



HAL
open science

Caractérisation structurale de la matière organique complexe des sols et des sédiments - Dynamique et réactivité -

Laurent Lemée

► **To cite this version:**

Laurent Lemée. Caractérisation structurale de la matière organique complexe des sols et des sédiments - Dynamique et réactivité -. Autre. Université de Poitiers, 2004. tel-00131020

HAL Id: tel-00131020

<https://theses.hal.science/tel-00131020>

Submitted on 14 Feb 2007

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

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

UNIVERSITE DE POITIERS

Faculté des Sciences

**HABILITATION A DIRIGER DES
RECHERCHES**

Laurent LEMEE

Ingénieur de recherche 2^e classe

Caractérisation structurale de la matière
organique complexe des sols et des sédiments
- Dynamique et réactivité -

Soutenue le 8 octobre 2004

Devant la commission d'examen

Rapporteurs

Robert Galois

Philippe Garrigues

Patrick Magnoux

Chargé de Recherche

Directeur de Recherches

Directeur de Recherche

CREMA L'Houmeau

Université Bordeaux I

Université de Poitiers

Examineurs

Enrique Barriuso

Pierre Krausz

Jean-Pierre Gesson

André Amblès

Directeur de Recherches

Professeur

Professeur

Professeur

INRA-INAPG, Grignon

Université de Limoges

Université de Poitiers

Université de Poitiers

SOMMAIRE

Rapport d'activité.....	3
Curriculum Vitae	
Résumé chronologique des activités de recherche	
Activités de Recherche	
Formation de Chercheurs	
Collaborations	
Enseignement	
Vulgarisation scientifique	
Publications et communications	
Introduction.....	17
Partie I : Etude de la matière organique des sols.....	20
1-Etude des lipides simples	
2-Etude des lipides complexes	
3- biodégradation du carbone organique dans les sols	
Partie II : Etude de la matière organique en zones humides.....	44
1-Etude des lipides	
2-Etude des substances humiques	
3-Utilisation en traitement de dépollution	
Partie III : Etude de la matière organique des sédiments anciens.....	79
1-Etude de la matière organique d'un lignite	
2-Etude des sédiments anciens	
3-Rôle de la matière organique sédimentaire dans le transport de radionucléides	
Conclusions et perspectives.....	106
Références bibliographiques.....	109

RAPPORT D'ACTIVITE

CURRICULUM VITAE

Laurent LEMEE

né le 24 Mai 1967 (37 ans), marié, 2 enfants

Nationalité française

Libéré des obligations militaires (1993)

Diplômes (Université Bordeaux I)

1993 **Thèse d'Université**, spécialité : Chimie organique

"Décomposition induite de composés peroxydiques insaturés - aspects synthétiques et mécanistiques"

Financée par le Ministère de la Recherche et de la Technologie

Effectuée sous la direction de Mme le Professeur E. Montaudon

A l'Institut du Pin, Talence

Soutenue le 2 Novembre 1993

1990 **DEA molécules et matériaux organiques**

"Synthèse de terpènes par pyrolyse éclair de dérivés du pinane"

1989 **Maîtrise de Chimie**

Certificats

2002 Attestation de formation aux gestes de premier secours (AFPS)

Activité Associative

European Association of Organic Geochemists 1998-2000

Société Française de Spectrométrie de Masse depuis 1999

Société Française de Chimie 2002

Participation à des jurys de thèse

Cédric GUIGNARD, 22 janvier 2001

Coralie Deport, 17 décembre 2002

Divers

2000 Ceinture noire 1^o Dan Judo/Jujitsu

1999-2002 Président du Judo Club de Saint benoit

Rappels des activités de recherche antérieures à ma nomination sur un poste d'ingénieur d'études

Mes travaux de recherche ont débuté en 1990, à l'Institut du Pin à Talence, où j'ai étudié la thermolyse éclair de dérivés terpéniques. Grâce à un temps de contact très bref, la thermolyse éclair permet la fragmentation de composés fragiles selon un processus mono moléculaire. Nous avons étudié le comportement de dérivés du pinane, dans les conditions de thermolyse éclair, afin d'augmenter la sélectivité de la fragmentation. Les principaux intermédiaires de l'industrie du parfum (myrcène, dihydromyrcène, myrtanal) ont été obtenus avec des rendements élevés, la thermolyse éclair apparaissant comme un procédé sélectif de fragmentation des cyclobutanes.

Lorsque j'ai abordé mon travail de thèse, deux questions demeuraient quant à la potentialité des peroxydes insaturés à constituer des précurseurs d'hétérocycles bicycliques d'une part, d'hétérocycles insaturés d'autre part. J'ai montré que les époxydes et tétrahydrofuranes spiraniques porteurs d'une chaîne fonctionnelle sur l'hétérocycle peuvent être obtenus avec de très bons rendements par décomposition de peroxydes d'alcénylcycloalkyle convenables dans un solvant bon donneur d'hydrogène. La réaction procède par l'addition d'un radical issu du solvant à l'insaturation du peroxyde, suivie d'une substitution homolytique intramoléculaire au sein du radical adduit. Dans le cas des oxétanes, une réaction compétitive intervient, mise en évidence pour la première fois : il s'agit d'un transfert 1,5 d'hydrogène intramoléculaire conduisant à un oxétane isomère de structure différente. Dans un deuxième temps, j'ai montré que les composés peroxydiques acétyléniques ou alléniques ne sont pas des précurseurs d'hétérocycles à double liaison juxta-ou endocycliques.

Fort de mes compétences en chimie radicalaire, je me suis intéressé aux caroténoïdes présents dans les lipides membranaires de *Deinococcus radiodurans*. En effet, les capacités des caroténoïdes à piéger les radicaux oxygénés et éviter ainsi les réactions d'oxydation induites par ces espèces instables sont connues. Avec l'aide d'une équipe Suisse, j'ai isolé et identifié le pigment majoritaire, probablement responsable de la résistance de la bactérie. Il s'agissait d'un caroténoïde original que nous avons nommé Deinoxanthine.

Activités depuis ma nomination à l'Université de Poitiers

J'ai été recruté en janvier 1996 sur un poste d'ingénieur d'études à l'Université de Poitiers. Ce poste est affecté au laboratoire de "Synthèse et Réactivité des Substances Naturelles" UMR 6514. J'ai intégré dès mon arrivée l'équipe de Géochimie Organique et j'ai accepté de travailler comme chercheur dans un domaine nouveau pour moi.

Le thème de recherche dans lequel je me suis investi concerne l'étude de la matière organique complexe des sols et des sédiments.

Dès mon arrivée au laboratoire, en 1996, je me suis intéressé à la caractérisation de la matière organique d'une série sédimentaire de Tournemire dans l'Aveyron. Je me suis plus particulièrement attaché à déterminer la potentialité de cette matière organique à complexer les radionucléides dans le cadre du stockage de déchets radioactifs. Cette étude, financée par l'IPSN (CEA) a fait l'objet d'un rapport de fin de contrat que j'ai élaboré. Le travail était réalisé par un DEPSUP que j'ai co-encadré.

Parallèlement à ce travail, j'ai entrepris une étude concernant les mécanismes d'incorporation des lipides dans les fractions complexes des sols (lipides macromoléculaires, substances humiques). Une partie de ce travail a concerné le DEA de Joan Garcia que j'ai dirigé. Toujours sur le thème de la biodégradation du carbone dans les sols, j'ai travaillé avec Valérie Gobé, étudiante en deuxième année de thèse. Nous avons modélisé l'évolution d'effluents agro-alimentaires sur des sols cultivés, après ajout de tristéarine.

A partir de 1997, j'ai abordé l'étude structurale des formes complexes de la matière organique dans les tourbes. Dans ce cadre, j'ai étudié la structure des lipides macromoléculaires d'un sol acide (Plateau de Millevaches). J'ai aussi dirigé les travaux de DEA de Cédric Guignard puis co-dirigé de septembre 1997 à janvier 2001, avec André Amblès ses travaux de thèse intitulée « Etude structurale de la matière organique de tourbes. Utilisation en traitement de dépollution ». Cette étude pluridisciplinaire associant le laboratoire Hydr'ASA (UMR 6532) et le laboratoire Chimie de l'eau et de l'environnement (UMR 6008) sur une durée de 3 ans, a fait l'objet d'une convention avec le Comité National de la Charte Professionnelle des Producteurs de Granulats, en partenariat avec ses comités régionaux (régions Bretagne, Basse Normandie, Pays de la Loire et Poitou-Charentes), la Communauté Européenne et le Conseil Régional de Bretagne. Ce travail a fait l'objet de rapports annuels d'avancement. En 1999, j'ai dirigé le DEA de Coralie Deport, puis de septembre 1999 à décembre 2002 co-dirigé sa thèse sur le thème « Etude structurale des

substances humiques en zones humides- Marais Poitevin, marais de Rochefort et marais de Gironde ».

Les travaux de DEA que j'ai encadrés sur d'autres thèmes sont ceux de Valérie Bruan, en 1998 qui s'est intéressée à l'étude d'une série sédimentaire de Tarfaya au Maroc et ceux d'Hamid Haddaoui, en 2000 qui a étudié la matière organique simple et complexe d'un lignite (Bergheim).

En ce qui concerne les collaborations, je me suis intéressé dès 1997, avec le Dr Henri Diné du Centre de Recherche de l'Est sur les Céréales et Oléagineux (CRECO, Ottawa) à la valorisation du carbone déchet : nous avons étudié l'influence de divers amendements sur les propriétés des sols puis l'évolution de la matière organique au cours du compostage. Les modifications structurales de la matière organique d'origine végétale au cours du compostage ont aussi fait l'objet d'une étude que j'ai menée en commun avec l'Université de Marrakech en 2002.

J'ai poursuivi mon travail de caractérisation de la matière organique des sédiments anciens en collaboration avec les Universités marocaines de Kénitra et de Marrakech. Dans un premier temps, j'ai utilisé différentes méthodes de dégradation chimiques sélectives pour caractériser le schiste de Timahdit avant d'étudier l'influence de divers paramètres sur l'extraction des huiles de ce sédiment ainsi que du phosphate de Youssoufia.

Les autres thèmes que j'ai abordés dans le cadre de collaborations avec des organismes étrangers étaient la caractérisation structurale de la matière organique complexe de sédiments marins, en 2001 avec l'Université Bordeaux I et de Santa Carina (Brésil) et l'étude de sols sub-tropicaux avec l'INERA (Burkina-Faso) en 2002. Le but est d'établir la relation entre la structure moléculaire et les caractéristiques physico- chimiques des sols de ces régions. Une nouvelle collaboration concernant la caractérisation et l'étude du fonctionnement de sols typiquement marocains vient d'être mise en place.

ACTIVITES DE RECHERCHE

1990 : **DEA**

Institut du Pin, Talence

Synthèse de terpènes par thermolyse éclair de dérivés du pinane

1991-1992 : **Allocataire MRT (Thèse)**

Laboratoire de Chimie Appliquée, Talence

Décomposition induite de composés peroxydiques insaturés – Aspects synthétiques et mécanistiques.

1993 : **Scientifique du contingent**

Laboratoire de Chimie Organique Physique - URA 1494, Pau

Synthèse et étude physico-chimique (IRFT, RMN ^{13}C CPMAS) de polymères thermostables.

1994 - 1995 : **Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche**

Laboratoire de Biochimie Médicale — Bordeaux

Etude des caroténoïdes présents dans les lipides membranaires de *Deinococcus radiodurans*

Séjour de 2 mois en Suisse : Department of Chemistry and Biochemistry, Université de Berne

Depuis 96 : **Ingénieur d'études**

UMR 6514 CNRS — Synthèse et réactivité des substances naturelles, Poitiers

Nature, dynamique et réactivité des macromolécules persistantes des sols et des sédiments :

- Etude structurale de la matière organique simple et complexe des sols et des sédiments (lipides, substances humiques et kérogènes)
- Modélisation des voies biochimiques d'incorporation : biodégradation du carbone déchet
- Utilisation de tourbes en traitement de dépollution : influence sur la fraction humique
- Evolution de la MO au cours du compostage

FORMATION DE CHERCHEURS

Co-encadrement de thèses

Cédric Guignard, (soutenue le 22 Janvier 2001) *Etude structurale de la matière organique de tourbes. Utilisation en traitement de dépollution.*

Coralie Deport, (soutenue le 17 décembre 2002) *Etude structurale des substances humiques en zones humides- Marais Poitevin, marais de Rochefort et marais de Gironde.*

Marie-Pierre Som, (en cours), *Etude moléculaire de composés organiques de composts.*

Encadrement de DEA

Joanne Garcia, (1996), *Rôle des hydroxyacides dans le processus d'humification. Caractérisation d'un sol acide atypique.*

Cédric Guignard, (1997), *Réduction biologique et complexation par les terres humides. Application au traitement des eaux acides.*

Valérie Bruan, (1998), *Etude géochimique d'une série sédimentaire de Tarfaya, Maroc.*

Coralie Deport, (1999), *Application de dégradations chimiques sélectives à l'étude structurale des substances humiques d'une tourbe calcique.*

Hamid Haddaoui, (2000), *Nouvelles voies de valorisation des charbons.*

Marie-Pierre Som, (2003), *Dynamique du carbone organique dans les sols.*

Encadrement de Maîtrise Sciences physiques

Aurore Piquet, (2003), *Caractérisation structurale de matière organique dissoute estuarienne*

Encadrement de DEPSUP *

Lydia Lavergne (1996), *Etude d'une série sédimentaire du Toarcien*

Cécile Plat, (1997), *Dynamique du carbone organique dans les sols. Etude des processus d'évolution de lipides oxygénés.*

Anita Auger, (1998), *Rôle des hydroxyalcools et des hydroxyacides dans l'insolubilisation des lipides des sols.*

Didier Dubreuil, (2000), *Etude de la matière organique de tourbes - Utilisation en traitement de dépollution.*

Yannick Menneteau (2001), *Utilisation en traitement de dépollution. Influence sur la composition de la fraction humique.*

* Diplôme d'Etudes Pratiques Supérieures de l'Université de Poitiers (formation d'une année)

COLLABORATIONS

Henri Dinel, 1997-2002- CRECO, Canada

Influence de divers amendements sur les propriétés de la matière organique des sols

Evolution des stérols au cours du compostage

Abderahim Kribii, 1997 – Université de Kénitra, Maroc – Préparation du doctorat d'Etat

Etude structurale du schiste de Timhadit par dégradations chimiques sélectives

K. El Harfi, 1998 - Université de Marrakech, Maroc - Préparation du doctorat d'Etat

Caractérisation des huiles extraites en phase super critique, du schiste de Timhadit

Y. Caubet, 1999 – Laboratoire de génétique et biologie des populations de crustacés, Poitiers

Caractérisation chimique de cuticules d'isopodes terrestres

Latifa Bilali, 2000, 2001 Université de Marrakech, Maroc – Préparation du doctorat d'Etat

Etude des huiles extraites par micro-ondes du phosphate de Youssoufia

Marcelo Giovanela, 2001 Université de Santa Carina, Brésil

Analyse de substances humiques de sédiments marins par Py-GC/MS

François Palot, 2002 – INERA, Burkina Faso

Caractérisation structurale de la matière organique de sols sub-tropicaux

Soumia Amir, 2002 - Université de Marrakech, Maroc

Evolution de la matière organique au cours du compostage

M. Khaddor, Université de Tanger (Maroc) : accord officiel CNRS-CNR Maroc 2003-2006

C. Béchemin, R. Gallois, (2003) – CREMA, l'Houmeau (17)

Impacts anthropiques en zone côtière

ENSEIGNEMENT

1990/1991 : **Université Bordeaux I**

DEUST adhésifs et assemblage, Vacataire, 120 heures

Travaux pratiques : synthèse et caractérisation d'un adhésif

1993/1994 : **Université Bordeaux I**

2^e année de DEUG A, vacataire, 25 heures

Travaux pratiques de chimie organique

1994/1995 et 1995/1996 : **Université Bordeaux II**

1^{ère} année de PCEM (650 étudiants), ATER, 190 heures

Cours de chimie générale et organique, travaux dirigés correspondants.

1996/1997 à 1999/2000 : **IUT de Poitiers**

Formation continue "Chimie, analyse et qualité", vacataire, 30 heures

Cours de spectrométrie de masse et spectroscopies IR, UV/Vis, fluorescence
travaux dirigés correspondants.

1998/1999 et 1999/2000 : **Université de Poitiers**

MST "Géotechnologie Environnementale", vacataire 50 heures

Enseignement pratique des méthodes de caractérisation chimiques des sols

2000/2001 : **Université de Poitiers**

Formation continue du personnel de l'Université, vacataire 7 heures

Cours et travaux pratiques de chromatographie en phase liquide et gazeuse

2001/2002 et 2002/2003 : **Université de Poitiers**

Formation continue du personnel de l'Université (ACMO), vacataire 3 heures

Cours sur les risques chimiques

2003/2004 : **IUT de Poitiers**

1^{ère} année, vacataire 44 heures

Travaux pratiques de chimie organique

VULGARISATION SCIENTIFIQUE

1999 : Fête de la science ; Organisation des journées portes ouvertes au laboratoire posters, visite du laboratoire, commentaire sur les préoccupations de l'équipe géochimie, les moyens utilisés et sur les applications.

20-22 Octobre 2000 : Participation au village des sciences à Poitiers (posters, animations) dans le cadre de la semaine de la science

26 octobre 2000 : Intervention dans un Collège « la chimie au quotidien »

novembre 2000 : Dans le cadre de l'exposition sur l'aspirine à l'Espace Mendès France :

- élaboration d'un poster sur les activités de recherche de l'UMR
- formation des animateurs

9 novembre 2000 : Conférence : « Chimie, Mythes et réalités »

Espace Mendès France (Centre de culture scientifique et technique, Poitiers) dans le cadre d'un cycle de 3 ans sur la chimie (conférences, débats, exposition)

15 février 2001 : Conférence : « la chimie, quoi de plus naturel ? »

Dîner –débat organisé par le CAES du CNRS

29 janvier 2002 : Conférence : « la chimie c'est la vie »

Université Inter-ages, Saint Nazaire

18 mars 2002 : Conférence : « la chimie dans notre quotidien »

IUT de Poitiers

Avril 2002 : Réalisation d'une vidéo « Le marais : une interface terre-mer contre la pollution»

Visible sur une borne interactive installée à l'Aquarium de la Rochelle

Octobre 2002 : Participation à la conception d'une vidéo sur le Laboratoire : rédaction du commentaire concernant les activités de l'équipe de Géochimie Organique du Laboratoire

Février 2003 : Tournage d'une séquence pour un film réalisé par l'ECOLE de la mer de la Rochelle «Comprendre la mer avec les chercheurs de la Région Poitou-Charentes»

PUBLICATIONS

1- Synthèse d'hétérocycles spiraniques par décomposition induite de peroxydes insaturés

E. MONTAUDON, R. KAPPES, L. LEMEE, M. CAMPAGNOLE ET M.J. BOURGEOIS

Bull. Soc. Ch. Fr. (1994) 131, 253-261

2-Synthèse de divers types d'hétérocycles fonctionnels par décomposition de peroxydes insaturés : réactions compétitives

E. MONTAUDON, L. LEMEE ET M.J. BOURGEOIS

Can. J. Chem. (1995) 73, 161-168

3-Flash vacuum thermolysis of terpenic compounds in the pinane series

L. LEMEE, M. RATIER, J.G. DUBOUDIN, B. DELMOND

Synthetic Comm (1995) 25, 1313-1319

4-Décomposition induite de peroxydes acétyléniques

L. LEMEE, M.J. BOURGEOIS, E. MONTAUDON

Bull. Soc. Chim. Belg. (1996), 105, 467-472

5-A new carotenoid from D. Radiodurans

L. LEMEE, E. PEUCHANT, M. CLERC, M. BRUNNER, H. PFANDER

Tetrahedron (1997), 53 n°3, 919-926

6- Equilibrium between free and bound lipids in a rendzina soil in natural conditions and with laboratory disturbances

A. AMBLES, L. LEMEE, P. JAMBU, P. MAYOUNGOU-VEMBET

Agrochimica (1997), 41, n°5, 196-208

7-Experimental leaching of podzol soil lipids. Nature and biological origin of water soluble components

A. AMBLES, A. COLINA-TEJADA, P. JAMBU, L. LEMEE, E. PARLANTI

Agrochimica (1998), 42, n° 3-4, 158-171

8-Effects of direct land application of calcitic lime and lime- and cement kiln dust-sanitized biosolids on the chemical and spectroscopic characteristics of soil organic matter

H. DINEL, M. SCHNITZER, T. PARE, L. LEMÉE, A. AMBLÈS, E. TOPP & N. PETZER

Soil Science, (1999) 164, n°5, 322-330

9-Supercritical fluid extraction of Moroccan (Timhadit) Oil Shale

K. EL HARFI, C. BENNOUNA, A. MOKHLISSE, M. BEN CHANAA, L. LEMEE, J. JOFFRE & A. AMBLÈS

Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, (1999), 50, 163-174

10-Structure elucidation of soil macromolecular lipids by preparative pyrolysis and thermochemolysis

V. GOBÉ, L. LEMÉE, A. AMBLÈS

Organic Geochemistry, (2000), 31, 409-419

11-Structural characterization of humic substances from an acidic peat using thermochemolysis techniques

C. GUIGNARD, L. LEMEE, A. AMBLES

Agronomie (2000) 20, 465-475

12-Structural study of the Moroccan Timahdit (Y-layer) oil shale kerogen using chemical degradations

A. KRIBII, L. LEMEE, A. CHAOUCH, A. AMBLES

Fuel (2001), 80, 681-691

13-Changes in lipids and sterols during composting

H. DINEL, M. SCHNITZER, T. PARE, L. LEMEE, A. AMBLES, S. LAFOND

J. Environ. Sci. Health (2001), B36(5), 651-665

14-Extractable Soil Lipids and Microbial Activity as Affected by Bt and Non Bt Maize Grown on a Silty Clay Loam Soil

H. DINEL, M. SCHNITZER, M. SAHARINEN, F. MELOCHE, T. PARE, S. DUMONTET, L. LEMEE AND A. AMBLES

J. Environ. Sci. Health (2003), B38(2), 211-219

15- Lipid constituents of peat humic acids and humin. Distinction from directly-solvent extractable bitumen components using TMAH and TEAAc thermochemolysis

C. GUIGNARD, L. LEMEE, A. AMBLES

Organic Geochemistry (2005), 36 (2), 287-297

COMMUNICATIONS

1-Synthèse d'oxétanes, exploitation et mise en évidence de nouveaux processus compétitifs

L. LEMEE, M.J. BOURGEOIS, E. MONTAUDON
Journée Société Française de Chimie, Bordeaux, 1993

2-Fonctionnalisation de peroxydes acétyléniques (affiche)

L. LEMEE, M.J. BOURGEOIS, E. MONTAUDON
Journée Société Française de Chimie, Bordeaux, 1993

3-Biotransformation des lipides dans les sols

A. AMBLES, E. PARLANTI, C. HITTA, V. GOBE, L. LEMEE
Journée Société Française de Chimie, Poitiers, 1996

4-Soil macromolecular lipids - Role in humification

V. GOBE, L. LEMEE, A. AMBLES
Congrès du groupe français de l'IHSS, Dijon, 1997

5-Complex organic matter present in soil. Structure and origin.

L. GRASSET, V. GOBE, L. LEMEE, A. AMBLES
Goldschmidt Conference, Toulouse, 1998

6-Characterization and differentiation of the organic matter from wetland

C. GUIGNARD, L. LEMEE, A. AMBLES
Congrès du groupe français de l'IHSS, Versailles, 1999

7- Characterization and differentiation of humic acids and humin from two peat samples."

C. GUIGNARD, L. LEMEE, A. AMBLES
10th International Meeting on the International Substances Society, Toulouse, 24-28.07.00

8-Biodegradation du carbone organique-déchet dans les sols

L. LEMEE, V. GOBE, C. HITTA, A. AMBLES, V. GOBE
Groupement français de combustion, Orléans, 2000

9-Structural study of the organic matter present in a calcitic peat. Evidence from spectroscopic, pyrolytic and chemical degradation methods (affiche)

C. DEPORT, L. LEMEE, C. GUIGNARD, A. AMBLES
20th International Meeting on Organic Geochemistry, Nancy, 2001

10-Application du couplage pyrolyse-GC-MS à la modélisation des voies biochimiques d'incorporation du carbone dans les sols

L. LEMEE, A. AMBLES
18 emes Journées Françaises de Spectrométrie de Masse, La Rochelle, 2001

11-Nouvelles réactions de dégradation appliquées à la caractérisation structurale des substances humiques

C. DEPORT, L. LEMEE, A. AMBLES
Colloque de l'IHSS, Limoges 2001

12-Analyse des substances humiques isolées de différents types de sédiments par Pyrolyse-GC-MS (affiche)

M. GIOVANELA, L. LEMEE, J. JOFFRE, A. AMBLES, M.M.D. SIERRA AND E. PARLANTI

Colloque de l'IHSS, Limoges 2001

13-Utilisation de tourbes en traitement de dépollution dans les procédés dits de « terres humides ». Impact sur la composition de la fraction humique

L. LEMEE, C. GUIGNARD, Y. MENNETEAU, A. AMBLES

Colloque de l'IHSS, Limoges 2001

14-Characterisation par GC-MS de la matière organique d'une série sédimentaire, complexant potentiel de radionucléides

L. LEMÉE, L. DE WINDT, A. AMBLÈS

19^{èmes} Journées Françaises de Spectrométrie de Masse, Chaville, 2002

15-Characterization of humic acids and humin using transalkylation and mild oxidation reactions.

C. DEPORT, L. LEMÉE, A. AMBLÈS

11th International Meeting of the International Humic Substances Society, Boston 2002

16- Etude structurale de la fraction humique d'un lignite (affiche)

L. LEMEE, A. AMBLES

Colloque de l'IHSS 2003, Clermont-Ferrand

17- Py/GC/MS des acides humiques et fulviques lors du compostage de boues de stations d'épuration.

S. AMIR, M. HAFIDI, L. LEMEE, G. MERLINA, J.C. REVEL, A. AMBLES

Colloque de l'IHSS 2003, Clermont-Ferrand

INTRODUCTION

La matière organique des sols joue un rôle essentiel dans l'environnement. Elle constitue le substrat indispensable au développement de la vie biologique, car elle est une source majeure de carbone et d'énergie pour les micro-organismes. Elle conditionne les propriétés chimiques (stocks de carbone, d'azote et de phosphore) et physiques (perméabilité, stabilité structurale, capacité de rétention et de circulation en eau) du sol (Fustec-Mathon *et al.*, 1975 ; Jambu *et al.*, 1983 ; Dutartre *et al.*, 1993). Elle intervient dans la composition atmosphérique par le biais de la minéralisation et protège les ressources en eau par sa capacité à retenir les polluants organiques (phytosanitaires) ou minéraux (métaux lourds).

La matière organique des sols est constituée de molécules provenant essentiellement des plantes, des animaux et des microorganismes du sol (bactéries, champignons, ...). Dans certaines conditions de dépôt, cette matière organique peut échapper au cycle du carbone et s'accumuler pour former un sédiment. Au cours de la diagenèse, ces molécules sont biodégradées puis altérées sous l'influence de la température et de la pression. La géochimie organique s'intéresse à cette matière organique depuis son origine, son rôle dans les sols, les eaux jusqu'à sa sédimentation ; des premières phases (zones humides, tourbes) jusqu'à sa transformation en combustibles fossiles (charbon, pétrole, gaz).

Le travail de recherche présenté ici concerne la compréhension des processus de préservation et de dégradation de la matière organique d'origine biologique dans les sols, les tourbes voire dans les sédiments anciens. La connaissance de ces processus a pour but, dans un cadre plus large, d'appréhender les mécanismes de stabilisation du carbone qui mènent à la formation du sédiment et l'immobilisation possible de composés xénobiotiques. Il s'agit aussi d'établir la relation entre la matière organique fraîchement déposée et celle présente dans les roches sédimentaires. S'agit-il de la même matière organique à différents stades d'évolution ou provient-elle de sources différentes ?

La compréhension de la réactivité et de la dynamique de la matière organique des sols et des sédiments passe nécessairement par l'étude fine de sa structure moléculaire. La mise en œuvre de méthodes d'investigation chimiques et physico-chimiques a constitué une part essentielle de ce travail qui s'est déroulé selon 2 axes : d'une part l'analyse structurale de la matière organique simple et complexe et d'autre part, la modélisation des processus de biotransformation du carbone organique. L'investigation structurale a concerné les lipides

(fraction soluble) des sols et des sédiments, les acides fulviques, les acides humiques et l'humine de zones humides ou de tourbes et le kérogène des roches sédimentaires.

La structure de la matière organique complexe (lipides macromoléculaires, substances humiques et kérogène) a été appréhendée en 3 temps :

- une approche globale par analyse élémentaire et spectroscopies infra-rouge à transformée de Fourier et résonance magnétique nucléaire (^1H , ^{13}C du solide à l'angle magique)
- une analyse par pyrolyse en présence ou non d'agents alkylants (thermochimiolyse) couplée à la chromatographie en phase gazeuse et à la spectrométrie de masse
- une analyse plus fine conduite par voie chimique (application de réactions d'hydrolyse, oxydation, ...) ou de réactions enzymatiques.

La présentation de ce mémoire se déroule en 3 parties relatives aux types d'échantillons étudiés : les sols, les zones humides et les sédiments.

Dans chacune de ces 3 parties, seront abordées la caractérisation des différentes formes de matière organique présentes dans les échantillons ainsi que l'évolution de cette matière organique ou son interaction avec d'éventuels composés xénobiotiques.

Cette synthèse de résultats regroupe les travaux d'étudiants que j'ai co-dirigés dans le cadre de stages (DEPSUP), DEA ou thèses non pas de manière chronologique mais en fonction des thèmes abordés.

Une fiche récapitulera en tête de chaque partie le contexte de l'étude, les contrats industriels, le nom des étudiants impliqués, le diplôme et l'année.

PARTIE I

ETUDE DE LA MATIERE ORGANIQUE DES SOLS

DEMARCHE :

Etude des lipides simples
Etude des lipides complexes
Biodégradation du carbone dans les sols
Modélisation en laboratoire
Etude au champ

ETUDIANTS :

V. GOBE	Thèse	95-98	Bourse région Poitou-Charentes
J. GARCIA	DEA	96	
C. PLAT	DEPSUP	97	
A. AUGER	DEPSUP	98	

Partenaires Industriels et Universitaires :

Agence de l'Eau Loire-Bretagne
Région Poitou-Charentes
Entreprise Marie Surgelés - France
Eastern Cereals and Oilseed Research Centre (CRECO), Agriculture and Agri-Food
Canada

Valorisation :

3 publications
5 communications

Les lipides, par définition insolubles dans l'eau et solubles en milieu organique, jouent un rôle déterminant sur les propriétés physico-chimiques et biologiques des sols. Particulièrement abondants en milieu acide, ils peuvent représenter jusqu'à 30% du carbone organique. Ils ont une origine principalement végétale et bactérienne et peuvent également résulter de la biotransformation de résidus végétaux par les micro-organismes.

Les lipides simples, directement analysables, sont constitués de très nombreux composés, en particulier d'hydrocarbures (linéaires, ramifiés, cycliques ou aromatiques), d'esters (cérides et stérides), de cétones (méthylcétones et cétones stéroïdiques), d'alcools (aliphatiques et triterpéniques), de stérols, d'acides aliphatiques monocarboxyliques, dicarboxyliques, de cétoacides, d'hydroxyacides, voire de divers acides aromatiques.

Un deuxième pool lipidique existe – les lipides complexes, il s'agit de molécules relativement peu solubles et de poids moléculaire plus élevé que les lipides simples et devant être dégradées (chimiquement ou thermiquement) à fin d'analyse ; l'analyse concernant les monomères ainsi libérés. Cette fraction complexe peut représenter jusqu'à 60 % de l'extrait lipidique total. Les travaux précédemment conduits au laboratoire ont montré que ces lipides sont assimilables à un proto-kérogène et qu'ils jouent un rôle essentiel dans le fonctionnement des sols. Par dégradation chimique, il a été observé que des lipides simples et des molécules exogènes (ou issues de leur biotransformation) pouvaient s'incorporer à cette matrice avec un probable relargage ultérieur (Mayoungou-Vembet, 1989 ; Okomé-Mintsa, 1991 ; Amblès *et al.*, 1989, 1994). Un processus analogue doit également affecter les acides humiques et l'humine (Richnow *et al.*, 1994). Il est donc nécessaire de prendre en compte ces fractions complexes pour comprendre les mécanismes de biodégradation du carbone organique et établir son bilan.

1. Etude des lipides simples

Le sol SOR a été prélevé en janvier 1993 près de Saint-Sornin en Vendée (figure I-2), dans l'horizon A (0-3 cm) d'un luvisol-redoxisol (sol lessivé glossique). Il s'agit d'un sol acide (pH 4,1) recouvert d'une forêt de châtaigniers. Il contient 14,3% de matière organique, avec un rapport C/N=18,9. Il présente des taux d'argile de 13,5%, de carbonate de calcium de 7% et de carbone organique total de 7%.

Les études préliminaires menées au laboratoire (Hita, 1996) ont montré que le sol SOR est un sol relativement "atypique". Outre un taux élevé de lipides (6311 ppm), on note la présence de stéroïdes détectés uniquement en milieu marin et considérés comme marqueurs de ces milieux, tels que le 24-propylcholestérol.

Les masses des principales familles de lipides, obtenues selon le protocole résumé sur la figure I-1, sont reportées dans le tableau I-1.

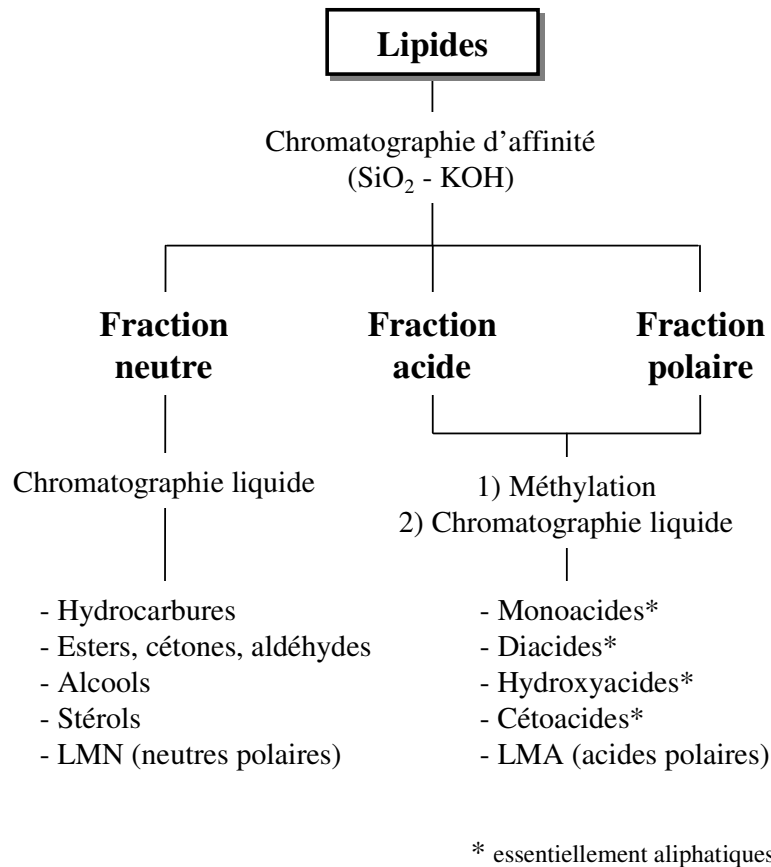


Figure I-1 : Protocole de séparation des lipides.

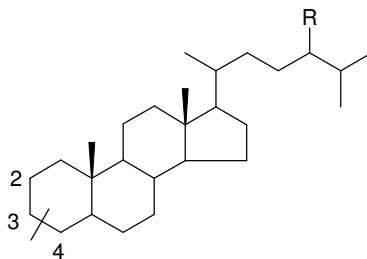
(LMN : lipides macromoléculaires neutres ; LMA : lipides macromoléculaires acides)

Tableau I-1 : Masse des principales familles de lipides en mg/kg (ppm) de terre sèche (TS).

	Quantité
hydrocarbures	71
aldéhydes, cétones, esters	212
alcools	157
LMN	610
monoacides	502
di-, hydroxy-, cétoacides	1198
LMA	2534

Les lipides simples du sol SOR ont une origine majoritairement végétale. Les α -hydroxyacides, les 4-cétoacides et les cétones témoignent cependant de phénomènes d'oxydation microbienne. La présence dans ce sol, de 2-méthylaldéhydes est un résultat original par rapport aux autres sols étudiés jusqu'à présent. Une cétone triterpénique, la stigmastadiènone, manifestement issue d'une réaction équivalent à une oxydation allylique du 24-éthylcholestérol (stérol majeur des sols), a également été identifiée. Sa structure a été vérifiée, après synthèse (figure I-2) par spectrométrie de masse et RMN ^1H et ^{13}C .

Des méthylstéranes sont également observés dans le sol SOR bien que ces composés aient rarement été isolés dans les sols récents. En effet, ces composés sont en général des marqueurs des sédiments anciens (Reiss, 1994).



