



HAL
open science

Nature et rôle des matières solides en suspension dans la dynamique du transfert des éléments polluants

Nicolas Perdrial

► **To cite this version:**

Nicolas Perdrial. Nature et rôle des matières solides en suspension dans la dynamique du transfert des éléments polluants. Géochimie. Université Louis Pasteur - Strasbourg I, 2007. Français. NNT : . tel-00760435

HAL Id: tel-00760435

<https://theses.hal.science/tel-00760435>

Submitted on 3 Dec 2012

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.

THÈSE

Présentée en vue de l'obtention du grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ LOUIS PASTEUR

Sciences de la Terre et de l'Univers

Physique, Chimie et Biologie de l'Environnement

par

Nicolas Perdrial

**Nature et rôle des matières solides en suspension dans la
dynamique du transfert des éléments polluants**

soutenue publiquement le 8 octobre 2007

Mr Norbert Clauer
Mr Jean-Emmanuel Delphin
Mme Françoise Elsass
Mr Jean-Pierre Girard
Mme Marie-Claire Lett
Mr Didier Lièvreumont
Mme Nicole Liewig
Mr Christian Mougins

DR CNRS, Strasbourg
CR INRA, Colmar
IR INRA, Versailles
Ingénieur BRGM, Orléans
Professeur, ULP Strasbourg
MC, ULP Strasbourg
CR CNRS, IPHC Strasbourg
DR INRA, Versailles

Membre invité
Examineur
Co-directeur de thèse
Rapporteur Externe
Rapporteur Interne
Membre invité
Co-directeur de thèse
Rapporteur Externe

La recherche doit avant être un jeu et un plaisir.

Pierre Joliot

À mon cœur...

A Emile...

Remerciements

Ce travail de thèse est l'aboutissement de quatre années de recherche pendant lesquelles de nombreuses personnes ont apporté leur contribution et participé, de près ou de loin, au mûrissement du sujet et du thésard. Pour tout ceci je remercie :

Norbert Clauer et François Gauthier-Lafaye qui lui a succédé, pour m'avoir accueilli au sein du CGS de Strasbourg.

Daniel Tessier pour m'avoir ouvert les portes de l'unité de sciences du sol de l'INRA de Versailles et m'avoir toujours accueilli à bras ouverts à chacun de mes nombreux séjours dans ces murs.

Merci à Jean-Emmanuel Delphin de l'INRA de Colmar de m'avoir accueilli dans son labo et sur son terrain avec une disponibilité sans failles.

Merci à Jacques Ranger, Marie-Pierre Turpault et Dominique Gelhaye de l'INRA de Nancy pour m'avoir apporté leur aide dans l'étude du contexte forestier, m'avoir aidé dans les nombreuses campagnes de terrains et pour les échantillonnages et analyses d'eaux.

Je tiens à remercier tout particulièrement Françoise Elsass pour m'avoir épaulé, dirigé, respecté tout au long de ces quatre années. Merci pour cette confiance et pour cette franchise qui ont fait de ce travail un échange constructif et amical. Il est des personnes qui savent transmettre l'amour de la recherche et Françoise en fait définitivement partie, merci et merci.

Un très grand merci à Nicole Liewig qui a su me guider et me faire confiance. Merci pour sa disponibilité de tous les instants et ceci malgré l'éloignement, merci pour ses remarques constructives qui ont contribué à l'amélioration du manuscrit.

Merci à Norbert Clauer pour avoir toujours suivi mon travail en y contribuant par son expertise et ses conseils toujours bienvenus.

Merci à Didier Lièvremont du GMGM de Strasbourg qui a su me transmettre le virus des microbes et qui m'a toujours accordé l'écoute et apporté le savoir nécessaire au bon déroulement d'une collaboration fructueuse.

Dans l'équipe de Géoparticules un grand merci à Gilles Morvan pour m'avoir initié à la microscopie à transmission et à balayage environnementale. Merci également à Jean-Luc, Fabienne et Amélie du labo des RX pour les analyses et l'ambiance. Merci à Laurence, Joëlle et Tania. Un très grand merci aux autres thésards de l'équipe : Julia l'allemande, Christian le québécois, Karim le marocain, Pavlina la tchèque, Rabia et Raja les tunisiennes et Mohammed l'algérien (quelle équipe internationale !!!).

Au sein du CGS merci à Bertrand Fritz pour son amitié et pour m'avoir transmis le sujet de thèse pendant l'été 2003 et bien sûr merci à Mathieu, Nico, Jérémie, Julien, Mohammed et Michel qui ont tout connu de la sinusoïde de ma thèse. Merci aussi à Anne, Yves, Ondrej, Pavla, Honza, Prokop, Armelle, Monica, Geoffroy, Francis, Marie-Laure, Damien, Eric, Jonathan, Suzon, Joachim, Edouard, ainsi que les anciens et nouveaux thésards.

Au sein de l'INRA de Versailles merci à Jean-Paul Lapeyronnie pour ses doigts de fée au microscope, à Jeanne-Chantal Dur pour son aide en granulo-laser, à Anne Jaulin pour les analyses d'eau et l'accueil, à Nelly Wolff pour l'aide en cryo-microscopie, à Philippe Cambier pour les discussions scientifiques, à Laëtitia Citeau pour les discussions scientifiques et à l'ensemble du personnel et des thésards.

Merci également à Sandrine du GMGM, à Jean-Hervé du DEPE pour l'aide technique.

Un énorme plus que merci à Julia, qui à tout partagé et m'a toujours soutenu moralement, scientifiquement, amicalement puis amoureuxment. Mille milliards de merci et rhâss

Merci enfin à Gérard Bossière et Bruce Velde pour m'avoir donné l'amour de la recherche.

Afin de caractériser la nature et le rôle des particules fines et colloïdales (PFC) dans les milieux de subsurface, le suivi dans le temps des PFC contenues à la fois dans les retombées atmosphériques et dans les eaux d'infiltration et la détermination des facteurs contrôlant la distribution et l'évolution des PFC dans l'environnement a été réalisée. La démarche utilisée est basée essentiellement sur des observations *in situ* et consiste à prélever mensuellement, sur le terrain, les PFC contenues dans les retombées atmosphériques et dans les eaux d'infiltration d'un sol. L'étude en MET/EDX des PFC individuelles a permis de réaliser une caractérisation typologique et physico-chimiques et d'étudier leur abondance et leur réactivité face aux contaminants. Par ailleurs, la connaissance des paramètres environnementaux de chacun des sites et l'étude statistique détaillée de l'évolution de PFC a permis de proposer un modèle conceptuel de la l'évolution dynamique (distribution, réactivité) des PFC dans les environnements considérés.

Les résultats obtenus en microscopie montrent que la très grande majorité des particules ont un diamètre inférieur à 0,45 μm . L'étude systématique au MET et à l'EDX des échantillons a permis de caractériser les particules présentes et de différencier plusieurs types récurrents dans des contextes environnementaux distincts, ainsi les PFC sont, (i) minérales et constituées par des argiles plus ou moins altérées, des oxy-hydroxydes et des sels (sulfures, chlorures) avec la présence ponctuelle de carbonates et de tectosilicates, ou (ii) organiques et constituées par des bactéries ou de la matière organique non-vivante (exsudats de bactérie et matière organique dégradée), ou encore (iii) des associations mixtes de particules organiques et minérales formant des micro-agrégats organo-minéraux. Au-delà de l'étude typologique, la caractérisation des propriétés physico-chimiques des différents types de PFC a permis d'en identifier les sources, l'abondance et la réactivité.

L'étude de la distribution au cours du temps des PFC des retombées atmosphériques et la connaissances des facteurs environnementaux sur les deux sites étudiés a permis de mettre en évidence les facteurs clefs contrôlant la distribution des PFC. Ainsi, il apparaît, dans un premier temps, que l'intensité et la hauteur de pluie sont les facteurs principaux mis en jeu. Cependant, la localisation et le mode d'occupation des sols influent également en modifiant, en amont, les sources de PFC et en aval l'action de la pluie. En effet, si l'étude de la dynamique des PFC des retombées atmosphériques sur les deux sites montre une influence très nette de la pluie, les deux sites montrent une réponse différente. L'acteur majeur contrôlant les dépôts de PFC est la pluie, modifié par la présence de couvert végétal qui induit un enrichissement en éléments et l'agrégation des PFC sur les feuilles. L'acteur majeur contrôlant les PFC dans les eaux d'infiltration du sol étudié est la dynamique hydrique du sol et donc les fluctuations de son état de saturation en fonction de la profondeur considérée et de la pluviosité.

Enfin, ce travail permet de souligner trois résultats importants que sont : la mise au point d'une méthodologie efficace, la mise en évidence d'un vecteur de contaminants essentiel et souvent négligé que sont les bactéries, via les observations *in situ* et des expériences en laboratoire et l'importance des mécanismes d'agrégation dans le transport des PFC.

Mots-clés : sol, retombées atmosphériques, bactéries, colloïdes, nanoparticules, suivi *in situ*, zone vadose, microscopie électronique analytique, transport colloïdal, As, Pb.

In order to characterize the nature and the role of fine and colloidal particles (FCP) in subsurface environments, a time-monitoring of FCP from atmospheric deposition and soil infiltration water and the determination of key factors controlling the distribution of the FCP were performed. The methodology is essentially based on in situ observations and consists on month-scale sampling of the FCP from atmospheric deposition (under a forest and over a vineyard) and soil infiltration water (in the vineyard). TEM/EDX study of individual FCP permitted a typological and physical-chemical characterization as well as the study of their abundance and reactivity facing contaminants. Moreover knowing the environmental parameters of each sampling sites and detailed statistical study of FCP evolution permitted to propose a conceptual model of the dynamic evolution (distribution, reactivity) of the FCP in the sampled environments.

Microscopic observations showed that the majority of particles have a diameter inferior to 0.45 μm . Systematic investigations on the samples using TEM and EDX permitted to characterize particles and differentiate several recurrent types in the distinct environments. Then FCP are (i) mineral-types composed of automorphous and altered clays, oxi-hydroxides and salts (sulphur and chlorine) including rare tectosilicates and carbonates, or (ii) organic-types composed of bacteria and non-living organic matter (bacterial products and altered organic matter), or (iii) association of organic and mineral types forming organo-mineral micro-aggregates. Additionally, the characterization of physical and chemical properties of the different types of FCP permitted to identify their source, abundance and reactivity.

The study of the time-distribution of the atmospheric FCP combined with the knowledge of environmental factors on the two sampling sites permitted to determine the key-factors that control the FCP distribution. Then, it appears that the amount and the intensity of the rain are the primarily factors. However, geographical position and occupation mode of the soils also have an influence by modifying, before the sources and after the rain action. Indeed, even if the study of the dynamic of the atmospheric FCP shows a strong influence of the rain, both sites have a different answer. The main actor controlling FCP from atmospheric deposition is the rain, modify by the vegetal cover which lead to a chemical enrichment and aggregation onto the leaves. The main actor controlling FCP from the soil infiltration water is the hydrological properties of the soil and so the fluctuation of the saturated state according to depth leading to aggregation processes.

Finally, this work highlighted three important results: (i) the development of an efficient methodology, (ii) the evidence of an essential and often neglected contaminant vector, which are bacteria, via in situ observations and batch experiments, and (iii) the importance of the micro-aggregation processes in the transport of the FPC.

Keywords: soil, atmospheric deposition, bacteria, colloids, nanoparticles, in situ monitoring, vadose zone, analytical electron microscopy, colloidal facilitated transport, As, Pb

SOMMAIRE

RESUME	i
ABSTRACT	ii
SOMMAIRE.....	iii
Liste des figures	xiii
Liste des tableaux & Equations	xxv
INTRODUCTION GENERALE	1
CHAPITRE I. PROBLEMATIQUE DU TRANSPORT COLLOÏDAL	7
I. Introduction.....	8
II. Problématique	9
III. Colloïdes et particules fines : de la nécessité de définir les termes.....	11
IV. Types et caractéristiques des particules fines et colloïdales environnementales	16
V. L'échantillonnage des PFC	18
VI. Le transport colloïdal dans les eaux.....	19
VI.1. Le transport colloïdal dans les milieux saturés en eau	19
VI.2. Le transport colloïdal dans la zone vadose	19
VI.2.1. PFC et interface air-eau-solide	20
VI.2.2. Contraintes cinétiques sur la mobilisation des PFC	22
VI.2.3. Le transport microbien	23
VII. Originalité de la démarche mise en œuvre.....	26
VII.1. Collecte du matériel	26

VII.2. Instruments d'analyse	26
VII.3. Démarche	27
VII.4. Sites étudiés.....	28
CHAPITRE II. PARAMETRES INFLUENÇANT LE COMPORTEMENT DES COLLOÏDES & SITES D'ETUDE.....	29
I. Paramètres influençant le comportement des colloïdes	30
I.1. Dans l'atmosphère.....	30
<i>I.1.1. Origine et genèse des nanoparticules atmosphériques.....</i>	<i>30</i>
<i>I.1.2. Paramètres influençant la nature et la distribution des nanoparticules atmosphériques.....</i>	<i>33</i>
I.2. Dans le sol	34
<i>I.2.1. Origine et genèse des PFC des eaux d'infiltration du sol.....</i>	<i>34</i>
<i>I.2.2. Paramètres influençant la nature et la distribution des PFC des eaux d'infiltration du sol.....</i>	<i>35</i>
II. Présentation des sites d'étude.....	39
II.1. Le site forestier de Breuil-Chenue	40
<i>II.1.1. Caractéristiques du site</i>	<i>40</i>
II.1.1.1. Situation géographique	40
II.1.1.2. Climat.....	41
II.1.1.3. Géologie.....	42
II.1.1.4. Caractéristiques pédologiques	42
II.1.1.5. Les peuplements	44
<i>II.1.2. Dispositifs d'échantillonnage.....</i>	<i>45</i>
<i>II.1.3. Synthèse</i>	<i>45</i>
II.2. Le site de vignoble péri-urbain de Wintzenheim	46
<i>II.2.1. Caractéristiques du site</i>	<i>46</i>
<i>II.2.2. Particularité des apports anthropiques</i>	<i>48</i>

II.2.3. <i>Caractéristiques pédologiques</i>	50
II.2.4. <i>Synthèse</i>	55
III. Conclusions	56
CHAPITRE III. MATERIEL & METHODE	57
I. L'échantillonnage des Particules Fines et Colloïdes (PFC)	58
I.1. L'intérêt des études <i>in situ</i>	58
I.2. Echantillonneurs de particules actuels.....	59
I.2.1. <i>Les échantillonneurs atmosphériques</i>	59
I.2.2. <i>Les échantillonneurs des particules du sol</i>	60
I.2.2.1. Les lysimètres sans tension	60
I.2.2.2. Les lysimètres sous tension.....	62
II. New technique for <i>in situ</i> sampling of particulate matter and colloids in soil and atmospheric fallout	63
II.1. Abstract	63
II.2. Introduction	64
II.3. Sampling device	65
II.3.1. <i>Basic principle of the device</i>	65
II.3.2. <i>Microlysimeter</i>	66
II.3.3. <i>Field device</i>	66
II.4. Discussion	67
III. Acquisition d'images et analyses	69
III.1. Equipement analytique	69
III.2. Méthode analytique.....	69
IV. Traitement des images et des résultats analytiques	72
IV.1. Traitements des images	72

IV.2. Caractérisation morphologique des PFC	74
IV.3. Caractérisation morpho-chimique des PFC	76
IV.4. Typologie.....	77
V. Discussion.....	77
V.1. Les inconvénients de la méthode	77
<i>V.1.1. La mise en place du dispositif.....</i>	<i>77</i>
<i>V.1.2. La représentativité des échantillons</i>	<i>78</i>
V.1.2.1. La surface et le volume échantillonnés.....	78
V.1.2.2. L'évolution <i>in situ</i> des PFC.....	79
V.1.2.3. L'absence de prise en compte des écoulements latéraux	80
<i>V.1.3. La représentativité des analyses</i>	<i>81</i>
V.1.3.1. Les limites de l'analyse par EDX.....	81
V.1.3.2. La non-systématicité des analyses en EDX	82
V.2. Les avantages de la méthode.....	82
<i>V.2.1. Une caractérisation in situ.....</i>	<i>82</i>
<i>V.2.2. Une perturbation minimale du système</i>	<i>82</i>
<i>V.2.3. L'individualisation des PFC</i>	<i>83</i>
<i>V.2.4. Un suivi in situ des variations temporelles et spatiales des caractéristiques chimiques et physiques</i>	<i>83</i>
VI. Conclusions.....	84
CHAPITRE IV. CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES NANOPARTICULES DU SOL ET DE L'ATMOSPHERE.....	85
I. Introduction.....	86
II. Matériel et méthodes.....	86
III. Caractérisation physico-chimique des nanoparticules.....	88

III.1. Les nanoparticules des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim	88
<i>III.1.1. Les constituants minéraux des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim</i>	
.....	88
III.1.1.1. Les particules argileuses automorphes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....	88
III.1.1.2. Les particules argileuses altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....	94
III.1.1.3. Les sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim	98
III.1.1.4. Les oxy-hydroxydes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....	102
<i>III.1.2. Les constituants organiques des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim</i>	
.....	104
III.1.2.1. Les bactéries des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim	104
III.1.2.2. Les composés organiques non-vivants des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....	110
 <i>III.1.3. Les complexes organo-minéraux des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim</i>	 113
 <i>III.1.4. Les nanoparticules accessoires et indéterminées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....</i>	 115
III.1.4.1. Les minéraux accessoires des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim ...	115
.....	
III.1.4.2. Les constituants indéterminés des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....	116
 <i>III.1.5. Synthèse des caractéristiques et réactivités des PFC des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim</i>	 117
III.2. Les nanoparticules des retombées atmosphériques à Wintzenheim	119
<i>III.2.1. Les constituants minéraux des retombées atmosphérique à Wintzenheim.....</i>	
.....	119
III.2.1.1. Les particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim.....	119
III.2.1.2. Les particules argileuses altérées des retombées atmosphériques à Wintzenheim.....	124
III.2.1.3. Les sels des retombées atmosphériques à Wintzenheim	127
III.2.1.4. Les oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Wintzenheim....	129

<i>III.2.2. Les constituants organiques des retombées atmosphérique à Wintzenheim</i>	131
.....	
III.2.2.1. Les bactéries des retombées atmosphériques à Wintzenheim	131
III.2.2.2. Les composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Wintzenheim.....	134
<i>III.2.3. Les agrégats organo-minéraux des retombées atmosphériques à Wintzenheim</i>	136
<i>III.2.4. Les nanoparticules accessoires et indéterminées des retombées atmosphérique à Wintzenheim</i>	138
III.2.4.1. Les minéraux accessoires des retombées atmosphériques à Wintzenheim ..	138
.....	
III.2.4.2. Les constituants indéterminés des retombées atmosphériques à Wintzenheim.....	139
<i>III.2.5. Synthèse des caractéristiques et réactivité des PFC des retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim</i>	140
III.3. Les nanoparticules des retombées atmosphériques de Breuil.....	142
<i>III.3.1. Les constituants minéraux des retombées atmosphérique à Breuil</i>	142
III.3.1.1. Les particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Breuil	142
III.3.1.2. Les particules argileuses altérées des retombées atmosphériques à Breuil ..	145
.....	
III.3.1.3. Les sels des retombées atmosphériques à Breuil.....	148
III.3.1.4. Les oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Breuil	151
<i>III.3.2. Les constituants organiques des retombées atmosphérique à Breuil</i>	154
III.3.2.1. Les bactéries des retombées atmosphériques à Breuil.....	154
III.3.2.2. Les composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil.....	157
<i>III.3.3. Les complexes organo-minéraux des retombées atmosphérique à Breuil</i>	160
.....	
<i>III.3.4. Les nanoparticules accessoires et indéterminées des retombées atmosphérique à Breuil</i>	161
III.3.4.1. Les minéraux accessoires des retombées atmosphériques à Breuil.....	161
III.3.4.2. Les constituants indéterminés des retombées atmosphériques à Breuil .	162

III.3.5. Synthèse des caractéristiques et réactivité des PFC des retombées atmosphériques à Breuil.....	163
IV. Conclusions.....	165
CHAPITRE V. REACTIVITE ET DYNAMIQUE DES NANOPARTICULES	167
I. Introduction.....	168
II. Facteurs influençant la nature et la réactivité des particules	169
II.1. Facteurs atmosphériques	169
II.1.1. Chimie des eaux atmosphériques.....	169
II.1.2. Dynamique atmosphérique	171
II.1.3. Nature des terrains adjacents.....	171
II.1.4. Nature des apports anthropiques.....	173
II.2. Facteurs pédologiques	174
II.2.1. Chimie de la solution de sol.....	174
II.2.2. Conditions climatiques	175
II.2.3. Minéralogie et texture du sol.....	175
II.2.4. Nature des apports et interventions anthropiques.....	176
II.3. Devenir des retombées atmosphériques dans le sol et impact sur la réactivité des particules en tant que vecteurs de polluants.....	176
III. Variations des PFC dans l'espace et le temps	181
III.1. Variations de la charge en matière et dynamique hydrique du sol	181
III.2. Variations de distribution avec la profondeur.....	183
III.3. Facteurs affectant la distribution des PFC avec le temps	191
III.3.1. Distribution mensuelle des PFC des retombées atmosphériques	191
III.3.1.1. Site de Breuil	191
III.3.1.2. Site de Wintzenheim.....	197
III.3.1.3. Dynamique des PFC des retombées atmosphériques au cours du temps	200

III.3.2. Distribution des PFC des eaux d'infiltration du sol au cours du temps.	201
III.3.2.1. à 15 cm de profondeur	202
III.3.2.2. à 35 cm de profondeur	203
III.3.2.3. à 55 cm de profondeur	204
III.3.2.4. Dynamique des PFC des eaux d'infiltration du sol au cours du temps ..	205
IV. Conclusions.....	209
CHAPITRE VI. INTERACTIONS BACTERIES - ARSENIC.....	211
I. Introduction.....	212
II. Comportement de l'arsenic	213
II.1. Généralités.....	213
II.2. Comportement des microorganismes envers l'arsenic	215
III. Matériel et méthode.....	217
III.1. Souches bactériennes	217
III.2. Milieu de culture	217
III.3. Préparation des échantillons pour l'observation.....	218
III.3.1. Microscopie électronique à balayage conventionnelle et cryomicroscopie .	
.....	218
III.3.2. Microscopie électronique à transmission.....	219
III.4. Conditions opératoires	219
III.4.1. Microscopie électronique à balayage conventionnelle et cryomicroscopie .	
.....	219
III.4.2. Microscopie électronique à transmission.....	220
IV. Résultats.....	220
IV.1. Observations morphologiques en microscopie électronique à balayage	220

IV.2. Observations morphologiques et analyses chimiques en microscopie électronique à transmission analytique	222
IV.2.1. Observations morphologiques en MET	222
IV.2.2. Analyses en EDX	225
IV.3. comportement du mutant M1 d' <i>H. arsenicoxydans</i> n'oxydant pas As[III]	227
IV.4. Comportement d'autres microorganismes	228
IV.4.1. Les bactéries génétiquement proches de <i>H. arsenicoxydans</i>	228
IV.4.2. Comportement d'une bactérie arsénite oxydante de sols arséniés.	230
V. Discussion	231
VI. Conclusions.....	234
CONCLUSIONS & PERSPECTIVES	237
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	249
ANNEXES	264

Liste des figures

Chapitre I

Figure 1.1. Distribution de taille de différents types de colloïdes environnementaux et particules. D'après Lead and Wilkinson (2006a).13

Figure 1.2. Abaque représentant les valeurs de vitesse de chute atteinte par des particules sphériques d'une taille et d'une densité données. Chaque courbe correspond à une valeur de densité. La ligne noire épaisse représente la limite d'action de la loi. Les valeurs situées au-dessus de cette ligne (zone grisée) correspondent au domaine pour lequel les limites de la loi sont atteintes, c'est-à-dire que ces particules sont soumises aux mouvements browniens. Il s'agit de colloïdes au sens comportemental du terme.....16

Figure 1.3. Diagramme conceptuel d'un milieu poreux insaturé contenant des colloïdes et un contaminant, d'après Choi & Corapcioglu (1997).20

Figure 1.4. Visualisation expérimentale et concept de la rétention de colloïdes dans un milieu partiellement saturé. **a)** Image en lumière transmise d'un milieu constitué de sable de silice (0,43 0,6mm de diamètre) 1 heure après l'ajout d'une suspension de colloïdes hydrophiles de 0,8 μ m de diamètre. Les colloïdes apparaissent en noir. **b)** Coupe schématique au niveau de l'interface entre deux grains. Un ménisque d'eau se constitue entre deux grains de sable. Le cercle noir représente la zone d'accumulation des colloïdes à l'interface triple air-eau-solide. D'après Crist et al. (2004).22

Figure 1.5. Représentation schématique de surfaces de bactéries **a)** « tendre » et **b)** « dure » perméable aux ions et **c)** d'une surface de bactérie imperméable aux ions. Les distributions de vitesses d'écoulement de fluides et des potentiels électriques sont indiquées comme fonction de la distance à la surface de la cellule. Notez que pour les bactéries ioniquement perméables, les charges sont homogénéiquement réparties au-dessus de la couche de surface, alors que les charges de la bactérie ioniquement imperméable sont localisées à la surface. D'après Poortinga et al., 2001.24

Chapitre II

Figure 2.1. Représentation schématique de la distribution modale de taille (ligne noire) et des processus de formation et dynamiques majeurs des aérosols. D'après Posfai & Molnar (2000), repris de Whitby (1978).32

Figure 2.2. Influence de la force ionique sur **a)** la libération des particules (d'après Compère et al., 2001) et **b)** le potentiel d'agrégation de colloïdes (d'après Grolimund et al., 2001).36

Figure 2.3. Influence du pH de la solution sur a) le nombre de PFC, $N_{0,5\mu m}$ représente le nombre de PFC de $0,5\mu m$ de diamètre (d'après Atteia & Kozel, 1997) et b) le taux de dispersion de particules d'allophane dans une solution à 5mmol/L de NaCl (d'après Itami & Fujitani., 2005).....	36
Figure 2.4. Influence de la vitesse d'écoulement dans un sol sur a) la taille des particules et b) la distribution des types de PFC minérales (d'après Kaplan et al., 1993).....	37
Figure 2.5. a) Influence des précipitations orageuses sur la turbidité dans un puits (d'après Shevenell & McCarthy, 2002). b) Influence de la température de l'eau du sol sur le nombre de PFC, $N_{0,5\mu m}$ représente le nombre de PFC de $0,5\mu m$ de diamètre (d'après Atteia & Kozel, 1997).	38
Figure 2.6. Localisation du site de Breuil-Chenue sur a) la carte de France et b) la carte Michelin 243 au 1:200000. Le cercle représente la localisation du site expérimental.....	40
Figure 2.7. Variations des précipitations et températures moyennes mensuelles à Breuil-Chenue de Mars 2004 à Janvier 2005.....	41
Figure 2.8. Evolution avec la profondeur des proportions en quartz et minéraux argileux dans la fraction argileuse du sol Breuil-Chenue.	44
Figure 2.9. Dispositifs d'échantillonnage des eaux sur le site de Breuil-Chenue. a) Mât d'échantillonnage hors-couvert, b) dispositif de récupération des eaux de ruissellement de troncs et c) gouttières d'échantillonnage sous couvert végétal.	45
Figure 2.10. Localisation du site de Wintzenheim sur a) la carte de France et b) la carte Michelin au 1:200000. Le cercle représente la localisation du site expérimental.....	46
Figure 2.11. a) photographie du site d'échantillonnage de Wintzenheim et b) photographie du dispositif de collecte des eaux gravitaires et coupe du sol.....	47
Figure 2.12. Cycle de l'arsenic dans les sols (d'après Bhumbra & Keefer, 1994).....	49
Figure 2.13. Diagramme de texture du sol de Wintzenheim. L : Loam ; SL : Sandy Loam.	53
Figure 2.14. Evolution avec la profondeur des proportions en minéraux argileux dans la fraction argileuse du sol de Wintzenheim.	53
Figure 2.15. Evolution de la granulométrie et des concentrations en divers éléments avec la profondeur pour les parcelles témoin et traitée. a) évolution des pourcentages relatifs d'argile et de sable grossiers pour les parcelles témoin et traitée. b), c), d), e) et f) Evolution des concentrations en arsenic, silicium, aluminium, calcium et manganèse en fonction de la profondeur pour les parcelles témoin et traitée.....	55

Chapitre III

Figure 3.1. a) description of the microlysimeter. b) Cross section of the field installation for sampling soil infiltration water PM.....	65
Figure 3.2. a) TEM micrograph of a cadmium-rich PM present in water infiltration of a tilled soil. Scale bar : $0.2 \mu m$. b) Microdiffraction pattern of particle shown on Fig 3a. c) Energy dispersive X-	

ray analysis of the particle shown on Figure 3.2a. C peak is due to the carbon coating of the grid and to the presence of organic matter. Cu peak is due to the grid.....67

Figure 3.3. **a)** TEM micrograph of atmospheric deposits. 1: organic matter; 2: individual clay particle; 3: bacteria associated with clays. **b)** TEM micrograph of soil infiltrating water PM. 1: metal oxide; 2: bacteria associated with minerals; 3: weathered clay. Scale bars: 1 μm68

Figure 3.4. **a)** Image d'une grille-échantillon à un grossissement $\times 40$. Les carreaux avec un contour blanc correspondent aux carreaux aléatoirement choisis pour être étudiés. **b)** Image d'un des carreaux mis en évidence en 3.4.a au grossissement $\times 710$, les rectangles blancs représentent les images prises pour l'étude.71

Figure 3.5. Etapes du traitement et de l'analyse des images à l'aide du logiciel ImageJ, exemple d'une image. **a)** Image brute acquise en MET sans traitement. **b)** Image traitée par seuillage, érosion-dilatation et analysée représentant le « masque » vu par le logiciel. **c)** Représentation par le logiciel des contours de particules, et attribution automatique de numéros à chaque individu. **d)** caractérisation typologique et cartographie en code-couleur de l'image après traitement et analyse.72

Figure 3.6. Etapes du traitement des images par le logiciel ImageJ. **a)** Image en MET après modification des contrastes sous Photoshop. **b)** Image traitée par binarisation sous ImageJ. **c)** image après élimination du bruit par érosion-dilatation.. **d)** Image retraitée manuellement avant analyse par ImageJ afin de la rendre le plus proche possible de l'image de la figure 3.6 a.73

Figure 3.7. Traitement de l'image d'une bactérie afin de la rendre le plus proche possible de la réalité. **a)** Image en MET de la bactérie. **b)** Image traitée par binarisation puis érosion-dilatation sous ImageJ. **c)** image retraitée manuellement par un ajout de pixels.74

Figure 3.8. Illustration des différences morphologiques pour trois particules modèles par l'intermédiaire des valeurs d'aire, de diamètre de Feret et de diamètre apparent.75

Figure 3.9. Exemples de distribution de taille et facteur de forme de particules échantillonnées dans ce travail. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (3210 particules représentées). **b)** Représentation du facteur de forme (2397 particules) en fonction de l'aire. L'aire (en nm^2) est représentée en échelle logarithmique.76

Figure 3.10. **a)** Représentation du pourcentage de la surface couverte par chaque type de particules en fonction de leur aires pour chaque échantillon en échelle logarithmique. **b)** Surface couverte par l'ensemble de PFC d'un carreau d'un échantillon en fonction de celle d'un autre carreau du même échantillon. Chaque point représente une grille différente.....79

Figure 3.11. Différents types d'agrégats observés sur les grilles. **a)** Agrégat naturel. **b)** Agrégat par superposition. **c)** Agrégat indéterminé, vraisemblablement à la fois naturel et superposé. Barre d'échelle : 1 μm80

Chapitre IV

Figure 4.1. Schéma du dispositif de tubage et de collecte des nanoparticules du sol. Les différents niveaux de sols sont échantillonnés séparément.87

Figure 4.2. Images en MET de particules argileuses des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. a) smectite ; b), c), g) argiles automorphes de types illite et d), f) kaolinite ; e) phyllosilicate de type mica. Barre d'échelle : 1 μm	89
Figure 4.3. Distribution de taille et facteur de forme des particules argileuses automorphes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	90
Figure 4.4. Représentation en diagramme ternaire des compositions des particules argileuses automorphes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....	91
Figure 4.5. Diagramme des concentrations élémentaires normalisées des particules d'argiles automorphes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim exprimées en nombre de cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates	92
Figure 4.6. a), b), c), d), e) et f) Images en MET de particules argileuses altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	94
Figure 4.7. Distribution de taille et facteur de forme des particules argileuses altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....	95
Figure 4.8. Représentation en diagramme ternaire des compositions des particules argileuses altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	96
Figure 4.9. Diagrammes des concentrations élémentaires normalisées des analyses d'argiles altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim exprimées en cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates.	97
Figure 4.10. Diagramme des concentrations en Fe en fonction du rapport Si/Al pour les argiles altérées du sol de Wintzenheim.	98
Figure 4.11. Images en MET de sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....	99
Figure 4.12. Distribution de taille et facteur de forme des sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	100
Figure 4.13. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en S, P et Cl des sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim analysés en EDX.	101
Figure 4.14. Représentation en diagrammes ternaires des concentrations relatives en métaux des sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	101
Figure 4.15. Distribution de taille et facteur de forme des particules de type oxy-hydroxydes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.....	102
Figure 4.16. a), b), c), d) Images en MET d'oxy-hydroxydes métalliques des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	103
Figure 4.17. Composition chimique de 19 oxy-hydroxydes circulant dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	104
Figure 4.18. Images en MET de bactéries de la solution de sol à Wintzenheim.	105
Figure 4.19. a), b), c) et d) Images en MET de colonies bactériennes présentes sur les grilles du sol de Wintzenheim.	106

Figure 4.20. Distribution en tailles et facteurs de forme des bactéries des eaux d'infiltration du sol à Wintzenheim.	107
Figure 4.21. a), b), c), et d) : Exemples de granules internes dans des bactéries des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	108
Figure 4.22. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en P, As et Pb contenus dans les 66 bactéries des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim analysées (cellules + granules).	109
Figure 4.23. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en P, Cl et Pb contenus dans les bactéries des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim (cellules + granules).	110
Figure 4.24. Images en MET de composés organiques non-vivants présents dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	111
Figure 4.25. Distribution de taille et facteur de forme des particules de type composés organiques non-vivants présents dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	112
Figure 4.26. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en carbone, éléments légers et métaux lourds contenus dans les composés organiques non-vivants des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim	112
Figure 4.27. a), b),c), d), e), f) : Images en MET de complexes organo-minéraux de la solution de sol à Wintzenheim	114
Figure 4.28. Distribution en tailles et facteurs de forme des complexes organo-minéraux des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim.	115
Figure 4.29. Images en MET de minéraux accessoires des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim... .	116
Figure 4.30. Images en MET de particules de type indéterminé des eaux d'infiltration du sol à Wintzenheim.	117
Figure 4.31. Images en MET de particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim	119
Figure 4.32. Distribution de taille et facteur de forme des particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	120
Figure 4.33. Représentation en diagramme ternaire des compositions des particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	121
Figure 4.34. Images en MET des particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim dont les analyses sont déviées vers le pôle alcalin (M+).	122
Figure 4.35. Diagramme des concentrations élémentaires normalisées des analyses d'argiles automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim exprimées en nombre en cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates.	123
Figure 4.36. Images en MET de particules argileuses altérées présentes dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim.	124

