using models of growing complexity like K_d , surface complexation and 1D reactive transport models.

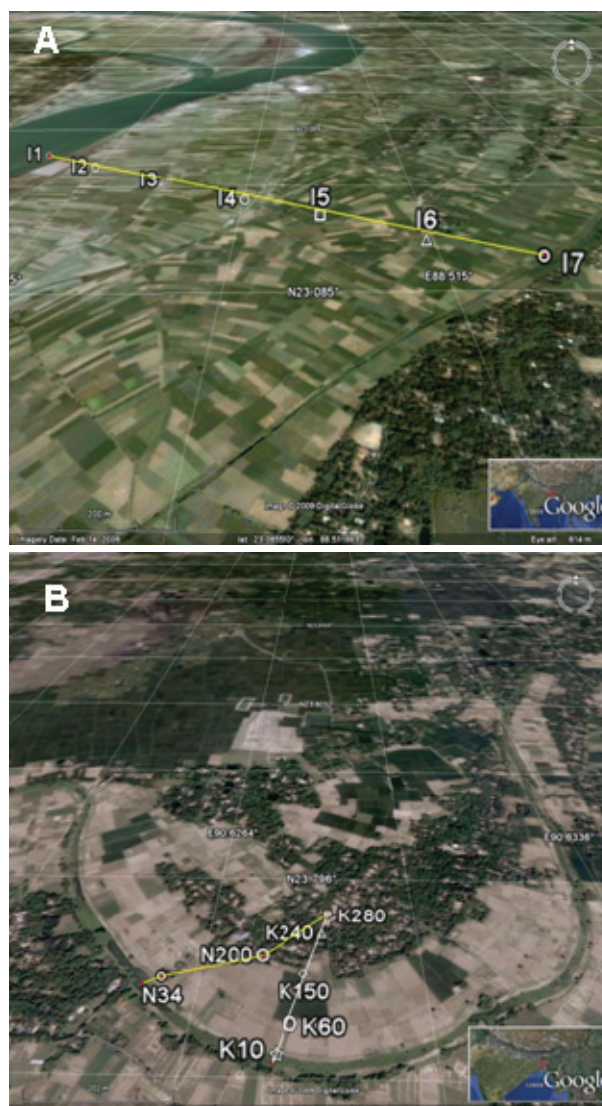


Figure 1: Google Earth satellite images [<http://earth.google.com/>] of the study areas in (A) West Bengal, India and (B) Bangladesh (same scale). Symbols indicate the positions of needle-sampler profiles obtained in the two study areas: (A) I site (Chakdaha, India) with the Hooghly River transect I1-I17, and (B) K site (Araihazar, Bangladesh) with two transects: K10 - K60 - K150 - K280, and N34 - N200 indicating the distance in meters from a nearby stream.

4.2.4 Models

Iron(III) surface complexation model. Geochemical speciation and sorption were performed with the release of PHREEQC version 2.15 (18) and the WATEQ4F database (19). The activity coefficients in PHREEQC were calculated using the modified Debye Hückel law (at an ionic strength of about 3 mM). The protonation constants of arsenite, being consistent with the sorption data calculated by Dixit and Hering (20), were extracted from the MINEQL V4.5 database (21). All these data are given in Table 1.

Table 1. Reactions used in the “Iron(III) surface complexation model”

Aqueous and surface reactions	log K (I=0 M, 25 °C)	Reference
$\text{H}_3\text{AsO}_3^0 = \text{H}_2\text{AsO}_3^- + \text{H}^+$	-9.22	21
$\text{H}_2\text{AsO}_3^- = \text{HAsO}_3^{2-} + \text{H}^+$	-12.11	21
$\text{HAsO}_3^{2-} = \text{AsO}_3^{3-} + \text{H}^+$	-13.41	21
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeOH}_2^+$	7.29	22
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} = \equiv(\text{w})\text{FeO}^- + \text{H}^+$	-8.93	22
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{AsO}_3^{3-} + 3\text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeH}_2\text{AsO}_3 + \text{H}_2\text{O}$	38.76	20
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{AsO}_3^{3-} + 2\text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeHAsO}_3^- + \text{H}_2\text{O}$	31.87	20
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{HS}^- = \equiv(\text{w})\text{FeS}^- + \text{H}_2\text{O}$	5.3	23
$\equiv(\text{w})\text{FeOH} + \text{HS}^- + \text{H}^+ = \equiv(\text{w})\text{FeHS} + \text{H}_2\text{O}$	10.82	23

Throughout the simulation, the initial aqueous chemistry and the infiltration water correspond to the “oxic” environment and are both described in Table 2. The initial values for the redox-sensitive elements (N, S, Fe, As) are fitted values in order to calibrate the 1D model to the data profiles of Wells I6 and I7. The other elements (Ca, Mg, Na, Cl) are mean values for all the wells from I1 to I7 (12). A typical value was used for the phosphorus of these aquifers because of the absence of available data at this site. The initial aqueous concentration of arsenic is set to 17 µg/L and only arsenite As(III) is considered. This chosen value for As(III) is within the range of observed “low” total aqueous As in the Chakdaha wells, i.e. between 0 and 50 µg/L.

Interactions between the aqueous species and the solid are described by a two-layer surface complexation model from Dzombak and Morel with only one type of adsorption site being considered, i.e. $\equiv(\text{w})\text{FeOH}$ for weak sites (22). The double-layer FeOH sorption model was used to calculate the amount of sorbed and dissolved As(III) species. The intrinsic surface complexation constants used for arsenite As(III) are given by Dixit and Hering (20) (Table 1).

Table 2. Aqueous concentrations of infiltrating water and initial water in the “1D generic reactive transport model” compared to values observed in Wells I7 and I6 (Chakdaha, West Bengal) (n.a.: data not available)

	Well I7 (at 11.4 m depth) mg/kgw	Well I6 (at 12 m depth) mg/kgw	Aqueous (model) mg/kgw
pH	n.a.	n.a.	7
Fe(II)	0.02	0.02	0.02 ^a
Ca	114.8	109.3	108.0 ^b
Mg	28.8	20.0	22.0 ^b
Na	27.5	19.9	18.0 ^b
Cl	33.8	12.5	15.0 ^b
HCO ₃ ⁻	31.23	28.46	28.00 ^a
S	1.65	1.79	6.00 ^a
P	n.a.	n.a.	0.11
NO ₃	4.0	n.a.	12.7 ^a
As(III)	41 µg/L	27 µg/L	17 µg/L ^c

^a fitted values

^b mean value of Wells I1-I7, West Bengal (12)

^c 17 µg/L is chosen as the typical value for “low” As concentrations in Southeast Asian aquifers

The site density used was deduced by Campbell et al. (24) from field data, i.e. 0.117 mol As (mol Fe)⁻¹ (see the Supporting Information [SI]). The number of surface sites was estimated from the amount of extractable iron in the sediments, which ranged from 1 to 3 wt.% in Bangladesh (25). However, only a fraction of this iron is contained in mineral phases with available surface sites for arsenic. This available fraction, which includes amorphous phases (e.g. ferrihydrite) and also more crystalline Fe minerals (e.g. hematite,

goethite), can be approximated by the reducible iron pool of the sediment. In Bangladesh, this fraction is typically 10 to 20% of the solid phase iron, as opposed to the recalcitrant fraction (e.g. Fe incorporated in silicate minerals) (25). The reducible Fe fraction in the model is therefore assumed to be around 20% of the total iron, i.e. 0.2 wt.% supposing 1 wt.% of total iron. Assuming a porosity of 0.25 and a density of 2.62, it corresponds to an available Fe_T fraction of 0.28 mol/L. Using the concentration $[\equiv(\text{w})\text{FeOH}] = 0.117 \text{ Fe}_T$ estimated for natural ferrihydrite by Campbell et al. (24), a surface site density of 0.033 M is available for arsenite (see Table 3). The surface properties are assumed to be the same as with the Hydrous Ferric Oxides (HFO) used by Dzombak and Model (22), i.e. a specific surface area of 600 m²/g and a gram formula weight of 89 g/mol.

Table 3. Initial sorbed concentrations calculated by PHREEQC assuming 0.28 mol/L solid Fe(III) and As(III) as the unique sorbate

	Surface concentration mol/L	fraction
$\equiv(\text{w})\text{Fe}$	$3.29 \times 10^{-2} \text{ }^a$	1.000
$\equiv(\text{w})\text{FeOH}$	2.44×10^{-2}	0.743
$\equiv(\text{w})\text{FeOH}_2^+$	4.94×10^{-3}	0.150
$\equiv(\text{w})\text{FeO}^-$	2.77×10^{-3}	0.084
$\equiv(\text{w})\text{FeHAsO}_3^-$	7.05×10^{-4}	0.021
$\equiv(\text{w})\text{FeH}_2\text{AsO}_3$	5.78×10^{-5}	0.002

^a calculated with 0.117 mol/(mol Fe(III)) (see text)

1D generic reactive transport model. Coupling the geochemical reactions with a constant 1D advective flow was performed using the 2.15 version of PHREEQC (18) and the WATEQ4F database (19). A generic 1D flow path from an area recharge to a depth range (e.g. Wells I6-I7 in West Bengal; see SI) or to a discharge area (typically a local stream as at site K in Bangladesh; see SI) was considered assuming a groundwater flow velocity along the path of 5 cm/day (5.8×10^{-7} m/s). The selected generic central values corresponding to this

velocity value were a hydraulic gradient of $0.5 \cdot 10^{-3}$, a hydraulic conductivity of $3 \cdot 10^{-4}$ m/s, and a typical porosity of 0.25 (*I*). Previous studies of the Bengali aquifers, however, give porosity values ranging from 10% to 30% (26) and a hydraulic conductivity that depends strongly on particle size (*I*). The model's reaction processes at local equilibrium are aqueous speciation, surface complexation onto ferric (hydr)oxide, and mineral dissolution/precipitation. Microbially mediated redox reactions controlled by the terminal electron acceptors (e.g. NO_3^- , SO_4^{2-} , solid Fe(III)) are included in the model under kinetic constraints, and only arsenite is considered in the simulation because arsenate reduction is expected to precede crystallized iron (e.g. goethite, hematite) and sulfate on a thermodynamic basis (*10*). The sorption reactions of arsenite on secondary phases (e.g. siderite, mackinawite, vivianite) are also under kinetic constraints, but very near equilibrium (see Table 4). The initial iron and arsenic solid concentrations, as well as the initial aqueous chemistry, are described in the "Iron(III) surface complexation model" of the previous section. In the simplest possible approach chosen from this generic study, the total rate of organic carbon oxidation is determined independently from the concentration of species other than organic carbon. This rate, R_c , is assumed to be representative of the average reactivity of the sedimentary organic carbon over the vertical (or horizontal) range of interest and is broken down into the contributions of individual metabolic pathways represented by nitrate, sulfate and/or iron reduction. The decision algorithm is based on a modified Monod formulation and assumes that a critical or limiting concentration of the external oxidant exists for each of the three respiratory pathways (see the SI).

Use of this simplified linear formulation decreases computation time and yields almost identical results to those calculated by the full Monod law (27). The use of a single limiting concentration per respiratory pathway offers a simple way of dealing with complex physiological and energy thresholds. The values represent "apparent" limiting concentrations, which may deviate from true oxidant limiting concentrations as measured in controlled microcosm batch experiments. The limiting concentrations for NO_3^- , SO_4^{2-} , Fe(III) are listed in Table 4 and are used to calibrate the 1D generic model with data from Wells I6 and I7 in Chakdaha, West Bengal (see SI). The calculation scheme results in smooth transitions between spatial redox zones as commonly observed in situ (28).

Table 4. Biogeochemical reactions included in the “1D generic reactive transport model”

Terminal electron accepting processes (biotic pathways)	[EA] _{lim} ^b	Maximum reduction rate (C(0) oxidation rate ^a) mM/year	Reference
Denitrification $4/5\text{NO}_3^- + 3/5\text{H}^+ + 1/2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^- \rightarrow 2/5\text{N}_2 + \text{HCO}_3^- + 1/5\text{H}_2\text{O}$	14 mg/L ^b	8/5 (2 ^a)	
Sulfate reduction $1/2\text{H}^+ + 1/2\text{SO}_4^{2-} + 1/2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^- \rightarrow 1/2\text{H}_2\text{S} + \text{HCO}_3^-$	0.5 mg/L ^b	1 (2 ^a)	33
Iron reduction $5/2\text{H}^+ + 4\text{FeOOH} + 1/2\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2^- \rightarrow \text{HCO}_3^- + 4\text{Fe}^{2+} + 6\text{H}_2\text{O}$	42 mM ^b	“High rate” 8 (2 ^a) “Low rate” 1.5 (3/8 ^a)	
Secondary redox reaction (abiotic pathway)	Kinetic rate mn^{-1}		
$\text{HS}^- + 5\text{H}^+ + 2\text{FeOOH} \rightarrow \text{S}^0 + 2\text{Fe}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$		k=1/40	36
Precipitation reactions (non redox)	logK		
Mackinawite + 2 H ⁺ = Fe ²⁺ + HS ⁻	-2.95		37
Siderite + H ⁺ = Fe ²⁺ + HCO ₃ ⁻	-0.47		38
Vivianite = 3Fe ²⁺ + 2PO ₃ ³⁻ + 8H ₂ O	-35.77		39
Calcite + H ⁺ = Fe ²⁺ + HCO ₃ ⁻	1.85		19
Adsorption reactions	Kinetic rate s^{-1}		
H ₃ AsO ₃ sorption on mackinawite and siderite	-	k=1/100	See SI

^a C(0) oxidation rate is assumed to be constant along the 1D path for nitrate, sulfate and iron reduction and fixed to 2 mM/year corresponding to 1 mM/year for sulfate reduction (see SI). The “high value” 8 mM/year for iron reduction is tested in the sensitivity analysis (see SI) while the “low value” 1.5 mM/year is the fitted value used in scenario (a)

^b All the concentration limits for Electron Acceptors [EA]_{lim} are fitted values

Iron(II) Kd sorption model. The richest Fe(III)-oxide sediment was chosen for the iron concentration, i.e. 1 wt.% (29), and conversely the lowest solid concentration for arsenic, i.e. 1.8 ppm (3). The aqueous arsenic concentration under this hypothesis will therefore be underestimated. Only the interrelationships between redox valences of iron and arsenic are

assumed to change between the two closed systems, i.e. the “Iron(III) surface complexation model” and the “Iron(II) Kd sorption model”. The conservation of total As and total Fe concentrations, respectively As_T and Fe_T , between the two closed systems is described by the equations:

$$As_T = [As]_{\max} \times (1 + \sum_i M_i \times K_d^i) \quad (E1)$$

$$Fe_T = \sum_i M_i \times f_i \quad (E2)$$

where $[As]_{\max}$ is the high aqueous concentration of As(III) in the reduced environment, M_i the mass of the i -th Fe(II)-bearing phase (mackinawite, vivianite, magnetite, fougérite, siderite), K_d^i the adsorption/partition coefficient for As(III) onto the i -th phase, and f_i the percentage of iron in the total weight of the i -th phase. Calculation of the K_d^i coefficients shows that, except for vivianite, K_d^i depends strongly on pH, in particular between pH 7 and 7.5 which is the variation range in Southeast Asian aquifers (15, 16). The K_d^i coefficients are calculated from the adsorbed As fraction called s and the i -th solid concentration called d^i (g/L) obtained from the sorption isotherms published in the literature (see Table 5):

$$K_d^i = \frac{s}{(1-s) \times d^i} \quad (E3)$$

MATLAB R2006b 7.3.0.267 (The Mathworks) was used to solve the problem in cases with two, three or four sorbents. In every case, there are only two unknowns for the two equations (E1) and (E2) (see SI).

Table 5. Kd data of As(III) onto Iron(II)-bearing phases derived from sorption isotherms used in the “Iron(II) Kd sorption model”

Iron(II)-bearing phase	Solid concentration g/L	Adsorbed As(III) % at pH 7 (pH 7.5)	Kd in L/g at pH 7 (pH 7.5)	Reference
mackinawite	0.044	-	2 (2)	38
siderite	2.5	40% (50%)	0.267 (0.400)	16
magnetite	3.1	20% (40%)	0.081 (0.215)	16
fougérite	4.5	30% (72%)	0.095 (0.570)	16
vivianite	2.5	31% (31%) *	0.18 (0.18) *	15

* experimental K_d for As(V) (15) is assumed valid for As(III) in this study

4.2.5 Results and Discussion

Two contrasted deltaic environments in Southeast Asian shallow aquifers. The distribution of solid Fe and As in sediments of Southeast Asian aquifers (West Bengal, Bangladesh, Vietnam) are described in the literature: in West Bengal, ammonium oxalate extractable Fe and As were determined to be 0.7 ± 0.2 wt.% and $1.8 \pm 0.6 \mu\text{g g}^{-1}$ respectively (3); the equivalent concentrations in Bangladesh were reported to be less than 0.2 wt.% Fe-oxides and less than $3 \mu\text{g g}^{-1}$ solid As (25), and in Vietnam about 1 wt.% Fe-oxides and between 7 and $12 \mu\text{g g}^{-1}$ solid As from the Dan Phuong sediments (29). Two contrasted redox environments are distinguished in these aquifers: fairly permeable sandy soils (indicated by low electromagnetic conductivity) where oxic/suboxic conditions prevail with low Fe(II)/Fe solid ratios (<0.5), underlain by more impermeable clayey soils (indicated by high electromagnetic conductivity) where anoxic conditions prevail with high Fe(II)/Fe solid ratios (>0.5) (see SI). The sandy soils are also characterized by high soil infiltration, a high concentration of sulfate ions (>0.6 mg/L S), and a low arsenic concentration ($<100 \mu\text{g/L}$ As), whereas the underlying clayey soils are characterized by low soil infiltration, a low sulfate concentration (<0.6 mg/L S), and a high arsenic concentration ($>100 \mu\text{g/L}$ As) (see SI). This contrast is particularly well illustrated in the Well I7 at Chakdaha (West Bengal), where there is a large negative correlation (-0.85) between the arsenic and sulfate concentrations and a large positive correlation ($+0.9$) between arsenic and the solid molar ratio Fe(II)/Fe (see SI). The low Fe(II)/Fe solid ratio is attributed to iron-oxide coatings on quartz and mica sand particles, while the high Fe(II)/Fe solid ratio may be related to Fe(II)-rich minerals like Acid Volatile Sulfides (AVS; e.g. disordered mackinawite), as well as fine vivianite, siderite, fougurite and magnetite particles. The contrasted solid and aqueous environments seem, therefore, to play a role in the release of arsenic in solution: the Fe(III) oxide-dominated vs. Fe(II) sulfide/carbonate-dominated solid phases corresponding to high S(VI) vs. high As(III) aqueous phases. The scenarios discussed in this paper are inferred from these field observations and assume that the reduction of Fe(III)-oxides (e.g. goethite), sorbed As(V)/As(III), and sulfates is followed by a new equilibrium between the aqueous As(III) and Fe(II)-sulfides like mackinawite and/or Fe(II)-carbonates like siderite (or fougurite). Such transformations in these aquifers are probably catalyzed by the indigenous bacteria (SRB).

HS^- at equilibrium with disordered mackinawite FeS is 10^{-13} M (at pH 7 and Fe^{++} 15 mg/L using PHREEQC), and thus below the detection limit. These mineral transformations could explain the heterogeneity of the As concentrations and also the observed hot-spots of As(III) groundwater.

In order to quantitatively test this arsenic release scenario, geochemical computations were performed on two closed model systems; namely a Fe(III) oxide-As(III/V)- SO_4 -water system known as the “Iron(III) surface complexation model” and a Fe(II) sulfide/carbonate-As(III)- H_2S -water system known as the “Iron(II) Kd sorption model”. In the “oxic” environment, the Fe(III) oxide is assumed to be the unique sorbent and As(III) (or As(V)), bicarbonates, sulfates, and ferrous iron the sorbates. In the “suboxic” environment, mackinawite and other Fe(II)-bearing phases (magnetite, siderite, fougérite, vivianite) are the Fe(II)-sorbents and As(III) is the unique sorbate. A “1D generic reactive transport model” is used to simulate the coupled hydrological and biogeochemical processes responsible for the transition between the two environments and the heterogeneous distribution of arsenic within the Southeast Asian shallow-aquifer sediments.

Field sites. Two transects of simultaneously collected groundwater and aquifer solids perpendicular to the banks of the Hooghly River in Chakdaha (India) and a stream in Araihaazar (Bangladesh) were used to validate the different models. The methods of sample collection with the needle-sampler and chemical analysis are described by Métral et al. (12). A brief description and a methodological synopsis are given in the SI.

Iron(III) surface complexation model. The calculated aqueous concentrations and the sorbed fractions of competitive ions are listed in Tables 2 and 3. The sorption equilibrium calculated by PHREEQC with no other competitive sorbate than arsenite results in a total of about 0.76 mmol sorbed As(III) per liter (the sum of $\equiv(\text{w})\text{FeHAsO}_3^-$ and $\equiv(\text{w})\text{FeH}_2\text{AsO}_3$ in Table 3). Assuming a porosity of 0.25 and a density of 2.62, it corresponds to a sorbed As(III) concentration of about 7.3 mg/kg. This evaluation is to be compared with the 10% hot HCl extraction from the Chakdaha sediments which, by dissolution, is likely to release both As bound to amorphous and labile crystalline Fe oxyhydroxide phases and As coprecipitated with acid-volatile sulfides. This arsenic fraction generally ranged from 1 to 10 mg/kg with a mean value of 4.7 mg/kg in Wells I1-I7 (12). The value calculated by PHREEQC (7.3 mg/kg) therefore is consistent with the observed values of acid-leachable As in Chakdaha sediments and in Southeast Asian aquifers more generally.

1D generic reactive transport model. The processes monitored in the above closed system are obviously not fully representative of those occurring in situ: the release of arsenic very

likely depends not only on sorption interactions at local equilibrium but also on coupled reactive transport under kinetic constraints for redox sensitive elements like S, Fe and As. Therefore, as described in the “Models” section, a 1D reactive transport model was developed in order to simulate the 1D flow path and associated reactive transport of N, S, Fe, and As between the two systems. The Michaelis-Menten and Monod kinetic approaches are traditionally used for modeling microbially mediated terminal electron accepting processes (TEAPs) coupled with transport (30). A well-known shortcoming of these models is that they do not account for complete competitive exclusion or the thermodynamic feasibility of these TEAPs (31). The competitive exclusion and sequential use of terminal electron acceptors based on differences in their redox potential can be simulated by defining threshold concentrations of electron acceptors below which the model shifts to the next available electron acceptor (5). In the simplest possible approach chosen in this generic study, the total rate of organic carbon oxidation will be determined independently from the concentration of species other than organic carbon (see parameters in Table 4). The validity of this hypothesis is discussed below.