R = H, Me, Et ; méthyle en 2, 3 ou 4

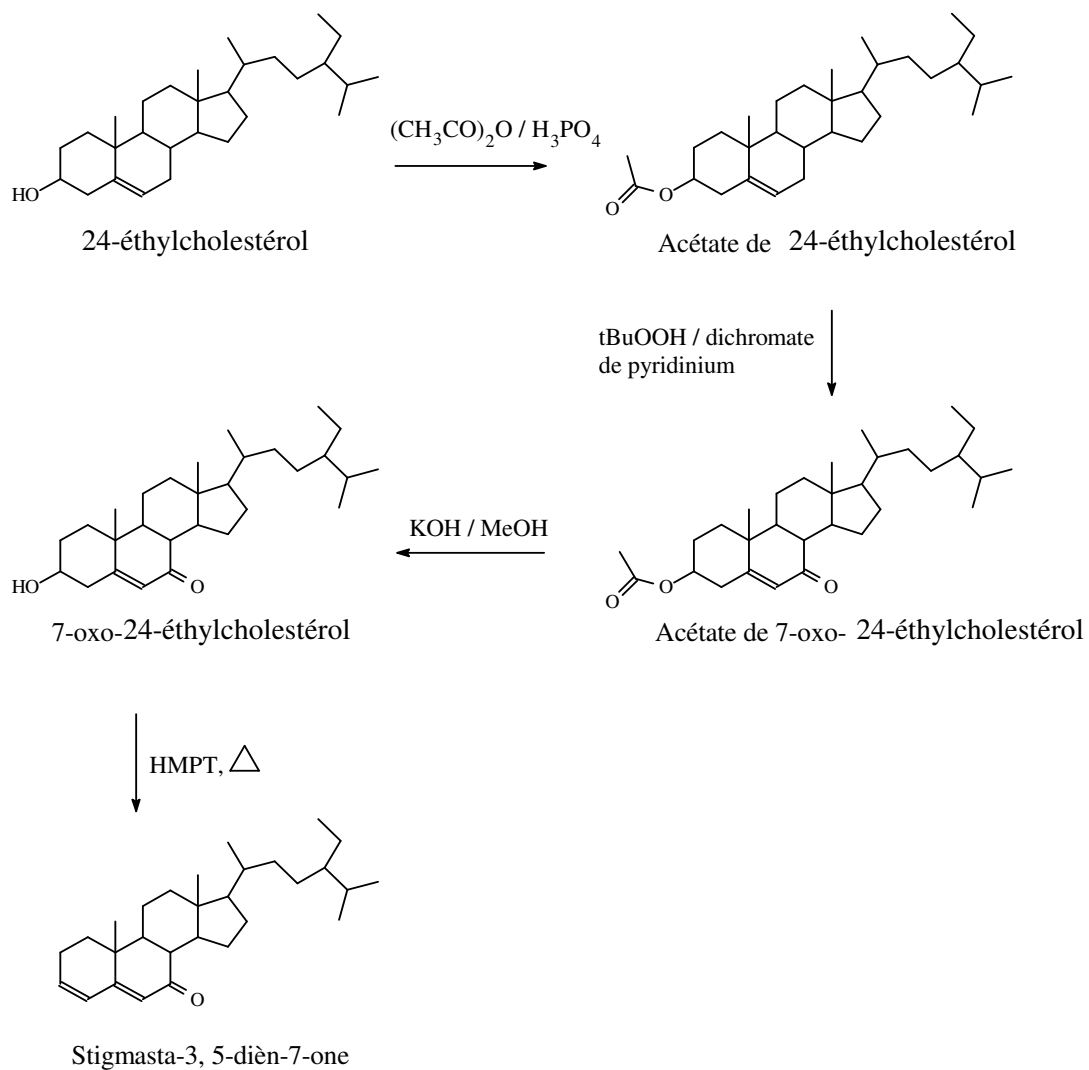


Figure I-2 : Schéma de synthèse de la stigmastadiène.

On note aussi la présence de hopanes diagénétiques de configuration $17\alpha(\text{H}),21\beta(\text{H})$ et $17\beta(\text{H}),21\alpha(\text{H})$, habituellement observés dans les sédiments anciens matures. Les hopanoïdes proviennent principalement du bactériohopane tétrol qui joue le rôle de renforteur membranaire dans les organismes procaryotes (Ourisson et Rohmer, 1992). Dans les sols, la chaîne latérale polyfonctionnalisée subit des modifications plus ou moins importantes pour donner, entre autres composés, des acides et des hydrocarbures (figure I-3).

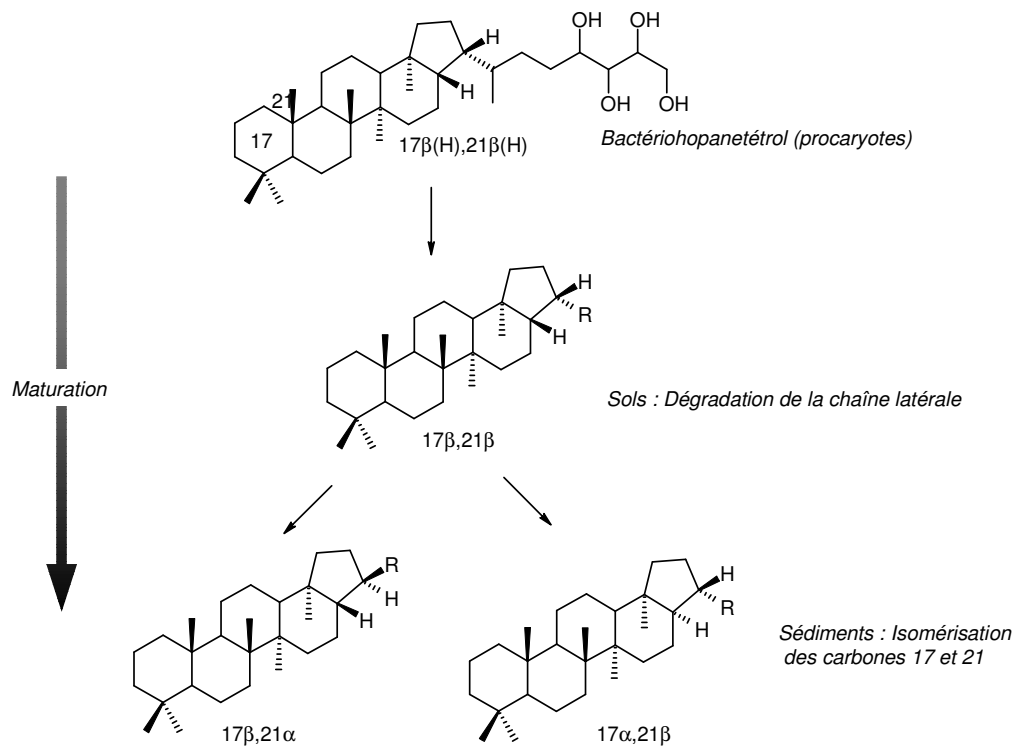


Figure I-3 : Transformation des hopanes dans les sédiments.

La configuration naturelle des hopanoïdes bactériens est $17\beta(H),21\beta(H),22R$. Dans les sédiments, leur maturation au cours de la diagenèse conduit à la formation des isomères thermodynamiquement plus stables $17\alpha(H),21\beta(H)$ et $17\beta(H),21\alpha(H)$ (Van Dorsselaer *et al.*, 1977 ; Ourisson *et al.*, 1979). Ces isomères sont donc caractéristiques de sédiments anciens ayant atteint un degré de maturité élevé. La configuration du carbone 22 peut également être modifiée, ce qui se traduit par des mélanges d'épimères 22R et 22S (Ries-Kautt et Albrecht, 1989) pour les composés de plus de 29 atomes de carbone. Si ces triterpanes indiquaient une pollution du sol considéré par des produits pétroliers, ils seraient alors accompagnés de composés tels le pristane ou le phytane ; ce n'est pas le cas ici. La présence d'isomères $17\alpha(H),21\beta(H)$ a déjà été observée dans des sols non pollués et dans des tourbes acides (Ries-Kautt et Albrecht, 1989 ; Schwoerer, 1998). Plusieurs hypothèses peuvent être envisagées pour expliquer leur présence. L'isomérisation des biohopanes bactériens peut ne pas être spécifique aux sédiments anciens mais intervenir rapidement (prédiagenèse) si les conditions sont favorables, par des processus abiotiques d'isomérisation éventuellement catalysés par la matière minérale. Il est également possible que les isomères de configuration $17\alpha(H),21\beta(H)$ soient naturels, issus de certaines souches bactériennes spécifiques.

2. Etude des lipides complexes

L'échantillon étudié provient du Plateau de Millevaches. Il s'agit d'un sol acide (pH 4,7), très riche en matière organique (56 %), intermédiaire entre un sol et une tourbe. Les lipides (5 % de la matière organique totale) ont été séparés en une fraction neutre qui représente 19% des lipides totaux et une fraction acide et polaire correspondant à 74 % des lipides totaux. Ces deux fractions, chromatographiées sur gel de silice conduisent à 2153 ppm de lipides macromoléculaires (12 % des lipides totaux). Leur structure a été étudiée par pyrolyse et thermochemiolyse préparatives.

La Pyrolyse

La pyrolyse est une technique très utilisée pour l'analyse de la matière organique des sols (Hempfling et Schulten, 1990 ; Schnitzer et Schulten, 1992 ; Saiz-Jimenez, 1992 ; Preston *et al.*, 1994 ; Hatcher et Clifford, 1994) et des sédiments (Larter et Horsfield, 1993 ; Boussafir *et al.*, 1995).

L'utilisation d'un agent alkylant, le processus est alors appelé thermochemiolyse (De Leeuw et Baas, 1993), améliore le taux de conversion en minimisant les réactions secondaires telles les décarboxylations d'acides aromatiques (Challinor, 1989 ; Mulder *et al.*, 1992). La thermochemiolyse permet de plus de dégrader les parties aliphatiques très résistantes de la matrice en favorisant la transalkylation de polyesters, résistant dans les conditions classiques de pyrolyse. Le mécanisme mis en jeu au cours de la thermochemiolyse en présence d'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) est proposé sur la figure I-4.

Cette réaction d'hydrolyse et de méthylation est souvent appelée thermally assisted hydrolysis and methylation (THM) (Challinor, 2001).

Le système de pyrolyse préparative utilisé au laboratoire (Grasset & Amblès, 1998 a) permet de traiter des quantités importantes (1 à 2 g). Le dispositif expérimental est présenté sur la figure I-5. La température du four est fixée à 400°C pendant 1 heure. Le pyrolysate est ainsi obtenu en quantité suffisante pour subir des opérations de séparation. La détermination est longue, mais plus précise pour une analyse structurale détaillée des familles de composés obtenus.

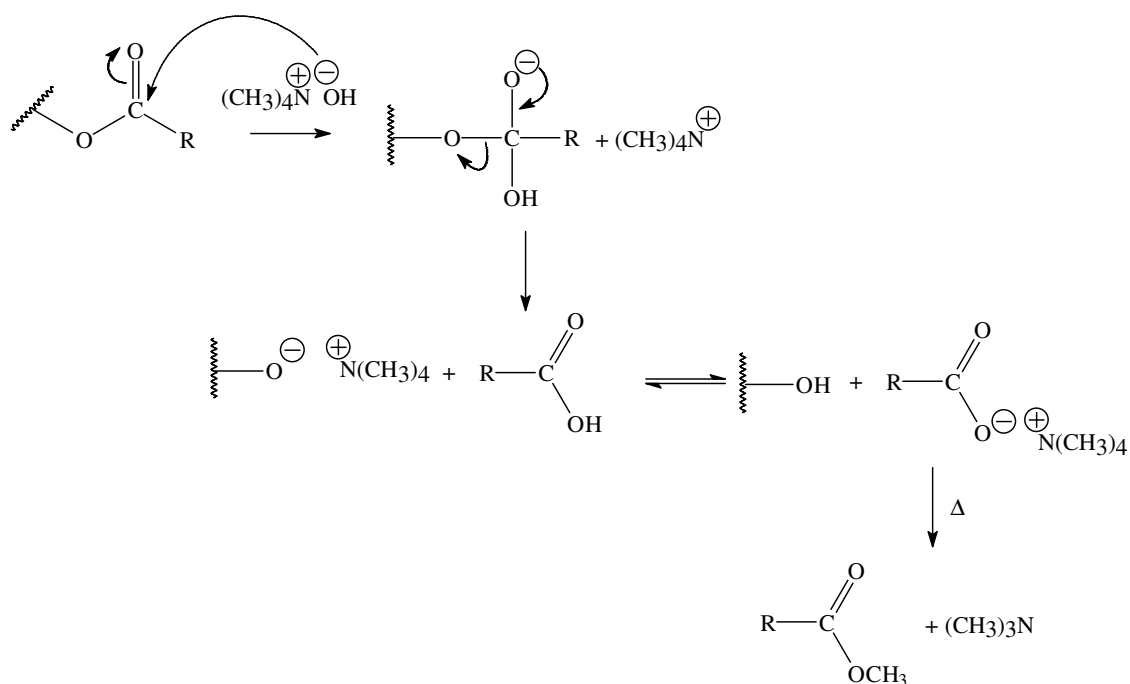


Figure I-4 : Mécanisme d'obtention des esters par thermochimioolyse en présence de TMAH.

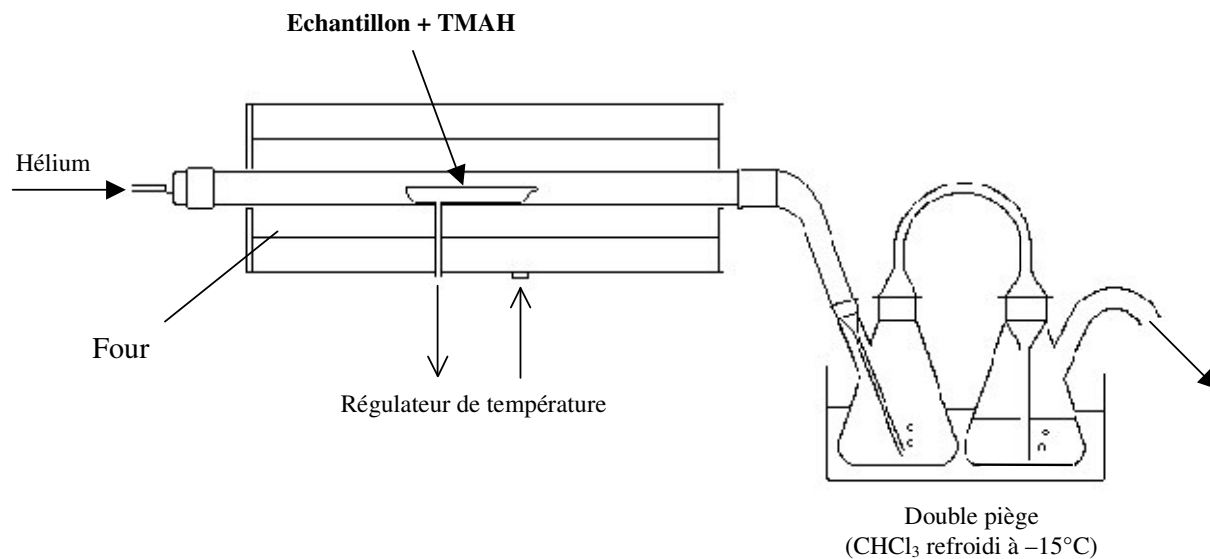


Figure I-5 : Dispositif expérimental utilisé pour la thermochimioolyse préparative.

Les différentes familles de composés, obtenues après séparation des produits de pyrolyse selon le protocole présenté sur la figure I-6, sont présentées dans le tableau I-2

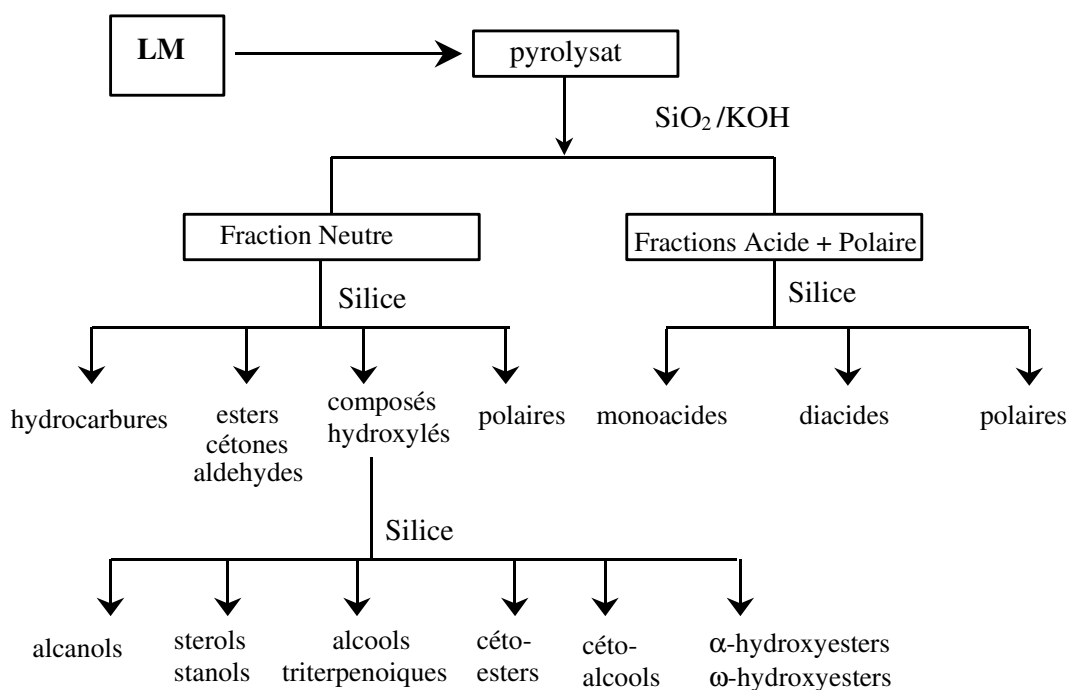


Figure I-6 : Protocole de fractionnement des produits de pyrolyse.

Tableau I-2 : Produits de dégradation thermique des lipides macromoléculaires du Plateau de Millevaches (% du pyrolysat).

	Pyrolyse	Thermochemiolyse	Gamme
hydrocarbures	14.5	26	C ₁₆ - C ₃₆
acids gras (méthylés)*	4.1		C ₁₄ - C ₃₄
esters méthyliques	6.1	19	C ₁₄ -C ₁₉ ; C ₂₀ -C ₃₂
diacides (méthylés)*	7.2	15	C ₁₁ - C ₂₈
alcools (acétates)*	2.6	5	C ₁₄ - C ₃₂
cétones	1.7	5	C ₁₇ - C ₃₃
aldéhydes	0.7	0.1	C ₁₉ - C ₃₁
α-hydroxyesters	1	2.1	C ₂₂ - C ₂₇
ω-hydroxyesters	2.1	2.8	C ₁₆ - C ₂₈
(ω-1)-cétoesters	2.1	-	C ₂₂ - C ₂₉
(ω-1)-cétoalcools	1	-	C ₁₇ - C ₂₉
esters octyliques	1.9	-	C ₁₄ - C ₂₂
Composés polaires	55	25	

* après dérivation

Les deux techniques se sont avérées complémentaires, en effet la thermochimioolyse en présence d'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) ne permet pas de distinguer les esters méthyliques obtenus par hydrolyse/méthylation (transestérification) des acides estérifiés à la matrice des acides ou esters méthyliques piégés dans le réseau macromoléculaire (figure I-7).

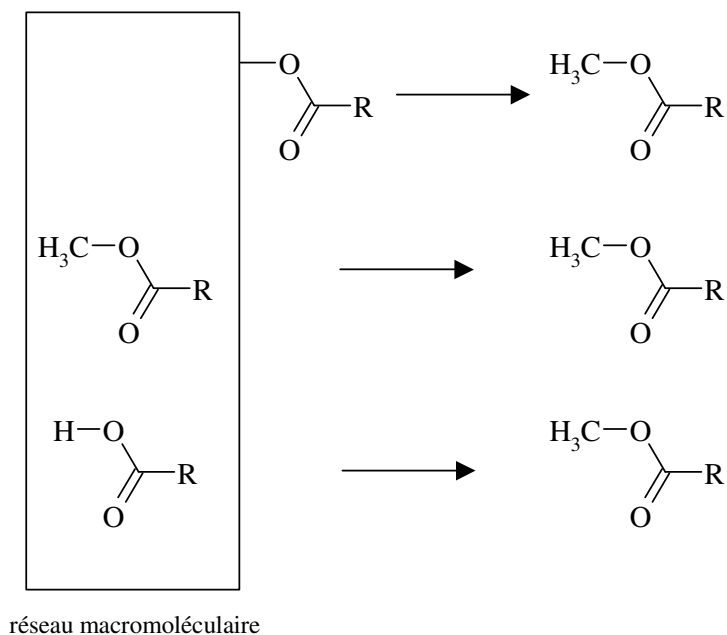


Figure I- 7: Origines possibles des esters méthyliques obtenus par thermochimioolyse en présence de TMAH.

La matrice apparaît formée de chaînes aliphatiques réticulées. Des alcools aliphatiques, triterpénoïques comme l' α -amyrine, des stérols, stanols sont liés à la matrice par des groupes éther ou ester. Les acides gras peuvent être incorporés par estérification. Les diacides et d'autres composés comme les hydroxyacides forment des ponts alkyles. Différents composés sont piégés dans le réseau macromoléculaire (figure I-8).

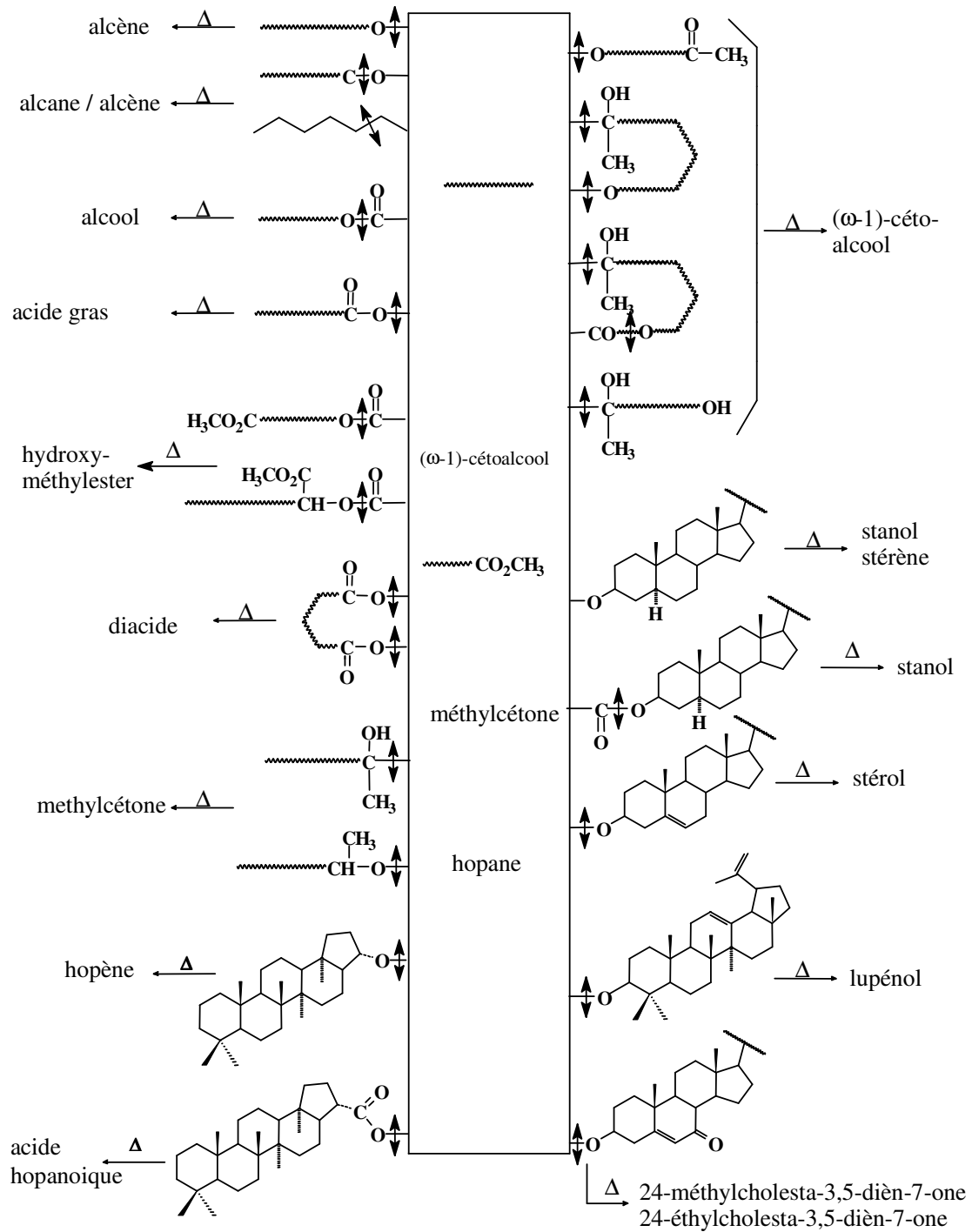


Figure I-8 : Liaisons pouvant être présentes dans les lipides macromoléculaires et coupées par pyrolyse. Les structures à l'intérieur du cache correspondent aux molécules «piégées» dans le réseau macromoléculaire (sans liaison covalente).

3. biodégradation du carbone organique dans les sols

La technique de l'épandage de déchets organiques sur sols utilise les boues ou les effluents industriels comme fertilisants pour compenser les pertes de carbone des sols cultivés: minéralisation du carbone par les pratiques culturales (labours, engrais minéraux, ...), exportations de carbone dues aux récoltes. Son principe repose sur le pouvoir auto-épuration du sol (Sebyera, 1987 ; Oudot *et al.*, 1989). Les micro-organismes utilisent une partie des composés exogènes provenant de l'épandage comme source de carbone et d'énergie dans le processus naturel de biodégradation (Larsen *et al.*, 1991 ; Pagliai et Vittori Antisari, 1993). Pour éviter tout problème de pollution, il est nécessaire de bien contrôler les différentes étapes. Malgré les recherches déjà menées, certains mécanismes de transformation sont encore mal élucidés et les bilans de carbone exogène présentent des déficits. Ces pertes sont probablement dues à l'incorporation du carbone organique dans les compartiments complexes du sol (Parlanti *et al.*, 1993 ; Amblès *et al.*, 1991, 1993b) : lipides macromoléculaires et substances humiques. Cette incorporation met en jeu des liaisons covalentes comme les liaisons ester et des liaisons de faible énergie (structure supramoléculaire).

3-1. Modélisation en laboratoire

Afin de compléter les études antérieures, en tenant compte des fractions complexes, nous avons modélisé les flux de matière organique en incorporant différents marqueurs à 3 sols caractéristiques. Le sol SOR décrit précédemment, le sol CHA et le sol GOV. Leurs caractéristiques sont rassemblées dans le tableau I-3.

Les échantillons du sol CHA ont été prélevés dans un champ cultivé (blé, maïs) près de Saint-Martin-de-Fraigneau en Vendée, dans l'horizon humifère superficiel d'un rendosol (horizon L). C'est un sol mince (20 cm environ) développé à la surface de dépôts calcaires.

Les échantillons du sol GOV ont été prélevés dans un champs cultivé (blé, maïs) jusqu'à 20 cm de profondeur (horizon L) près d'Airvault dans les Deux-Sèvres. Il s'agit d'un calcosol (sol brun calcaire) qui présente un pH neutre.

Tableau I-3 : Récapitulatif des caractéristiques des sols.

Sol	pH	argile %	CaCO ₃ %	COT %	C/N
CHA	8,1	29,0	31	2,7	7,3
SOR	4,1	13,5	7	7,0	18,9
GOV	7,3	25,0	4	2,2	7,5

Les études effectuées sur ces fractions ayant révélé la présence de liaisons ester ainsi qu'une forte réticulation due à la participation d'hydroxyacides, nous avons choisi un hydrocarbure, un acide, un alcool, un diol et un hydroxyacide ainsi qu'une molécule représentative des effluents gras, la tristéarine.

Les lipides traceurs ont été additionnés aux sols étudiés à raison de 100 à 200 mg pour 100 g de terre sèche (1000 à 2000 ppm). L'incorporation et l'évolution de ces lipides traceurs dans les fractions complexes des sols ont été suivies en comparant le sol traité avec un échantillon témoin. Après fractionnement, les lipides complexes (lipides macromoléculaires neutres : LMN et acides : LMA) et les acides humiques sont analysés par couplage pyrolyse analytique - chromatographie en phase gazeuse - spectrométrie de masse (Py-GC-MS).

Le dispositif expérimental est présenté sur la figure I-9. Il permet de traiter des quantités beaucoup plus faibles que la pyrolyse préparative (quelques mg). Les deux techniques de pyrolyse apparaissent comme étant complémentaires. La pyrolyse est effectuée à 650°C pendant 10 s avec une montée en température de 5°C/ms.

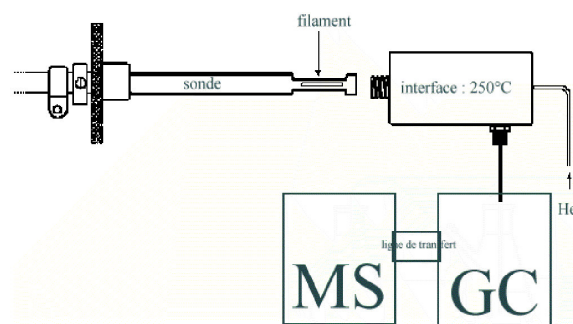


Figure I-9 : Dispositif expérimental de pyrolyse analytique.

Addition d'hydrocarbure

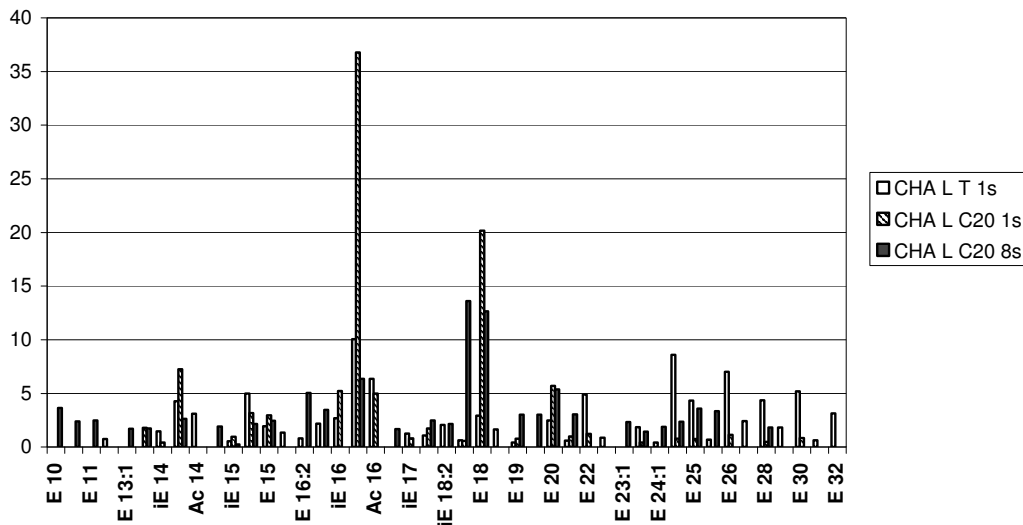
L'addition de 2000 ppm d'éicosane (C_{20}) se traduit par une diminution de la quantité de lipides (dès 1 semaine tout l'éicosane additionné n'est pas récupéré). Cette diminution est due à la minéralisation du carbone ou à son incorporation dans des compartiments insolubles du sol. L'augmentation régulière des lipides macromoléculaires (LM) traduit l'incorporation de l'éicosane ou de ses produits d'évolution dans cette fraction. Les quantités de lipides totaux et macromoléculaires (LM) extraites du sol CHA sont présentées dans le tableau I-4.

Tableau I-4 :

Evolution de la quantité de lipides du sol CHA après addition d'éicosane (mg.kg^{-1}).

	Lipides totaux	LM
CHA Témoin	589	107
1 semaine	2016	144
8 semaines	1326	246

La thermochimie des lipides macromoléculaires montre, après addition d'éicosane, une augmentation de la concentration de l'ester méthylique de l'acide C_{20} correspondant ainsi que des esters courts en C_{14} , C_{16} , C_{18} et $\text{C}_{18:1}$ (figure I-10).



E : ester méthylique linéaire, *i,aE* : iso, antéiso, *Ac* : acide gras

Figure I-10 : Distribution des esters méthyliques (E) obtenus par pyrolyse des LM du sol CHA après addition d'éicosane.

L'hydrocarbure a donc été pour partie oxydé avant d'être incorporé à la matrice complexe par liaison ester. Une désaturation enzymatique explique la présence de composés insaturés tandis qu'une β -oxydation suivie d'une décarboxylation conduit aux acides à chaînes courtes (figure I-11).

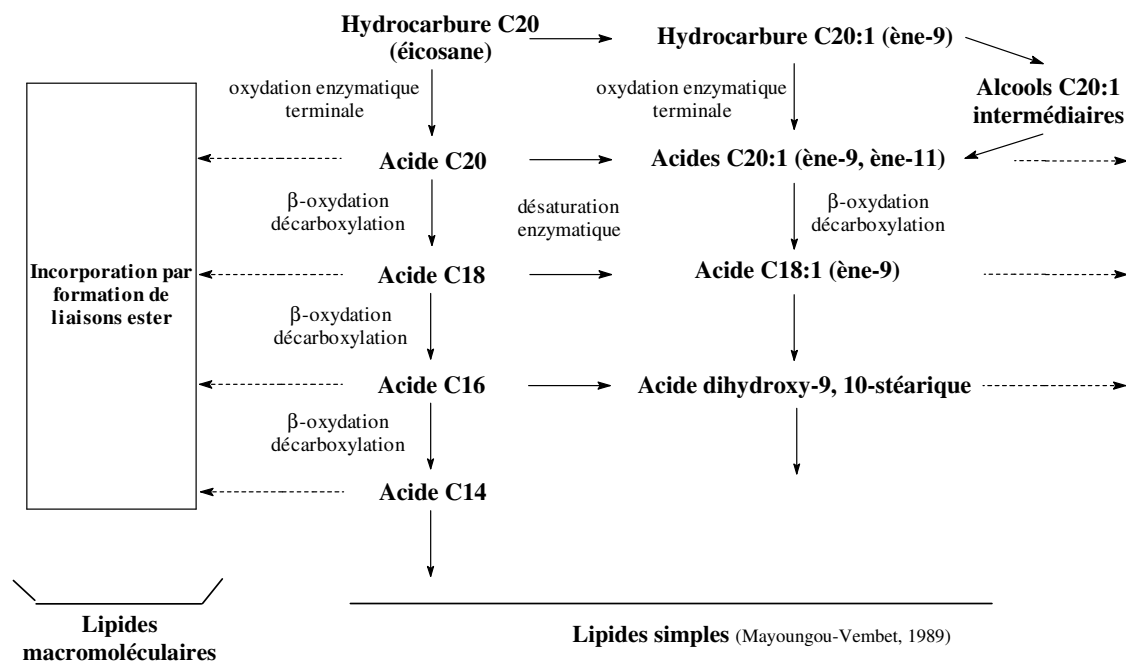


Figure I-11 : Mécanisme de biodégradation des hydrocarbures dans les sols.

Addition d'alcool

Le premier prélèvement effectué 2 jours après addition de 1000 ppm d'éicosanol montre une nette diminution des lipides macromoléculaires due à la stimulation de la microflore. Après une semaine, la quantité de lipides totaux diminue tandis que les lipides macromoléculaires augmentent en raison de l'incorporation de l'éicosanol ou de ses produits d'évolution (tableau I-5).

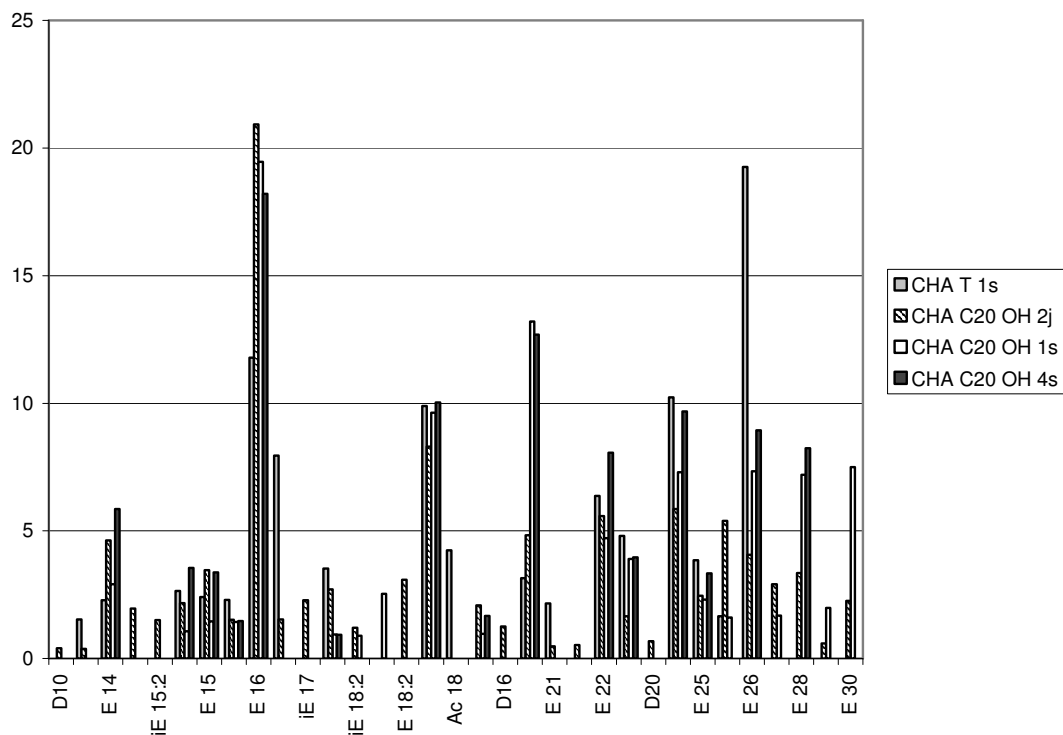
Tableau I-5 :

Evolution de la quantité de lipides du sol CHA après addition d'eicosanol (mg.kg^{-1}).