Figure 4.37. Distribution de taille et facteur de forme des particules argileuses altérées des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	125
Figure 4.38. Représentation en diagramme ternaire des rapports de cations des argiles altérées des retombées atmosphériques à Wintzenheim.....	126
Figure 4.39. Nombre de cations métalliques par demi-maille d'argiles altérées, calculés sur la base de minéraux 2:1, dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim.....	127
Figure 4.40. Images en MET des particules de sels des retombées atmosphériques à Wintzenheim. .	128
Figure 4.41. Distribution de taille et facteur de forme des particules de sels des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	128
Figure 4.42. a), b), c), d) Images en MET d'oxy-hydroxydes métalliques des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	129
Figure 4.43. Distribution de taille et facteur de forme des particules de type oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Wintzenheim.....	130
Figure 4.44. Représentation de la composition des oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	130
Figure 4.45. Images en MET de bactéries des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	131
Figure 4.46. Distribution en tailles et facteurs de forme des bactéries des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	132
Figure 4.47. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en P, As et Pb contenus dans 20 bactéries des retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim (cellules + granules).....	133
Figure 4.48. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en P, Cl et Pb contenus dans les bactéries (cellules + granules) des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	134
Figure 4.49. Images en MET de composés organiques non-vivants présents dans les retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim.....	135
Figure 4.50. Distribution de taille et facteur de forme des particules de type composés organiques non-vivants	135
Figure 4.51. Images en MET de complexes organo-minéraux des retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim	136
Figure 4.52. Distribution de taille et facteur de forme des agrégats atmosphériques à Wintzenheim.....	137
Figure 4.53. Images en MET de minéraux accessoires des retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim.	138
Figure 4.54. Images en MET de particules indéterminées des retombées atmosphériques à Wintzenheim.	139
Figure 4.55. Images en MET de particules argileuses des retombées atmosphériques à Breuil	142

Figure 4.56. Distribution de taille et facteur de forme de 2204 particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Breuil	143
Figure 4.57. Représentation en diagramme ternaire des compositions des argiles automorphes des retombées atmosphériques à Breuil.	144
Figure 4.58. Diagramme des concentrations élémentaires normalisées des analyses d'argiles automorphes des retombées atmosphériques à Breuil exprimées en cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates	145
Figure 4.59. Images en MET de particules argileuses altérées présentes dans les retombées atmosphériques à Breuil.....	146
Figure 4.60. Distribution de taille et facteur de forme des 1915 particules argileuses altérées des retombées atmosphériques à Breuil.	146
Figure 4.61. Représentation en diagramme ternaire des rapports de cations des argiles altérées des retombées atmosphériques à Breuil.	147
Figure 4.62. Diagramme des concentrations élémentaires normalisées des analyses d'argiles altérées des retombées atmosphériques à Breuil exprimées en cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates	148
Figure 4.63. Images en MET de sels des retombées atmosphériques à Breuil.....	149
Figure 4.64. Distribution de taille et facteur de forme de 74 particules de sels des retombées atmosphériques à Breuil.	149
Figure 4.65. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en S, P et Cl des sels des retombées atmosphériques à Breuil analysés en EDX.....	150
Figure 4.66. Images en MET et spectres d'analyse EDX de suies des retombées atmosphériques à Breuil.....	151
Figure 4.67. Images en MET d'oxy-hydroxydes métalliques des retombées atmosphériques à Breuil.....	152
Figure 4.68. Distribution de taille et facteur de forme des 55 particules de type oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Breuil.	152
Figure 4.69. Composition chimique de 17 oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Breuil.....	153
Figure 4.70. Images en MET de bactéries des retombées atmosphériques à Breuil.	154
Figure 4.71. Distribution de taille et facteur de forme de 86 bactéries des retombées atmosphériques à Breuil.....	155
Figure 4.72. Représentation en diagramme ternaire des pourcentages relatifs en P, Cl et Pb contenus dans les bactéries (cellule + granules).	156
Figure 4.73. Images en MET de composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil.....	157

Figure 4.74. Distribution de taille et facteur de forme de 646 particules de type composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil.	158
Figure 4.75. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en carbone, éléments légers et métaux lourds contenus dans les composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil.	159
Figure 4.76. Proportions en métaux lourds contenus dans 27 composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil.	159
Figure 4.77. Images en MET de complexes organo-minéraux des retombées atmosphériques à Breuil ..	160
Figure 4.78. Distribution de taille et facteur de forme de 43 agrégats des retombées atmosphériques à Breuil.	161
Figure 4.79. Images en MET de minéraux accessoires des retombées atmosphériques à Breuil.	161
Figure 4.80. Exemples de particules de type indéterminé présentes dans les retombées atmosphériques à Breuil.	162

Chapitre V

Figure 5.1. Concentrations élémentaires normalisées, par rapport à des minéraux de référence, des argiles automorphes, exprimées en nombre de cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates.	169
Figure 5.2. Représentation en diagramme ternaire des rapports de cations des argiles.	172
Figure 5.3. Représentation en diagramme ternaire des rapports de cations des argiles altérées des retombées atmosphériques.	173
Figure 5.4. Normalisation des analyses en cations calculés sur la base des formules structurales des minéraux d'argiles circulant dans la solution du sol de Wintzenheim.	175
Figure 5.5. Schéma conceptuel de l'enrichissement de certaines argiles en éléments salins, matière organique et contaminants via le remaniement éolien en contexte forestier.	177
Figure 5.6. a), c), d), e) et f) Images en MET de bactéries de Breuil et Wintzenheim contenant des granules internes riches en plomb. b) Spectre d'analyse EDX correspond à la granule pointée sur l'image a.	178
Figure 5.7. Photographies en MET de bactéries avec granules internes de la littérature. a) Bactérie typique des aérosols de l'océan sud polaire possédant un flagelle polaire et des granules phosphatiques. D'après Posfai et al., 2003. b) Section d' <i>Aeromonas</i> cultivée en milieu liquide contenant de l'acétate de plomb triméthyl et montrant des granules internes. D'après Silverberg et al., 1976. c) Section ultramince de <i>B. megaterium</i> montrant une sequestration et une accumulation intracellulaire de plomb. D'après Roane, 1999.	179

Figure 5.8. Pourcentages de l'aire totale couverte sur chacune des grilles de microscopie à chaque profondeur à Wintzenheim correspondants à la charge totale en particules pour les mois de a) décembre, b) janvier, c) mars, d) avril, e) juin et f) juillet.....	181
Figure 5.9. Variations des précipitations et températures moyennes mensuelles à Wintzenheim au cours de la période étudiée	183
Figure 5.10. Diagrammes de distribution relative de la surface couverte par les différents types de particules caractérisés pour les retombées atmosphériques en cumul de tous les mois échantillonnés à a) Breuil et b) Wintzenheim.....	184
Figure 5.11. Diagrammes de distribution de la surface relative couverte par les différents types de particules caractérisés à Wintzenheim au cumul de tous les mois échantillonnés à a) la surface, b) 15 cm de profondeur, c) 35 cm de profondeur et d) 55 cm de profondeur.....	185
Figure 5.12. Evolution du pourcentage de la surface couverte par chaque type de particules en fonction de la profondeur.....	186
Figure 5.13. Schéma dynamique interprétatif de l'évolution de la distribution des types de particules avec la profondeur.....	188
Figure 5.14. Distribution relative des types de particules dans les retombées atmosphériques à Breuil pour les mois de a) mai, b) juin, c) juillet, d) septembre, e) octobre, f) novembre, g) décembre et h) janvier.....	192
Figure 5.15. Variations de la distribution relative des types de particules en pourcentage de la surface couverte et variations de la pluviométrie sous couvert mensuelle à Breuil au cours de la campagne d'échantillonnage.....	194
Figure 5.16. Variations de la distribution relative mensuelle des agrégats en pourcentage de la surface couverte et variations mensuelle de la force ionique (en mol.l ⁻¹) de la pluie sous couvert à Breuil au cours de la campagne d'échantillonnage.....	197
Figure 5.17. Distribution relative des types de particules dans les retombées atmosphériques à Breuil pour les mois de a) décembre, b) janvier, c) avril, d) juin et e) juillet.....	198
Figure 5.18. Variations de la distribution relative des types de particules des retombées atmosphériques à Wintzenheim en pourcentage de la surface couverte et variations de la pluviométrie mensuelle à Wintzenheim au cours de la campagne d'échantillonnage.	199
Figure 5.19. Distribution relative des types de particules dans les eaux d'infiltration à 15 cm de profondeur à Wintzenheim pour les mois de a) décembre, b) janvier, c) mars, d) juin et e) juillet.....	202
Figure 5.20. Distribution relative des types de particules dans les eaux d'infiltration à 35 cm de profondeur à Wintzenheim pour les mois de a) décembre, b) janvier, c) mars, d) avril, e) juin et f) juillet.....	203
Figure 5.21. Distribution relative des types de particules dans les eaux d'infiltration à 55 cm de profondeur à Wintzenheim pour les mois de a) décembre, b) janvier, c) mars, d) avril, e) juin et f) juillet.....	205
Figure 5.22. Variations des précipitations et températures moyennes mensuelles à Wintzenheim au cours de la période étudiée.	206

Figure 5.23. Variations de la distribution cumulée des types de PFC des eaux d'infiltration à Wintzenheim en pourcentage relatif de la surface couverte au cours du temps aux trois profondeurs échantillonnées. **a)** PFC minérales (argiles, argiles altérées et oxy-hydroxydes), **b)** PFC organiques (bactéries et composés organiques non-vivants), **c)** PFC organo-minérales (agrégats).....208

Chapitre VI

Figure 6.1. Principaux mécanismes cellulaires d'action des bactéries sur l'arsenic216

Figure 6.2. Courbe de croissance d'*H. arsenicoxydans* exprimée en CFU mL⁻¹, cinétiques d'oxydation d'As[III] correspondante et formation d'As[V] dans le milieu. D'après Weeger et al. (1999).217

Figure 6.3. a) et b) Image en microscopie à balayage en mode conventionnel de *H. arsenicoxydans* sans arsenic.222

Figure 6.4. a) Image en microscopie à balayage à basse température de *H. arsenicoxydans* en présence d'As[III]. **b)** Image en microscopie à balayage en mode conventionnel de *H. arsenicoxydans* en présence d'As[III].....222

Figure 6.5. Image en microscopie à balayage en mode conventionnel de *H. aquatilis* en présence d'As[III].....223

Figure 6.6. a) et b) Image en microscopie à transmission de *H. arsenicoxydans* cultivée sans As[III]. **c)** Image en microscopie à transmission d'une micro-colonie de *H. arsenicoxydans* cultivée en présence d'As[III] et **d)** Image en microscopie à transmission d'une cellule de *H. arsenicoxydans* cultivée en présence d'As[III] et possédant un flagelle.....224

Figure 6.7. a) Image traitée avec un filtre passe-haut avec un rayon de 50 pixels de la photo de la figure 6.6.c et mettant en évidence les précipitations sous forme d'aiguilles. **b)** Image traitée avec un filtre passe-haut avec un rayon de 50 pixels de la photo de la figure 6.6.d.....225

Figure 6.8. a) et b) Image avec diaphragme de contraste en microscopie à transmission de *H. arsenicoxydans* cultivée en présence d'As[III].....226

Figure 6.9. a) image MET de *H. arsenicoxydans* cultivée dans un milieu enrichi en As[III] (100 mg.L⁻¹). I : Analyse EDX d'un précipité interne à la micro-colonie, dans l'EPS et II : Spectre d'analyse EDX Analyse d'un point externe à la micro-colonie. **b)** image MET de *H. arsenicoxydans* cultivée dans un milieu enrichi en As[III] (100 mg.L⁻¹). I : Spectre d'analyse EDX d'une cellule, II : Spectre d'analyse EDX d'une granule noire interne, III : Spectre d'analyse EDX analyse d'une zone blanche interne et IV : Spectre d'analyse EDX d'un précipité interne à la micro-colonie, dans l'EPS.....227

Figure 6.10. a) image MET de M1 cultivée dans un milieu enrichi en As[III] (100 mg.L⁻¹). **b) et c) images a et d traitées. I.** Analyse EDX d'un précipité pointé par la flèche en d). **II.** Analyse EDX d'une cellule pointée en d).228

Figure 6.11. a) et d) image MET de *H. Aquatilis* cultivée dans un milieu enrichi en As. **b)** détail des précipitations en fines aiguilles. **c)** Analyse EDX d'un précipité interne à l'EPS et pointé par la flèche en a.230

Figure 6.12. *a) et b) image MET de H. fonticola cultivée dans un milieu enrichi en As[III] (100 mg.L⁻¹). c) Analyse EDX d'un EPS pointé par la flèche en a. d) Analyse EDX d'une bactérie pointée par la flèche en b.....*231

Figure 6.13. *a) image MET de A. calcoaceticus cultivée dans un milieu enrichi en As[III]. b) Analyse EDX des fines aiguilles dans l'EPS pointées par la flèche en a.....*232

Figure 6.14. *Localisation du Lanthane fixé par M. xanthus A-D : photographies au MET de sections des cellules microbiennes. Le La est principalement fixé sur la partie externe des cellules (b) et dans l'EPS (a) qui apparaît comme un réseau de fibres denses; (c) petit dépôts électroniquement denses de La dans les cellules. Les échelles représentent respectivement 0.53, 0.64, 0.333 et 0.287µm dans A, B (détail de A), C et D. En A et B, on peut observer des fibres interconnectant des cellules (d). Figure extraite et traduite de Merroun et al. (2003).....* 233

Liste des tableaux & équations

Chapitre I.

Equation.1 : Loi de Stokes liant la vitesse de chute d'une sphère dans un liquide par l'action de la gravité..... 15

Chapitre II.

Tableau 2.1. Caractéristiques chimiques et physiques du sol de la forêt de Breuil-Chenue.....43

Tableau 2.2. Caractéristiques physico-chimiques du sol de Wintzenheim..... 51-52

Chapitre V.

Tableau 5.1. Analyses chimiques et valeurs de force ionique (IC) en mol.l-1, pH et hauteurs de pluie en mm sur le site de Breuil-Chenue pour la période considérée. Les valeurs de concentrations sont en mmol.l-1.170

Conclusion & Perspectives.

Tableau C.1. Tableau récapitulatif des caractéristiques de tailles, d'abondance, d'origine et de réactivité des différents types de PFC pour a) les retombées atmosphériques à Breuil, b) les retombées atmosphériques à Wintzenheim et c) les eaux d'infiltrations à Wintzenheim.. 240

INTRODUCTION

GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

Dans le cadre des études environnementales récentes sur la pollution des sols et des eaux par les métaux lourds, l'ensemble des publications soulignent l'absence d'un facteur de connaissance dans la compréhension de la mobilité des éléments (Sparks, 2001). Pour de nombreux auteurs cette lacune se situe à l'interface entre la phase « dissoute » et la phase « solide ». Cependant, depuis la fin des années 1980, une partie de cette lacune a été approchée par l'étude détaillée des colloïdes considérés comme des vecteurs de pollution aussi bien en milieu aquatique que pédologique (Vinten & Nye, 1985; McDowell-Boyer et al., 1986; McCarthy & Zachara, 1989). Par exemple, Roy & Dzombak (1997) ont montré la relation entre le type de contaminant et la concentration en matières en suspension (MES) dans le transport de contaminants à travers un milieu poreux. Par ailleurs, de nombreuses études récentes (années 1990-2000) se sont focalisées sur l'importance, d'un point de vue quantitatif, de ces colloïdes dans la dynamique du transfert de certains éléments (McCarthy & Zachara, 1989; Atteia & Kozel, 1997; Denaix et al., 2001; Citeau et al., 2003; Gueguen & Dominik, 2003; Eyrolle et al., 2004). Indépendamment du type de milieu, la phase particulaire semble souvent jouer un rôle important sinon prédominant dans le transfert de certains éléments potentiellement toxiques. La grande majorité de ces travaux a ainsi permis de caractériser l'importance des MES dans l'environnement. De plus, de nombreux travaux se sont focalisés sur leur comportement en conditions expérimentales contrôlées, ce qui permet de mieux appréhender les mécanismes mis en jeu.

Récemment, il a été montré que les particules nano- à micrométriques jouent un rôle de première importance dans le contrôle du cycle des métaux toxiques dans l'environnement (Sparks, 2005). Ainsi, il apparaît que la petite taille et les grandes surfaces des nanoparticules affectent drastiquement les réactions géochimiques (Hochella & Madden, 2005). Par ailleurs, une autre voie par laquelle les nanoparticules peuvent affecter le cycle de métaux dans l'environnement, celle des nanoparticules apportées par le vent, a été mise en évidence (Utsunomiya et al., 2004). Les articles de synthèse récents (DeNovio et al., 2004; McCarthy

& McKay, 2004; Kretzschmar & Schäfer, 2005; Sen & Khilar, 2006) soulignent tous les mêmes points critiques nécessitant des développements. Il s'agit de :

(i) La représentativité d'un échantillonnage de nanoparticules prélevées dans des environnements variables à l'échelle saisonnière et l'utilisation de techniques appropriées pour échantillonner la zone vadose (DeNovio et al., 2004; McCarthy & McKay, 2004; Kretzschmar & Schäfer, 2005).

(ii) La compréhension des phénomènes de formation, libération, stabilisation, transport et dépôt des nanoparticules en milieux hétérogènes (DeNovio et al., 2004; McCarthy & McKay, 2004; Kretzschmar & Schäfer, 2005; Sen & Khilar, 2006).

(iii) Le développement d'études en milieux naturels (McCarthy & McKay, 2004; Kretzschmar & Schäfer, 2005; Sen & Khilar, 2006).

Le travail entrepris ici se propose de caractériser essentiellement par microscopie électronique à transmission couplée à un système analytique (MET/EDX) les types de colloïdes et les polluants qu'ils transportent dans les eaux d'infiltration de sols. Ces spécificités physico-chimiques sont par ailleurs étudiées de manière à établir un lien entre : le type de colloïdes (composition chimique et morphométrique), les éléments chimiques associés (éléments choisis en fonction du contexte local et de leur plus ou moins grande toxicité), les caractéristiques du sol (type de sol, minéralogie, argiles) ainsi que le type d'occupation (milieu urbain, agricole, forêt) et d'influence anthropique (aérosols, amendements). Ainsi, à l'aide d'un suivi dans le temps et sur différents sites, des particules présentes dans les eaux d'infiltration des sols ainsi que dans les retombées atmosphériques, il a été possible de quantifier les types de particules dans différents contextes pédo-climatiques. Le couplage entre caractérisation typologique et suivi quantitatif permet d'étudier la migration des nanoparticules et des éléments qui leurs sont associés à l'interface atmosphère - eau - sol. Enfin, à la lumière des résultats de caractérisation physico-chimique *in situ* des MES et en corrélation avec des expérimentations menées en laboratoire les processus et interactions impliquant les différents types de colloïdes et particules fines, essentiellement organiques, et les polluants qu'ils véhiculent sont étudiées.

Le matériel sur lequel se focalise ce travail est défini en tant que « particules fines et colloïdales» (PFC). La signification de ce terme PFC est volontairement "générique" afin d'englober tout type de matériel solide transitant dans les eaux d'infiltration des sols sans pour autant entrer dans un cadre granulométrique trop strict. La plupart des études traitant du

transfert de polluants par les matières en suspension sont contraintes par les intervalles granulométriques imposés par le mode de collecte des échantillons. La très grande diversité des définitions granulométriques attribuées aux MES et/ou aux colloïdes dans la littérature souligne bien le problème complexe de la définition même de ces termes. Ce problème est important et la démarche utilisée ici le contourne en considérant l'ensemble des matières en suspension de diamètre inférieur à 5 μm dans les eaux percolantes sans limite inférieure de taille. Ce choix va au-delà d'un problème de définition et exprime une volonté forte de veiller à ce que la taille des particules étudiées ne soit pas un facteur limitant pour l'étude comportementale des particules. L'idée étant qu'un colloïde s'exprime avant tout par son comportement. Ainsi toutes les matières en suspension, quelle que soit leurs tailles, sont considérées comme des PFC. Ceci impose donc que le travail s'appuie sur un mode de collecte et de caractérisation original non discriminant.

Jusqu'ici, la majorité des travaux consacrés à l'étude des PFC véhiculés par les eaux des sols naturels a consisté à récupérer, par filtration ou centrifugation au laboratoire, les MES contenues dans les eaux extraites de ces sols. Ce mode de collecte ne semble pas idéal car, dès lors que ces particules ne se trouvent plus dans les conditions du sol, les structures colloïdales et particulaires sont susceptibles d'avoir été modifiées. De manière à conserver intactes les propriétés physiques des particules au plus proche de leur état dans l'environnement naturel, une nouvelle méthodologie expérimentale a été mise au point ici. Elle consiste à introduire des capteurs filtrants dans le sol permettant de piéger les fractions colloïdales et particulaires (PFC) des solutions du sol directement sur des grilles de microscope électronique à transmission (MET). De la même manière, les retombées atmosphériques telles que les pluies et les pluviollessivats peuvent être filtrés *in situ* en plaçant des capteurs filtrants près de la surface du sol, de façon à récupérer la fraction colloïdale sur des grilles de MET.

Parallèlement à la collecte *in situ* des particules fines, des prélèvements de terre ont été effectués de manière à caractériser les horizons des sols étudiés et la contribution endogène en particules fines dans ces horizons. De plus, les eaux d'infiltrations et de précipitations ont été recueillies classiquement à chaque campagne de terrain à l'aide des plaques lysimétriques et des pluviomètres équipant les sites.

Ce travail s'articule autour de l'étude de deux sites distincts par leur localisation et leur mode d'occupation. Ils reflètent autant des environnements naturels relativement préservés de

l'activité humaine que des environnements fortement anthropisés. Les couverts végétaux et les types de sols différents permettent de comparer les particules circulant dans les eaux en relation avec la pollution environnementale et les dangers d'exposition pour les êtres vivants.

Ces sites sont :

- (i) la forêt de Breuil-Chenue dans le Morvan ;
- (ii) une parcelle de vignoble à Wintzenheim près de Colmar.

L'objectif général est de caractériser la nature et le rôle des PFC dans les milieux de subsurface à travers l'étude de deux sites ateliers. Par ailleurs, le suivi dans le temps des PFC contenus à la fois dans les retombées atmosphériques et dans les eaux d'infiltration a pour but de déterminer les facteurs contrôlant la distribution et l'évolution des PFC dans l'environnement. L'approche choisie afin de remplir cet objectif est une approche basée essentiellement sur des observations *in situ*. Ainsi, le premier volet du travail consiste à la mise au point d'une méthodologie adaptée à la collecte *in situ* de matériel naturel et à l'observation sans biais d'échantillonnage et autorisant un suivi dans le temps. Le deuxième volet consiste à étudier individuellement les caractéristiques physico-chimiques des PFC des retombées atmosphériques et des eaux d'infiltration du sol. Le troisième volet porte sur l'étude et la compréhension des facteurs influençant les évolutions des distributions et des caractéristiques des PFC avec la profondeur et au cours du temps. Enfin, basé sur les observations de terrain, le quatrième volet porte sur l'étude détaillée d'un type particulier de PFC, les bactéries, et leur rôle dans le transfert d'un contaminant particulièrement préoccupant pour la viticulture en Alsace : l'arsenic.

Le premier chapitre présente l'état actuel des connaissances concernant la problématique du transport colloïdal dans l'environnement. Ce chapitre souligne les défis encore nombreux à relever et pour lesquels ce travail propose d'apporter des éléments de compréhension particulièrement en ce qui concerne les phénomènes liés au transport et aux interactions engendrées par les PFC dans la zone vadose.

Le deuxième chapitre présente une revue bibliographique ainsi qu'une réflexion conceptuelle sur les paramètres influençant l'existence, la nature et le rôle des PFC dans l'environnement naturel, à la fois dans l'atmosphère et dans le sol. Ces paramètres sont par la suite mis en évidence via la description et la caractérisation des différents sites d'études.

Le troisième chapitre présente le dispositif d'échantillonnage et le protocole méthodologique développés dans le cadre de l'étude. Après une revue bibliographique soulignant les lacunes et problèmes méthodologiques inhérents aux différents dispositifs d'échantillonnage existants, un nouveau dispositif est présenté. De plus, la méthodologie d'analyse de particules individuelles, couplant MET et EDX, et permettant le suivi des échantillonnages est expliquée et discutée dans ce chapitre.

Le quatrième chapitre présente la compilation et l'interprétation des données physico-chimiques obtenues lors de l'étude des PFC individuelles tout au long des campagnes d'échantillonnage. Ces caractéristiques ont été déterminées suivant la méthodologie présentée au chapitre précédent, c'est à dire le couplage entre MET et EDX. Le nombre consistant de données présentées dans ce chapitre permet d'établir une caractérisation quantitativement représentative et statistiquement significative des types de PFC et de leurs caractéristiques propres.

Le cinquième chapitre présente la mise en parallèle des différentes données recueillies dans ce travail. Ce chapitre porte ainsi sur une étude de la réactivité des PFC dans le milieu naturel. De plus, l'évolution des PFC dans l'espace et le temps est étudiée et les paramètres influençant à la fois leur réactivité et leurs distributions sont mis en évidence.

Le sixième et dernier chapitre, basé sur les résultats obtenus dans les chapitres précédents, traite des interactions entre un type particulier et prédominant de PFC, les bactéries, et un type particulier de contaminant, l'arsenic. Ce chapitre s'appuie sur une expérimentation en laboratoire mettant en interaction ces deux protagonistes. A l'aide d'observations en MET, le comportement d'une bactérie vis-à-vis de l'arsenic est étudié en détail afin de mettre en évidence les interactions potentielles et leurs implications dans les mécanismes mis en jeu dans le milieu naturel.

Pour finir, la conclusion reprend les principaux résultats obtenus. La nature et le rôle des PFC dans les environnements étudiés est ainsi mise en évidence. Les facteurs contrôlant les caractéristiques et la distribution des PFC sont également soulignés. Les résultats originaux sont replacés dans le contexte de la problématique environnementale énoncée au début du manuscrit. Des pistes à suivre afin d'améliorer la connaissance de la nature et du rôle des PFC dans l'environnement sont finalement suggérées.

CHAPITRE I

PROBLEMATIQUE DU TRANSPORT COLLOÏDAL

Chapitre I

Problématique du transport colloïdal

I. Introduction.

Il y a environ deux décennies, il semblait que les phases liquides et gazeuses du sol étaient les seules phases mobiles qui pouvaient faciliter le transport des éléments chimiques et des nutriments dans les écoulements de subsurface. Il est maintenant généralement bien accepté qu'une partie de la phase solide est également mobile sous certaines conditions géochimiques et que les particules colloïdales du sol, organiques et inorganiques, peuvent intervenir de manière prépondérante dans le transport de contaminants (Honeyman, 1999; DeJonge et al., 2004). La connaissance et la compréhension des phénomènes de transport de contaminants dans les milieux poreux, associés aux particules fines, se sont grandement améliorées dans les dix dernières années, comme cela est notamment souligné dans les articles de synthèse de Ryan & Elimelech (1996), DeNovio et al. (2004), McCarthy & McKay (2004), Kretzschmar & Schäfer (2005) ou encore Sen & Khilar (2006).

Cependant, jusqu'à très récemment, la majorité des travaux traitant de cette problématique ont concerné les milieux poreux saturés. Ce n'est que depuis quelques années que les différentes synthèses sur le sujet mentionnent la possibilité d'un comportement très différent dans les milieux poreux insaturés et principalement la zone vadose (DeNovio et al., 2004; McCarthy & McKay, 2004; Citeau et al., 2006; Sen & Khilar, 2006). Il apparaît néanmoins que dans tous les cas mentionnant le transport colloïdal dans la zone vadose, il est décrit comme un processus bien plus compliqué à appréhender que dans les milieux poreux saturés. La principale différence entre les deux milieux est la présence d'air comme troisième phase dans la zone vadose alors qu'un milieu poreux saturé ne contient que deux phases, l'une solide et

l'autre liquide. L'introduction d'une troisième phase dans un système implique nécessairement une grande modification des interactions. Ainsi, à la différence d'un milieu saturé ne contenant qu'une seule et unique interface eau-solide, un milieu insaturé présente beaucoup plus d'interfaces : les interfaces eau-air, air-solide et eau-solide et l'interface triple eau-solide-air. La présence de telles interfaces complique grandement le système en introduisant des processus d'interactions physiques et chimiques supplémentaires.

De plus, la zone vadose est aussi le siège d'une intense activité organique liée à la présence d'une quantité importante de particules organiques et à une relativement forte réactivité de la fraction microbienne.

Un autre point, qui complique la compréhension des processus de transfert dans les milieux poreux insaturés, concerne les transferts très aisés entre le sol et l'atmosphère via notamment l'évaporation et les épisodes pluvieux ; ces derniers étant le plus souvent catastrophiques.

La zone vadose est donc le plus souvent un milieu très hétérogène et versatile, pouvant répondre de manière brutale aux changements atmosphériques, et présentant des conditions chimiques et physiques très variables dans le temps et dans l'espace, et ceci même en climat tempéré.

La complexité du système induite par l'ensemble de ces facteurs explique donc le défi qui accompagne les travaux consistant à caractériser la nature des colloïdes et des processus mis en jeu dans la zone vadose et leurs implications dans la migration des contaminants dans et vers les réserves en eau.

II. Problématique

L'intérêt pour l'étude du comportement des particules en suspension et des colloïdes dans les solutions de sols n'est pas nouveau. Les premières études (années 1970) traitant de la mobilisation et du transport des particules fines et colloïdales se sont focalisées sur les contaminations des aquifères et des puits par les microorganismes (Rubin et al., 1969; Gerba et al., 1975; et références dans Azadpour-Keeley et al., 2003). Beaucoup des approches, ayant pour principal objectif de lutter contre ces contaminations par l'établissement de périmètres vierges autour des stations de pompage ont été basées sur des preuves empiriques de contamination, qui sont encore en vigueur de nos jours. D'autres études ont été focalisées

sur le rôle de la migration des argiles depuis la surface jusque vers les domaines affectés par les premiers stades de la diagenèse (Jenny & Smith, 1935; Thorp et al., 1957). Les études physiques sur le transport des colloïdes ont d'abord été focalisées sur le devenir des filtrats des eaux usées et le contrôle de la perméabilité des aquifères. Yao et al. (1971) ont décrit la mobilisation des colloïdes issus de la filtration des eaux en fonction de deux facteurs limitants : (i) les processus physiques de diffusion, d'interception et de dépôt gravitaire qui résultent de la collision entre colloïdes et matière filtrante, et (ii) les facteurs chimiques qui contrôlent les forces d'interaction et qui provoquent l'adsorption des colloïdes à la surface du filtre. De nombreuses études pionnières traitant du comportement des colloïdes dans les milieux géologiques se sont intéressées aux effets de la chimie des solutions sur la dispersion des colloïdes et la perméabilité des formations géologiques dans le cas des réservoirs pétroliers (Khilar & Fogler, 1984; Cerda, 1987; Kia et al., 1987). Une étude originale a, par ailleurs, traité de la dispersion des colloïdes dans les conditions de terrain concernant la recharge artificielle d'un stock d'eau potable en Californie. La forte turbidité des eaux souterraines a été attribuée à la faible force ionique de l'eau de recharge. L'ajout de gypse dans la zone de recharge a permis de prévenir l'apport massif d'argiles et de remédier aux problèmes de turbidité (Nightingale & Bianchi, 1977).

Le fait que les colloïdes et particules fines sont susceptibles de jouer un rôle important dans le transport de contaminants, a été mis en évidence par des études montrant que des contaminants à fort potentiel de sorption pouvaient parcourir de plus grandes distances et à une vitesse plus élevée que les modèles traditionnels de transport en solution le laissaient prévoir. Par exemple, sur le site d'essais nucléaires du Nevada (USA), des radionucléides ont été observés dans les eaux souterraines à l'extérieur de la cavité où la détonation avait été produite (Coles & Ramspott, 1982; Buddemeier & Hunt, 1988; Kersting et al., 1999). De même, le transport de radionucléides au Chalk River Nuclear Laboratories au Canada (Walton & Merritt, 1980; Champ et al., 1984), au Oak Ridge National Laboratory au Tennessee (McCarthy et al., 1998a; McCarthy et al., 1998b), ainsi que les dépôts d'uranium en Australie (Short et al., 1988), ont été attribués à l'association des contaminants avec une phase colloïdale mobile.

McDowell-Boyer et al. (1986) ont publié un article de synthèse traitant du transport particulaire dans les milieux poreux où ils soulignent le fait que, en plus de leur importance dans les applications sanitaires et géologiques, les colloïdes des eaux souterraines apparaissent capables d'influer le transport des contaminants à forte capacité de sorption à la surface des particules solides des aquifères. Par ailleurs, l'importance des colloïdes et

particules fines dans le transport des contaminants, est aussi clairement soulignée dans l'article de synthèse de McCarthy & Zachara (1989). Des articles de synthèse plus récents soulignent quant à eux l'intérêt grandissant du sujet via les références de plus en plus nombreuses traitant du transport par les particules fines (Ryan & Elimelech, 1996; Kretzschmar et al., 1999; McCarthy & McKay, 2004). Une grande partie des avancées conceptuelles dans la compréhension du rôle des particules fines et colloïdales des eaux souterraines peut être attribuée aux programmes de recherche interdisciplinaires nationaux et internationaux. Ainsi, c'est un programme européen sur le rôle des colloïdes et des éléments complexants dans le transport des radionucléides qui a permis de réaliser la première étude systématique des colloïdes dans les environnements de subsurface (Degueldre et al., 1989). Cette étude exécutée sur le site de Grimsel (Suisse) a regroupé le travail de plusieurs équipes utilisant des méthodes différentes afin de caractériser la nature et l'abondance des colloïdes. Les résultats ont montré la grande diversité et la dispersion des colloïdes dans l'environnement naturel mais également le fait que la distribution de la taille des particules suit une loi statistique, les particules les plus petites représentant les plus fortes concentrations.

III. Colloïdes et particules fines : de la nécessité de définir les termes

Si l'importance des colloïdes en tant que vecteur dans le transport des éléments chimiques est aujourd'hui connue et reconnue depuis déjà près de vingt ans, il apparaît que la définition des termes reste toujours assez floue.