As described by Postma and Jakobsen (28) in several field studies and Motelica-Heino et al. (32) at micro-scale, the simultaneous reduction of Fe(III) and sulfate is bioenergetically possible under a wide range of sedimentary conditions. The favorability of sulfate reduction could exceed the favorability of crystallized iron, e.g. goethite or hematite, at commonly observed Fe^{2+} concentrations in the Bengali aquifers (10). In the “only dissimilatory” scenario (a), it is therefore supposed that nitrate, sulfate, and iron reduction are successive external electron acceptors, but without considering the abiotic reduction of Fe(III) by HS^- . In scenario (b), the abiotic reduction of iron by HS^- is considered, but without considering dissimilatory iron reduction. In both cases, the C(0) oxidation rate is assumed to be constant along the 1D path for nitrate and sulfate as described in the Supporting Information (Table 4). This oxidation rate is fixed to a maximum value of 2 mM year^{-1} consistent with the observed range of $1.0\text{--}1.5 \text{ mM year}^{-1}$ for sulfate reduction found by Jakobsen et al. (33). Assuming a constant carbon oxidation rate, the iron reduction rate in scenario (a) is $8 \text{ mM Fe year}^{-1}$ (one e^- consumed instead of 8 e^-). This “high” iron reduction rate is consistent with our previous experiments considering As(V)-rich ferrihydrite microbial reduction (5). This fitted value is consistent with the hypothesis that the iron reduction rate for crystallized iron, e.g. goethite, is very likely below the value for the amorphous phase like 2-line ferrihydrite (34). The prediction of the aqueous phase chemistry in scenario (a) with the “low Fe reduction rate” is

shown in Figure 2 and a sensitivity analysis with the “high Fe reduction rate” is shown in Figure 3.

The first significant result is that the maximum simulated concentration of aqueous arsenic is between 200 and 300 $\mu\text{g/L}$, which is of the same order as observed in “hot-spots” of Bengali aquifers. This maximum As value, however, depends strongly on key parameters like the flow velocity and the Fe(III) reduction rate. A sensitivity analysis of the “1D generic reactive transport model” to pore velocity and to the Fe(III) reduction rate in scenario (a) illustrates clearly that the maximum release of arsenic depends on the balance between the flow velocity and the chemical kinetics: a “low” flow velocity and conversely a “high” Fe(III) reduction rate will correspond to a similar As(III) maximum concentration (Figure 3). The spatial profiles of all the redox sensitive elements, i.e. the decrease of NO_3^- , SO_4^{2-} and increase of Fe(II) and C(0) along the 1D vertical path, are correctly simulated (Figure 2). The increase in alkalinity is, however, slightly overestimated compared to Wells I6 and I7 at the bottom of the vertical 1D profile. The pore waters at the bottom of the profile in both Well I6 and Well I7 are undersaturated with respect to calcite and at local equilibrium with respect to siderite. Conversely, combining all the data from this Chakdaha area (West Bengal) for the period 2000-2002 shows that the mean value of the saturation index of siderite is generally close to 1 and that calcite and other carbonates (e.g. rhodochrosite, dolomite) are close to equilibrium with the groundwater (5). Shallow groundwater in Southeast Asia is also commonly highly oversaturated with respect to siderite, with a saturation index in the range of 0.5 to 1.4 (29). The simulated K_d of arsenic onto siderite and mackinawite are closed to the K_d values from Table 5 at pH 7.

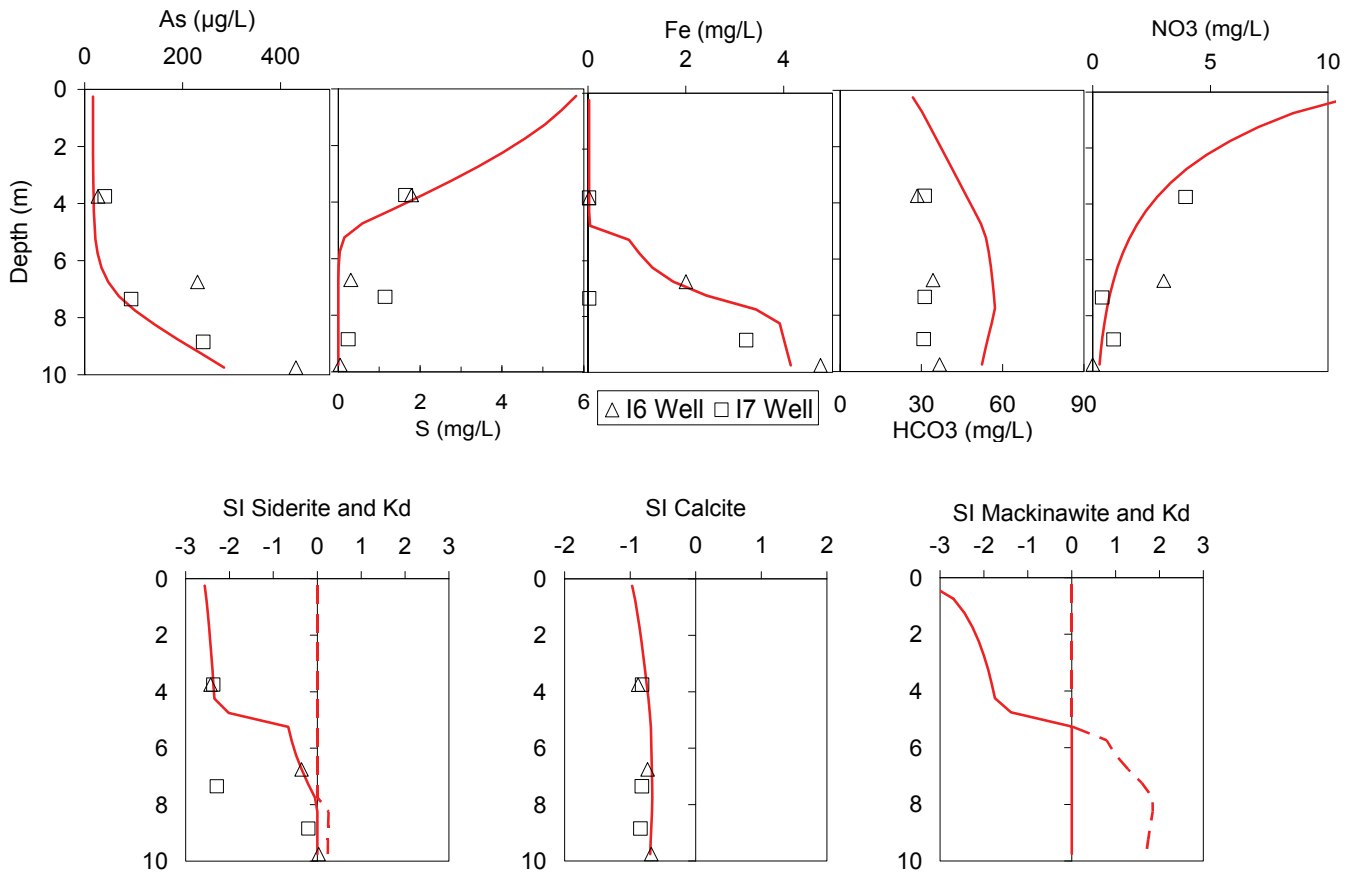


Figure 2: Comparison of the results of scenario (a) with the porewater profiles of As_T , Fe_T , SO_4^{2-} , HCO_3^- and NO_3^- from Well I6 (open triangle) and Well I7 (open square) (12). The first depth value (12 m for Well I6 and 11.4 m for Well I7) is arbitrarily chosen at the same depth $Z = 3.75$ m in order to calibrate the model. Solid line represents aqueous prediction at the time where aqueous As reached its maximum value in scenario (a) with the low iron reduction rate (see text). Saturation Indices (SI) of calcite and siderite are compared with the values deduced from alkalinity of Wells I6-7. Dotted lines are the simulated K_d of As onto siderite and mackinawite.

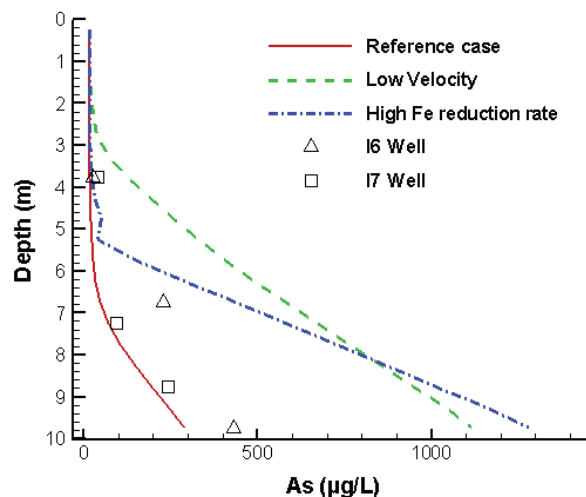


Figure 3: Sensitivity analysis of scenario (a): the solid line represents the total aqueous As concentration in the reference case, the dashed line the case with low groundwater velocity (2.5 cm/day instead of 5 cm/day), and the dashed-dotted line the case with a “high” Fe(III) reduction kinetics rate (8 mM/year instead of 1 mM/year). Also shown are the aqueous arsenic concentrations in Well I6 (open triangle) and Well I7 (open square).

The result of the “only dissimilatory” scenario is also compared to scenario (b) with the reduction of Fe(III) by HS^- (Figure 4). The spatial profile when aqueous arsenic is at a maximum is quite different between the two extreme scenarios (a) and (b). Scenario (a) shows a transition zone between the sulfidic and ferruginous chemical zones (Figure 4). In scenario (b), however, HS^- reduces solid Fe(III), and thus does not accumulate despite active sulfate reduction, whilst producing Fe(II) precipitates as siderite in the sulfate reduction zone (Figure 4); this result is consistent with the observation in the vertical profile of Cambodian sediments (see SI) where between 35% and 40% siderite was observed in the deep reduced zone that is apparently not preceded by a sulfidic zone (10).

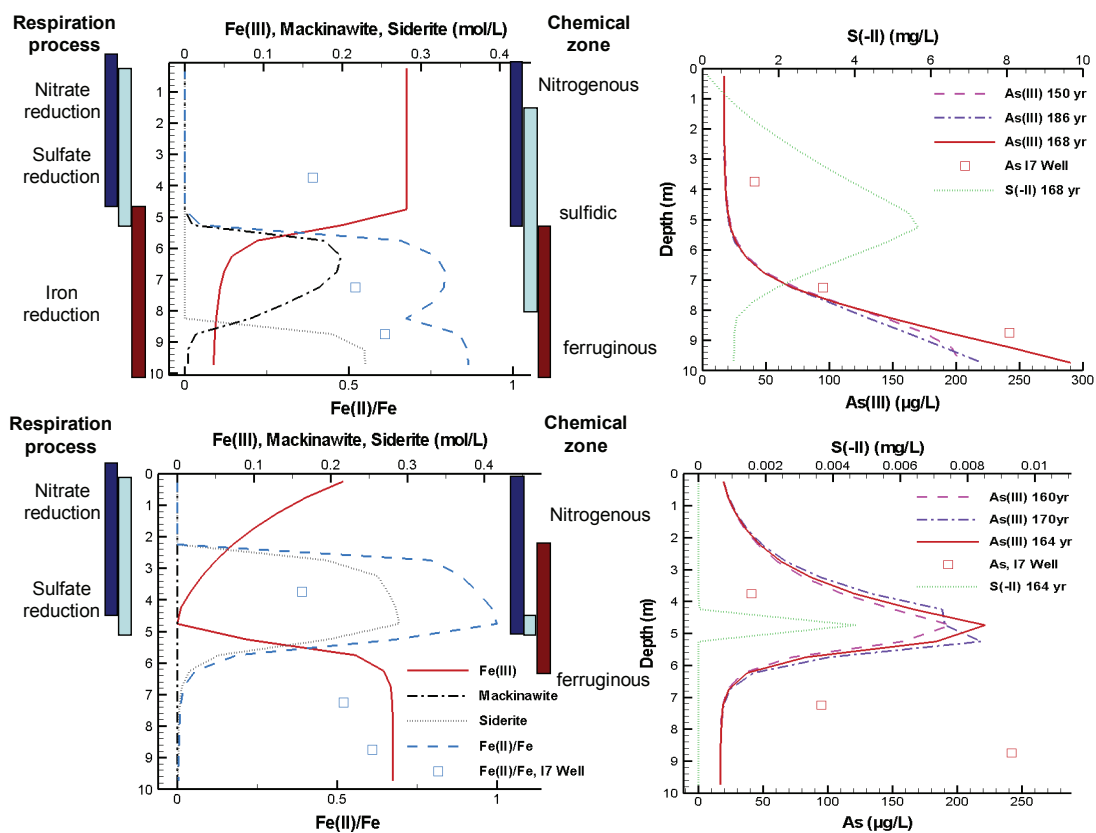


Figure 4: Comparison of two contrasted scenarios: in scenario (a) (upper part), the dissimilatory nitrate reduction precedes sulfate reduction and Fe reduction; in scenario (b) (lower part), the dissimilatory nitrate reduction precedes sulfate reduction and abiotic Fe reduction by HS^- . In scenario (a), the Fe(III) reduction rate is fixed to the “low value” of 1 mM/year (Table 2). In the left-hand graphs, solid Fe(III), molar ratio Fe(II)/Fe, mackinawite, and siderite concentrations are shown at this time with solid lines, dashed lines, dashed-dotted and dotted lines, respectively. Vivianite is not allowed to precipitate in scenarios (a) and (b). Also shown with open square symbols is the Fe(II)/Fe molar ratio of Well I7. In the right-hand graphs, the solid lines represent arsenite and the dotted lines sulfide at the time when aqueous As reached its maximum value in each scenario.

Scenario (b) also illustrates clearly that the reduction of Fe(III) by biogenic HS^- accounts for the establishment of a heterogeneous spatial profile of arsenic after a period of about two

hundred years (Figure 4). It has already been observed, at a very small spatial scale, that iron- and sulfate-reducing bacteria may coexist within the same localized zone in the presence of organic carbon (32). Thus, the mobilization of metals like Fe(II) and As(III) can be linked to the mobilization of sulfide through their release from concomitantly reduced iron. This scenario, termed (c), has also been tested by supposing that the dissimilatory nitrate reduction is followed by a concomitant reduction of iron and sulfate (see SI). As in scenario (a), the oxidation of HS^- by residual solid Fe(III) is not taken into account and so there is also a sulfidic chemical zone that precedes the ferruginous zone (Figure 5). The arsenic spatial profile in scenario (c) is a combination of those in scenarios (a) and (b). Scenarios (a) and (c) are both consistent with field data from Well I7 at Chakdaha (Figure 5).

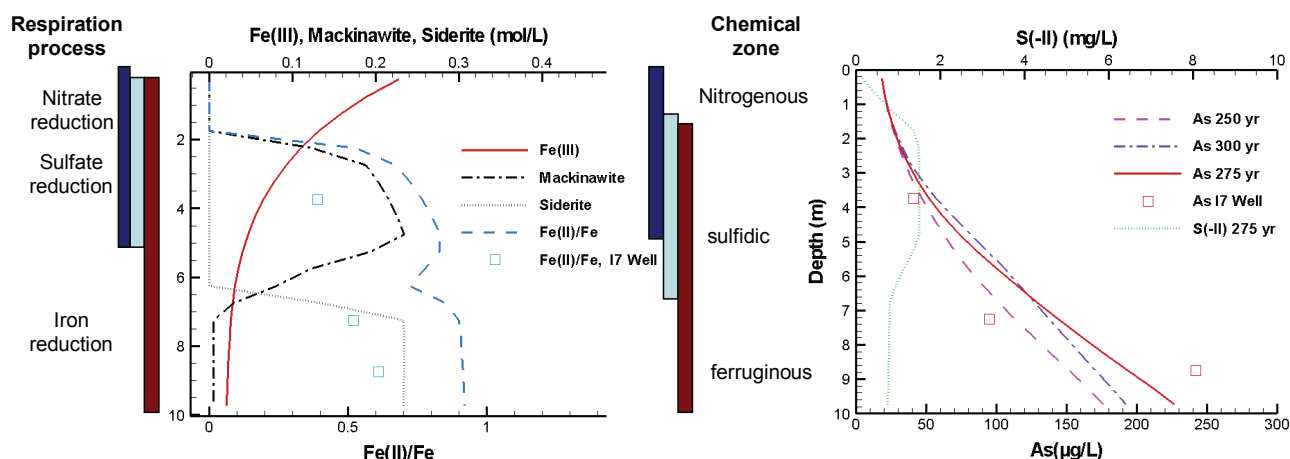


Figure 5: Results of scenario (c) of the “1D generic reactive transport model”: dissimilatory nitrate reduction precedes concomitant Fe and sulfate reduction. In the right-hand graph, the solid line represents arsenite and the dotted line sulfide at the time when aqueous As reached its maximum value. In the left-hand graph, solid Fe(III), molar ratio Fe(II)/Fe, mackinawite and siderite concentrations are shown at this time with solid, dashed, dashed-dotted and dotted lines, respectively. Vivianite is not allowed to precipitate in scenario (c). Also shown with open square symbols is the Fe(II)/Fe molar ratio of Well I7.

Alternative biogeochemical mechanisms omitted in the 1D generic model. The total kinetic rate of carbon oxidation is assumed, in the present generic model, to be representative of the average reactivity of the sedimentary organic carbon over the vertical (or horizontal) range of interest and is broken down into the contributions of individual metabolic pathways represented by nitrate, sulfate, and/or iron reduction. This approach clearly shortcuts the multiple steps of the complex organic matter breakdown. The past decade has seen a large number of models that couple the kinetic expressions with the thermodynamic constraints, either in the fermentation step or in the terminal electron accepting reaction step, or both. One of the most used representations is the so-called “partial redox disequilibrium” model

developed by McNab and Narasimhan (35). The idea is to separate organic matter degradation into only two steps. The first step comprises hydrolyzation and fermentation, producing labile fermentation products (e.g. acetate and H_2); the important point being that this first step limits the overall rate. The second step is a terminal electron reactions step which is faster and close to equilibrium. The decomposition of unavailable solid carbon to more labile and available carbon thus results in the reduction of redox-sensitive elements, like NO_3^- , SO_4^{2-} or solid Fe(III). In this “two-steps” model, the hydrolyzation of organic matter leads to an increase of labile C(0), like acetate, and also of hydrolysis species like inorganic carbon HCO_3^- and nutrients. Unfortunately, the stoichiometry coefficient that would give the produced number of inorganic moles per mole of labile organic carbon is not well defined and has to be estimated based on the observed alkalinity in the field. Conversely, other geochemical processes that are not considered in our generic model, such as the precipitation of carbonates (e.g. rhodochrosite) or biotic processes like the methanogenesis, may consume carbonates. All these processes are coupled and are not taken into account in the “1D generic reactive transport model” which overestimates the alkalinity. Nevertheless, the release of arsenic is well simulated in both scenarios (a) and (c) (see Figures 4 and 5).

A sensitivity analysis with the “Iron(II) Kd sorption model”. Iron and arsenic total concentrations are assumed to be the same in the two described contrasted environments: a solid Fe(II) concentration of 1.4 mol/L corresponding to 1 wt.% Fe in sediment, and a total As(III) concentration of 189 $\mu\text{mol/L}$ corresponding to 1.8 $\mu\text{g g}^{-1}$ sediment (see SI). The high aqueous concentrations observed in Bangladesh are typically about 334 $\mu\text{g/L}$ (4.5 $\mu\text{mol/L}$) and, for the sake of clarity, a value of 374.5 $\mu\text{g/L}$ (5 $\mu\text{mol/L}$) has been chosen for the typical “high” concentration of aqueous As(III) (i.e. $[As]_{\text{max}}$ of Equation E1) in the Southeast Asian aquifers. As described in the “Models” section, both the one-phase system with a unique sorbent for arsenite and the multiple-phase systems with different sorbents have been systematically investigated (Table 6). In the one-phase system, an abundance of around 15 wt.% Fe in mackinawite is needed using the Kd values given in Table 5. This result, however, is not consistent with recently observed values of Acid Volatile Sulfide (AVS) extractions in Araihaiza (Bangladesh) where the AVS varies from 0.2 to 2.0 $\mu\text{mol g}^{-1}$ sediment; the AVS therefore represents only 0.11 to 1.1 wt.% iron assuming about 1 wt.% iron in the sediment (see SI). Using Kd at pH 7 and 7.5, a similar calculation shows that between 56 wt.% and 84 wt.% iron in siderite is needed if this carbonate is to be considered as the dominant host for arsenite in these sediments. This result is quite close to recent molar ratios of between 35% and 40% found in Cambodian sediments (10).

Table 6. Fe(II) solid-phase combinations in “Iron(II) Kd sorption model”. MACK means mackinawite, VIVI means vivianite, SIDE means siderite, FOUG means fougurite, MAGN means magnetite, N.P. means “not possible configuration”.

Systems		wt.% Fe, pH 7	wt.% Fe, pH 7.5
One-phase	only MACK	15% MACK ^a	15% MACK ^a
	only VIVIA	87% VIVIA	87% VIVIA
	only SIDE	85% SIDE	56% SIDE
	only FOUG	N.P.	44% FOUG
	only MAGN	N.P.	N.P.
Two-phase	MACK+ MAGN	12% MACK ^a + 88% MAGN	6% MACK ^a + 94 % MAGN
	MACK + FOUG	10% MACK ^a + 90% FOUG	N.P.
	MACK + SIDE	N.P.	N.P.
	SIDE + MAGN	81% SIDE + 19% MAGN	32% SIDE + 68% MAGN
	FOUG + MAGN	N.P.	22% FOUG + 78% MAGN
	SIDE + FOUG	77% SIDE + 23% FOUG	N.P.
Three-phase ^a	1% MACK	+ 74% SIDE + 25% MAGN	+ 27% SIDE + 72% MAGN
	1% MACK	N.P.	+ 19% FOUG + 80% MAGN
	1% MACK	+ 69% SIDE + 30% FOUG	N.P.
Four-phase ^a	1% MACK		+ 24% SIDE + 69% MAGN
	+ 6% VIVIA	+ 68% SIDE + 25% MAGN	
	1% MACK	N.P.	+ 17% FOUG + 76% MAGN
	+ 6% VIVIA		
	1% MACK	+ 64% SIDE + 29% FOUG	N.P.
	+ 6% VIVIA		

^a only a maximum of 1% mackinawite are calculated from AVS analyses and 6% vivianite from P analyses (see text)

Conversely, the mixed Fe(II)-Fe(III) phases magnetite or fougérite at pH 7 are not possible configurations in two-phase systems (see SI). The groundwater in the shallow reducing aquifers of Bangladesh is strongly supersaturated for both vivianite $\text{Fe(II)}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ and hydroxyapatite $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ (25). The groundwater in Vietnam also shows high degrees of supersaturation for vivianite, with a weak degree of supersaturation for hydroxyapatite existing only in the bottom few meters of the aquifer (29). In 2001 it was reported that the highest concentration of P derived from sandy horizons of the Bengal basin was equal to 214 mg P/kg of sediment (26). If we assume that vivianite is the dominant Fe-bearing host of sedimentary phosphorus, then vivianite represents only around 6 wt.% Fe (see SI). Conversely, if we assume that vivianite is the unique sorbent for arsenite, then an abundance of 87 wt.% of iron in vivianite is needed (see Table 6 and SI). The result at pH 7 is that vivianite, mackinawite and magnetite are not the dominant hosts for arsenite and that the carbonate siderite is a better candidate at this pH as the main sorbent (at least in the short list investigated in this work).