	Lipides totaux	LM
CHA Témoin	589	158
2 jours	1552	56
1 semaine	1376	207
4 semaines	1192	242

La thermochemiolyse des lipides macromoléculaires du sol additionné d'éicosanol fait apparaître une augmentation de la teneur en ester méthylique provenant de son oxydation

enzymatique (figure I-12). La présence d'esters courts (C_{14} , C_{16} , C_{18}) montre la possibilité d'une β -oxydation de l'acide suivie d'une décarboxylation préalable à son incorporation au réseau macromoléculaire. Les alcools sont donc des intermédiaires dans le mécanisme d'oxydation des hydrocarbures (figure I-13).



E : ester méthylique linéaire, *i,aE* : iso, antéiso, *Ac* : acide gras, *D* : diester méthylique

Figure I-12 : Distribution des esters méthyliques obtenus par pyrolyse des LM du sol CHA après addition d'écicosanol.

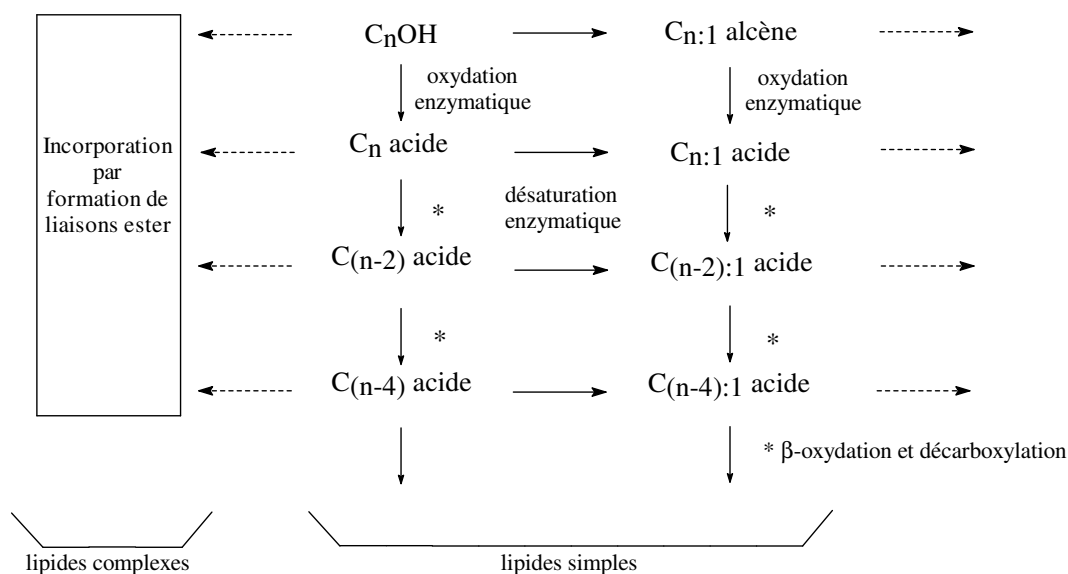


Figure I-13 : Mécanisme de biodégradation des alcools.

Addition de 12-hydroxyoctadécanol

Après addition de 1000 ppm de 12-hydroxyoctadécanol, la séparation des lipides macromoléculaires neutres (LMN) et acides (LMA) montre que le diol et ses produits d'évolution s'incorporent majoritairement dans la fraction polaire acide (tableau I-6).

Tableau I-6 :

Evolution de la quantité de lipides dans le sol GOV après addition de diol (mg.kg^{-1}).

	Lipides totaux	LMN	LMA
GOV <i>Témoin</i>	613	54	157
4 semaines	913	24	213

L'ester méthylique de l'acide 12-hydroxyeicosanoïque identifié parmi les produits de pyrolyse des LMN du sol GOV montre que le diol a subi une oxydation terminale avant de se lier au réseau macromoléculaire par fonction ester. La fonction alcool secondaire n'est ni transformée ni liée au réseau comme le montre le mécanisme présenté sur la figure I-14.

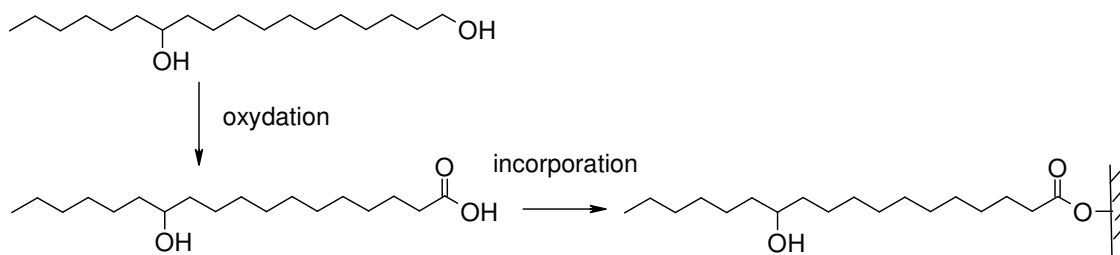


Figure I-14 : Mécanisme de biodégradation des diols.

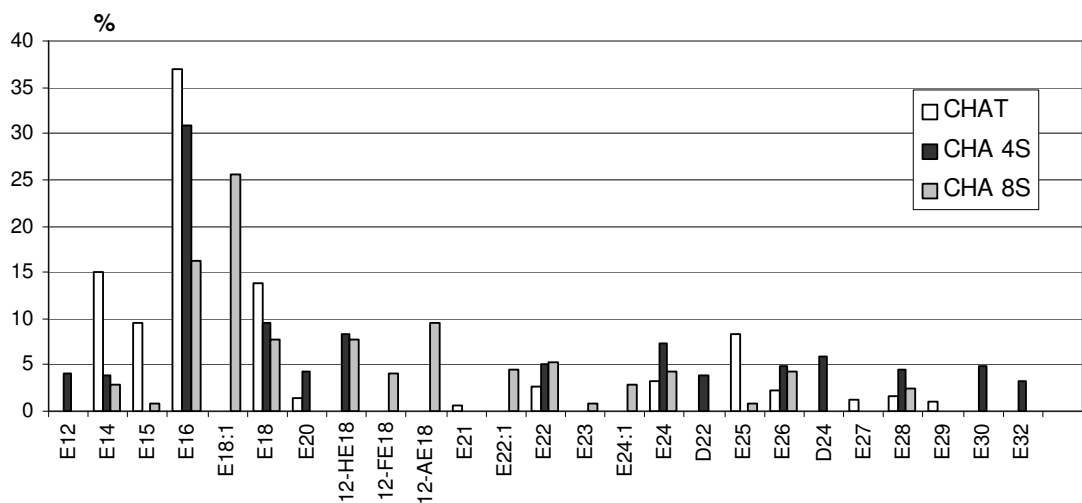
Addition d'acide 12-hydroxystéarique

Les résultats obtenus après addition de 1000 ppm d'acide 12-hydroxystéarique et présentés dans le tableau I-7 montrent que quel que soit le sol considéré, l'hydroxyacide s'incorpore majoritairement dans la fraction acide des lipides macromoléculaires. Les différents produits de pyrolyse obtenus (figure I-15) montrent que l'hydroxyacide est incorporé au réseau macromoléculaire par liaison ester. La fonction alcool secondaire peut être déshydratée, formylée ou acétylée (figure I-16). Ces deux dernières transformations constituent des réactions de défense des microorganismes vis à vis de molécules exogènes.

Tableau I-7 : Evolution de la quantité de lipides après addition d'hydroxyacide (mg.kg^{-1}).

	lipides libres	LMN	LMA
SORT	6311	610	2534
Hac 1S	7131	nd	1610
Hac 4S	6957	482	2368
Hac 8S	7728	523	3332
GOV T	613	54	157
Hac 4S	999	23	65
Hac 8S	1016		75
CHA T	589	73	85
Hac 4S	958	19	90
Hac 8S	1092	24	133

nd : non déterminé



E_n : ester méthylique, D : diester méthylique, HE : 12-hydroxyester méthylique, FE : 12-formylester méthylique, AE : 12-acétyl ester méthylique

Figure I-15 : Distribution des esters obtenus lors de la thermochimie des LMA du sol CHA.

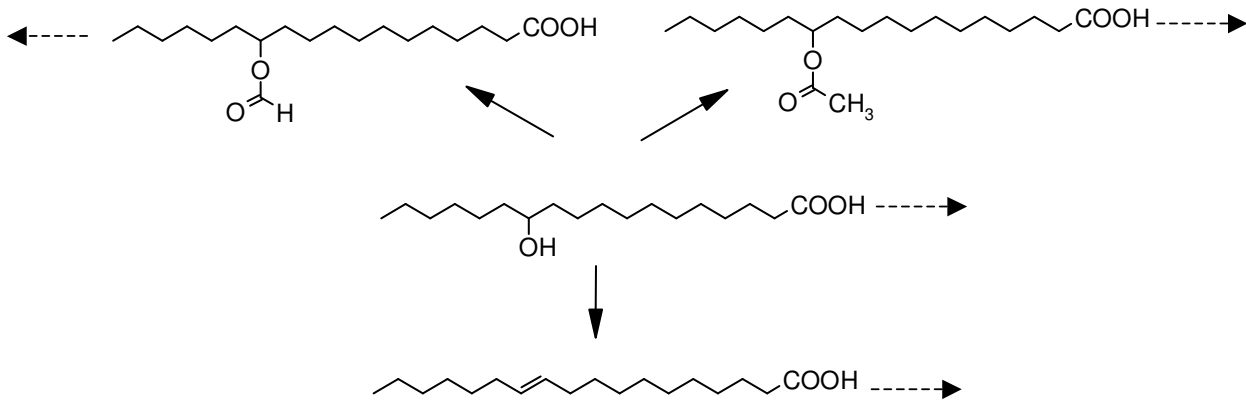


Figure I-16 : Mécanisme de biodégradation de l'hydroxyacide.

Addition de tristéarine

La tristéarine a été additionnée à raison de 2000 ppm. Contrairement à ce qui a été observé précédemment, la tristéarine et ses produits d'évolution s'incorporent très rapidement et majoritairement dans les lipides macromoléculaires neutres. L'incorporation dans les acides humiques semble plus lente (tableau I-8).

Tableau I-8 : Evolution des quantités de lipides et d'acides humiques après addition de tristéarine (mg.kg⁻¹).

	lipides libres	LMN	LMA	Acides humiques
SOR T	6311	610	2534	1378
Tri 1S	8017	874	2996	-
Tri 4S	7699	1827	2125	1881
GOV T	613	54	157	5206
Tri 1S	2543	660	300	-
Tri 4S	2614	1264	276	5542
CHA T	589	73	85	1081
Tri 1S	2606	1184	254	-
Tri 4S	2373	1403	56	1221

La thermochimiolyse confirme ces résultats. La présence de composés issus de la biodégradation de la tristéarine (acide stéarique, stéarates de méthyle, d'éthyle et de propyle) (Hita *et al.*, 1996) est observée dans les lipides macromoléculaires dès une semaine (figure I-17). Ceci dénote un échange très rapide entre lipides simples et complexes. La thermochimiolyse des acides humiques n'a pas traduit d'incorporation marquante après 4 semaines ce qui semble indiquer que les échanges entre fractions simples et humiques nécessitent probablement plus de temps.

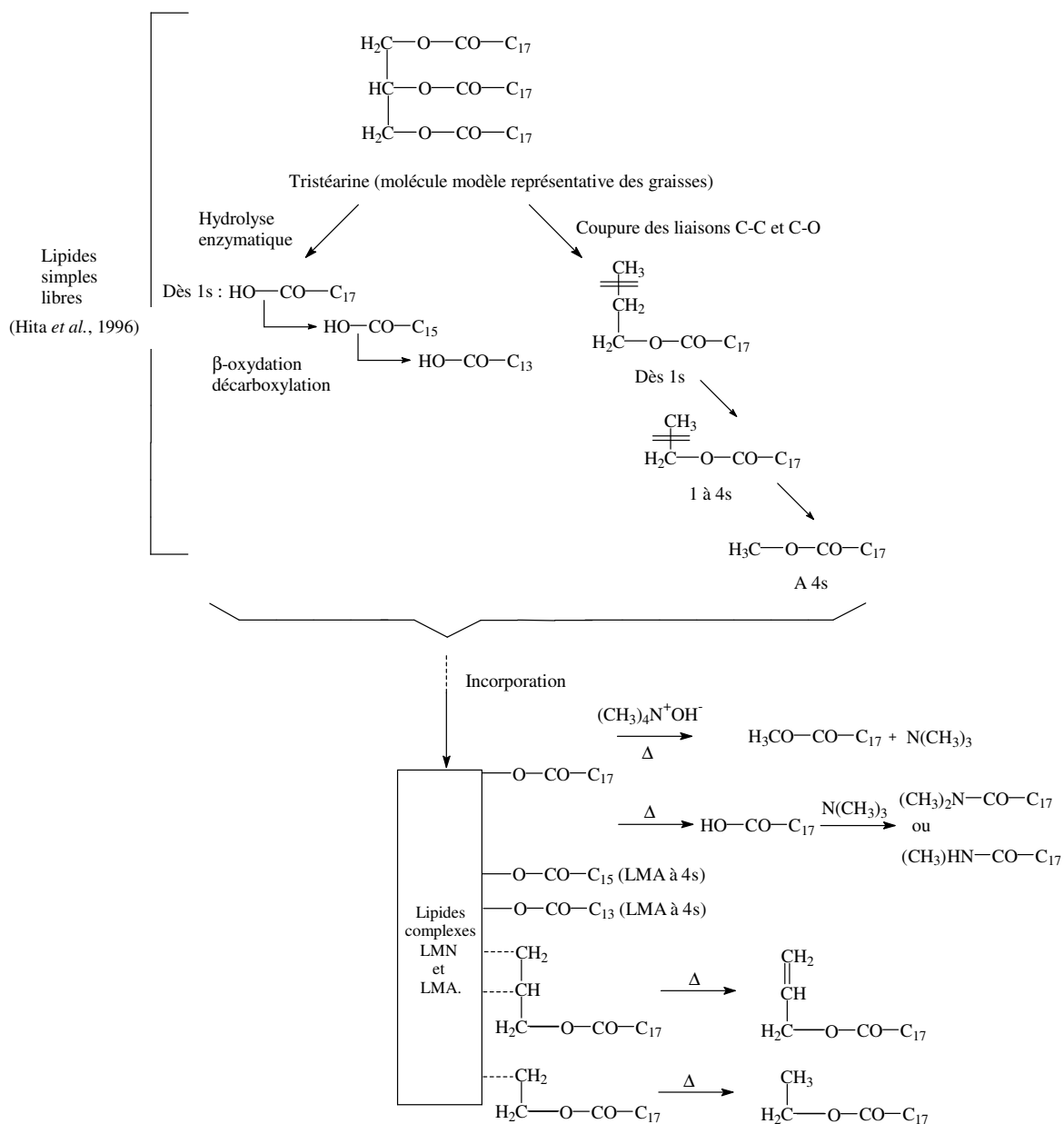
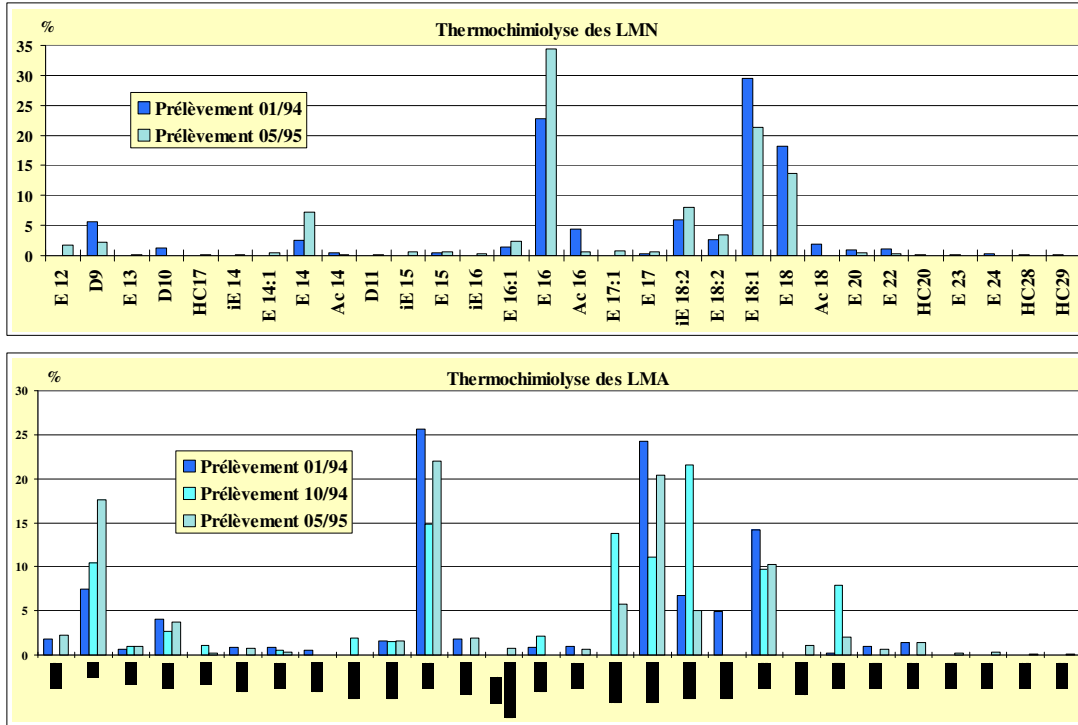


Figure I-17 : Mécanisme de biodégradation de la tristéarine.

3-2. Etude au champ

Une étude de terrain a concerné le devenir de déchets graisseux présents dans les effluents d'une industrie agro-alimentaire (Marie-Surgelés-France). Nous avons analysé, par thermochemiolyse, les lipides complexes et les acides humiques de parcelles cultivées soumises à des épandages de durées variables. Les lipides macromoléculaires de l'effluent ont été caractérisés par thermochemiolyse (figure I-18) et la matière organique complexe des sols épandus, comparée avec celle de sols témoins.



E : ester méthylique linéaire, i,a E : iso, antéiso, D : diester méthylique, Ac : acide gras, HC : hydrocarbure

Figure I-18 : Caractérisation de l'effluent.

Après épandage, la quantité de lipides macromoléculaires a augmenté rapidement montrant l'incorporation du carbone xénobiotique. Le phénomène semble réversible puisque les quantités diminuent après arrêt de l'amendement (figure I-19).

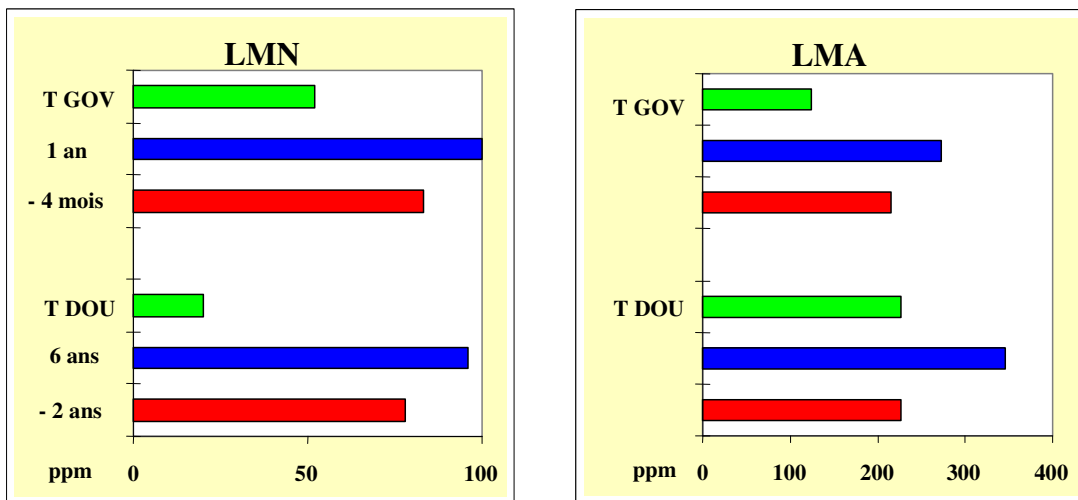
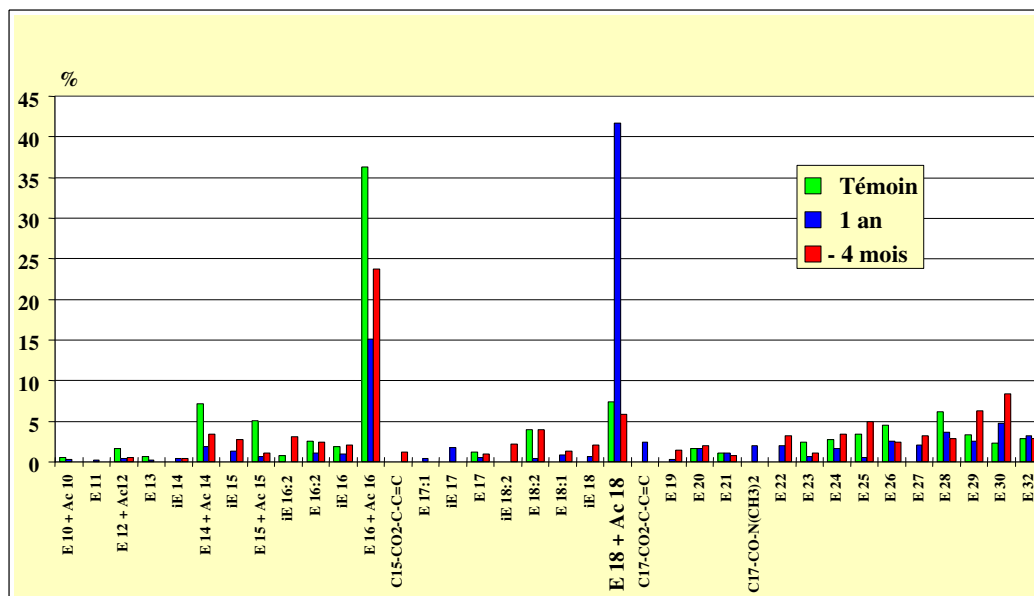


Figure I-19 : Evolution des quantités de lipides macromoléculaires.

La thermochimioolyse (figure I-20) montre l'incorporation rapide (un an après épandage) de composés issus de l'effluent, dans les lipides complexes. La réversibilité de l'incorporation a été constatée quatre mois après l'arrêt des épandages.



E : ester méthylique linéaire, i,a E : iso, antéiso, D : diester méthylique, Ac : acide gras, HC : hydrocarbure

Figure I-20 : Thermochimioolyse des LMN du sol GOV.

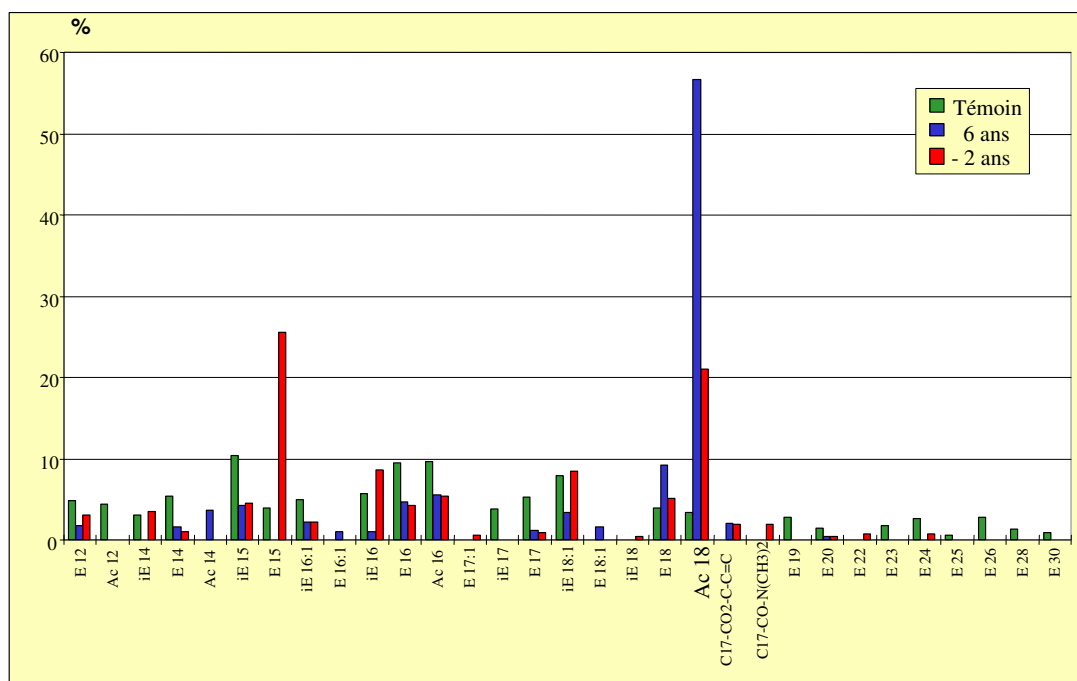
Dans le cas des acides humiques, cette réversibilité n'a été observée qu'après une longue période (figure I-21). Les échanges semblent donc plus rapides entre les lipides simples et les lipides complexes, qu'avec les fractions humiques. On constate par ailleurs que l'apport du carbone organique au sol induit une augmentation importante de la stabilité structurale (stabilité des agrégats) mesurée selon la méthode de Hénin (Hénin *et al.*, 1958) :

Taux d'agrégats stables

Sol GOV témoin	sol GOV épandu 1 an
5,1 +/- 0,1	21,4 +/- 0,7
Sol DOU témoin	sol DOU épandu 6 ans
6,4 +/- 0,4	13,3 +/- 0,3

L'épandage représente une solution économique d'élimination des déchets. Depuis juillet 2002, il est interdit de brûler la plupart des déchets ou de les mettre en décharge. La solution de l'enfouissement étant très coûteuse, la valorisation en agriculture semble être une

bonne alternative. En apportant du carbone aux sols cultivés, cette technique a des conséquences favorables sur leurs propriétés et leur fertilité.



E : ester méthylique linéaire, *i,a E* : iso, antéiso, *D* : diester méthylique, *Ac* : acide gras, *HC* : hydrocarbure

Figure I-21 : Thermochimiolyse des acides humiques de DOU.

4. Conclusion

Cette première partie concernait l'étude de la matière organique des sols. La caractérisation des lipides d'un échantillon de sol de Vendée (SOR) a montré sa grande originalité, la présence d'aldéhydes ramifiés, d'une cétone triterpénique, de méthylstéranes et de hopanes diagenétiques étant tout à fait inhabituelle dans les sols récents.

Les lipides macromoléculaires du sol du Plateau de Millevaches ont été caractérisés par pyrolyse et thermochimiolyse préparatives. L'utilisation de ces deux techniques a permis de distinguer les différents composés liés à la matrice par liaisons covalentes de ceux piégés dans le réseau macromoléculaire.

L'addition de lipides traceurs dans différents sols caractéristiques nous a permis de modéliser les voies de biotransformation puis d'incorporation dans les fractions plus complexes (lipides macromoléculaires, acides humiques). La thermochimiolyse analytique mise en œuvre dans cette étude est apparue comme un outil efficace d'analyse des macromolécules, capable de fournir rapidement des informations sur la composition et l'évolution des différents compartiments d'un sol.

PARTIE II

ETUDE DE LA MATIERE ORGANIQUE EN ZONES HUMIDES

DEMARCHE :

Etude des lipides

Etude des substances humiques

Utilisation en traitement de dépollution

ETUDIANTS :

C. Guignard	DEA	97	
	Thèse	97-01	Allocation ministère
C. Deport	DEA	99	
	Thèse	99-02	Bourse région Poitou-Charentes
D. Dubreuil	DEPSUP	00	
Y. Menneteau	DEPSUP	01	
M.P. Som	DEA	03	

Partenaires Industriels et Universitaires :

Hydr'ASA (Hydrogéologie, Argile, Sols, Altération (UMR 6532)

Laboratoire de Chimie de l'Eau et de l'Environnement (UMR 6008)

Région Poitou-Charentes

Conseil Régional de Bretagne

Comité de la Charte Nationale des Producteurs de Granulats (ENCSEM)

Communauté Européenne

Valorisation :

2 publications

6 communications

L'étude détaillée de différentes familles lipidiques présentes dans les tourbes permet d'obtenir des indications importantes sur les mécanismes d'évolution intervenant au cours des premiers stades de la prédiagenèse (sédimentogénèse). Il sera également intéressant d'évaluer la contribution des lipides dans la structure des acides humiques et de l'humine. La comparaison des fractions lipidiques avec les produits de dégradation des autres compartiments organiques permet ainsi de déceler d'éventuels processus d'incorporation des lipides libres dans les fractions insolubles par liaison covalente ou association (liaison de faible énergie).

Les sites retenus pour cette étude ont été choisis comme étant représentatifs de tourbes acides : Tourbière du Vénéec (Brennilis), Marais de Mazerolles (Nort sur Erdre), Marais de Gironde et calciques : Marais Poitevin, Marais de Rochefort. Leurs principales caractéristiques sont présentées dans le tableau II-1.

Tableau II-1 : Caractéristiques des différents échantillons.

	% MO	pH
Brennilis (29)	85	4,7
Marais Poitevin 30-50 cm (79)	80	6,7
Marais Poitevin 70-90 cm (79)	84	6,0
Marais de Gironde (33)	72	3,8
Marais de Rochefort (17)	43	6,8
Nort sur Erdre (44)	67	5,1

Le tableau II-2 présente la répartition des différentes formes de matière organique présentes dans les échantillons et obtenues selon le protocole décrit sur la figure II-1.

Tableau II-2 : Répartition des différentes formes de matière organique (% massique de la MO totale).

	Lipides	Ac. Fulv.	Ac. Hum.	Humine
Brennilis	7	11	50	32
Marais Poitevin 30-50 cm	2	11	27	60
Marais Poitevin 70-90 cm	1	3	20	76
Marais de Gironde	1	27	61	11
Marais de Rochefort	2	38	30	30
Nort sur Erdre	7	5	54	34

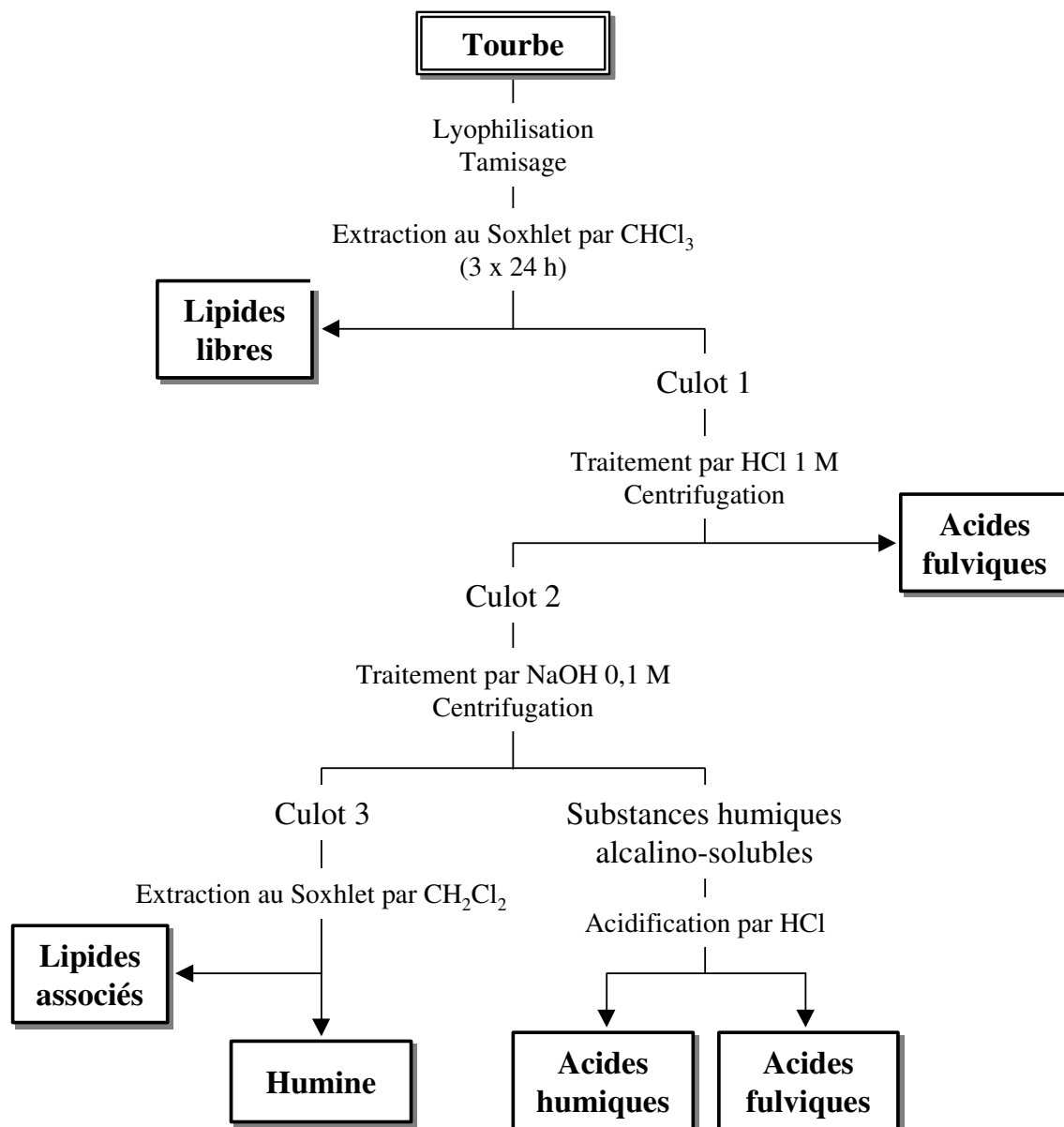


Figure II-1 : Protocole de fractionnement de la matière organique.

1. Etude des lipides

Les lipides de deux tourbes acides (Nort/Erdre et Brennilis) ont été étudiés et comparés à ceux d'une tourbe calcique (Marais Poitevin 30-50 cm). Les résultats du fractionnement (figure II-1) sont présentés dans le tableau II-3.

Des différences quantitatives nettes apparaissent entre les échantillons alors que les distributions sont similaires (figure II-2).

Tableau II-3 : Masses isolées des différentes familles de lipides exprimées en ppm (mg/kg de sol sec)

	<i>M. Poitevin</i>	<i>Brennilis</i>	<i>Nort / Erdre</i>
hydrocarbures	81	327	298
aldéhydes, cétones, esters	461	2591	1156
alcools linéaires	505	1271	1230
stérols	111	680	756
mono, diacides aliphatiques ¹	2235	7362	2418
hydroxy-, cétoacides ¹	789	1655	644
LMN	338	65	81
LMA	336	8443	2350

(¹ après méthylation)

1-1. Lipides simples

Les lipides simples sont d'origine végétale : hydrocarbures longs majoritairement impairs, acides gras à chaînes longues majoritairement paires et microbienne : hydrocarbures à chaînes courtes sans parité marquée, acides gras insaturés ou ramifiés (iso- et antéiso- en C₁₅ et C₁₇).