Le terme de "colloïde" est utilisé dans différents contextes et sa définition est variable selon les différentes disciplines scientifiques. Pour les physiciens et les chimistes, le terme de "colloïde" définit un système biphasé dénommé "suspension colloïdale", dans laquelle une phase est dispersée dans une autre phase (Vincent, 2005). Il peut alors s'agir de la dispersion de particules solides ou liquides dans un milieu solide, liquide ou gazeux. Dans le contexte des sciences de l'environnement cette définition est généralement simplifiée et réduite à une définition de taille. En fait, les colloïdes sont habituellement définis comme de la matière de taille comprise entre 1 nm et 1 μ m dans les systèmes aquatiques naturels (Buddemeier & Hunt, 1988; Lyklema, 1991; Hiemenez & Rajagopalan, 1997; Gueguen & Dominik, 2003;

Lead & Wilkinson, 2006a; Lead & Wilkinson, 2006b). Cependant, une grande variabilité d'intervalles de tailles est rencontrée dans la littérature. Certains auteurs considèrent comme colloïdes les particules dont le diamètre est compris entre quelques nanomètres et 4 ou 5 μm (Atteia & Kozel, 1997; Denaix et al., 2001; Citeau et al., 2003). Pour d'autres ce diamètre est compris entre 0,2 et 20 μm (Blo et al., 2002), ou au contraire extrêmement petit entre 1 nm et 0,45 μm (Buffle & Van Leeuwen, 1992; Huber, 1999; Oygard et al., 2007). Enfin, certaines études ne considèrent aucune borne supérieure pour le diamètre des particules colloïdales, les définissant simplement comme la matière en suspension de taille supérieure à 1 ou 5 nm (McCarthy & Shevenell, 1998).

Le terme généralement employé pour caractériser la matière en suspension dans l'atmosphère est le terme de "particulate matter" (PM). Pour l'Environmental Protection Agency (EPA) des USA, ce terme est synonyme de pollution particulaire et il s'agit d'un mélange de particules de très petite taille avec des gouttes de liquide (EPA, 2004). Ce terme inclus de nombreux composants tels que des acides, des composées organiques, des métaux et des particules de poussière et/ou de sol. L'ensemble des institutions de lutte contre la pollution divise les PM en deux catégories : (i) les particules inférieures à 10 μm de diamètre (ou PM_{10}) et (ii) les particules inférieures à 2,5 μm de diamètre (ou $\text{PM}_{2,5}$). Cette définition, si elle considère l'ensemble des particules, reste cependant très restrictive car basée uniquement sur leur risque potentiel direct sur la santé, c'est-à-dire sur leur aptitude à être inhalées par l'être humain. De ce fait, leur impact sur l'environnement et les probables modifications les affectant dans le milieu naturel et notamment lors de leur contact avec un milieu liquide ou dans le sol ne sont pas prises en compte.

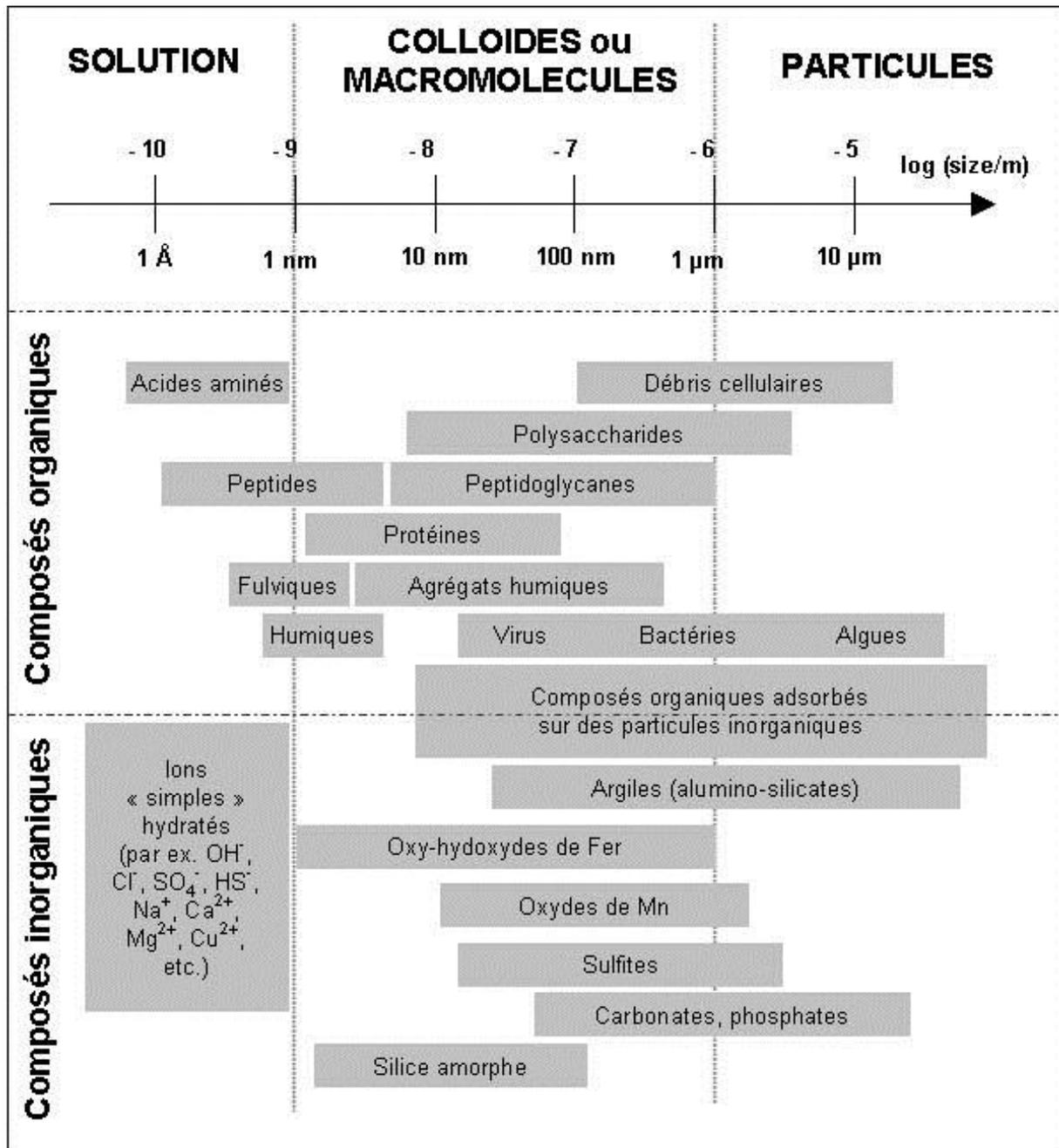


Figure 1.1. Distribution de taille de différents types de colloïdes environnementaux et particules. D'après Lead and Wilkinson (2006a).

Ainsi, la plupart des études traitant du transfert de polluants par les matières en suspension sont de ce fait contraintes par des intervalles de granulométrie liés au mode de collecte des échantillons et à leur caractérisation. La très grande diversité des définitions granulométriques des colloïdes soulève le problème de la définition même du terme “colloïde”. L'évolution des techniques de filtration, la précision grandissante des outils d'analyses et leur puissance croissante, contribuent aussi largement à faire évoluer cette définition.

Cependant, quelles que soient les approches suivies jusqu'ici, il semble avant tout qu'il soit nécessaire de s'affranchir des contraintes techniques. Qu'est ce qu'un colloïde ? Pourquoi privilégier ce terme plutôt que d'autres termes tels que particules fines, matière en suspension, particules environnementales, etc... Si toutes les définitions énumérées ci-dessus sont différentes c'est parce qu'elles sont tributaires des techniques d'analyses granulométriques mises en œuvre dans le cadre des différents contextes de recherche ou d'application industrielles et environnementales. Dans le cadre de ce travail, nous souhaitons nous affranchir de ces contraintes techniques ce qui implique nécessairement de procéder à une évolution conceptuelle de la définition des colloïdes.

La principale spécificité des colloïdes est une caractéristique physique et comportementale en rapport avec leur très petite taille (densité relative, miscibilité, surface spécifique). Ainsi, les différentes définitions de tailles se réfèrent plus à cette seule caractéristique qu'à une définition globale de l'objet tenant compte de ses propriétés. La figure 1.1 montre l'ensemble des différents types de colloïdes environnementaux en fonction de leurs tailles (Lead & Wilkinson, 2006a; Lead & Wilkinson, 2006b). Il apparaît que les types répertoriés sont de nature très variée. Cependant cette figure souligne également le problème de concept induit par la définition uniquement granulométrique du terme "colloïde" : en effet, les recouvrements multiples entre les limites de la zone colloïdale avec les différents types répertoriés soulignent le caractère très arbitraire d'une telle définition. Le fait que l'intervalle (1nm - 1µm), qui définit sur la figure 1.1 les colloïdes, corresponde exactement à l'intervalle d'existence des oxy-hydroxydes de fer ne fait qu'augmenter le caractère partial de la définition adoptée dans le cadre de l'étude de ces mêmes oxy-hydroxydes de fer. A partir de cette figure on est en droit de se demander en quoi, par exemple, un polysaccharide de 0,45 µm agit ou répond différemment sur le système qu'un polysaccharide de 2 µm ou encore en quoi deux bactéries d'une même espèce mais de tailles différentes vont se comporter différemment dans le même milieu. Par ailleurs, sont définies comme solution les acides humiques, aminés, fulviques ou encore les peptides qui ne sont pas des solubles *sensu stricto*. Le problème est d'autant plus important qu'une telle figure est très largement reprise dans la littérature, les différents auteurs modifiant les intervalles de définition selon leur convenance. Il n'est pas lieu ici de critiquer cette figure très complète mais simplement de signaler le caractère arbitraire des intervalles mentionnés, problème que les auteurs eux-mêmes soulèvent par ailleurs (Lead & Wilkinson, 2006a).

Les colloïdes dans le présent travail sont vus comme des particules fines ayant un certain comportement dans une phase liquide ou gazeuse. Ce concept se rapproche ainsi du concept

de base défini par les physiciens au début du siècle. Dans ce travail la caractérisation des colloïdes est comportementale : il s'agit de particules ne répondant pas de façon représentative à la loi de Stokes (equation 1) mais pour lesquelles une composante de mouvement brownien entre en ligne de compte. L'équation 1 montre que la réponse d'une particule à la gravité dépend de deux paramètres, sa taille et sa densité. On peut y rajouter un troisième paramètre, sa forme, puisque la loi de Stokes s'applique uniquement aux particules sphériques. La figure 1,2 représente un abaque des vitesses de sédimentation dans l'eau en fonction de la densité et de la taille des particules. Elle montre que les vitesses de sédimentation suivant la loi de Stokes sont très différentes selon les types de particules. La zone grisée correspond au domaine de densité de la matière pour lequel la loi de Stokes atteint ces limites. Cette zone correspond au début du comportement colloïdal à proprement parler.

$$v = \frac{2r^2 g \Delta(\rho)}{9\mu}$$

Equation 1 : Loi de Stokes liant la vitesse de chute d'une sphère dans un liquide par l'action de la gravité.

v : vitesse de chute de la particule ($cm.s^{-1}$),

r : rayon de la particule (cm),

g : accélération ($cm.s^{-2}$),

$\Delta(\rho)$: différence de densité entre la particule et le fluide (en $g.cm^{-3}$),

μ : viscosité du fluide ($dyne.sec.cm^{-2}$).

Dans la suite du manuscrit, afin d'éviter toute confusion du fait de la complexité à définir clairement un colloïde, et parce que ce travail se situe dans un milieu naturel complexe, l'objet d'étude sera toujours désigné sous le terme de "particules fines et colloïdales" (PFC) ou nanoparticules. Ceci englobe les matières en suspension dans l'eau ou dans l'air, de toutes tailles et toutes densités, dans la limite de taille des particules inférieures à 5 μm . Il y a donc ici une limite supérieure à la taille des PFC, mais il s'agit d'une caractéristique physique et non d'une propriété comportementale. La limite inférieure de taille des PFC est contrainte par la limite technique utilisée pour la visualisation et l'analyse d'entités individualisées. Cette limite est très basse comme on le verra dans le chapitre IV.

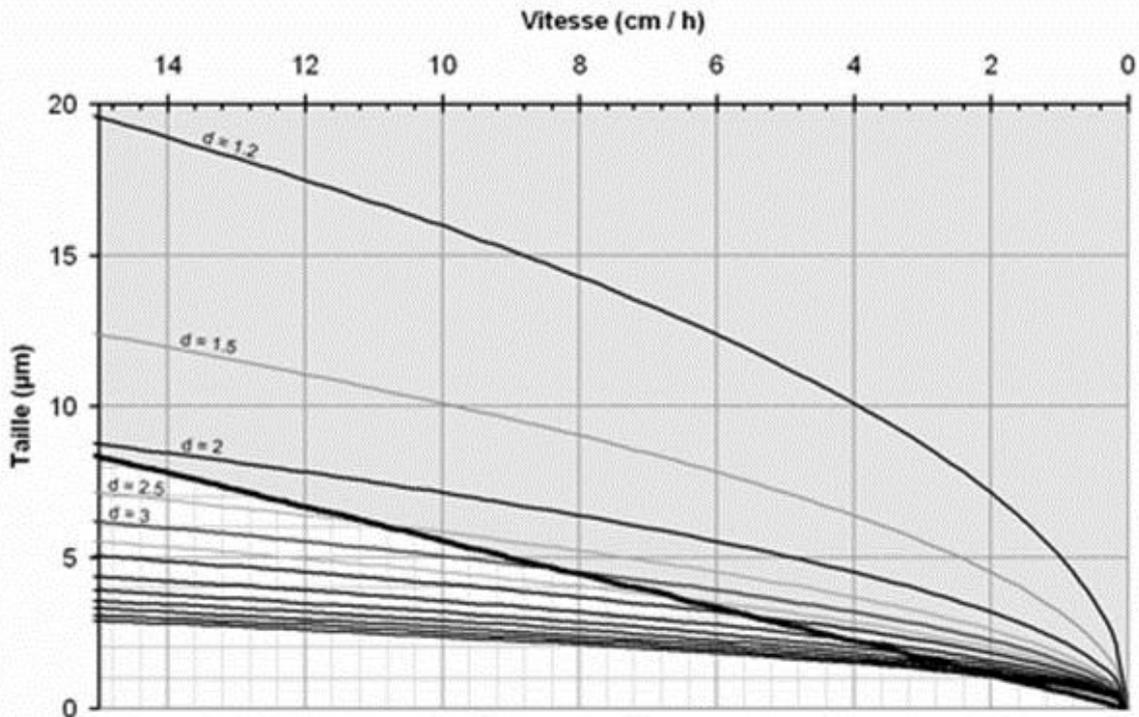


Figure 1.2. Abaque représentant les valeurs de vitesse de chute atteinte par des particules sphériques d'une taille et d'une densité données. Chaque courbe correspond à une valeur de densité. La ligne noire épaisse représente la limite d'action de la loi. Les valeurs situées au-dessus de cette ligne (zone grisée) correspondent au domaine pour lequel les limites de la loi sont atteintes, c'est-à-dire que ces particules sont soumises aux mouvements browniens. Il s'agit de colloïdes au sens comportemental du terme.

IV. Types et caractéristiques des particules fines et colloïdales environnementales

Une grande variété de matériel organique et inorganique existe en tant que particules fines et colloïdales (PFC) dans les sols et les eaux souterraines (cf. figure 1.1). Le matériel inorganique comprend principalement les fragments de roches et minéraux altérés (phyllosilicates, quartz feldspaths), les précipitations minérales (notamment les oxyhydroxydes de fer, d'aluminium, de manganèse, les phosphates, carbonates et chlorures). Le matériel organique comprend les virus, bactéries, protozoaires, mais aussi les substances humiques, les biopolymères (tels que les exopolysaccharides sécrétés par les microorganismes) (McCarthy & Degueudre, 1993; Citeau et al., 2001).

En considérant la grande diversité de ce matériel, il apparaît qu'une grande partie de la compréhension des phénomènes de transport par les PFC est basée sur des études de "colloïdes modèles" n'ayant pas nécessairement des caractéristiques de forme et de surface représentatives des PFC des environnements naturels (McCarthy & McKay, 2004). Ainsi, pour des modèles utilisant des particules de latex et de silice, la cinétique de dépôt observée a fréquemment été plus lente que celle prédite par les calculs théoriques, la différence de rugosité de la surface étant considérée comme une cause possible de ces variations (Tobiason, 1989; Elimelech & O'Melia, 1990). Cette observation est par ailleurs cohérente avec les résultats théoriques et expérimentaux obtenus par Suresh & Walz (1996; 1997), qui ont démontré que la rugosité de microsphères de latex diminue la répulsion électrostatique. La prise en compte, dans ce modèle, d'une rugosité de seulement 10 nm, suggère qu'elle peut avoir un impact significatif sur le transport des PFC naturels aux formes très irrégulières. De plus, l'hétérogénéité spatiale des caractéristiques chimiques des environnements de surface et leur impact sur les propriétés de surface des PFC sont reconnues et ne doivent pas être négligés (McCarthy & McKay, 2004).

Le transport par les bactéries est important autant par le risque pathogène directement généré par les bactéries, que pour les stratégies de remédiation par des bactéries utilisées afin de dégrader ou immobiliser les contaminants dans les milieux de subsurface. Cependant, la paroi d'une bactérie est structurellement et chimiquement bien plus complexe et hétérogène que la surface de PFC inorganiques. La surface d'une cellule est très dynamique, s'adaptant à une grande variété de changements environnementaux. Par exemple, la taille d'une cellule, son hydrophobie, la production d'exopolymères, etc... sont autant de facteurs jouant sur les cinétiques de transport et soumis à des changements rapides du fait de stress tels que le manque de nutriments (Heise & Gust, 1999). Ainsi, d'après Poortinga et al. (2002) et d'un point de vue électrostatique, les bactéries peuvent être considérées comme des particules "tendres" dans lesquelles les ions peuvent pénétrer en traversant l'épaisseur de la paroi et, de ce fait, ces biocolloïdes nécessitent d'être considérés de manière tout à fait différente des PFC inorganiques en ce qui concerne les forces d'interaction de surface. Il a été montré que le rôle de ces forces est variable et largement dépendant des caractéristiques chimiques de la solution (Rijnaarts et al., 1999). De plus, à l'intérieur même d'une population bactérienne, chaque organisme pris individuellement est susceptible d'exprimer des propriétés de surface très différentes (Simoni et al., 1998), de sorte que les charges de surface et les capacités d'adsorption peuvent varier à l'intérieur même d'une population bactérienne d'un seul et même type (Dong, 2002).

V. L'échantillonnage des PFC

Dans leur article de synthèse publié en 2004, McCarthy et McKay soulignent le fait que si la migration de contaminants via les PFC est reconnue, il devient rapidement évident que la description significative et précise des caractéristiques des PFC nécessite une réévaluation et une modification des techniques d'échantillonnage utilisées jusqu'alors. Les techniques d'échantillonnage habituellement pratiquées sont principalement des techniques de pompage des eaux. Cependant, il semble que la mise en place des systèmes de pompage ainsi que le pompage lui-même peuvent grandement perturber le milieu. Ainsi, les forages nécessaires à la mise en place du système de pompage contribuent à redistribuer le matériel, à générer des PFC et à créer une interface de contact entre l'air et les eaux profondes (McCarthy & McKay, 2004). Les procédés d'échantillonnage peuvent donc introduire des artéfacts, y compris la libération de PFC agrégées entre elles à de fortes pressions de pompage (Puls & Powell, 1992) ; ou encore la création de PFC induite par les modifications des conditions physiques et/ou chimiques, telles que la modification des taux de O_2 et CO_2 , de la température, du pH ou encore du potentiel d'oxydo-réduction. Par exemple, l'apport d'oxygène (O_2) dans un système riche en Fe(II) peut mener à la production de particules colloïdales d'oxydes de Fe(III) (Liang et al., 1993).

De nouveaux protocoles ont été développés afin de répondre à ces contraintes (Backhus et al., 1993; McCarthy & Degueldre, 1993). Ils sont principalement basés sur l'utilisation de pressions de pompes faibles afin de réduire les contraintes de cisaillement du milieu. Par ailleurs, la possibilité de stagnation de l'eau dans les puits d'échantillonnage est prise en considération ainsi que la stabilisation des conditions de pH, taux de O_2 , potentiel d'oxydo-réduction et turbidité.

Cependant, les auteurs de ces protocoles considèrent eux-mêmes que si ces précautions sont de plus en plus suivies pour l'échantillonnage des PFC des eaux, il n'en reste pas moins que le concept de la représentativité de l'échantillonnage de PFC est encore problématique du fait que la nature et l'abondance des colloïdes peuvent être largement influencées par les variations saisonnières ou catastrophiques (orages, tempêtes) et des conditions du milieu (McCarthy & McKay, 2004). De plus, au-delà de l'échantillonnage, l'analyse des

microorganismes est aussi particulièrement problématique (cf. ce chapitre, paragraphe VI.2.3.).

Finalement, Chen & Buffle (1996b) et McCarthy & McKay (2004) ont souligné le fait que l'échantillonnage des PFC dans la zone vadose est encore plus délicat que dans les eaux de nappes phréatiques. De plus, il n'existe pas d'études comparatives sur les techniques d'échantillonnage dans ce milieu, ceci restant un défi pour l'avenir.

VI. Le transport colloïdal dans les eaux

VI.1. Le transport colloïdal dans les milieux saturés en eau

Bien que des modèles théoriques existent pour décrire la formation des colloïdes, leur stabilité et leurs propriétés de transport hydrodynamique dans les "systèmes modèles", la principale question scientifique qui limite la prédiction du transport colloïdal reste la compréhension du comportement des colloïdes dans les systèmes naturels de subsurface. Les systèmes naturels sont chimiquement complexes et contiennent des PFC de différents types et en interaction les uns avec les autres (phyllosilicates, oxy-hydroxydes, matière organique). Ainsi, la cinétique de formation et de dissolution des colloïdes de même que leur cristallinité, leurs propriétés de surface et leur stabilité sont largement affectées par la présence d'autres PFC et la composition des solutés. De plus, l'hétérogénéité physique et chimique du milieu affecte le comportement des PFC à la fois à l'échelle spatiale et temporelle. À une échelle nanométrique, les capacités de détachement et de mobilisation sont affectées par des facteurs tels que la distribution et la densité des groupes fonctionnels de surface, l'hydrophobie des surfaces et leur rugosité, aussi bien que par l'arrangement physique des PFC entre elles et leur concentration dans le système poral.

VI. 2. Le transport colloïdal dans la zone vadose

La compréhension du transport des PFC dans la zone vadose est une question délicate, qui n'est étudiée que depuis quelques années. Au-delà de toutes les difficultés induites par les

hétérogénéités chimiques et physiques dans les milieux saturés, la compréhension des phénomènes de transport par les PFC et l'action des microorganismes dans la zone vadose est compliquée par la présence d'une quantité variable d'air en plus des phases solide et aqueuse. Les verrous de connaissance restent donc particulièrement nombreux dans ces milieux, et ceci à la fois à l'échelle nanoscopique, c'est-à-dire au niveau de la compréhension des interactions des PFC avec les interfaces air-eau-solide, et à des échelles plus macroscopiques, c'est-à-dire au niveau de la prise en compte de l'implication des écoulements hydriques dans la dynamique du transfert particulaire (McCarthy & McKay, 2004). Il en résulte que, en dépit de l'importance des PFC dans de nombreux problèmes environnementaux de la zone vadose, il y a eu peu d'études réalisées sur ce sujet.

VI. 2. 1. PFC et interfaces air-eau-solide

Les interactions entre colloïdes et l'interface eau-air ont été évoquées comme un processus dominant de la rétention des PFC (Wan & Wilson, 1994b). De plus, Wan & Tokunaga (1997) ont proposé un autre processus de rétention lié aux contraintes physiques imposées par le film d'eau contenu dans la porosité.

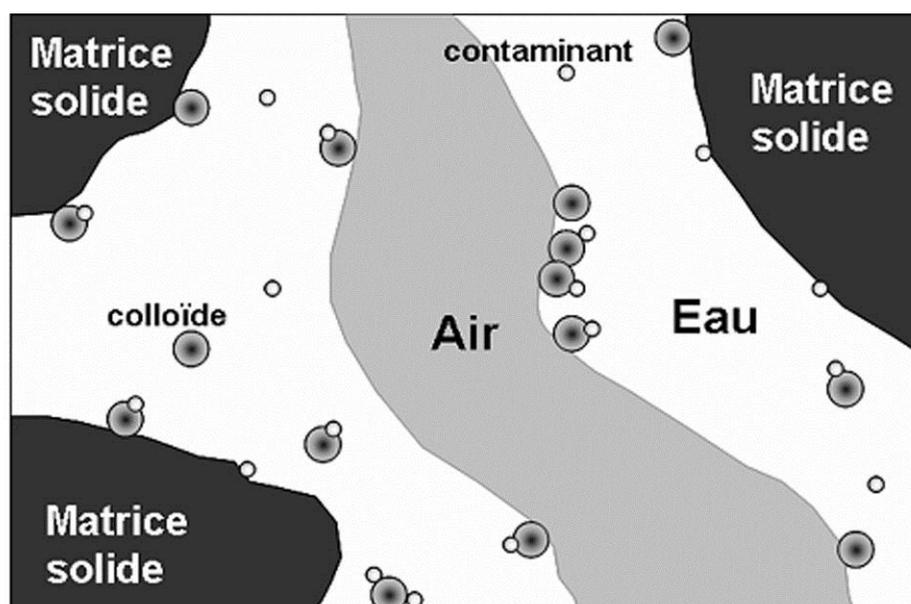


Figure 1.3. Diagramme conceptuel d'un milieu poreux insaturé contenant des colloïdes et un contaminant, d'après Choi & Corapcioglu (1997).

La plupart des études traitant du transport par les PFC dans des conditions de saturation partielle du milieu sont basées sur des observations indirectes du nombre de PFC circulant

dans des colonnes de sable plutôt que sur des observations directes (Wan & Wilson, 1994a; Schäfer et al., 1998; Jewett et al., 1999; Jin et al., 2000; Lenhart & Saiers, 2002). Il apparaît alors qu'à des taux de saturation faible, donc dans un milieu où les interfaces eau-air sont plus importantes et nombreuses, le transport par les PFC est réduit en raison d'une sorption importante à l'interface eau-air comme schématisé sur la figure 1.3. (Choi & Corapcioglu, 1997; Lenhart & Saiers, 2002).

Il est généralement accepté, sur la base de l'étude réalisée par Wan & Wilson (1994b), que le processus de rétention à l'interface eau-air est efficace pour une grande variété de PFC, telles que les billes de latex hydrophiles et hydrophobes (Wan & Wilson, 1994a; Wan & Wilson, 1994b; Choi & Corapcioglu, 1997; Gamerding & Kaplan, 2001; Lenhart & Saiers, 2002; Wan & Tokunaga, 2002; Sirivithayapakorn & Keller, 2003; Laegdsmand et al., 2007), les particules argileuses (Wan & Wilson, 1994b; Wan & Tokunaga, 1997; Wan & Tokunaga, 2002; Simunek et al., 2006), et les bactéries (Wan & Wilson, 1994b; Choi & Corapcioglu, 1997; Schäfer et al., 1998; Jin et al., 2000; Sirivithayapakorn & Keller, 2003; Simunek et al., 2006). Par ailleurs, Wan & Tokunaga (2002) ont montré à partir d'expériences réalisées en colonnes de type "bubble columns" remplies de solution et de particules (Wan & Tokunaga, 1998), que seules les particules chargées positivement étaient retenues à l'interface eau-air chargée négativement. Les auteurs suggèrent alors que la possibilité d'immobiliser des particules à l'interface eau-air puisse dépendre de coefficients de partition liés aux conditions du milieu (pH, force ionique), et aux caractéristiques des particules. Crist et al. (2004) ont mis au point un système de visualisation tridimensionnelle, à l'échelle porale et en temps réel, pour examiner les mouvements des PFC à travers une colonne de sable. Les observations montrent que des colloïdes de latex, hydrophiles et chargés négativement, ne sont retenus ni à l'interface eau-air ni à l'interface eau-solide. Par contre, ces particules seraient concentrées à la bordure des ménisques entre deux grains, c'est-à-dire à l'interface triple eau-air-solide (figure 1.4.).

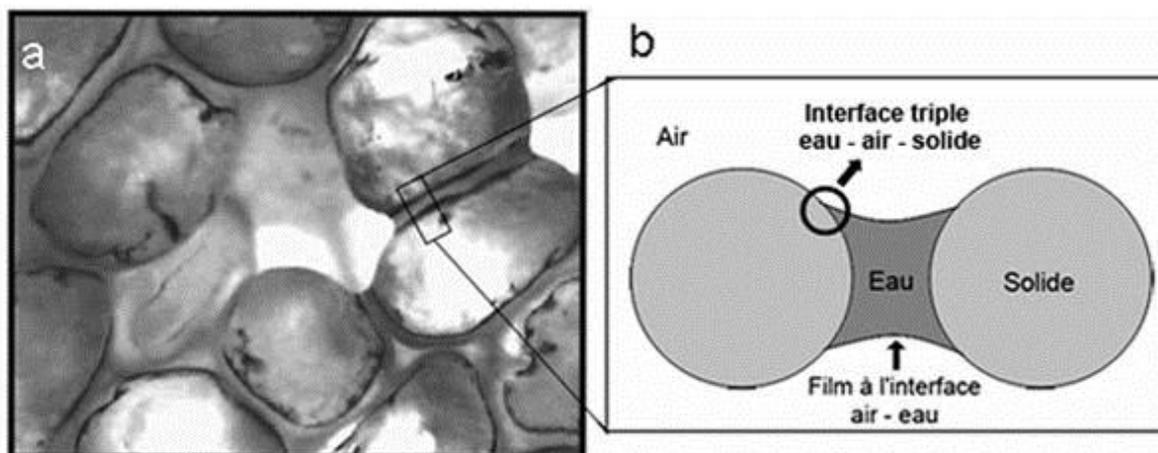


Figure 1.4. Visualisation expérimentale et concept de la rétention de colloïdes dans un milieu partiellement saturé. **a)** Image en lumière transmise d'un milieu constitué de sable de silice (0.43-0.6mm de diamètre) 1 heure après l'ajout d'une suspension de colloïdes hydrophiles de 0.8µm de diamètre. Les colloïdes apparaissent en noir. **b)** Coupe schématique au niveau de l'interface entre deux grains. Un ménisque d'eau se constitue entre deux grains de sable. Le cercle noir représente la zone d'accumulation des colloïdes à l'interface triple air-eau-solide. D'après Crist et al. (2004).

VI.2.2. Contraintes cinétiques sur la mobilisation des PFC

Les mouvements d'eau dans les sols sont dominés par les événements ponctuels (pluies, irrigations) plus que par les écoulements réguliers à l'état insaturé. Ainsi, l'infiltration d'eau à travers la macroporosité d'un sol non remanié provoque la mobilisation et le transport de PFC, l'apport d'eau étant susceptible de provoquer une mobilisation et un transport rapide d'un pool particulière préexistant (Jacobsen et al., 1997; DeJonge et al., 1998; Schelde et al., 2002). Par ailleurs, le stock de PFC mobilisable dans la macroporosité diminue au cours de l'irrigation. Entre deux épisodes d'irrigation, un processus dépendant du temps permet cependant de reconstruire un stock de colloïdes mobilisables. Le modèle de macroporosité mis au point par Schelde et al. (2002) a permis d'avancer l'hypothèse que la reconstruction du stock de PFC est un processus diffusif gouverné par deux processus se succédant dans le temps : (i) la libération de PFC depuis la matrice du sol vers les bordures de la macroporosité, à travers le sol ; suivi par (ii) la diffusion de ces PFC à travers un film d'eau immobile tapissant les bordures de la macroporosité. Cependant les auteurs soulignent le fait que la compréhension de ces phénomènes nécessite des études expérimentales et théoriques supplémentaires.

En 2004, Kjaergaard et al. ont examiné l'effet du taux d'argile et du potentiel hydrique du sol sur la mobilisation des colloïdes. Les résultats montrent que la compréhension des processus de mobilisation des PFC dans un sol non remanié est un défi délicat qui doit prendre en compte à la fois les propriétés intrinsèques du sol et les processus dynamiques contrôlant la

structure et la stabilité des agrégats du sol, le développement de la macroporosité et la dispersion physiques des PFC.

VI.2.3. Le transport microbien

La compréhension du transport des microorganismes dans la zone vadose est importante car il constitue un vecteur particulier de pathogènes vers la nappe phréatique. La très grande majorité des études relatives au transport microbien dans les environnements de subsurface traitent du transport en zone saturée (Fontes et al., 1991; Hornberger et al., 1992; Harvey et al., 1993; Kinoshita et al., 1993; McKay et al., 1993; Harvey, 1997; DeBorde et al., 1998; Chu et al., 2001; Hubbard et al., 2001; Ginn et al., 2002; Chu et al., 2003; Ford & Harvey, 2007). Le transport microbien en conditions désaturées, c'est-à-dire celles de la zone vadose, a, par contre, été peu exploré (Lance & Gerba, 1984; Harvey et al., 1989; Johnson et al., 1995; Schäfer et al., 1998; Harter et al., 2000; Jin et al., 2000; Chu et al., 2001; Siciliano et al., 2002; Chu et al., 2003; Gargiulo et al., 2007; Gilbertson et al., 2007). De plus, la majeure partie de ces études a été basée sur des montages en laboratoire ou des travaux de modélisation ; très peu d'entre elles ayant été menées avec des expérimentations *in situ* dans la zone vadose (Harvey et al., 1989; Siciliano et al., 2002; Gilbertson et al., 2007).

En plus de déplorer les incertitudes engendrées par les différences de résultats entre les échelles du laboratoire et du terrain, McCarthy & McKay (2004) ont recommandé de s'intéresser plus en détail à l'influence de la taille, de la forme et des caractéristiques de surface des microorganismes sur le transport dans la zone vadose. Les surfaces microbiennes sont souvent très variables, avec des parois cellulaires parfois absentes pour certaines bactéries gram-négatives (*mycoplasma*) ou au contraire très complexes et faites de plusieurs couches de peptidoglycans pour certaines bactéries gram-positives, présentant fréquemment des flagelles, fibres, épines (Madigan et al., 2003). Les propriétés des parois et notamment leur charge sont à même de jouer un rôle prépondérant dans leur attachement à des PFC tel qu'illustré par la figure 1.5 (Heise & Gust, 1999; Rijnaarts et al., 1999; Poortinga et al., 2001). Par ailleurs, il a été montré qu'à l'intérieur d'une population donnée, constituée d'une seule espèce de bactéries, les caractéristiques de taille et de surface des bactéries peuvent être très variables, ce qui est susceptible d'affecter leur comportement vis-à-vis des PFC (Simoni et al., 1998).