In the multiple-phase systems the residual iron is assumed to be distributed within two, three or four Fe(II)-bearing phases: if mackinawite represents 1 wt.% of the solid iron and if furthermore the dominant hosts of arsenite are siderite and magnetite, then an abundance of 74 wt.% siderite and 25 wt.% magnetite are needed at pH 7 (see Table 6 and SI). A selection of possible combinations of multiple-phase systems is shown in Figure 6.

The main conclusion deduced for the one-phase system is still valid here; i.e. siderite seems to be a better candidate as the dominant host for arsenite at pH 7 (at least in the short list investigated in this work). An evaluation of the molar Fe(II)/Fe ratio was calculated with the siderite and fougérite (or magnetite) fractions in the three-sorbents system at pH 7 (Figure 6): Fe(II)/Fe is 0.83 with magnetite and 0.9 with fougérite. This difference between the two combinations is, however, below the standard deviation of the observed Fe(II)/Fe values and consequently is not really significant.

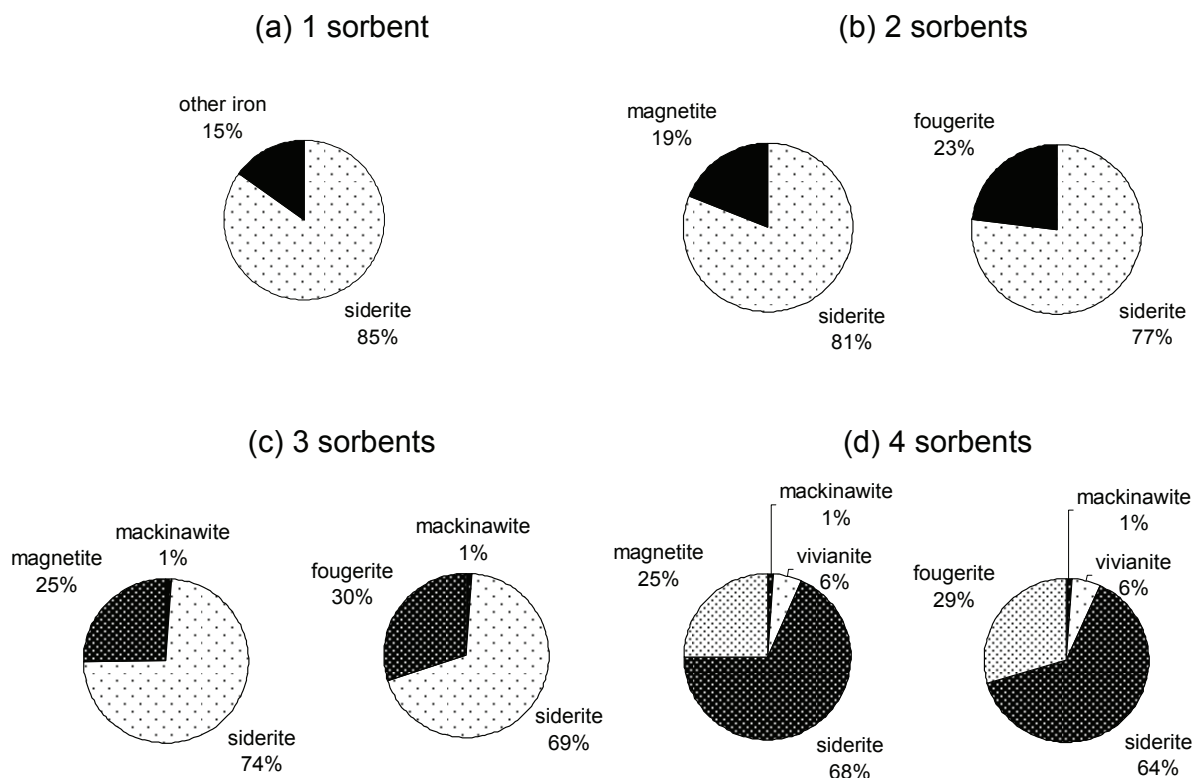


Figure 6: All possible combinations of Fe(II)-bearing phases in systems composed of: (a) one sorbent, (b) two sorbents, (c) three sorbents, (d) four sorbents with the As(III) K_d at pH 7 as shown in Table 5. In the one-sorbent system, “other iron” means solid iron with no sorption of As(III). In the three-phase and four-phase systems, AVS is assumed to represent only 1 wt.% Fe, and vivianite 6 wt.% Fe (see SI). None of the combinations at pH 7 listed in Table 6 with mackinawite and vivianite concentrations above these observed values are shown.

Implication for arsenic heterogeneity in reducing aquifers. The most widely accepted mechanism to explain “hot-spots” of arsenic concentration in the Bangladesh and West Bengal aquifers is the microbial reductive dissolution of iron oxyhydroxides and concomitant release of arsenic (3, 36).

Here we first demonstrate, with the so-called “Iron(III) surface complexation model”, that the “low” concentrations of arsenic in oxic zones of Southeast Asian aquifers are consistent with sorption on iron (hydr)oxides. We then hypothesize that redox transformations between solid Fe(III) and Fe(II)-bearing phases and between aqueous As(V) and As(III) are biologically mediated so that arsenite will be controlled by the nature and distribution of secondary Fe(II)-bearing phases like Fe(II) sulfides, mixed Fe(II)/Fe(III) oxides or/and Fe(II) carbonates. We also provide convincing evidence with the so-called “Iron(II) K_d sorption model” that the observed “high” concentrations in the suboxic zones could be quantitatively interpreted by a (bio)reduction of solid Fe(III) oxides followed by sorption of As(III) on different Fe(II)-bearing phases at pH around 7: while Fe(II) sulfide (like disordered

mackinawite) or vivianite are not the dominant host for arsenite, the ferrous carbonates (like siderite or/and fougurite) very likely play a major role in such reduced systems.

Finally, a “1D generic reactive transport model” allowed us to simulate the transition between the two contrasted redox environments and to compare the different energetically possible scenarios of arsenic release. The mobilization of sorbed arsenite through the dissimilatory reduction of iron was compared quantitatively to the scenario with the reduction of iron by biogenic HS^- : they are both of the same order over a two-hundred year period. The model also provides convincing evidence that abiotic reduction of iron(III) by HS^- accounts for the establishment of a spatial arsenic heterogeneity. The 1D reactive transport model also shows that both scenarios, assuming a successive or a concomitant sulfate and iron reduction, are consistent with the observed data from the Chakdaha site in West Bengal (India).

4.2.6 References

- (1) van Geen, A.; Zheng, Y.; Goodbred, S.; Horneman, A.; Aziz, Z.; Cheng, Z.; Stute, M.; Mailloux, B.; Weinman, B.; Hoque, M. A.; Seddique, A. A.; Hossain, M. S.; Chowdhury, S. H.; Ahmed, K. M. Flushing History as a Hydrogeological Control on the Regional Distribution of Arsenic in Shallow Groundwater of the Bengal Basin. *Environ. Sci. Technol.* **2008**, *42*, 2283-2288.
- (2) Nickson, R. T.; McArthur, J. M.; Ravenscroft, P.; Burgess, W. G.; Ahmed, K. M. Mechanism of arsenic release to groundwater, Bangladesh and West Bengal. *Appl. Geochem.* **2000**, *15*, 403-413.
- (3) Islam, F.S.; Gault, A.G.; Boothman, C.; Polya, D.A.; Charnock, J.M.; Chatterjee, D.; Lloyd, J.R. Role of metal-reducing bacteria in arsenic release from Bengal delta sediments. *Nature* **2004**, *430*, 68-71.
- (4) van Geen, A.; Rose, J.; Thorai, S.; Garnier, J. M.; Zheng, Y.; Bottero, J. Y. Decoupling of As and Fe release to Bangladesh groundwater under reducing conditions. Part II: Evidence from sediment incubations. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2004**, *68*, 3475-3486.
- (5) Burnol, A.; Garrido, F.; Baranger, P.; Joulain, C.; Dictor, M.; Bodenan, F.; Morin, G.; Charlet, L. Decoupling of arsenic and iron release from ferrihydrite suspension under reducing conditions: a biogeochemical model. *Geochemical Transactions* **2007**, *8*, 12.
- (6) Horneman, A.; van Geen, A.; Kent, D. V.; Mathe, P. E.; Zheng, Y.; Dhar, R. K.; O'Connell, S.; Hoque, M. A.; Aziz, Z.; Shamsudduha, M. Decoupling of As and Fe release to Bangladesh groundwater under reducing conditions. Part I: Evidence from sediment profiles. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2004**, *68*, 3459-3473.
- (7) Charlet, L.; Polya, D. A. Arsenic in shallow, reducing groundwaters in southern Asia: an environmental health disaster. *Elements* **2006**, *2*, 91-96.
- (8) Polizzotto, M. L.; Kocar, B. D.; Benner, S. G.; Sampson, M.; Fendorf, S. Near-surface wetland sediments as a source of arsenic release to ground water in Asia. *Nature* **2008**, *454*, 505-508.
- (9) Kocar, B. D.; Polizzotto, M. L.; Benner, S. G.; Ying, S. C.; Ung, M.; Ouch, K.; Samreth, S.; Suy, B.; Phan, K.; Sampson, M.; Fendorf, S. Integrated biogeochemical and hydrologic processes driving arsenic release from shallow sediments to groundwaters of the Mekong delta. *Appl. Geochem.* **2008**, *23*, 3059-3071.
- (10) Kocar, B. D.; Fendorf, S. Thermodynamic Constraints on Reductive Reactions Influencing the Biogeochemistry of Arsenic in Soils and Sediments. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, *43*, 4871-4877.
- (11) Eiche, E.; Neumann, T.; Berg, M.; Weinman, B.; van Geen, A.; Norra, S.; Berner, Z.; Trang, P. T. K.; Viet, P. H.; Stüben, D. Geochemical processes underlying a sharp

- contrast in groundwater arsenic concentrations in a village on the Red River delta, Vietnam. *Appl. Geochem.* **2008**, 23, 3143-3154.
- (12) Metral, J.; Charlet, L.; Bureau, S.; Mallik, S.; Chakraborty, S.; Ahmed, K.; Rahman, M.; Cheng, Z.; van Geen, A. Comparison of dissolved and particulate arsenic distributions in shallow aquifers of Chakdaha, India, and Araihasar, Bangladesh. *Geochemical Transactions* **2008**, 9, 1.
 - (13) Nath, B.; Chakraborty, S.; Burnol, A.; Stüben, D.; Chatterjee, D.; Charlet, L. Mobility of arsenic in the sub-surface environment: An integrated hydrogeochemical study and sorption model of the sandy aquifer materials. *Journal of Hydrology* **2009**, 364, 236-248.
 - (14) Radloff, K. A.; Manning, A. R.; Mailloux, B.; Zheng, Y.; Moshir Rahman, M.; Rezaul Huq, M.; Ahmed, K. M.; Geen, A. V. Considerations for conducting incubations to study the mechanisms of As release in reducing groundwater aquifers. *Appl. Geochem.* **2008**, 23, 3224-3235.
 - (15) Thinnappan, V.; Merrifield, C. M.; Islam, F. S.; Polya, D. A.; Wincott, P.; Wogelius, R. A. A combined experimental study of vivianite and As (V) reactivity in the pH range 2–11. *Appl. Geochem.* **2008**, 23, 3187-3204.
 - (16) Jönsson, J.; Sherman, D. M. Sorption of As(III) and As(V) to siderite, green rust (fougérite) and magnetite: Implications for arsenic release in anoxic groundwaters. *Chemical Geology* **2008**, 255, 173-181.
 - (17) Wolthers, M.; Charlet, L.; van Der Weijden, C. H.; van der Linde, P. R.; Rickard, D. Arsenic mobility in the ambient sulfidic environment: Sorption of arsenic(V) and arsenic(III) onto disordered mackinawite. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2005**, 69, 3483-3492.
 - (18) Parkhurst, D. L.; Appelo, C. A. J. User's guide to Phreeqc (version 2)- a computer program for speciation, batch-reaction, one-dimensional transport, and inverse geochemical calculation. **1999**, *USGS WRI Report 99-4259*, 312 p.
 - (19) Ball, J. W.; Nordstrom, D. K. User's Manual for WATEQ4F, with Revised Thermodynamic Data Base and Test Cases for Calculating Speciation of Major, Trace, and Redox Elements in Natural Waters. **1991**, *USGS Open-File Report 91-183*, 1-192.
 - (20) Dixit, S.; Hering, J. G. Comparison of arsenic(V) and arsenic(III) sorption onto iron oxide minerals: Implications for arsenic mobility. *Environ. Sci. Technol.* **2003**, 37, 4182-4189.
 - (21) Schecher, W. D.; McAvoy, D. C. *MINEQL+, V4.5, Users Manual*. Hallowell: ME, 1998.
 - (22) Dzombak, D. A.; Morel, F. M. M. *Surface complexation modeling; hydrous ferric oxide*. John Wiley & Sons: New York, 1990.
 - (23) Afonso, M. D.; Stumm, W. Reductive Dissolution of Iron(III) (Hydr)oxides by Hydrogen-Sulfide. *Langmuir* **1992**, 8, 1671-1675.

- (24) Campbell, K.M.; Malasarn, D.; Saltikov, C.W.; Newman, D.K.; Hering, J.G. Simultaneous Microbial Reduction of Iron(III) and Arsenic(V) in Suspensions of Hydrous Ferric Oxide. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, *40*, 5950-5955.
- (25) Swartz, C.H.; Blute, N.K.; Badruzzman, B.; Ali, A.; Brabander, D.; Jay, J.; Besancon, J.; Islam, S.; Hemond, H.F.; Harvey, C.F. Mobility of arsenic in a Bangladesh aquifer: Inferences from geochemical profiles, leaching data, and mineralogical characterization. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2004**, *68*, 4539-4557.
- (26) BGS; DPHE. *Arsenic contamination of groundwater in Bangladesh*. Kinniburgh, D G; Smedley, P L: Keyworth, **2001**; Vol. British Geological Survey Technical Report WC/00/19 WC/00/19,
- (27) Van Cappellen, P. and Wang, Y. Cycling of iron and manganese in surface sediments; a general theory for the coupled transport and reaction of carbon, oxygen, nitrogen, sulfur, iron, and manganese. *Am. J. Sci.* **1996**, *296*, 197-243.
- (28) Postma, D.; Jakobsen, R. Redox zonation; equilibrium constraints on the Fe(III)/SO (sub 4) -reduction interface. *Geochim. Cosmochim. Acta* **1996**, *60*, 3169-3175.
- (29) Postma, D.; Larsen, F.; Minh Hue, N. T.; Duc, M. T.; Viet, P. H.; Nhan, P. Q.; Jessen, S. Arsenic in groundwater of the Red River floodplain, Vietnam: Controlling geochemical processes and reactive transport modeling. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2007**, *71*, 5054-5071.
- (30) Hunter, K. S.; Wang, Y.; Van Cappellen, P. Kinetic modeling of microbially-driven redox chemistry of subsurface environments: coupling transport, microbial metabolism and geochemistry. *J. Hydrol. (Amst.)* **1998**, *209*, 53-80.
- (31) Curtis, G.P. Comparison of approaches for simulating reactive solute transport involving organic degradation reactions by multiple electron acceptors. *Computers & Geosciences* **2003**, *29*, 319-329.
- (32) Motelica-Heino, M.; Naylor, C.; Zhang, H.; Davison, W. Simultaneous Release of Metals and Sulfide in Lacustrine Sediment. *Environ. Sci. Technol.* **2003**, *37*, 4374-4381.
- (33) Jakobsen, R.; Cold, L. Geochemistry at the sulfate reduction–methanogenesis transition zone in an anoxic aquifer—A partial equilibrium interpretation using 2D reactive transport modeling. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2007**, *71*, 1949-1966.
- (34) Bonneville, S.; Van Cappellen, P.; Behrends, T. Microbial reduction of iron(III) oxyhydroxides: effects of mineral solubility and availability. *Chem. Geol.* **2004**, *212*, 255-268.
- (35) McNab, W.W., J. and Narasimhan, T.N. Modeling reactive transport of organic compounds in groundwater using a partial redox disequilibrium approach. *Water Resour. Res.* *30*, 2619-2635.
- (36) Polizzotto, M.; Harvey, C.; Li, G.; Badruzzman, B.; Ali, A.; Newville, M.; Sutton, S.; Fendorf, S. Solid-phases and desorption processes of arsenic within Bangladesh sediments. *Chemical Geology* **2006**, *228*, 97-111.

- (37) Poulton, S. W. Sulfide oxidation and iron dissolution kinetics during the reaction of dissolved sulfide with ferrihydrite. *Chem. Geol.* **2003**, 202, 79-94.
- (38) Wolthers, M.; Charlet, L.; van Der Linde, P. R.; Rickard, D.; van Der Weijden, C. H. Surface chemistry of disordered mackinawite (FeS). *Geochim. Cosmochim. Acta* **2005**, 69, 3469-3481.
- (39) Bruno, J.; Wersin, P.; Stumm, W. On the influence of carbonate in mineral dissolution: II. The solubility of FeCO₃ (s) at 25°C and 1 atm total pressure. *Geochim. Cosmochim. Acta* **1992**, 56, 1149-1155.
- (40) Al-Borno, A. and Tomson, M. The temperature dependence of the solubility product constant of vivianite. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **1994**, 58, 5373-5378.

4.2.7 Supporting Information

Authors: André Burnol and Laurent Charlet

Prepared for Environmental Science & Technology

Number of Pages: 11

Number of Figures: 2

Two Field Sites in India and Bangladesh

Chakdaha block, 65 km to the north of Kolkata, is located in the Ganges River delta floodplain and bordered on the west side by the Hooghly River, the largest tributary of the Ganges in West Bengal, India (Figure 1, main text). Groundwater pumped from 235 tube wells distributed over a 19 km² area and ranging in depth from 5 to 200 m has been analyzed for As and major ions in the laboratory (Nath et al., 2005; Charlet et al., 2005; Charlet et al. 2007). Concentrations of As in roughly half the sampled wells exceed the Indian standard for drinking water of 50 µg L⁻¹, with the highest levels (up to 400 µg L⁻¹ As) restricted to the 10–40 m depth range. The 1800-m transect of groundwater and sediment properties presented here extends from the bank of the Hooghly River to the rim of Chakdaha village. A small stream parallel to the Hooghly flows south roughly mid-way across the floodplain deposits that separate the village from the river bank. The entire area of cultivated fields crossed by the transect is flooded during the monsoon. The relative elevation of the drill sites was not measured in India, but the appearance of the topography is very flat. The only exception is Chakdaha village at the eastern end of the transect, which is elevated by about 2–3 m relative to the adjacent fields.

The setting of the other study in Araihaazar upazila, Bangladesh, 30 km northeast of Dhaka (23.8° N, 90.6° E), is comparable in some ways. The sampling site is at the center of an expanse of rice paddies. The stream passing through the area is considerably smaller than the Hooghly River (Figure 1, main text). The locations are labeled by referring to their distance (in meters) from the nearby stream – K10, K60, K150, K240 and K280, respectively. The elevation of the ground surface increases gradually by 2 m along this transect away from the stream. Sample depths are listed relative to ground level near the stream (Radloff et al., 2008).

Aqueous and Solid phase Analysis

Sediment collected with the needle-sampler at 2–4 m intervals was subjected to two types of treatment. The first was a 10% hot HCl extraction that is likely to release by dissolution As bound to amorphous and labile crystalline Fe oxyhydroxides phases as well as, potentially, As coprecipitated with acid-volatile sulfides (Viollier et al., 2000). On the evening of sampling, the proportion of Fe(II) and Fe(III) contained in the HCl leach was measured spectrophotometrically with ferrozine. All water samples were diluted 1:10 in 1% HNO₃ (Optima, Fisher Scientific) and analyzed for As, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, and S by high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry (HR ICP-MS) at Lamont-Doherty Earth Observatory of Columbia University. The method has a detection limit of ~1 µg L⁻¹ for As and a precision of ~5% for all constituents (Cheng et al., 2004). Sediment leachates were also analyzed by HR ICP-MS following 1:100 dilution for As and Fe. Water samples stored in

scintillation vials that were not acid-leached were analyzed for Cl^- , Br^- , F^- , NO_3^- , and SO_4^{2-} by ion chromatography (Dionex DX500 and a Dionex separation column) at LGIT Laboratory, Grenoble. The method has a detection limit $\sim 0.1 \text{ mg L}^{-1}$ and a precision of $\sim 10\%$ for all anions. The alkalinity of groundwater collected with the needle-sampler was measured by titration at the end of each of sampling day.

“Iron(III) surface complexation model” and “1D reactive transport model”

PHREEQC model. Inorganic reaction processes included in the model are aqueous speciation, surface complexation onto ferric oxide and mineral dissolution/precipitation. These reactions are coupled to microbially mediated redox kinetic reactions controlled by the three terminal electron acceptors, i.e. aqueous NO_3^- , SO_4^{2-} and solid Fe(III). Only arsenite will be considered because arsenate reduction is expected to precede crystallised iron (e.g. goethite, hematite) and sulfate on a thermodynamic basis (Kocar et al., 2009). The coupling of the geochemical reactions with a constant 1D advective flow was performed using the release 2.15 of PHREEQC (Parkhurst et al., 1999) and the WATEQ4F database (Ball and Nordstrom, 1991).