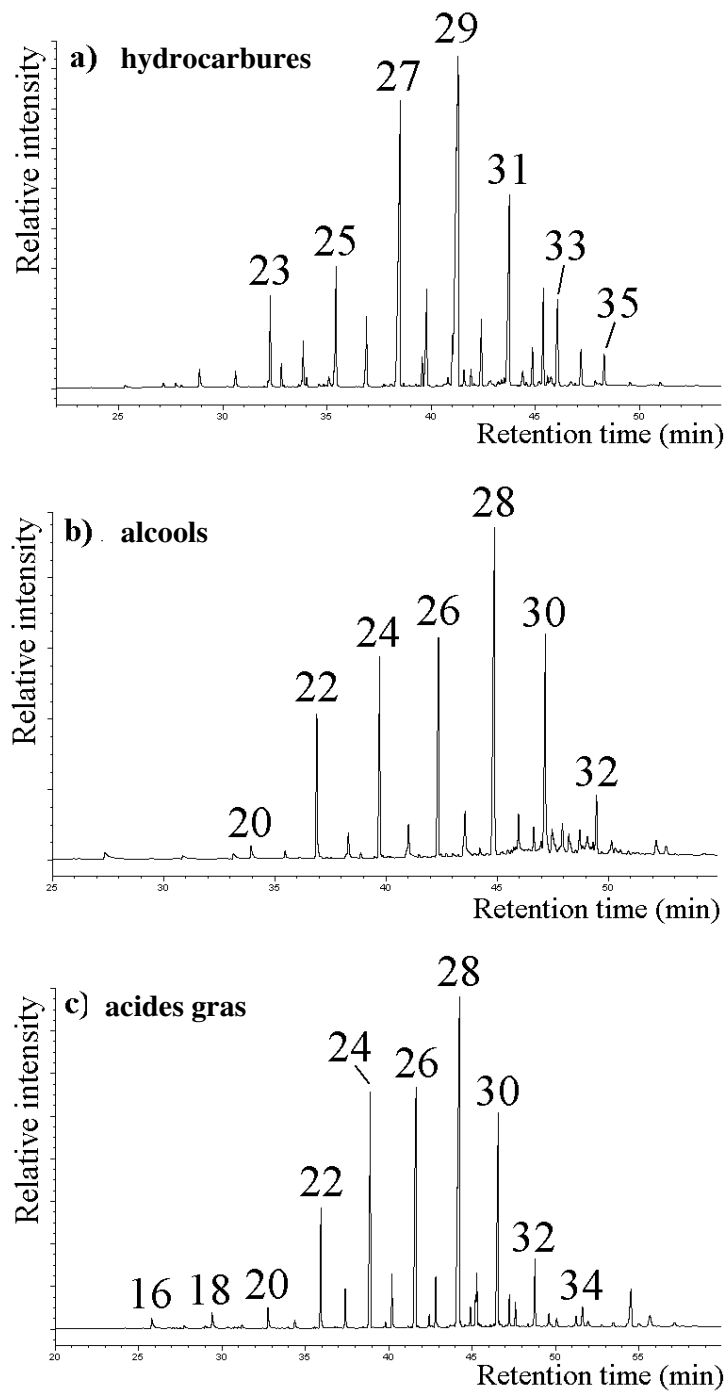
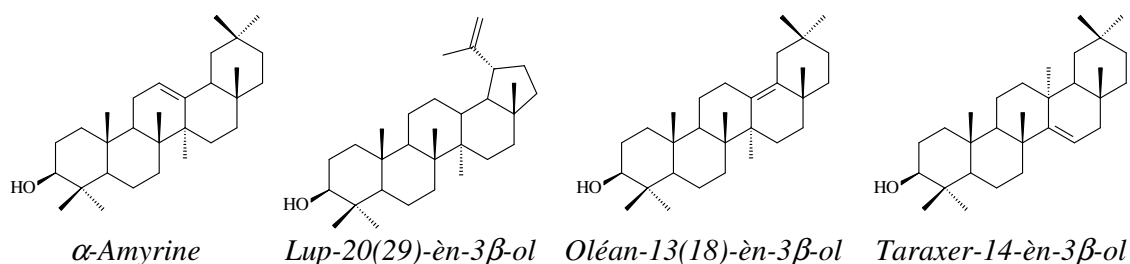
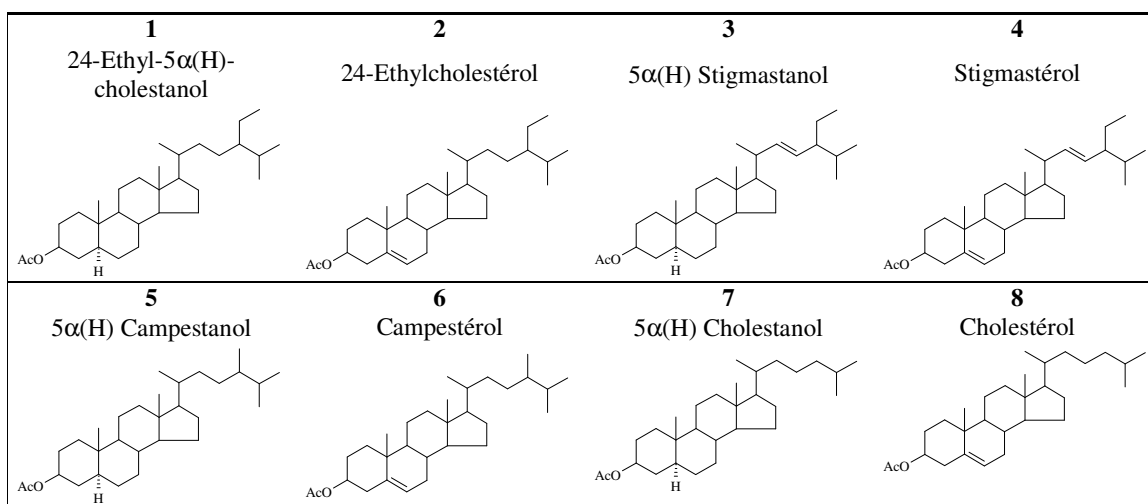


Figure II-2 : Chromatogrammes des hydrocarbures, alcools et acides gras des lipides de la tourbe de Nort sur Erdre.

Quelques alcools triterpéniques (représentés ci-dessous) ont été détectés dans les trois échantillons. Ces alcools en C₃₀ sont largement répandus dans les végétaux supérieurs, où ils existent à l'état libre ou sous forme d'acétates (Miranda de Castro, 1991).

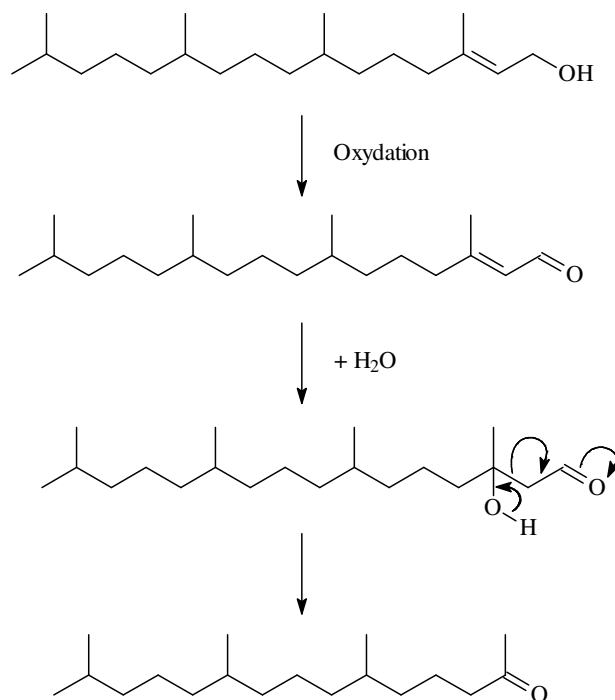


Différentes familles témoignent des conditions fortement réductrices et donc de la faible activité du milieu. En effet, les alcools observés proviennent manifestement de la réduction d'acides gras, favorisée par les conditions anoxiques. Il est très peu probable que ces composés soient des produits d'oxydation d'hydrocarbures, qui conduiraient alors à des alcools majoritairement impairs. Il est également très vraisemblable que les aldéhydes observés résultent de la réduction des acides gras végétaux. De même, les stanols présents dans les trois échantillons et représentés ci-dessous, sont manifestement issus de la réduction des stérols. Ce processus est connu dans les sédiments récents, marins ou lacustres (Gaskell et Eglinton, 1975 ; Mermoud *et al.*, 1984).

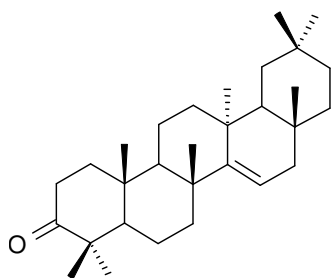


Plusieurs séries de composés oxygénés montrent cependant que les processus d'oxydation n'ont pas été totalement absents. Parmi les méthylcétones, la 6,10,14-triméthylpentadécane-2-one est observée. Cette cétone isoprénoïde, également isolée après

hydrolyse de sédiments anciens (Kribii, 1994), provient vraisemblablement de la dégradation microbienne du phytol (Brooks et Maxwell, 1974) :



Une cétone triterpénique est également identifiée : la taraxérone, fréquemment rencontrée dans les tissus protecteurs et les écorces des végétaux supérieurs peut également être issue de l'oxydation de l'alcool correspondant (Corbet *et al.*, 1980).



Taraxér-3-one

La distribution des acides α,ω -dicarboxyliques méthylés, relativement proche de celle des monoacides, laisse supposer qu'ils ont également été formés, lors du dépôt, par oxydation des acides gras. Les cétoacides observés sont issus en grande partie de l'oxydation d'acides gras et d'hydroxyacides.

1-2. Lipides complexes

Les lipides macromoléculaires neutres et acides, obtenus après fractionnement des lipides des tourbes de Brennilis, Nort sur Erdre et du Marais Poitevin (30-50 cm), ont été étudiés par thermochimioyse analytique (650°C pendant 10 s, avec une montée en température de 5 °C.ms⁻¹) en présence de TMAH.

Les principaux produits de thermochimioyse des LMN et LMA (figure II-3) sont des hydrocarbures et des esters méthyliques aliphatiques issus de la transestérification d'esters.

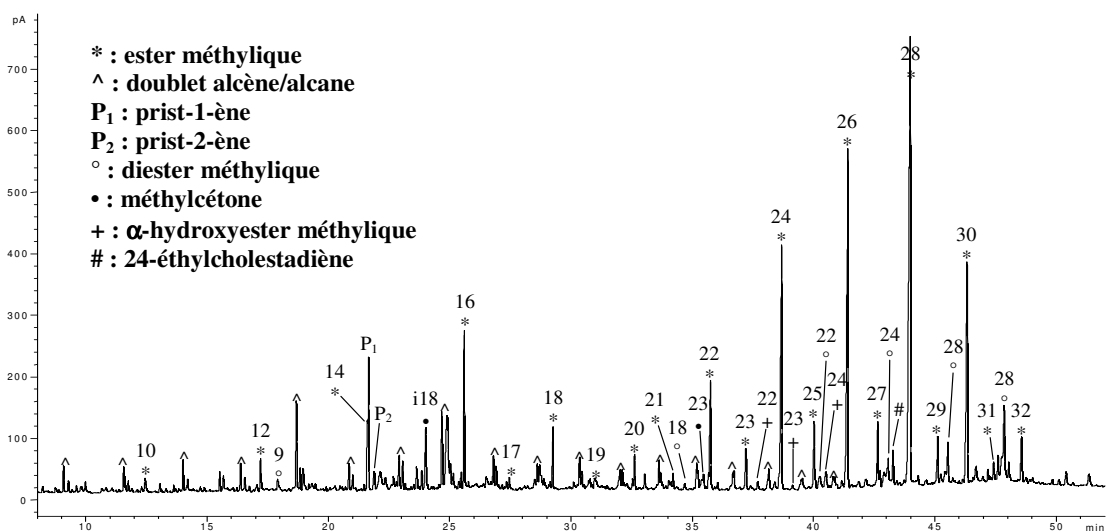
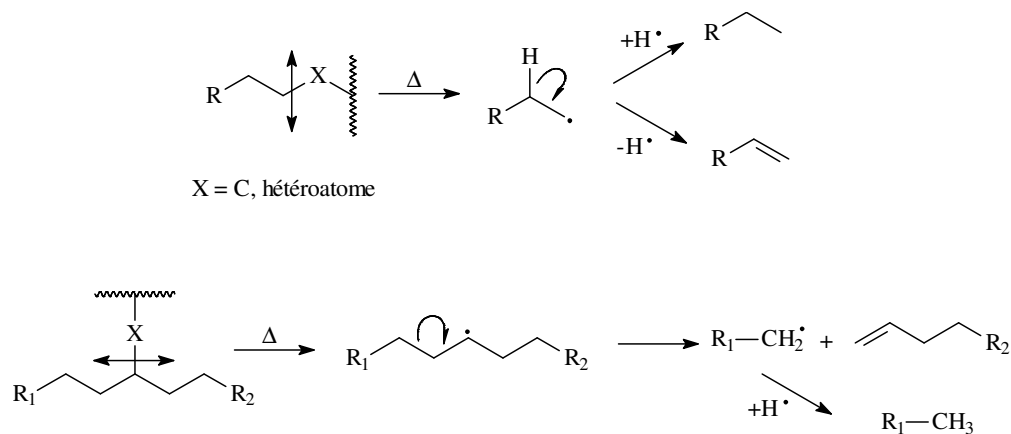


Figure II-3 : Pyrogramme des LMA de la tourbe de Nort sur Erdre.

Les hydrocarbures sont obtenus sous la forme de doublets alcène/alcane. Ils peuvent provenir de coupures radicalaires. Les mécanismes de coupure homolytique sont présentés ci-dessous :



L'obtention de doublets alcène/alcane est généralement attribuée à la présence de macromolécules aliphatiques résistantes (Tegelaar *et al.*, 1989 ; van Bergen *et al.*, 1997 ; Augris *et al.*, 1998).

Des composés bifonctionnels sont obtenus (esters méthyliques d'acides α,ω -dicarboxyliques, ω -méthoxyesters méthyliques). Ils constituaient vraisemblablement des ponts alkyles dans la structure des lipides macromoléculaires.

Enfin, un certain nombre de composés obtenus par thermochimiolyse (méthyl cétones, aldéhydes) étaient probablement immobilisés dans la matrice complexe par encombrement stérique et ont été désorbés par dégradation du réseau lors de la réaction.

1-3. Conclusion

Les lipides simples et macromoléculaires des tourbes acides de Brennilis (sphaignes) et Nort/Erdre (carex) ont été comparés à ceux de la tourbe calcique du Marais Poitevin. Des différences quantitatives notables apparaissent entre ces différentes tourbes.

Les lipides simples ont une origine végétale et microbienne. Certains composés témoignent d'une forte activité réductrice. Les phénomènes d'oxydation ne sont cependant pas totalement absents comme en témoigne la présence de composés oxydés.

Les lipides macromoléculaires ont été étudiés par thermochimiolyse. leur structure est constituée de biopolymères résistants et de chaînes aliphatiques réticulées. Des molécules aliphatiques peuvent être retenues dans ce réseau par liaisons de faible énergie.

2. Etude des substances humiques

Les substances humiques sont généralement les composés majoritaires de la matière organique des sols. Ces fractions peu solubles voire insolubles aussi bien dans les solvants organiques (acides fulviques) qu'en milieu acide (acides humiques) et alcalin (humine), peuvent nous éclairer sur les premières étapes de la sédimentogenèse, c'est pourquoi leur étude permet de mieux comprendre les différents mécanismes de transformation de la matière organique au cours de l'enfouissement. L'analyse de la structure chimique des substances humiques est rendue particulièrement délicate par leur grande complexité, leur hétérogénéité et leur insolubilité. Elle implique généralement des méthodes d'analyse globale, qui doivent nécessairement être complétées par des techniques dégradatives.

Les acides humiques et l'humine des trois tourbes acides (Nort/Erdre, Brennilis et Marais de Gironde), de la tourbe calcique (Marais Poitevin) et du sol calcique (Marais de Rochefort) ont été étudiés. Leurs caractéristiques sont reportées dans le tableau II-4. Dans ce but, des techniques globales ont été utilisées, puis ont été complétées par différentes dégradations chimiques ou thermiques. Les analyses globales par spectroscopie IR et RMN ^{13}C montrent la présence de nombreuses fonctions oxygénées, la participation de polymères ligno-cellulosiques ainsi qu'un caractère hautement aliphatique.

Tableau II-4 : Caractéristiques des différents échantillons.

	fraction	% MO¹	H/C atomique	O/C atomique	C/N massique
Brennilis	Ac. Hum.	94,4	1,38	nd	13,33
	Humine	83,7	1,63	nd	17,97
Marais Poitevin 30-50 cm	Ac. Hum.	97,2	1,21	0,61	16,96
	Humine	83,5	1,44	0,48	17,99
Marais de Gironde	Ac. Hum.	89,9	0,95	0,43	17,56
	Humine	42,0	1,35	0,22	17,77
Marais de Rochefort	Ac. Hum.	69,0	1,70	1,07	12,44
	Humine	22,0	2,47*	0,71	19,83
Nort sur Erdre	Ac. Hum.	83,9	1,28	nd	16,49
	Humine	57,9	1,60	nd	20,90

(¹ : Déterminé par perte au feu à 800°C, nd : non déterminé)

* valeur non significative

2-1. Thermochimiolyse analytique

La thermochimiolyse analytique a été réalisée en présence de différents agents alkylants. L'utilisation d'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) comme agent méthylant a révélé la présence de structures aliphatiques : des hydrocarbures témoins de la présence de biopolymères résistants, des monoacides d'origine végétale ou microbienne (figure II-4) monosubstituant de la matrice ainsi que des diesters ou méthoxyesters liés en pont dans le réseau macromoléculaire.

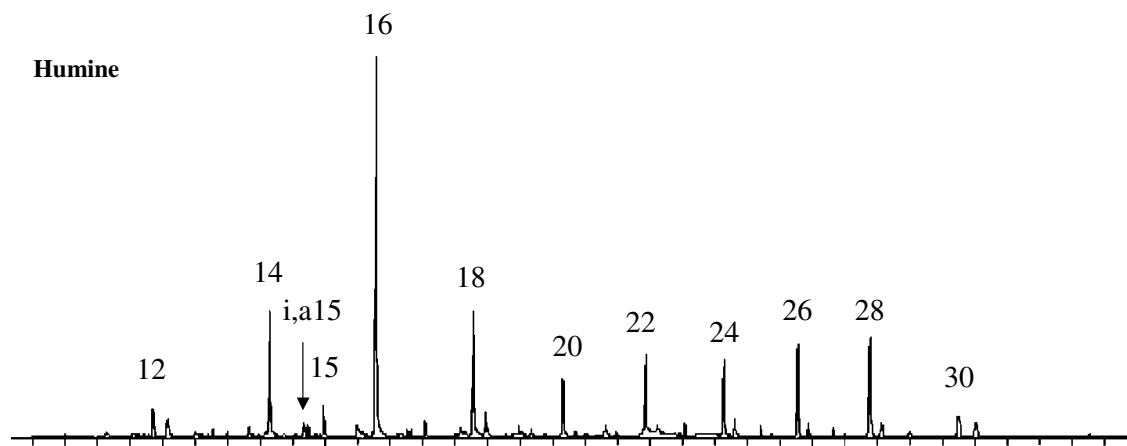
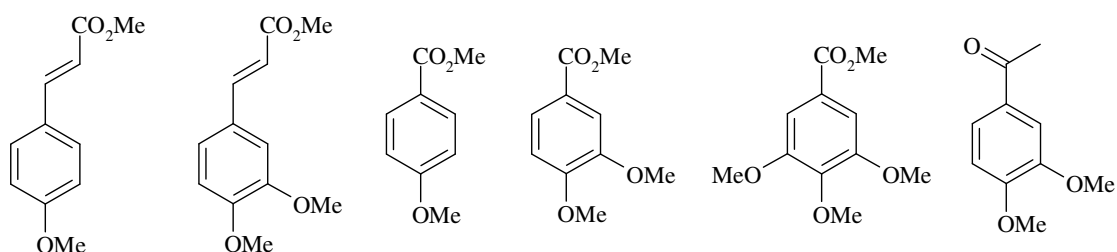
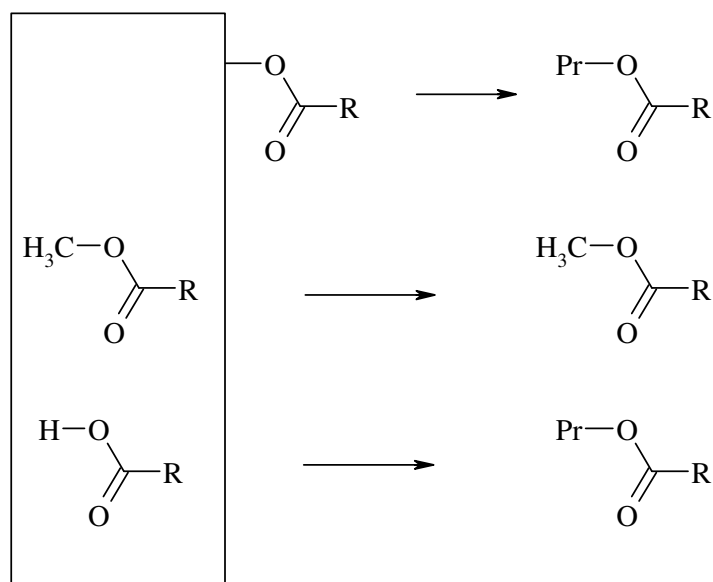


Figure II-4 : Distributions des esters méthyliques de thermochimiolyse analytique (TMAH) de l'humine de la tourbe de Nort sur Erdre (fragmentogrammes $m/z = 74$).

D'autre part, la contribution de fibres ligneuses dans la structure des substances humiques est confirmée par l'obtention de nombreux dérivés aromatiques polyfonctionnels :



L'utilisation d'un agent propylant, l'hydroxyde de tétrapropylammonium (TPAH), permet de différencier les esters et éthers méthyliques naturellement présents de ceux issus de ruptures pyrolytiques (figure II-5). Cet agent alkylant affiche toutefois une réactivité différente de celle du TMAH. La distribution des acides liés au réseau humique par liaison ester, libérés par thermochimiolyse sous forme d'esters propyliques est présentée sur la figure II-6.



réseau macromoléculaire

Figure II-5 : Produits obtenus par thermochimiolyse en présence de TPAH

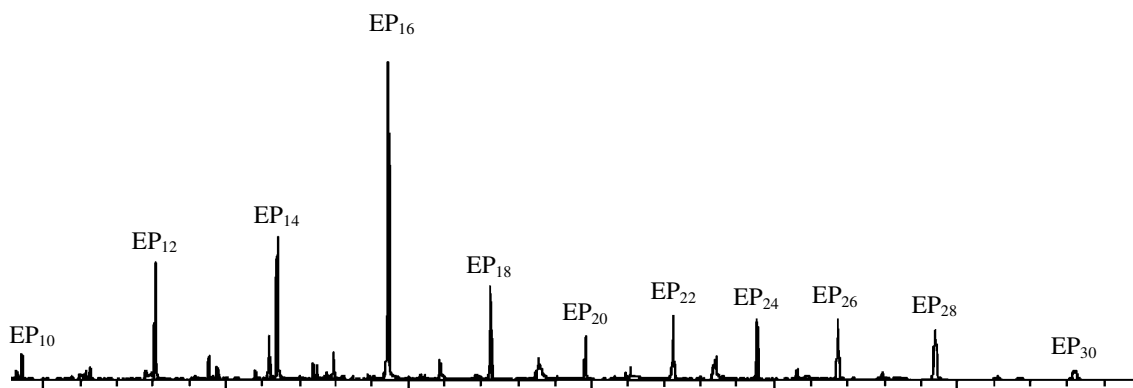
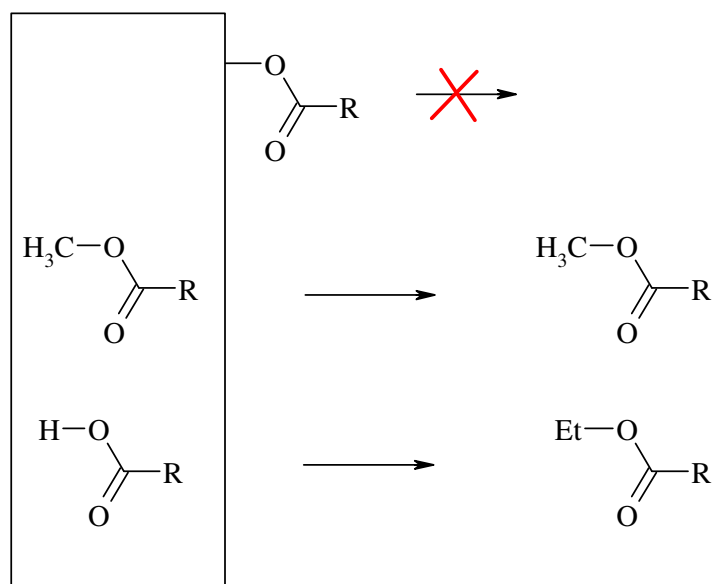


Figure II-6 : Distribution des esters propyliques de thermochimiolyse analytique (TPAH) de l'humine de Nort sur Erdre (fragmentogramme $m/z = 61$).

Un troisième agent alkylant, l'acétate de tétraéthylammonium (TEAAc) a été utilisé. Les ions acétates, moins basiques que les ions hydroxyles ne peuvent couper les liaisons ester et de ce fait seuls les acides libres sont alkylés (figure II-7). La distribution des esters éthyliques obtenus par thermochimiolyse en présence de TEAAc est présentée sur la figure II-8. La séquence thermochimiolyse-TMAH/thermochimiolyse-TEAAc met clairement en évidence la présence d'entités (hydrocarbures, acides gras, esters méthyliques) piégées dans le réseau humique (figure II-9).



réseau macromoléculaire

Figure II-7 : Produits obtenus par thermochimie en présence de TEAAc

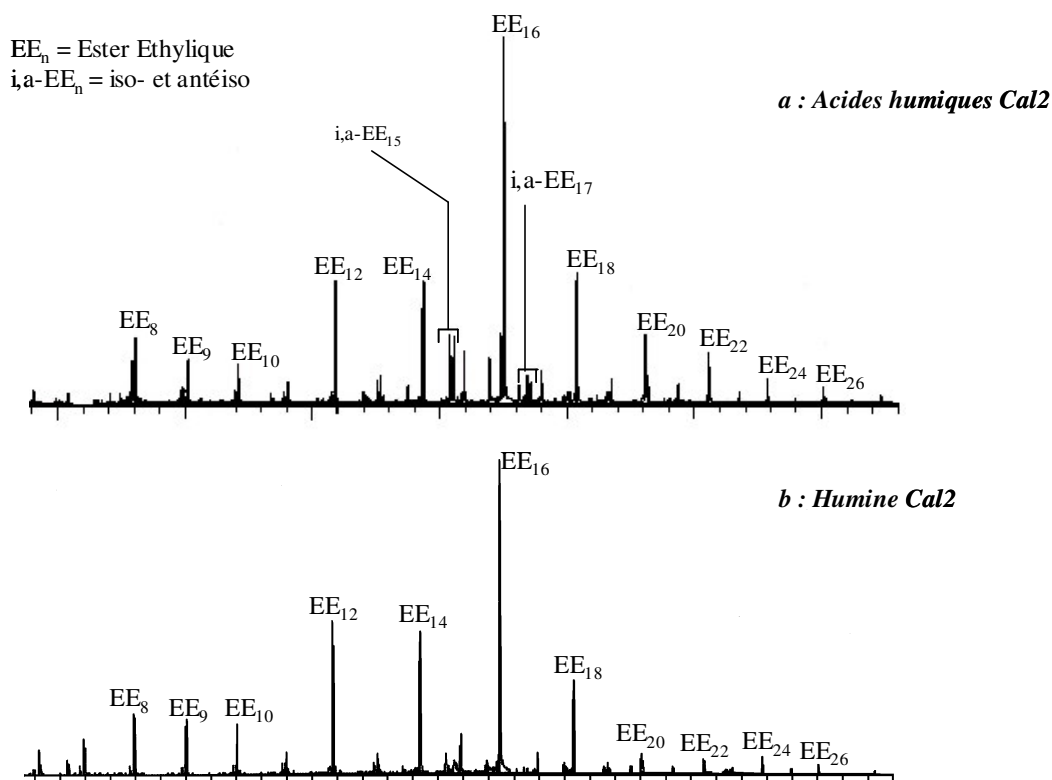


Figure II-8: Distributions des esters éthyliques (suivi de masse $m/z = 88$) obtenus par pyrolyse-TEAAc des substances humiques du Marais de Blaye-Mortagne.

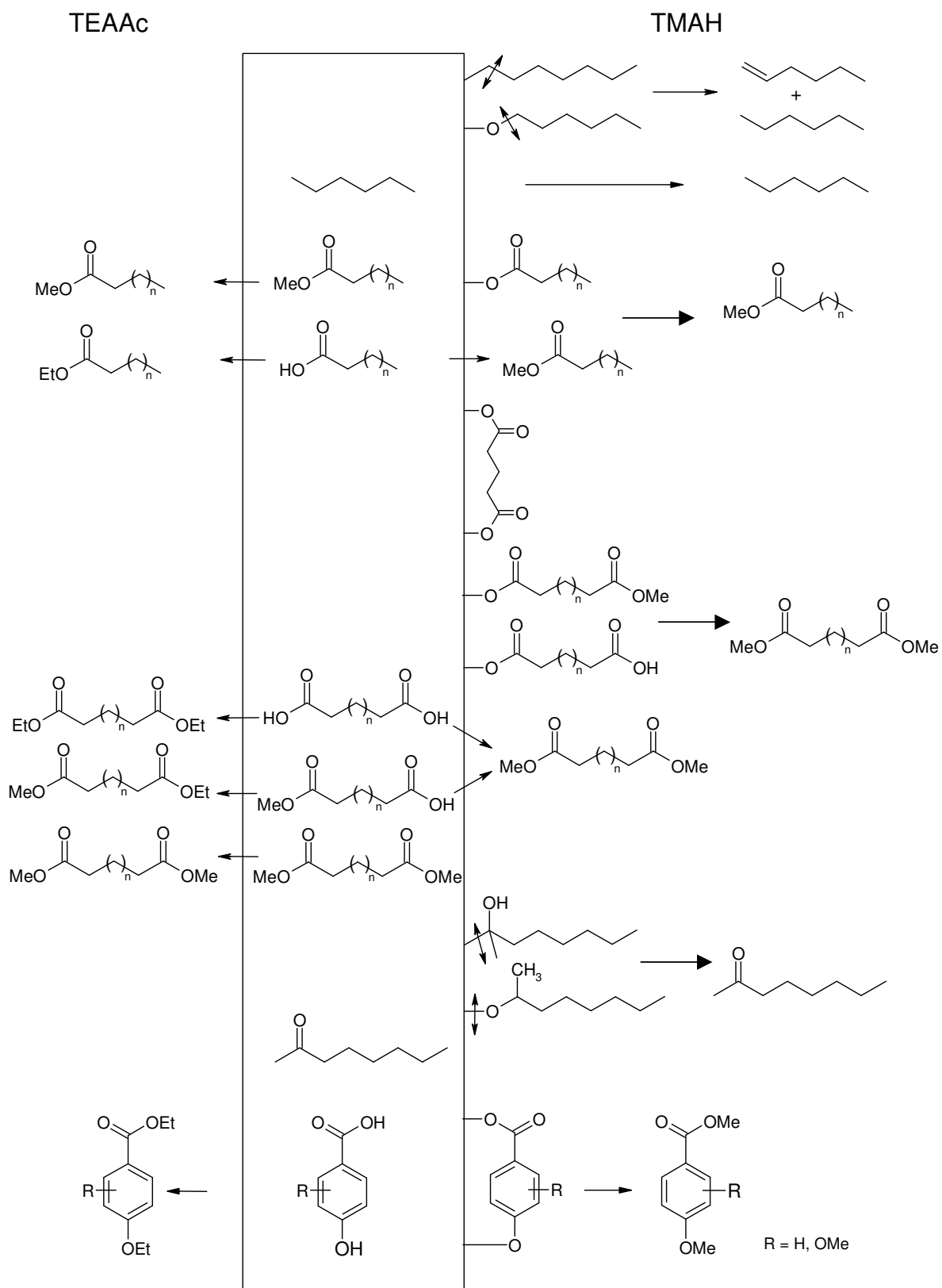


Figure II-9 : Schéma réactionnel d'obtention des composés avec TEAAc et TMAH.

2-2. Thermochimie préparative

La thermochimie préparative, expérimentalement plus contraignante, s'avère complémentaire puisqu'elle permet de quantifier les différents produits. Les résultats quantitatifs obtenus en présence de TMAH sont présentés dans les tableaux II-5 et II-6.

De nombreux composés aliphatiques : doublets alcènes/alcanes, cétones, aldéhydes, esters méthyliques, α - et ω -hydroxyacides ainsi que des molécules aromatiques qui indiquent une contribution ligneuse dans la structure des échantillons étudiés ont été libérés. Ces composés apparaissent comme étant des monosubstituants du réseau macromoléculaire ou prouvent l'existence de ponts aliphatiques dans le réseau humique. Une plus grande diversité structurale de composés libérés a été constatée dans le cas des substances humiques du sol calcique (Marais de Rochefort), cela pourrait être dû au fait que nous soyons en présence d'un milieu qui a été mis en culture.

Tableau II-5 : Résultats quantitatifs de thermochimie préparative des acides humiques en présence de TMAH (mg.kg^{-1}).

	Brennilis	Nort/Erdre	M. Poitevin 30-50 cm	M. Gironde	M. Rochefort
hydrocarbures	1048	2023	1000	2013	1158
esters méthyliques	5624	3129	2000	16129	5500
diesters méthyliques	1137	1827	146	1658	1678
méthoxyesters	437	829	532	-	10130
cétones	95	420	-	-	16238
aldéhydes	-	10	-	-	34443
composés aromatiques	14572	10795	12000	2770	9262

Tableau II-6 : Résultats quantitatifs de thermochimie préparative des humines en présence de TMAH (mg.kg^{-1}).

	Brennilis	Nort/Erdre	M. Poitevin 30-50 cm	M. Gironde	M. Rochefort
hydrocarbures	9525	4592	3522	3395	2691
esters méthyliques	8395	5265	4696	22171	3408
diesters méthyliques	3513	1870	455	6071	1412
méthoxyesters	813	2381	2151	-	3257
cétones	1549	1044	-	300	35
aldéhydes	794	239	-	-	380
composés aromatiques	15322	15814	45790	10000	33721

La thermochemiolyse préparative en présence de TEAAc produit une quantité non négligeable d'esters éthyliques (tableau II-7). Les acides dont ils sont issus n'étaient pas liés au réseau humique par liaison ester mais étaient piégés par des liaisons non covalentes. Cela montre le rôle important que peuvent jouer les liaisons faibles telles que les liaisons hydrogène dans la structure des substances humiques (Piccolo, 2001).

Tableau II-7 : Résultats quantitatifs de thermochemiolyse préparative des substances humiques de Nort/Erdre en présence de TEAAc (mg.kg⁻¹).

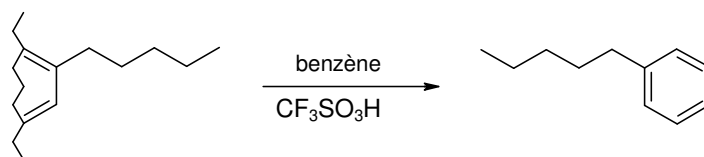
	ac. humiques	humine
hydrocarbures	2230	4140
esters méthyliques	450	1060
esters éthyliques	2010	2270
acétates	130	300

2-3. Réactions de dégradation sélectives

Des réactions de dégradation chimiques, spécifiques à certains groupements fonctionnels ont été appliquées à nos échantillon afin de compléter les résultats obtenus par dégradation thermique. Une large partie de ce travail a consisté à adapter les conditions de réaction au matériau étudié.

Transalkylation

La réaction de transalkylation permet le transfert des chaînes alkyles substituant les noyaux aromatiques d'un matériau complexe (charbon, asphaltènes, kérogène...) vers un accepteur aromatique léger tel le benzène, le toluène ou la tétraline en présence d'un acide de Lewis ou d'un acide protonique (acide triflique) :



Cette réaction de rétro Friedel-Crafts initialement utilisée pour la valorisation des charbons et des résidus lourds de pétrole, a ensuite été appliquée aux asphaltènes (Desbène *et al.*, 1988, 1990) et aux kérogènes (Amblès *et al.*, 1992, 1993; Baudet *et al.*, 1994; Kribii *et al.*, 2001) afin d'étudier la nature des chaînes alkyles liées aux noyaux aromatiques.

La transalkylation a été appliquée pour la première fois au laboratoire aux substances humiques du Marais de Rochefort et du Marais Poitevin. Les différentes familles de produits obtenues sont présentées dans le tableau II-8.

Tableau II-8 : Résultats quantitatifs des composés identifiés lors de la transalkylation (en mg.kg⁻¹ d'acides humiques et de concentrés d'humine).

<i>Echantillon</i>	<i>Marais Poitevin</i>		<i>Marais de Rochefort</i>	
	HU 30-50	AH 70-90	HU 70-90	HU Mat
Alkylbenzènes	995	-	-	1677
Hydrocarbures	610	-	-	368
1,1-diphénylalcane	2767	3160	4070	32727
Acides gras phénylsubstitués	3570	150	654	1145
Acides gras diphénylsubstitués	926	1060	349	traces
Acides gras (méthylés)	2888	466	1548	1755

(1g d'HU 30-50 = 0,835g d'humine vraie ; 1g d'HU 70-90 = 0,86g d'humine vraie)

La présence de chaînes alkyles substituant les noyaux aromatiques a été mise en évidence. Leur distribution est différente dans les deux échantillons. Ces chaînes peuvent être linéaires ou ramifiées, contrairement aux kérogènes des sédiments anciens où seules les chaînes linéaires avaient été identifiées. L'origine des alkylbenzènes est à priori le transfert des chaînes alkyles substituant les noyaux aromatiques, mais ils peuvent aussi provenir de la réaction des esters. En effet, Kribii (1994) a démontré, à partir de molécules modèles placées dans le milieu réactionnel, que les esters peuvent réagir pour conduire à des alkylbenzènes ramifiés et linéaires selon le mécanisme décrit sur la figure II-10. Dans l'humine du Marais Poitevin 30-50, les alkylbenzènes ramifiés sont les principaux composants identifiés. Il est donc possible que ces composés proviennent de la réaction des esters et plus précisément des alcools libérés après hydrolyse. La distribution reconstituée de ces chaînes est présentée sur la figure II-11. Elle diffère nettement de celle des alcools libérés lors de l'hydrolyse alcaline réalisée sur le même échantillon (Grasset, 1997). Il est donc raisonnable de penser que les alkylbenzènes proviennent des chaînes alkyles substituant les noyaux aromatiques de la matrice plutôt que de la réaction des esters dans les conditions de transalkylation.