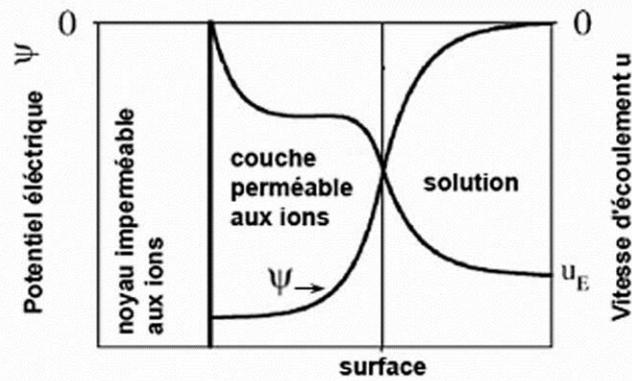
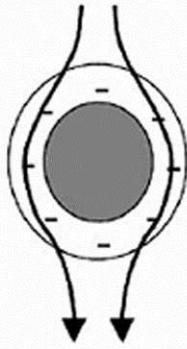
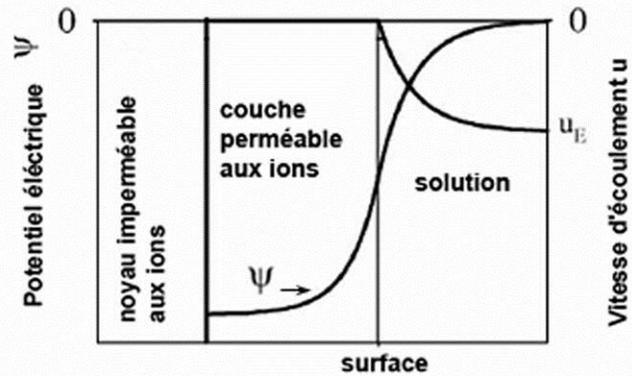
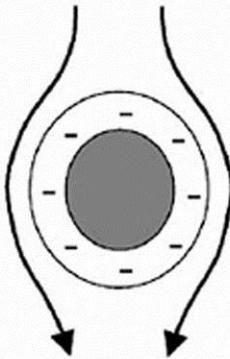
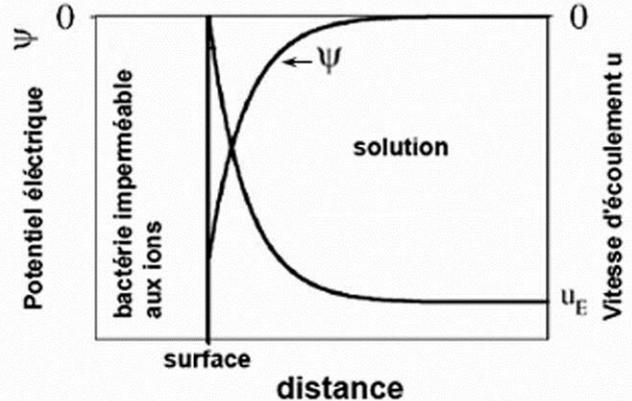
a Bactérie "tendre" perméable aux ions

b Bactérie "dure" perméable aux ions

c Bactérie imperméable aux ions


Figure 1.5. Représentation schématique de surfaces de bactéries **a)** « tendre » et **b)** « dure » perméables aux ions et **c)** d'une surface de bactérie imperméable aux ions. Les distributions de vitesses d'écoulement de fluides et des potentiels électriques sont indiquées comme fonction de la distance à la surface de la cellule. Notez que pour les bactéries ioniquement perméables, les charges sont homogénéiquement réparties à l'extérieur de la couche de surface, alors que les charges de la bactérie ioniquement imperméable sont localisées à la surface. D'après Poortinga et al., 2001.

La littérature récente fait apparaître un nombre exponentiel de travaux traitant d'une grande variété de microorganismes et de leurs interactions avec le milieu. Il n'en reste pas moins que peu d'informations sont disponibles sur la diversité des microorganismes dans les sols. En effet, même si de nombreuses méthodes microbiologiques ont été développées dans le but d'étudier la diversité microbienne des sols (Turco et al., 1994), l'essentiel des connaissances sur le sujet est basé sur la très faible proportion de microorganismes cultivables au laboratoire. En effet, d'après les comptages en microscopie à fluorescence (Faegri et al., 1977; Torsvik et al., 1990), un gramme de sol contient plus de 10^{10} bactéries (cent milliards d'individus) et la proportion des espèces de microorganismes contenue dans des cultivats sur agar varie de 0,1 à 1 % pour des bactéries extraites de sols forestiers et peut atteindre 10% pour celles extraites de certains sols arables (Torsvik et al., 1998). Ces chiffres impliquent que les travaux basés sur des bactéries isolées de sols ne concerneraient qu'une petite partie de la diversité bactérienne.

En résumé, il est encore aujourd'hui extrêmement délicat d'extrapoler les résultats fournis par les études en laboratoire traitant des interactions d'une espèce donnée de bactéries avec son environnement dans les sols. Cependant la multiplication de telles études et le croisement des résultats devrait permettre, à terme, de mieux appréhender l'impact des microorganismes dans le milieu pédologique.

La progression de l'état des connaissances actuelles sur la compréhension de la dynamique des PFC dans le sol, montre que ce domaine de recherche est aujourd'hui en plein essor même si les défis sont nombreux. Le nombre toujours croissant d'études sur le sujet et le développement de méthodes toujours mieux adaptées va permettre d'apporter des réponses nouvelles ou du moins de réduire le champ des incompréhensions.

L'article de synthèse publié en 2004 par McCarthy et McKay est un état des connaissances pointant les défis restant à relever dans le domaine du transport colloïdal dans la zone vadose. Ainsi les auteurs posent en conclusion les nombreuses questions restant actuellement sans réponse. Où les colloïdes sont-ils retenus ? Comment sont-ils mobilisés ? Comment les échantillonner ? Quelles sont leurs variations temporelles ? En se basant sur une méthodologie originale, cette thèse propose d'apporter des éléments de compréhension des phénomènes liés au transport et aux interactions engendrées par les PFC dans la zone vadose.

VII. Originalité de la démarche mise en œuvre

VII.1. Collecte du matériel

Afin d'atteindre les objectifs fixés, ce travail s'appuie sur un mode de collecte original. De manière à conserver intactes les propriétés comportementales des particules dans leur environnement naturel, une nouvelle approche expérimentale a été mise au point. Elle consiste à placer, directement dans le sol, des capteurs filtrants permettant de piéger individuellement et *in situ* les PFC des solutions du sol sur des grilles de microscopie électronique à transmission (MET).

Parallèlement à la collecte *in situ* des particules fines, des prélèvements de terres issus des différents horizons des sols ont été effectués de manière à caractériser les sources endogènes en particules fines. Par ailleurs des solutions de sol et des eaux de précipitations ont également été recueillies à chaque campagne de terrain à l'aide des plaques lysimétriques et des pluviomètres équipant les sites et récupérés en même temps que les capteurs *in situ*.

VII.2. Instruments d'analyse

Trois types de matériel ont donc été analysés : des échantillons de sol, des eaux de pluies et des particules véhiculées par les solutions de sols. Les échantillons de sol permettent d'avoir des informations sur les caractéristiques minéralogiques des différents horizons du sol et de déterminer quelles sont les particules minérales récupérées dans les eaux susceptibles de provenir du milieu pédologique propre (matériel endogène). Pour ce faire, une analyse granulométrique des sols a été effectuée ainsi que des analyses minéralogiques par diffraction des rayons X (fractions minérales fine et grossière).

Les eaux filtrées à 0,45 μm ont été analysées par spectrométrie de masse (ICP-MS, CGS de Strasbourg et BEF de l'INRA de Nancy). Ces analyses d'eaux permettent de connaître l'environnement chimique dans lequel évoluent les particules infiltrées dans le sol (analyse des solutions de sol) ainsi que les apports atmosphériques (analyse des précipitations).

La majeure partie du travail a cependant consisté à analyser les grilles de microscope chargées des PFC filtrées *in situ*. Pour ce faire les méthodes micro-analytiques les plus performantes telles la microscopie électronique à transmission (MET) et l'analyse en dispersion d'énergie (EDX) ont été utilisées de façon à avoir accès à des échelles d'investigation, micrométrique à nanométrique, adaptées aux matériaux étudiés. Ainsi, dimension, composition chimique et structure cristalline des constituants ont été déterminés simultanément.

VII.3. Démarche

Cette étude a été réalisée sur deux sites l'un accueillant des dispositifs seulement en surface et l'autre à la fois des dispositifs en surface et dans le sol.

La démarche suivie pour réaliser les objectifs fixés est la suivante.

- Le sol d'un des sites a été équipé avec des dispositifs de piégeage des PFC par filtration *in situ*. Connaissant la profondeur des horizons de surface, le sol est tubé pour permettre l'implantation, à la base de chaque horizon, d'une boîte de filtration *in situ*. Ainsi, les particules transitant dans chaque horizon (sur 55 cm de profondeur) sont récupérées sur des grilles de MET. De plus, les deux sites reçoivent un dispositif de filtration aérien permettant de filtrer les eaux de pluies en récupérant d'une part l'eau filtrée et d'autre part les particules véhiculées par les précipitations. Le pas d'échantillonnage est mensuel. Il y a 3 dispositifs de piégeage dans le sol et deux grilles de MET par dispositif (une grille en titane et une grille en cuivre).

- Chacune des grilles a été analysée en microscopie électronique à transmission analytique (META) et ceci de manière systématique. Sur 2 ou 3 carrés de chaque grille, choisis au hasard, la démarche a consisté à effectuer un comptage des particules et à analyser chimiquement et morphologiquement chacune d'elles. De cette manière il a été possible d'établir une typologie des constituants colloïdaux en s'affranchissant de la subjectivité de l'analyste.

- L'analyse des eaux filtrées a été réalisée en parallèle pour donner une information sur les conditions chimiques du milieu aquatique de transport, permettant de faire le lien entre les particules et leur milieu de transit.

A la suite de ce travail de typologie, les distributions de types de particules ont été comparées de manière à proposer les bases d'un modèle de transfert des PFC, et donc des éléments associés, à travers les horizons supérieurs des sols. Ceci dans un contexte général mais également sur une base d'évolution mensuelle du fait de la démarche *in situ*.

VII.4. Sites étudiés

Comme il a été mentionné précédemment, ce travail s'articule sur l'étude de deux sites différents : (1) la forêt de Breuil-Chenue dans le Morvan et (2) une parcelle de vignoble à Wintzenheim près de Colmar en Alsace. Le premier site est utilisé pour échantillonner les PFC dans le sol à différentes profondeurs et le deuxième afin de comparer les retombées atmosphériques avec le premier site.

Ces deux sites sont déjà étudiés par ailleurs dans le cadre de différents programmes de recherche de l'INRA. Le site de Breuil-Chenue est un site atelier géré par l'unité BEF de l'INRA de Nancy. Il est équipé de plaques lysimétriques, des bougies poreuses et de divers pluviomètres. Le suivi de ce site par l'INRA se fait suivant un calendrier mensuel. La parcelle viticole de Wintzenheim est un site expérimental géré par l'INRA de Colmar. Du fait de sa récente mise en activité, il ne possède pas d'installation lysimétrique mais un système de bougies poreuses. Le suivi des données pluviométriques est là aussi mensuel. Ces sites ont tous deux des modes d'occupation très différents, l'un est en forêt, et l'autre est planté de vignes.

CHAPITRE II

PARAMETRES INFLUENÇANT LE COMPORTEMENT DES COLLOÏDES & SITES D'ETUDE

Chapitre II

Paramètres influençant le comportement des colloïdes et Sites d'étude

I. Paramètres influençant le comportement des colloïdes

I.1. Dans l'atmosphère

I.1.1. Origine et genèse des nanoparticules atmosphériques

Les nanoparticules atmosphériques considérées dans ce travail sont toutes les matières solides retombant à la surface du sol. Ces matières sont généralement appelées « aérosols », c'est-à-dire qu'elles sont définies comme un système colloïdal contenant des phases liquides et solides dans une phase gazeuse (Posfai & Molnar, 2000). La production de particules d'aérosol à partir des processus d'érosion de surface a été estimée entre $1000 \cdot 10^6$ et $3000 \cdot 10^6$ tonnes par an (Tegen & Fung, 1994; Duce, 1995). Dans le cas présent, outre ces particules atmosphériques, on considèrera les particules circulant à la très proche surface du sol. Deux vecteurs principaux participent au transport des nanoparticules atmosphériques : le vent et la pluie (Posfai & Molnar, 2000). Les mécanismes de création et de maturation des nanoparticules atmosphériques sont divers figure 2.1 (d'après Whitby, 1978; cité dans Posfai & Molnar, 2000). Il est possible de différencier : (i) des particules issues de l'altération d'une roche ou d'un sol plus ou moins éloigné de l'environnement de dépôt ; dans ce cas, ces particules cristallisées sont dites naturelles (Tegen & Fung, 1994) ; (ii) des particules biologiques, également naturelles, telles que des bactéries ou des espèces végétales liées à la présence de la biosphère lignee ainsi que des produits de dégradations divers de la

biosphère (Baltensperger et al., 2005; Sun & Ariya, 2006; Salma et al., 2007) ; (iii) des particules hydrophiles complexées dans et/ou par les eaux météoriques, tels que des sels divers, des particules cristallisées ou amorphes aussi bien que des composés mixtes organo-minéraux, tous généralement d'origine inconnue (Posfai et al., 1994; Buseck & Posfai, 1999; Posfai & Molnar, 2000; Sun & Ariya, 2006) ; (iv) des particules très diverses résultant d'apports anthropiques directs (épandages agricoles de phytosanitaires, d'engrais ou de déchets divers) ou indirects (émissions industrielles ou domestiques) (Buseck & Posfai, 1999; Baltensperger et al., 2005). Ces différents types de particules sont transportés indifféremment par la pluie et le vent. Cependant il est important de souligner que pour cette étude, les déplacements éoliens sur très courte distance sont aussi pris en considération, ce qui concerne ici les particules du site susceptibles d'être remaniées *in situ*. De la même manière, l'impact des gouttes de pluies peut également provoquer un transport de très courte distance (centimétrique à métrique) par rebond (Ryan et al., 1998) et sera pris en compte. Les particules dites « atmosphériques » sont donc bien ici toutes les particules déposées sur le sol du site considéré, quelle que soit leur provenance.

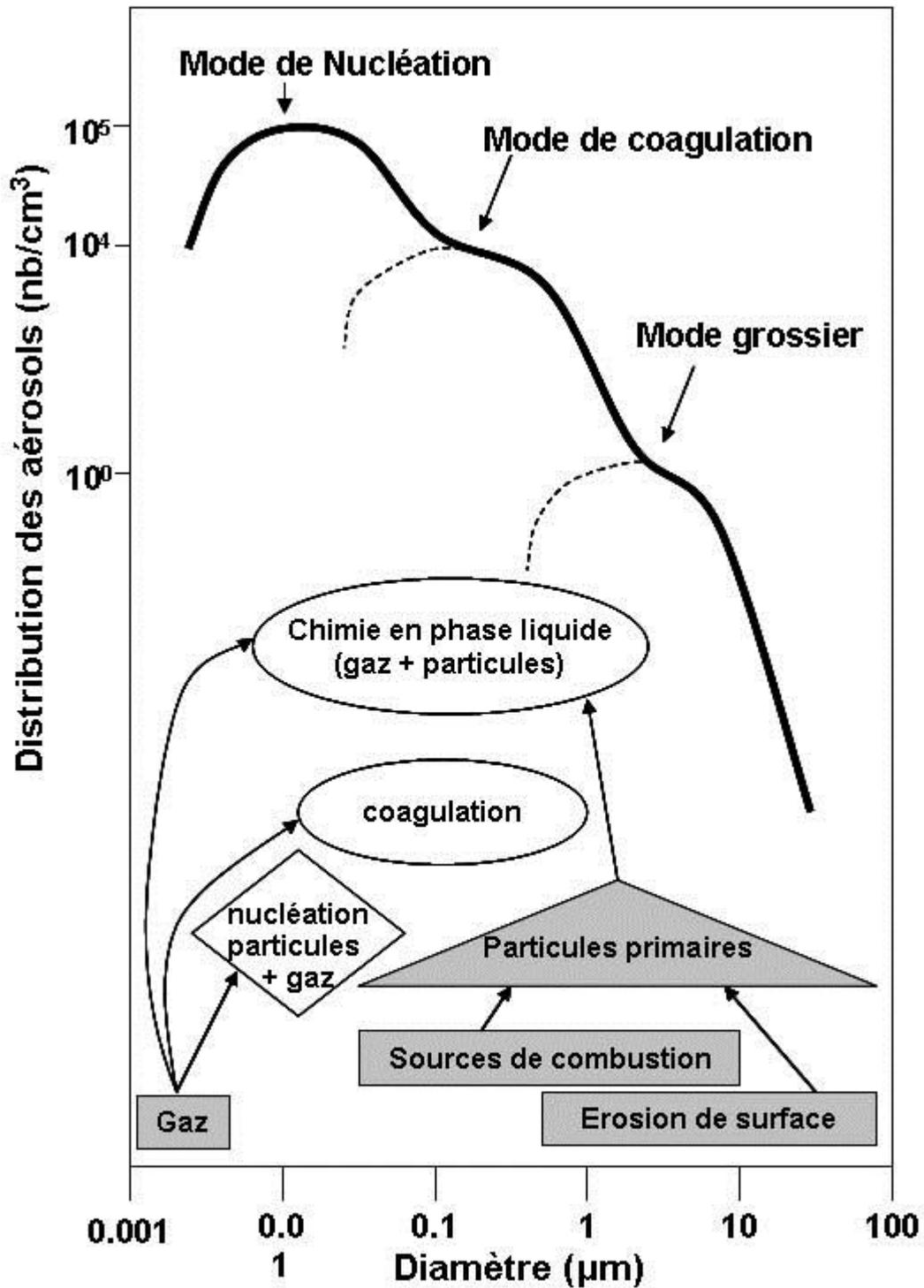


Figure 2.1. Représentation schématique de la distribution modale de taille (ligne noire) et des processus de formation et dynamiques majeurs des aérosols. D'après Posfai & Molnar (2000), repris de Whitby (1978).

I.1.2. Paramètres influençant la nature et la distribution des nanoparticules atmosphériques

De par la nature même des nanoparticules environnementales et leurs modes de transport, de nombreux paramètres peuvent influencer et modifier leur nature, leurs propriétés physico-chimiques et leur distribution dans le milieu naturel. La connaissance de ces paramètres et leur caractérisation au cours d'un suivi est nécessaire afin de comprendre les évolutions de la population de particules dans le temps et dans l'espace.

Ces paramètres sont discutés ci-après.

- *Les caractéristiques chimiques et physiques des eaux atmosphériques* et la manière dont elles évoluent ont un impact sur le transport des particules et sur les propriétés de complexation des nano-composants à l'origine de la formation de nombreux colloïdes organo-minéraux atmosphériques. Les caractéristiques chimiques incluent : le pH de la pluie, la température de l'air, la chimie des eaux météoriques ou encore la tension ionique des eaux de pluies (Desboeufs et al., 2001; Praveen et al., 2007; Zheng et al., 2007). La connaissance et le suivi de ces paramètres sont donc absolument nécessaires pour appréhender au mieux les modifications potentielles de la population de particules atmosphériques. Les caractéristiques physiques des eaux de pluies incluent : la périodicité et la force de la pluie, sa durée, la forme des précipitations (neige, grêle ou pluie) non seulement sur une échelle locale, celle de l'environnement de dépôt ainsi que tout au long de son trajet.

- *Les caractéristiques de l'air*, telles que sa température, son taux d'humidité et plus généralement les variables climatiques, ont un impact sur la nature des nanoparticules atmosphériques (Zheng et al., 2007) et leurs associations. C'est le cas également de l'origine et de la force des vents. Ainsi, la connaissance des vents localement dominants mais aussi des événements venteux exceptionnels, qui peuvent ne pas suivre la règle, est nécessaire.

- *La nature des terrains adjacents* a également une importance fondamentale sur la nature des particules atmosphériques. Cependant, la zone géographique à prendre en compte afin de caractériser les provenances éoliennes de particules est difficilement délimitable étant donné les distances très variables de provenances allant du centimètre à plusieurs milliers de kilomètres comme cela a pu être montré dans le cas du transport de particules via les « dust plumes » (Prospero, 1999; Posfai et al., 2003b; Holmes & Miller, 2004).

- *La nature des apports non-naturels* dits « anthropiques » influence de manière très importante le type et la distribution des particules atmosphériques (Citeau, 2004;

Baltensperger et al., 2005). Ces apports exogènes sont de diverses formes, qu'il s'agisse d'épandages, de brumisations, de dépôts gravitaires ou tout autre mode de dépôt de phytosanitaires, de déchets, de rejets industriels. Ils constituent généralement un apport de particules spécifiques à caractère polluant ou d'éléments colloïdaux complexant hautement réactifs appelés aérosols.

I. 2. Dans le sol

I. 2. 1. Origine et genèse des PFC des eaux d'infiltration du sol

L'objectif de ce travail est de caractériser les particules et leur mode de transport depuis l'atmosphère jusqu'à la nappe phréatique. Le compartiment sol, et plus particulièrement l'eau circulant dans la porosité du sol, sont les vecteurs principaux du transport particulaire entre l'atmosphère et la nappe sous-jacente. Les nanoparticules qu'ils contiennent sont autant de phases porteuses potentielles d'éléments chimiques et notamment de polluants (Choi & Corapcioglu, 1997; Citeau et al., 2003; DeJonge et al., 2004). De la même manière que pour le compartiment atmosphère, plusieurs mécanismes contribuent à la création de colloïdes dans les sols et plus particulièrement dans les solutions de sol. Ces mécanismes sont : (i) la libération de particules constitutives du sol lui-même par des phénomènes de désagrégation et de dispersion (Grout et al., 1998; Posadas et al., 2001); (ii) la précipitation de phases néoformées en milieu sursaturé et notamment les oxy-hydroxydes, les phosphates, les carbonates, les sulfates, les chlorures (Mavrocordatos et al., 2000; Wan et al., 2004) ; (iii) la génération de biocolloïdes du fait de l'activité biologique du sol (bactéries, champignons, végétaux) conduisant à la libération de composés organiques divers ainsi que d'acides humiques libres (Wilkinson et al., 1999; Kretzschmar & Schäfer, 2005) ; (iv) la complexation de phases organiques avec des particules à haute réactivité de surface induisant la formation de complexes organo-minéraux eux-mêmes très réactifs (Kretzschmar & Schäfer, 2005) ; (v) la migration, via la porosité, de particules déposées en surface, et comprenant donc tous les types de particules d'origine atmosphérique précédemment cités (Utsunomiya et al., 2004).

I. 2. 2. Paramètres influençant la nature et la distribution des PFC des eaux d'infiltration du sol

De la même manière que les particules atmosphériques peuvent subir des modifications au sein de leur environnement, les colloïdes du sol sont sensibles à de nombreux paramètres à même de modifier leurs propriétés au cours de leur transport dans le sol. Les paramètres qui influencent la nature physico-chimique des colloïdes et leur distribution dans le sol, sont liés à la fois à l'environnement dans lequel évoluent les colloïdes et à la nature même des colloïdes. Ces paramètres sont présentés ci-après :

- *Les modifications de la chimie de la solution de sol* ont plusieurs effets potentiels sur les particules en suspension. La chimie de l'eau conditionne la néoformation de particules salines (phosphates, carbonates, sulfates, etc...) ou de type oxy-hydroxyde (Gounaris et al., 1993; Mavrocordatos et al., 2000; Hens & Merckx, 2001). La force ionique, notamment, détermine les potentiels de libération de particules (figure 2.2.a) (Compère et al., 2001) et/ou d'agrégation des particules entre-elles (figure 2.2.b) (Wilkinson et al., 1999; Grolimund et al., 2001). La figure 2.2.a présente l'évolution du nombre de particules libérées par le sol en fonction de la force ionique de la solution. Il apparaît que, à volume poral identique, l'augmentation de la force ionique de la solution de sol augmente le nombre de particules libérées par ce sol (Compère et al., 2001). Par ailleurs, la figure 2.2.b montre que l'augmentation de la concentration en sel, c'est-à-dire la force ionique, d'une solution dans un milieu poreux induit une augmentation de la vitesse d'agrégation des particules entre elles (Grolimund et al., 2001). Le pH de la solution a également un impact important, à la fois sur le nombre (Atteia & Kozel, 1997; Ryan et al., 1999) et le taux de dispersion et donc d'agrégation de certains types (Itami & Fujitani, 2005) de PFC dans le sol (figure 2.3.a, b). En effet, la figure 2.3.a montre qu'une augmentation du pH de l'eau dans un aquifère karstique diminue le nombre de petites particules dans cet aquifère (Atteia & Kozel, 1997). Par ailleurs, la figure 2.3.b souligne l'importance du pH sur l'agrégation et la dispersion d'un certain type de particules colloïdales du sol ; cette dépendance étant liée à la charge de surface des particules et notamment celle des argiles : ainsi, un pH proche de la neutralité évite la modification des charges de bordures (Itami & Fujitani, 2005). De plus, la concentration en éléments chimiques pouvant varier dans la solution, et étant donné la nature des particules et leur pouvoir adsorbant, les éléments associés aux particules (argileuses par exemples) seront plus ou moins importants en sortie de système.

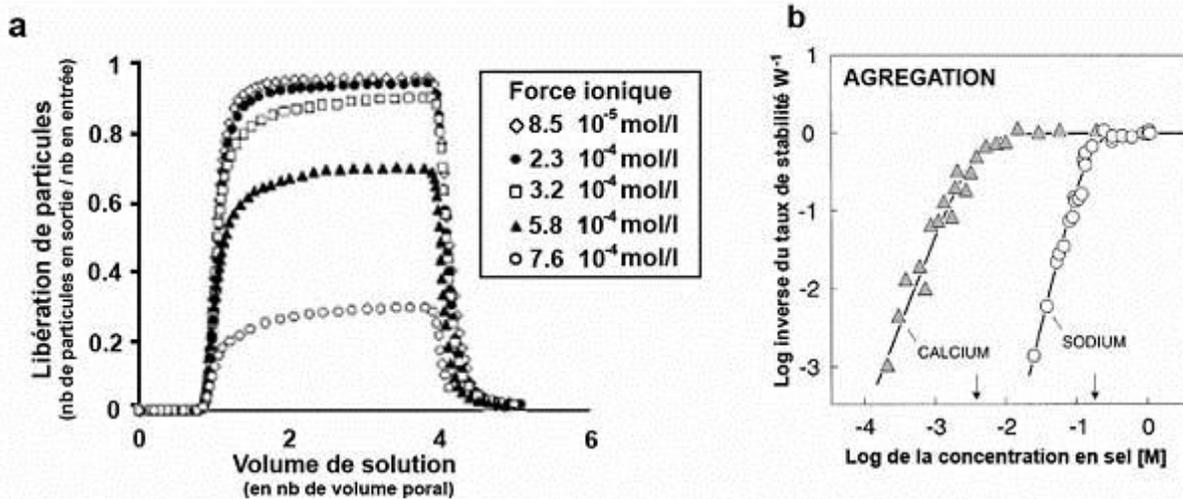


Figure 2.2. Influence de la force ionique sur a) la libération des particules (d'après Compère et al., 2001) et b) le potentiel d'agrégation de colloïdes (d'après Grolimund et al., 2001).

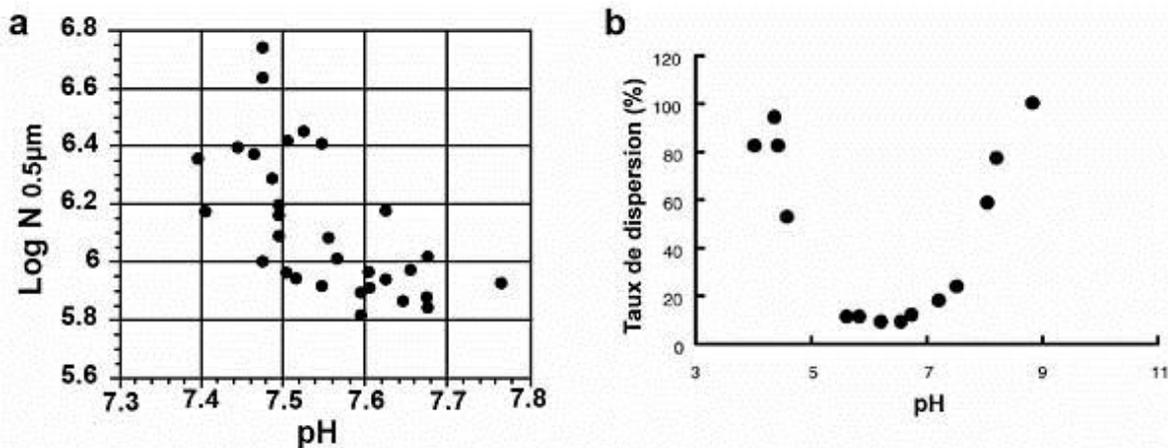


Figure 2.3. Influence du pH de la solution sur a) le nombre de PFC, $N_{0.5\mu m}$ représente le nombre de PFC de $0.5\mu m$ de diamètre (d'après Atteia & Kozel, 1997) et b) le taux de dispersion de particules d'allophane dans une solution à 5mmol/L de NaCl (d'après Itami & Fujitani, 2005).

- Les modifications minéralogiques des constituants du sol ont également une incidence sur la nature des particules circulant dans les eaux d'infiltration. De telles modifications interviennent généralement du fait d'une modification de la chimie de la solution ou, sur une échelle de temps plus importante, du fait de l'action des végétaux. Mais en dehors de toute modification dynamique, le seul fait que la solution de sol traverse des horizons de sol différents joue sur la composition de la population de particules (Grout et al., 1998; Itami & Fujitani, 2005). Ainsi, il apparaît que la taille des PFC comme la proportion des différents

minéraux peut évoluer en fonction des écoulements dans un sol (figure 2.4) (Kaplan et al., 1993). La figure 2.4 illustre l'influence de la vitesse d'écoulement sur les colloïdes mobiles générés par le sol dans le cas d'une étude sur colonnes de sol remanié (Kaplan et al., 1993) : ainsi, la figure 2.4.a montre que plus la vitesse augmente plus le diamètre des colloïdes générés par le sol augmente; la figure 2.4.b montre que la part des différents types minéralogiques de colloïdes évolue également en fonction de la vitesse d'écoulement, ce qui est en relation avec la taille des particules puisque les particules dont la part augmente avec l'augmentation des vitesses d'écoulement (kaolinite, vermiculite et quartz) sont en moyenne plus grosses que les autres particules (gibbsite et oxydes de fer). Ces résultats soulignent par ailleurs la nécessité de caractériser la nature des particules en plus de leur distribution de taille.

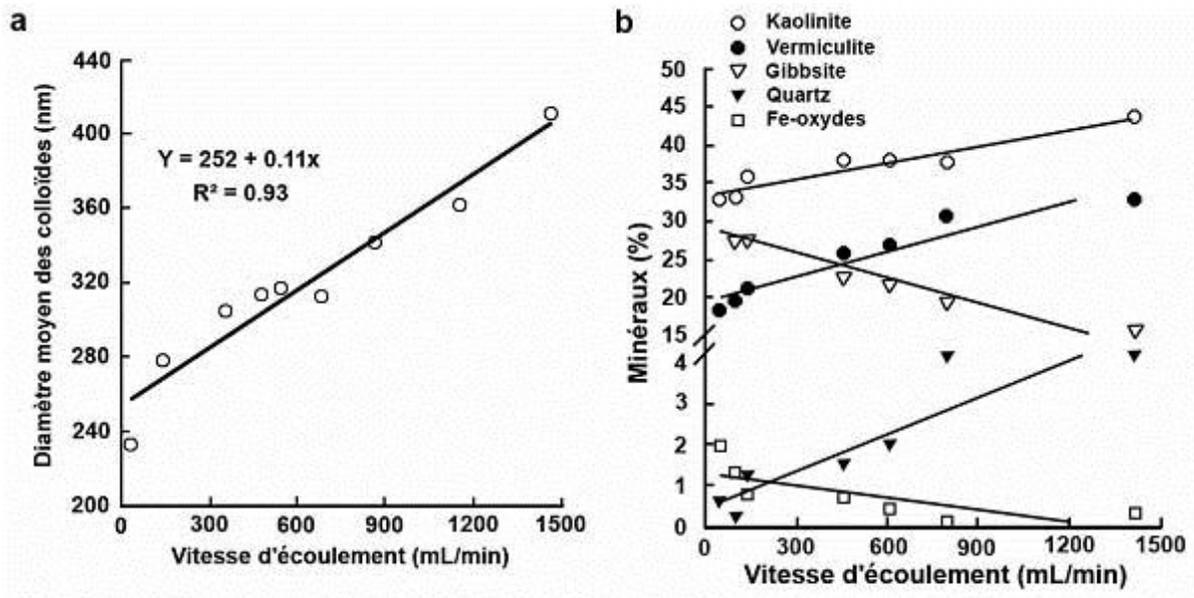


Figure 2.4. Influence de la vitesse d'écoulement dans un sol sur **a)** la taille des particules et **b)** la distribution des types de PFC minérales (d'après Kaplan et al., 1993).

- Les *conditions climatiques*, telles que la quantité de pluie (figure 2.5.a), sa force, sa nature (neige, grêle, liquide), la température de l'air et de l'eau (figure 2.5.b) ont un impact sur la distribution des particules (Kaplan et al., 1993; Atteia & Kozel, 1997; Jacobsen et al., 1997; Shevenell & McCarthy, 2002). Ainsi, la figure 2.5.a montre une corrélation entre la turbidité de l'eau d'un puits et les différents épisodes pluvieux et surtout orageux durant une période de 180 heures. Il apparaît que les augmentations brutales de la turbidité, et donc de la concentration de matières en suspension dans l'eau, est en parfaite corrélation avec la hauteur

de pluie et très précisément avec les deux épisodes orageux ayant eu lieu lors de l'étude (Shevenell & McCarthy, 2002). De plus, une autre étude, illustrée par la figure 2.5.b, souligne l'importance de la température de l'eau dans un aquifère sur le nombre de petites particules en suspension dans l'eau (Atteia & Kozel, 1997) : plus la température est élevée plus les particules sont nombreuses, ce qui s'explique par l'augmentation de l'activité biologique et notamment l'augmentation du nombre de bactéries.