Kinetic laws for the different respiratory pathways in scenario (a). The total rate of organic carbon oxidation called R_C is determined independently from the concentration of species other than organic carbon and is representative of the average reactivity of the sedimentary organic carbon over the vertical (or horizontal) range of interest. R_C is broken down into the contributions of individual metabolic pathways represented by nitrate, sulfate or/and iron reduction equations, called R_N , R_S , R_{Fe} respectively. The total rate R_C is expressed using the different stoichiometric coefficients of Table 3 (main text):

$$R_C = \frac{5}{4} \times R_N + 2 \times R_S + \frac{1}{4} \times R_{Fe} \quad (\text{E1SI})$$

The kinetic laws developed into Basic language calculate the fractions defined by $f_i = R_i/R_C$ where R_i is the rate of carbon oxidation by the i -th pathway ($i=1,2,3$). To calculate the fraction f_i , the model first determines whether the corresponding pathway is repressed by more energetic pathways. If not, the model checks whether the rate of the i -th pathway is limited or not by the availability of the external electron acceptor. The decision algorithm is based on a modified Monod formulation and assumes that for each of the three respiratory pathways, there exists a critical or limiting concentration of the external oxidant. In addition, the oxidation of organic carbon by energetically less powerful electron acceptor is inhibited. When the external oxidant concentration decreases below the limiting value, the rate is calculated by $R_i = R_{\max} [\text{EA}]/[\text{EA}]_{\text{lim}}$ where $[\text{EA}]$ is the concentration of the external oxidant, $[\text{EA}]_{\text{lim}}$ is the limiting concentration and R_{\max} is the rate of oxidation when the supply of oxidant is not limiting, i.e. $[\text{EA}] > [\text{EA}]_{\text{lim}}$. The modified Monod kinetic formulation insures that with the exhaustion of the electron acceptor, the corresponding organic carbon oxidation pathway comes to a halt. The following expressions of the three successive respiratory pathways of organic matter mineralization with nitrate, sulfate and solid iron as electron acceptors in the scenario (a) are deduced from equation (E1SI):

$$R_N = \frac{4}{5} \times R_C \quad \text{if } [\text{NO}_3] > [\text{NO}_3]_{\text{lim}}$$

$$\begin{aligned}
R_N &= \frac{4}{5} \times R_C \times \frac{[NO_3]}{[NO_3]_{lim}} && \text{if } [NO_3] \leq [NO_3]_{lim} \\
R_S &= \frac{1}{2} \times R_C \times \left(1 - \frac{[NO_3]}{[NO_3]_{lim}}\right) && \text{if } [SO_4] > [SO_4]_{lim} \\
R_S &= \frac{1}{2} \times R_C \times \left(1 - \frac{[NO_3]}{[NO_3]_{lim}}\right) \times \frac{[SO_4]}{[SO_4]_{lim}} && \text{if } [SO_4] \leq [SO_4]_{lim} \\
R_{Fe} &= 4 \times R_C \times \left(1 - \frac{[NO_3]}{[NO_3]_{lim}}\right) \times \left(1 - \frac{[SO_4]}{[SO_4]_{lim}}\right) && \text{if } [Fe(III)] > [Fe(III)]_{lim} \\
R_{Fe} &= 4 \times R_C \times \left(1 - \frac{[NO_3]}{[NO_3]_{lim}}\right) \times \left(1 - \frac{[SO_4]}{[SO_4]_{lim}}\right) \times \frac{[Fe(III)]}{[Fe(III)]_{lim}} && \text{if } [Fe(III)] \leq [Fe(III)]_{lim}
\end{aligned}$$

Kinetics of the sorption of As(III) on secondary minerals in scenario (a). Using K_d on secondary minerals is possible with PHREEQC when one considered a kinetics during the sorption process. The rate equation is given by the following expression:

$$R_i = -k \times \left(c - \frac{s_i}{K_d^i} \right)$$

Where R_i is the sorption rate onto the i-th phase, either mackinawite or siderite (mol L⁻¹ s⁻¹), s_i is the sorbed concentration of arsenite on the i-th phase (mol g⁻¹), k is the kinetics coefficient (s⁻¹) and K_dⁱ is the distribution coefficient of arsenite onto the i-th phase (L g⁻¹). Because the sorption reactions on the secondary minerals are defined to be kinetic, a “very fast” kinetic sorption is used in order to calculate this sorption as an equilibrium process that it effectively constituted, for instance k = 1/100 s⁻¹.

Iron(III) dissolution rate during the reaction of HS⁻ in scenario (b). Several studies have used different approaches to evaluate the kinetics and mechanism of the reaction between iron (hydr)oxides and dissolved sulphide HS⁻. Afonso and Stumm (1992) applied a surface speciation model to investigate the reductive dissolution of hematite by HS⁻, under conditions of undersaturation with respect to disordered mackinawite and determined a first order dependency for surface-complexed sulphide during the reduction of hematite. Poulton (2003) examined the kinetics of both sulphide oxidation and Fe(II) dissolution during the reaction with 2-line ferrihydrite and provides evidence that in the case of sulphide oxidation by ferrihydrite, the final oxidised sulphur product is elemental sulphur and that the dissolution of Fe(II) is approximately 15 times slower than the oxidation of sulphide (given that the ratio of sulphide oxidised to Fe(II) produced is 2:1). He determined that there is a first order relationship of surface-complexed sulphide concentrations with respect to the Fe(II) dissolution rate (logarithmic slope about 1.12 ± 0.06). The following linear relationship from data at pH 7.5 is used in the scenario (b) at pH 7:

$$R_{Fe} = k_{Fe} \times \left((= (w)FeS^- + (= (w)FeHS^-) \right)$$

where k_{Fe} = 1/40 mn⁻¹ = 1/2400 s⁻¹.

Iron(III) dissolution rate and sulphate reduction rate in scenario (c). It is supposed in scenario (c) that the dissimilatory nitrate reduction is followed by a concomitant reduction of iron and sulphate and that both reduction rates are equal:

$$R_S = R_{Fe} = \frac{1}{2} \times R_C \times \left(1 - \frac{[NO_3]}{[NO_3]_{lim}} \right) \text{ if } [SO_4] > [SO_4]_{lim} \text{ or } [Fe(III)] > [Fe(III)]_{lim}$$

“Iron(II) Kd sorption model”

Assuming a mean porosity of 25% and a sediment density equal to that of quartz:

Mass of sediment = volume of sediment x density of sediment

$$\begin{aligned} &= 3 \text{ dm}^3 \times 2.62 \text{ kg/dm}^3 \\ &= 7.86 \text{ kg} \end{aligned}$$

Assuming a typical sediment from South-Asia aquifers with about 1 wt.% of Fe-oxides and about a typical value of 1.8 ppm of solid As (see text), the total Fe and As, called Fe_T and As_T respectively, are:

$$Fe_T = 1\% \times 7.86 \text{ kg} = 78.6 \text{ g} = 1.4 \text{ mol for 1 L water}$$

$$As_T = 1.8 \text{ mg/kg} \times 7.86 \text{ kg} = 14.15 \text{ mg} = 189 \text{ } \mu\text{mol for 1 L water}$$

Between both closed systems, the « oxic » and the « suboxic », the valence of redox sensitive elements Fe and As, will change, Fe(III) to Fe(II) and As(V) to As(III), however the total concentrations of the elements will be conserved:

$$Fe_T = 1.4 \text{ mol Fe} = 78.6 \text{ g for 1 L}$$

$$As_T = 189 \text{ } \mu\text{mol for 1 L}$$

One-sorbent model. Assuming that there is a unique sorbent for As(III), both equation (E1) and (E2) from the main text are solved directly in the case with only one sorbent :

$$M_i \times K_d^i = \frac{As_T}{[As]_{max}} - 1$$

$$F_i = \frac{M_i \times f_i}{Fe_T}$$

Where $[As]_{max}$ is the high aqueous concentration of As(III) in the reduced environment, M_i is the mass of the i-th Fe(II)-bearing phase (mackinawite, vivianite, magnetite, fougurite, siderite), K_d^i the adsorption/partition coefficient for As(III) onto the i-th phase, f_i the percentage of iron in the total weight of the i-th phase and F_i the fraction of total iron included in phase i. If F_i is above the value 1, then this phase is not a possible configuration (n.p. in Table 4 in main text) as a unique sorbent, i.e. K_d^i is not large enough and this mineral phase is not the dominant host of arsenite.

Using Kd values of Table 3 (main text) and a high concentration $[As]_{\max}$ equal to 5 $\mu\text{mol/L}$, the different Fe(II) or mixed Fe(II)/Fe(III) sorbents (siderite, fougérite, magnetite, vivianite, mackinawite) are systematically evaluated in the following equations:

$$M_{\text{siderite}} = (189 - 5)/(0.267 \times 5) = 137.8 \text{ g}$$

$$\text{Atomic weight of siderite } [\text{Fe(II)CO}_3] = 115.85$$

$$f_i = 55.85/115.85$$

$$F_i \text{ at pH } 7 = f_i \times M_{\text{siderite}} / Fe_T = 84.5 \text{ wt.}\%$$

$$F_i \text{ at pH } 7.5 = (0.267/0.4) \times 84.5 = 56.4 \text{ wt.}\%$$

$$M_{\text{magnetite}} = (189 - 5)/(0.081 \times 5) = 454.3 \text{ g}$$

$$\text{Atomic weight of magnetite } [\text{Fe(II)Fe(III)}_2\text{O}_4] = 231.55$$

$$f_i = 3 \times 55.85/231.55$$

$$F_i \text{ at pH } 7 = f_i \times M_{\text{magnetite}} / Fe_T = 390.3 \text{ wt.}\%$$

$$F_i \text{ at pH } 7.5 = (0.081/0.215) \times 390.3 = 147 \text{ wt.}\%$$

The phase magnetite as unique sorbent is therefore not a possible configuration.

$$M_{\text{fougérite}} = (189 - 5)/(0.095 \times 5) = 387.37 \text{ g}$$

$$\text{Atomic weight of fougérite } [\text{Fe(II)}_4\text{Fe(III)}_2(\text{OH})_{12}\text{CO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}] = 625.11 \text{ g}$$

$$f_i = 6 \times 55.85/625.11$$

$$F_i \text{ at pH } 7 = f_i \times M_{\text{fougérite}} / Fe_T = 264 \text{ wt.}\%$$

$$F_i \text{ at pH } 7.5 = (0.095/0.57) \times 264 = 44 \text{ wt.}\%$$

The phase fougérite as unique sorbent is therefore not a possible configuration at pH 7, but is a potential candidate as sorbent for arsenite at pH 7.5. if Kd for As(III) on vivianite is assumed equal to Kd for As(V) (Thinnappan et al., 2008):

$$M_{\text{vivianite}} = (189 - 5)/(0.18 \times 5) = 204.44 \text{ g}$$

$$\text{Atomic weight of vivianite } [\text{Fe(II)}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}] = 501.45$$

$$f_i = 3 \times 55.85/501.45$$

$$F_i = f_i \times M_{\text{vivianite}} / Fe_T = 86.9 \text{ wt.}\%$$

BGS/DPHE (2001) reported that the highest concentration of P derived from sandy horizons of the Bengal basin was equal to 214 mg P/kg of sediment. If we assume that vivianite is the dominant Fe-bearing host of sedimentary phosphorus, and not hydroxyapatite (see text):

Atomic weight of P = 31

$$(3 \times 55.85)/(2 \times 31) \times 214 = 578 \text{ mg (Fe in vivianite)/kg sediment}$$

If iron represents 1 wt.% of sediment :

$$\text{vivianite in wt.\% Fe} = 57.8 \text{ g/kg Fe} = 5.78 \text{ wt.\%}$$

We infer from this value which is much lower than the calculated value that vivianite is not the dominant host for arsenite.

$$M_{\text{mackinawite}} = (189 - 5)/(2 \times 5) = 18.4 \text{ g}$$

Atomic weight of mackinawite [Fe(II)S] = 87.91 g

$$f_i = 55.85/87.91$$

$$F_i = f_i \times M_{\text{mackinawite}} / \text{FeT} = 14.87 \text{ wt.\%}$$

This result is not consistent with our recent observed values of Acid Volatile Sulfide (AVS) extractions in Araiha, Bangladesh, where AVS is varying from 0.2 to 2 $\mu\text{mol g}^{-1}$ sediment and therefore AVS represents only 0.11 to 1.1 wt.% of iron assuming about 1 wt.% iron in sediment (main text, Figure 3).

Two-sorbents model. Assuming a two-sorbents system, the conservation of Fe_T and As_T in the system are written in both equations (E1) and (E2) (see text). Matlab R2006b 7.3.0.267 (The Mathworks) was used to solve this system with two unknowns, the masses of the two sorbents, respectively M_1 and M_2 and f_i the percentage of iron in the total weight of the i-th phase:

$$\sum_{i=1,2} M_i \times K_d^i = \frac{\text{As}_T}{[\text{As}]_{\text{max}}} - 1$$

$$\sum_{i=1,2} M_i \times f_i = \text{Fe}_T$$

If we supposed that one phase is mackinawite and the other phase is siderite, magnetite or fougurite, the percentage of iron in mackinawite is above 6 wt.% in all cases (see Table 4, main text). However, the more rich observed Fe(II)-sulfide sediment in Bangladesh is only 1.1 wt.% of initial iron solid (see above). Therefore, we considered hereafter a more complex system with three or four phases including 1 wt.% mackinawite.

Three-sorbents model. Assuming that only 1 wt.% of Fe(III)-oxides is transformed in mackinawite, the residual part could be distributed between two other Fe(II)-bearing phases. The conservation of Fe_T and As_T is written in both equations:

$$\sum_{i=1,2} M_i \times K_d^i = \frac{As_T}{[As]_{\max}} - 1 - M_{mackinawite} \times K_d^m$$

$$\sum_{i=1,2} M_i \times f_i = Fe_T \times (1 - 1\%)$$

Atomic weight of mackinawite $[Fe(II)S] = 87.91$

$$f_{mackinawite} = 55.85/87.91$$

$$M_{mackinawite} = 1\% Fe_T \times f_{mackinawite} = 1.23 \text{ g}$$

$$M_{mackinawite} \times K_d = 1.23 \text{ g} \times 2 \text{ L g}^{-1} = 2.46 \text{ L}$$

Four-sorbents model. Assuming that vivianite is the dominant Fe-bearing host of sedimentary phosphorus and that the concentration P derived is equal to 214 mg P/kg of sediment (BGS/DPHE, 2001), then for 1 L water in contact with 7.86 kg of sediment :

$$M_{vivianite} = 501.45/(2 \times 31) \times 214 \text{ mg} \times 7.86 \text{ kg} = 13.6 \text{ g}$$

$$M_{vivianite} \times K_d = 13.6 \text{ g} \times 0.18 \text{ L g}^{-1} = 2.448 \text{ L}$$

In the four-phases model with 1 wt.% mackinawite with K_d^m and 5.78 wt.% vivianite with K_d^v , the conservation of Fe_T and As_T in the system is written in both equations:

$$\sum_{i=1,2} M_i \times K_d^i = \frac{As_T}{[As]_{\max}} - 1 - M_{mackinawite} \times K_d^m - M_{vivianite} \times K_d^v$$

$$\sum_{i=1,2} M_i \times f_i = Fe_T \times (1 - 1\% - 5.78\%)$$

All the configurations are listed in Table 4 (main text) and the possible multiple sorbents systems at pH 7 are all shown in Figure 4 (main text).

Literature Cited

1. Afonso, M.D. and Stumm, W. Reductive Dissolution of Iron(III) (Hydr)oxides by Hydrogen-Sulfide. *Langmuir* **1992**, 8, 1671-1675.
2. Ball, J.W. and Nordstrom, D.K. User's Manual for WATEQ4F, with Revised Thermodynamic Data Base and Test Cases for Calculating Speciation of Major, Trace, and Redox Elements in Natural Waters. **1991**, *Open-File Report 91-183*, 1-192.
3. Bethke, C.M. *The Geochemist's Workbench®. A user's guide to Rxn, Act2, Tact, React, and Gplot. Release 4.0*. University of Illinois: Urbana, 2002; Vol. Hydrogeology Program, University of Illinois, Urbana, pp. 224 p.
4. BGS AND DPHE *Arsenic contamination of groundwater in Bangladesh*. KINNIBURGH, D G and SMEDLEY, P L: Keyworth, 2001; Vol. British Geological Survey Technical Report WC/00/19 WC/00/19,
5. Campbell, K.M.; Malasarn, D.; Saltikov, C.W.; Newman, D.K.; Hering, J.G. Simultaneous Microbial Reduction of Iron(III) and Arsenic(V) in Suspensions of Hydrous Ferric Oxide. *Environ. Sci. Technol.* **2006**, 40, 5950-5955.
6. Charlet, L.; Chakraborty, S.; Appelo, C.A.J.; Roman-Ross, G.; Nath, B.; Ansari, A.A.; Lanson, M.; Chatterjee, D.; Mallik, S.B. Chemodynamics of an arsenic "hotspot" in a West Bengal aquifer: A field and reactive transport modeling study. *Appl. Geochem.* **2007**, 22, 1273-1292.
7. Charlet, L.; Chakraborty, S.; Varma, S.; Tournassat, C.; Wolthers, M.; Chatterjee, D.; Ross, G.R. Adsorption and heterogeneous reduction of arsenic at the phyllosilicate-water interface. *Advances in Arsenic Research* **2005**, 915, 41-+.
8. Cheng, Z.; Zheng, Y.; Mortlock, R.; van Geen, A. Rapid multi-element analysis of groundwater by high-resolution inductively coupled plasma mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **2004**, 379, 512-518.
9. Dixit, S. and Hering, J.G. Comparison of arsenic(V) and arsenic(III) sorption onto iron oxide minerals: Implications for arsenic mobility. *Environ. Sci. Technol.* **2003**, 37, 4182-4189.
10. Dzombak, D.A. and Morel, F.M.M. *Surface complexation modeling; hydrous ferric oxide*. John Wiley & Sons: New York, 1990;
11. Kocar, B.D. and Fendorf, S. Thermodynamic Constraints on Reductive Reactions Influencing the Biogeochemistry of Arsenic in Soils and Sediments. *Environ. Sci. Technol.* **2009**, 43, 4871-4877.
12. Metral, J.; Charlet, L.; Bureau, S.; Mallik, S.; Chakraborty, S.; Ahmed, K.; Rahman, M.; Cheng, Z.; van Geen, A. Comparison of dissolved and particulate arsenic distributions in shallow aquifers of Chakdaha, India, and Araihaazar, Bangladesh. *Geochemical Transactions* **2008**, 9, 1.
13. Nath, B.; Berner, Z.; Mallik, S.B.; Chatterjee, D.; Charlet, L.; Stueben, D. Characterization of aquifers conducting groundwaters with low and high arsenic concentrations: a comparative case study from West Bengal, India. *Mineralogical Magazine* **2005**, 69, 841-854.
14. Parkhurst, D.L. and Appelo, C.A.J. User's guide to Phreeqc (version 2)- a computer program for speciation, batch-reaction, one-dimensional transport, and inverse geochemical calculation. **1999**, *USGS WRI Report 99-4259*, 312 p.
15. Poulton, S.W. Sulfide oxidation and iron dissolution kinetics during the reaction of dissolved sulfide with ferrihydrite. *Chem. Geol.* **2003**, 202, 79-94.
16. Radloff, K.A.; Manning, A.R.; Mailloux, B.; Zheng, Y.; Moshir Rahman, M.; Rezaul Huq, M.; Ahmed, K.M.; Geen, A.v. Considerations for conducting incubations to study the

- mechanisms of As release in reducing groundwater aquifers. *Appl. Geochem.* **2008**, *23*, 3224-3235.
17. Raven, K.P.; Jain, A.; Loeppert, R.H. Arsenite and Arsenate Adsorption on Ferrihydrite: Kinetics, Equilibrium, and Adsorption Envelopes. *Environ. Sci. Technol.* **1998**, *32*, 344-349.
 18. Swartz, C.H.; Blute, N.K.; Badruzzaman, B.; Ali, A.; Brabander, D.; Jay, J.; Besancon, J.; Islam, S.; Hemond, H.F.; Harvey, C.F. Mobility of arsenic in a Bangladesh aquifer: Inferences from geochemical profiles, leaching data, and mineralogical characterization. *Geochim. Cosmochim. Acta* **2004**, *68*, 4539-4557.
 19. Thinnappan, V.; Merrifield, C.M.; Islam, F.S.; Polya, D.A.; Wincott, P.; Wogelius, R.A. A combined experimental study of vivianite and As (V) reactivity in the pH range 2–11. *Appl. Geochem.* **2008**, *23*, 3187-3204.
 20. Viollier, E.; Inglett, P.W.; Hunter, K.; Roychoudhury, A.N.; Van Cappellen, P. The ferrozine method revisited: Fe(II)/Fe(III) determination in natural waters. *Appl. Geochem.* **2000**, *15*, 785-790.

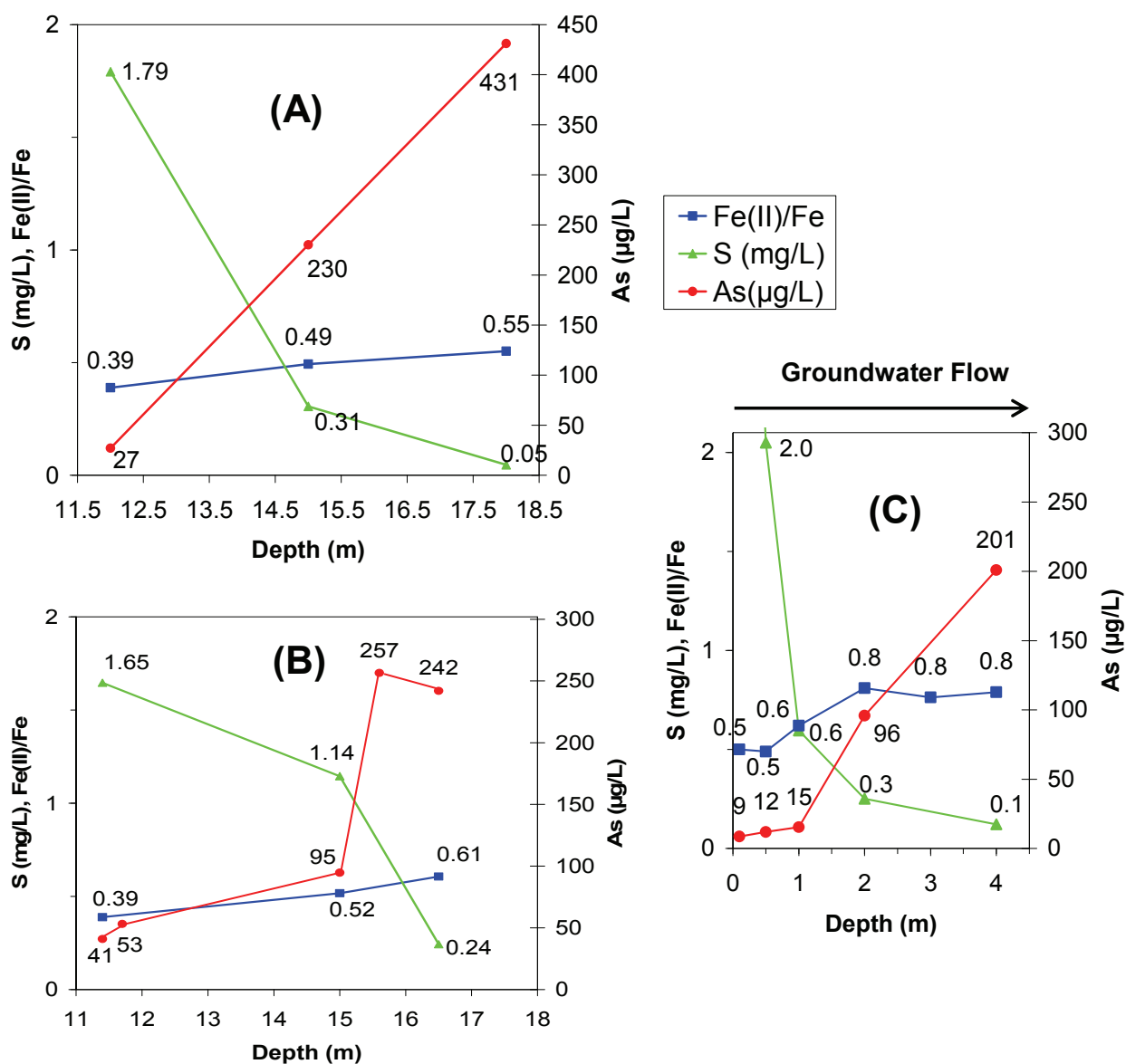


Figure 1SI : Two vertical profiles of Chakdaha site, India: (A) I6 well, (B) I7 well profile showing aqueous S, As concentrations based on needle-sampling and acid-leachable Fe(II)/Fe in the aquifer particles (closed triangles, circles and squares respectively). SO_4^{2-} determinations by ion chromatography were used for I6 well and I7 well (Métral et al., 2008). Also shown, at the same scale, the vertical profile (C) from site T, Cambodia (Kocar et al., 2009).