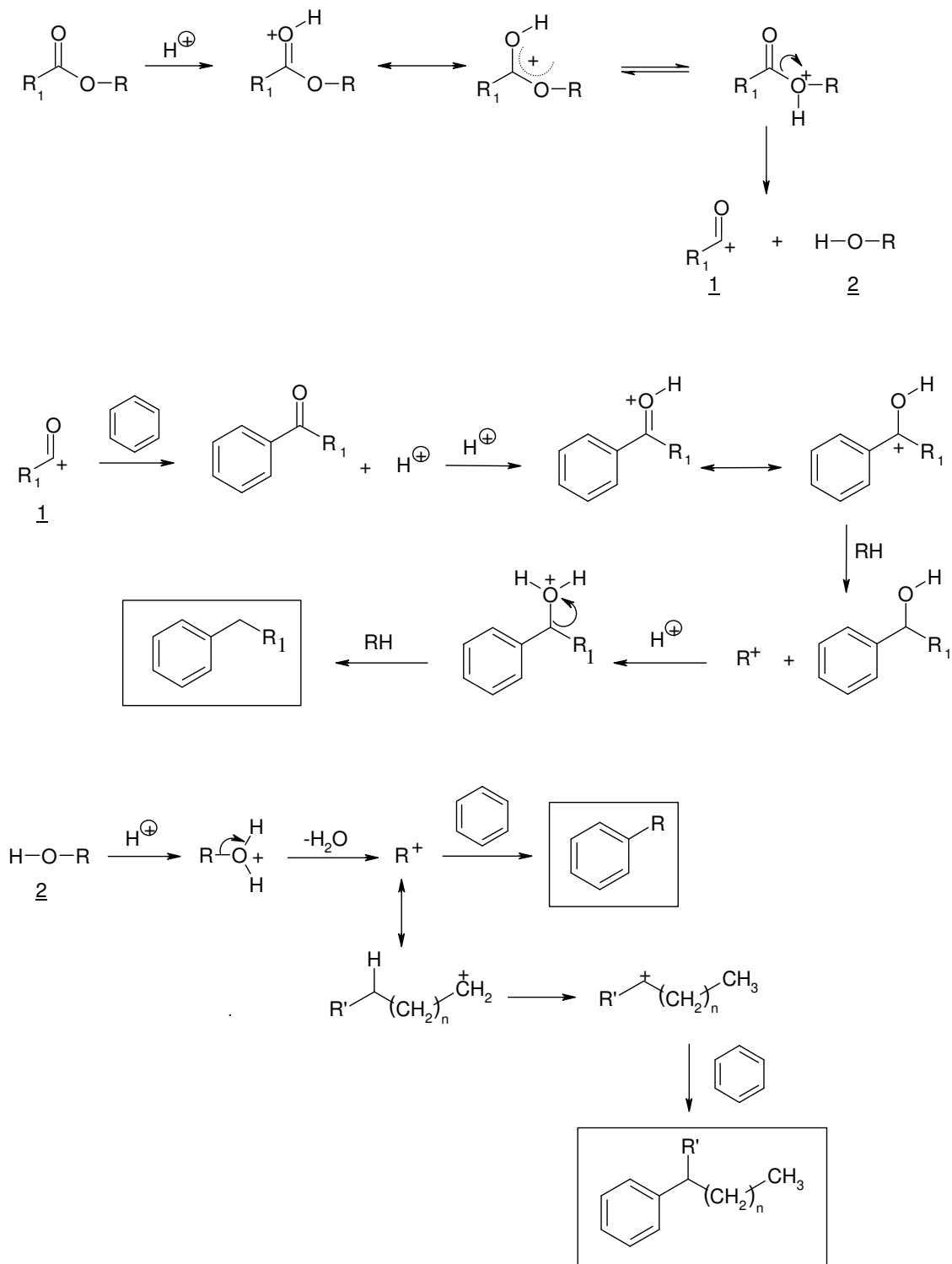


Figure II-10 : Mécanisme réactionnel des esters dans les conditions de transalkylation.

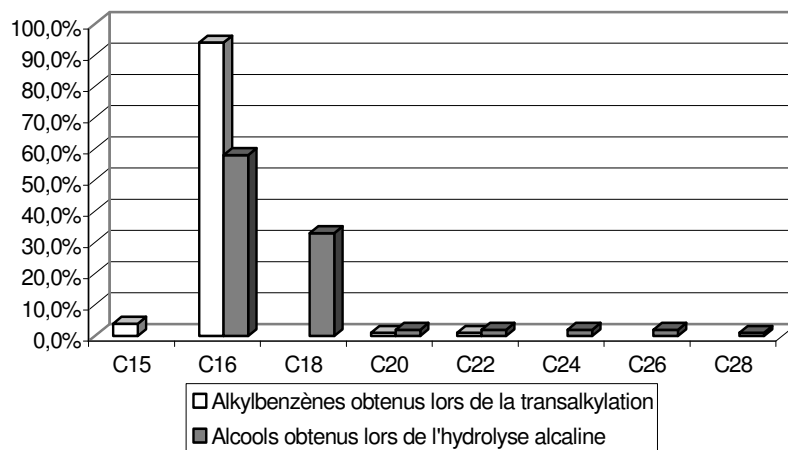
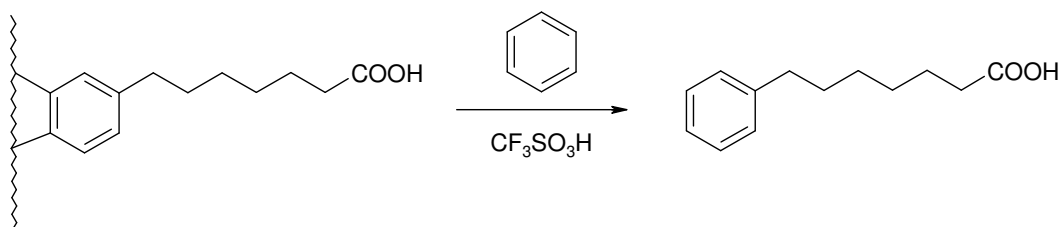


Figure II-11 : Distribution des alkylbenzènes obtenus par la transalkylation et des alcools identifiés lors de l'hydrolyse alcaline de l'humine 30-50 du Marais Poitevin.

On peut de plus noter que si les alkylbenzènes obtenus par la transalkylation provenaient, au moins pour partie de la réaction des esters, la partie acide devrait conduire à des phénones (non identifiées) ou à des alkylbenzènes. La distribution des alkylbenzènes ne traduit pas l'existence d'une telle réaction, les acides libérés par hydrolyse ayant été identifiés dans la gamme C₁₄-C₃₆ avec un mode long C₂₀-C₃₆ important (Grasset, 1997).

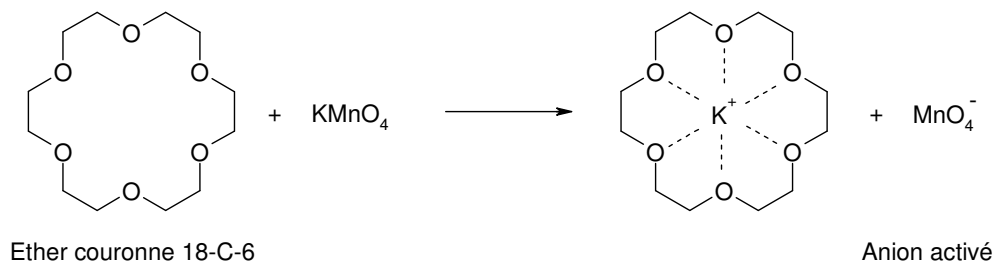
L'obtention de chaînes acides liées en positions ω à $(\omega-n)$ aux éléments aromatiques de la matrice humique dans tous les échantillons est aussi un résultat original relativement aux kérogènes :



Oxydation permanganique

L'oxydation par le permanganate de potassium en milieu alcalin est une méthode de dégradation couramment utilisée pour l'étude structurale des macromolécules (Schnitzer & Wright, 1960; Schnitzer, 1974; Schnitzer & Neyroud, 1975; Amblès *et al.*, 1981; Schuda *et al.*, 1983; Vitorovic *et al.*, 1994, 1996; Schwoerer, 1998). Cependant, les sous-unités libérées sont partiellement dégradées et ne fournissent pas de renseignements précis sur la nature des groupements avant dégradation.

Par analogie avec l'hydrolyse alcaline réalisée en présence de catalyseur par transfert de phase (Grasset & Amblès, 1998b), nous avons réalisé l'oxydation permanganique catalysée par l'éther couronne 18-C-6. L'utilisation d'un tel catalyseur rend l'anion plus réactif et permet de se placer en conditions plus douces donc plus sélectives :



L'oxydation permanganique catalysée par transfert de phase, a été appliquée aux échantillons du Marais Poitevin. Les substances humiques sont additionnées à un complexe $\text{KMnO}_4/18\text{-C-6}$ en milieu alcalin. Les produits neutres et basiques (NB) sont directement extraits de la solution. Les acides précipités (AP) sont obtenus par acidification de la phase aqueuse. Les acides solubles (AS) sont extraits du filtrat puis méthylés. Les NB et les AS sont fractionnés sur colonne de silice avant analyse (figure II-12).

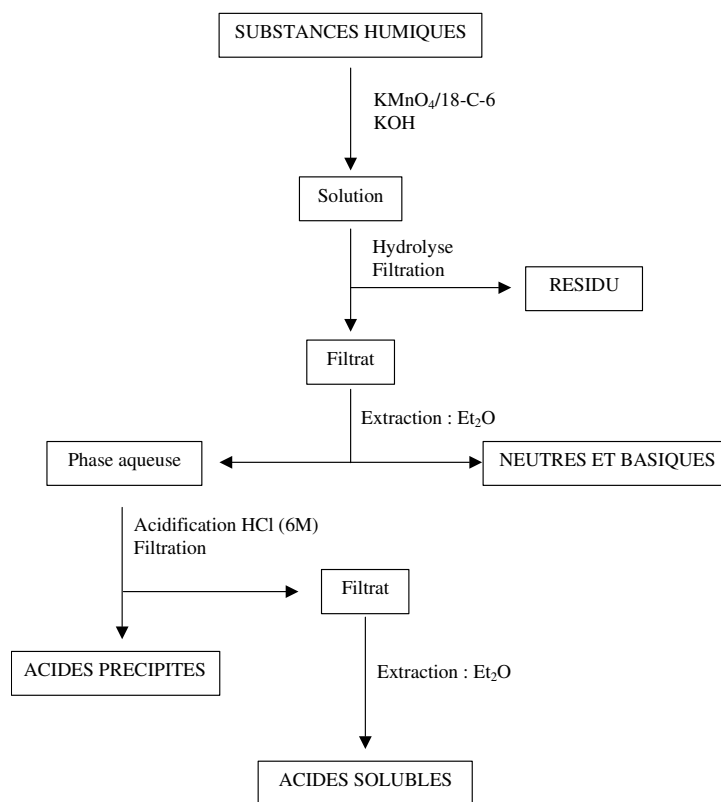


Figure II-12 : Protocole d'extraction des produits obtenus par oxydation permanganique catalysée par transfert de phase.

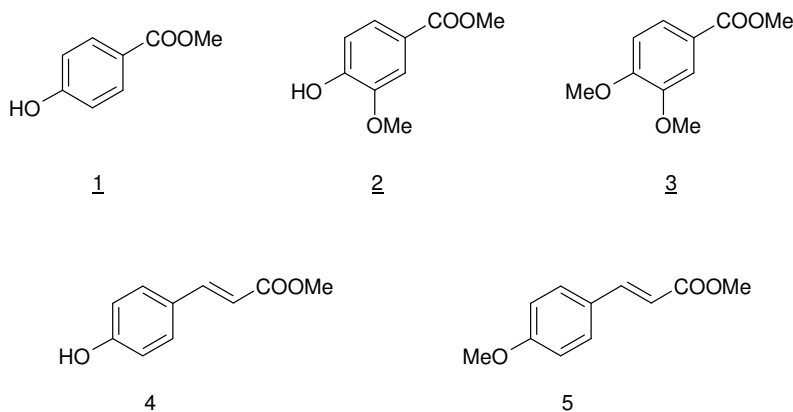
Des essais ont été réalisés dans deux solvants différents : l'eau puis le méthanol. Le complexe $\text{KMnO}_4/18\text{-C-6}$ en solution méthanolique semble plus performant car la perte de masse est moins importante et les NB et AS sont plus abondants. Une deuxième étape réalisée sur l'humine 30-50 s'est révélée inutile, aucun produit d'oxydation n'ayant été détecté.

Nous avons donc réalisé l'oxydation permanganique sur les 4 échantillons du Marais Poitevin, en une seule étape avec le complexe $\text{KMnO}_4/18\text{-C-6}$ en solution méthanolique. Les abondances relatives des fractions analysables sont 1% de NB dans chaque échantillon, 5 et 7% d'AS pour les acides humiques et 2 et 3% pour les humines. Les quantités des principaux composés identifiés sont reportées dans les tableaux II-9.

Tableau II-9 : Quantités des composés identifiés dans les substances humiques du Marais Poitevin (mg.kg^{-1} de concentrés d'humine et d'acides humiques).

	AH 30-50	AH 70-90	HU 30-50	HU 70-90
hydrocarbures	traces	300	traces	3488
alcools	-	249	1000	814
acides gras	1515	438	2247	1723
α,ω -diacides	252	146	1273	494
composés aromatiques	10605	3978	6740	16084
composés polaires	7800	5700	8383	7907

Ces résultats indiquent une contribution aliphatique importante dans les NB et AS. Les composés aromatiques obtenus (ci-dessous) peuvent avoir des origines diverses (oxydation de liaison insaturée, monosubstituant du réseau macromoléculaire,...).

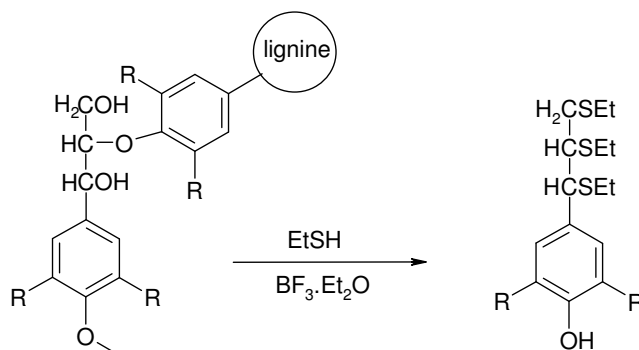


Les résultats de cette réaction sont assez peu satisfaisants dans la mesure où la quantité de produits analysables est faible, la fraction majoritaire étant constituée d'acides lourds (AP). Certains éléments semblent indiquer que les conditions opératoires sont trop douces, comme la présence de doubles liaisons non oxydées (composés 4 et 5 ci-dessus). Il serait sans doute

souhaitable de tenter d'oxyder les AP dans les mêmes conditions ou de les dégrader avec d'autres réactions.

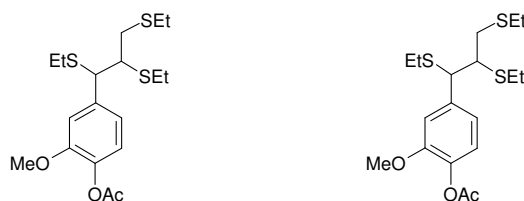
Thioacidolyse

La thioacidolyse est une méthode sélective de dégradation, elle a été mise au point pour l'identification structurale de lignines (Lapierre *et al.*, 1985). Cette technique permet la coupure sélective des ponts alkyl-benzyl-éthers principal mode de liaison entre les unités monomères :



Les lignines étant considérées comme le constituant principal des substances humiques (Flaig *et al.*, 1975; Ertel & Hedges, 1984), la thioacidolyse a été utilisée pour l'analyse des acides humiques (Schwoerer, 1998).

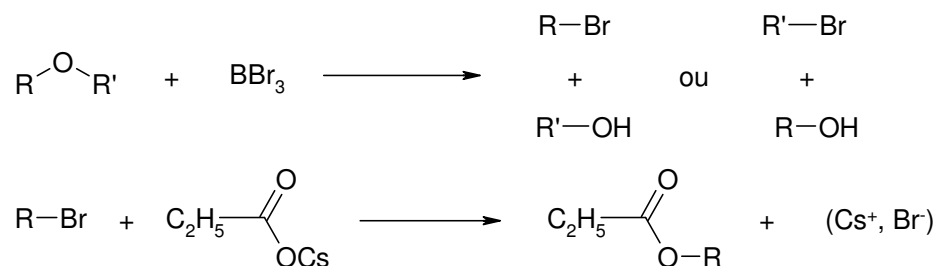
La thioacidolyse a été appliquée aux acides humiques et à l'humine du Marais Poitevin. Le mélange substances humiques, éthanethiol, trifluorure de bore dans le dioxane est chauffé 8 h à 100°C sous atmosphère inerte, puis agité 16 h à température ambiante. Les résultats de cet essai préliminaire sont quelque peu décevants. Les rendements en produits solubles sont faibles (5 à 9 %) et la présence de liaisons β -aryléther n'a été démontrée que dans les humines avec les composés suivants :



Il serait souhaitable de vérifier dans l'avenir, si les faibles rendements obtenus sont structurels ou s'ils peuvent être améliorés avec des conditions opératoires optimisées.

Coupure sélective des liaisons éther

Le tribromure de bore est un réactif fréquemment utilisé pour la coupure des liaisons éther à basse température (Chappe *et al.*, 1981). La réaction libère des bromures d'alkyle et des alcools. Les bromures sont ensuite dérivés en propionates, caractérisés en spectrométrie de masse par l'ion m/z 75 :



Les substances humiques du Marais Poitevin ont été traitées par le tribromure de bore dans le tétrachlorure de carbone sous atmosphère inerte, à température ambiante pendant 72 h. Les propionates d'alkyles témoins de l'existence de composés aliphatiques étherifiés à la matrice n'ont été observés que dans le cas des humines. Leur distribution est présentée sur la figure II-13 dans le cas de l'humine 30-50.

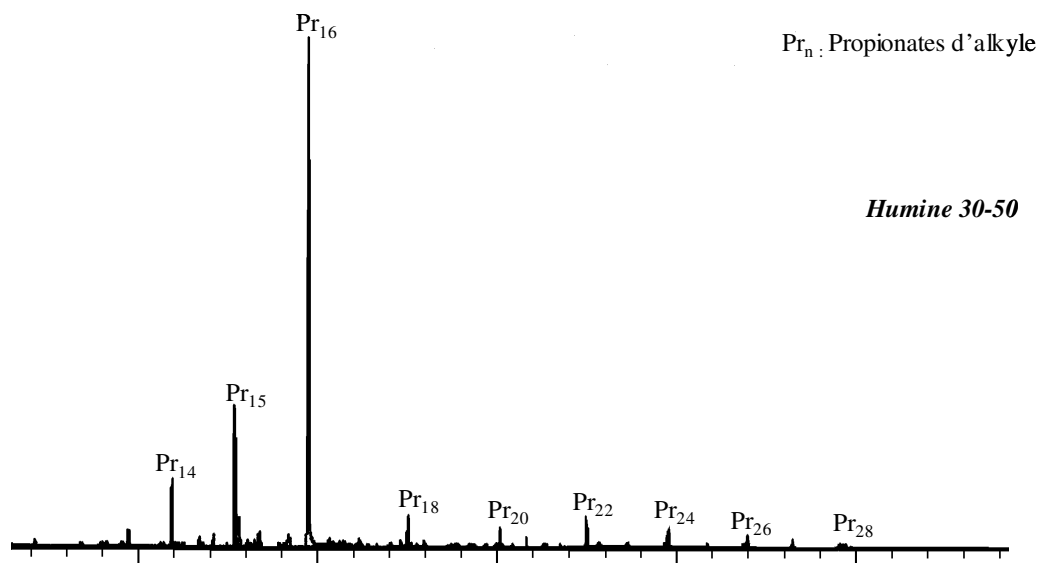


Figure II-13 : Distributions des propionates d'alkyle (suivi de masse $m/z = 75$) dans l'humine du Marais Poitevin.

Les rendements de cette réaction sont décevants (2 à 4 %). Cela peut être la conséquence d'une faible participation des liaisons éther dans la structure des substances humiques mais il faudrait vérifier dans l'avenir la pertinence de l'étape de dérivation en propionates.

Dégradations enzymatiques

Cellulase

Les travaux déjà menés au laboratoire (Grasset et Amblès, 1998c) ont montré que la cellulose est un constituant important de la structure des substances humiques. La cellulase *Trichoderma reesei* dégrade les liaisons cellulosiques, libérant ainsi les composants organiques piégés par celles-ci. Le protocole est le suivant : l'échantillon est placée en présence de cellulase dans une solution tampon de citrate de sodium (pH 5). La solution est agitée durant 3 jours à 37°C, centrifugée puis extraite à l'éther. Les acides obtenus sont méthylés par le triméthylsilyl-diazométhane (TMS-CHN₂). La cellulase appliquée aux humines du Marais Poitevin libère des composés aliphatiques (hydrocarbures, acides gras) qui étaient donc piégés dans la partie cellulosique du réseau macromoléculaire. Leur distribution est présentée sur la figure II-14.

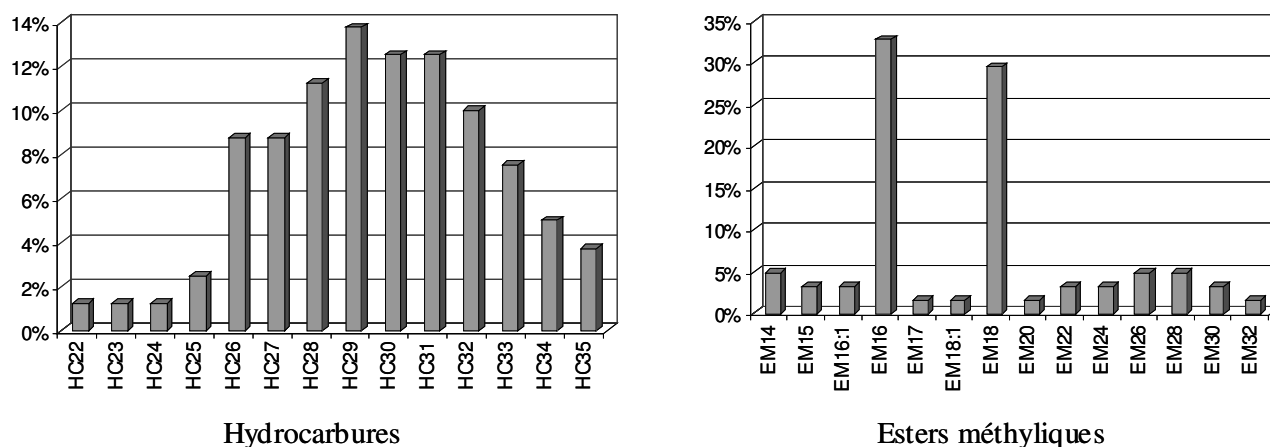


Figure II-14 : Distribution des hydrocarbures et des esters méthyliques obtenus par action de la cellulase sur l'humine 30-50.

La distribution des acides est identique à celle obtenue par thermochimioolyse tandis que ceux obtenus par hydrolyse alcaline (Grasset, 1997) présentaient un mode long plus abondant. La comparaison des résultats obtenus par ces différentes méthodes permet de différencier les acides liés par fonction ester de ceux piégés dans le réseau humique.

Estérase

La thermochimioolyse et l'hydrolyse alcaline ont montré l'importance des liaisons ester dans la structure du réseau humique. L'estérase extraite du foie de porc (porcine liver esterase-PLE) a pour propriété d'hydrolyser les liaisons ester en acide et alcool. Cette enzyme a été appliquée aux humines du Marais Poitevin selon le protocole suivant : 10 unités de PLE

(Aldrich) par mg de matière organique à traiter sont mises en solution dans 30 cm³ de solution tampon pH 7,2 (phosphates 10⁻² mol/l). 200 mg d'échantillon sont mis en suspension dans cette solution. Le mélange est agité 72 heures sous atmosphère inerte. La solution est ensuite centrifugée puis extraite au chloroforme. Les acides libérés sont méthylés par le triméthylsilyl-diazométhane (TMS-CHN₂). Dans le cas de l'humine 30-50 cm, les acides gras obtenus sous forme d'esters méthyliques étaient estérifiés au réseau macromoléculaire et présentent la même distribution que ceux libérés par thermochimiolyse. Leur distribution est présentée sur la figure II-15.

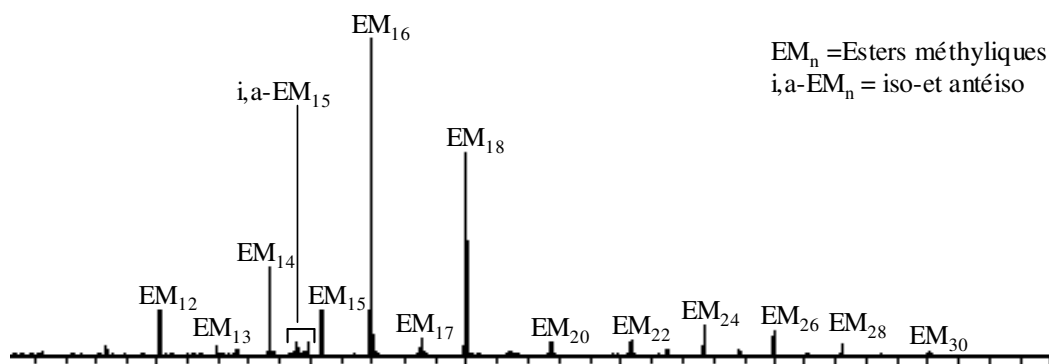


Figure II-15 : Distribution des esters méthyliques (suivi de masse $m/z = 74$) obtenus par action de l'estérase sur l'humine 30-50.

Les rendements de dégradation enzymatique sont dans tous les cas très faibles (<1 %). Les conditions opératoires peuvent certainement être optimisées. Ces dégradations sont cependant prometteuses puisque leur association avec la thermochimiolyse permet de distinguer les composés liés par fonction ester de ceux retenus par liaisons de faible énergie.

2.4 – Conclusion

Les acides humiques et l'humine de trois tourbes acides, d'une tourbe calcique et d'un sol calcique ont été caractérisés par spectroscopie puis par thermochimiolyse analytique et préparative en présence de divers agents alkylants. Ces analyses ont ensuite été complétées par des réactions de dégradation chimiques ou enzymatiques plus sélectives. Des structures aliphatiques substituant la matrice ou liées en pont dans le réseau macromoléculaire ainsi que de nombreux motifs ligneux sont mis en évidence. L'importance des liaisons de faible énergie est soulignée.

3. Utilisation de tourbes en traitement de dépollution

Les eaux de ruissellement de carrières présentent parfois une forte acidité ($3 < \text{pH} < 5$) et des concentrations élevées en métaux lourds. Ces problèmes, bien connus dans le domaine minier, sont principalement causés par l'oxydation de minéraux sulfurés en sulfates solubles, entraînés par les eaux de ruissellement. Ces eaux acides (acid mine drainage, AMD) présentent un danger pour l'environnement et doivent être traitées avant rejet.

Dans le cadre d'une convention avec le Comité National de la Charte Professionnelle des Producteurs de Granulats (ENCENM) en partenariat avec ses comités régionaux (Bretagne, Basse Normandie, Pays de la Loire et Poitou-Charentes), le Conseil Régional de Bretagne et la Communauté Européenne, nous nous sommes intéressés aux eaux d'exhaure d'une carrière située à Gandouin dans le Morbihan (56). Leurs caractéristiques chimiques sont données dans le tableau II-10.

Tableau II-10 : Caractéristiques chimiques de l'eau du site de Gandouin (janvier 1997).

pH	Conductivité ($\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$)	Al ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	Fe ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	Mn ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	Zn ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	Cu ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	Ni ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)	SO_4^{2-} ($\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$)
2,9	1113	47,5	12,5	2,9	1,8	1,7	0,7	559

La dépollution des eaux d'exhaure par le procédé dit des "Terre Humides" (Wetlands) représente une alternative intéressante aux traitements chimiques. Pour la plupart des essais rapportés dans la littérature, on constate un manque de pérennité, vraisemblablement dû à la dégradation de la matière organique. Dans le but de comprendre les mécanismes de dépollution et de mettre au point un système de traitement efficace et pérenne, nous avons évalué l'impact du traitement des eaux sur la matière organique de la tourbe utilisée. Différents modèles ont été mis en place (colonne, maquette et pilote de terrain) en collaboration avec le laboratoire Hydr'ASA (Hydrogéologie, Argile, Sols, Altération, UMR 6532) et le laboratoire de Chimie de l'Eau et de l'Environnement (UMR 6008).

La tourbe utilisée pour le traitement a été prélevée entre 0 et 250 cm, dans le Marais de Mazerolles à Nort sur Erdre (44). Il s'agit d'un sédiment légèrement acide (pH 5,1), riche en matière organique (67 %) et âgé de 1000 ans à 250 cm.

3-1. Essai sur colonne

Une colonne de tourbe a été mise en place. Une couche de gravier silico-calcaire permet de tamponner le pH d'entrée. Après 300 jours de fonctionnement avec un débit en AMD d'environ 50 mL.h^{-1} , la tourbe de la colonne (figure II-16) a été fractionnée en deux échantillons :

- la surface (0-20 cm) encore aérobie,
- le fond (20-40 cm), où les conditions semblent anaérobies.

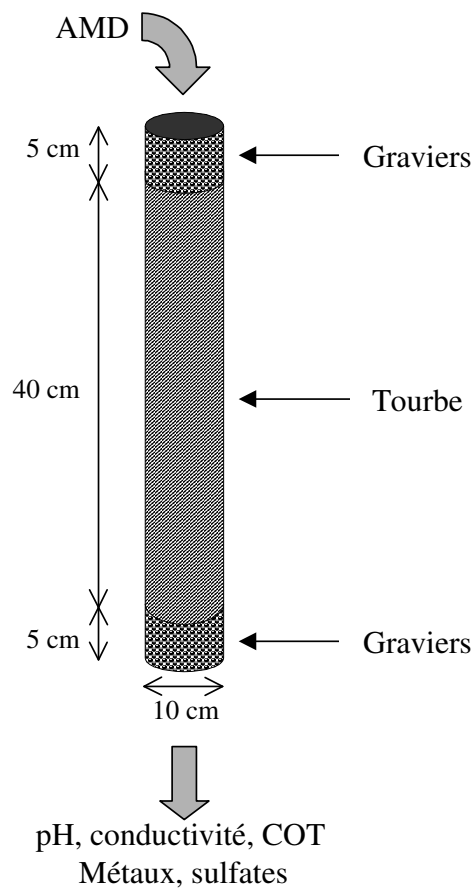


Figure II-16 : Description de la colonne modèle (Laboratoire Hydr'ASA).

Tableau II-11: Analyse élémentaire de la tourbe de la colonne après 300 jours de fonctionnement

<i>Échantillon</i>	<i>% MO¹</i>	<i>H/C atomique</i>
<i>Colonne 0-20</i>	78	1,49
<i>Colonne 20-40</i>	76	1,54

(¹ : perte au feu à 800°C)

Les analyses chimiques globales sont présentées dans le tableau II-11. La répartition des différentes formes de matière organique de la tourbe de la colonne, après 300 jours de fonctionnement est présentée sur la figure II-17. Les proportions sont différentes de celles observées pour la tourbe initiale.

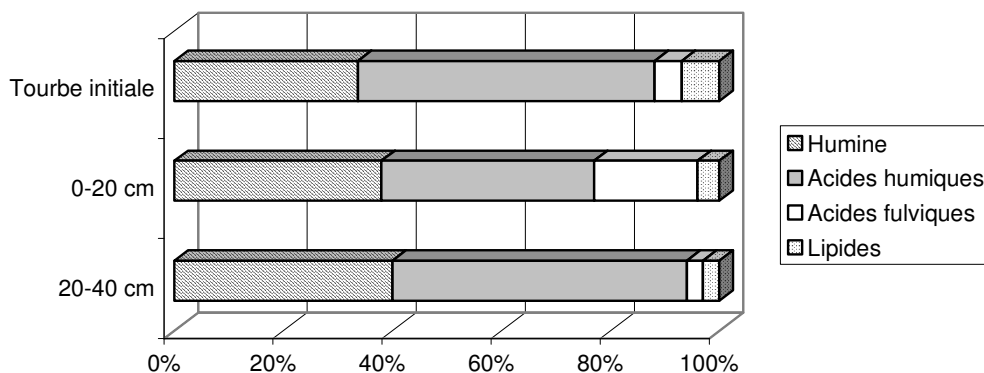


Figure II-17 : Proportions des différentes fractions organiques (pourcentages massiques de la MO totale).

L'humine, totalement insoluble est stable car peu mobilisable. Au contraire les fractions plus solubles subissent des variations au cours du traitement. Le rapport acides humiques / acides fulviques est plus faible dans la partie supérieure de la colonne, indiquant une fragilisation de la matière organique. Les lipides, probablement mobilisés par le flux d'eau acide voient leur quantité diminuer légèrement par rapport à la tourbe initiale.

Les acides humiques et l'humine, ont été étudiés au moyen d'analyses globales (tableau II-12) puis ont été caractérisés par pyrolyse analytique en présence de TMAH.

Tableau II-12 : Analyse élémentaire des substances humiques de la colonne.

		% MO	H/C atomique	C/N massique
0-20 cm	<i>Humine</i>	65	1,50	19,50
	<i>Ac. humiques</i>	88	1,20	16,84
20-40 cm	<i>Humine</i>	60	1,59	17,08
	<i>Ac. humiques</i>	90	1,29	15,18

Thermochimie analytique (TMAH)

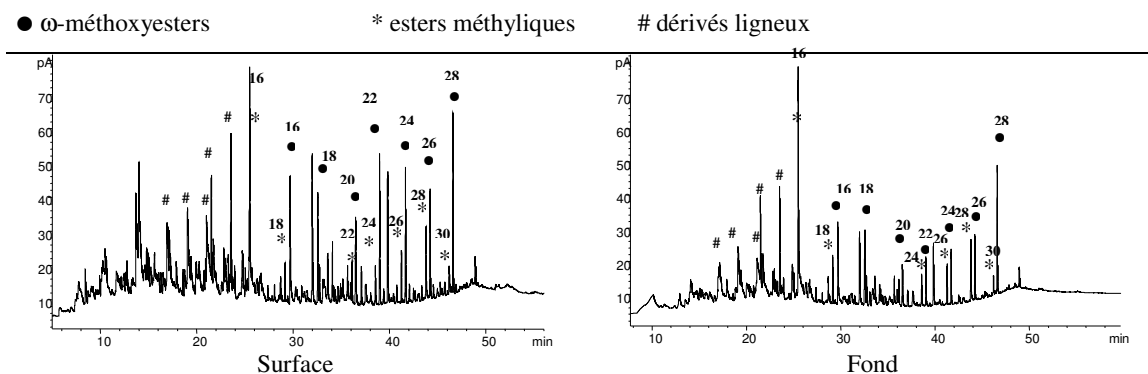


Figure II-18 : Pyrogrammes de l'humine de la colonne.

Des modifications structurales, probablement liées à des réactions d'oxydation et à l'activité bactérienne, ont été mises en évidence : les esters méthyliques observés dans le cas des humines (figure II-18) suivent des distributions sensiblement différentes de celle de l'humine initiale. De plus, la présence d' ω -méthoxyesters méthyliques en quantité importante montre que la matière organique a connu des phases oxydantes. La pyrolyse des acides humiques libère des hydrocarbures linéaires, manifestement d'origine bactérienne. Leur présence, plus forte en profondeur, montre l'influence de l'activité bactérienne sur la matière organique.

3-2. Maquette

Une maquette a été mise au point au Laboratoire Hydr'ASA, dans le but de se placer dans les conditions d'écoulement de l'installation finale. Le débit en AMD a été progressivement amené à $500 \text{ mL}\cdot\text{h}^{-1}$.

Après 430 jours de fonctionnement, le taux de matière organique dans la maquette (figure II-19) est le même que celui de la tourbe initiale (tableau II-13) mais une forte modification des proportions des différentes formes de matière organique est constatée (figure II-20).

Les substances humiques ont été caractérisées globalement (tableau II-14) puis étudiées par thermochimie analytique.

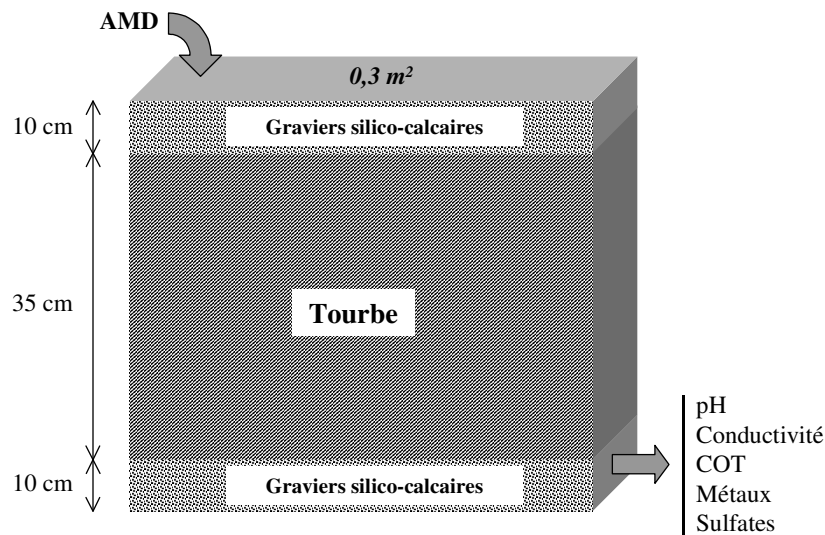


Figure II-19 : Description schématique de la maquette (Laboratoire Hydr'ASA).