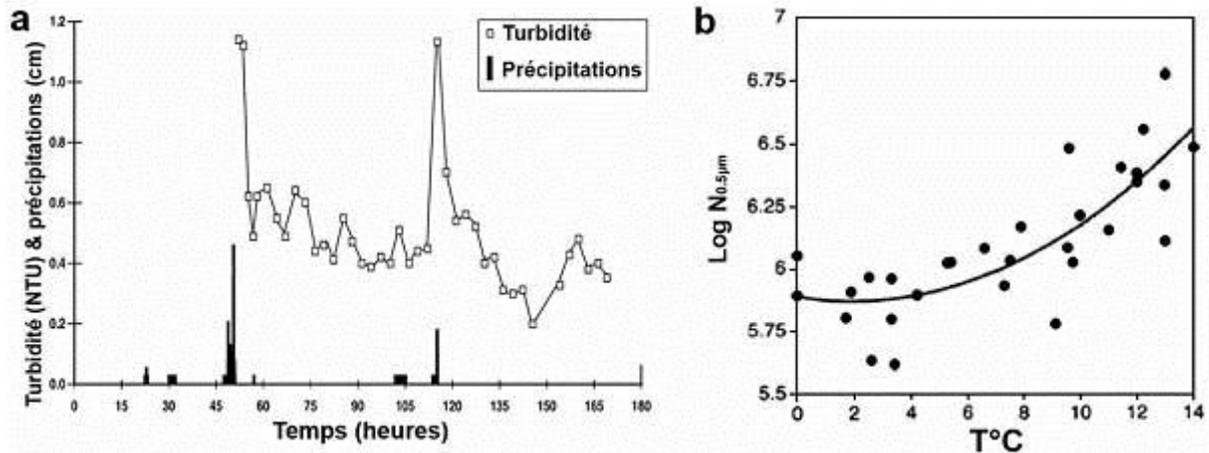


Figure 2.5. a) Influence des précipitations orageuses sur la turbidité dans un puits (d'après Shevenell & McCarthy, 2002). **b)** Influence de la température de l'eau du sol sur le nombre de PFC, $N_{0.5\mu m}$ représente le nombre de PFC de $0.5\mu m$ de diamètre (d'après Atteia & Kozel, 1997).

- En corolaire des points précédents, *l'état hydrique et la porosité du sol*, variables selon les horizons et les conditions climatiques, influencent la décharge particulaire d'un sol et donc sur la quantité et la nature des nanoparticules en présence (cf. figure 2.4) (Kaplan et al., 1993; Govindaraju et al., 1995).

- *Les apports et interventions anthropiques* peuvent aussi modifier le type, la nature et la distribution des particules colloïdales du sol ; qu'il s'agisse d'épandages divers ou de modifications physiques du sol (Sparks, 2005; Sen & Khilar, 2006).

Il est cependant important de noter que ces paramètres ne sont pas indépendants les uns des autres. Ainsi, la modification d'un paramètre peut influencer sur un autre paramètre. De plus, les PFC du sol sont à la fois des particules générées par le sol mais proviennent également de l'atmosphère, et donc le comportement des particules dans l'environnement pédologique ne

dépend pas seulement des paramètres physico-chimiques du sol mais aussi de ceux de l'atmosphère.

II. Présentation des sites d'étude

Différents mécanismes et paramètres doivent donc être pris en compte lors de la caractérisation physico-chimique et du suivi des PFC de sols et de l'atmosphère. Le nombre de ces paramètres et leur variabilité nécessite une connaissance et un suivi très régulier des conditions régnant sur le ou les sites échantillonnés. De ce fait, deux sites, bien appareillés et aux caractéristiques connues ont été choisis pour ce travail. Leurs différences et leurs analogies vont permettre de mieux caractériser l'influence des différents paramètres mis en jeu. L'un est une parcelle de vignoble située en périphérie de la ville de Colmar (Alsace), et l'autre une forêt ancienne située dans le Morvan (Nièvre).

La caractérisation des PFC atmosphériques a pour but de déterminer à la fois quelle est leur contribution et leur impact sur les PFC circulant dans les sols, et quels sont les paramètres influençant leurs caractéristiques physico-chimiques et leur distribution dans l'atmosphère. Les deux sites ont été appareillés afin de recueillir les PFC présentes dans les retombées atmosphériques et identifier les paramètres qui les contrôlent, sur un site non anthropisé et sur son équivalent dans un environnement anthropisé.

Les PFC des eaux d'infiltration de sols n'ont été échantillonnées que sur le site du vignoble. Ce type de culture a la particularité de recevoir des apports intensifs de fertilisants, herbicides, insecticides et fongicides dans une région où le toit de la nappe phréatique est proche de la surface du sol. Ce site présente donc des caractéristiques importantes qui permettent d'étudier en détail le transfert des contaminants potentiellement toxiques.

Les caractéristiques des deux sites sont décrites ci-dessous.

II. 1. Le site forestier de Breuil-Chenu

Sur le site forestier de Breuil-Chenu, seules les particules atmosphériques ont été étudiées. Le site atelier de Breuil-Chenu appartient au réseau des sites Observatoires de Recherche sur l'Environnement (ORE F-OreT, coordonné par le GIP Ecofor). Ce site a été mis en place et est géré par la station INRA de Nancy avec pour objectif principal d'étudier l'effet de la substitution des essences d'arbres sur le fonctionnement biogéochimique et biologique des écosystèmes.

II. 1. 1. Caractéristiques du site

II. 1. 1. 1. Situation géographique

Le site est situé dans la forêt domaniale de Breuil-Chenu (Nièvre-Morvan) (Figure 2.6), à une altitude de 650 m. La situation morphologique locale du terrain est un plateau légèrement incliné vers le Sud.

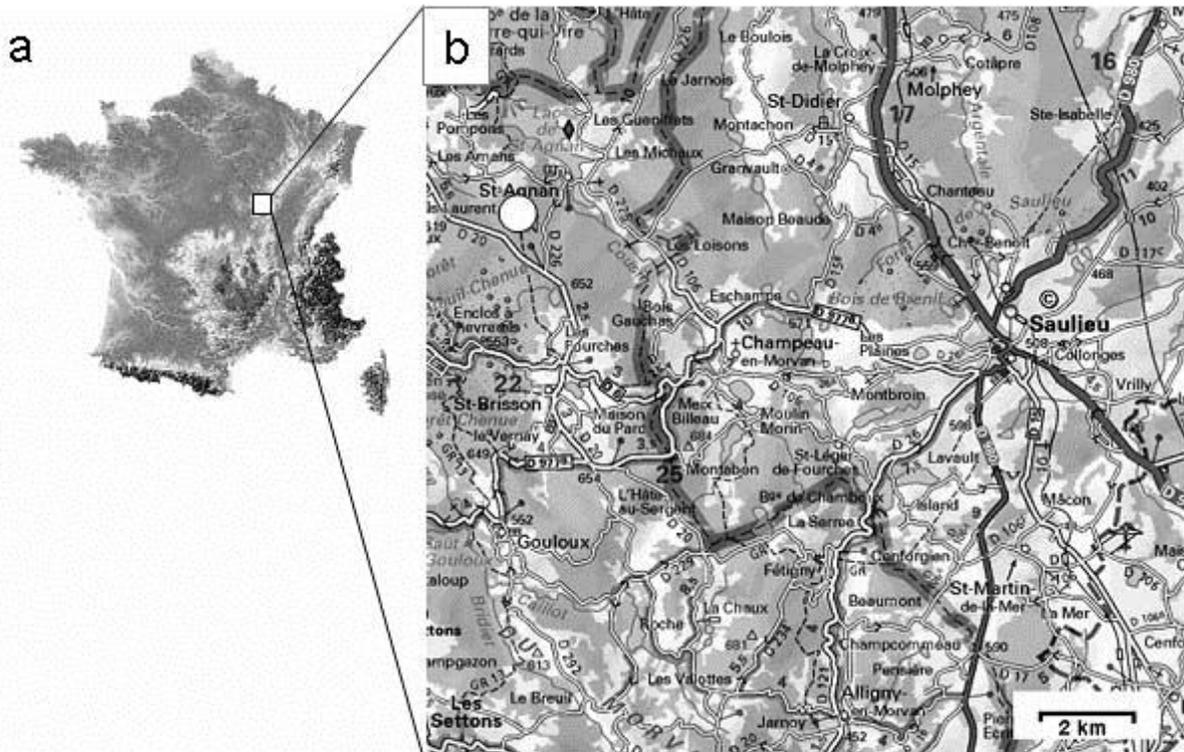


Figure 2.6. Localisation du site de Breuil-Chenu sur a) la carte de France et b) la carte Michelin 243 au 1:200000. Le cercle représente la localisation du site expérimental.

II. 1. 1. 2. Climat

La pluviométrie annuelle trentenaire à Château-Chinon est de 1280 mm (à dominante hivernale et minima en avril et juillet), la température moyenne annuelle de 9°C (5,4°C de moyenne des minima mensuels et 12,5°C de moyenne des maxima mensuels) et l'ETP est de 640 mm. Le microclimat et le pédoclimat du peuplement sont observés sur les couples Hêtre-Douglas et Chêne-Epicéa avec des mesures de température et d'humidité relatives de l'air et du sol, à différentes profondeurs. Dans la région, les vents sont à dominance du Sud-Ouest. La figure 2.7 représente les variations de température et hauteur de pluies moyennes mensuelles sur le site pendant la période d'échantillonnage.

Les résultats des études en cours sur le site montrent que les essences modifient assez largement le climat général par leurs caractéristiques physiques et leur demande biologique. De plus, l'interception des pluies par les peuplements est un paramètre important du bilan hydrique (Ranger & Gelhaye, 2006). Ainsi, pour la forêt native 32% en moyenne des précipitations sont interceptées par an, réparties en 34% durant l'automne, 30% durant l'été, 21% en hiver et 41% au printemps.

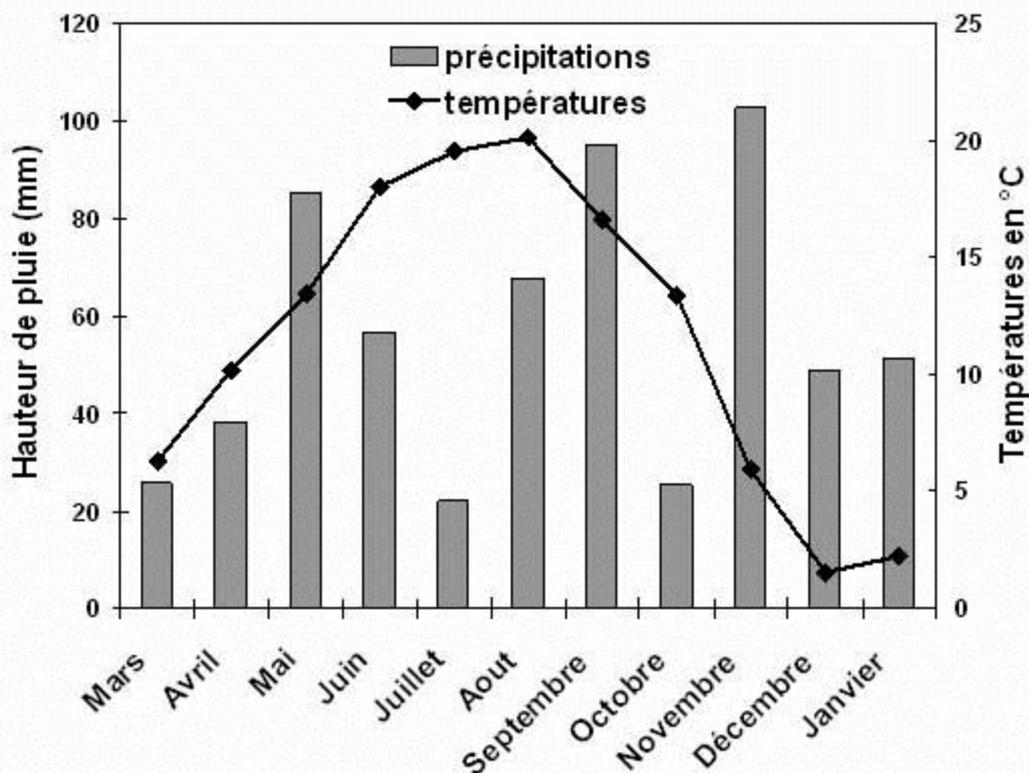


Figure 2.7. Variations des précipitations et températures moyennes mensuelles à Breuil-Chenu de Mars 2004 à Janvier 2005.

II. 1. 1. 3. Géologie

Le substrat géologique est constitué par le granite leucocrate à gros grains et deux micas de la Pierre-qui-Vire. Deux faciès différenciés par leurs textures sont identifiés sur le site : un faciès à gros grains centimétriques et un faciès à grains moyens avec des cristaux ne dépassant pas le demi-centimètre. Leur répartition sur le site a été étudiée à partir des cailloux du sol aux différents points de prélèvement. Il en ressort que les deux faciès sont présents sous tous les peuplements, en proportion plus ou moins forte, conséquence probable de la cryoturbation généralisée au cours du Quaternaire (Aurousseau, 1976). Le faciès le plus fin est le plus abondant à l'Est du dispositif expérimental. Le cortège minéralogique à quartz 43%, feldspath potassique 27%, albite 23%, muscovite 4,5%, biotite chloritisée 2,3%, la composition chimique moyenne et l'assemblage des grains sont identiques dans les deux faciès.

II. 1. 1. 4. Caractéristiques pédologiques

Le sol de la forêt native est un Alocrisol très acide (pH = 3,8 à 5 cm de profondeur) présentant une légère dégradation podzolique en surface, développé sur l'altérite du granite de la Pierre-qui-Vire, vraisemblablement recouverte d'une fine couche de limon. Une cryptopodzolisation apparaît en surface marquée par un horizon brun chocolat discontinu, et chimiquement par des accumulations de fer libre à 15 cm de profondeur et d'aluminium libre vers 20 cm (Ranger & Gelhaye, 2006). Le sol est moyennement épais (au moins un mètre), non compacté, de texture limono-sableuse globalement très homogène sur l'ensemble du profil. Le taux d'argile est inférieur à 20% en surface et des blocs apparaissent de manière irrégulière sur le plateau. Les caractéristiques physiques et chimiques du sol sont résumées dans le tableau 2.1. Cependant, étant donné que seules les particules présentes dans les retombées atmosphériques ont été étudiées sur ce site, les caractéristiques du sol ne sont pas détaillées ici autant que pour le site de vignoble. L'accent est seulement mis ici sur la minéralogie des constituants du sol qui sont potentiellement transportables vers l'atmosphère et peuvent constituer une source locale de PFC atmosphériques.

niveau cm	K meq % g	Mn meq % g	Mg meq % g	Ca meq % g	H meq % g	Al meq % g	Acidité meq % g	S meq % g	T meq % g	S/T
0 - 4	0.40	0.05	0.38	0.15	1.76	6.83	8.59	1.38	9.97	0.14
4 - 10	0.19	0.01	0.11	0.02	0.79	6.80	7.59	0.74	8.33	0.09
10 - 20	0.10	0.03	0.05	0.02	0.07	4.52	4.59	0.24	4.83	0.05
20 - 35	0.07	0.03	0.03	0.01	0.14	3.55	3.69	0.19	3.88	0.05
35 - 55	0.06	0.05	0.02	0.01	0.06	3.44	3.51	0.15	3.66	0.04
55 - 75	0.06	0.04	0.02	0.00	0.02	4.20	4.22	0.15	4.37	0.03
75 - 100	0.07	0.04	0.01	0.00	0.04	3.72	3.76	0.15	3.91	0.04
100 - 140	0.10	0.02	0.08	0.01	0.15	5.03	5.18	0.25	5.43	0.05

niveau cm	densité	pH	C g/kg	N g/kg	P2O5 g/kg	Granulométrie		
						Argile	limons g/kg	sables
0 - 4	0.66	4.11	104.87	3.78	0.15	189	204	608
4 - 10	-	4.33	50.17	2.31	0.11	165	200	635
10 - 20	0.86	4.78	27.67	1.42	0.10	148	218	634
20 - 35	1.10	4.83	17.33	0.94	0.11	161	232	608
35 - 55	1.10	4.70	14.20	0.79	0.12	164	235	602
55 - 75	1.28	4.67	-	-	0.16	167	229	604
75 - 100	1.13	4.70	-	-	-	249	269	462
100 - 140	1.34	5.00	-	-	-	174	214	612

Tableau 2.1. Caractéristiques chimiques et physiques du sol de la forêt de Breuil-Chenu.

Les sables et les limons contiennent essentiellement des minéraux primaires issus de l'arénitisation du granite. La division des fractions les plus grossières alimente les fractions les plus fines. La kaolinite se forme dès la base du profil aux dépens de l'albite et de la biotite. En surface des profils, une réduction des teneurs en minéraux les moins stables (chlorite, biotite, albite) est mise en évidence dans chaque fraction granulométrique.

Dans la fraction argileuse (< 2 µm), un important cortège de minéraux a été mis en évidence comprenant notamment kaolinite, smectite intergrade, vermiculite intergrade, chlorite, micas, gibbsite, feldspath potassique, quartz et différents minéraux interstratifiés. La distribution verticale des minéraux primaires contenus dans la fraction argileuse est fonction de leur domaine de stabilité respectif dans les différents horizons. Les principales évolutions verticales sont résumées dans la figure 2.8.

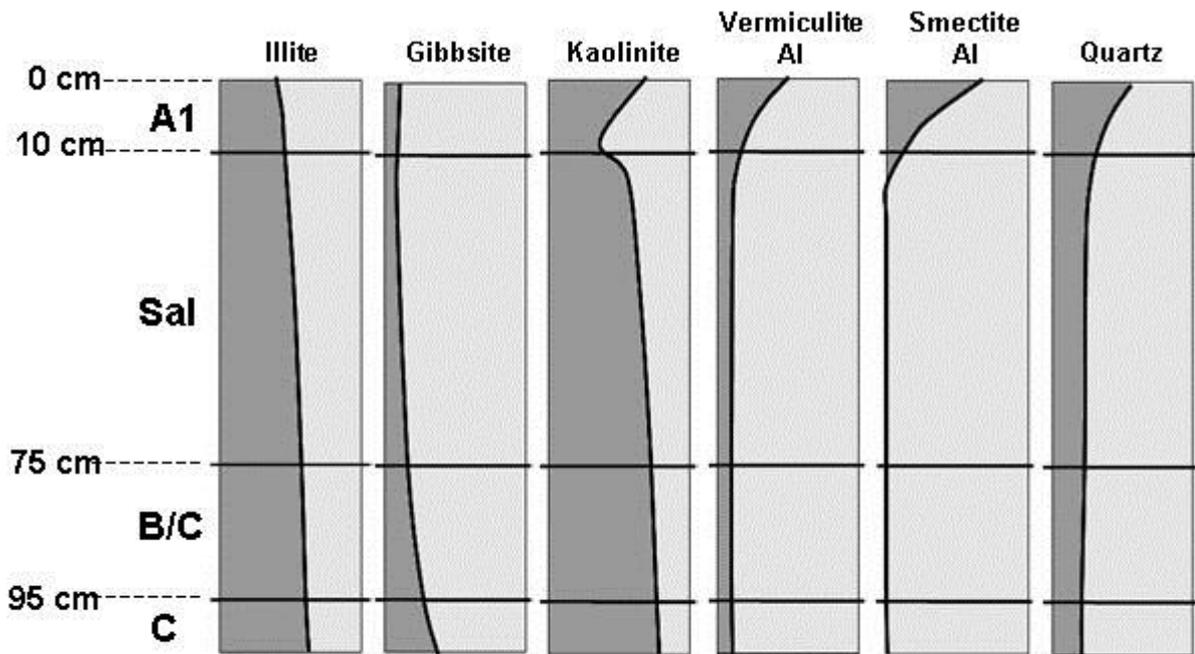


Figure 2.8. Evolution avec la profondeur des proportions en quartz et minéraux argileux dans la fraction argileuse du sol de Breuil-Chenue.

II. 1. 1. 5. Les peuplements

Un taillis-sous-futaie vieilli à réserve de hêtre (dominant) (*Fagus sylvatica* L.) et de chêne (*Quercus sessiliflora* Smith) et des taillis de diverses essences (*Quercus sessiliflora* Smith, *Betula verrucosa* Ehrh., *Corylus avellana* L.) constituent la forêt native du site. Celle-ci a en partie été coupée à blanc et remplacée par des plantations diverses d'essences feuillues et résineuses. Le dispositif expérimental des peuplements est réparti comme suit :

- une parcelle représentant la forêt initiale ;
- 5 parcelles plantées en hêtre, chêne, épicéa, Douglas, sapin et pin ;
- 4 parcelles d'épicéa commun, de Douglas, de pin Laricio et de sapin Nordmann, fertilisées et amendées.

Le dispositif a été installé en 1976 à l'initiative de la Station de Recherches sur les Sols et la Fertilisation de l'INRA de Champenoux. Chaque parcelle fait environ 10 ares.

II. 1. 2. Dispositifs d'échantillonnage

De nombreux instruments d'échantillonnage et de mesures sont disponibles sur le site. Ainsi, les eaux de pluies hors et sous couvert végétal et les eaux de ruissellement le long des troncs ont été échantillonnées tout au long de la campagne (figure 2.9).

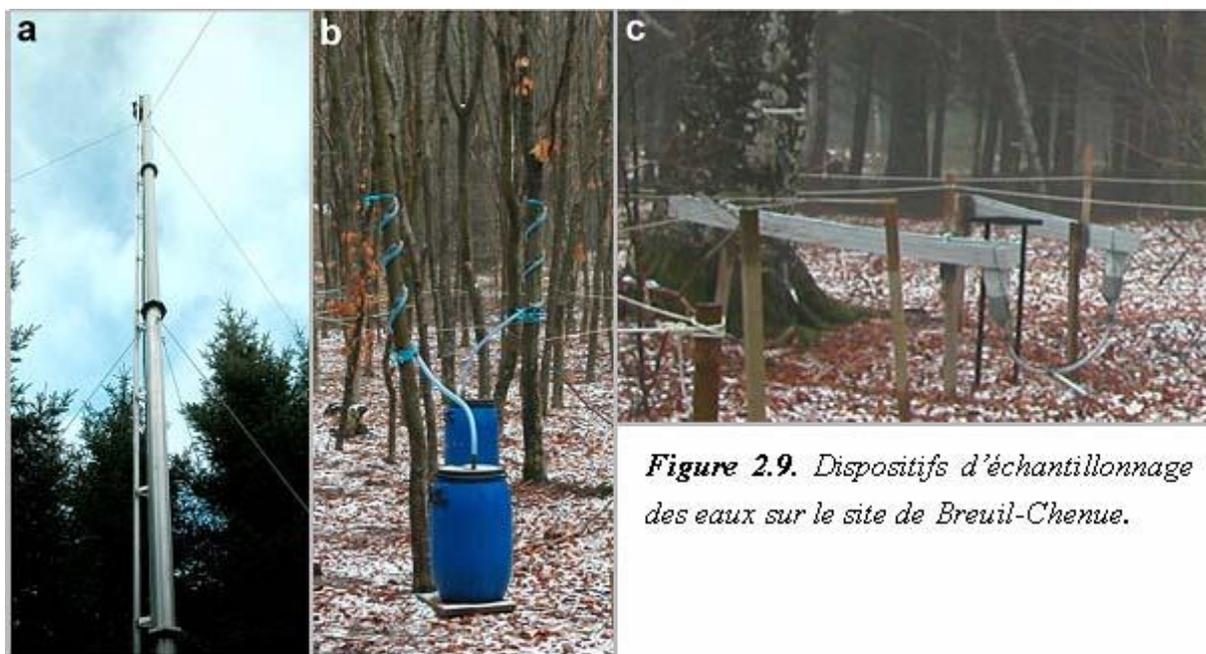


Figure 2.9. Dispositifs d'échantillonnage des eaux sur le site de Breuil-Chenue.

a) Mât d'échantillonnage hors-couvert, b) dispositif de récupération des eaux de ruissellement de troncs et c) gouttières d'échantillonnage sous couvert végétal.

II. 1. 3. Synthèse

Ce site bien caractérisé a été choisi pour le suivi dans le temps de l'évolution des caractéristiques physiques et chimiques et de la distribution des PFC présentes dans les dépôts atmosphériques.

Les caractéristiques essentielles du taillis sous futaie sont les suivantes :

- une bonne connaissance des facteurs environnementaux ;
- un site considéré comme non contaminé par l'activité anthropique ;
- un site en zone forestière caractérisé par un couvert de feuillus typiques des zones tempérées.

II.2. Le site de vignoble péri-urbain de Wintzenheim

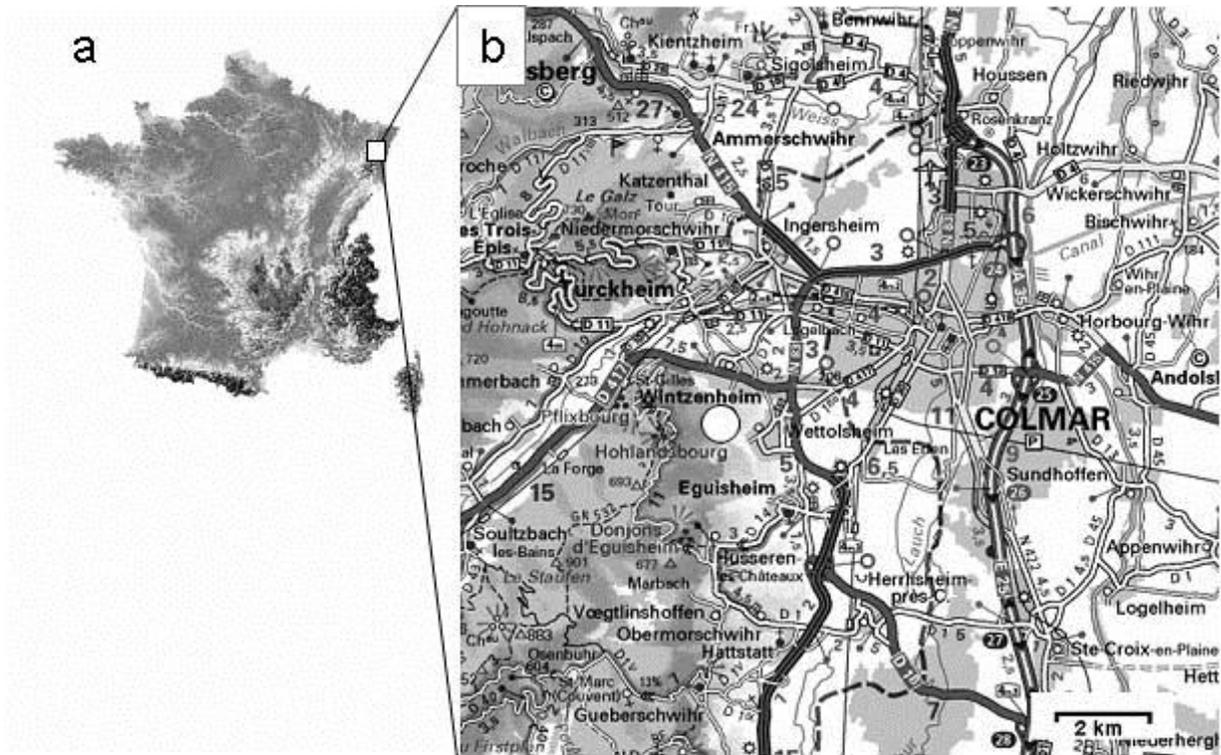


Figure 2.10. Localisation du site de Wintzenheim sur a) la carte de France et b) la carte Michelin au 1:200000. Le cercle représente la localisation du site expérimental.

II. 2. 1. Caractéristiques du site

Le site d'échantillonnage est une parcelle de vignes expérimentale appartenant à l'INRA et située à Wintzenheim près de Colmar (Alsace, France) (figure 2.10). Situé en piémont des Vosges, le sol est un colluviosol développé sur alluvions anciennes (Party et al., 1999). Le site est équipé d'une station météorologique ainsi que d'un dispositif de collecte des eaux d'infiltration par bougies poreuses placées à 60 et 120 cm de profondeur (figure 2.11). Cette parcelle expérimentale est destinée à l'étude de l'impact des phytosanitaires sur la vigne et

son environnement. De ce fait elle est divisée en deux parties : une partie traitée avec des phytosanitaires et une parcelle témoin. La parcelle traitée a fait l'objet de différents traitements chimiques pendant plusieurs dizaines d'années : la pulvérisation annuelle d'un fongicide arsénié à la fin de l'hiver (une seule application), l'application de fongicides à base de soufre et cuivre, sous forme de bouillie bordelaise, ainsi que la pulvérisation de pesticides et d'herbicides au printemps et en automne. Ces apports anthropiques sont autant de sources de pollution potentielle. Dans le cas présent, le traitement au fongicide arsénié a été effectué au début du mois de Mars entre 2001 et 2004 en pulvérisant sur les plants une solution d'arséniate de sodium (AsNa_3O_4). La quantité d'arsenic appliquée par an est de 0,6 kg/ha et la quantité de cuivre de 3,5 kg/ha. L'arséniate de plomb monoacide ($\text{As}_2\text{O}_8\text{Pb}_3$) avait été utilisé en France comme insecticide sur les vignes jusqu'en 1950. Ce produit, peu soluble dans l'eau était pulvérisé sous forme de mélange sur les plants. L'arséniate de sodium a remplacé l'arséniate de plomb jusqu'à la fin 2001. Ce produit phytosanitaire est très soluble dans l'eau (Faivre & Weiss, 1963).

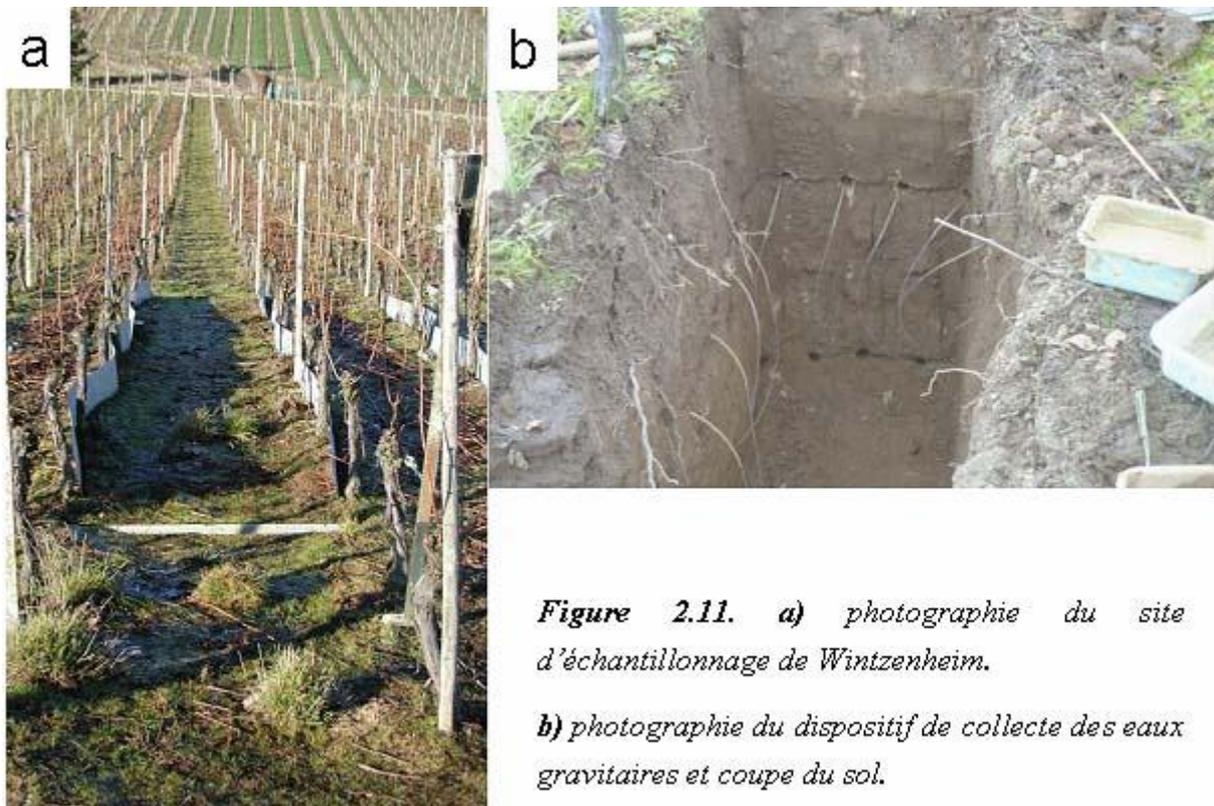


Figure 2.11. a) photographie du site d'échantillonnage de Wintzenheim.

b) photographie du dispositif de collecte des eaux gravitaires et coupe du sol.

II. 2. 2. Particularité des apports anthropiques

L'arsenic est le 51ème élément en termes d'abondance dans la croûte terrestre, il se trouve dans tous les types de milieux, que ce soit l'atmosphère, les milieux aquatiques, les sols, les sédiments, les roches ou les organismes vivants. C'est un élément chalcophile se combinant au soufre pour former des sulfo-arséniures. Si cet élément est un constituant mineur des minéraux des roches, ce sont les activités humaines qui contribuent en majorité à l'apport d'arsenic à l'environnement. Il a été estimé que les émissions globales d'arsenic étaient comprises entre 24000 t.an⁻¹ et 124000 t.an⁻¹ (Loebenstein, 1994). C'est un élément essentiel à la vie puisqu'un être humain a besoin de 10 à 20 µg d'arsenic par jour (Jacotot & Le Parco, 1999). Cependant, un apport trop important peut être toxique : l'inhalation de 100 mg.kg⁻¹ d'hydrogène arsénié (AsH₃) entraîne la mort dans les 30 minutes (Laperche et al., 2003).

L'arsenic peut présenter quatre degrés d'oxydation : (-3), (0), (+3) et (+5). Dans les sols, ses composés correspondent principalement à des espèces inorganiques présentant les degrés d'oxydation As[V] arséniate et As[III] arsénite (Harper & Haswell, 1988; cité dans Matera et al., 2003). La forme As[V] est moins toxique et moins mobile que la forme As(III) du fait du plus fort potentiel d'adsorption de As[V] sur les minéraux (Pierce & Moore, 1982). Il existe plus de 200 minéraux contenant de l'arsenic. Dans les sols, la mobilité de l'arsenic est principalement contrôlée par les processus d'adsorption/désorption, les réactions de dissolution/précipitation et les mécanismes microbiologiques. La capacité d'adsorption de l'arsenic sur les différents constituants du sol (argiles, oxydes d'aluminium, de fer, de manganèse, carbonates de calcium et/ou matière organique) est fortement dépendante des facteurs physico-chimiques du milieu tels que l'état d'hydratation, le pH, les conditions d'oxydo-réduction, l'état de coordination des cations (Sadiq, 1997). Ainsi As[V] est préférentiellement adsorbé sur les oxydes pour des pH de 4 à 7, et As[III] pour des pH de 7 à 10 (Pierce & Moore, 1980; Pierce & Moore, 1982). De plus, Lin & Puls (2000) ont montré que As[V] est plus fortement adsorbé sur les argiles que As[III]. Concernant les substances humiques, l'adsorption d'As[V] est maximale pour un pH égal à 5,5, et celle de As[III] pour un pH égal à 8,5 (Thanabalasingam & Pickering, 1986; cité dans : Matera et al., 2003).