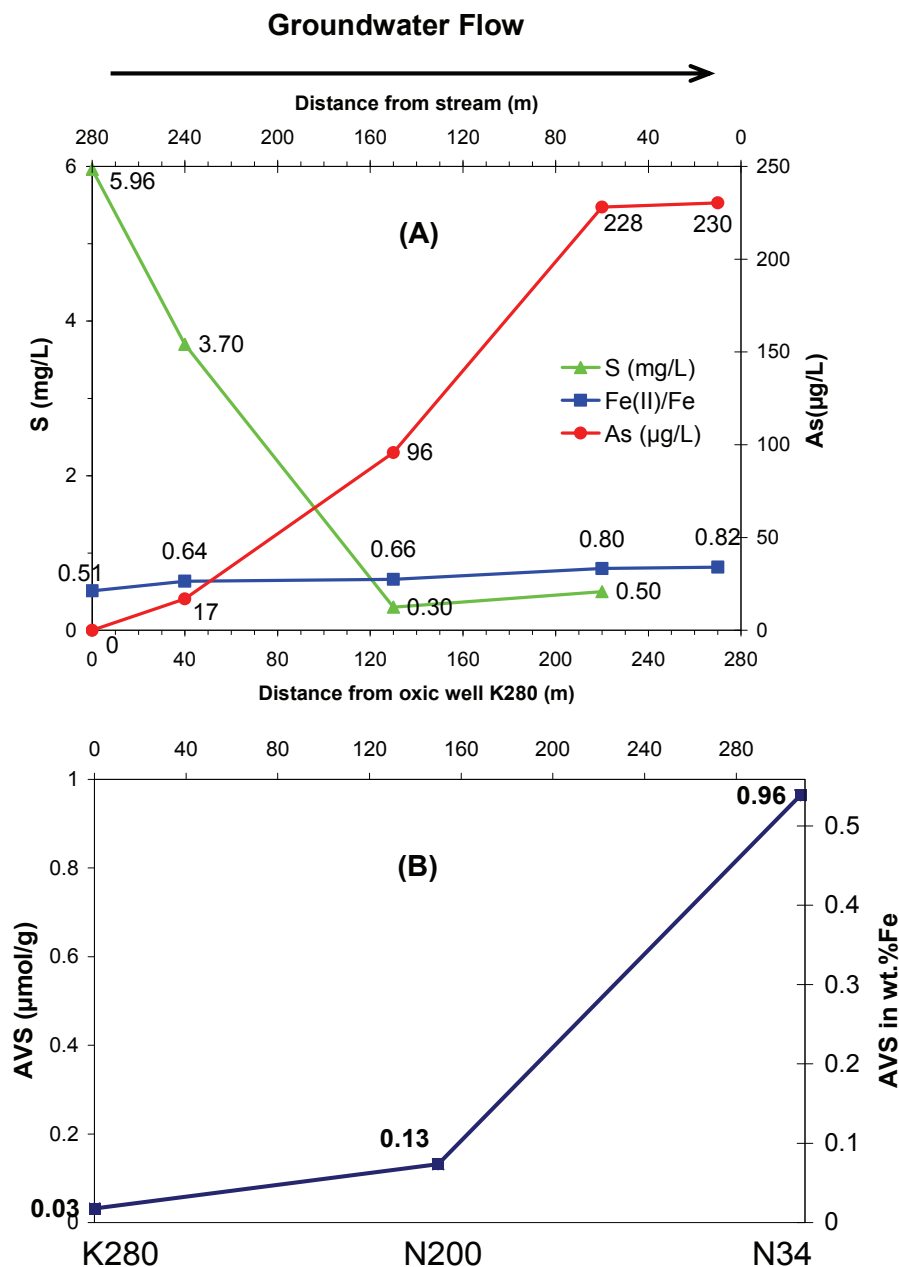


Figure 2SI: Two horizontal profiles of Arai-hazar site, Bangladesh: (A) K profile (Radloff et al., 2008) with mean depth values (between 5 and 10 m) of As, S concentrations based on needle-sampling and acid-leachable Fe(II)/Fe_{tot} in the aquifer particles, (B) N profile (Jérôme Métral, personal communication) with mean depth values (between 5 and 10 m) of Acid Volatile Sulfide (AVS) in $\mu\text{mol/g}$. The wt.% Fe of AVS is also shown assuming 1 wt.% iron in sediments.

5. Synthèse des résultats et perspectives

L'arsenic avait déjà une mauvaise réputation du fait de son utilisation fréquente comme poison dans l'Histoire. Un autre empoisonnement à l'arsenic, un empoisonnement naturel et à plus grande échelle, concerne aujourd'hui les populations consommant les eaux prélevées des aquifères de certains grands deltas dans le monde. Cette contamination mondiale est étudiée par les scientifiques et les médecins depuis plus d'une vingtaine d'années, les contaminations les plus importantes et les plus étendues concernant les eaux souterraines des deltas du Sud-Est asiatique et notamment celles du delta du Bengale. Pour comprendre l'étendue du problème de santé publique, si aucune mesure n'est prise au Bangladesh, un excès de mortalité de plusieurs milliers de personnes par an et le développement de l'arsénisme chez plusieurs millions d'habitants sont prédits dans les prochaines années (Yu *et al.*, 2003).

Malgré les efforts continus depuis ces deux dernières décennies de la communauté scientifique afin de décrire les processus de dissolution de l'arsenic contenu dans ces sédiments fluviatiles, il manque un modèle intégrant l'ensemble des couplages des différents processus expliquant l'apparition localisée de très fortes concentrations d'arsenic dissous. Cette thèse souligne l'importance du rôle des couplages des processus hydrauliques, géochimiques et biotiques intervenant dans le passage de l'arsenic de la phase solide à la phase aqueuse dans les aquifères deltaïques. La simulation des couplages dans des codes de calcul permet d'avancer dans la compréhension des processus majeurs en cause dans cette contamination naturelle des eaux souterraines par l'arsenic.

L'explication de la mise en solution de l'arsenic dans ces aquifères admise aujourd'hui par la grande majorité de la communauté scientifique est la dissolution d'origine bactérienne des phases porteuses majoritaires de l'arsenic. Les phases les plus importantes vis-à-vis de la rétention de l'arsenic sont les (hydr)oxydes de fer, stables dans les zones suffisamment oxygénées de ces aquifères. Ces zones sont sableuses, relativement perméables et donc en contact plus ou moins lointain avec l'eau de recharge de surface. Au contraire, au niveau des zones limoneuses/argileuses moins perméables avec des particules de taille plus fine, les conditions sont plus anoxiques et les métabolismes anaérobiques ne sont plus inhibés. Le fer

ferrique devient alors un accepteur d'électron majeur dans les processus d'oxydation de la matière organique. La dissolution de la phase principale porteuse de l'arsenic est considérée comme la principale explication de la mise en solution de l'arsenic sorbé sur les surfaces de ces particules. L'arsenic dissous est alors majoritairement sous sa forme réduite, l'arsénite As(III).

Cette explication communément admise ne permet pas cependant d'expliquer l'ensemble des observations récentes sur le terrain que soit au Bengale Occidentale (Inde) ou au Bangladesh. En effet, on n'observe généralement pas une corrélation très forte entre le Fe(II) dissous et l'arsenic total dissous dans ces aquifères, ce que certains auteurs ont appelé le « découplage de la mobilisation du fer et de l'arsenic » (van Geen *et al.*, 2004). Au contraire, il existe une corrélation positive entre les pics de concentration d'arsenic dissous et le ratio Fe(II)/Fe dans la phase solide et une corrélation négative entre ces pics et les sulfates en solution. De plus, une très forte hétérogénéité spatiale entre ces pics d'arsenic est observée dans les aquifères du Bengale. Notre démarche a donc consisté face à ces différentes questions, auxquelles peu de réponses quantitatives avaient été apportées, de concevoir des expériences de laboratoire biotiques et abiotiques, en réacteur et en colonne et de confronter les résultats de ces expériences avec les données issues de campagnes de terrain au Bengale. L'idée est de proposer des modèles basés sur les résultats des expériences car elles sont réalisées dans des conditions contrôlées et connues. Ces modèles ont servi ensuite de support de réflexion pour expliquer des processus mis en évidence sur le terrain. L'idée n'est donc pas de reproduire à l'identique en laboratoire les conditions observées sur le terrain, ce qui serait certainement préférable mais en pratique très difficile à réaliser. La confrontation entre données de laboratoire et données de terrain a comme objectif final de construire des modèles ainsi que des codes numériques simulant les couplages entre les différents mécanismes jouant un rôle dans la contamination par l'arsenic de ces aquifères. La discussion sur la représentativité des processus modélisés par rapport aux données de terrain permettra finalement de tracer des perspectives aux travaux présentés dans cette thèse.

5.1 Rappel des principaux acquis expérimentaux

Lors d'une première série d'expériences en réacteur, une ferrihydrite de synthèse dopée avec environ 5 % d'arséniates As(V) a été incubée avec une communauté de bactéries ferri-réductrices (BFR) avec différents ratios solide sur liquide (Chapitre 3.1). Les résultats de

ces expériences ont montré que la mobilisation de l'arsenic dépendait fortement de la concentration initiale en Fe(III) solide. Pour une faible concentration en fer solide, une dissolution « congruente » du Fe(II) et de l'As(V) est observée lors du premier mois d'incubation alors que pour des concentrations en fer solide se rapprochant des conditions *in situ* des aquifères du Bengale, un découplage temporel est effectivement observé entre la mise en solution du Fe(II) lors du premier mois et la mise en solution de l'arsenic sous forme réduite As(III) lors du deuxième mois. Dans toutes ces expériences en réacteur, la concentration du carbone organique (lactate et acétate) a toujours été en excès afin d'éviter que la disponibilité du donneur d'électron n'affecte les cinétiques de réduction microbienne. La production de Fe(II) dissous mesurée régulièrement pendant les incubations nous a permis de quantifier les taux de réduction microbienne de la ferrihydrite dopée avec 5 % d'As(V). En plus de cet aspect cinétique, la réduction bactérienne de ces particules peut être aussi limitée thermodynamiquement du fait de la bioénergétique : la production et l'accumulation en solution de Fe(II) due à la réduction de la ferrihydrite induit en effet une baisse de gain énergétique ($-\Delta G_r$) pour les micro-organismes. En théorie, le gain d'énergie de la réduction des accepteurs d'électrons couplée à l'oxydation des composés organiques doit être maximal pour permettre une croissance bactérienne optimale. Nous avons montré qu'effectivement la réduction des arsénates en arsénites était énergétiquement plus favorable après le premier mois d'incubation, ce qui a permis de développer un modèle énergétique reproduisant les résultats expérimentaux. Le même modèle énergétique a été appliqué avec succès à des concentrations d'arsenic solide plus faible et un pH plus proche de la neutralité (c'est-à-dire des conditions plus proches des conditions *in situ* des aquifères du Bengale Occidental) et avec de sédiments provenant du Bengale Occidental et incubé avec un ajout d'acétate (Islam *et al.*, 2004). Nous pensons donc avoir mis en évidence lors de cette première série d'expériences et de modélisation des processus génériques typiques des zones de transition redox apparaissant dans les aquifères du Bengale.

Lors d'une seconde série d'expériences en présence d'une atmosphère contenant du sulfure d'hydrogène ou en présence de bactéries sulfato-réductrices (BSR), la corrélation négative observée dans ces aquifères entre les sulfates et l'arsenic en solution a été reproduite avec la même approche que lors de la première série d'expériences (Chapitre 3). Des expériences en colonne ont été conçues avec du sable dans la partie inférieure et un mélange du même sable avec de la ferrihydrite synthétique dopé avec 6,6 % d'As(III). L'utilisation de l'arsenic majoritairement sous forme réduite As(III) représente des conditions *in situ* plus

anoxiques dans lesquelles l'arsenic a déjà été réduit. Ce choix permet également d'éviter de favoriser le développement de bactéries utilisant de manière préférentielle l'arséniate comme accepteur d'électrons. Cette colonne a permis la reproduction expérimentale d'un découplage spatial et temporel entre la production biogénique de sulfure dans la partie inférieure de la colonne, la dissolution de la ferrihydrite et finalement la précipitation de sulfures de fer dans la partie supérieure. L'ensemble de ces transformations minéralogiques s'accompagne d'une mise en solution de l'arsenite As(III) initialement sorbé sur la ferrihydrite. Une fois un régime pseudo-stationnaire atteint, un fort gradient de sulfate et d'arsenic dissous apparaît le long de la colonne, avec une corrélation négative significative entre les sulfates et l'arsenic alors que pH reste proche de la neutralité. Cette deuxième série d'expériences réalisées en présence de bactéries sulfato-réductrices décrit un couplage possible entre les cycles redox du soufre, du fer et de l'arsenic. Le chemin réactionnel mis en évidence est une transformation minéralogique possible conduisant à la libération possible de l'arsenic en solution. Ces deux séries d'expériences en présence de bactéries ferri-réductrices et sulfato-réductrices ont permis de développer des modèles couplés qui seront utilisés et adaptés aux données de terrain du site de Chakdaha dans le Bengale Occidental (Inde).

5.2 Principales observations sur le site de Chakdaha (Inde)

Les premières données de terrain exploitées proviennent de trois campagnes entre 2000 et 2002 avec la description de la chimie des eaux souterraines à différentes profondeurs sur toute la zone de Chakdaha en Inde à différentes périodes de l'année (Chapitre 4). L'ensemble des données de $p\text{CO}_2$ et pH ont permis de mettre clairement en évidence des eaux souterraines en équilibre avec les carbonates que ce soit la dolomite, la calcite et surtout la rhodochrosite porteuse de la forme réduite du manganèse Mn(II). Ces eaux sont également en légère sur-saturation vis à vis de la sidérite porteuse de la forme réduite du fer Fe(II). Ces données ont ainsi montré l'importance que peuvent jouer des phases minérales carbonatées dans la mobilité de l'arsenic lors de la transition vers l'anoxie dans ces aquifères alors que ces phases ne peuvent être détectées par DRX. Comme le carbone inorganique dissous est lui-même produit par l'oxydation microbienne de la matière organique, ce résultat confirme l'hypothèse de la mobilisation de l'arsenic par les transformations d'origine microbienne des phases porteuses de l'arsenic, le K_d de la forme réduite de l'arsenic sur les phases minérales carbonatées étant inférieur de plusieurs ordres de grandeur à celui sur les phases d'oxydes de

fer ou du manganèse (Jönsson and Sherman, 2008). Une nouvelle campagne en 2005 a permis d'obtenir une nouvelle série de données plus complète sur une transversale de la rivière Hooghly dans la même zone du Bengale Occidental. Le ratio molaire Fe(II)/Fe dans la phase solide a été notamment analysé à différentes profondeurs sur les différents puits de cette transversale avec les mêmes méthodes déjà appliquées au Bangladesh (Van Geen *et al.*, 2006). Ces nouvelles données ont permis de mettre en évidence, outre une grande hétérogénéité spatiale des pics de concentrations d'arsenic en solution, des corrélations significatives entre la phase solide décrite par le ratio Fe(II)/Fe et les concentrations en sulfates et en arsenic dans la phase aqueuse. C'est en partant de ces observations et également des processus mis en évidence dans les expériences en colonne (Chapitre 3) qu'un modèle 1D de transport réactif avec différents scénarios a été construit et comparés aux données de terrain (Chapitre 4.2). Les différents résultats du modèle sont tous compatibles avec les observations sur le terrain et ils permettent une quantification des différents processus les uns par rapport aux autres. Les différents chemins réactionnels se traduisent notamment par des profils différents du ratio Fe(II)/Fe, ce ratio apparaissant comme le facteur clef dans la mobilité de l'arsenic dans ces aquifères deltaïques.

5.3 Considérations sur la représentativité des expériences

La question de la représentativité des expériences de laboratoire par rapport au terrain est importante pour conclure et tracer les perspectives futures des travaux expérimentaux de cette thèse. Il existe en effet des conditions expérimentales dans les deux séries d'expériences décrites précédemment qui ne sont pas ou seulement partiellement représentatives des conditions *in situ* du Bengale. Un premier aspect de cette représentativité concerne le choix entre une souche pure ou une communauté bactérienne comme type de microflore dans les expériences en réacteur ou en colonne. Que ce soit pour les expériences avec les bactéries ferri-réductrices (Chapitre 3.1) ou les bactéries sulfato-réductrices (Chapitre 3.3), une communauté bactérienne a été préférée à une souche pure. Un choix alternatif était de choisir *a priori* une espèce en fonction de son phénotype notamment vis-à-vis des activités de réduction des accepteurs d'électrons utilisés dans les différentes expériences. Dans les deux séries d'expériences, la communauté a été prélevée dans un aquifère déjà contaminé par une pollution polymétallique. L'avantage de ce choix est une meilleure représentativité d'un fonctionnement « naturellement » complexe avec une sélection dans le temps des espèces

bactériennes les plus adaptées à la présence d'une contamination. Pour les bactéries ferri-réductrices, il a été montré seulement *a posteriori* qu'au moins une des espèces était aussi capable d'utiliser l'arséniate comme accepteur d'électron (Chapitre 3.1). De même, ce n'est qu'*a posteriori* que la présence du gène de réduction des sulfates a été démontrée dans la communauté de bactéries présente dans la colonne alors même que le gène de fonction n'était pas détectable dans l'eau prélevée initialement, c'est-à-dire avant l'ajout des ions sulfates (Chapitre 3.3). Dans un premier temps, le choix d'une communauté et non d'une souche pure sulfato-réductrice nous a conduit à un résultat non prévu et surtout non souhaité dans les expériences en réacteur. La présence de particules de ferrihydrite arsénée a en effet inhibé la sulfato-réduction comme nous le discuterons plus loin, ce qui nous a incité à concevoir une colonne hétérogène avec deux niveaux : un niveau inférieur correspond à la zone d'injection de la source de carbone et de sulfate et ne comportant pas de ferrihydrite arsénée (énergétiquement très favorable pour les bactéries) et un niveau supérieur correspond à un mélange de sable et de ferrihydrite arsénée, les deux étant préalablementensemencées par la communauté bactérienne issue d'un aquifère faiblement arsénié. Le choix d'une souche pure bien qu'il aurait permis *a priori* de simplifier les processus, nous a semblé trop restrictif vis-à-vis de la compréhension de processus biogéochimiques fortement couplés. De plus, le comportement de souches pures isolées est souvent très différent de celui du même organisme en interaction avec d'autres espèces, interaction omniprésente en milieu naturel. Une perspective possible de poursuite de ces travaux, serait de combiner ces expériences avec un contrôle sur la sélection des espèces choisies et leur suivi au cours du temps pour déterminer le rôle combiné des espèces bactériennes dans la mobilité de l'arsenic.

Un deuxième aspect de la représentativité des expériences en laboratoire est la quantité de carbone organique disponible dans les expériences par rapport à la quantité de carbone organique biodisponible *in situ* : le carbone organique est en excès dans les microcosmes des expériences en batch ou dans la solution injectée dans la colonne (Chapitre 3). Bien que très hétérogène dans les aquifères du Bengale, ce carbone organique est dans tous les cas en plus faible concentration *in situ* que dans les expériences décrites, et en général majoritairement sous forme solide et non labile. Cette question du donneur d'électrons est importante car des conditions proches de celles *in-situ* conduirait à une limitation et un contrôle des cinétiques des (bio)réactions. Le choix implicite que nous avons fait dans les deux séries d'expérience a été de supposer qu'une quantité importante de carbone organique biodisponible, même si elle augmente les cinétiques, ne devrait pas changer radicalement les chemins réactionnels. Ce point mériterait cependant d'être vérifié dans d'autres expériences avec une quantité de

matière organique plus proche de celle observée et pourrait constituer une des pistes pour la poursuite de travaux de recherche avec des conditions plus proches des conditions *in situ*.

Un troisième point de la représentativité des expériences en laboratoire concerne la taille et la cristallinité des (hydr)oxydes de fer qui sont les phases porteuses de l'arsenic utilisées dans les deux séries d'expériences décrites précédemment. La taille des particules de ferrihydrite arsénée de synthèse utilisée dans nos expériences est de l'ordre de quelques nanomètres, la solubilité de ces particules est alors de plusieurs ordres de grandeurs plus grandes que celle des oxydes de fer plus cristallisés comme la goethite ou l'hématite. Vis-à-vis du gain énergétique pour les bactéries, les sulfates sont ainsi plus favorable en tant qu'accepteur d'électron que les phases cristallisées comme la goethite ou hématite et moins favorables que les phases amorphes de type ferrihydrite (Kocar *et al.*, 2009). L'observation dans ces aquifères du Bengale d'une réduction des sulfates précédant la mobilisation de l'arsenic (Chapitre 4.2) suggère donc que les phases porteuses majoritaires de l'arsenic ne sont pas des (hydr)oxydes de fer de type ferrihydrite (ou d'autres nano-particules) mais plutôt des particules plus cristallisées comme la goethite, l'hématite ou encore des particules argileuses. Il a été en outre démontré que la cinétique de réduction microbienne des (hydr)oxydes de fer dépend également de leur cristallinité : plus les phases sont amorphes et solubles, plus la cinétique de réduction microbienne est grande (Bonneville *et al.*, 2004). D'un point de vue cinétique, ce sont donc des phases comme la ferrihydrite qui seront réduites en premier, les phases ferriques plus cristallisées comme la goethite, l'hématite ou les phases argileuses seront ainsi les phases porteuses majoritaires de l'arsenic à long terme. L'évaluation des taux de réduction microbienne de la ferrihydrite arsénée permet ainsi de définir seulement une borne supérieure du taux de réduction *in situ* des phases porteuses d'arsenic. Le système étudié dans les expériences en laboratoire (Chapitre 3), bien que non représentatif vis-à-vis de la cristallinité des phases porteuses d'arsenic, permet ainsi d'avoir un premier ordre de grandeur d'un paramètre clef du modèle de transfert réactif de l'arsenic (Chapitre 4.2).