Tableau II-13 : Analyse élémentaire de la tourbe de la maquette.

% MO ¹	% C	% H	% N	% S	H/C atomique
67 %	31,0	4,5	1,4	1,3	1,7

(1 : perte au feu à 800°C)

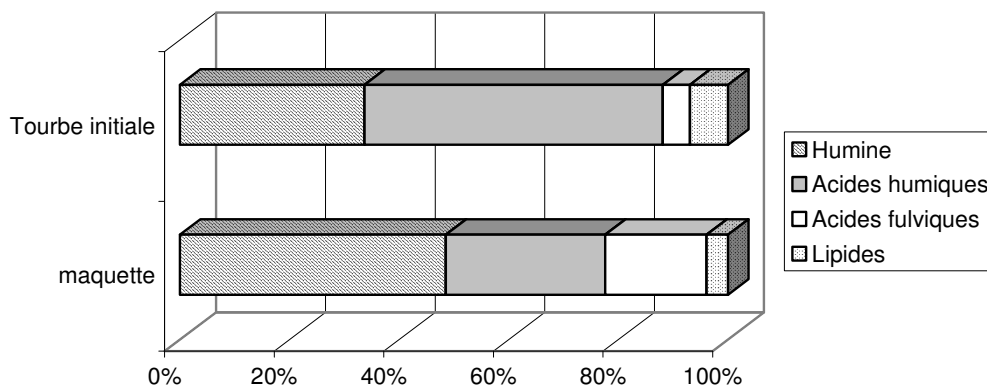


Figure II-20 : Proportions des différentes fractions organiques (pourcentages massiques de la MO totale).

Tableau II-14 : Analyse élémentaire des substances humiques de la maquette.

	% MO ¹	H/C _{atomique}	C/N _{massique}
Humine	60,4 %	1,54	16,5
Acides humiques	84,5 %	1,17	16,7

(1 : Perte au feu à 800°C)

Thermochemiolyse analytique (TMAH)

Les principaux produits obtenus par pyrolyse (figure II-21) sont des composés aromatiques (dérivés de la lignine), des esters méthyliques et des ω-méthoxyesters méthyliques. Les esters méthyliques obtenus dans le cas des humines suivent une distribution sensiblement identique à celle de l'humine initiale. Par contre, les acides humiques conduisaient à des esters majoritairement courts (<C₂₀). Cet accroissement du mode long indique une plus forte décomposition des micro-résidus végétaux présents. Dans les deux pyrolysats, les ω-méthoxyesters méthyliques ont la même distribution. Ils sont plus abondants que dans les pyrolysats des substances humiques initiales. Les composés aromatiques obtenus sont les mêmes pour les acides humiques et l'humine. Ils sont identiques à ceux observés pour les substances humiques initiales.

● ω-méthoxyesters * esters méthyliques # dérivés ligneux

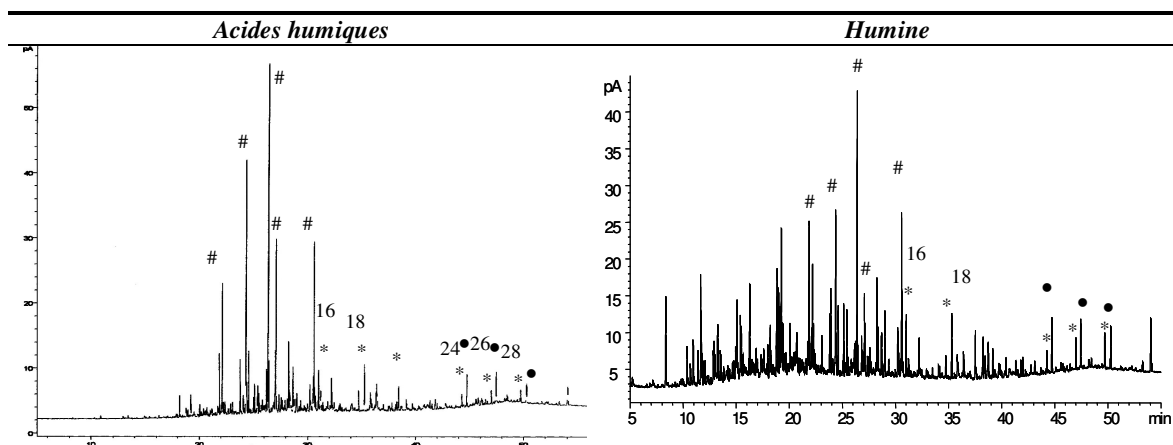


Figure II-21 : Chromatogrammes des pyrolysats des substances humiques de la maquette.

3-3. installation pilote sur site

L'étude de la matière organique de ces différents modèles a mis en évidence l'influence du traitement sur la structure de la matière organique et permis la mise en place d'un pilote de terrain (figure II-22). Celui-ci a été dimensionné pour un débit de $10 \text{ m}^3 \cdot \text{j}^{-1}$. Il est constitué de 3 bassins. Le premier, alimenté en AMD permet de réguler le débit. Le bassin de traitement est constitué de 100 m³ de tourbe disposée entre 2 drains calcaires. le bassin de contrôle permet de déterminer si la qualité des eaux est suffisante ($\text{pH} > 6$) pour être rejetées vers le milieu naturel. Si ce n'est pas le cas, elles sont redirigées vers le bassin tampon.

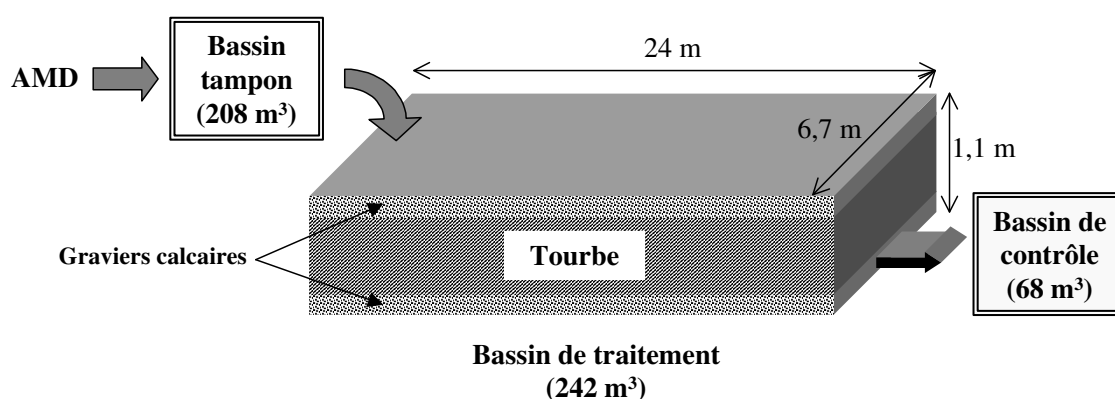


Figure II-22 : Description schématique du pilote de Gandouin.

La tourbe du pilote a fait l'objet d'un premier prélèvement à 4 mois puis après 10 mois de fonctionnement. Les caractéristiques globales ainsi que la répartition des différentes formes de matière organique sont reportées respectivement dans le tableau II-15 et sur la figure II-23. Deux profondeurs (0-50 cm et 50-100 cm) ont été distinguées mais se révèlent sensiblement homogènes. Les échantillons prélevés après 10 mois de fonctionnement sont plus hétérogènes : le niveau supérieur est plus riche en matière organique et plus aromatique que le niveau plus profond, ceci étant probablement une conséquence de la sédimentation.

Tableau II-15 : Analyse élémentaire de la tourbe du pilote de terrain.

Échantillon	Profondeur	% MO ¹	H/C atomique
4 mois	0-50 cm	74,7 %	1,7
	50-100 cm	70,6 %	1,8
6 mois	0-50 cm	77,0 %	1,6
	50-75 cm	61,6 %	1,7
	75-100 cm	66,2 %	1,9

(¹ : perte au feu à 800°C)

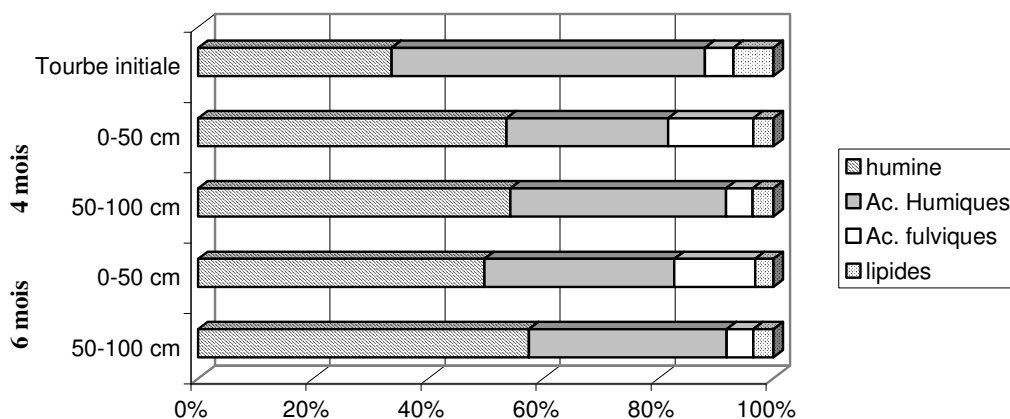


Figure II-23 : Répartition des différentes formes de matière organique du pilote (pourcentages massiques de la MO totale).

Thermochimiolyse (TMAH)

La tourbe brute et les substances humiques du pilote ont été caractérisés par thermochimiolyse (figure II-24). Les principaux produits obtenus sont des composés aromatiques, des esters méthyliques d'acides gras et des ω -méthoxyesters méthyliques. La thermochimiolyse ne montre pas d'évolution pendant les 10 premiers mois du traitement. De nombreuses raisons peuvent expliquer cette inertie apparente, en comparaison des modèles de laboratoire, notamment la température extérieure.

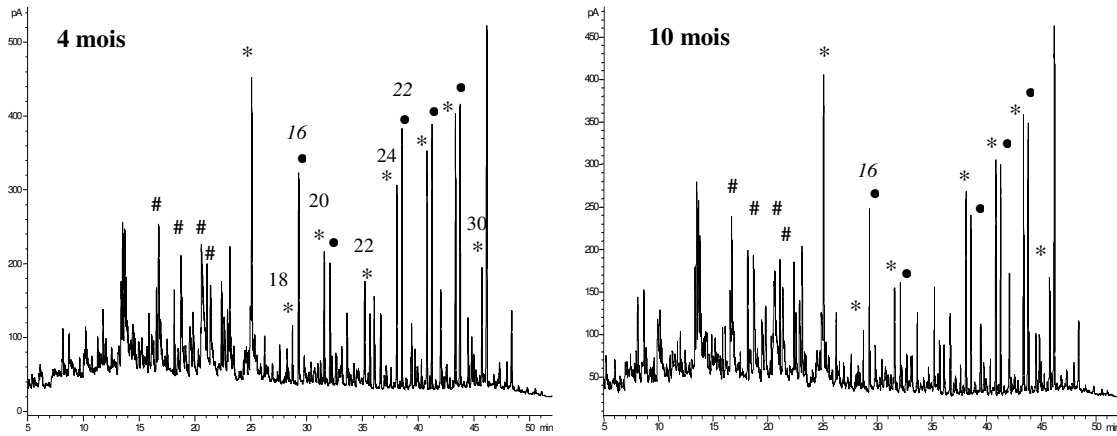


Figure II-24 : Pyrogrammes de la tourbe du pilote.

La quantité relative d'acides gras libérés par thermochimioolyse des acides humiques de la tourbe du pilote (figure II-25) est nettement plus faible que celle obtenue à partir de la tourbe initiale. Par contre on ne note pas d'évolution notable entre les pyrolysats obtenus après 4 et 10 mois de traitement, ce qui semble indiquer une phase de stabilisation.

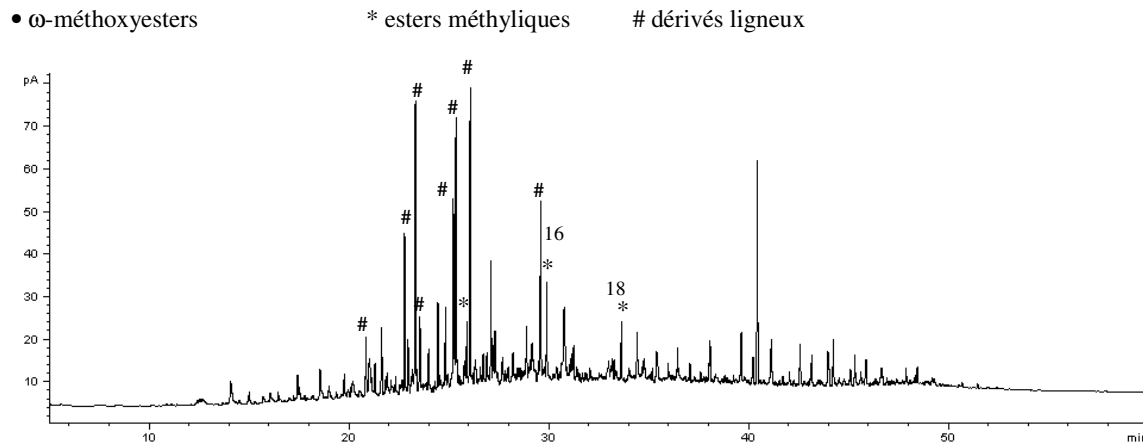


Figure II-25 : Pyrogramme des acides humiques du pilote, surface t=10 mois.

L'installation pilote procure un traitement efficace des eaux, sans modification notable de la matière organique pendant les 10 premiers mois.

3-4. Conclusion

La modélisation en laboratoire sur colonne puis maquette nous a permis d'observer l'évolution de la répartition et de la structure de la matière organique de la tourbe utilisée pour le traitement.

Le suivi de l'installation pilote sur site révèle une évolution similaire et semble indiquer une phase de stabilisation.

Les essais en laboratoire permettent donc de prévoir l'évolution de la matière organique en unité de traitement à plus ou moins long terme : on peut s'attendre à une fragilisation de la matière organique probablement accompagnée d'une fuite de carbone.

Cette perte de matière organique sera facilement compensée par un apport de carbone organique-déchets ou de matière organique fraîche issue par exemple de la végétation que l'on a pu voir se développer naturellement sur le pilote.

Ce système constitue une alternative économique et écologique aux traitements chimiques. Il importe néanmoins de surveiller régulièrement la matière organique afin d'éviter toute dégradation de ses propriétés.

PARTIE III

ETUDE DE LA MATIERE ORGANIQUE DES SEDIMENTS ANCIENS

DEMARCHE :

Etude d'un lignite

Etude des sédiments anciens

matière organique soluble

matière organique insoluble

Rôle de la matière organique sédimentaire dans le transport de radionucléides

ETUDIANT :

L. Lavergne DEPSUP 96

V. Bruan DEA 98

H. HADDAOUI DEA 01

Partenaires Industriels et Universitaires :

Université de Marrakech, Maroc (K. El Harfi, L. Bilali)

Université de Kénitra, Maroc (A. Kribii)

Institut de Protection et de Sûreté Nucléaire (IPSN)-CEA

Valorisation :

2 publications

2 Communications

1. Etude de la matière organique d'un lignite

La production mondiale de lignite représente actuellement 940 millions de tonnes par an. L'Allemagne est le plus gros producteur avec 190 millions de tonnes et le plus gros consommateur. Cependant son utilisation en tant que source énergétique pose un problème environnemental, lié à l'émission de gaz carbonique (Rheinbraun AG 1997). Il est donc urgent de trouver de nouvelles voies de valorisation. La dépolymérisation par voie biologique semble intéressante, les unités libérées pouvant être utilisées comme matières premières secondaires (Fakoussa et Hofrichter, 1999).

Le sédiment étudié au cours de ce travail est un lignite de type " lithotype A" extrait d'une mine à ciel ouvert située à Bergheim près de Cologne en Allemagne, par la société Rheinbraun.

Le taux de matière organique déterminé par combustion à 800°C est très élevé (96% du sédiment sec). L'analyse élémentaire (tableau III-1) fait apparaître un rapport atomique H/C atomique relativement faible, caractéristique d'une matière organique plutôt aromatique.

Tableau III-1: Analyse élémentaire du lignite

C%	H%	N%	O%*	S%	H/C _{atomique}
36,93	2,97	0,36	55,94	-	0,96

*Obtenu par différence

Le spectre infra rouge du lignite indique la présence de groupements hydroxyles (3400 cm^{-1}) et carbonyles (1720 cm^{-1}) ainsi que de liaisons C-H aliphatiques (2920 et 2850 cm^{-1}) et C=C oléfiniques (1630 cm^{-1}).

Les différentes formes de matière organique ont été séparées, leur répartition présentée sur la figure III-1 montre que l'humine et les acides fulviques sont les deux fractions les plus abondantes.

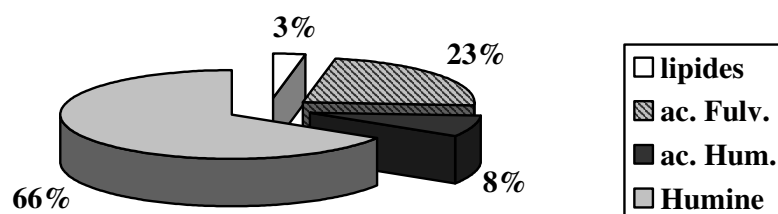


Figure III-1 : répartition des différentes formes de matière organique du lignite

1-1. Analyse des lipides

Les lipides ont été fractionnés, les résultats quantitatifs sont présentés dans le tableau III-2. Les chromatogrammes montrant la distribution des principales familles de composés sont présentés sur la figure III-2. L'analyse de ces différentes fractions lipidiques traduit une origine végétale. Les composés majoritaires sont des hydrocarbures polyaromatiques et des esters méthyliques. Des hydrocarbures linéaires sont présents ainsi que des triterpanes diagénétiques (méthylstéranes et $\alpha\beta$ et $\beta\alpha$ -hopanes) caractéristiques d'un sédiment évolué. La présence d'alcools et d'aldéhydes peut témoigner de phénomènes d'oxydation.

Tableau III-2 : Résultats quantitatifs du fractionnement des lipides (mg/kg de sédiment sec)

composés	Quantité (ppm)
Hydrocarbures linéaires	674
Hydrocarbures polycycliques aromatiques	2211
aliphatiques	211
Aldéhydes, cétones	153
Alcools (acétylés)	128
Acides gras (méthylés)	1698
LMN	632
LMA	3761
polaires	9132

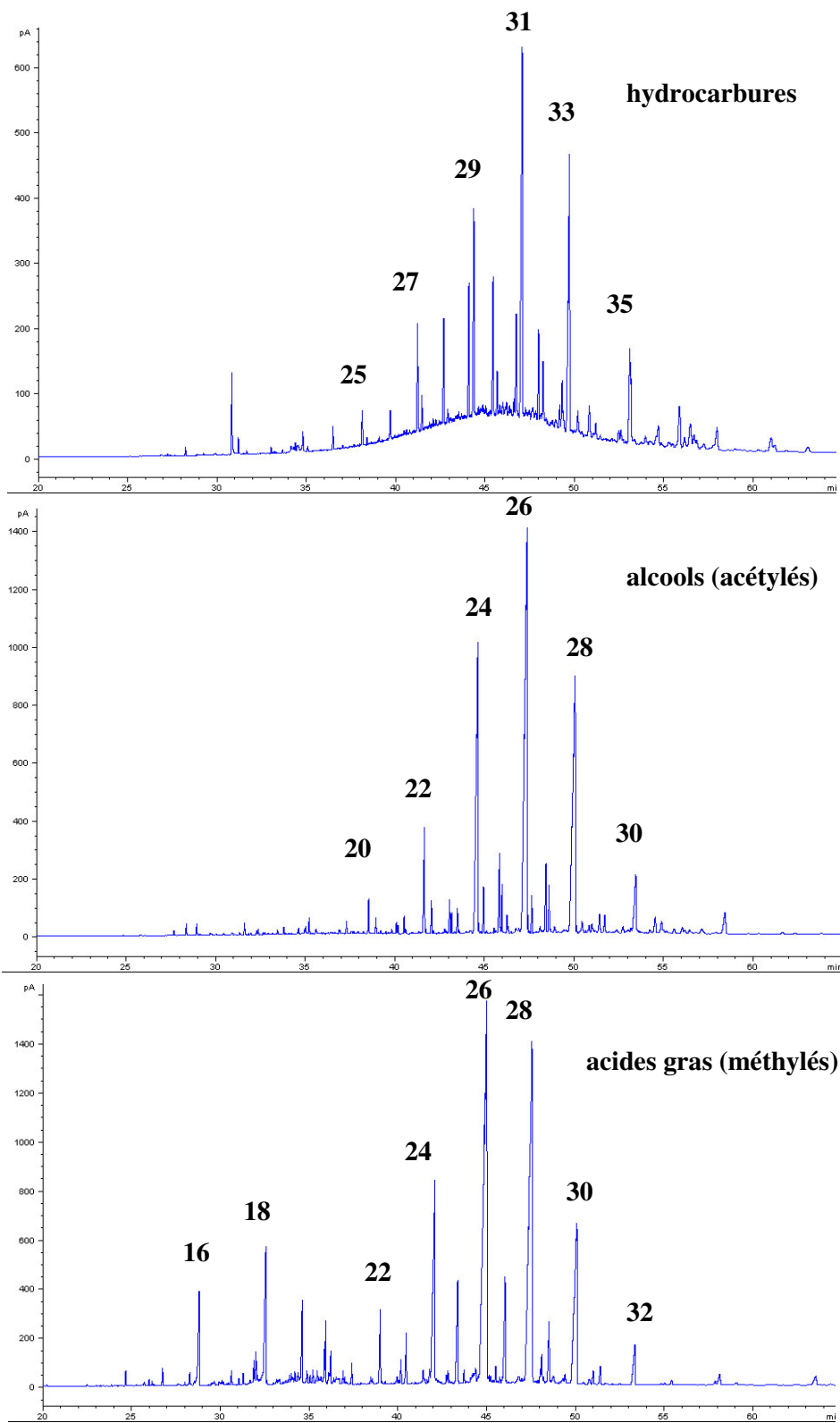


Figure III- 2 : Chromatogrammes des principales fractions lipidiques

1-2. Analyse des substances humiques

L'analyse élémentaire des substances humiques (tableau III-3) montre une humine légèrement plus aliphatique que les acides humiques.

Tableau III-3 : analyse élémentaire des substances humique du lignite

Fraction	C	H	O*	N	S	résidu	H/C <i>atomique</i>
Humine	43,72	4,01	40,56	0,60	1,52	22,122	1,10
Ac.Hum	51,93	3,62	43,55	0,74	0,16	2,5247	0,83

* obtenu par différence

Les substances humiques ont été caractérisées par analyse thermique différentielle (ATD), analyse thermogravimétrique (ATG). Les courbes obtenues pour le lignite, les acides humiques et l'humine avec une montée en température de 5°C/min sous azote suivent des évolutions parallèles (figures III-3 et III-4). Le 1^{er} endotherme vers 80°C correspond à une déshydratation. La perte de masse la plus importante, correspondant au 2^{ème} endotherme vers 500°C, est liée à la volatilisation d'hydrocarbures.

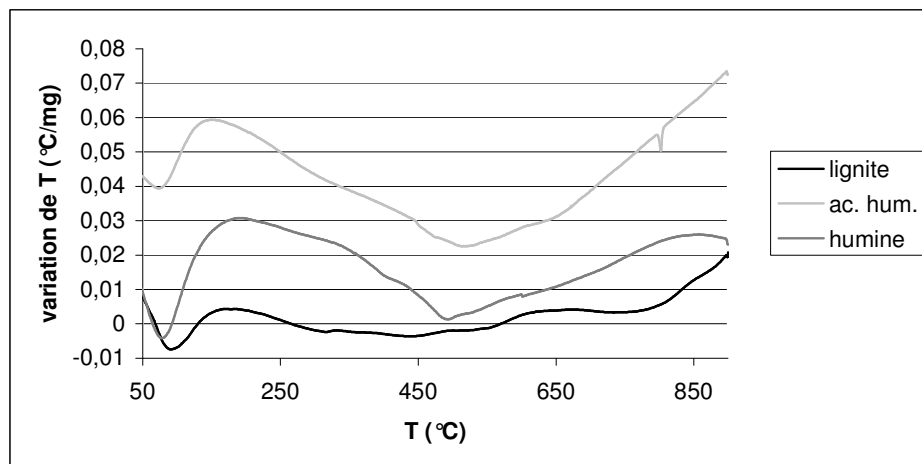


Figure III-3 : Analyse Thermique Différentielle

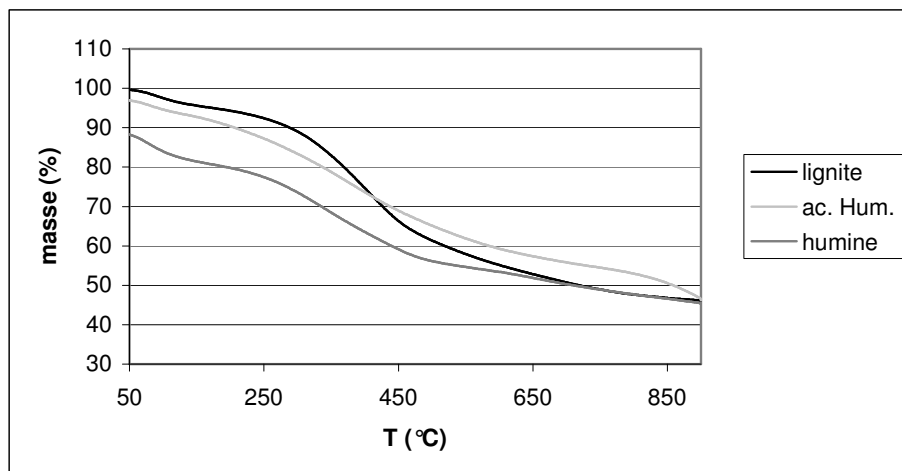


Figure III-4 : Analyse Thermogravimétrique

Les acides humiques et l'humine ont été caractérisés par thermochimiolysé en présence de TMAH. Les pyrogrammes (figures III-5 et III-6) font apparaître dans les deux cas une forte proportion de composés aromatiques, dérivés de la lignine (figure III-7) accompagnés d'une quantité beaucoup plus faible d'esters méthyliques qui témoignent de la présence de chaînes aliphatiques liées à la matrice par liaison ester. Dans le cas des acides humiques, on observe des hydrocarbures linéaires, probablement piégés dans le réseau macromoléculaire et libérés par le traitement thermique.

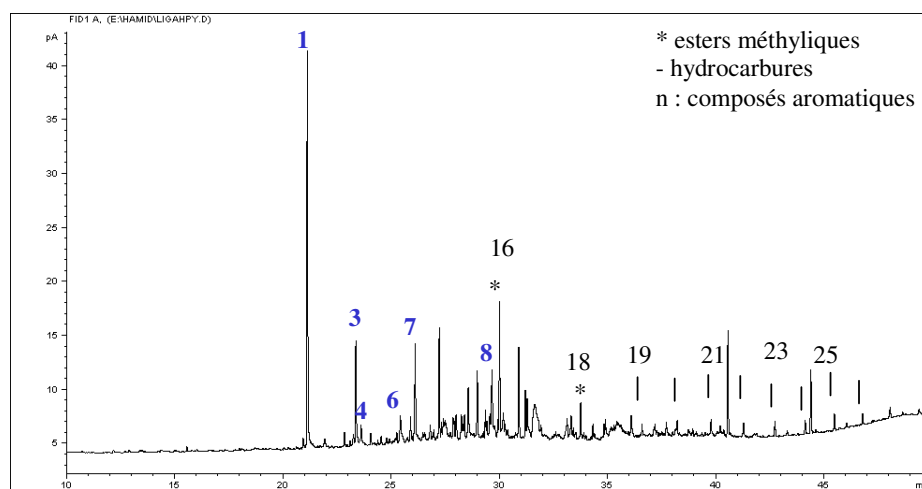


Figure III-5 : Pyrogramme obtenu par thermochimiolysé (TMAH) des acides humiques

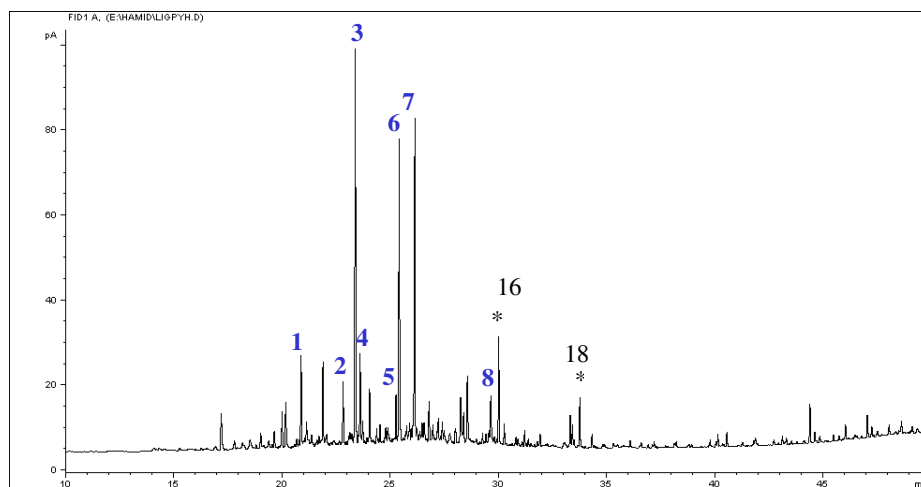


Figure III-6 : Pyrogramme obtenu après thermochimolyses (TMAH) de l'humine

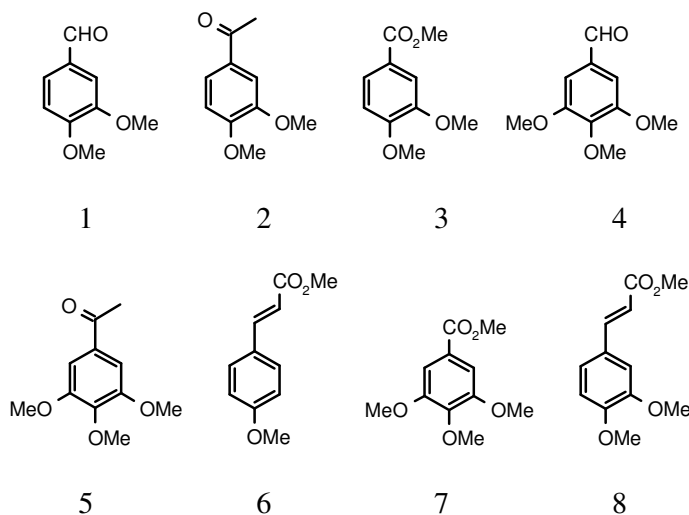


Figure III-7 : principaux motifs ligneux obtenus par thermochimolyses

1-3. Conclusion

Les différentes formes de matière organique présentes dans le lignite ont été étudiées. Les lipides, majoritairement constitués de composés polaires ont une origine végétale. Des biomarqueurs caractéristiques d'un sédiment évolué sont identifiés. La présence de molécules oxygénées indique que des phénomènes d'oxydation ont pu exister au cours du dépôt.

En ce qui concerne les substances humiques, les analyses thermogravimétrique et thermique différentielle ont donné peu d'informations. La thermochimolyses, au contraire s'est montrée bien adaptée à ce matériau en permettant une caractérisation plus fine de leur structure moléculaire. Une forte contribution ligneuse a pu être observée ainsi que la présence de chaînes aliphatiques liées à la matrice par liaison ester. Dans le cas des acides humiques, des hydrocarbures probablement piégés dans le réseau ont été détectés.

2. Etude de la matière organique des sédiments anciens

La matière organique présente dans les sédiments existe essentiellement sous forme de kérogène (95%), ou matière organique totalement insoluble dans les solvants organiques. Dès son dépôt, elle va subir des transformations, d'abord biochimiques (pré-diagenèse) puis liées à l'enfouissement, essentiellement l'augmentation de la température et de la pression (diagenèse, métagenèse...) avec un effet catalytique possible des minéraux. A terme, le kérogène devenu mature conduit par craquage au pétrole et/ou au gaz (figure III-8). La fraction minoritaire ou bitumes, soluble dans les solvants organiques, est constituée de molécules ayant subi peu de transformations. Parmi ces molécules, certaines structures biochimiques ne sont produites que par des organismes spécifiques et/ou dans des environnements particuliers. La recherche de ces biomarqueurs peut être utilisée pour vérifier ces évènements.

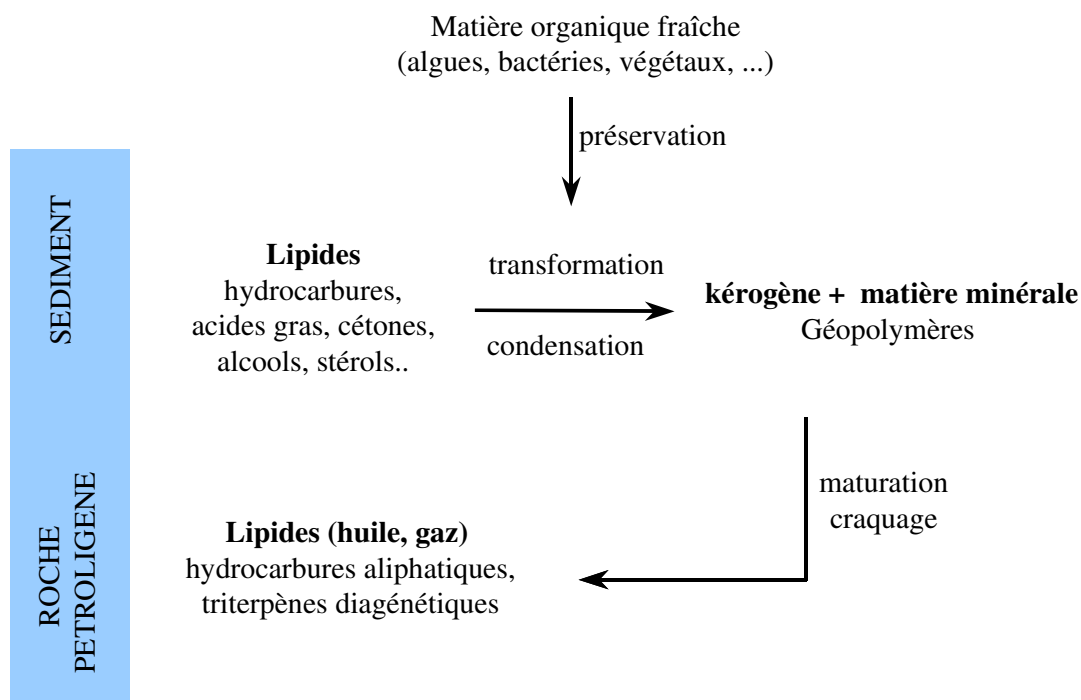


Figure III-8 : Formation et évolution de la matière organique sédimentaire.

L'étude des différentes formes de matière organique présentes dans les schistes bitumineux a été entreprise. Les échantillons que nous avons choisis sont originaires du Maroc, et proviennent de deux bassins sédimentaires qui comptent parmi les plus importants : Tarfaya et Timahdit (Crétacé).

Le gisement de Tarfaya s'étale sur une superficie de 1900 km² dans les provinces sahariennes, sur la côte Atlantique, face aux îles Canaries. Ce gisement est constitué de marnes à matière organique du Crétacé Moyen et Supérieur. Une grande partie de la série du Crétacé est constituée par des schistes bitumineux, avec des teneurs variables en matière organique. Les rendements en huile peuvent atteindre 100 L/t (Leine, 1984). Nous nous sommes intéressés aux couches R1 et R3.

Le gisement de Timahdit est situé dans les montagnes du Moyen Atlas et s'étale sur une superficie de 1 000 km². Il est constitué par une veine de schiste de 100 à 150 m d'épaisseur (Rahali, 1970) à teneur variable en matière organique (15-20% de CO par couche) dans un environnement de basalte, de calcaire et de marne (Benalioulhaj, 1989). Ce gisement peut fournir 90L/t d'hydrocarbures (Broquet, 1988 ; Zemmouri et Broquet, 1977). Sa matière organique est d'origine lacustre ou marine. La répartition des différentes couches (Alpern, 1981 ; Bikri, 1984) est présentée dans le tableau III-4. Nous nous sommes intéressés au kérogène de la couche Y.

Tableau III-4 : Répartition des couches des gisements de Tarfaya et Timahdit

	Couches	Epaisseurs (m)	Teneur moyenne en Huile (L/t)	Matière organique (%)
Tarfaya	R0	11,6	66,4	-
	R1	7,3	74,0	19,6
	R2	3,8	60,0	-
	R3	3,8	74,0	16,7
	R4	2,5	66,4	-
Timahdit	T	25	62	-
		18	85	18
		2	96	20,4
	Y	8	116	21,6
	X	14	101	18,5
	M	10	80	15,5

Les différentes formes de matière organique des deux sédiments ont été fractionnées (tableau III-5) selon le protocole présenté sur la figure III-9. Je présenterais ici la matière organique soluble de Tarfaya et la matière organique insoluble de Timahdit.