Dans les sols d'environnement contaminés, de nombreuses études ont montré des précipitations d'arsenic. Ainsi, Voigt et al. (1996) ont rapporté le cas de la précipitation naturelle d'hornesite (Mg₃(AsO₄)₂.8H₂O) et Juillot et al. (1999) ont relevé des occurrences d'arséniates de calcium ; tandis que la formation de scorodite (FeAsO₄.2H₂O) et la sorption

d'arséniate sur des oxy-hydroxydes ferriques et des aluminosilicates ont été mises en évidence par Forster et al. (1998). Enfin, Davis et al. (1996) ont observé la formation d'oxydes arséniés métalliques, d'oxydes de fer arséniés et de phosphates d'arsenic tels que $\text{FeAlPbAs}(\text{PO}_4)(\text{SO}_4)$. En résumé, les oxy-hydroxydes métalliques s'avèrent être de bons pièges à arsenic qui s'y adsorbent suivant des phénomènes de complexation de surface. De plus, il existe une interconnexion étroite entre les mécanismes abiotiques et les phénomènes biologiques. Si les réactions d'oxydation, de réduction, d'adsorption, de dissolution, de précipitation et de volatilisation se produisent fréquemment dans les sols, certaines de ces réactions sont associées à des micro-organismes bactériens et fongiques comme le montre la figure 2.12 (Bhumbla & Keefer, 1994). La biotransformation des espèces arséniées se produit selon trois mécanismes principaux : (i) les réactions d'oxydo-réduction entre arsénite et arséniate ; (ii) la réduction et la méthylation de l'arsenic ; (iii) la biosynthèse de composés organo-arséniés. La méthylation de l'arsenic est un processus métabolique qui transforme des espèces arséniées inorganiques en formes méthylées organiques et volatiles. Jain et Ali (2000) ont montré que les composés inorganiques arséniés sont environ 100 fois plus toxiques que les composés organiques et il semble que les micro-organismes ont développé des mécanismes de détoxification de l'arsenic.

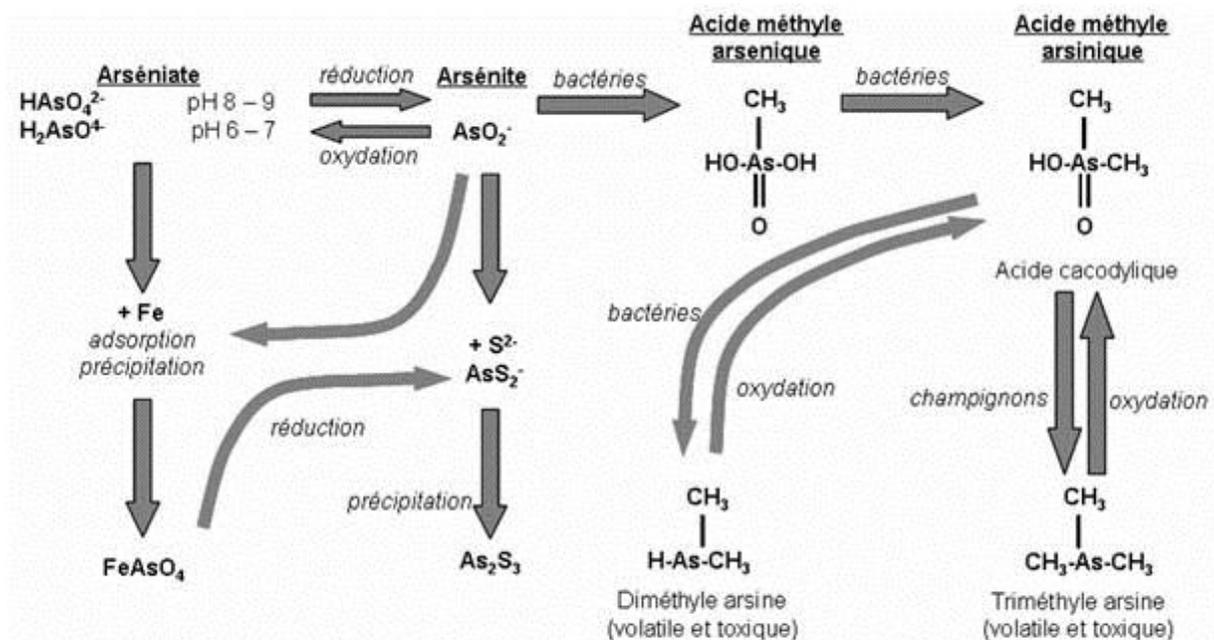


Figure 2.12. Cycle de l'arsenic dans les sols (d'après Bhumbla & Keefer, 1994).

II. 2. 3. Caractéristiques pédologiques

Les principales caractéristiques physicochimiques du sol de Wintzenheim sont présentées dans le tableau 2.2. Sa granulométrie est assez homogène sur les 120 premiers centimètres, présentant une majorité de sables grossiers (200 à 2000 μm) et des teneurs d'argile autour de 10%. Dans la parcelle témoin, les niveaux 25 à 45 cm et 45 à 65 cm sont plus riches en argiles et limons fins que les niveaux inférieurs (65 à 100 cm) avec une recrudescence des éléments fins de 0 à 20 μm dans le niveau compris entre 100 et 120 cm. Ceci est corroboré par les valeurs de capacité d'échange cationique (CEC). A propos de la parcelle traitée on note les mêmes caractéristiques avec cependant un léger décalage des niveaux vers le haut. Ainsi, seul le niveau 45-65 cm apparaît réellement sableux et les niveaux 80 à 120 cm sont plus riches en argiles. Le diagramme de texture du sol (Figure 2.13) montre qu'il s'agit d'un sol limoneux-sableux avec, cependant, une tendance plus limoneuse en profondeur. Ceci est corrélable avec la présence éventuelle d'un horizon d'accumulation en place vers 1 m de profondeur. Le pH du sol est homogène avec la profondeur, restant assez basique autour de 6 dans la parcelle témoin et plus proche de 7 dans la parcelle traitée. Le niveau supérieur du sol (0 à 5 cm), le plus riche en matière organique, correspond au tapis racinaire de la zone enherbée.

La caractérisation par diffraction des rayons X de la fraction argileuse du premier mètre du sol de Wintzenheim montre une distribution des argiles assez homogène avec principalement des illites et des interstratifiés illite-smectite (figure 2.14).

Intervalle de profondeur (cm)	unités	PARCELLE TEMOIN									
		0 à 5	5 à 25	25 à 45	45 à 65	65 à 80	80 à 100	100 à 120			
Argile (< 2 µm)	g/kg	99	103	113	113	100	105	132			
Limons fins (2/20 µm)	g/kg	122	132	134	139	126	128	164			
Limons grossiers (20/50 µm)	g/kg	136	119	129	126	110	123	150			
Sables fins (50/200 µm)	g/kg	105	96	104	96	74	78	81			
Sables grossiers (200/2000 µm)	g/kg	538	550	520	526	590	566	473			
		1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000			
Azote (N) total	g/kg	1.73	0.511	0.445	0.445	0.252	0.238	0.262			
C/N	-	13.3	11.5	11.2	10.8	8.17	10.9	11.3			
Carbone (C) organique	g/kg	22.9	5.89	5	4.8	2.05	2.6	2.97			
Matière organique	g/kg	39.6	10.2	8.65	8.31	3.55	4.49	5.14			
Traitement Carbone	-										
pH	-	6.04	6.37	6.26	6.17		6.12	6.2			
Calcaire (CaCO3) total	g/kg	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1			
CEC cobalthexamine	cmol+/kg	9.07	5.01	6.3	6.34	5.54	5.95	7.73			
Aluminium (Al) échangeable	cmol+/kg	0.0292	0.0247	0.0301	0.0295	0.0294	0.0297	0.0314			
Calcium (Ca) échangeable	cmol+/kg	7.93	4.52	5.86	6.09	5.2	5.9	6.9			
Fer (Fe) échangeable	cmol+/kg	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005			
Magnésium (Mg) échangeable	cmol+/kg	1.3	0.873	0.564	0.516	0.58	0.775	1.15			
Manganèse (Mn) échangeable	cmol+/kg	0.0481	<0.005	0.0057	0.0064	0.0087	0.0074	0.0076			
Potassium (K) échangeable	cmol+/kg	1.32	0.391	0.29	0.248	0.179	0.149	0.144			
Sodium (Na) échangeable	cmol+/kg	0.0612	0.0166	0.0236	0.0194	0.0246	0.0251	0.0256			
Silicium (Si) total	g/100g	33.4	33.7	33.5	33.4	15.00	33	32			
Aluminium (Al) total	g/100g	6.22	6.2	6.34	6.66		6.89	6.83			
Calcium (Ca) total	g/100g	0.632	0.543	0.542	0.563		0.541	0.583			
Fer (Fe) total	g/100g	1.36	1.45	1.44	1.39		1.37	1.59			
Magnésium (Mg) total	g/100g	0.331	0.341	0.335	0.334		0.339	0.378			
Manganèse (Mn) total	mg/kg	666	704	666	695		621	718			
Potassium (K) total	g/100g	3.19	3.27	3.27	3.32		3.27	3.02			
Sodium (Na) total	g/100g	2.18	2.27	2.26	2.29		2.28	2.19			
Titane (Ti) total	g/100g	0.263	0.278	0.278	0.265		0.263	0.285			
Arsenic	µg/g	9	10.1	11.5	10.1	17.6	14.4	13.3			

PARCELLE TRAITEE										
Intervalle de profondeur (cm)	0 à 5	5 à 25	25 à 45	45 à 65	65 à 80	80 à 100	100 à 120	unités		
Argile (< 2 µm)	115	110	119	111	101	130	138	g/kg		
Limons fins (2/20 µm)	146	141	143	129	132	168	180	g/kg		
Limons grossiers (20/50 µm)	127	124	128	118	112	157	158	g/kg		
Sables fins (50/200 µm)	88	90	95	89	74	80	73	g/kg		
Sables grossiers (200/2000 µm)	524	535	515	553	581	465	451	g/kg		
	1000	1000	1000	1000	1000	1000	1000			
Azote (N) total	1.21	0.655	0.492	0.337	0.268	0.286	0.33	g/kg		
C/N	13.8	11.1	10.4	11	10.3	9.25	9.58	-		
Carbone (C) organique	16.7	7.26	5.11	3.72	2.75	2.65	3.16	g/kg		
Matière organique	29	12.6	8.84	6.44	4.75	4.58	5.46	g/kg		
Traitement Carbone								-		
pH	6.96	6.72	6.59	7.61	6.7	6.72	6.66	-		
Calcaire (CaCO3) total	<1	<1	<1	2.55	<1	<1	<1	g/kg		
CEC cobalthexamine	10.2	7.21	6.9	7.49	6.31	7.9	8.7	cmol+/kg		
Aluminium (Al) échangeable	0.0271	0.026	0.0289	0.0315	0.0279	0.0318	0.0304	cmol+/kg		
Calcium (Ca) échangeable	8.5	6.41	6.49	7.54	6.11	7.37	8	cmol+/kg		
Fer (Fe) échangeable	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	cmol+/kg		
Magnésium (Mg) échangeable	1.47	1.34	0.736	0.531	0.748	1.03	1.22	cmol+/kg		
Manganèse (Mn) échangeable	0.141	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	<0.005	0.0328	cmol+/kg		
Potassium (K) échangeable	1.09	0.256	0.212	0.159	0.125	0.131	0.14	cmol+/kg		
Sodium (Na) échangeable	0.0624	0.0191	0.0209	0.0208	0.0251	0.0282	0.0301	cmol+/kg		
Silicium (Si) total	32.9	33.1	33.7	33.3	34.2	34.5	34.9	g/100g		
Aluminium (Al) total	6.52	6.8	6.46	6.68	5.95	5.68	6.35	g/100g		
Calcium (Ca) total	0.645	0.587	0.577	0.657	0.495	0.498	0.555	g/100g		
Fer (Fe) total	1.44	1.44	1.45	1.37	1.3	1.55	1.75	g/100g		
Magnésium (Mg) total	0.377	0.371	0.358	0.321	0.3	0.348	0.407	g/100g		
Manganèse (Mn) total	743	719	685	625	602	706	752	mg/kg		
Potassium (K) total	3.09	3.23	3.21	3.22	3.19	2.92	2.84	g/100g		
Sodium (Na) total	2.08	2.2	2.14	2.25	2.17	2.08	1.99	g/100g		
Titane (Ti) total	0.302	0.274	0.282	0.261	0.254	0.307	0.339	g/100g		
Arsenic	15.5	14.5	10.8	28.1	29.2	15.6	13.7	µg/g		

Tableau 2.2. Caractéristiques physico-chimiques du sol de Wintzenheim. Analyses réalisées au Laboratoire d'Analyse des Soils de l'INRA d'Arras

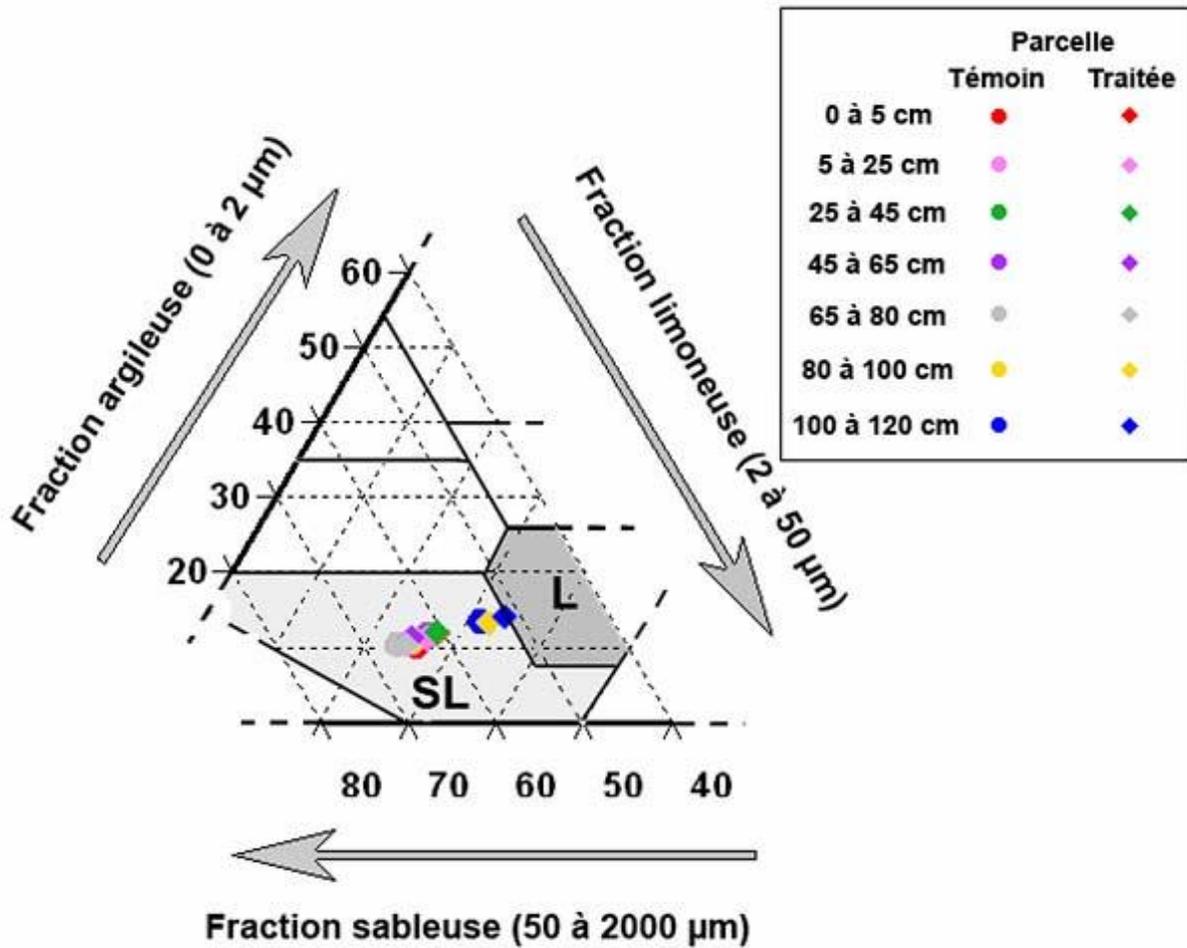


Figure 2.13. Diagramme de texture du sol de Wintzenheim. L : Loam; SL: Sandy Loam.

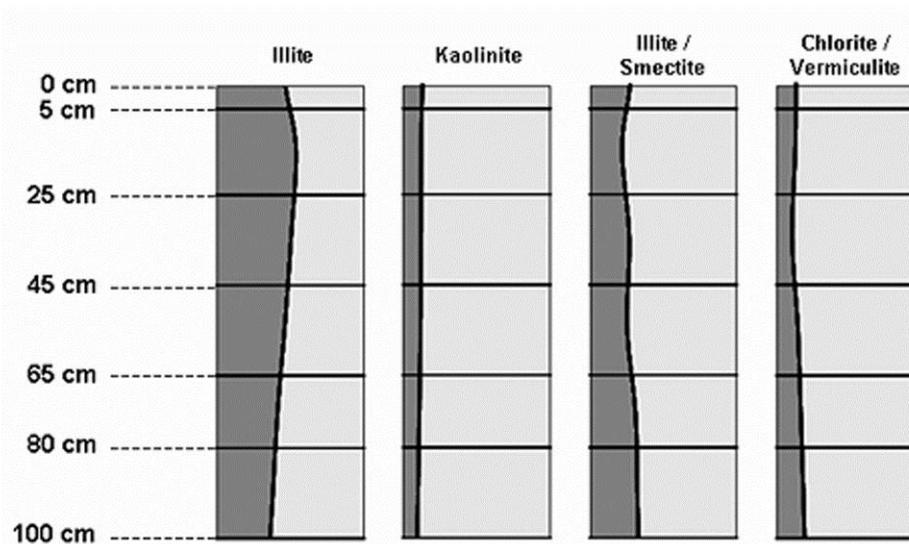


Figure 2.14. Evolution avec la profondeur des proportions en minéraux argileux dans la fraction argileuse du sol de Wintzenheim.

L'évolution des concentrations en éléments chimiques avec la profondeur montre pour la parcelle traitée que l'aluminium, le calcium et le manganèse sont moins concentrés dans les niveaux inférieurs à 65 cm, alors que le silicium et l'arsenic sont plus concentrés dans ces niveaux (figure 2.15), qui sont plus sableux. Les concentrations en arsenic dans la parcelle témoin sont de l'ordre de 10 à 20 ppb. Là encore les niveaux sableux sont plus riches d'environ 10 à 40%. Ces valeurs d'arsenic sont légèrement inférieures à la valeur de définition de source sol (VDSS) qui est de 19 ppb et largement inférieures à la valeur de constat d'impact (VCI) qui est de 37 ppm en usage sensible et 120 ppm en usage non sensible. La valeur de VDSS est une valeur guide arbitrairement définie pour identifier et qualifier un sol comme source de pollution. La valeur de VCI permet de constater l'importance de l'impact du sol pour un usage donné. Les "VCI usage sensible" sont les valeurs réglementaires pour les usages résidentiels et les "VCI usage non sensible" pour les sols industriels (Laperche et al., 2003). Les teneurs en arsenic pour le sol témoin sont assimilables au fond géochimique de la parcelle étudiée. L'augmentation dans les niveaux sableux montre que l'arsenic n'est pas associé aux argiles. Il semblerait qu'il soit présent naturellement dans le sol associé à des particules plus grosses.

Dans la parcelle traitée, les valeurs d'arsenic sont plus élevées, comprises entre 14 et 29 ppb. Les niveaux de sol présentant les valeurs de concentration les plus élevés sont les niveaux sableux avec 28,1 ppb pour le niveau 45 à 65 cm et 29,2 ppb pour le niveau 65 à 80 cm. Ces valeurs sont deux à trois fois plus élevées que pour les autres niveaux de sol et dépassent la valeur de VDSS. Ceci indique que le sol peut être une source de pollution pour le réseau hydrographique, dont la nappe phréatique.

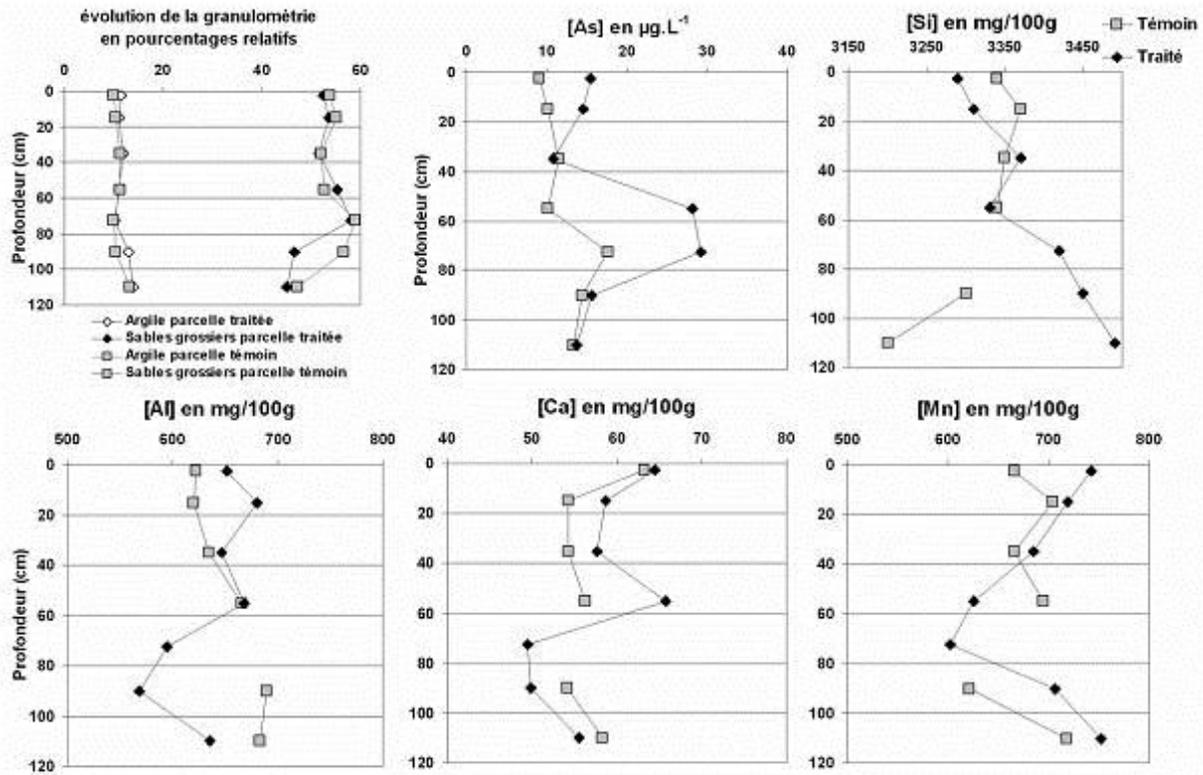


Figure 2.15. Evolution de la granulométrie et des concentrations en divers éléments avec la profondeur pour les parcelles témoin et traitée. **a)** évolution des pourcentages relatifs d'argile et de sable grossiers pour les parcelles témoin et traitée. **b), c), d), e) et f)** Evolution des concentrations en arsenic, silicium, aluminium, calcium et manganèse en fonction de la profondeur pour les parcelles témoin et traitée.

II. 2. 4. Synthèse

Ce site a été choisi pour le suivi dans le temps et dans l'espace de l'évolution des caractéristiques physiques et chimiques et de la distribution des particules fines présentes dans les dépôts atmosphériques et dans les eaux d'infiltration du sol.

Les caractéristiques essentielles du site sont les suivantes :

- une bonne connaissance de la composition minéralogique et chimique du sol,
- un site anthropisé avec des apports de phytosanitaires répétés sur plusieurs décennies,
- un site en zone péri-urbaine dont le caractère est intermédiaire entre milieu agricole et milieu urbain (petite agglomération) cumulant les nuisances anthropiques urbaines et agricoles.

III. Conclusions

Ce travail porte sur la caractérisation des PFC sur les sites de Breuil-Chenue et Wintzenheim. Les paramètres susceptibles d'influencer les types, la distribution et la dynamique des PFC sur chacun des sites sont bien caractérisés. Ainsi, l'échantillonnage des PFC atmosphériques sur les deux sites, accompagné du suivi des conditions environnementales, permet de caractériser les facteurs influençant la distribution des PFC dans le temps ainsi que les facteurs jouant sur les caractéristiques morpho-chimiques des PFC selon l'environnement de dépôt. L'influence des apports anthropiques aussi bien que le mode d'occupation des sols sont les critères les plus discriminants entre les deux environnements

Par ailleurs, le sol du site de Wintzenheim est bien caractérisé ce qui permet de mettre en évidence une dynamique particulière dans le sol. Le fait que ce site soit anthropisé et proche d'une zone urbanisée permet, par ailleurs d'étudier, en détail, le transfert de contaminants dans le sol via les PFC.

CHAPITRE III

MATERIEL & METHODE

Chapitre III

Matériel et méthode

I. L'échantillonnage des Particules fines et colloïdales (PFC)

I.1. L'intérêt des études *in situ*

Afin de prévoir, quantifier et comprendre le transport colloïdal, il est nécessaire d'identifier la nature et la quantité de PFC présentes dans le milieu étudié. Ces informations peuvent ainsi indiquer les sources des PFC ainsi que les processus responsables de la génération des particules. Une grande variété de matériaux organiques et inorganiques existent en tant que PFC dans la zone vadose, qu'il s'agisse de minéraux néoformés, de fragment de roches et minéraux plus ou moins altérés de la roche-mère, de biocolloïdes ou encore de composés macromoléculaires inertes constitutifs de la matière organique (McCarthy & McKay, 2004). Des études *in situ* ont par ailleurs montré que la fraction colloïdale est principalement composée de minéraux argileux, d'oxydes de fer ou aluminium, de silicates et de matière organique (Kretzschmar et al., 1999; Sen et al., 2002; Citeau et al., 2006). Les PFC sont de types très divers et, de fait, leurs comportements le sont aussi dans le milieu. Il apparaît donc clairement que, pour étudier les PFC dans leur environnement naturel, qu'il s'agisse du sol ou de l'atmosphère, un échantillonnage le plus neutre possible est nécessaire. Basé sur une synthèse et une critique des différents échantillonneurs existants un nouveau type de dispositif a été mis au point dans cette étude.

I.2. Échantillonneurs de particules actuels

I. 2. 1. Les échantillonneurs atmosphériques

Comme décrit dans l'article de synthèse publié par McMurry (2000) l'obtention d'échantillons représentatifs d'aérosols peut être difficile. Les facteurs influençant l'efficacité du prélèvement sont la taille des particules, la vitesse et la direction du vent aussi bien que la distance entre le capteur et le dispositif de mesure. Dans le paragraphe ci-dessous nous discutons des avantages et inconvénient des différents types d'échantillonneurs d'aérosols. Dans la mesure où ce travail traite des retombées atmosphériques d'aérosols sur la surface du sol, la discussion ne traite que d'échantillonneurs fixes.

L'un des échantillonneurs le plus communément utilisé est le type "impacteur". Le principe est d'accélérer les aérosols à travers un jet circulaire ou une fente vers un substrat d'impaction. Il a été montré qu'un tel dispositif est efficace pour fournir des échantillons de tailles connues (Rader & Marple, 1985), mais le biais principal est le rebond possible des particules sur le substrat d'impact (références dans McMurry, 2000).

Le dispositif dit "impacteur virtuel" a été créé afin d'éviter le phénomène de rebond. Dans de tels échantillonneurs le substrat d'impact est remplacé par un tube de réception séparant des particules sur la base de leur énergie d'écoulement.

Un troisième type d'échantillonneur est le type "cyclone". Il consiste, comme l'impacteur, à accélérer les particules mais de manière tangentielle, les particules humides collant aux parois et les particules sèches allant au fond.

Enfin un quatrième échantillonneur classique est de type "filtres de nuclepore". Après accélération, les particules sont filtrées, mais l'efficacité de tels filtres n'est pas établie (McMurry, 2000).

Considérant les objectifs recherchés dans ce travail, il semble que tous ces dispositifs présentent un problème majeur du fait de l'accélération des particules qui peut produire deux artefacts : (i) le piégeage de particules en suspension dans l'air qui ne sont pas susceptibles en conditions naturelles de tomber sur le sol et (ii) une modification de l'aspect physique des particules pendant l'échantillonnage.

I. 2. 2. Les échantillonneurs des particules des solutions du sol

Afin de prélever les particules des solutions de sol la méthode habituelle consiste à échantillonner la solution de sol. Les solutions sont alors centrifugées ou filtrées dans le laboratoire pour séparer les fractions vraiment dissoutes et les fractions particulaire-colloïdales des échantillons. Les solutions de sol peuvent être recueillies par des méthodes très différentes. Certaines sont non-destructives comportant l'installation d'un lysimètre qui prélève la solution *in situ*, d'autres sont destructives impliquant le prélèvement de terres et l'extraction ultérieure de la solution de sol au laboratoire (Davis & Davis, 1963; Giesler et al., 1996). Les paragraphes suivants ne portent que sur les dispositifs *in situ* de prélèvement et permettent de discuter des avantages et inconvénients de toutes les méthodes.

I.2.2.1. Les lysimètres sans tension

Le lysimètre sans tension est le premier dispositif qui ait été utilisé pour recueillir des solutions de sol (DeLaHire, 1703; cité dans Cole et al., 1961) et il est toujours utilisé aujourd'hui. Ce dispositif recueille seulement l'eau gravitaire car aucune succion n'est appliquée au système. L'avantage de ce type d'échantillonneur est qu'il recueille l'eau de drainage et peut être employé pour estimer les flux élémentaires (Rasmussen et al., 1988; Sogn et al., 1993; Ranger et al., 2001). Basés sur le principe des premiers dispositifs, différents types de dispositifs ont été développés progressivement tels que les plaques lysimétriques, les gouttières lysimétriques et les lysimètres à mèches.

Le dispositif de plaques lysimétriques est employé depuis presque un siècle (Joffe, 1932; cité dans Giesler et al., 1996). Un tel dispositif consiste à introduire une plaque d'environ 1 m² dans le sol suivant une légère pente, ce qui exige de creuser de larges et profondes fosses. Les plaques employées ont une superficie d'un ou plusieurs mètres carrés et contiennent un tuyau ou un drain acheminant l'eau recueillie vers des bidons généralement d'une contenance de 100 L, placés dans une excavation adjacente. Pour l'analyse au laboratoire, une partie de l'eau échantillonnée est recueillie suivant les besoins de l'étude, puis les bidons sont vidés et lavés directement sur le site de prélèvement. L'introduction dans les sols de tels dispositifs métriques n'a jamais été officiellement critiquée. Cependant, l'implantation des plaques

lysimétriques est connue pour perturber profondément et pendant longtemps les écoulements de l'eau d'infiltration et le processus de pénétration des racines.

Les gouttières lysimétriques sont apparues il y a quelques années afin de simplifier l'installation des dispositifs utilisés dans les agrosystèmes contaminés (Boerner, 1982; Haines et al., 1982). Le dispositif consiste à introduire dans le sol des demi-tubes de PVC à différentes profondeurs à partir d'une grande fosse. Cette fosse est maintenue ouverte afin d'y installer des bidons d'environ 1L liés aux gouttières par des tuyaux et recevant la solution de sol échantillonnée par le dispositif. Quand c'est nécessaire les bidons sont collectés et remplacés par des nouveaux. Il semble que cette innovation est moins perturbante pour l'environnement que les plaques lysimétriques car diminuant la surface introduite.

Les lysimètres à mèches ont été présentés pour la première fois par Brown et al. en 1986 (Brown et al., 1986). Leur conception est semblable à celle des plaques lysimétriques mais de dimensions plus réduites (la surface est d'environ 500 cm²). La différence principale consiste en l'introduction d'un tapis des mèches de silice entre la plaque et le sol. Ce tapis agit comme un milieu poreux. La porosité du sol étant moins importante que celle du tapis de mèches, une forte surface de drainage se crée. Un tel système lysimétrique recueille à la fois les eaux percolantes et l'eau de la macroporosité (Landon et al., 1999). La manière de mettre en place le dispositif et de recueillir les échantillons d'eau est sensiblement identique à celle employée pour les plaques et gouttière lysimétriques à savoir qu'elle nécessite le creusement d'une fosse. Il a été montré que ce dispositif donne une évaluation fiable de l'eau et du flux élémentaire (Boll et al., 1992; Louie et al., 2000; Zhu et al., 2002). Plus récemment, Czigany et al. (2005) ont examiné l'efficacité des lysimètres à fibres de verre dans le prélèvement des colloïdes de l'eau interstitielle en zone vadose. Ils ont observé que, dans un certain nombre de conditions différentes, les colloïdes étudiés ont été sensiblement retenus à l'intérieur des mèches, et ont conclu que l'utilisation des mèches pour le prélèvement colloïdal dans la zone vadose devait être considérée avec prudence.

Depuis leur mise en œuvre, la validité des informations recueillies à l'aide de lysimètres sans-tension a souvent été sujet à discussion et remise en cause. Il est aujourd'hui généralement reconnu que les conditions nécessaires à leur utilisation ne sont pas entièrement naturelles : l'anomalie la plus significative étant associée à la création d'une interface sol-air au fond du lysimètre créant des conditions hydrodynamiques anormales (Richards et al., 1938; Colman, 1946; cité dans Cole et al., 1961; Giesler et al., 1996).

I.2.2.2. Les lysimètres sous tension

Les lysimètres sous tension ont été mis au point de manière à éviter la création d'états hydriques anormaux. Le principe est d'aspirer la solution de sol dans le lysimètre, en utilisant un dispositif de vide et des raccordements par tubes capillaires. Suivant cette même tension la solution est ensuite acheminée dans des bidons collecteurs situés sous la surface au sol. Principalement deux dispositifs sont utilisés de cette façon : les plaques lysimétriques sous tension et les bougies poreuses.

Le dispositif de plaques lysimétriques sous tension a été développé dans les années 1960 (Cole, 1958; cité dans Wagner, 1962) afin de réduire au maximum le problème d'interface sol-air générée dans les dispositifs de plaques lysimétriques sans tension. La conception des deux systèmes est identique. Cependant, une tension négative, équivalente à un phénomène d'aspiration est appliquée aux plaques sous tension. De ce fait la force capillaire du sol est opposée par la tension négative. Ceci provoque un drainage permanent de l'eau indépendamment du taux d'humidité du sol (Cole et al., 1961).

La première description des bougies poreuses apparaît dès 1940 (Wallihan, 1940). Le but est de modifier le principe de lysimètre en utilisant un tensiomètre afin d'aspirer l'eau du sol sous une tension équivalente à celle d'une colonne continue de sol. L'appareil développé dans les années 1960 par Wagner (Wagner, 1962) est alors censé éliminer les conditions hydriques anormales se développant lors de l'utilisation de lysimètres sans tension.