5.4 Considérations sur les modèles couplant le transport réactif et la microbiologie

Dans l'état actuel, les modèles de transport réactif couplés à la microbiologie peuvent être considérés comme des outils d'appréhension des processus par leur confrontation avec les expériences et non comme des modèles prédictifs. Que ce soit dans le modèle de sorption décrit dans le chapitre 3.1 ou dans le modèle 1D développé dans le Chapitre 4.2, le modèle décrit les activités microbiennes anaérobies en interaction avec les différents accepteurs d'électrons sans intégrer la bioénergétique (chapitre 2.2). Cette intégration peut passer par l'intégration de l'énergie nécessaire aux processus métaboliques directement dans les logK de la base de données thermodynamiques (Jakobsen and Cold, 2007) ou dans la prise en compte d'un facteur thermodynamique dans la loi cinétique (Jin and Bethke, 2005). Les limites des modèles couplés utilisés dans cette thèse étant nombreuses, nous allons décrire maintenant les points à améliorer en priorité dans le futur concernant ces modèles.

Concernant la description des processus microbiologiques, les lacunes de ces modèles portent essentiellement sur la définition des communautés microbiennes fonctionnelles, par exemple la caractérisation des bactéries présentes initialement, les combinaisons possibles entre les différentes voies métaboliques décrites, la prise en compte de la toxicité de certains éléments chimiques (comme le fer, le soufre ou l'arsenic), l'intégration de la capacité de résistance de certaines espèces.

Concernant la description des processus géochimiques, les lois de cinétiques devront intégrer de manière systématique le facteur thermodynamique lié à la bioénergétique. L'approche classique de type cinétique de Monod ou Michaelis-Menten est en effet une simplification qui ne tient pas compte de la compétition exclusive entre différents accepteurs d'électrons ou encore de l'impossibilité thermodynamique d'un processus. Le taux cinétique de la réaction modélisée peut donc être positif alors que la réaction est impossible sans apport énergétique externe (réaction endergonique). La prise en compte de l'apport énergétique des réactions de réduction se fait indirectement par l'intermédiaire de concentrations « seuils » (ou limites) des différents accepteurs d'électrons. Ces seuils sont dans les modèles actuels soit calculés par des considérations énergétiques via l'introduction d'un facteur thermodynamique dans la loi cinétique (chapitre 3.1), soit calés par rapport aux données de terrain (Chapitre 4.2). Au-dessus de ces seuils, le modèle passe automatiquement à l'accepteur d'électron

suivant disponible, mais c'est le modélisateur qui choisit *a priori* l'ordre de cette séquence. Les futurs modèles devront intégrer automatiquement ces contraintes énergétiques dans le choix des accepteurs d'électrons.

Compte-tenu de ces limites, les modèles utilisés dans le cadre de cette thèse ne sont pas des modèles prédictifs mais ils permettent cependant de réaliser des études de sensibilité et ainsi de déterminer certains paramètres clefs des différents processus ainsi que le couplage entre ces différents paramètres. Un exemple issu de cette thèse est le couplage vis-à-vis de la mobilité de l'arsenic entre la cinétique de réduction des oxydes de fer et la vitesse de l'écoulement : malgré l'incertitude sur la valeur de ces deux paramètres, le modèle 1D de transport réactif permet de mettre en évidence quantitativement leur couplage vis-à-vis de l'apparition des pics d'arsenic dissous (Chapitre 4.2).

En guise de conclusion, on peut schématiquement décrire deux grands domaines de la (bio)géochimie dans lesquels l'apport de ces modèles de transport réactif couplés aux processus microbiologiques est attendu aujourd'hui, d'une part le domaine de la recherche fondamentale et d'autre part celui d'une recherche plus appliquée dans le domaine environnemental :

- Dans le domaine des connaissances fondamentales en biogéochimie, une description fine et aux petites échelles des processus biogéochimiques couplés sera nécessaire. L'utilisation de ces modèles complexes passera par la mise en œuvre d'outils méthodologiques décrivant précisément les variations des paramètres expérimentaux comme par exemple le couplage, à très petite échelle, entre les dynamiques fonctionnelles des communautés microbiennes par la détection des gènes de fonction et l'état d'oxydation de l'élément chimique par l'analyse XANES.
- Dans le domaine environnemental, il sera nécessaire de disposer d'outils numériques performants qui prennent en compte les échelles de temps et d'espace caractéristiques des différentes problématiques comme par exemple les stockages en grande profondeur que se soit la séquestration géologique du CO₂ dans les aquifères salins ou le stockage de déchets radioactifs dans les argiles. La représentation des phénomènes qui interviennent dans ces deux types de stockage et dans le milieu géologique environnant devra prendre en compte les éventuelles

interactions (couplages) entre ces phénomènes et notamment l'influence du facteur microbiologique. Il s'agira de traduire par conceptualisation en modèles mathématiques les connaissances acquises sur les sites ou au laboratoire, ces modèles mathématiques seront ensuite numérisés grâce à des codes de calculs existants ou développés spécifiquement. Le facteur microbiologique apparaît ainsi comme un processus potentiellement majeur pour l'évolution des deux types de stockage, que ce soit pour les changements d'état physiques et le transfert du CO₂ ou pour le relâchement et la migration des radionucléides.

6. Summary of results and prospects

Arsenic has long had a bad reputation due to its frequent use as a poison in history. An other arsenic poisoning, this time natural and on a wider scale, today involves the populations consuming the aquifer waters of certain large deltas in the world. It is a world-wide contamination that has been under study by scientists and doctors for more than 20 years, with the most significant and extensive contaminations being in the groundwater of Southeast Asia's deltas, and in particular the Bengal Delta Plain (BDP). To understand the extent of the public health problem it is predicted that in Bangladesh, if no measures are taken, the mortality rate in the next few years will increase by several thousand a year, along with the development of arsenic poisoning affecting several million inhabitants (Yu et al., 2003).

Despite continuous efforts by the scientific community over the two last decades to describe the dissolution processes of arsenic contained in the fluvial sediments, we have no model that integrates all the couplings of the various processes explaining the very localized appearance of high concentrations of dissolved arsenic. The present thesis stresses the importance of the role of coupled hydraulic, geochemical and biotic processes in the passage of arsenic from the solid to the aqueous phase in the deltaic aquifers. Simulating the couplings in computer codes should provide us with a better understanding of the major processes involved in the arsenic contamination of the groundwater.

The current explanation accepted by almost all the scientific community for the release of arsenic into these aquifers, is bacterial dissolution of most of the arsenic-bearing phases. The most important phases with regard to arsenic retention are iron (hydr)oxides, which are stable in the sufficiently oxygenated zones of these aquifers, i.e. sandy, relatively permeable zones in more-or-less remote contact with surface recharge water. Conversely, conditions in the less permeable silty/clayey zones with finer particles are more anoxic and anaerobic metabolisms are no longer inhibited. The ferric iron then becomes a major electron acceptor in organic matter oxidation processes. Dissolution of the principal arsenic-bearing phase is regarded as the principal explanation for releasing the arsenic sorbed on the surfaces of these particles. The dissolved arsenic is thus mainly in its reduced form of arsenite As(III).

This commonly accepted explanation does not, however, account for all the recent observations in the field, whether in West Bengal (India) or Bangladesh. In fact, one does not generally find a very strong correlation between the dissolved Fe(II) and total dissolved arsenic in these aquifers, which some authors have termed "decoupling of the iron and arsenic mobilization" (van Geen et al., 2004). Conversely, there is a positive correlation between the peaks of dissolved arsenic concentration and the Fe(II)/Fe ratio in the solid phase, and a negative correlation between these peaks and the sulfates in solution. Moreover, a very strong spatial heterogeneity between these arsenic peaks is noted in these deltaic aquifers.

In view of these various issues, to which we have few quantitative answers, our approach has been to design biotic and abiotic laboratory, batch and column experiments and to compare the results of these experiments with the field data from Bengal. The idea was to develop models based on the experimental results since these are carried out under controlled and known conditions, and then use these models as a support for studies aimed at explaining the processes demonstrated in the field. The idea has thus not been to reproduce laboratory conditions identical to those noted in the field, which would certainly be preferable but very difficult to achieve in practice. The aim of comparing the laboratory and field data is to develop models and computer codes that can simulate the couplings between the various mechanisms that play a role in the arsenic contamination of these aquifers. Discussion on the representativeness of the modeled processes compared to the field data will finally make it possible to outline ideas for following up the work presented in this thesis.

6.1 Summary of the main experimental achievements

During a first series of batch experiments, a synthetic ferrihydrite doped with approximately 5% arsenate As(V) was incubated with a community of ferric-reducing bacteria (FRB) at different solid/liquid ratios (Chapter 3.1). The results of these experiments showed that the arsenic mobilization is highly dependent on the initial solid Fe(III) concentration. With a weak iron solid concentration, a congruent dissolution of Fe(II) and As(V) is observed during the first month of incubation, whereas with iron concentration closer to the *in situ* conditions of the Bengal aquifers, a temporal decoupling is observed between the release of Fe(II) during the first month and the release of arsenic, in its reduced form As(III), during the second month. All these batch experiments used an excess concentration of organic carbon (lactate and acetate) in order to avoid the availability of the

electron donor affecting the microbial reduction kinetics. The production of dissolved Fe(II), measured regularly during the incubations, allowed us to quantify the microbial reduction rate of the ferrihydrite doped with 5% As(V). In addition to this kinetic aspect, the bacterial reduction of these particles can also be limited thermodynamically because of the bioenergetics: the production and accumulation of Fe(II) in solution due to the reduction of ferrihydrite results in a lower energy gain ($-\Delta G_r$) for the micro-organisms. In theory, the energy gain from the reduction of electron acceptors coupled with the oxidation of organic compounds should be maximal to enable optimal bacterial growth. We have in fact shown that the reduction of arsenate to arsenite was energetically more favorable after the first month of incubation, which made it possible to develop an energetic model reproducing the experimental results. The same energetically-driven model was applied successfully to weaker solid arsenic concentrations and a pH closer to neutrality (i.e. conditions closer to the *in situ* conditions of bengali aquifers), using the results obtained by incubation of West Bengal sediments (Islam et al., 2004). We therefore think that this first series of experiments and models have revealed generic processes typical of the redox transition zones occurring in the bengali aquifers.

During a second series of experiments in the presence of an atmosphere containing hydrogen sulfide or in the presence of sulfate-reducing bacteria (SRB), the negative correlation noted in the aquifers between the sulfates and arsenic in solution were reproduced using the same approach as during the first series of experiments (Chapter 3). Column experiments were designed with sand in the lower part and a mixture of the same sand with synthetic ferrihydrite doped with 6.6 % As(III). The use of arsenic mainly in its reduced form As(III) represents more anoxic *in situ* conditions in which the arsenic has already been reduced. This choice also makes it possible to avoid favoring the development of bacteria that preferentially use arsenate as an electron acceptor. The column enabled the experimental reproduction of a spatial and temporal decoupling between the biogenic production of sulfide in the lower part of the column, the dissolution of the ferrihydrite, followed by the precipitation of iron sulfide in the upper part. All the mineralogical transformations are accompanied by a release of the arsenite As(III) initially sorbed on the ferrihydrite. Once a pseudo-stationary regime is reached, a strong dissolved arsenic and sulfate gradient appears along the column, with a significant negative correlation between the sulfates and the arsenic and the pH remaining close to neutrality. The results of this second series of experiments in presence of sulfate-reducing bacteria thus show a possible coupling between redox cycles of

iron, sulfur and arsenic. The observed reaction path is a possible mineralogical transformation that accounts for the release of arsenic. The two series of experiments with iron-reducing and sulfate-reducing bacteria enabled us to develop coupled models that will be used and adapted to the field data from the Chakdaha site in West Bengal (India).

6.2 Principal observations from the Chakdaha site (India)

The first exploited field data came from three field campaigns between 2000 and 2002 providing a description of the groundwater chemistry at different depths over the entire Chakdaha zone in India at different periods of the year (Chapter 4.1). The whole collected $p\text{CO}_2$ and pH data allowed us to clearly demonstrate the presence of groundwater in balance with the carbonates, i.e. dolomite, calcite, and especially rhodochrosite containing the reduced form of manganese Mn(II). The groundwater also shows a slight supersaturation with respect to siderite containing the reduced form of iron Fe(II). The data thus showed the important role that carbonate mineral phases can play with regard to the mobility of arsenic in these aquifers during its transition to anoxia while these phases are not detectable by XRD. As dissolved inorganic carbon is itself produced by the microbial oxidation of organic matter, this result confirms the assumption of arsenic mobilization through microbial transformations of the arsenic-bearing phases, the K_d of the reduced form of arsenic on the carbonate mineral phases being lower by several orders of magnitude than that on the iron or manganese oxide phases (Jönsson and Sherman, 2008). A new field program in 2005 in the same area of West Bengal resulted in a new more complete set of data from a transect of the Hooghly River. In particular, the Fe(II)/Fe molar ratio in the solid phase was analyzed at different depths of the various wells along this transect using the same methods already applied elsewhere in Bangladesh (Van Geen et al., 2006). The new data enabled us to determine, in addition to a large spatial heterogeneity of the peaks of arsenic concentration in solution, significant correlations between the solid phase described by the Fe(II)/Fe ratio and the arsenic and sulfate concentrations in the aqueous phase. It is on the basis of these observations, as well as of the processes determined from the column experiments (Chapter 3.2), that a 1D reactive transport model with different scenarios was built and compared with the field data (Chapter 4.2). The different modeling results are all compatible with the field observations and enable a quantification of the various processes with respect to one another. The differences between

reaction paths are notable and reflected by different profiles of the Fe(II)/Fe ratio, a ratio that appears to be the key factor in the mobility of arsenic within these deltaic aquifers.

6.3 Representativeness of the experiments

The representativeness of the laboratory experiments with respect to the field conditions is an important point for concluding and outlining a follow-up to the experimental work of this thesis. In fact the two series of experiments described above include experimental conditions which are not, or only partly, representative of the *in situ* conditions in Bengal. A first aspect of the representativeness relates to the choice between a pure strain and a bacterial community for the type of microbial population in batch and column experiments. Here our preference was for a bacterial community rather than a pure strain for the experiments with iron-reducing bacteria (Chapter 3.1) and also with sulfate-reducing bacteria (Chapter 3.2). An alternative choice was *a priori* to select a species according to its phenotype, notably with respect to the reducing activities of the electron acceptors used in the different experiments. For both series of experiments, the community was collected from an aquifer already contaminated by polymetallic pollution. The advantage of this choice is a better representativeness of a "naturally" complex operation with a selection in time of the bacterial species best adapted to the presence of a contamination. For the iron-reducing bacteria, it was shown only later that at least one of the species was also able to use arsenate as an electron acceptor (Chapter 3.1). In the same way, it was only later that the presence of sulfate-reducing gene was revealed in the column's bacterial community whereas even the same function gene was not detectable in the initially collected water (before the addition of sulfate ions) (Chapter 3.3). In the first instance, the selection of a community rather than a pure sulfate-reducing strain led us to an unexpected, and moreover unwanted, result in the batch experiment. The presence of amorphous ferrihydrite particles in fact inhibited sulfate reduction as we shall discuss later ; this prompted us to design a heterogeneous two-level column with the lower level corresponding to the carbon and sulfate source injection zone containing no arsenic-bearing ferrihydrite (energetically very favorable for the bacteria) and the upper level corresponding to a mixture of sand and arsenic-rich ferrihydrite, both zones are initially inoculated with the endogenous bacterial community from a low arsenic-containing aquifer. The choice of a pure strain, although *a priori* making it possible to simplify the processes, seems to us too restrictive for understanding strongly coupled biogeochemical processes. Moreover, the

behavior of isolated pure strains is often very different from that of the same organism interacting with other species, which is an omnipresent interaction in nature. A possible continuation for this work would be to combine these experiments with a monitoring of the change of bacterial diversity in order to determine the role of major bacteria with respect to arsenic mobility.

A second aspect of the representativeness of the laboratory experiments is the amount of available organic carbon in the experiments compared to the amount of bioavailable organic carbon *in situ*: organic carbon was in excess in the microcosms of the batch experiments and in the solution injected into the column (Chapter 3). Although very heterogeneous in the Bengal aquifers, the *in situ* organic carbon concentration is, in every case, lower than in the described experiments, and generally in a solid and non-labile form. The question of the electron donor is important because of the limitation and control of the (bio)reaction kinetics. The implicit choice we made in the two series of experiments was that the quantity of bioavailable organic carbon changes the kinetics without radically changing the reactional pathways. This point however warrants being checked by other experiments with an organic matter content closer to that observed in the field, which could be one way of the continuing the research work under conditions closer to the *in situ* conditions.

A third aspect of the representativeness of the laboratory experiments concerns the size and crystallinity of the iron (hydr)oxides, which are the arsenic-bearing phases used in the two series of experiments described above. The size of the synthetic arsenic-rich ferrihydrite particles used in our experiments is of the order of a few nanometers, so their solubility is several orders of magnitude greater than that of the more crystalline iron oxides like goethite or hematite. As regards the energy gain for the bacteria, the sulfates are more favorable as an electron acceptor than the crystalline phases like goethite or hematite and less favorable than the amorphous phases of the ferrihydrite type (Kocar et al., 2009). The observation of a sulfate reduction preceding the arsenic mobilization in the Bengal aquifers (Chapter 4.2) therefore suggests that the most of the arsenic-bearing phases are not ferrihydrite-type iron (hydr)oxides (or other nano-particles) but rather more crystalline particles like goethite and hematite, or clayey particles. It has also been shown that the kinetics of the microbial reduction of iron (hydr)oxides also depends on the crystallinity: the more amorphous and soluble the phase, the greater the kinetics of microbial reduction (Bonneville et al., 2004). From a kinetic point of view, it is phases such as ferrihydrite that will be reduced first, leaving the more crystalline ferric phases like goethite and hematite, and

the clay phases, as the majority long-term arsenic-bearing phases. Evaluating the microbial reduction rate of arsenic-rich ferrihydrite thus only enables one to define an "upper limit" of the *in situ* reduction rate of the arsenic-bearing phases. The system studied in the laboratory experiments (Chapter 3.1), although non representative with respect to the crystallinity of the arsenic-bearing phases, thus enables us to fix a first evaluation of the magnitude of a key parameter in the reactive transfer model (Chapter 4.2).

6.4 Coupling of reactive transport models with microbiology

In their current state, the coupled reactive transport and microbiology models should be considered as process apprehension tools through their comparison with the experiments and not as real predictive models. Whether in the sorption model described in Chapter 3.1 or the 1D model developed in Chapter 4.2, the model describes the anaerobic microbial activities interacting with the various electron acceptors without integrating the bioenergetics (Chapter 2.2). Such an integration would involve integrating the energy required for the metabolic processes directly in the logK of the thermodynamic database (Jakobsen and Cold, 2007) or taking a "thermodynamic factor" into account in the model. Because of the many limitations of the coupled models used in this thesis, we shall describe a few priority points that need to be improved in these models.

As regards the description of the microbiological processes, the shortcomings of these models primarily concern the definition of the functional microbial communities such as the characterization of the bacteria initially present, the possible combinations between the various described metabolic paths, taking into account the toxicity of certain chemical elements (like iron, sulfur and arsenic), and the integration of the stress-resistance of certain species.

As regards the description of the geochemical processes, the kinetic laws need to systematically integrate the thermodynamic factor related to the bioenergetics. The traditional approach of the Monod or Michaelis-Menten kinetic type is in fact a simplification that does not take account of the exclusive competition between different electron acceptors or of the thermodynamic impossibility of a process. The kinetic rate of the modeled reaction can thus be positive whereas the reaction is impossible without an external energy input (endergonic reaction). Taking the energy input from reduction reactions into account is done indirectly via

"threshold" (or limit) concentrations of the various electron acceptors. These thresholds in the current models are either computed by energetic considerations through introducing a thermodynamic factor into the kinetic law (Chapter 3.1), or correlated to the field data (Chapter 4.2). Above these thresholds, the model passes automatically to the next available electron acceptor, but it is the modeler who *a priori* selects the order of this sequence. Future models should automatically integrate these energetic constraints for the choice of multiple electron acceptors.

In view of these limitations, the models used for the thesis are not real predictive models, but they do enable sensitivity studies and thus the determination of certain key parameters of the different processes as well as the coupling between these parameters. An example from the thesis is, in terms of arsenic mobility, the coupling between the iron-oxide reduction kinetics and flow rate: despite the uncertainty concerning the value of these two parameters, the 1D reactive transport model enables one to quantitatively reveal their coupling vis-à-vis the appearance of dissolved arsenic peaks (Chapter 4.2).

To conclude, one can briefly describe two major areas of environmental (bio)geochemistry awaiting the contribution of coupling reactive transport models with the microbiological processes, the one is basic research and the other a more applied research in the environmental field:

- Fundamental knowledge commonly requires detailed descriptions of small-scale coupled biogeochemical processes. The use of these complex models will pass by the implementation of methodological tools precisely describing the variations of the experimental parameters such as, for example, the coupling, at a very small spatial scale, between functional dynamics of the microbial communities using functional genes analysis and the oxidation state of the studied chemical element using XANES.
- The environmental domain will require powerful numerical tools that take into account time and space scales characteristic of the different problems such as, for example, deep storage whether for the geological sequestration of CO₂ in saline aquifers or the storage of radioactive waste in clays. Representation of the phenomena intervening in these two types of storage and the surrounding geological environment must take account of the possible interactions (couplings)

between these phenomena and in particular the influence of the microbiological factor. It is a question of conceptualizing the knowledge obtained in the field or in the laboratory and translating this into mathematical models, which will be then digitized using existing or specifically developed computer codes. The microbiological factor thus seems a potentially major process for the development of these two storage types, whether considering the physical changes of state and the transfer of CO₂ or the release and migration of radionuclides.