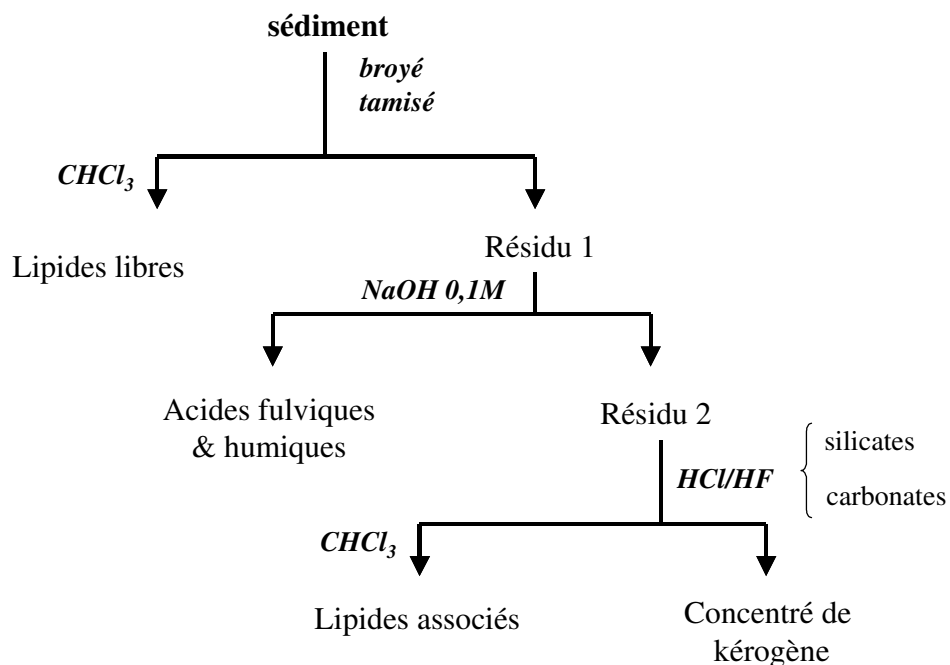


Figure III-9 : Protocole de fractionnement de la matière organique sédimentaire.

Tableau III-5 : Résultats du fractionnement de la matière organique des sédiments

	Carbonates	Silicates	Lipides	Kérogène vrai
Tarfaya R1	65	8,5	1,2	19,6
Tarfaya R3	68	10,3	1,1	16,7
Timhadit Y	37,9	38,8	1,5	14,9

2-1. Etude de la matière organique soluble

La matière organique soluble des sédiments est intéressante car elle est représentative de l'évolution de la biomasse originelle. Si le sédiment est peu évolué, les lipides correspondent aux molécules caractéristiques du monde vivant aquatique ou terrestre. A l'opposé, les transformations plus ou moins importantes que subissent certaines biomolécules durant leur enfouissement conduiront à la formation de composés fossiles. La recherche de ces « indices

moléculaires » est très utilisée en exploitation pétrolière pour déterminer l'origine, le paléoenvironnement, la maturité et les conditions de dépôt des sédiments.

Les lipides de Tarfaya, extraits au chloroforme ont été étudiés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. Les résultats quantitatifs des différents fractionnements sont présentés dans le tableau III-6.

Tableau III-6 : Masse des principales familles de composés (mg/kg de sédiment sec).

	PRODUITS	Tarfaya R1	Tarfaya R3
Fraction Neutre	Hydrocarbures	888 (7,5%)	542 (4,9%)
	Esters	Traces	42 (0,4%)
	Aldéhydes, Cétones	327 (2,81%)	435 (3,9%)
	Alcools	48 (0,4%)	108 (1,0%)
	Composés soufrés *	113 (0,9%)	104 (0,9%)
	Composés azotés *	37 (0,3%)	43 (0,4%)
	Autres	309 (2,6%)	119 (1,1%)
	LMN	3138 (26,5%)	1765 (15,9%)
Fraction Acide méthylée	Monoacides linéaires	235 (2,0%)	269 (2,4%)
	Di- et Céto- Acides aliphatiques	382 (3,2%)	492 (4,4%)
	Autres acides	35 (0,3%)	254 (2,3%)
	LMA	6273 (53,0%)	6747 (61,0%)

* répartis dans différentes fractions

Les distributions des principales familles de composés sont présentées sous forme de chromatogrammes et de fragmentogrammes sur les figures III-10 à III-15

Les lipides extraits du sédiment de Tarfaya ont deux origines différentes, certains proviennent directement de lipides originels encore peu transformés (alcanes longs et impairs, acides monocarboxyliques pairs...) et d'autres sont des produits issus de l'évolution diagenétique des kérogènes et/ou de la MO soluble (alcanes courts dont la valeur de CPI tend vers 1, triterpènes diagenétiques, composés aromatiques, HPA...). Le mécanisme de formation des diastéranes et diastérènes est proposé sur la figure III-16.

La plupart de ces lipides sont hérités des végétaux supérieurs terrestres ou marins (alcane majoritairement impairs, alcools linéaires, acides gras long pairs, stérols, esters méthyliques acides α,ω -dicarboxyliques courts). La prédominance des acides gras à chaînes courtes (C_{12} à C_{18}) est un indicateur d'une MO issue de dérivés algaires

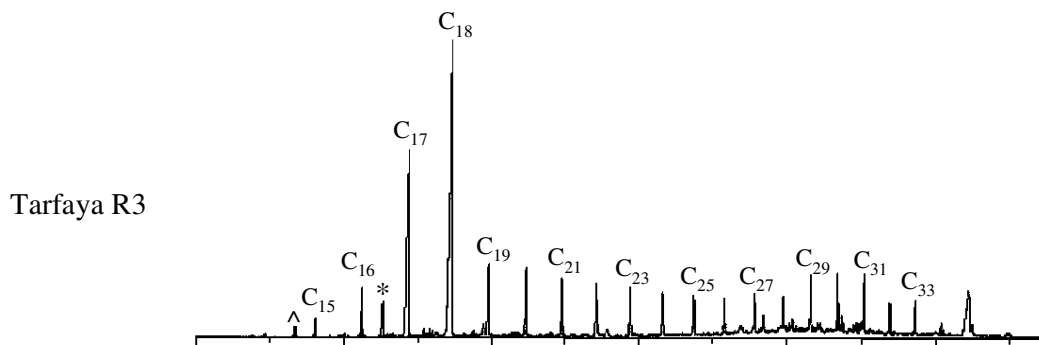


Figure III-10 : Chromatogramme des hydrocarbures (*n*-alcane).

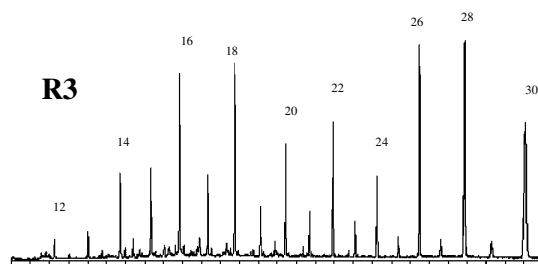


Figure III-11 : Fragmentogramme $m/z=61$ présentant la distribution des alcools linéaires acétylés.

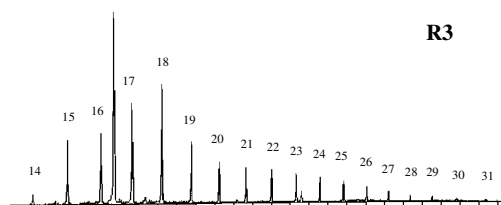


Figure III-12 : Fragmentogramme $m/z=58$ présentant la distribution des méthylcétones.

Tarfaya R1

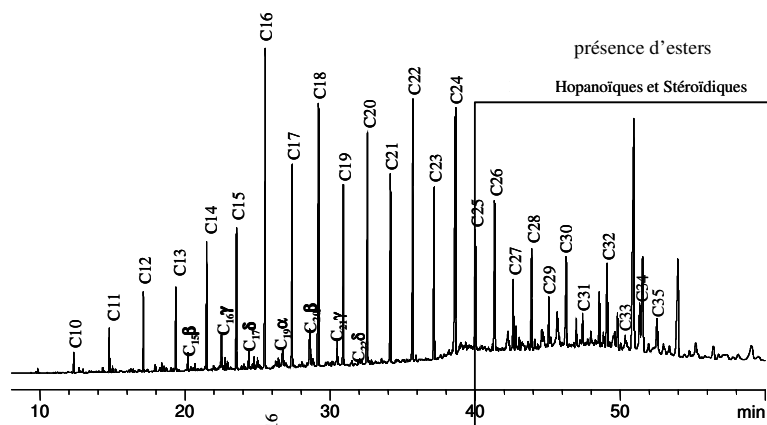


Figure III-13 : Distribution des monoacides méthylés.

R3

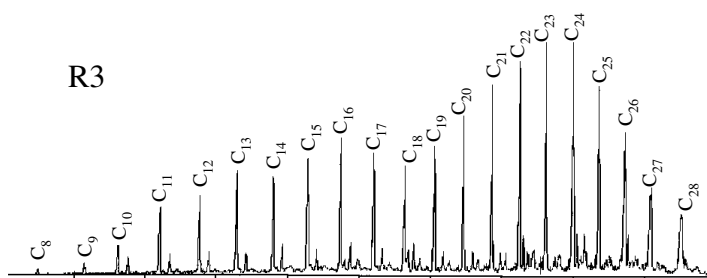


Figure III-14 : Fragmentogramme $m/z=98$ représentant les distributions des α,ω -diacides (méthylés).

Tarfaya R1

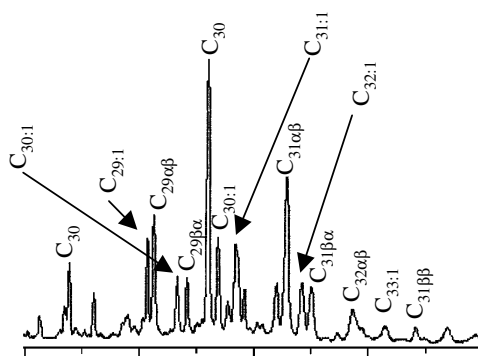


Figure III-15 : Fragmentogramme $m/z=191$ représentant les hydrocarbures hopanoïques.

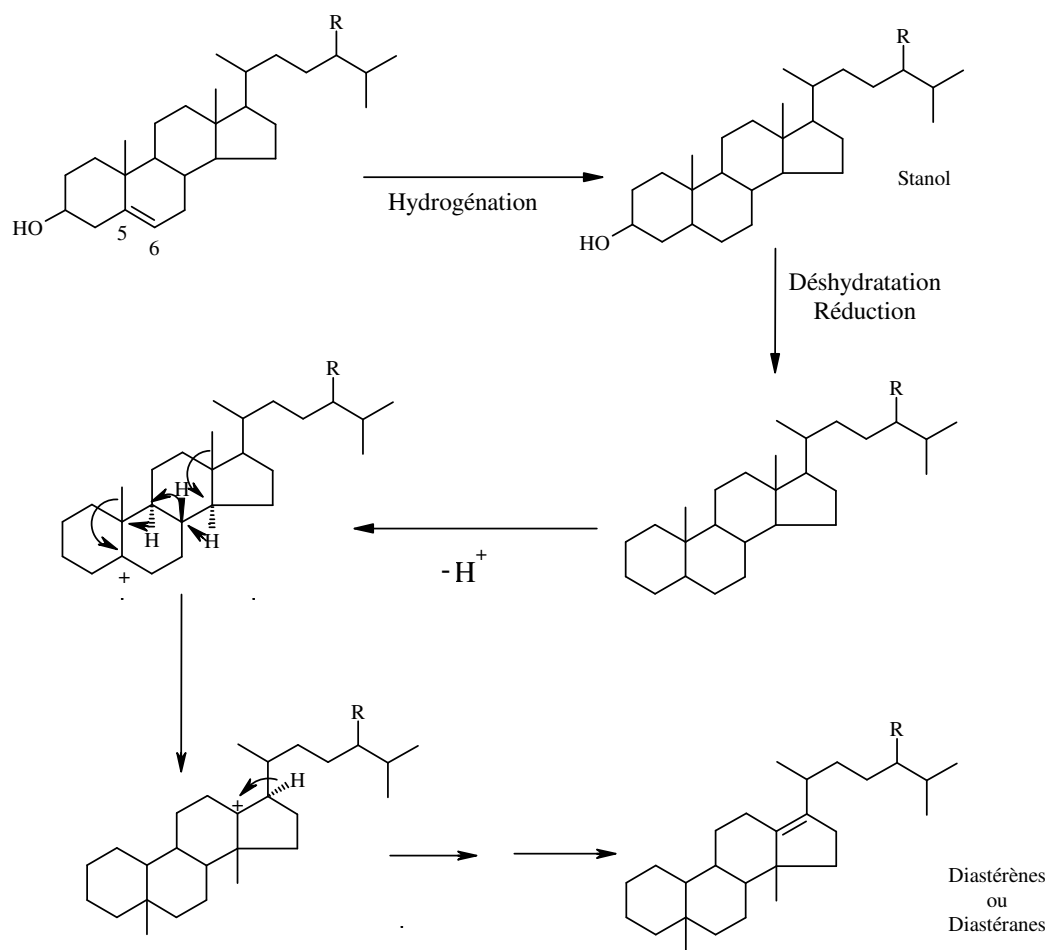


Figure III-16 : Transformation des stérols dans les sédiments.

D'autre part, un certain nombre de composés témoignent d'une activité bactérienne réductrice (méthylstéranes, stérols accompagnés de stanols, alcanes et alcools courts, aldéhydes). Des familles de produits d'origine microbienne tels que les hopanoïdes (figures III-13 et III-15) sont également observées.

Les témoins de phénomènes d'oxydation ne sont pas totalement absents, comme l'atteste la présence de composés oxydés tels que les cétoacides, les cétones (figure III-12) ou les acides α,ω -dicarboxyliques longs (figure III-14).

Certains composés comme les stéroïdes, les triterpènes hexa- et pentacycliques, ont subi des phénomènes d'aromatisation abiotiques. Le mécanisme d'aromatisation de la β -amyryne est proposé dans la figure III-17.

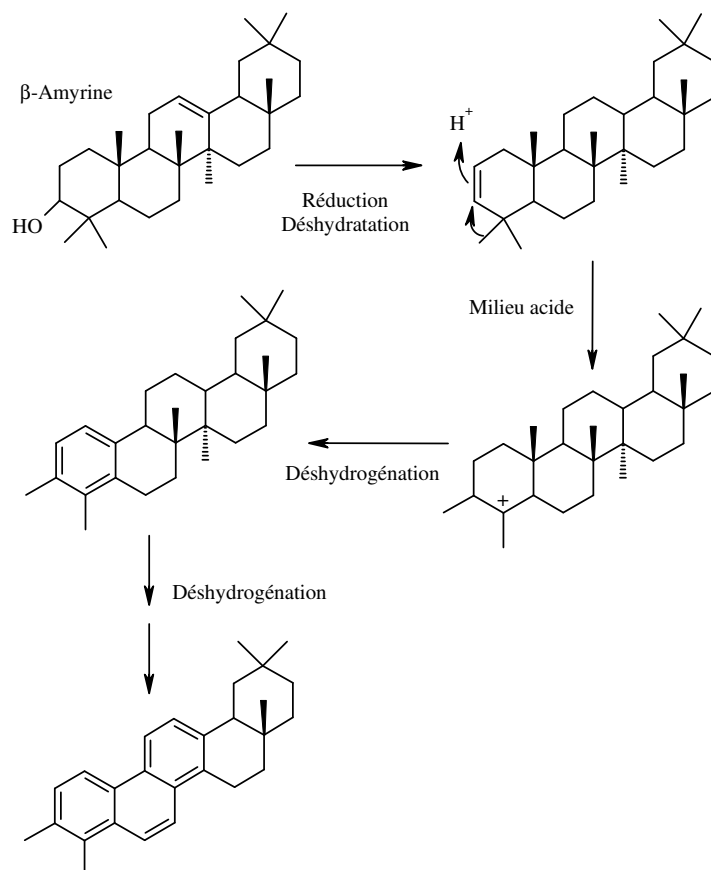


Figure III- 17 : Mécanisme d'aromatisation de la β -amyrine (Chaffee & Johns, 1983).

D'autres facteurs montrent que les milieux de sédimentation étaient plutôt réducteurs. Le rapport pristane/phytane (ici inférieur à 1) est en effet un bon indicateur des conditions du milieu (figure III-18). La présence de composés organo-soufrés (ci-dessous) montre que ces conditions étaient anoxiques.



R1=Et, Pr, Bu ; R2 = C11-C14 ; R3 = H, Me

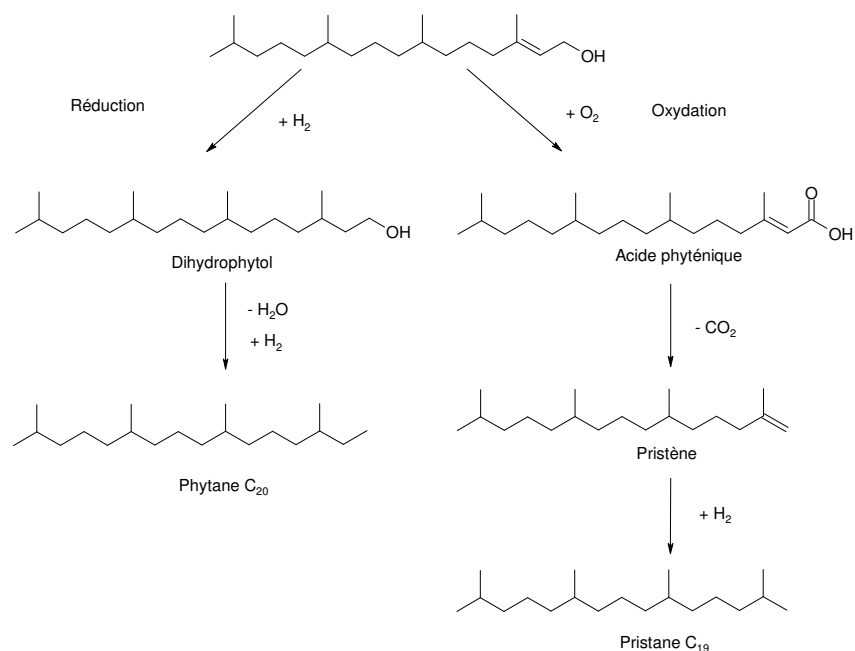


Figure III-18 : Evolution du phytol dans les sédiments.

2-2. Etude de la matière organique insoluble (kérogène)

Le kérogène constitue une fraction importante de la matière organique sédimentaire. Son étude structurale apporte des informations sur la nature et l'origine de la matière organique, sur ses processus de formation, d'accumulation et de transformation, ainsi que sur la formation du pétrole. La complexité et l'insolubilité du kérogène rend difficile cette étude. Plusieurs méthodes ont été employées pour résoudre ces problèmes, cependant, les informations obtenues restent souvent limitées.

Hydrolyse alcaline

L'hydrolyse alcaline par l'hydroxyde de potassium est couramment employée pour étudier la présence de liaisons ester dans les kérogènes (Vitorovic, 1980). Cependant les rendements sont souvent faibles, en raison de la complexité du matériau étudié. Pour remédier à ces problèmes d'encombrement stérique qui limitent l'accessibilité de certaines fonctions ester, un catalyseur de transfert de phase est employé (Amblès *et al.* 1987, 1993a, 1993b).

L'hydrolyse alcaline catalysée par l'éther couronne 18-C-6, réalisée en deux séries par étapes successives, a permis d'identifier et de quantifier (tableau III-7) les différentes structures acides liées initialement à la matrice du kérogène sous forme d'esters (figure III-19). L'étude approfondie des produits d'hydrolyse a montré que les acides liés au kérogène de

Timahdit sont en majorité aromatiques et présents en quantité importante dans la partie profonde de la matrice. Les acides aliphatiques, sont en majorité dicarboxyliques, à chaîne courte. La distribution des acides monocarboxyliques linéaires montre la nette prédominance des acides en C₁₆ et C₁₈.

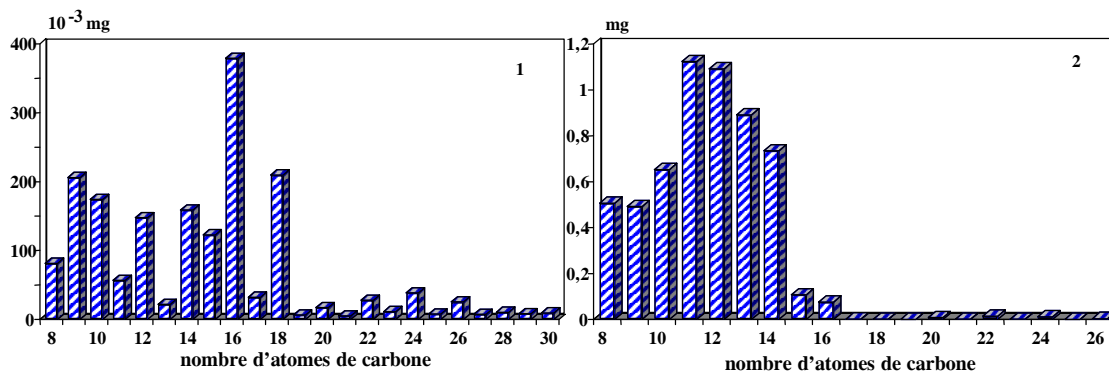


Figure III-19 : Distributions des acides (1) et diacides (2) aliphatiques obtenus par hydrolyse.

La matrice du kérogène apparaît donc plutôt aliphatique «en périphérie» avec un «cœur» aromatique. Elle est réticulée par des diacides aliphatiques à chaînes courtes et aromatiques, et substituée par des monoacides aliphatiques et aromatiques.

Oxydation par RuO₄

Le tétraoxyde de Ruthénium est un réactif plus doux que le permanganate de potassium, qui a été utilisé pour l'étude de charbons et de kérogènes (Dragojlovic *et al.*, 1993 ; Reiss *et al.*, 1993). RuO₄ oxyde les groupements alkyle portés par des noyaux aromatiques, conduisant à la formation d'acides carboxyliques. Les doubles liaisons et les alcools sont oxydés en acides carboxyliques (Blokker *et al.*, 2000). Les éthers sont oxydés en esters (Dragojlovic *et al.*, 1993). Les esters sont probablement hydrolysés (Reiss *et al.*, 1993).

Les quantités d'acides obtenues par oxydation du kérogène sont reportées dans le tableau III-8. Les distributions de mono- et diacides (figure III-20) sont proches de celles obtenues par hydrolyse, ce qui montre que RuO₄ dégrade les liaisons ester. En plus des structures aliphatiques, l'oxydation par RuO₄ a mis en évidence les structures polycycliques (hopanes et stéranes) présentes dans ce kérogène (figure III-21), et préalablement identifiées par pyrolyse préparative. Les hopanes, étaient très probablement liés par fonction éther au kérogène.

Tableau III-7 : Quantités (mg/kg de kerogène) et distributions des familles de composés libérés par hydrolyse.

	Premier étape	Seconde	Total
acides aliphatiques			
monoacides	15.2	16.3	31.5
diacides	23.5	25.3	48.8
acides aromatiques			
monoacides	8.3	30.2	38.5
diacides	8.6	16.3	24.9
acides thiopheniques	0.1	-	0.1
acétates			
aliphatiques	13.4	traces	13.4
aromatiques	-	16.5	16.5
hydrocarbures	9.3	6.2	18.5
polaires			183

Tableau III-8 : Acides aliphatiques et hopanoïques produits par oxydation.

acides		mg/g COT	gamme	max	Total
monocarboxyliques	linéaires	7.34	C ₅ -C ₂₆	C ₁₆	9.42
	ramifiés	2.08	C ₁₁ -C ₂₄	C ₁₆	
dicarboxyliques	linéaires	26.54	C ₇ -C ₂₆	C ₇ -C ₉	45.13
	ramifiés	18.59	C ₅ -C ₂₁	C ₆ , C ₇	
hopanoïques		0.12	C ₃₁ , C ₃₂	C ₃₂	0.12

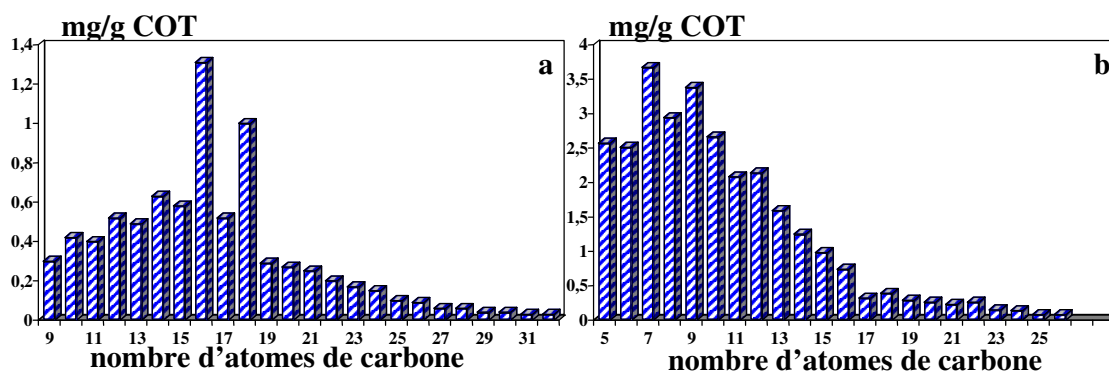


Figure III-20 : Monoacides(a) et diacides (b) aliphatiques produits par oxydation.

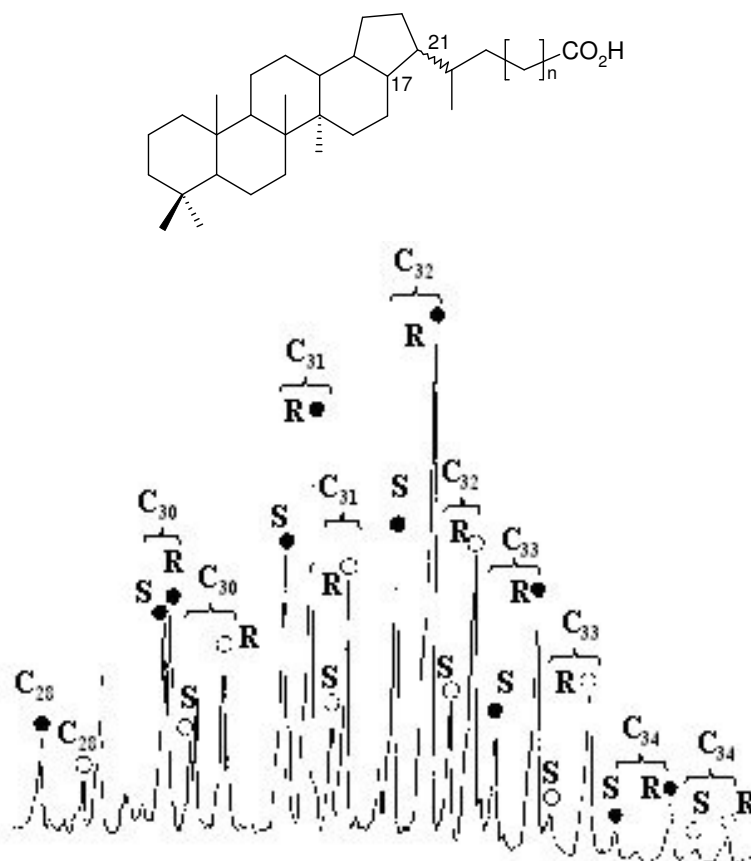


Figure III-21 : Acides hopanoïques identifiés parmi les produits d'oxydation (RuO₄).

2-3. Conclusion

Les lipides du sédiment de Tarfaya ont été fractionnés et caractérisés. Leur origine est double, certains provenant de lipides peu transformés tandis que d'autres sont des produits d'évolution diagenétique du kérogène ou de la matière organique soluble.

Le kérogène de Timahdit a été étudié à l'aide de réactions de dégradation sélectives. L'hydrolyse alcaline en 2 étapes, catalysée par transfert de phase, a montré que des diacides aromatiques et aliphatiques interviennent dans la réticulation de la matrice. Celle-ci est substituée par des monoacides aliphatiques et aromatiques ainsi que par des alcools. L'oxydation du kérogène par RuO₄ libère des mono- et diacides qui étaient pour partie liés par liaisons ester. Des acides hopanoïques, probablement liés au kérogène par fonction éther sont obtenus.

3. Rôle de la matière organique d'une série sédimentaire dans le transport potentiel de radionucléides

Les déchets nucléaires, principalement issus de la production d'électricité présentent un danger pour l'environnement du fait de leur toxicité chimique, leur radioactivité et de leur durée de vie (supérieure à 1000 ans). Il est donc nécessaire de les isoler de la biosphère dans des formations géologiques profondes, peu perméables et stables dans le temps. Les formations sédimentaires riches en argiles correspondent à ces critères et présentent généralement des teneurs significatives en matière organique.

Dans le cadre d'un stockage de déchets radioactifs dans ces formations, il est indispensable d'étudier, à partir d'un site modèle, la nature de cette matière et son rôle potentiel dans la rétention et/ou la migration des radionucléides. D'une part les acides humiques, les lipides oxygénés naturels ou résultant de l'oxydation des hydrocarbures, complexent plus ou moins fortement les métaux en général. D'autre part, le kérogène ou la matière organique complexe, pourrait libérer par radiolyse des molécules oxygénées. Une matière organique fixée retardera une éventuelle migration de radionucléides, a contrario une matière organique mobile représentera un vecteur potentiel de migration. Enfin, le rôle possible de la matière organique sédimentaire dans la régulation de conditions réductrices des eaux interstitielles, qui imposent une très faible solubilité de nombreux actinides, reste mal compris.

Deux échantillons, argilite et schiste carton du Toarcien, issus du site expérimental de Tournemire (Boisson *et al.*, 1998) dans l'Aveyron (figure III-22), ont été étudiés. Les échantillons ont été prélevés à partir de forages effectués depuis le tunnel (figure III-23). Ce tunnel de 1900 m de long, aujourd'hui désaffecté est utilisé par l'Institut de Protection et de Sécurité Nucléaire (IPSN) comme laboratoire souterrain afin de modéliser les conditions de confinement d'un point de vue hydrogéologique et dynamique.

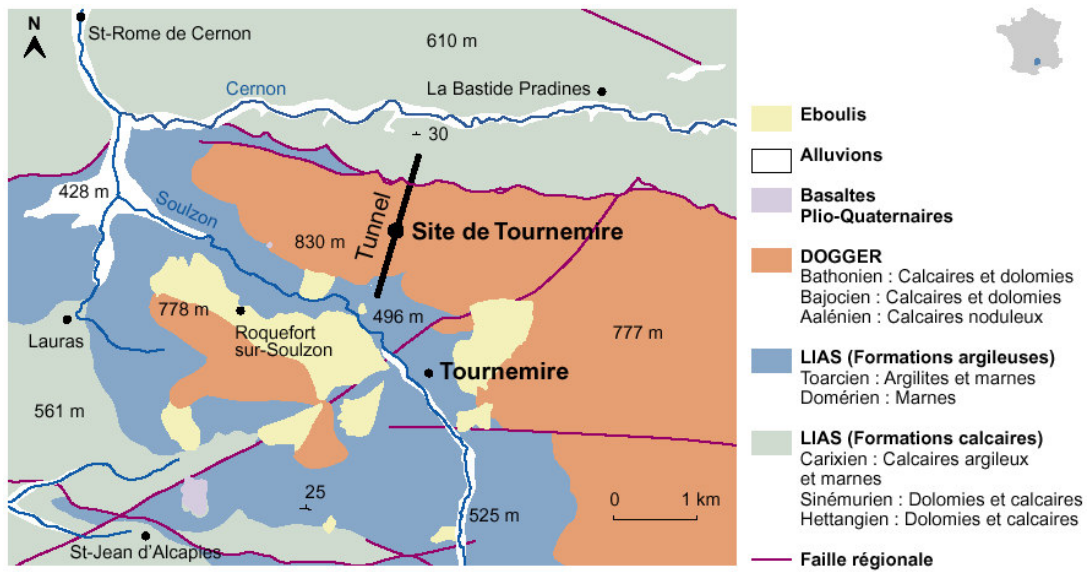


Figure III-22 : Station expérimentale de Tournemire (d'après carte BRGM, 1984).

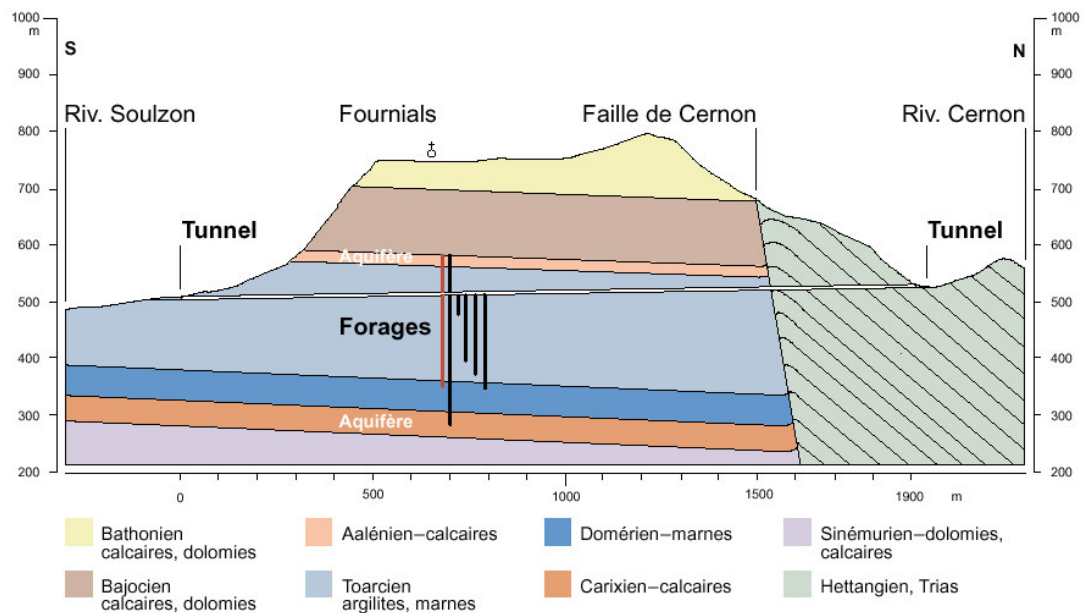


Figure III-23 : Profil géologique du tunnel de Tournemire.

Les caractéristiques globales des échantillons sont reportées dans le tableau III-9. Le schiste carton contient 3 fois plus de matière organique que l'argilite et présente une teneur élevée en lipides (près de 14 g/kg de sédiment sec). Les deux sédiments ne contiennent plus de substances humiques.

Tableau III-9 : Préparation du concentré de kerogene (CK)

(% massique de sediment sec).

	% MO	Carbonates	Silicates	lipides Totaux	CK
Argilite	11,5	20,99	44,98	0,08 (0,05)	33,95
Schiste	28,0	24,0	45,4	1,6 (0,2)	29,0

(lipides associés)

3-1. Etude des lipides

Les lipides libres ont été fractionnés et les résultats reportés dans le tableau 38. Ce sont essentiellement des lipides neutres (89%). Les hydrocarbures sont majoritaires et très aliphatiques dans le cas du schiste (figure III-24).

Tableau III-10 : Pré-séparation des lipides libres (quantités en ppm).

	lipides libres	Fraction Neutre	Fraction Acide	Fraction Polaire
Argilite	342	222	30	23
Schiste	13862	12293	1225	326

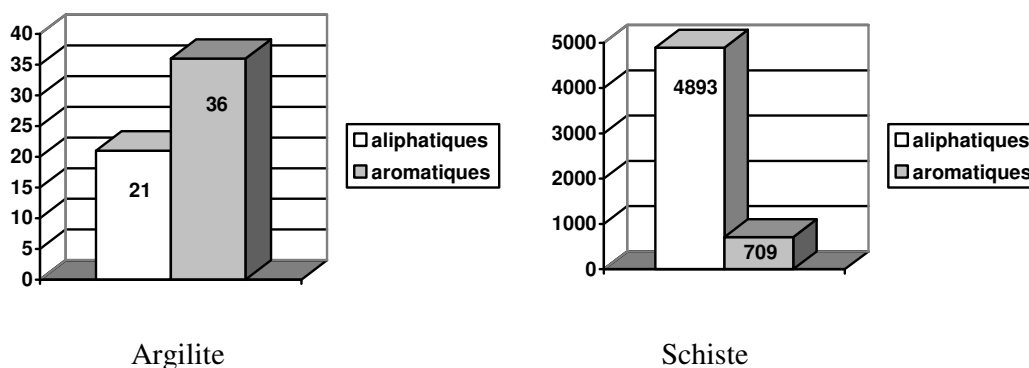


Figure III-24 : Répartition des hydrocarbures dans les 2 échantillons.

Les lipides ont été analysés par chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse. En ce qui concerne le schiste, les alcanes linéaires à distribution gaussienne (figure III-26) sont accompagnés de pristane et phytane, de α,β -hopanes et de β,α -diastéranes diagénétiques (figure III-25). L'ensemble de ces éléments indique que le sédiment a atteint un degré de relative maturité, il peut être comparé aux sédiments pétrolières contemporains du Bassin de Paris.