En résumé, l'objectif de ce travail étant d'étudier et d'analyser les caractéristiques physico-chimiques de la fraction particulaire circulant dans l'eau d'infiltration du sol, les dispositifs de prélèvement existants ne sont pas parfaitement adaptés. En effet, même si les lysimètres sans tension recueillent la vraie eau libre du sol, les conditions de prélèvement induisent trois biais majeurs :

- (i) le risque vieillissement et de contamination de la solution à l'intérieur des bidons de collecte avant l'analyse (Chen & Buffle, 1996a);
- (ii) la mise en place des systèmes d'échantillonnage perturbe la structure de sol, libérant les particules fines et créant une macroporosité préférentielle (Keeney, 1986; Zhu et al., 2002);
- (iii) la création d'une interface eau-air introduit des conditions anormales d'écoulement dans le sol (Kohnke et al., 1940; cité dans Wagner, 1962).

En ce qui concerne les lysimètres sous tension, même si ces dispositifs évitent la création d'états hydriques anormaux liés à l'interface air-eau en profondeur, il s'avère que la tension de

succion appliquée au système modifie clairement les propriétés physiques et chimiques de la fraction particulaire (Domange et al., 2004).

Il nous a donc semblé pertinent de développer un nouveau mode de prélèvement permettant de perturber le moins possible la fraction particulaire, tout en évitant le vieillissement de la solution et sans entraîner une libération importante de particules lors de la mise en place et le développement d'une macroporosité préférentielle.

II. New technique for *in situ* sampling of particulate matter and colloids in soil and atmospheric fallout¹

II.1. Abstract

This note describes a new technique for *in situ* sampling of fine particulate matter (PM) including colloids in natural environments. The technique is based on a microlysimeter which is easy to move between field and laboratory and can be routinely used for *in situ* monitoring. The design of the device aims at limiting bias and artefacts encountered with current sampling methods based on successive field collection of liquid samples, transport, storage and filtration in the laboratory. Samples are directly collected on transmission electron microscopy (TEM) grids thus totally eliminating the modifications classically due to handling of samples from collection to analysis. Detailed physical and chemical microscopic studies of individual particles can then be performed in order to fully characterize PM in natural media such as soil solutions, atmospheric fallout, rainfall and any aquatic system. This technique can be applied in a number of research fields, such as the characterization and determination of pollution vectors, the tracing of sources of emissions, or investigations on particle interactions.

Keywords: TEM, *in situ* monitoring, lysimeter, vadose zone, infiltration water.

¹ Le paragraphe II de ce chapitre est soumis dans cette forme à Colloids and Surface A: Physicochemical and Engineering Aspects.

I1.2. Introduction

Particulate matter (PM) including colloids has been of first interest since half a century and in the last twenty years research on the role of PM in pollutant transfer has gained increasing attention in soil and groundwater studies (McDowell-Boyer et al., 1986; McCarthy & Zachara, 1989; Crossan et al., 2002; McGechan & Lewis, 2002; Citeau et al., 2006). It was shown that both the abundance of PM and the nature of contaminants have a strong influence on pollution transfer and transport in porous media (Roy & Dzombak, 1997; McCarthy & McKay, 2004). In 1986, McDowell-Boyer et al. (McDowell-Boyer et al., 1986) deplored the fact that most studies on natural systems had been carried out without paying attention to particulate components and advocated looking into the fundamental phenomena and mechanisms involved. Some of the processes controlling PM transfer were individually and independently explored, but a great majority of the studies performed during the last two decades did not involve natural systems. Indeed, as natural systems are chemically and physically heterogeneous, it is impossible to investigate the whole range of matter and processes involved. This complexity explains why it remains very difficult to study PM in their natural environment. Chen and Buffle (1996a) have pointed out the importance of the physical and chemical characterization of colloids and the challenge in sampling without drastically altering the nature and properties of colloidal material. Sampling of PM by filtration of previously pumped groundwater can introduce artefacts due to high pumping rates or alteration in chemical and physical properties (Puls & Powell, 1992). Other protocols using plate lysimeters are also problematic, mainly because of potential contamination from vessels, or coagulation and microbial changes during storage (Chen & Buffle, 1996a).

Based on the recent review paper of McCarthy and McKay (2004) it appears that the sampling of colloids/PM in the vadose zone as well as in saturated groundwater is a key challenge that needs to be addressed. Moreover, knowing and characterizing the atmospheric input on soil is of prime interest in PM studies (Posfai et al., 2003b; Utsunomiya et al., 2004; Ndzangou et al., 2006). It is therefore important to develop techniques that enable the characterization of PM present in gravitational water in a state as close as possible to natural conditions.

We propose here a new sampling method minimizing disturbances to the nature and organisation of the PM fraction in order to better investigate the characteristics and/or evolution of such material by analytical Transmission Electron Microscopy (TEM).

II. 3. Sampling device

II.3.1. Basic principle of the device

The basic principle of the field device consists in real time filtration of percolating water by microlysimetry. The microlysimeter consists in a 2 stages filtration box filled with inert sand and placed in contact with soil at the desired sampling depth. The particle collector consists in TEM grids inserted in the sand bed and intercepting the PM by simple gravitational deposition.

The vertical flow of infiltrating water is isolated from lateral flow by confining the soil column in a PVC tube. A stopper fit to the bottom of the tube and drilled with holes allows the drainage of the soil solution. The microlysimeter can be replaced regularly for periodic monitoring. An adapted handling device allows lifting and dropping the tube with no further perturbation of the soil column confined inside the tube.

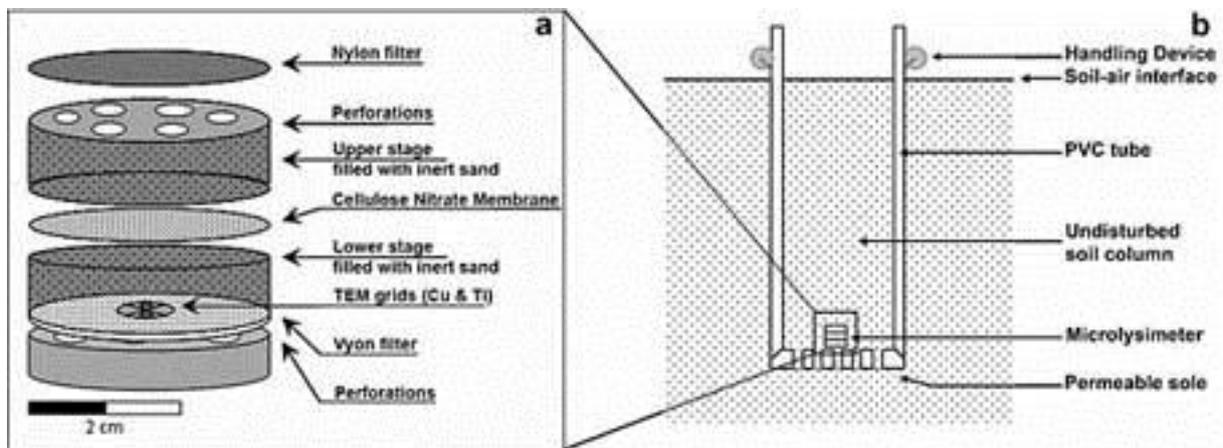


Figure 3.1. a) description of the microlysimeter. b) Cross section of the field installation for sampling soil infiltration water PM.

II.3.2. Microlysimeter

The essential part of the device is the microlysimeter (figure 3.1.a). The support is a two stage Millipore© filtration cell for fluid analyses with a 4.5 cm internal diameter. In order to facilitate the inflow of water the cover and the bottom of the box are drilled with holes. At the lower stage of the box a strong Vyon-type filter is placed under a plastic basket containing carbon coated Cu and Ti TEM grids. Grids are embedded in pure inert silica sand. A Cellulose Nitrate Membrane is mounted over the sand bed and clamped between the two stages of the filtration cell. The membrane is covered with sand so as to fill completely the upper stage of the cell topped with a nylon filter. This assembly is functioning as a lysimeter. The soil solution collected at the upper stage of the cell is filtrated (i.e. at 5 µm), which allows the collection on the underlying grids of all the size fractions of PM from nanoparticles to the size of the porosity of the chosen filter. We recommend a rather large porosity of the cellulose filter to keep the filter free of clogging and avoid the bias due to the interaction of PM with the pore edges that may occur with too small pore diameters.

II.3.3. Field device

The field device (figure 3.1.b) comprises a PVC tube driven vertically in the soil. The PVC tube has an internal diameter of 12.7 cm and its height is adapted to the soil depth selected for a given study. The device may be used either to study a complete soil column, or various depths selected according to specific study criteria such as differentiated soil horizons, modifications in porosity, or biological zonings. It is recommended to let the field device settle for a period to allow the sealing of cracks generated during the introduction of the tube in the soil. After the settling period the tube is pulled out, the sole removed, the particle collector is placed at the bottom of the soil column and the tube dropped back in place. To remove the particle collector and replace it with another one for monitoring purposes, the protocol is exactly the same.

In addition to the set of PVC tubes, a 500ml filtration box is used at the surface of the soil, based on the same filtration principle than the particle collector device fitted to the soil columns. The filtration box is designed to filter rainwater and collect the atmospheric inputs.

According to the sampling intervals, the particle collector is recovered and dismantled in the laboratory under a glove box to avoid dust and bacterial contamination. Grids are washed with purified and sterilized water to eliminate excess soil solution and avoid precipitation of dissolved matter. Then the grids are air dried prior to analysis under the microscope.

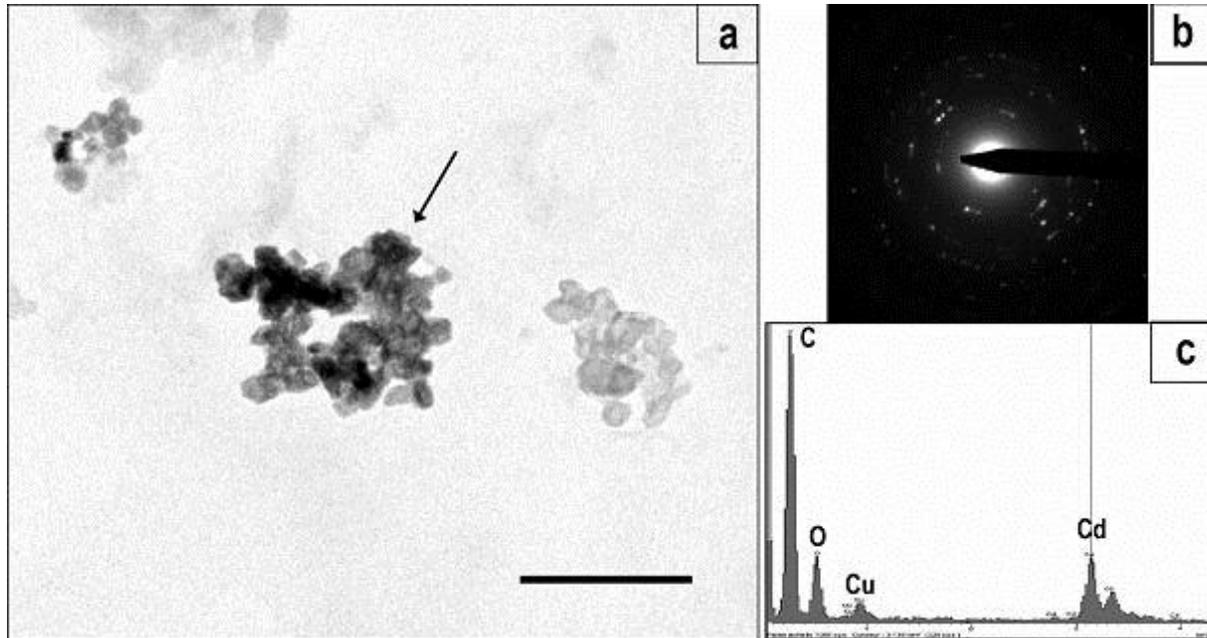


Figure 3.2. *a)* TEM micrograph of a cadmium-rich PM present in water infiltration of a tilled soil. Scale bar : 0.2 μm.. *b)* Microdiffraction pattern of particle shown on Fig 3a. *c)* Energy dispersive X-ray analysis of the particle shown on Figure 3.2a. C peak is due to the carbon coating of the grid and to the presence of organic matter. Cu peak is due to the grid.

II.4. Discussion

As the device placed directly inside the soil is of very small size (a few centimetres), its effect is equivalent to that of a small pebble, and as the TEM grid is 3mm in diameter its effect is equivalent to that of a large sand grain. This does not significantly modify the hydrologic properties, the pH, or the temperature near the device. The grid can be considered as similar to an inert soil component or pore wall on which PM are collected by simple deposition. The TEM grids loaded with PM allow: (i) performing all TEM techniques such as EDX analyses, HRTEM observations, TEM diffractometry, providing chemical information and physical

characterisation, as well as image analysis for size distribution or shape studies (figure 3.2); (ii) performing additional microscopic observations such as SEM or ESEM investigations on grids or even on filters; (iii) storing them in a dry state for several months without altering the particles characteristics.

The examination of sampling grids with TEM shows the presence of different types of colloids and PM. Samples from soil solutions and atmospheric fallout are representative of both mineral and biological components that are known to exist as PM in natural environments (McCarthy & McKay, 2004; Ndzangou et al., 2006). Moreover, it appears clearly that naturally occurring aggregates remain undisturbed by applying this technique (figure 3.3).

To conclude, it appears that the design of this field device is a great step forward in the *in situ* monitoring of PM from atmospheric input to soil solution. The sampling intervals are easy to adjust to the investigated subject, the device can be used indifferently for a short event (rain, storm), for a period of a week, or for a month or a season. However the tests performed with our device have shown that for soil nanoparticles a period of more than 2 to 3 months is not recommended because of problems such as of the clogging of the filter as well as the overpopulation of PM on the grids.

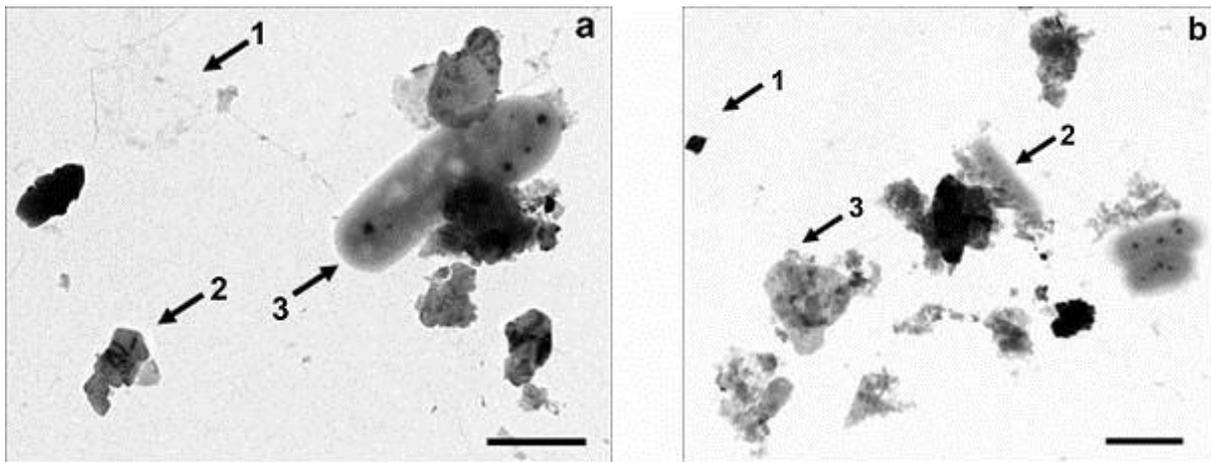


Figure 3.3. *a)* TEM micrograph of atmospheric deposits. 1: organic matter; 2: individual clay particle; 3: bacteria associated with clays. *b)* TEM micrograph of soil infiltrating water PM. 1: metal oxide; 2: bacteria associated with minerals; 3: weathered clay. Scale bars: 1 μm .

III. Acquisition d'images et analyses

III. 1. Equipement analytique

Les échantillons ont été analysés à l'aide d'un microscope électronique à transmission (MET) Philips STEM 420 équipé d'une caméra CCD SiS Megaview II permettant l'acquisition d'images numériques en temps réel, et d'un système de spectroscopie des rayons X en dispersion d'énergie (EDX) Oxford INCA permettant une analyse chimique semi-quantitative des objets étudiés. Ce MET est situé au service de microscopie et microanalyse de l'unité PESSAC de l'INRA de Versailles. Le microscope a été utilisé avec une tension de 120 kV en mode transmission en utilisant une ouverture de diamètre objectif de 50 μm . Les images ont été prises avec un temps de pose de 1 seconde et en corrigeant la brillance du faisceau incident pour optimiser la gamme d'intensité dans l'histogramme de l'image détectée par la caméra. Les analyses EDX ont été acquises en mode transmission à la même tension d'accélération avec l'échantillon en position strictement eucentrique et la platine échantillon formant un angle de $+20^\circ$ avec le détecteur. Les signaux de fluorescence X ont été enregistrés dans une gamme d'énergie entre 0 et 20 keV. Le détecteur est de type Si/Li avec une fenêtre mince atmosphérique (ATW) permettant la détection d'éléments légers à partir de $Z=6$ (carbone).

III. 2 Méthode analytique

Pour chacun des échantillons recueillis, c'est-à-dire pour chacune des grilles MET extraites des capteurs *in situ* le même protocole analytique a été suivi. Ce protocole est décrit ci-dessous :

1. Dans un premier temps l'état général de la grille est étudié en acquérant une image à un grossissement de 40 à 120 fois (figure 3.4.a).

2. En se basant sur l'image générale de la grille ainsi acquise, 3 carreaux sont choisis de manière totalement aléatoire (figure 3.4.a). De cette manière l'œil du manipulateur n'influence pas la représentativité des résultats obtenus.

3. Chacun des carreaux est ensuite sujet à une série d'images dans le but d'étudier et analyser l'intégralité de la surface du carreau à une échelle choisie. Deux grossissements ont été utilisés selon les échantillons, certains ont été étudiés à un grossissement de 11500 correspondant à un champ de $6,88 \times 5,16 \mu\text{m}$ ($35,50 \mu\text{m}^2$) pour chacune des images, les autres échantillons ont été étudiés à un grossissement de 13500 soit un champ de $6,40 \times 5,12 \mu\text{m}$ ($32,77 \mu\text{m}^2$). Deux grossissements ont été utilisés car deux microscopes de type similaire ont été utilisés, leurs gammes de grandissement étant différents. Ces microscopes se situent, l'un à l'Institut Charles Sadron (ICS) de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg et l'autre microscope est localisé au Laboratoire de Microscopie Electronique Analytique du centre INRA de Versailles. Par ailleurs des images de détails de certaines grilles ont été réalisées à des grossissements plus importants jusqu'à 110000 fois soit un champ d'image de $0,88 \times 0,66 \mu\text{m}$ ($0,58 \mu\text{m}^2$). Approximativement 25 à 30 images ont été prises sur chacun des carreaux afin de couvrir le maximum de surface (figure 3.4.b).

4. Des analyses en EDX ont été réalisées sur des particules choisies donnant environ 30 analyses par carreau.

5. Chacune des images (figure 3.5.a) a ensuite été traitée (figure 3.5.b) puis analysée à l'aide du logiciel ImageJ développé par le National Institute of Health (Rasband, 1997-2006) . Parmi d'autres paramètres, ce programme mesure et calcule le périmètre, la surface, le diamètre de feret de particules individualisées. Les paramètres appliqués pour l'analyse d'image permettent d'étudier des objets couvrant entre 9 et 700 000 pixels pour une résolution des images de 1376×1032 pixels. Ces limites permettent de considérer des particules de tailles comprises entre 20 nm et $5 \mu\text{m}$. Par ailleurs ImageJ fournit une image traçant les contours de chaque particule individualisée (figure 3.5.c).

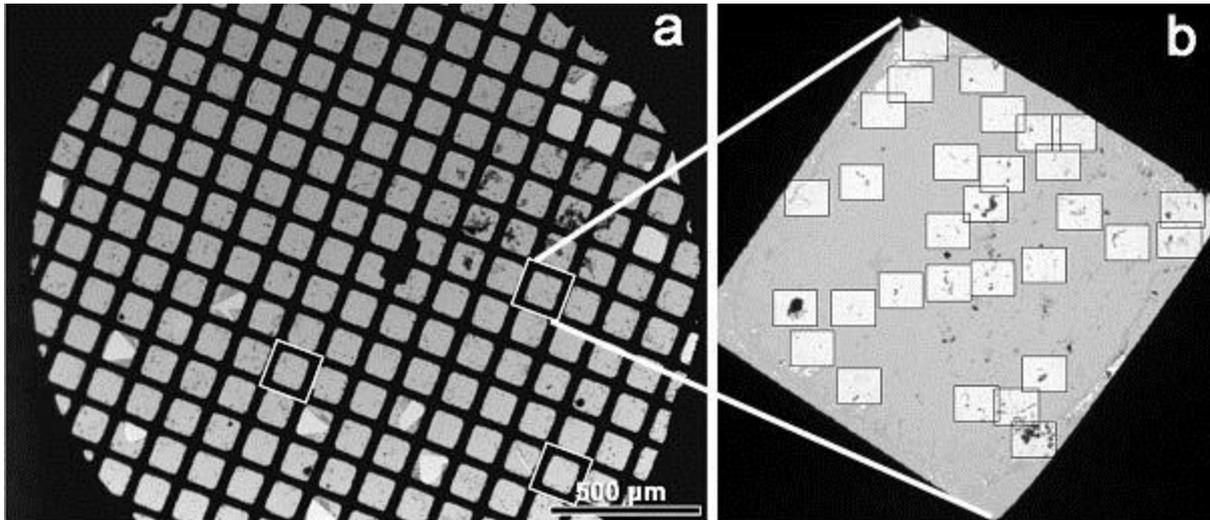


Figure 3.4. a) Image d'une grille-échantillon à un grossissement $\times 40$. Les carreaux avec un contour blanc correspondent aux carreaux aléatoirement choisis pour être étudiés b) Image d'un des carreaux mis en évidence en 3.4.a au grossissement $\times 710$, les rectangles blancs représentent les images prises pour l'étude.

L'association entre composition chimique, caractéristiques morphologiques et teintes de gris des particules permet de réaliser une typologie fine de toutes les PFC présentes sur les grilles. Un code couleur a été attribué à chacun des types de particules caractérisées permettant de réaliser une carte typologique des échantillons (figure 3.5.d).

L'ensemble des traitements (détaillés ci-dessous § III.3.) a pour but de donner des résultats analytiques à la fois de manière individuelle pour chacune des PFC mais également de manière globale sur l'ensemble de l'échantillon afin de mettre en évidence des caractéristiques générales issues de traitements statistiques. La méthode mise en œuvre permet :

- 1) une typologie des PFC,
- 2) la caractérisation morphologiques des PFC,
- 3) la caractérisation chimiques des PFC,
- 4) l'étude de la distribution des PFC pour chaque échantillon.

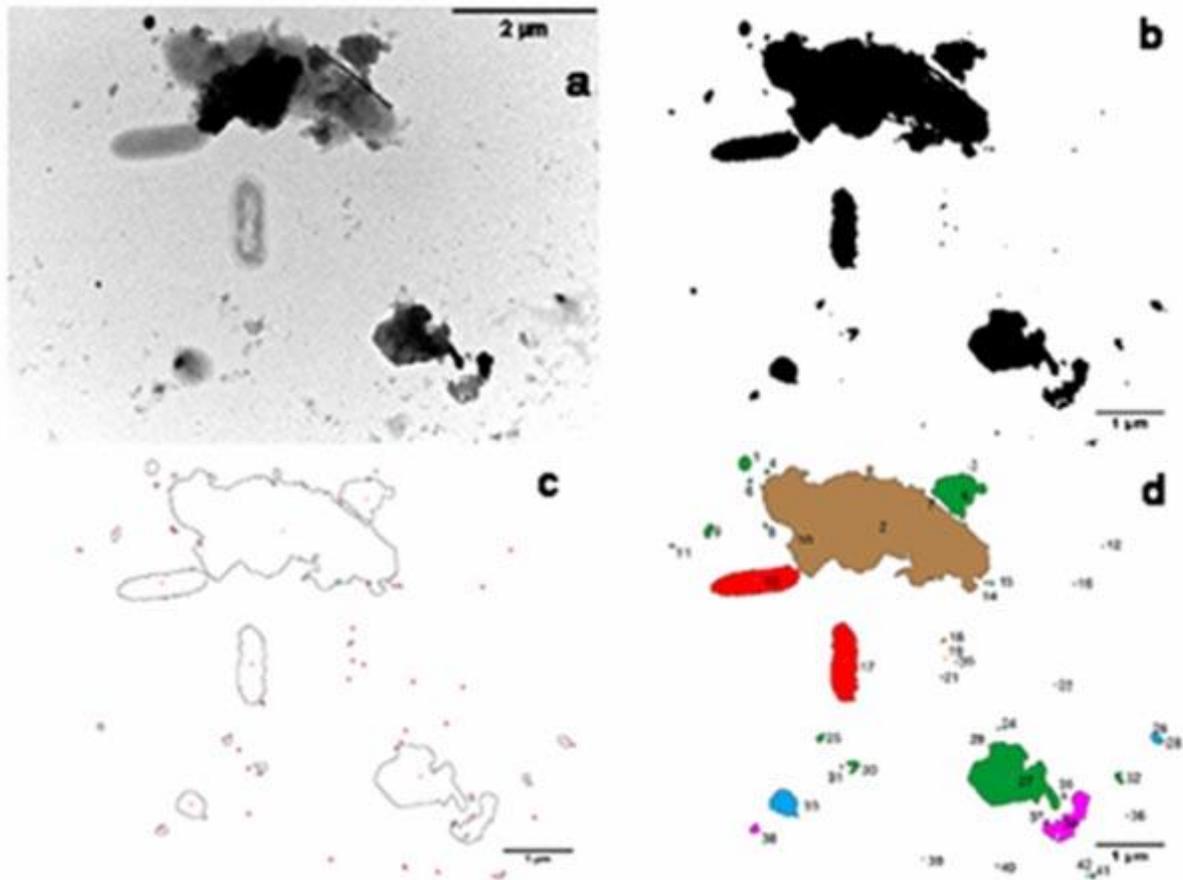


Figure 3.5. *Étapes du traitement et de l'analyse des images à l'aide du logiciel ImageJ, exemple d'une image. a) Image brute acquise en MET sans traitement. b) Image traitée par seuillage, érosion-dilatation et analysée représentant le « masque » vu par le logiciel. c) Représentation par le logiciel des contours de particules, et attribution automatique de numéros à chaque individu. d) caractérisation typologique et cartographie en code-couleur de l'image après traitement et analyse.*

IV. Traitement des images et des résultats analytiques

IV.1. Traitement des images

Après acquisition chacune des images est traitée afin d'être analysée via ImageJ. L'ensemble du processus de traitement est réalisé de manière non automatique.

Dans un premier temps, l'image est seuillée afin d'augmenter son contraste (figure 3.6.a). Cette étape a été réalisée en utilisant le logiciel Photoshop CS. Ce procédé est nécessaire car

le logiciel ImageJ ne peut mesurer les caractéristiques des particules que sur des images binarisées et ne permet pas une correction des contrastes aussi bonne que le logiciel Photoshop.

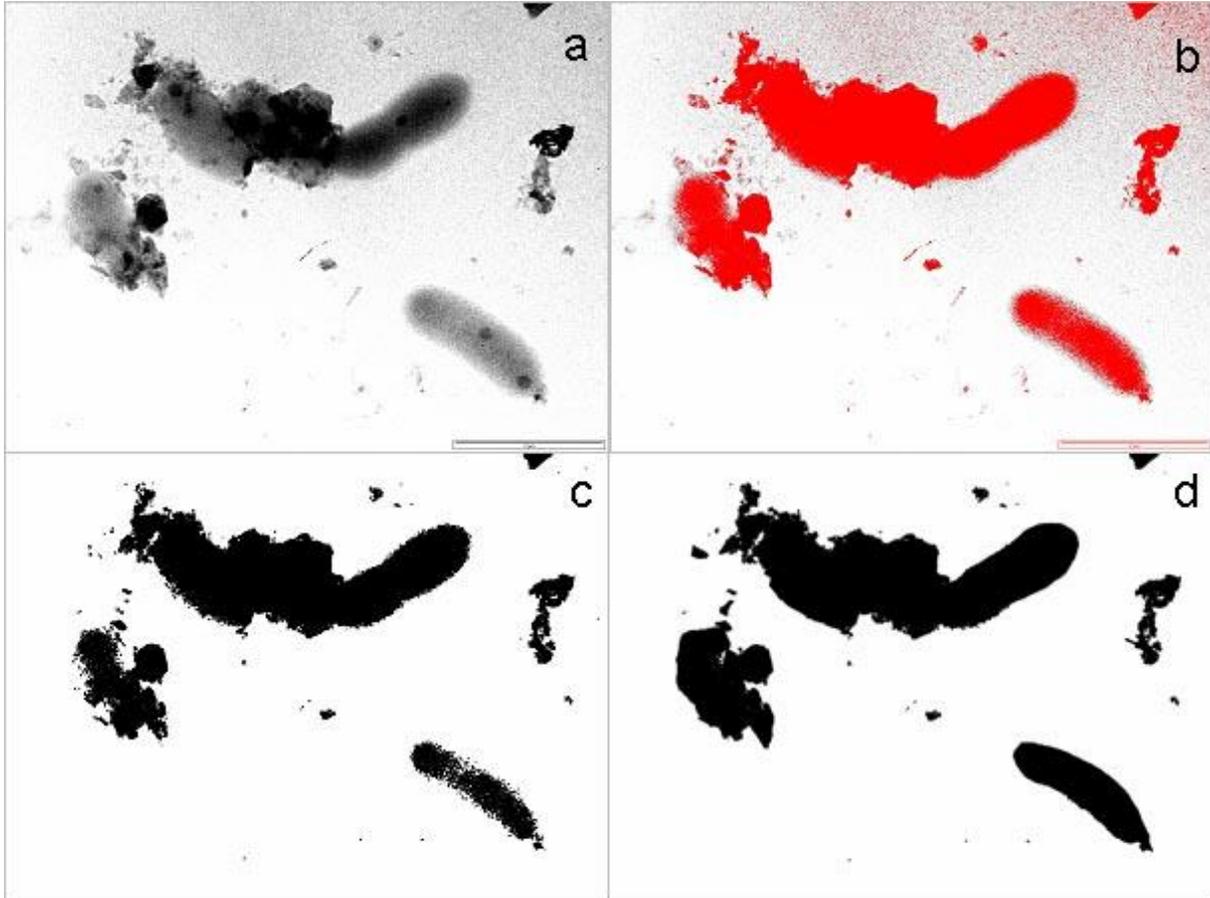


Figure 3.6. Etapes du traitement des images par le logiciel ImageJ. a) Image en MET après modification des contrastes sous Photoshop. b) Image traitée par binarisation sous ImageJ. c) Image après élimination du bruit par érosion-dilatation. d) Image retraitée manuellement avant analyse par ImageJ afin de la rendre le plus proche possible de l'image de la figure 3.6.a.

Dans un deuxième temps l'image est ouverte sous ImageJ et les caractéristiques d'échelle sont données afin que le logiciel puisse faire le lien entre la résolution en pixel de l'image et la taille réelle d'un pixel en micromètres.

La troisième étape consiste à binariser l'image, c'est-à-dire à transformer une image en niveaux de gris en une image en noir et blanc. En effet, le logiciel ImageJ, afin de mesurer les caractéristiques de particules, considère, pour une image en MET, que les particules sont les objets noirs et que le support de grille est en blanc (figure 3.6.b).

L'image binaire obtenue est alors plus ou moins bruitée (figure 3.6.b). Afin d'homogénéiser les contours de particules et d'éliminer le maximum de bruit un filtre de type "érosion-dilatation" est appliqué sur l'image. Ce type de filtre permet d'éliminer les pixels isolés par érosion puis de reconstruire la surface des particules ayant été érodées d'une rangée de pixels (figure 3.6.c). Cependant, selon le contraste de départ des images, et du fait de la présence de poussières sur la caméra, il est souvent nécessaire d'éliminer le bruit manuellement en supprimant les pixels non attribuables à des particules sur les images (figure 3.6.d).

Enfin, un traitement individuel de chacune des images est réalisé de manière à rendre l'image à traiter la plus proche possible de l'image acquise lors de l'observation des échantillons. Ainsi, il peut être nécessaire d'effacer quelques pixels de manière à séparer deux particules ou de rajouter des pixels de manière à homogénéiser une particule peu contrastée au départ comme le montre par exemple la figure 3.7.

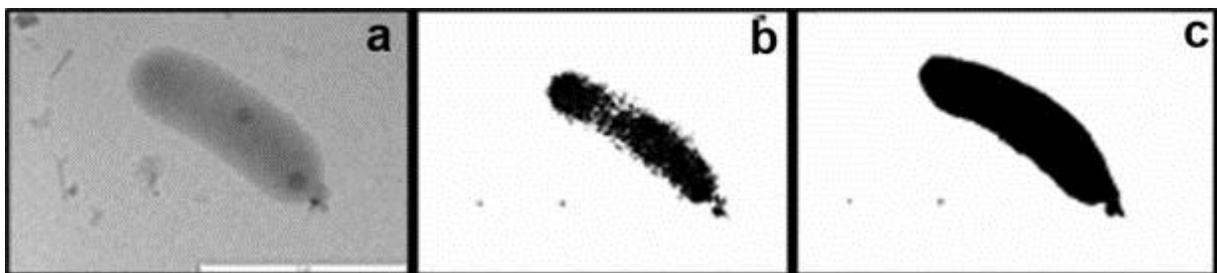


Figure 3.7. traitement de l'image d'une bactérie afin de la rendre le plus proche possible de la réalité. a) Image en MET de la bactérie. b) Image traitée par binarisation puis érosion-dilatation sous ImageJ. c) Image retraitée manuellement par un ajout de pixels.

IV.2. Caractérisation morphologique des PFC

Le logiciel ImageJ permet d'obtenir un grand nombre d'informations morphologiques sur les particules présentes sur une grille-échantillon. Les informations utilisées dans ce travail sont l'aire de la particule et son diamètre de Feret. L'aire de la particule permet de calculer un diamètre théorique appelé diamètre apparent. Ce diamètre est l'expression du diamètre d'une particule sphérique ayant une aire équivalente à l'aire mesurée de la particule. De ce fait si la particule est de forme circulaire, le diamètre apparent est égal au diamètre réel de la particule ; si la particule est de forme elliptique ou si elle est découpée, le diamètre apparent est alors une

mesure référence de sa taille. Le diamètre de Feret est le plus grand diamètre de l'ellipse contenant la particule. Si la particule est de forme circulaire, diamètre de Feret et diamètre réel sont égaux, si elle est de forme elliptique, le diamètre de Feret est supérieur au diamètre réel, et si la forme est très découpée, son diamètre de Feret est très supérieur à son diamètre réel. La figure 3.8 montre un exemple pour chacun des cas précités.