Tables

Table 1: General chemical and physical properties of As element	23
Table 2: List of principal arsenic-rich minerals (from Matera, 2001)	24
Table 3: 2LFh-As characterization, initial state and after 6 months	45
Table 4: Review of existing coupled reactive transport and microbial processes codes	49
Table 5: Modified growth medium MS2*	96
Table 6: Experiments with 2LFh, 2LFh-As(III) and 2LFh-As(V)	97
Table 7: Presence of thioarsenite, IRB and <i>dsrAB</i> gene in the column (days 43,44, 48)	110
Table 8: Growth medium for iron-reducing bacteria	117
Table 9: Primers used to amplify by PCR <i>dsrAB</i> functional gene	118

Figures

Figure 1: Time profile of aqueous As(III) oxidation with different lake sediments (A) As(III), (B) As(V), (C) As(III)/As _T in aqueous phase (Oscarson et al., 1983)	27
Figure 2: Time profile of As(III) oxidation in aqueous phase and increase of molar ratio Mn(III)/ Mn(IV) in solid phase (A) between 0 and 100 h (B) between 0 et 600 h (Tournassat et al., 2002)	27
Figure 3: Map of the Bengal delta and of the study area with the Hooghly River transect at Chakdaha (India)	33
Figure 4: Groundwater arsenic contamination status in West Bengal, India (till September 2006) (http://www.soesju.org/arsenic/wb.htm)	34
Figure 5: A rural handpump in India and a child playing with water	35
Figure 6: Ferrihydrite with iron reducing bacteria	36
Figure 7: XRD analysis of 2L-Fh with co-precipitated As(V) (CP) before and after sterilization step with high temperature	45
Figure 8: Effect of pH on 2LFh reduction rate with 0.001 atm H ₂ S	97
Figure 9: Fe release from 2LFh, 2Fh-As(III) and 2LFh-As(V) (10 ⁻³ atm H ₂ S)	98
Figure 10: As release from 2LFh-As(III) and 2LFh-As(V) (10 ⁻³ atm H ₂ S)	99
Figure 11: Growth of <i>D. norvegicum</i> in MS2 medium with 2LFh	100
Figure 12: 1D column with ascending flow percolation and five septa. Low level with only sand and top level with a mixture sand/As(III)-2LFh	102
Figure 13: day 17 is the start of percolation with lactate and sulphate (a), first black precipitate at the interface day at day 35 (b) extraction of eluates and solids from the five septa at days 43, 44, 45 (c)	105
Figure 14: pH change at the outlet of the column between 20 days and 54 days (Sulfate injection after 20 days, decrease of T° after 54 days)	105
Figure 15: Total As (open square), Total Fe (open circle) and SO ₄ (open triangles) elution as a function of time between 20 days and 54 days	106
Figure 16: Total As and Fe elution as a function of time until 100 days	107
Figure 17: pH and Eh within column porewater as a function of distance from inlet (dashed line represents boundary between sand/2LFh, above, and clean quartz sand, below)	108
Figure 18: Sulfate S(VI), thiosulfate S(II) and sulfide S(-II) as a function of distance from inlet	109
Figure 19: Sulfate S(VI), total Fe and total As as a function of distance from inlet (dashed line represents boundary between sand/2LFh, above, and quartz sand, below)	109

Figure 20: Chromatogram showing three different thioarsenite species identified at the interface between sand and ferrihydrite coated sand	115
Figure 21: DGGE gels from the 5 septa (5 cm to 25 cm from inlet)	118

Annexe 1 « Coefficient de distribution (Kd) de l'arsenic sur des phases solides Fe(II)/Fe(III) à partir d'isothermes de sorption (pH 7 et 7,5) »

Table: Kd of As(III) and As(V) onto Fe(II)-Fe(III)-bearing phases derived from sorption edge experiments (pH 7 and 7.5)

Fe(II)-Fe(III)-bearing phases	Solid g/L	Kd L/g As(III) at pH 7 (pH 7.5)	Kd L/g As(V) at pH 7 (pH 7.5)	Ref
HFO	0.03	85.72 (87.79)	49.3 (37.59)	Dixit and Hering (2003)
Goethite	0.5	14.46 (16.1)	8.05 (5.39)	Dixit and Hering (2003)
mackinawite	0.044	2	9	Wolthers et al. (2005)
siderite	2.5	0.28 (0.36)	3.36 (1.86)	Jonsson and Sherman (2008)
magnetite	3.1	0.08 (0.20)	(8.89)	Jonsson and Sherman (2008)
	0.5	1.85 (2.02)	-	Dixit and Hering (2003)
fougerite	4.5	0.12 (0.42)	-	Jonsson and Sherman (2008)
vivianite	2.5	-	0.18 (0.18)	Thinnappan et al. (2008)
Muscovite ^a	4.1	0.36 (0.13)	0.36 (0.13)	Chakraborty et al. (2007)
Biotite ^a	4.25	0.97 (0.31)	3.4 (0.9)	Chakraborty et al. (2007)

^a derived from constant capacity (CC) modeling of adsorption edge experiments

Annexe 2 « Fichier d'entrée PHREEQC du modèle de transfert réactif 1D »

```

1 |
2 SOLUTION_MASTER_SPECIES
3 Acetate-      Acetate-  0      59.05      59.05
4 Ft           Ft+2      0.0     Ft         55.847
5 As           H3AsO3     0.0     74.9216    74.9216
6 Ste          SteO4--    0      Ste         32.064
7 Sre          HSre-     0      Sre         32.064
8 Nit          NitO3-     0.0     Nit         14.0067
9 Ngas         Ngas2      0.0     Ngas        14.0067
10
11 SOLUTION_SPECIES
12
13 # Nitrate and Nitrogen
14 NitO3- = NitO3-
15     log_k      0.000
16 Ngas2 = Ngas2
17     log_k      0.000
18
19 # Acetate
20 Acetate- = Acetate-
21     log_k      0
22 Acetate- + H+ = HAcetate
23     log_k      4.76
24 Ft+2 + Acetate- = FtAcetate+
25     log_k      1.4
26
27 # no formation of CH4 or CO
28 1HCO3- + 1H+ + 1H2O = CH4 + 2O2
29     log_k      -1e99
30 1HCO3- + 1H+ = CO + 0.5O2 + 1H2O
31     log_k      -1e99
32
33 # one new component for ferrous iron
34 Ft+2 = Ft+2
35     log_k      0.0
36 #
37 #... and also other Fe+2 species
38 #
39 Ft+2 + H2O = FtOH+ + H+
40     log_k      -9.5
41 Ft+2 + Cl- = FtCl+
42     log_k      0.14
43 Ft+2 + CO3-2 = FtCO3
44     log_k      4.38
45 Ft+2 + HCO3- = FtHCO3+
46     log_k      2.0
47 1Ft+2 + 1SteO4-- = FtSteO4
48     log_k      2.244
49 1Ft+2 + 1SteO4-- + 1H+ = FtHSteO4+
50     log_k      1.090
51 1Ft+2 + 2HSre- = Ft(HSre)2
52     log_k      6.450

```

```

53 Ft+2 + HPO4-2 = FtHPO4
54     log_k    3.6
55 Ft+2 + H2PO4- = FtH2PO4+
56     log_k    2.7
57 # one new component for arsenite
58 H3AsO3 = H3AsO3
59     log_k    0
60 #
61 #... and also other arsenite species
62 #
63 H3AsO3 = H2AsO3- + H+
64     log_k    -9.228
65 H3AsO3 = HAsO3-2 + 2H+
66     log_k    -21.33
67 H3AsO3 = AsO3-3 + 3H+
68     log_k    -34.744
69 H3AsO3 + H+ = H4AsO3+
70     log_k    -0.305
71 # one new component for sulfate
72 SteO4-- = SteO4--
73     log_k    0.0
74 #... and also other sulfate species
75 1Ca++ + 1SteO4-- = CaSteO4
76     log_k    2.310
77 1SteO4-- + 1H+ = HSteO4-
78     log_k    1.982
79 1K+ + 1SteO4-- = KSteO4-
80     log_k    0.880
81 1Mg++ + 1SteO4-- = MgSteO4
82     log_k    2.230
83 1Mn++ + 1SteO4-- = MnSteO4
84     log_k    1.993
85 1Na+ + 1SteO4-- = NaSteO4-
86     log_k    0.936
87 # one new component for sulfide
88 HSre- = HSre-
89     log_k    0.0
90 #... and also other sulfide species
91 1HSre- + 1H+ = H2Sre
92     log_k    6.989
93 1HSre- = Sre-- + 1H+
94     log_k    -17.100
95 3H2AsO3- + 6HSre- + 8H+ = H2As3Sre6- + 9H2O
96     log_k    100.797
97 3H2AsO3- + 6HSre- + 9H+ = H3As3Sre6 + 9H2O
98     log_k    104.377
99 3H2AsO3- + 6HSre- + 7H+ = HAs3Sre6-- + 9H2O
100    log_k    92.890
101
102 SURFACE_MASTER_SPECIES
103     Hfo_s    Hfo_sOH

```

```

104      Hfo_w  Hfo_wOH
105
106 SURFACE_SPECIES
107 #  AAcid-base data from table 5.7 of Dzombak and Morel, 1990
108 #  strong binding site--Hfo_s
109      Hfo_sOH = Hfo_sOH
110      log_k  0.0
111
112      Hfo_sOH + H+ = Hfo_sOH2+
113      log_k  7.29      # = pKa1,int
114
115      Hfo_sOH = Hfo_sO- + H+
116      log_k  -8.93      # = -pKa2,int
117 #  weak binding site--Hfo_w
118      Hfo_wOH = Hfo_wOH
119      log_k  0.0
120
121      Hfo_wOH + H+ = Hfo_wOH2+
122      log_k  7.29      # = pKa1,int
123
124      Hfo_wOH = Hfo_wO- + H+
125      log_k  -8.93      # = -pKa2,int
126
127 # sorption of arsenite in scenarios (a) and (b)
128 # Dixit and Hering EST 37 2003
129      Hfo_wOH + H3AsO3 = Hfo_wH2AsO3 + H2O
130      log_k  4.02
131      Hfo_wOH + H2AsO3- = Hfo_wHAsO3- + H2O
132      log_k  6.35
133 # sorption of sulfide in scenario (b)
134 ## Dos Santos and Stumm, Langmuir (1992)
135 #      Hfo_wOH + HSre- = Hfo_wSre- + H2O
136 #      log_k  5.3
137 #      Hfo_wOH + HSre- + H+ = Hfo_wHSre + H2O
138 #      log_k  10.82
139
140 PHASES
141 Fix_pH
142      H+ = H+
143      log_k  0.0
144
145 H2S(g)
146      H2Sre = H2Sre
147      log_k  -0.997
148
149 Mackinawite
150      FtSre + H+ = Ft+2 + HSre-
151 #      Reference Wolthers (2005) for disordered mackinawite
152      log_k  -2.11
153

```

```

154 Siderite
155     FtCO3 + 1H+ = 1HCO3- + 1Ft+2
156     log_k      -0.273
157
158 Vivianite
159     Ft3(PO4)2:8H2O = 3 Ft+2 + 2 PO4-3 + 8 H2O
160 #     Reference (2005) Al-Borno and Tomson (1994)
161     log_k      -35.767
162
163 SOLUTION 0 constant solution with NO3 (Electron Acceptor EA)
164     temp      25.
165     pH        7.0
166     pe        -3.6
167     units     mg/kgw # ppm measures
168     Ca        17.24
169     Mg        8.54
170     Na        19.21
171     Cl        24.98      charge
172     C(4) 29.83 as HCO3 # mg/L of HCO3
173     Nit 12.67 as NitO3 # ppm NO3-
174     Ste 5.96 # S mg/L mean
175     Ft        .06
176     Mn(2)     .62
177     P         .11
178     As        17 ug/kgw # ug/L low value
179 END
180
181 SOLUTION 1-20 vertical cells with kinetics without EA NO3
182     temp      25.
183     pH        7.0
184     pe        -3.6
185     units     mg/kgw
186     Ca        17.24
187     Mg        8.54
188     Na        19.21
189     Cl        24.98      charge
190     C(4) 29.83 as HCO3 # mg/L of HCO3 mean
191     Ste 5.96 # S mg/L mean
192     Ft        .06
193     Mn(2)     .62
194     P         .11
195     As        17 ug/kgw # ug/L low value
196 END
197
198 EQUILIBRIUM_PHASES 1-20
199     Fix_pH    -7.0      HCl 100 # fixes pH to be 7 by adding or removing HCl
200 #     Siderite 0.83      0.0
201     Siderite 0.         0.0
202     Mackinawite 0.0      0.0
203 # Vivianite is not allowed to precipitate in scenarios (a), (b) and (c)
204 #     Vivianite 0.0      0.0

```



```

206 INCREMENTAL_REACTIONS true
207
208 KINETICS 1-20
209 -bad_step_max 2000 # if number must be increased > 500, try the stiff solver -cnode
210 -cnode true
211
212 NO3_red # name (must be defined in RATES)
213 -formula Nit -1.0 Ngas 1.0 C 1.25
214 # no initial Nitrate (only in injection solution)
215
216 SO4_red # name (must be defined in RATES)
217 -formula Ste -1.0 Sre- 1.0 C 2.0
218
219 Fe_red # name (must be defined in RATES)
220 -formula Ft+2 1.0 OH 2 C 0.25
221 -m0 0.281468 # mol 1-1 = initial 0.2wt% reducible Fe fraction in a 1wt% Fe sediment
222
223 As_sider # name (must be defined in RATES)
224 -m0 0.0
225 -formula As 1.0
226
227 As_vivia # name (must be defined in RATES)
228 -m0 0.0
229 -formula As 1.0
230
231 As_macki # name (must be defined in RATES)
232 -m0 0.0
233 -formula As 1.0
234
235 RATES Rate expressions for all kinetic reactions (including sorption)
236     NO3_red
237     -start
238 10 mole = 0
239 11 if (M <= 0) then goto 200
240 12 x = DIST
241 20 qm = 1.e-3*(1/31557600)*(8/5)
242 30 f1 = 1
243 40 Ka = 2.043e-04
244 50 if (MOL("Nito3-") > Ka) then goto 90
245 #50 f1 = MOL("Nito3-")/(Ka + MOL("Nito3-"))
246 # Van Cappellen and Wand, AJS,1996
247 80 f1 = 0.9*MOL("Nito3-")/Ka
248 90 rate = qm * f1
249 100 mole = rate * time
250 199 if (M - mole) < 0 then mole = M
251 200 SAVE mole
252     -end
253 #
254     SO4_red
255     -start
256 10 mole = 0

```

```

257 11  if (M <= 0) then goto 200
258 12  x = DIST
259 20  qm = 1.e-3*(1/31557600)
260 30  f1 = 1
261 40  Stel = TOT("Ste")*1e3*32.064
262 50  if (Stel > 0.5) then goto 70
263 60  f1 = Stel/0.5
264 70  Ka = 2.043e-04
265 #80  f2 = Ka/(Ka + MOL("NitO3-"))
266 # Van Cappellen and Wand, AJS,1996
267 80  f2 = 1 - (0.9*MOL("NitO3-")/Ka)
268 90  rate = qm * f1 * f2
269 195  mole = rate * time
270 199  if (M - mole) < 0 then mole = M
271 200  SAVE mole
272      -end
273 #
274     Fe_red
275     -start
276 10  mole = 0
277 11  if (M <= 0) then goto 200
278 # abiotic reduction of hfo in scenario (b)
279 # Poulton, Chemical Geology, 2003 (Ferrihydrite)
280 #35  km = 1/40
281 #40  rate = (MOL("Hfo_wSre-") + MOL("Hfo_wHSre"))*km
282 #100 mole = rate * time/60
283 # biotic reduction of hfo in scenario (a)
284 # high rate
285 #20  qm = 1.e-3*(1/31557600)*8.0
286 # low rate
287 20  qm = 1.5e-3*(1/31557600)
288 30  f2 = 0
289 40  Stel = TOT("Ste")*1e3*32.064
290 50  if (Stel > 0.5) then goto 200
291 70  Ka = 2.043e-04
292 130  f2 = (1 - (0.9*MOL("NitO3-")/Ka))*(1 - (Stel/0.5))
293 160  f3 = 1
294 170  if (M/M0 > 0.15) then goto 190
295 180  f3 = (M/M0)/0.15
296 190  rate = qm * f2 * f3
297 195  mole = rate * time
298 199  if (M - mole) < 0 then mole = M
299 200  SAVE mole
300      -end
301 # Kinetic sorption of As on secondary minerals
302     As_sider
303     -start
304 10  km = 1/100
305 20  kd = 2.8e-1
306 # Siderite concentration g/L
307 30  solids = EQUI("Siderite")*115.8581

```

```

308 35 if solids = 0 then goto 70
309 40 rate = -km*(MOL("H3AsO3") - (m/solids)/kd)
310 50 moles = rate * time
311 60 if (M - moles) < 0 then moles = M
312 70 SAVE moles
313     -end
314 # if vivianite is allowed to precipitate
315     As_vivia
316     -start
317 10 km = 1/100
318 20 kd = 1.8e-1
319 30 solids = EQUI("Vivianite")*501.61
320 35 if solids = 0 then goto 70
321 40 rate = -km*(MOL("H3AsO3") - (m/solids)/kd)
322 50 moles = rate * time
323 60 if (M - moles) < 0 then moles = M
324 70 SAVE moles
325     -end
326     As_macki
327     -start
328 10 km = 1/100
329 20 kd = 2.0e0
330 30 solids = EQUI("Mackinawite")*87.91
331 35 if solids = 0 then goto 70
332 40 rate = -km*(MOL("H3AsO3") - (m/solids)/kd)
333 50 moles = rate * time
334 60 if (M - moles) < 0 then moles = M
335 70 SAVE moles
336     -end
337 #
338 SURFACE 1-20
339     -equil solution 1-20
340 # site density = concentration (mol/L) * nb site per mole sediment = 0.28 * 0.117 = 0.033 mol/L
341     Hfo_wOH    Fe_red    kinetic    0.117    5.34e4
342 #
343 TRANSPORT
344     -cells    20
345     -lengths    0.5 # 1 cell length 0.5 m, column length 20*0.5 = 10 m
346     -dispersivities    0.05 #
347     -shifts    10000 # 10000/20 = 500 pore volumes
348     -flow_direction    forward
349     -time_step    864000 # 864000 = 10*86400 s = 10 days, total time = 10000*10 = 274 yr
350     -boundary_conditions    flux flux # at column ends
351     -diffusion_coefficient    0.e-10 # 3.e-10 m2/s
352     -punch_frequency    40 # 400 days about 1.1 year each time output
353
354 PRINT
355     -reset    false #suspends all printout
356     -status    false
357

```



```

358 SELECTED_OUTPUT
359 -file Kox_1D_flux.sel
360 -reset false
361 -distance true
362 -time true
363 -pH true
364 -pe true
365 -molalities HSre- H2Sre H2As3Sre6- Hfo_wOH Hfo_wHAsO3- Hfo_wH2AsO3 Hfo_wSre- Hfo_wHSre H3As3Sre6 HAs3Sre6--
366 -kinetic_reactants NO3_red SO4_red Fe_red As_vivia As_sider As_macki
367 -equilibrium_phases Mackinawite Siderite Vivianite
368 -saturation_indices Siderite Calcite CO2(g) H2S(g) Mackinawite Vivianite
369
370 USER PUNCH
371 -headings C NO3 N2 S(6) S(-2) As As(mol/kgw) Kd_vivia Kd_sider Kd_macki Fe(2) Fe(2)/Fetot Time(yr)
372 -start
373 50 PUNCH TOT("C(4)")*1e3*61.0191 # HCO3- in mg/kgw
374 51 PUNCH TOT("Nit")*62.0067*1e3 # NO3 in mg/L
375 52 PUNCH TOT("Ngas")*28.02*1e3 # N2 in mg/L
376 60 PUNCH TOT("Ste")*1e3*32.064 # S(6) in mg/kgw
377 61 PUNCH TOT("Sre")*1e3*32.064 # S(-2) in mg/kgw
378 63 PUNCH TOT("As")*1e6*74.92 # As in µg/kgw (ppt)
379 64 PUNCH TOT("As") # As in mol/kgw
380 65 If (EQUI("Vivianite") = 0) then goto 68
381 66 PUNCH KIN("As_vivia")/EQUI("Vivianite")/501.61/TOT("As") # Kd_vivia L/g
382 67 goto 69
383 68 PUNCH EQUI("Vivianite") # Kd = 0
384 69 If (EQUI("Siderite") = 0) then goto 72
385 70 PUNCH KIN("As_sider")/EQUI("Siderite")/115.8581/TOT("As") # Kd_sider L/g
386 71 goto 80
387 72 PUNCH EQUI("Siderite") # Kd = 0
388 80 If (EQUI("Mackinawite") = 0) then goto 110
389 90 PUNCH KIN("As_macki")/EQUI("Mackinawite")/87.92/TOT("As") # Kd_macki L/g
390 100 goto 120
391 110 PUNCH EQUI("Mackinawite") # Kd = 0
392 120 PUNCH TOT("Ft")*1e3*55.847 # Fe(2) in mg/kgw
393 121 If (EQUI("Mackinawite")+3*EQUI("Vivianite")+EQUI("Siderite") = 0) then goto 124
394 122 PUNCH 1/(1+KIN("Fe_red")/(EQUI("Mackinawite")+3*EQUI("Vivianite")+EQUI("Siderite"))) # Fe(2)/Fetot
395 123 goto 125
396 124 PUNCH EQUI("Mackinawite")+3*EQUI("Vivianite")+EQUI("Siderite") # Fe(2)/Fetot =0
397 125 PUNCH TOTAL_TIME/365.25/24/3600 + 1728000/2/365.25/24/3600 # Time (yr)
398 -end
399
400 KNOBS
401 -iterations 1000 # allowed iteration number is 500
402 -tolerance 1e-12
403 END
404
405
406
407

```

Bibliographie

- Albernathy C.O., Marcus W. and Chen C. (1989) *Report on arsenic (As) work group meetings*. Memo from CO Albernathy. Peter Cook and Peter Preuss, US EPA.
- Armstrong C.W., Stroube R.B., Rubio T. Siudyla E.A., Miller G.B. Jr. (1984) Outbreak of fatal arsenic poisoning caused by contaminated drinking water. *Arch. Environ. Health*, 39, 4, 276-279.
- Basberg, L., Engesgaard, P., 1999. A sequential partial equilibrium approach to multi-component reactive transport modeling of redox processes in groundwater impacted by landfill leachate, Chapter 5 in *Field and numerical investigations of landfill leachate in the Gardermoen glaciofluvial aquifer, Norway*, PhD thesis by Leif Basberg, Faculty of Applied Earth Sciences, Department of Geology and Mineral Resources Engineering, The Norwegian University of Science and Technology, pp. 64–106.
- BGS and DPHE, *Arsenic contamination of groundwater in Bangladesh*. Keyworth. Edited by: Kinniburgh DG, Smedley PL. 2001.
- Bethke CM, The Geochemist's Workbench®. A user's guide to Rxn, Act2, Tact, React, and Gplot. Release 4.0. Urbana, University of Illinois, 2002.
- Bates M.N., Smith A.H., Cantor K.P. (1995) Case-control study of bladder cancer and arsenic in drinking water. *American Journal Epidemiology* 141, 523-530.
- Bhattacharya P., Chatterjee D. and Jacks G. (1997) Occurrence of arsenic-contaminated groundwater in alluvial aquifers from delta plains, Eastern India: Options for safe drinking water supply. *Water Resources Development*, 13, 79-92.
- Brun A., Engesgaard, P. (2002) Modelling of transport and biogeochemical processes in pollution plumes: literature review and model development. *Journal of Hydrology* 256, (3-4), 211-227.
- Bonneville S., Van Cappellen P., Behrends T. (2004) Microbial reduction of iron(III) oxyhydroxides: effects of mineral solubility and availability. *Chemical Geology* 212, 255-268.
- Brun A., Engesgaard P., Christensen T. H., Rosbjerg D. (2002) Modelling of transport and biogeochemical processes in pollution plumes: Vejen landfill, Denmark. *Journal of Hydrology* 256, (3-4), 228-247.
- Brun A. and Engesgaard P. (2002) Modelling of transport and biogeochemical processes in pollution plumes: literature review and model development. *J. Hydrol.* 256, 211-227.
- Bowell, R.J., Morley, N.H., Din, V.K. (1994) Arsenic speciation in soil porewaters from the Ashanti Mine, Ghana, *Appl. Geochem*, 9, 15-22.
- Chakraborty, S., Wolthers, M., Chatterjee, D., Charlet, L. (2007) Adsorption of arsenite and arsenate onto muscovite and biotite mica. *J. Colloid Interface Sci.*, 309, 392-401.
- Chen C.J., Chuang Y.C., Lin T.M. *et al.* (1985) Malignant neoplasms among residents of a blackfoot disease-endemic area in Taiwan: high-arsenic artesian well water and cancer. *Cancer Res.* 45, 5895-5899.