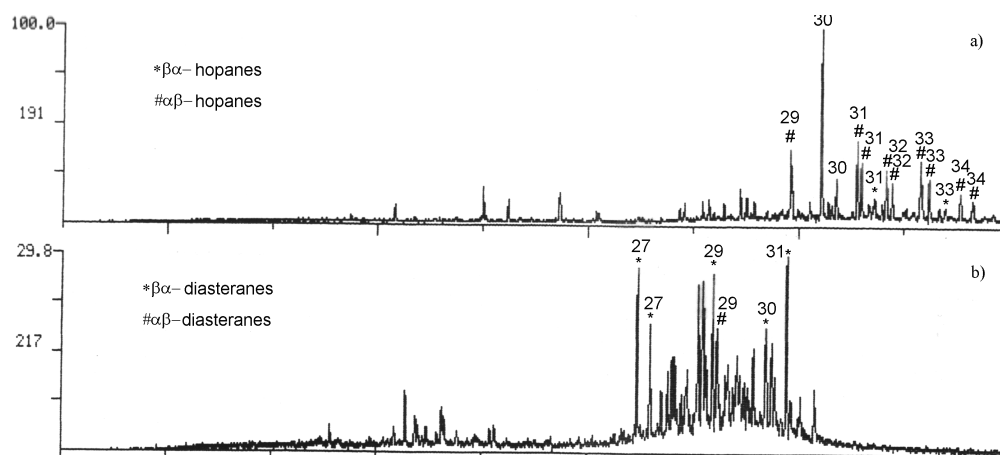


Figure III-26 : Fragmentogrammes m/z 191 et m/z 217 représentant respectivement les distributions des hopanes et des stéranes du schiste.

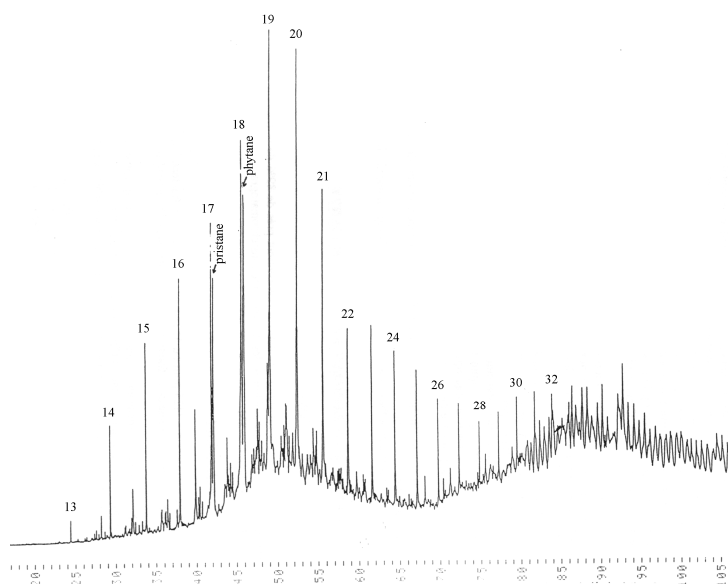


Figure III-27 : Chromatogramme des hydrocarbures du schiste carton.

L'argilite contient 40 fois moins de lipides que le schiste carton. Les *n*-alcane à distribution Gaussienne (figure III-28), les pristane et phytane, les α,β -hopanes et β,α -diastéranes diagénetiques (figure III-27) sont accompagnés de β,β -hopanes naturels, d'hydrocarbures longs impairs, d'acides gras courts (C_{16} , C_{18}) ou longs pairs (figure II-29) qui témoignent d'une matière organique moins évoluée.

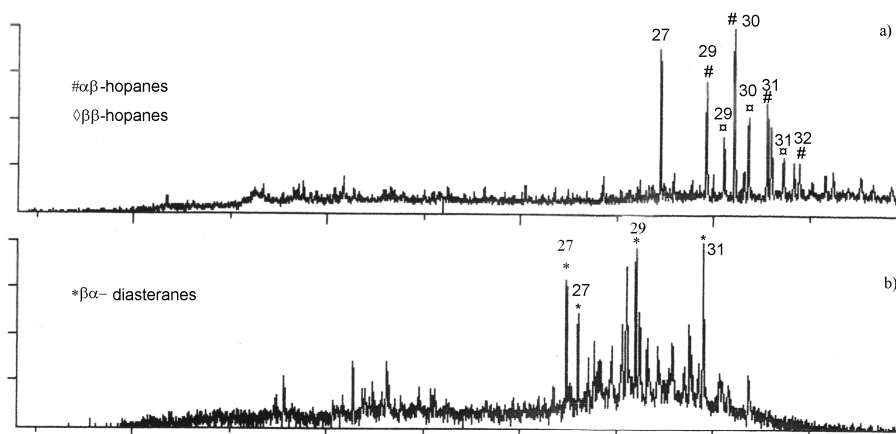


Figure III-27 : Fragmentogrammes m/z 191 et m/z 217 représentant respectivement les distributions des hopanes et des stéranes de l'argilite.

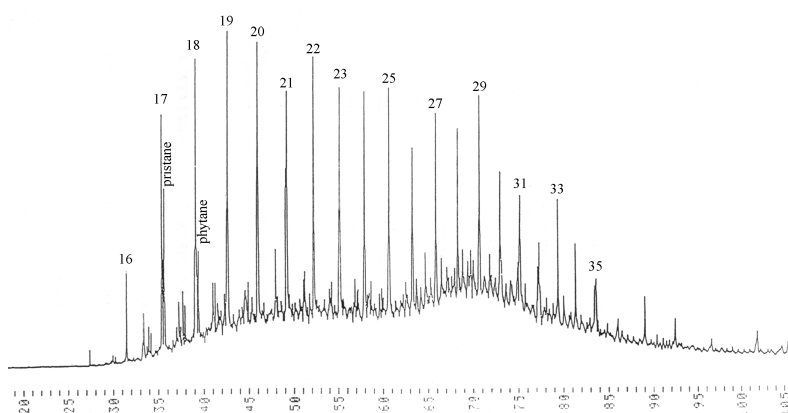


Figure III-28: Chromatogramme des hydrocarbures de l'argilite.

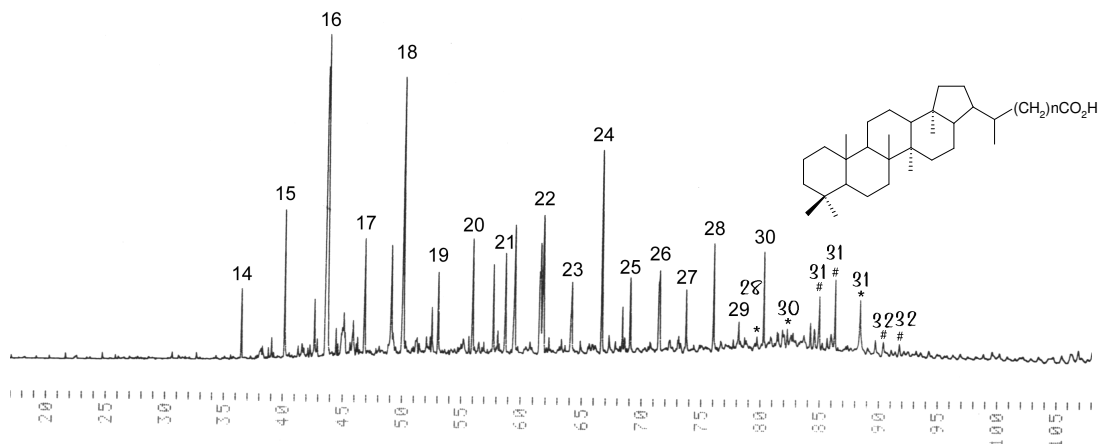


Figure III-29 : chromatogramme des acides gras méthylés de l'argilite.

* acides $\beta\alpha$ -hopanoïques ; # acides $\alpha\beta$ -hopanoïques

Les acides hopanoïques de configuration $\beta\alpha$ - et $\alpha\beta$ - identifiés parmi les acides gras d'origine végétale (figure III-29), sont vraisemblablement produits par oxydation des hopanes diagénétiques. Ceci indiquerait une circulation de matière organique fraîche et de vecteurs d'oxydation à travers une matière organique plus mature.

3-2. Etude du concentré de kérogène

Les concentrés de kérogène dont les caractéristiques globales sont reportées dans le tableau III-11, ont été analysés par pyrolyse Rock-Eval (tableau III-12).

Tableau III-11 : Analyse élémentaire des concentrés de kérogène A et C (% massique).

	% MO	C	H	N	S	H/C atomique
Argilite	14,5	3.20	0.57	0.30	13.51	2,1
Schiste	30,3	14.76	1.82	0.33	12.69	1,5

Les rapports atomiques H/C élevés indiquent que les kérogènes sont de type I, c'est à dire qu'il s'agit d'une matière organique aliphatique, d'origine marine ou lacustre.

Tableau III-12 : Analyse Rock-Eval des concentrés de kérogène.

	Argilite	Schiste
CO (% massique)	3.08	14.88
S ₁ (mg.g ⁻¹ CO)	0.69	3.96
S ₂ (mg.g ⁻¹ CO)	9.20	89.15
S ₃ (mg.g ⁻¹ CO)	2.17	2.92
IH	298	599
IO	70	19
T _{max.}	440	434

CO : carbone organique, IH : indice d'hydrogène (S2/OC), IO : indice d'oxygène (S3/OC)

Trois pics sont obtenus au cours de la montée en température sous gaz inerte (Helium), leurs surfaces donnent les indications suivantes :

- S1 : quantité d'hydrocarbures faiblement adsorbés (gaz et huile), volatilisés à 300°C pendant 2 minutes,
- S2 : quantité de composés hydrocarbonés générés par craquage entre 300 et 600°C,
- S3 : quantité de CO₂ piégé lors du craquage entre 300 et 390°C.

La température T_{max} atteinte au sommet du pic S2, est la température qui produit la plus grande quantité d'hydrocarbures par craquage. Cette température augmente avec le degré d'évolution de la matière organique. Les valeurs obtenues pour les 2 échantillons montrent qu'il s'agit de sédiments matures qui se situent en début de production d'huile.

La teneur en carbone organique résiduel de l'échantillon ainsi pyrolysé est obtenue par combustion dans l'air à 600°C. La somme du carbone organique résiduel et du carbone organique pyrolysé (pics S1 et S2) conduit à la teneur en carbone organique total.

Au total, la matière organique présente dans l'argilite apparaît donc comme composite. Ce résultat n'est actuellement pas expliqué, une circulation de matière organique immature postérieure à la sédimentation, observée dans d'autres milieux (Ledésert *et al.*, 1996), semble peu probable à Tournemire.

3-3. Etude du percolat

De l'eau circulant à travers un réseau de fractures dans l'argilite a pu être recueillie et analysée par GC-MS. Les distributions des hydrocarbures et des acides gras sont présentées

respectivement sur les figures III-30 et III-31. Ces distributions dénotent une origine typiquement végétale.

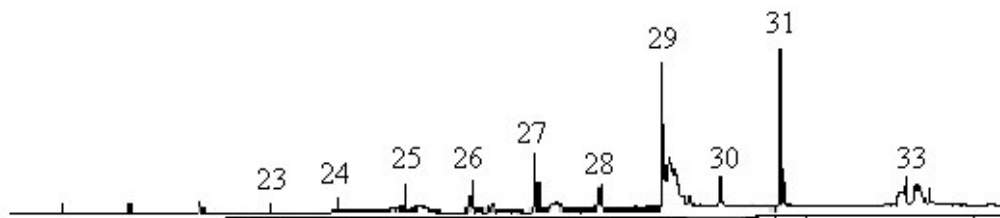


Figure III-30: Fragmentogramme m/z 85 représentant la distribution des *n*-alcanes dans l'eau percolant à travers l'argilite

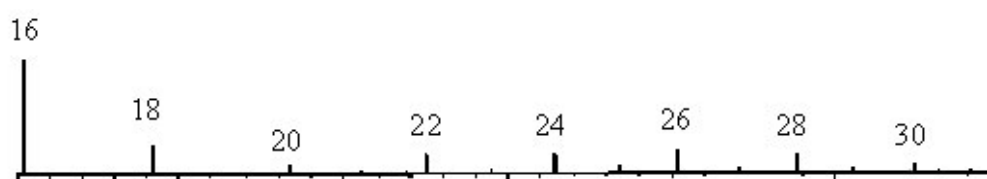


Figure III-31 : Fragmentogramme m/z 74 représentant la distribution des acides gras méthylés dans l'eau percolant à travers l'argilite

Mis à part les *n*-alcanes, il n'y a pas de similitudes entre les lipides identifiés dans cette eau de fracture et les lipides de l'argilite. La matière organique dissoute est immature, comme une faible part de la matière organique de l'argilite. Il est à noter que des phénomènes complexes d'échange peuvent exister entre un percolat et la phase solide traversée (Amblès *et al.*, 1998).

3-4. Conclusion

La nature de la matière organique est un paramètre important dans la capacité d'enfouissement à retenir les radionucléides. Pour cette raison, deux échantillons, argilite et schiste carton du Toarcien, issus du site expérimental de Tournemire, ont été étudiés. Ces deux sédiments ne contiennent plus d'acides humiques, vecteurs potentiels. La teneur élevée en lipides du schiste carton et la présence dans ces lipides de steranes et de triterpanes diagenétiques indiquent que le sédiment a atteint un degré de relative maturité. L'argilite contient 40 fois moins de lipides que le schiste carton. La matière organique présente dans l'argilite apparaît comme composite. La présence d'acides hopanoïques diagenétique semble indiquer une circulation de matière organique immature entraînant des vecteurs d'oxydation.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Les résultats présentés dans ce rapport font état de l'avancée des travaux menés sur une période de 7 ans sur la matière organique simple et complexe des sols et des sédiments. Ces travaux ont fait l'objet de collaborations avec des partenaires industriels et universitaires français et étrangers. Ces collaborations nous ont apporté une vision plus large des thèmes abordés tout en nous permettant d'aborder certaines applications.

La structure et la dynamique de la matière organique mobile (lipides), peu soluble (acides humiques) et insoluble (humine et kérogène) ont été étudiés dans différents environnements. Les sols, les tourbes qui représentent la première phase d'accumulation du carbone organique (diagenèse précoce) et les sédiments anciens dans lesquels le carbone organique s'est transformé. L'étude de ces différents milieux pouvant permettre d'appréhender les mécanismes d'accumulation du carbone.

L'étude de la structure et de l'évolution de la matière organique des sols et des sédiments a nécessité la mise en œuvre de techniques d'analyse globales comme la spectroscopie infra-rouge ou la RMN ^{13}C (CP-MAS) et plus approfondies comme la pyrolyse off line ou on line (Py-GC/MS). En fonction des informations obtenues, nous avons appliqué aux macromolécules biologiques, des réactions de dégradation plus sélectives par voie chimique ou enzymatique. Le développement ou l'adaptation de ces techniques et réactions de dégradation a donc constitué une large partie de ce travail.

L'étude de la matière organique complexe des sols et des sédiments fait apparaître la présence de chaînes aliphatiques, liées au réseau macromoléculaire par des liaisons éther ou ester, ou formant des ponts dialkyles. L'importance des liaisons de faible énergie a pu être soulignée dans la structure des substances humiques ainsi que la contribution ligneuse.

L'accumulation du carbone dans les tourbes et les sédiments s'est déroulée en milieu anoxique (conditions réductrices), cependant il existe des témoins de phénomènes d'oxydation qui ont pu se produire au préalable ou lors d'échanges possibles avec une phase mobile.

L'étude des processus de biodégradation du carbone dans les sols montre que les molécules simples, après oxydation, peuvent s'incorporer dans le réseau macromoléculaire par liaisons ester ou éther. Nous avons ainsi montré que l'apport de carbone organique sur des sols cultivés en améliore les qualités.

L'étude de la transformation et de la valorisation de déchets fait partie des thèmes de recherches que je compte poursuivre dans le futur. Ce sujet a fait l'objet de collaborations passées avec le Centre de Recherche de l'Est sur les Céréales et Oléagineux (CRECO, Ottawa) et actuelles avec l'Université de Marrakech (Maroc). Les travaux à venir sur le sujet concerneront pour partie la valorisation et la transformation du carbone organique dans les sols avec la mise en place de différents projets :

- une collaboration avec l'Université de Marrakech (caractérisation structurale de résidus d'extraction d'huile d'olive en vue de leur valorisation),

- une thèse co-financée par l'ADEME et la Région Poitou-Charentes sur le thème : Etude moléculaire des composés organiques de composts. Formation, transformation dans les sols. Action sur les propriétés des sols,

- une collaboration avec l'INERA (Burkina Faso) concernant l'étude de sols sub-tropicaux,

- une thèse en co-tutelle avec l'Université de Tanger (Maroc), action CNRS-CNR Maroc qui s'intéresse à l'influence du climat et de l'irrigation sur les propriétés et le fonctionnement des sols de ce pays.

D'autre part, l'étude de sédiments estuariens et lacustres sera poursuivie, étude que j'avais déjà abordée en collaboration avec le Laboratoire de Physico-Toxico Chimie de l'Université Bordeaux I (et l'Université de Santa Carina, Brésil). L'étude de la matière organique dissoute estuarienne se prolongera en partenariat avec le Centre de Recherche en Ecologie Marine (CREMA, l'Houmeau). Il s'agira de déterminer l'influence anthropique sur la qualité de cette matière organique dissoute en fonction de la distance de la côte, de l'environnement socio-économique et des éventuels événements climatiques.

Références bibliographiques

Alpern B. (1981)

Les schistes bitumineux ; constitution, réserves, valorisation.
Bulletin des Centres de Recherches Exploration-Production Elf-Aquitaine, **5**(2), 319-352.

Ambès A., Djuricic M.V., Djordjevic L. et Vitorovic D. (1981)

Nature of Kerogen from the Green River Shale based on the character of the products of a forty-step alkaline permanganate oxidation.
Advances in Organic Geochemistry, 554-560.

Ambès A., Magnoux P., Jambu P., Jacquesy R. et Fustec-Mathon E. (1989)

Effects of addition of bentonite on the hydrocarbon fraction of a podzol soil (A1 horizon).
Journal of Soil Science, **40**, 685-694.

Ambès A., Jacquesy J.C., Jambu P., Joffre J. et Maggi-Churin R. (1991)

Polar lipid fraction in soil : a kerogen-like matter.
Organic Geochemistry, **17**, 341-349.

Ambès A., Baudet N., Jacquesy J.C. et Kribii A. (1992)

Chemical characterisation of oil shale kerogens using a transalkylation reaction.
Tetrahedron Letters, **33**, 5193-5196.

Ambès A., Baudet N. et Jacquesy J.C. (1993)

Structural study of the kerogen from Brazilian Irati Oil Shale by selective degradations.
Tetrahedron Letters, **34**, 1783-1786.

Ambès A., Jacquesy J.C., Jambu P., Mayoungou-Vembet P, Okome-Mintsa M., Hita C. et Parlanti E. (1993b)

High molecular weight lipids present in soil. Nature and origin.
Organic Geochemistry. (Oygard K., Ed.), F-Hurtigtrykk, Oslo, 668-671.

Ambès A., Jambu P., Parlanti E., Riffé C. et Joffre J. (1994)

Incorporation of natural monoacids from plant residues into an hydromorphic forest podzol.
European Journal of Soil Science, **45**, 175-182.

Ambès A., Colina-Tejada A., Jambu P., Lemée L. et Parlanti E. (1998)

Experimental leaching of podzol soil lipids. Nature and biological origin of water soluble components.
Agrochimica, **42**(3-4), 158-171.

Augris N., Balesdent J., Mariotti A., Derenne S. et Largeau C. (1998)

Structure and origin of insoluble and non-hydrolysable, aliphatic organic matter in a forest soil.
Organic Geochemistry, **28**, 119-124.

Baudet N., Ambès A., Jacquesy J.C., Vandenbrouke M. et Béhar F. (1994)

Transalkylation applied to the structural characterization of kerogens.
Fuel, **73**, 1594-1599.

Benalioulhaj S. (1989)

Géochimie organique comparée des séries du bassin de schistes bitumineux de Timahdit (Maroc). Implications dans la Phosphatogenèse.
Thèse de, 263 p.

Bikri O. (1984)

Pyrolyse des schistes bitumineux : recherche et développement.
Séminaire sur la Technologie d'exploitation des Schistes bitumineux, Rabat.

Blokker P, Schouten S, de Leeuw J. W , Sinnighe Damste J et van den Ende H (2000)

A comparative study of fossil and extant algae using ruthenium tetroxide degradation.
Geochimica and Cosmochimica Acta, **64**, 2055-2065.

Boisson J. Y., Cabrera J. et de Windt L. (1998)

Etude des écoulements dans un massif argileux, laboratoire souterrain de Tournemire.
Sciences et Techniques Nucléaires CE, Vol. EUR 18338(IX), 295.

Boon J.J., de Leeuw J.W., Hoele J.V.D. et Vosjan J.H. (1977)

Significance of taxonomic value of iso and anteiso monoenoic fatty acids and branched β -hydroxyacids in desulfovibrio-desulfuricans.
Journal of Bacteriology, **129**, 1183-1191.

Boon J.J., de Leeuw J.W. et Burlingame A.L. (1978)

Organic geochemistry of Walvis bay diatomaceous ooze - III. Structural analysis of the monoenoic and polycyclic fatty acids.
Geochemistry and Cosmochemica Acta, **42**, 631-644.

Boussafir M., Gelin F., Lallier-Verges E., Derennes S., Bertrand P. et Largeau C. (1995)

Electron microscopy and pyrolysis of kerogens from the Kimmeridge Clay formation, U.K : source organisms, preservation processes and origin of microcycles.
Geochimica and Cosmochimica Acta, **59**(18), 3731-3747.

Brooks P.W. et Maxwell J.R. (1974)

Early stage fate of phytol in a recently deposited lacustrine sediment.
Advances in Organic Geochemistry 1973. (Tissot B. et Bienner F., Ed.), Technip, Paris, 977-991.

Broquet P. (1988)

Les schistes bitumineux, quelques gisements types, leur exploitabilité.
26^{ème} Congrès de Géologie Internationale, Section XIV, Université de Besançon, France.

Chaffee A. L. et Johns R. B. (1983)

Polyaromatic hydrocarbons in Australian coals. I- Angularity fused pentacyclic tri and tetraaromatic components of Victorian brocon coal.
Geochimica and Cosmochimica Acta, **47**, 2141-2155.

Challinor J.M. (1989)

A pyrolysis-derivatisation-gas chromatography technique for the structural elucidation of some polymers.
Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, **16**, 53-64.

Challinor J.M. (2001)

Review : the development and applications of thermally assisted hydrolysis and methylation reactions.

Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, **61**, 3-34.

Chappe B., Michaelis W. et Albrecht P. (1981)

Molecular fossils of Archaeobacteria as selective degradation products of kerogen.

Advances in Organic Geochemistry 1979. (Douglas A.G. et Maxwell J.R., Ed.), Pergamon Press, Oxford, 265-274.

Colina-Tejada A., Amblès A. et Jambu P. (1996)

Nature and origin of soluble lipids shed into the soil by rainwater leaching a forest of *Pinus maritima* sp.

European Journal of Soil Science, **47**, 637-643.

Corbet B., Dastillung M., Albrecht P. et Ourisson G. (1975)

La géochimie des sédiments marins profonds. II : Acides des sédiments.

Rapport CNRS. Orgon II - Atlantique Nord-Est Brésil, Octobre 1975.

Cranwell P.A. (1984)

Lipid geochemistry of sediments from Upton Broad, a small productive lake.

Organic Geochemistry, **7**, 25-37.

de Leeuw J.W. et Baas M. (1993)

The behaviour of esters in the presence of tetramethylammonium salts at elevated temperatures; flash pyrolysis or flash chemolysis ?

Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, **26**, 175-184.

Demel R.A. et de Kruyff B. (1976)

The function of sterols in membranes.

Biochimica and Biophysica Acta, **457**, 109-132.

Desbène P.L., Jauseau-Pierre N., Desmazieres B. et Basselier J.J. (1988)

Analytical study of various heavy oil residues using a transalkylation reaction.

Chromatographia, **26**, 70-76.

Desbène P.L., Abderrezag A., Desmazieres B., Basselier J.J., Behar F. et Vandembroucke M. (1990)

The transalkylation reaction. Analytical tool for the study of heavy crude oil fractions.

Application to asphaltenes of various types.

Organic Geochemistry, **16**, 969-980.

Dragojlovic V., Amblès A. et Vitoric D. (1993)

Characterization of ester and ether moieties in the kerogen from Aleksinac oil shale by hydrolysis and ruthenium tetroxide oxidation.

Journal of the Serbian Chemical Society, **58**, 25-38.

Dutartre P., Bartoli F., Andreux F., Portal J.M. et Ange A. (1993)
Influence of content and nature of organic matter on the structure of some sandy soils from Africa.
Geoderma, **56**, 459-478.

Eglinton G., Hunneman D.H. et Douraghi-Zadeh K. (1968)
Gas chromatographic - Mass spectrometric studies of long-chain hydroxyacids : II. The hydroxyacids and fatty acids of a 5000-Years-old lacustrine sediment.
Tetrahedron, **24**, 5929-5941.

Ertel J.R. et Hedges J.I. (1984)
The lignin component of humic substances : distribution among soil and sedimentary humic, fulvic, and base-insoluble fractions.
Geochimica and Cosmochimica Acta, **48**, 2065-2074.

Fakoussa R.M. et Hofrichter M. (1999)
Biotechnology and microbiology of coal degradation.
Applied Microbiology and Biotechnology, **52**, 25-40.

Flaig W.H., Beustelspacher P. et Reitz E. (1975)
Chemical composition and physical properties of humic substances.
Soil Component. (Gieseking J.E., Ed.), Springer-Verlag, New York, **1**, 1-219.

Fustec-Mathon E., Righi D. et Jambu P. (1975)
Influence des bitumes extraits de podzols humiques hydromorphes des Landes du Médoc sur la microflore tellurique.
Revue d'Ecologie et de Biologie des Sols, **12**, 393-404.

Gaskell S. J. et Eglinton G. (1975)
Rapid hydrogenation of sterols in a contemporary lacustrine sediment.
Nature, **254**, 209-211.

Grasset L. (1997)
Etude de l'humine et des acides humiques des sols : Importance de la composante lipidique.
Thèse de, 291 p.

Grasset L. et Amblès A. (1998a)
Structural study of soil humic acids and humin using a new preparative thermochemolysis technique.
Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, **47**, 1-12.

Grasset L. et Amblès A. (1998b)
Structure of humin and humic acid from an acid soil as revealed by transfer catalysed hydrolysis.
Organic Geochemistry, **29**, 881-891.

Grasset L. et Amblès A. (1998c)
Aliphatic lipids released from a soil humin after enzymatic degradation of cellulose.
Organic Geochemistry, **29**, 893-897.

Hatcher P.G. et Clifford D.J. (1994)

Flash pyrolysis and *in situ* methylation of humic acids from soil.
Organic Geochemistry, **21**, 1081-1092.

Hempfling R. et Schulten H.R. (1990)

Chemical characterization of the organic matter in forest soils by Curie-point pyrolysis-GC/MS and pyrolysis-field ionization mass spectrometry.
Organic Geochemistry, **15**(2), 131-145.

Henin S., Monnier G. et Combeau A. (1958)

Méthode pour l'étude structurale des sols.
Annales Agronomiques, **9**, 73-92.

Hita C., Parlanti E., Jambu P., Joffre J. et Amblès A. (1996)

Triglyceride degradation in soil.
Organic Geochemistry, **25**(1-2), 19-28.

Jambu P., Coulibaly G., Bilong P., Magnoux P. et Amblès A. (1983)

Influence of lipids on physical properties of soils.
Studies about Humus, Humus & Planta VIII(Ed.), **1**, 46-50.

Kolattukudy P.E. (1976)

Chemistry and biochemistry of natural waxes. Elsevier, Amsterdam.

Kolattukudy P.E. (1980)

Cutin, suberin and waxes. The biochemistry of plants : IV. Lipids, structure and function. (Stumpf P.K., Ed.), Academic Press, New York, 571-645.

Kribii A. (1994)

Etude structurale des kérogènes par des réactions chimiques sélectives (Transalkylation, Hydrolyse, Oxydation).
Thèse de, 247 p.

Kribii A., Lemée L, Chaouch A. et Amblès A. (2001)

Structural study of the Moroccan Timahdit (Y-layer) oil shale kerogen using chemical degradations.
Fuel, **80**, 681-691.

Kvenvolden K.A. (1967)

Normal fatty acids in sediments.
Journal of The American Oil Chemical Society, **44**, 628-636.

Lapierre C., Monties B. et Rolando C. (1985)

Thioacidolysis of lignin : comparison with acidolysis.
Journal of Wood Chemistry and Technology, **5**, 277-292.

Larsen A.B., Funch F.H. et Hamilton H.A. (1991)

The use of fermentation sludge as a fertilizer in agriculture.
Water Science Technology, **24**(12), 33-42.

Larter S.R. et Horsfield B. (1993)

Determination of Structural Components of Kerogens by the Use of Analytical Pyrolysis.
Organic Geochemistry. (Engel M.H. et Macko S.A., Ed.), Plenum Press, New York, 271-287.

Ledesert B., Joffre J., Amblès A., Sardini P., Genter A. et Meunier A. (1996)

Organic matter in the Soultz HDR granite thermal exchanger (France) : natural tracer of fluid circulations between the basement and its sedimentary cover.

Journal of Volcanology and Geothermal Research, **70**, 235-253.

Leeuw de J.W. et Baas M. (1993)

The behaviour of esters in the presence of tetramethylammonium salts at elevated temperatures; flash pyrolysis or flash chemolysis ?

Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, **26**, 175-184.

Leine L. (1984)

Etude géologique du gisement des schistes bitumineux de Tarfaya.

Séminaire sur la Technologie d'Exploitation des Schistes Bitumineux, Rabat.

Leo R.F. et Parker P.L. (1966)

Branched-chain fatty acids in sediments.

Science, **152**, 649-650.

Magnoux P. (1982)

Etude de l'influence d'apports d'argiles sur la composition de la fraction lipidique d'un sol carencé.

Thèse de, 115 p.

Matsuda H. (1978)

Early diagenesis of fatty acids in lacustrine sediments. III : Changes in fatty composition in the sediments from a brackish water lake.

Geochimica et Cosmochimica Acta, **42**, 1027-1034.

Mayoungou-Vembet P. (1989)

Dynamique et processus d'évolution d'un hydrocarbure (éicosane) dans le sol.

Thèse de, 219 p.

Mc Carthy R.D. et Duthie A.H. (1962)

A rapid method for the separation of free fatty acids from other lipids.

Journal of Lipid Research, **3**, 117-119.

Mermoud F., Wünsche L., Clerc O., Gulacar F. et Buchs A. (1984)

Steroid ketones in the early diagenetic transformation of Δ^5 sterols in different types of sediments.

Organic Geochemistry, **6**, 25-29.

Meyers P.A. et Takeuchi N. (1979)

Fatty acids and hydrocarbons in superficial sediments of lake Huron.

Organic Geochemistry, **1**, 127-138.

- Meyers P.A., Bourbonniere R.A. et Takeuchi N. (1980)**
Hydrocarbons and fatty acids in two cores of lake Huron sediments.
Geochimica and Cosmochimica Acta, **44**, 1215-1221.
- Miranda de Castro I. (1994)**
Lipides de microorganismes et de sédiments actuels.
Thèse de, 212 p.
- Morisson R. I. et Brick J. (1966)**
Long chain methyl ketones in soils.
Chemistry and Industry, 596-597.
- Mulder M.M., Van der Hage E.R.E. et Boon J.J. (1992)**
Analytical in source pyrolytic methylation electron impact mass spectrometry of phenolic acids in biological matrices.
Phytochemical Analysis, **3**, 165-172.
- Okomé-Mintsa M. (1991)**
Etude des lipides complexes dans les sols acides : structure et origine.
Thèse de, 189 p.
- Oudot J., Amblès A., Bourgeois S., Gatellier C. et Sebyera N. (1989)**
Hydrocarbon infiltration and biodegradation in a landfarming experiment.
Environmental Pollution, **59**, 17-40.
- Ourisson G., Albrecht P. et Rohmer M. (1979)**
The hopanoïds. Paleochemistry and biochemistry of a group of natural product.
Pure and Applied Chemistry, **51**, 709-729.
- Ourisson G. et Rohmer M. (1992)**
Hopanoïds. I : Biohopanoïds: a novel class of bacterial lipids.
Accounts in Chemical Research, **25**, 403-408.
- Pagliai M. et Vittori Antisari L. (1993)**
Influence of waste organic matter on soil micro- and macro-structure.
Bioresource Technology, **43**, 205-213.
- Parlanti E., Riffé C., Jambu P. et Amblès A. (1993)**
Xenobiotic compounds evolution in landfarming experiments. Use of organic markers.
Organic Geochemistry. (Oygard K., Ed.), 671-675.
- Perry J.J., Volkman J.K., Johns R.B. et Bavor H.J.Jr. (1979)**
Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments.
Geochimica and Cosmochimica Acta, **43**, 1715-1725.
- Piccolo A. (2001)**
The supramolecular structure of humic substances.
Soil Science, **166**, 810-832.

Preston C.M., Hempfling R., Schulten H.R., Schnitzer M., Trofymow J.A. et Axelson D.E. (1994)

Characterization of organic matter in a forest soil of coastal British Columbia by NMR and pyrolysis-field ionization mass spectrometry.

Plant and Soil, **158**, 69-82.

Reiss C., Blanc P. et Albrecht P. (1993)

New structural information on Messel shale kerogen based on selective chemical degradation.

Organic Geochemistry. (Oygard K., Ed.), F. Hurtigtrykk, Oslo, 500-503.

Reiss C. (1994)

Etude structurale de géomacromolécules par dégradations chimiques sélectives. Synthèse et caractérisation de nouveaux composés polyaromatiques non plans.

Thèse de l'Université Louis Pasteur, Strasbourg, 228 p.

Rheinbraun AG (Ed.) (1997)

Lignite international, Cologne, Germany.

Ries-Kautt M. et Albrecht P. (1989)

Hopane-derived triterpenoids in soils.

Chemical Geology, **76**, 143-151.

Saiz-Gimenez C. (1992)

Application of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry to the study of soils, plant materials and humic substances. A critical appraisal.

HUMUS, its structure and role in agriculture and environment. (Kubat J., Ed.), Elsevier Sciences, B.V, **25**, 27-38.

Schmitter J.M., Arpino P. et Guiochon G. (1978)

Investigation of high-molecular weight carboxylic acids in petroleum by different combinations of chromatography (gas and liquid) and mass spectroscopy (electron impact and chemical ionization).

Journal of Chromatography, **167**, 149-158.

Schnitzer M. et Wright J.R. (1960)

Studies on the oxidation of the organic matter of the A₀ and Bh horizons of a podzol.

Trans. 7th International Congress of Soil Sciences, Madison.

Schnitzer M. (1974)

Alkaline cupric oxidation of a methylated fulvic acid.

Soil Biology and Biochemistry, **6**, 1-6.

Schnitzer M. et Neyroud J.A. (1975)

Further investigation of fungal "humic acids".

Soil Biology and Biochemistry, **7**, 365-371.

Schnitzer M. et Schulten H.R. (1992)

The analysis of soil organic matter by pyrolysis-field ionization mass spectrometry.

Soil Science Society of America Journal, **56**, 1811-1817.

Schuda P., Cichowicz M. et Heimann M. (1983)

A facile method for the oxidative removal of benzyl ethers : the oxidation of benzyl ethers to benzoates by ruthenium tetroxide.
Tetrahedron Letters, **24**, 3829-3830.

Schwoerer V. (1998)

Matière organique des sols : Etude structurale et interactions avec des substances xénobiotiques.
Thèse de, 174 p.

Sebyera N. (1987)

Biodégradation des produits pétroliers dans le sol : évaluation de la technique du land-farming.
Thèse de l'Université de Poitiers, 228 p.

Tegelaar E.W., de Leeuw J.W., Largeau C., Derenne S., Schulten H.R., Müller R., Boon J.J., Nip M. et Sprenkels J.C.M. (1989)

Scope and limitations of several pyrolysis methods in the structural elucidation of a macromolecular plant constituent in the leaf cuticle of *Agave Americana L.*
Journal of Analytical and Applied Pyrolysis, **15**, 29-54.

Valadas B. (1983)

Les Hautes terres du Massif Central français. Contribution à l'étude des morphodynamiques sur versants cristallins et volcaniques.
Thèse de, 927 p.

van Bergen P.F., Bull I.D., Poulton P.R. et Evershed R.P. (1997)

Organic geochemical studies of soils from the Rothamsted Classical Experiments - I. Total lipid extracts, solvent insoluble residues and humic acids from Broadbalk Wilderness.
Organic Geochemistry, **26**, 117-135.

van Dorsselaer A., Albrecht P. et Connan J. (1977)

Changes in the composition of polycyclic alkanes by thermal maturation.
Advances in Organic Geochemistry. (Campos R. et Goni J., Ed.), ENADISMA, Madrid, 53-59.

Vitoric D. (1980)

Structure elucidation of kerogen by chemical methods.
Kerogen. Insoluble organic matter from sedimentary rocks. (Durand B., Ed.), Technip, Paris, 301-338.

Vitorovic D., Amblès A., Bajc S., Cvetkovic O. et Polic P. (1994)

Kerogen diversity demonstrated by oxidation. I. Type I kerogens.
Journal of the Serbian Chemical Society, **59**, 75-85.

Vitorovic D., Amblès A., Cvetkovic O., Bajc S. et Polic P. (1996)

Kerogen diversity demonstrated by oxidation. II. Type II kerogens.
Journal of the Serbian Chemical Society, **61**, 137-147.

Weete J.D. (1974)

Fungal lipid biochemistry. Distribution and metabolism.

Monographs in lipids Research Ed.), Plenum Press, New York and London, **1**, 209-238.

Zemmouri O. et Broquet P. (1977)

Les grands traits géologiques et structuraux de la région de Timahdit (Moyen-Atlas, Maroc).

Applications à la prospection des schistes bitumineux.

5^{ème} Réunion Annuelle des Sciences de la Terre, Rennes.