- Chen C.J. et Wang C.J. (1990) Ecological correlation between arsenic level in well water and age-adjusted mortality from malignant neoplasms. *Cancer Res.*, 50, p. 5470-5474.
- Chilakapati A., Yabusaki S., Szecsody J. and MacEvoy W. (2000) Groundwater flow, multicomponent transport and biogeochemistry: development and application of a coupled process model. *J. Contam. Hydrol.* 43, 303-325.
- Combes J.M., Manceau A., Calas G., Bottero J.Y. (1989) Formation of ferric oxides from aqueous solutions : a polyedral approach by X-Ray absorption spectroscopy : I. Hydrolysis and formation of ferric gels. *Geochim. Cosmo. Acta*, 53, 583-594.
- Cummings D.E., Caccavo F.J., Spring S. and Rosenzweig R.F. (1999). *Ferribacterium limneticum*, gen. nov., sp. nov., an Fe(III)-reducing microorganism isolated from mining impacted freshwater lake sediments. *Arch. Microbiol.* 171, 183-188.
- Curtis G. P. (2003) Comparison of approaches for simulating reactive solute transport involving organic degradation reactions by multiple electron acceptors. *Computers & Geosciences* 29, 319-329.
- Dixit S. and Hering J.G. (2003) Comparison of arsenic(V) and arsenic(III) sorption onto iron oxide minerals: Implications for arsenic mobility. *Environ. Sci. Technol.* 37, 4182-4189.
- Dondon M., de Vathaire F., Quénel P. and Fréry N. (2005) Cancer mortality during the 1968-1994 period in a mining area in France. *European Journal of Cancer Prevention* 14, 297-301.
- Drits VA, Sakharov BA, SalynAL, Manceau A. (1993) Structural model for ferrihydrite. *Clay Minerals* 28, 2, 185-207.
- Dowdle P.R., Laverman A. M., Oremland R.S. (1996) - Bacterial dissimilatory reduction of arsenic(V) to arsenic(III) in anoxic sediments. *Applied Environmental Microbiology*, 62, 1664-1669.
- Dzombak D.A., Morel F.M.M. *Surface complexation modeling; hydrous ferric oxide*. New York: John Wiley & Sons; 1990.
- Eggleton, R.A. and Fitzpatrick, R.W. (1988) New Data and a Revised Structural Model for Ferrihydrite. *Clays Clay Miner.* 36, 111-124.
- Fennell D. E., Gossett J. M. (1998) Modeling the production of and competition for hydrogen in a dechlorinating culture. *Environmental Science & Technology* 32, 2450-2460.
- Fuller C.C., Davis J.A. and Waychunas G.A. (1993) Surface chemistry of ferrihydrite; Part 2, Kinetics of arsenate adsorption and coprecipitation. *Geochim. Cosmochim. Acta* 57, 2271-2282.
- Gault A. G., Islam F. S., Polya D. A., Charnock J. M., Boothman C., Chatterjee D. and Lloyd J. R. (2005) Microcosm depth profiles of arsenic release in a shallow aquifer, West Bengal. *Mineral Mag* 69, 855-863.
- Geetes J., Borremens B., Vangronsveld J., Diels L., van der Lelie D. (2005) Molecular monitoring of SRB community structure and dynamics in batch experiments to examine the applicability of in situ precipitation of heavy metals for groundwater remediation. *J Soils Sediments* 5, 149-163.

- Heimann A., Blodau C., Postma D., Larsen F., Viet P. H., Nhan P. Q., Jessen S., Du M. T., Hue N. T. M., Jakobsen R. (2007) Hydrogen thresholds and steady state concentrations associated with microbial arsenate respiration. *Environmental Science and Technology* 41, 2311-2317.
- Hoehler T. M., Alperin M. J., Albert D. B., Martens C. S. (1998) Thermodynamic control on hydrogen concentrations in anoxic sediments. *Geochim. Cosmochim. Acta* 62, (10), 1745-1756.
- Hollibaugh J. T., Carini S., Gürleyük H., Jellison R., Joye S. B., LeClerc G., Meile C., Vasquez L. and Wallschäger D. (2005) Arsenic speciation in Mono Lake, California: Response to seasonal stratification and anoxia. *Geochim Cosmochim Acta* 69, 1925-1937.
- Hoh C. Y., Cord-Ruwisch, R. (1996) A practical kinetic model that considers endproduct inhibition in anaerobic digestion processes by including the equilibrium constant. *Biotechnology and Bioengineering*, 51, (5), 597-604.
- Hunter K. S., Wang Y. F., Van Cappellen P. (1998) Kinetic modeling of microbially-driven redox chemistry of subsurface environments: coupling transport, microbial metabolism and geochemistry. *Journal of Hydrology* 209, (1-4), 53-80.
- Ilyaldin A.N. and Abdrashitova S.A. (1981) Autotrophic oxidation of arsenic by a culture of *Pseudomonas arsenitoxidans*. *Mikrobiologiya*, 50, p. 197-204.
- Inskeep W. P., Macur R.E., Hamamura N., Warelw T.P., Ward S.A. and Santini J.M. (2007). Detection, diversity and expression of aerobic bacterial arsenite-oxidase genes. *Environ. Microbiol.* 9, 934-943.
- Islam F.S., Gault A.G., Boothman C., Polya D.A., Charnock J.M., Chatterjee D., Lloyd J.R. (2004) Role of metal-reducing bacteria in arsenic release from Bengal delta sediments. *Nature* 430, 68-71.
- Jacotot B., Le Parco J-C. (1999) *Nutrition, alimentation*. 2e éd. revue, mise à jour, Ed.Masson, Paris, 311 p.
- Jain A. and Loeppert R.H. (2000) Effect of competing anions on the adsorption of arsenate and arsenite by ferrihydrite. *J. Environ. Qual.* 29, 1422-1430.
- Jakobsen R. and Cold L. (2007) Geochemistry at the sulfate reduction–methanogenesis transition zone in an anoxic aquifer—A partial equilibrium interpretation using 2D reactive transport modeling. *Geochim. Cosmochim. Acta* 71, 1949-1966.
- Jensen G.E. and Hansen M.L. (1988) Occupational arsenic exposure and glycosylated haemoglobin. *Analyst* 123, p. 77-80.
- Jakobsen R. and Cold L. (2007) Geochemistry at the sulfate reduction–methanogenesis transition zone in an anoxic aquifer—A partial equilibrium interpretation using 2D reactive transport modeling. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 71, 1949-1966.
- Jin Q., Bethke C. M. (2002) Kinetics of electron transfer through the respiratory chain. *Biophysical Journal* 83, 1797-1808.
- Jin Q. S., Bethke C. M. (2005) Predicting the rate of microbial respiration in geochemical environments. *Geochimica Et Cosmochimica Acta* 2005, 69, (5), 1133-1143.
- Jönsson J. and Sherman D. M. (2008) Sorption of As(III) and As(V) to siderite, green rust (fougérite) and magnetite: Implications for arsenic release in anoxic groundwaters. *Chemical Geology* 255, 173-181.

- Kocar B. D. and Fendorf S. (2009) Thermodynamic Constraints on Reductive Reactions Influencing the Biogeochemistry of Arsenic in Soils and Sediments. *Environ. Sci. Technol.* 43, 4871-4877.
- Le Gall, J. (1975) Bactéries sulfato-réductrices: enzymologie de la reduction dissimilative des sulfates. *Plant Soil* 43, 115-124.
- Legge J.W., Turner A.W. (1954) Bacterial oxidation of arsenite. III. Cell-free arsenite dehydrogenase. *Aust. J. Biol. Sci.* 7, 504-514.
- Liu C. X., Kota S., Zachara J. M., Fredrickson J. K., Brinkman C. K. (2001) Kinetic analysis of the bacterial reduction of goethite. *Environmental Science & Technology* 35, (12), 2482-2490.
- McNab W. W., Narasimhan T. N. (1994) Modeling reactive transport of organic compounds in groundwater using a partial redox disequilibrium approach. *Water Resources Research*, 30, (9), 2619-2635.
- Marchal, R. (1999). Rôle des bactéries sulfurogènes dans la corrosion du fer. *Oil Gas Sci Technol* 54, 649-659.
- Masion, A., Rose, J., Bottero, J.-Y., Tchoubar, D., Elmerich, P., (1997) Nucleation and Growth Mechanisms of Iron Oxyhydroxides in the Presence of PO₄ Ions. 3. Speciation of Fe by Small Angle X-ray Scattering, *Langmuir* 13(14); 3882-3885.
- Masion, A., Rose, J., Bottero, J.-Y., Tchoubar, D., Garcia, F. (1997) Nucleation and Growth Mechanisms of Iron Oxyhydroxides in the Presence of PO₄ Ions. 4. Structure of the Aggregates, *Langmuir* 13(14); 3886-3889.
- Manceau A. and Gates W.P. (1997) Surface structural model for ferrihydrite. *Clays and Clay Minerals* 45, 448-460.
- Matera V. (2001) Etude de la mobilité, de la spéciation de l'arsenic dans les sols de sites industriels pollués : estimation du risque induit. Thèse Pau 27/04/2001.
- Muller D., Lièvremon D., Simeonova D., Huber, J.C. and Lett M.C. (2003) Arsenite-oxidase *aox* gene from a metal-resistant β -Proteobacterium. *J. Bacteriol.* 185, 135-141.
- Neuzil E. (1990) Les oligo-éléments chez l'animal : de l'atomistique à la physiologie. *C.R. Acad. Agric. Fr.* 76, p. 61-78.
- Nickson RT, McArthur JM, Ravenscroft P, Burgess WG, Ahmed KM (2000) Mechanism of arsenic release to groundwater, Bangladesh and West Bengal. *Applied Geochemistry* 15, 403-413.
- Nordstrom D. K. and Archer D. G. (2002) Critical evaluation of thermodynamic properties and geochemical relationships for selected arsenic species; Geological Society of America, 2002 annual meeting. Abstracts with Programs - Geological Society of America 34, 294.
- O'Neill P. (1995) Arsenic, Chapitre 5 dans *Heavy Metals in Soils*, 2nd Ed., Alloway, B.J. Ed., Blackie Academic, Professional, Glasgow, p 105-121.
- Oscarson, D.W. ; Huang, P.M. ; Hammer, U.T. (1983) Oxidation and sorption of arsenite by manganese dioxide as influenced by surface coatings of iron and aluminium oxides and calcium carbonate. *Water, Air, Soil Pollut.* 20, 233-244.

- Pedersen H.D., Postma D. and Jakobsen R. (2006) Release of arsenic associated with the reduction and transformation of iron oxides. *Geochim Cosmochim Acta* 70, 4116-4129.
- Pierce, L.M. and Moore, B.C. (1982) Adsorption of arsenite and arsenate on amorphous iron hydroxide. *Water Res.* 16 : 1247-1253.
- Poulton, S.W. (2003) Sulfide oxidation and iron dissolution kinetics during the reaction of dissolved sulphide with ferrihydrite. *Chem. Geol.* 202, 79-94.
- Prommer H., Barry D. A. and Davis G. B. (2002) Modelling of physical and reactive processes during biodegradation of a hydrocarbon plume under transient groundwater flow conditions. *J. Contam. Hydrol.* 59, 113-131.
- Reese Jr. G.R. (1998) - Arsenic. U.S Geological Survey. Web site, <http://minerals.usps.gov/minerals/pubs/commodity/arsenic/160498.pdf>
- Rahman M., Tondel M., Chowdhuri I.A. *et al.* (1998) Relations between exposure to arsenic, skin lesions and glucosuria. *Occup. Environ. Med.* 56, p. 277-281.
- Randall S. R., Sherman D. M. and Ragnarsdottir K. V. (2001) Sorption of As(V) on green rust (Fe (sub 4) (II)Fe (sub 2) (III)(OH) (sub 12) SO (sub 4) .3H (sub 2) O) and lepidocrocite (gamma -FeOOH); surface complexes from EXAFS spectroscopy. *Geochim. Cosmochim. Acta* 65, 1015-1023.
- Raven K. P., Jain A. and Loeppert R. H. (1998) Arsenite and Arsenate Adsorption on Ferrihydrite: Kinetics, Equilibrium, and Adsorption Envelopes. *Environ. Sci. Technol.* 32, 344-349.
- Rose J., Manceau A., Bottero J.Y., Masion A., Garcia F. (1996) Nucleation and growth mechanisms of Fe oxyhydroxide in the presence of PO₄ ions. 1. Fe K-edge EXAFS study. *Langmuir* 12, 26, 6701-6707.
- Rose J., Flank. A.M., Masion A., Bottero J.Y., Elmerich P. (1997) Nucleation and growth mechanisms of Fe oxyhydroxide in the presence of PO₄ ions. 2. P K-edge EXAFS study. *Langmuir* 13, 6, 1827-1834.
- Saltikov, C. W. and Newman, D. (2003) Genetic identification of a respiratory arsenate reductase. *PNAS* 100, 10983-10988.
- Sanders J.G., Vermersch, P.S. (1982) Response of marine phytoplankton to low level of arseniate, *J. Plankton Research* 4, p. 881-894.
- Santini J.M., Sly L.I., Schnagl R.D., Macy J.M. (2000) - A new chemolithoautotrophic arsenite-oxidizing bacterium isolated from a gold mine : phylogenetic, physiological, preliminary biochemical studies. *Applied, Environmental Microbiology* 66, p. 92-97.
- Salvage K. M. and Yeh G. (1998) Development and application of a numerical model of kinetic and equilibrium microbiological and geochemical reactions (BIOKEMOD). *J. Hydrol.* 209, 27-52.
- Schwertmann U., Fisher W.R. (1973) Natural 'amorphous' ferric hydroxide. *Geoderma* 10, 237-247.
- Schwertmann U., Fisher W.R. (1991) Iron oxides in the laboratory, preparation and characterization, eds VCH Verlagsgesellschaft.
- Silver, S. and Phung, L. T. (2005) Genes and enzymes involved in bacterial oxidation and reduction of inorganic arsenic. *Appl Environ Microbiol* 71, 599-608.

- Smedley PL, Kinniburgh DG (2002) A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry* 17, 517-568.
- Stolz J.F. and Oremland R.S. (1999) - Bacterial respiration of arsenic, selenium. *FEMS Microbiology Reviews*, 23, p. 615-627.
- Tamaki S. and Frankenberger Jr W.T. (1992) Environmental biochemistry of arsenic. *Reviews of environmental contamination, toxicology* 124, p. 79-110.
- Testud F. (1993) Arsenic. Dans Pathologie toxique en milieu de travail, Ed. Alexandre Lacassagne Lyon, p. 172-179.
- Tournassat C., Charlet L., Bosbach D., Manceau A. (2002) Arsenic(III) Oxidation by Birnessite and Precipitation of Manganese(II) Arsenate. *Environ. Sci. Technol.* 36, 493-500.
- Tseng W.P. (1977) Effects and dose-response relationships of skin cancer and blackfoot disease with arsenic. *Environ. Health Perspect.* 19, 109-119.
- Tseng W.P., Chu H.M., How S.W., Fong J.M., Lin C.S. and Yeh S. (1968) Prevalence of skin cancer in an endemic area of chronic arsenicism in Taiwan. *J Natl Cancer Inst*, 40, 3, 453-463.
- van Geen A., Rose J., Thorat S., Garnier J.M., Zheng Y., Bottero J.Y. (2004) Decoupling of As and Fe release to Bangladesh groundwater under reducing conditions. Part II: Evidence from sediment incubations. *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68, 3475-3486.
- van Geen A., Zheng Y., Cheng Z., Aziz Z., Horneman A., Dhar R. K., Mailloux B., Stute M., Weinman B. and Goodbred S. (2006) A transect of groundwater and sediment properties in Arai-hazar, Bangladesh: Further evidence of decoupling between As and Fe mobilization. *Chem. Geol.* 228, 85-96.
- Waychunas G. A., Rea B. A., Fuller C. C. and Davis J. A. (1993) Surface chemistry of ferrihydrite; Part 1, EXAFS studies of the geometry of coprecipitated and adsorbed arsenate. *Geochim. Cosmochim. Acta* 57, 2251-2269.
- Whiting KS, PhD thesis. Colorado School of Mines, Golden, CO, 1992.
- Wilkie J.A. and Hering J.G. (1996) Adsorption of arsenic onto hydrous ferric oxide: effects of adsorbate/adsorbent ratios and co-occurring solutes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 107, 97-110.
- Wilkin T. R., Wallschläger D. and Ford R. G. (2003) Speciation of arsenic in sulfidic waters. *Geochem. Trans.* 4, 1-7.
- Wolthers M., Charlet L., Van der Weijden C.H., Van der Linde P.R., Rickard D. (2005) Arsenic mobility in the ambient sulphidic environment: sorption of Arsenic (V) and Arsenic (III) onto disordered mackinawite *Geochim. Cosmochim Acta* 69, (14), 3483-3492.
- Wood S., Tait C. D. and Janecky D. (2002) A Raman spectroscopic study of arsenite and thioarsenite species in aqueous solution at 25degreesC. *Geochemical Transactions* 3, 31.
- Yu W.H., Harvey C.M. and Harvey C.F. (2003) Arsenic in groundwater in Bangladesh: A geostatistical and epidemiological framework for evaluating health effects and potential remedies. *Water Resources Research* 39: article number 1146.

TITRE : Influence des transformations minéralogiques sur la mobilité de l'arsenic dans les milieux anoxiques - Application au cas des eaux souterraines du delta du Bengale.

RESUME : Un empoisonnement naturel et à grande échelle, touche aujourd'hui les populations consommant les eaux des aquifères du delta du Bengale. Cette thèse a pour objectif de mieux comprendre la mobilité de l'arsenic en décrivant les interactions entre les transformations minéralogiques et les processus microbiens sur le site d'étude de Chakdaha au Bengale Occidental (Inde). Les interactions entre les bactéries ferri-réductrices ou sulfato-réductrices avec une ferrihydrite dopée en As sont étudiées dans des expérimentations en réacteur et en colonne dans des conditions anoxiques. Le couplage des processus biotiques et abiotiques est pris en compte dans différents modèles numériques. Un premier modèle énergétique a été testé sur les expériences en batch et sur des données publiées avec des sédiments du Bengale. Ce modèle donne une explication du découplage observé entre la libération en solution du Fe(II) et de l'As(III). Les expériences en colonne ont permis ensuite de représenter une transition rédox possible avec la réduction d'oxydes de fer et la précipitation de sulfures de fer. Par ailleurs, des observations à Chakdaha ont révélé le rôle possible des carbonates dans les zones de fortes concentrations en As. L'ensemble des acquis expérimentaux et des observations de terrain ont permis de développer un modèle de transfert réactif 1D de l'As dans ces aquifères. Différents scénarios sur la séquence entre les accepteurs d'électrons ont été comparés aux données, en particulier le ratio solide Fe(II)/Fe. Les modèles de transport réactif couplés aux processus microbiens permettront à l'avenir une meilleure prédiction du transfert des polluants dans l'environnement.

MOTS-CLES : Arsenic, Eaux souterraines, Bengale, Bactéries, Transfert réactif, Bioénergétique

TITLE: Influence of mineralogical transformations on the mobility of arsenic in anoxic conditions - Application to the case of groundwater in the Bengal delta.

SYNOPSIS: Natural wide-scale poisoning is today affecting the populations that rely on drinking water from aquifers of the Bengal delta. The aim of this thesis is therefore to obtain a better understanding of arsenic mobility within these aquifers by describing, based on the study site at Chakdaha in West Bengal (India), interactions between the mineralogical transformations and the microbial processes. The interactions between iron-reducing or sulfate-reducing bacteria and As-doped ferrihydrite were studied in batch and column experiments under anoxic conditions. The coupling of biotic and abiotic processes is taken into account in various numerical models. A first energetically-driven model was designed and tested on batch experiments and on published data with Bengali sediment incubations. The model provides an explanation of the observed decoupling between the release of Fe(II) and As(III). The column experiments then enabled the reproduction of a possible redox transition with dissolution of iron oxides and precipitation of iron sulfides. Besides, observations at Chakdaha revealed the bioreduction of arsenic-bearing ferric phases and the possible role of carbonates in zones of high arsenic concentrations. All the experiments and field data then made it possible to develop a 1D reactive transfer model of arsenic in these deltaic aquifers. Different scenarios on the sequence between the various electron acceptors were tested and compared with the field data, in particular the Fe(II)/Fe solid ratios. The reactive transport models coupled with microbial processes will play a significant role in the future for predicting the transfer of pollutants in the environment.

KEYWORDS: Arsenic, Groundwater, Bengal, Bacteria, Reactive transfer, Bioenergetics