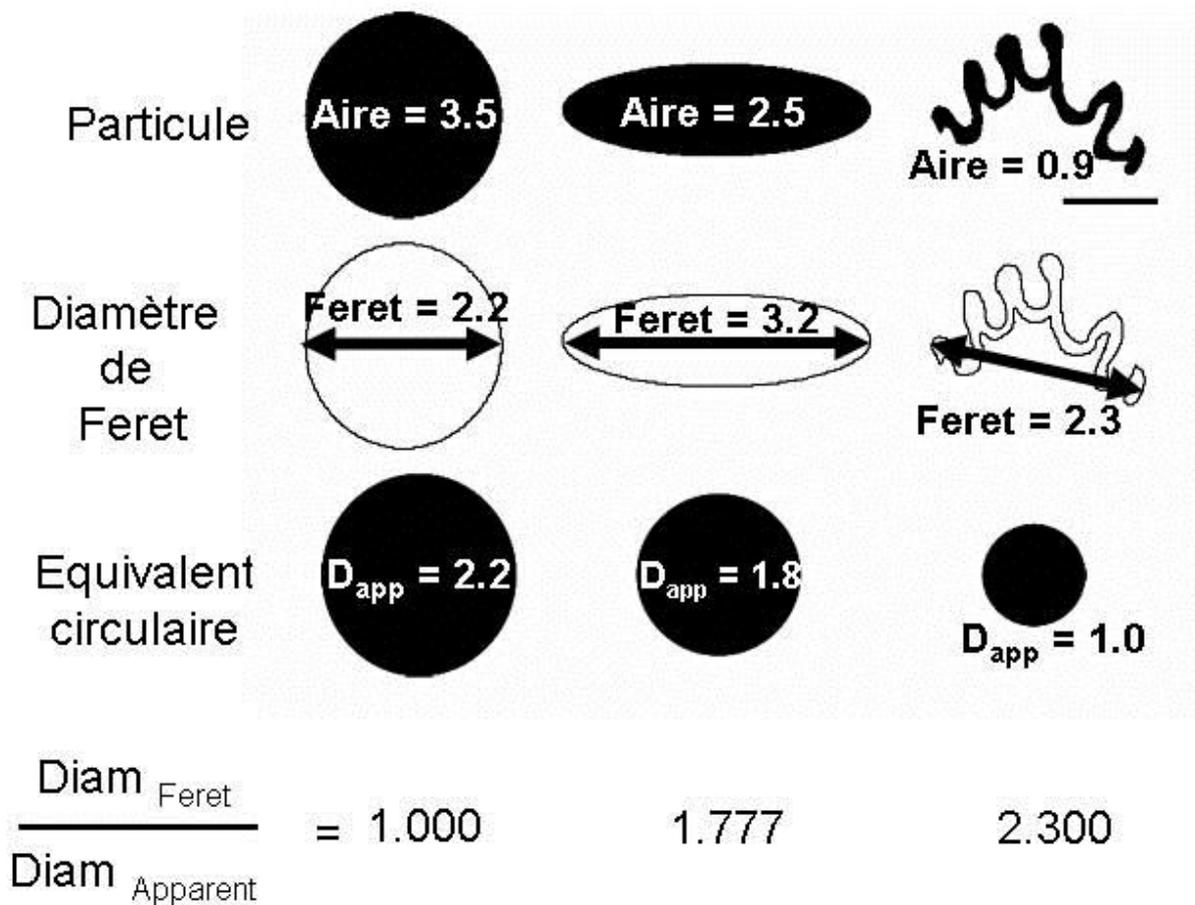


Figure 3.8. Illustration des différences morphologiques pour trois particules modèles par l'intermédiaire des valeurs d'aire, de diamètre de Feret et de diamètre apparent.

L'aire des particules et leurs diamètres apparents permettent d'obtenir des informations sur la distribution de taille des particules, tandis que le rapport du diamètre de Feret sur le diamètre apparent permet d'obtenir un critère de forme de ces particules. Les différentes particules sont donc ainsi morphologiquement caractérisées. La figure 3.9 montre un exemple de distribution de taille de particules (figure 3.9.a) ainsi qu'une représentation du facteur de forme pour ces mêmes particules (figure 3.9.b). Cette figure est issue du chapitre IV, pour une description plus précise des informations qu'elle contient, il convient de se référer à ce chapitre.

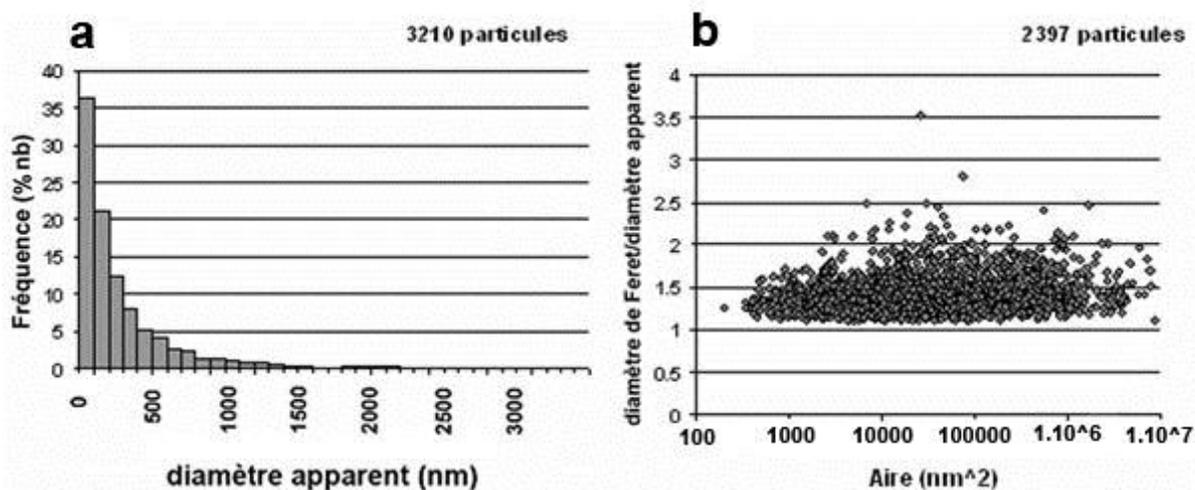


Figure 3.9. Exemples de distribution de taille et facteur de forme de particules échantillonnées dans ce travail. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (3210 particules représentées). **b)** Représentation du facteur de forme (2397 particules) en fonction de l'aire. L'aire (en nm^2) est représentée en échelle logarithmique.

IV.3. Caractérisation morpho-chimique des PFC

L'analyseur en EDX, couplé au MET, permet d'obtenir la composition chimique individuelle des particules présentes sur les grilles. Comme souligné précédemment (§ III.2), une trentaine d'analyses par carreau de grille étudiée ont été effectuées. Le nombre de particules étudiées morphologiquement est très élevé et il est impossible de réaliser des analyses individuelles sur chacune des PFC déposées sur les grilles. Ainsi, seules certaines particules représentatives ont été sélectionnées pour être analysées. En reliant les caractéristiques morphologiques, l'aspect, le contraste en niveaux de gris des particules avec les analyses chimiques réalisées sur ces individus, une généralisation est alors possible.

Par exemple, si trois particules d'un même échantillon sont très similaires morphologiquement, répondent de la même façon aux électrons, et présentent des analyses en EDX très similaires, les caractéristiques chimiques de toutes les particules de ce type sont supposées similaires. Il s'est avéré, au cours des manipulations qu'une trentaine d'analyses sont suffisantes pour caractériser les particules chimiquement.

IV.4. Typologie

Le couplage entre les caractéristiques physiques et les caractéristiques chimiques des particules permet de mettre au point une typologie fine des PFC présentes tout au long de la campagne d'échantillonnage. Cette typologie, physico-chimique permet de mettre en évidence :

- les différences entre PFC organiques et minérales,
- la réactivité de chacun des types de PFC vis-à-vis des métaux,
- les évolutions chimiques des PFC,
- les évolutions morphologiques des PFC,
- les relations entre les PFC et leur environnement,
- les évolutions de la distribution des PFC dans le temps et dans l'espace.

V. Discussion

V.1. Les inconvénients de la méthode

V.1.1. La mise en place du dispositif

Un des inconvénients potentiel de la méthode adoptée dans ce travail concerne la mise en place du dispositif microlysimétrique. En effet, afin de pouvoir réaliser un suivi des PFC circulant dans la zone vadose, le dispositif est implanté à la base de tubes en PVC amovibles. La problématique se posant ici est celle de l'impact du mode d'implantation de ces tubes dans le sol. Les tubes sont biseautés à leur base et implantés manuellement dans le sol, ils sont très généralement simplement implantés par poussée homogène à partir de la surface. Ce type d'implantation est typique de l'implantation de systèmes lysimétriques ainsi que de tous les

prélèvements de colonnes de sols « non remaniées » réalisés dans le cadre d'études hydrodynamiques en laboratoire. Il a été montré que l'implantation de tels systèmes modifie nécessairement les écoulements dans le lysimètre et tout particulièrement à l'interface entre le tube et le sol (Corwin, 2000) du fait de la création de fentes de retrait lors des épisodes de désaturation du sol. Cependant, dans la même étude, l'auteur montre que les écoulements au centre du tube ne sont pas affectés par les modifications à l'interface tube-sol.

Le dispositif utilisé ici est un tube de 14 cm de diamètre et le microlysimètre qu'il contient a un diamètre de 3 cm. Ce microlysimètre est positionné exactement au centre d'une section du tube et n'est donc pas perturbé par la modification des écoulements à l'interface tube-sol. Par ailleurs, avant tout échantillonnage, les dispositifs de tubage ont été laissés en place pendant une période d'un mois minimum en saison automnale, saison humide propice aux cicatrisations structurales du sol par resaturation en eau. Cette période permet par ailleurs d'éliminer les PFC éventuellement libérées en masse lors de la mise en place du dispositif de tubage.

Il apparaît donc que la mise en place du dispositif à une période propice ne doit pas interférer de manière sensible sur la dynamique des écoulements dans le microlysimètre. Il serait par contre déconseillé de procéder à la mise en place du dispositif en période sèche et de prélever les PFC avant la resaturation en eau complète du sol.

V.1.2. La représentativité des échantillons

V.1.2.1. La surface et le volume échantillonnés

La surface des grilles recevant les PFC est de 7,1 mm². Il y a deux grilles par microlysimètre ce qui représente environ 14 mm². De ce fait seule une petite fraction des PFC circulant dans le sol est échantillonnée puisque le volume poral ainsi intercepté est relativement faible. Selon les sites et les conditions d'écoulement de l'eau dans les sols, il est possible que ce facteur ait un impact sur la représentativité des échantillons récoltés. Cependant, l'étude du pourcentage de la surface couverte par chaque type de particules en fonction de leur diamètre (figure 3.10.a) de même que le pourcentage de surface couverte par les PFC sur un carreau de grille par rapport à un autre carreau du même échantillon (figure 3.10.b) sur l'ensemble des échantillons étudiés montrent que les grilles ont globalement reçu la même quantité de PFC quels que soit le moment d'échantillonnage, la profondeur d'échantillonnage ou la position de

la grille dans le microlysime. Par ailleurs, une étude des variations spatiales des PFC interceptées en contexte agricole, réalisée avec le même dispositif en triplicat, montre qu'il n'y a pas de différence notable d'un dispositif à l'autre pour une même période et sur une même parcelle (Elsass, communication personnelle). Par contre des différences notables existent entre des parcelles ayant reçu des amendements différents, les variations les plus importantes étant saisonnières.

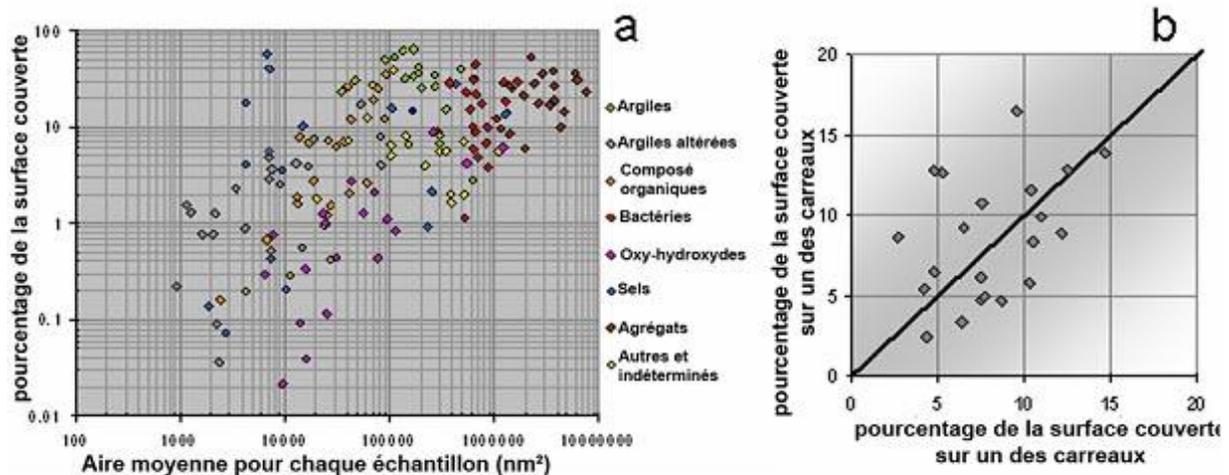


Figure 3.10. a) Représentation du pourcentage de la surface couverte par chaque type de particules en fonction de leur aire pour chaque échantillon en échelle logarithmique. **b)** Surface couverte par l'ensemble des PFC d'un carreau d'un échantillon en fonction de celle d'un autre carreau du même échantillon. Chaque point représente une grille différente.

V.1.2.2. L'évolution *in situ* des PFC

Le fait de choisir un pas d'échantillonnage mensuel impose de laisser le microlysime en place pendant un mois. Ceci peut influencer sur la représentativité des échantillons dans la mesure où les PFC recueillies sur les grilles en début de mois peuvent évoluer au cours du mois et ne plus être dans le même état que lorsqu'elles se sont déposées sur les grilles. Cependant, d'une manière conceptuelle, il est admis ici que ces particules piégées sur la grille évoluent de la même manière que si elles étaient dans le sol, fixées sur un de ses constituants. Néanmoins, l'une des modifications possible du pool particulaire recueillie sur les grilles peut être liée à un artefact d'échantillonnage : il s'agit de la superposition de particules sur les grilles. Deux comportements sont alors possibles : (i) soit cette superposition est "naturelle" et les particules sont agrégées de la même manière qu'elles le seraient dans le sol, (ii) soit ces particules ne sont pas "naturellement" agrégées et l'agrégat observé au microscope est alors un

artéfact. Cette modification des échantillons n'est pas aisée à contourner. Dans certains cas, l'observation au MET montre que les agrégats sont non naturels (figure 3.11.b) auquel cas ils ne sont pas pris en compte, ou bien il est possible de séparer optiquement les particules en travaillant l'image. Dans d'autres cas, il apparaît clairement que les agrégats sont naturels (figure 3.11.a) et ils sont pris en compte. Afin, de pallier à ce problème, lorsqu'un doute existe, l'agrégat n'est pas pris en compte. Cependant peu d'agrégats présentant des doutes (figure 3.11.c) ont été observés sur les échantillons et il est admis que l'incertitude associée est négligeable.

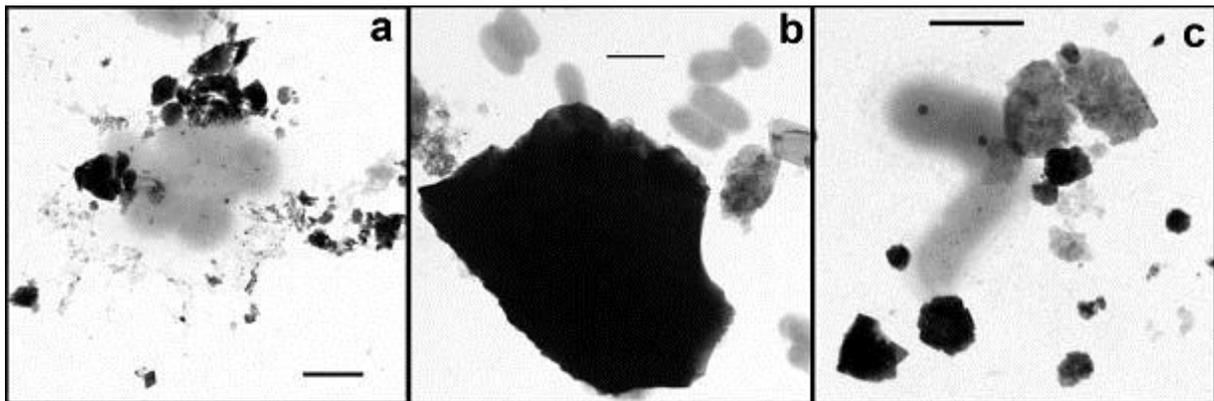


Figure 3.11. Différents types d'agrégats observés sur les grilles. a) Agrégat naturel. b) Agrégat par superposition. c) Agrégat indéterminé, vraisemblablement à la fois naturel et superposé. Barre d'échelle : 1 μm .

V.1.2.3. L'absence de prise en compte des écoulements latéraux

La représentativité des analyses est biaisée du fait que le dispositif de terrain est un tube ne laissant pas passer les écoulements latéraux. Cependant, ces écoulements ont ici été volontairement éliminés de manière à simplifier le système pour n'étudier que la migration verticale des PFC.

V.1.3. La représentativité des analyses

V.1.3.1. Les limites de l'analyse par EDX

Lors de l'analyse en EDX, la particule est bombardée par un faisceau d'électrons. L'interaction entre ces électrons et le cortège électronique des atomes de la particule produit alors des photons X qui lui sont caractéristiques. L'intensité du rayonnement X dépend alors du nombre d'atomes rencontrés et du rendement de fluorescence de chaque élément (lié au numéro atomique). De ce fait, une petite particule composée d'atomes de faibles poids produit un signal faible lors de l'analyse. Ceci est une limite aux analyses car, avec un tel comportement, la quantification des analyses est quasiment impossible car les éléments légers et peu concentrés tels que C, F, P, S, Cl, parfois Na et Al selon les particules, sont toujours sous-estimés devant les métaux lourds. Il est donc nécessaire de garder ceci à l'esprit lors de l'interprétation des résultats. Par ailleurs, les grilles MET utilisées pour piéger les PFC sont recouvertes de Formvar ou collodion constitués à presque 100% de carbone ce qui rend totalement impossible la quantification du carbone et donc la quantification des analyses de matériaux biologiques de petite taille. Le microlysimètre contient deux types de grilles, une grille en cuivre et une grille en titane. Ceci permet, dans l'éventualité de la présence d'un de ces éléments associé aux PFC d'utiliser l'une ou l'autre des grilles pour analyser chacun de ces métaux.

De plus, il est nécessaire de garder en tête le fait que certains éléments chimiques émettent des raies d'énergies très proches lors de l'analyse, qu'il est parfois difficile de déconvoluer. C'est le cas notamment du plomb et de l'arsenic. Dans ce cas, il est possible de s'en affranchir en :

- (i) analysant la raie $L\alpha$ du plomb (10,55 keV) et la raie $L\alpha$ de l'arsenic (1,28 keV) en gardant en tête que celle-ci rentre alors en interférence avec la raie $K\alpha$ du magnésium (1,25 keV).
 - (ii) analysant la raie $M\alpha$ du plomb (2,34 keV) et la $K\alpha$ de l'arsenic (10,53 keV) en gardant en tête que la raie $M\alpha$ du plomb entre alors en interférence avec la raie $K\alpha$ du soufre (2,31 keV).
- Par recoupement il est alors possible de caractériser les parts de plomb et d'arsenic réellement contenues par la particule.

V.1.3.2. La non-systématicité des analyses en EDX

Enfin, le fait de ne pas analyser la composition chimique de toutes les particules présentes sur une grille induit une approximation sur les caractéristiques chimiques des PFC. Cependant, le temps et le coût nécessaire à une analyse exhaustive étant trop importants, il a semblé suffisant de réaliser une approximation statistique des compositions chimiques pour chaque type de PFC.

V.2. Les avantages de la méthode

V.2.1. Une caractérisation *in situ*

Bien que cette nouvelle méthode d'échantillonnage comporte quelques inconvénients, elle présente avant tout une innovation importante dans l'étude du transfert des PFC dans la zone vadose. En effet, l'échantillonneur microlysométrique est partie intégrante du site échantillonné, ceci permet donc de récupérer les PFC à l'état naturel directement sur le terrain. L'avancée technologique consiste à récupérer directement les PFC *in situ* sans faire intervenir de manipulation entre leur échantillonnage et leur observation. Avec cette méthode les PFC sont caractérisables au plus près des conditions du milieu.

V.2.2. Une perturbation minimale du système

Le dispositif microlysométrique apporte un minimum de perturbation dans le système. La seule perturbation majeure a lieu lors de l'introduction du dispositif de tubage mais celle-ci est nettement moins importante que les perturbations engendrées par la mise en place de dispositifs classiques d'échantillonnage beaucoup plus volumineux. Au contraire, comme il a été montré au § V.1.1. de ce chapitre la stabilisation du système est opérée rapidement et les écoulements au centre du dispositif sont peu contrariés. De plus, la très petite taille du microlysomètre en fait un constituant du système. Le microlysomètre en lui-même mesure 3 cm de diamètre et il est perforé en son sommet et à sa base. Il se comporte donc comme un

gros constituant poreux du sol, tel un agrégat par exemple, connectant la macroporosité et ne modifiant pas drastiquement les écoulements comme pourrait le faire l'introduction d'une interface air-sol ou l'application d'une tension. Les grilles qui recueillent les échantillons ont un diamètre de 3 mm soit une surface de 7,1 mm². Leur volume est donc équivalent à un grain de sable et elles ne modifient pas la dynamique des écoulements, se contentant d'intercepter les PFC circulant naturellement dans le sol. On peut donc considérer que le microlysime se comporte comme un constituant à part entière du sol.

V.2.3. L'individualisation des PFC

L'un des intérêts majeurs de la méthode réside dans la capacité à étudier individuellement les PFC échantillonnés. L'utilisation systématique du MET et du système d'analyse en EDX associé permet de mettre en évidence les caractéristiques propres à chacune des particules circulant dans le sol et présentes dans les retombées atmosphériques. En suivant cette méthodologie d'analyse les résultats sont précis et tiennent compte des hétérogénéités importantes entre les différentes propriétés des PFC et leurs comportements à l'échelle du milieu échantillonné.

V.2.4. Un suivi *in situ* des variations temporelles et spatiales des caractéristiques chimiques et physiques

La caractérisation *in situ* menée dans des conditions de perturbation minimale du système et basée sur une étude individualisée des PFC, permet de réaliser un suivi des variations de distribution et de propriété des particules à la fois dans le temps et dans l'espace. En couplant, de manière appropriée, les approches d'échantillonnage et d'observation, une étude statistique est réalisable. Ainsi la typologie fine des PFC, en ce qui concerne à la fois leurs propriétés physiques et chimiques, peut être étudiée en fonction des évolutions du milieu dans l'espace (horizontal et vertical), et dans le temps, avec des pas d'échantillonnage choisis. Avec une telle méthodologie, le comportement naturel des PFC, mais aussi leur évolution liée à des contraintes anthropiques, sont étudiables.

VI. Conclusions

La méthodologie développée pour ce travail et présentée dans ce chapitre est donc basée sur une réflexion conceptuelle du transport des PFC dans la zone vadose. Cette réflexion porte à la fois sur l'aspect technique et technologique, et sur l'aspect du traitement et de l'analyse des données.

D'un point de vue technologique, le dispositif d'échantillonnage mis au point permet de récupérer les PFC avec le minimum de perturbation du système, c'est-à-dire dans les conditions du milieu. Par ailleurs, la méthodologie mise en œuvre dans le traitement des données s'appuie sur une technologie de pointe, la microscopie électronique à transmission couplée à un système d'analyse en spectroscopie par dispersion d'énergie (MET/EDX), permettant de réaliser des observations fines des propriétés physiques et chimiques des objets étudiés.

Peu d'études se sont focalisées jusqu'ici sur les PFC individuelles du fait de la lourdeur des méthodes à mettre en œuvre dans cet objectif. Avec une méthodologie de collecte des échantillons simplifiée, le développement des techniques de microscopie TEM/EDX et notamment grâce à des systèmes informatiques de plus en plus performants ainsi qu'à un suivi maîtrisé des objets dans leur environnement, la caractérisation fines des PFC dans le milieu naturel devient réalisable. Si quelques approximations et/ou simplification sont toujours nécessaires dans l'application de la méthode développée ici, il s'avère que celles-ci sont amoindries et rapprochent de manière importante les résultats obtenus du comportement réel des PFC dans l'environnement naturel.

CHAPITRE IV

CARACTERISATION PHYSICO- CHIMIQUE DES NANOPARTICULES

Chapitre IV

Caractérisation physico-chimique des nanoparticules du sol et de l'atmosphère

I. Introduction

La méthodologie décrite dans le chapitre III est appliquée pour de caractériser les "particules fines et colloïdales" ou "PFC" présentes dans les retombées atmosphériques et les eaux d'infiltration d'un sol dans un contexte naturel. Les PFC des retombées atmosphériques ont été recueillies sur les deux sites présentés dans le chapitre II. Celles des eaux d'infiltration du sol ont été recueillies sur le seul site de Wintzenheim. Ce chapitre présente donc les résultats analytiques des observations de ces PFC en Microscopie Electronique à Transmission Analytique (META). En appliquant une méthodologie d'analyses de particules individuelles, couplée à un suivi temporel, les particules sont caractérisées physiquement et chimiquement. Ceci permet d'établir leur typologie fine dans les environnements considérés et de mettre en évidence leurs caractéristiques majeures ainsi que leurs implications dans la dynamique du transfert de contaminants depuis les retombées atmosphériques jusqu'à une profondeur d'environ 60 cm dans le sol.

II. Matériel et méthodes

Les PFC circulant dans les eaux d'infiltration du sol ont été étudiées suivant le protocole décrit dans le chapitre III. Les résultats présentés ici correspondent aux données obtenues sur les particules collectées mensuellement sur le site de Wintzenheim de décembre 2003 à juillet

2004 qui couvre la période de traitement de la vigne. Le dispositif de tubage utilisé est celui séparant les différents horizons de sol. Ce mode de prélèvement permet de caractériser l'impact du sol sur la distribution des matières en suspension dans les eaux d'infiltration à diverses profondeurs. Seule la parcelle ayant subi le traitement antifongique à base d'arséniate de sodium a été équipée du système de collecte des PFC. Les dispositifs de piégeage des particules ont été placés à 15, 35 et 55 cm de profondeur (figure 4.1).

Les PFC présentes dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim et à Breuil ont été étudiées selon le même protocole. Les résultats sur les dépôts atmosphériques à Wintzenheim couvrent la même période que sur les nanoparticules du sol (décembre 2003 à juillet 2004). Les particules récoltées mensuellement à Breuil sont celles des retombées atmosphériques chaque mois depuis mai 2004 jusqu'à janvier 2005.

Les résultats analytiques en microscopie correspondent à :

- six mois d'échantillonnage des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim¹, soit un total de 16 grilles analysées pour 22766 particules étudiées ;
- cinq mois d'échantillonnage des retombées atmosphériques à Wintzenheim², soit 5 grilles, ce qui représente un total de 4093 particules étudiées ;
- huit mois d'échantillonnage des retombées atmosphériques à Breuil³, soit 7 grilles analysées pour un total de 5679 particules étudiées.

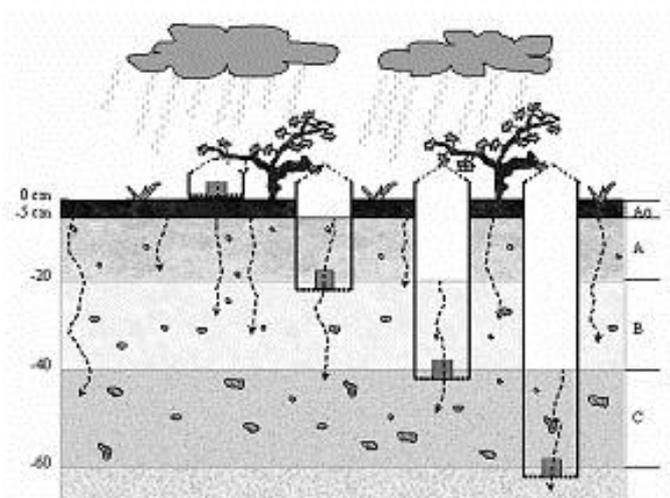


Figure 4.1. Schéma du dispositif de tubage et de collecte des nanoparticules du sol. Les différents niveaux de sols sont échantillonnés séparément.

¹ Suite à un problème de qualité des grilles, les mois de février et mai manquent ainsi que les profondeurs à 15 cm en avril et à 35 cm en juin.

² Suite au même problème de qualité des grilles, les mois de février, mars et mai manquent.

³ Pour le même problème de qualité de grilles le mois d'août manque.

III. Caractérisations physico-chimique des nanoparticules

La classification des populations de PFC en suspension dans les eaux d'infiltration du sol du vignoble de Wintzenheim ainsi que dans les dépôts atmosphériques à Wintzenheim et sur le sol sous forêt de Breuil a permis d'identifier différents types de constituants présents régulièrement et de manière abondante. Quatre de ces types correspondent à des phases minérales : il s'agit de particules argileuses automorphes à sub-automorphes, de particules argileuses altérées, de sels et d'oxy-hydroxydes. Deux types de particules sont des phases organiques : bactéries et biofilms. Un type regroupe les agrégats organo-minéraux. Enfin, les deux derniers types correspondent aux constituants accessoires et aux nanoparticules de nature indéterminée. Ce chapitre détaille les caractéristiques et particularités de chacun de ces types sur les deux sites, quel que soit le matériel regardé (eaux d'infiltration ou retombées atmosphériques). L'observation de ces particules en MET permet de les caractériser physiquement. Le système EDX couplé au MET permet de les caractériser chimiquement. Une approche quantitative est effectuée ainsi que la localisation des métaux lourds et métalloïdes concentrées dans les différentes phases porteuses.

III.1. Les nanoparticules des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

III.1.1. Les constituants minéraux des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

III.1.1.1. Les particules argileuses automorphes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

Les particules argileuses automorphes correspondent très majoritairement à des particules hexagonales en plaquettes qui réagissent assez fortement aux électrons (figure 4.2. b,c,d,f,g).

Certaines de ces particules présentent des contours plus diffus de type smectite (Figure 4.2.a) et d'autres, beaucoup plus rares, présentent un faciès typique de mica (figure 4.2.e).

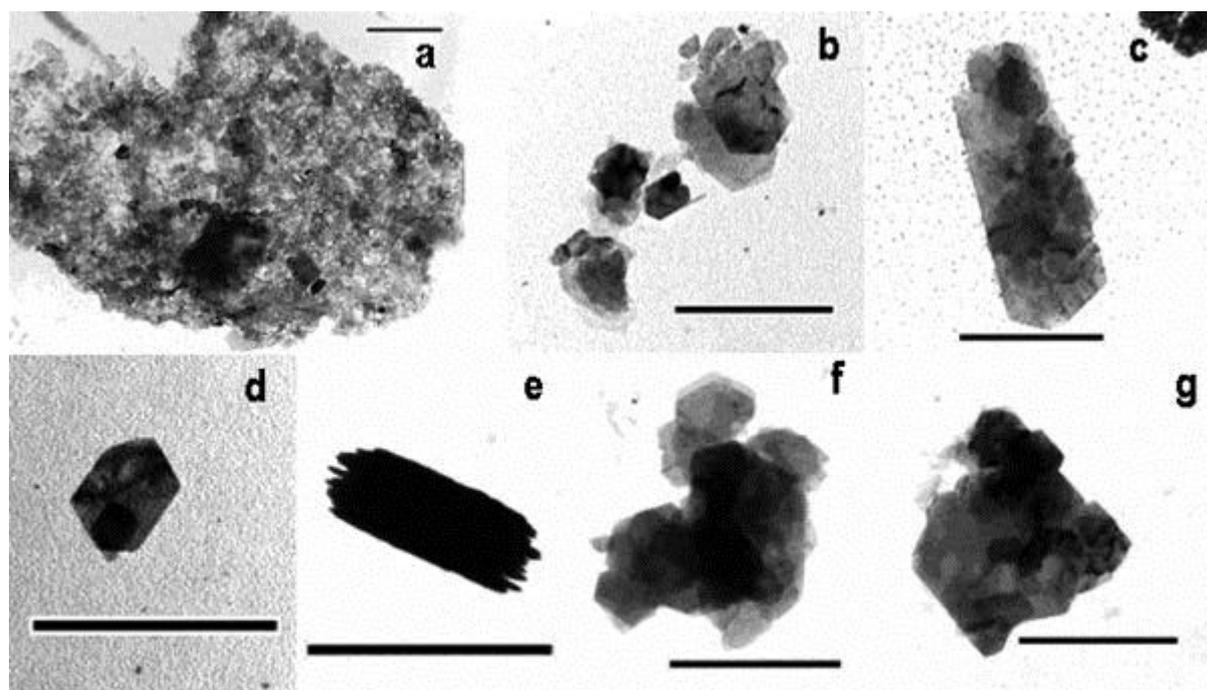


Figure 4.2. Images en MET de particules argileuses des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. **a)** smectite ; **b), c), g)** argiles automorphes de types illite et **d), f)** kaolinite ; **e)** phyllosilicate de type mica. Barre d'échelle : 1 μm .

L'étude de la distribution de taille des particules, réalisée sur l'ensemble des échantillons concerne 1919 particules mesurées. Les résultats montrent des tailles relativement homogènes (figure 4.3.a,b). Il s'agit pour l'essentiel de nanoparticules puisque 81% des argiles ont un diamètre apparent inférieur à 0,45 μm . Le mode de distribution est unimodal centré sur la classe 100 à 200 nm ; les particules ont, dans 99% des cas, un diamètre inférieur à 2 μm (figure 4.3.a). La représentation du facteur de forme en fonction de la taille exprime la relation entre le rapport du diamètre de Feret (plus grand diamètre) mesuré sur le diamètre apparent calculé et l'aire de la particule (en échelle logarithmique) (figure 4.3.b). La ligne $y = 1$ correspond aux particules parfaitement sphériques. Au dessus de cette ligne les particules sont de plus en plus allongées et les valeurs de rapport de forme les plus élevées correspondent à des particules très découpées. Par rapport aux 1348 particules représentées sur le diagramme, il apparaît que les argiles automorphes ont des formes très homogènes. La taille et la forme des particules sont indépendantes hormis pour les particules les plus grandes

qui présentent une dispersion plus importante avec notamment la présence de particules très découpées. D'une manière générale, les argiles présentent une forme légèrement allongée avec un rapport de forme majoritairement compris entre 1,1 et 1,8. Il est possible d'associer ces rapports de forme aux images réalisées en MET. Ainsi, les particules proches de la forme sphérique correspondent à des tablettes trapues telles que celles des figures 4.2.b,d,f. Les formes plus allongées caractérisent, quant à elles, des argiles plus proches des particules des figures 4.2.c,e. Tous les intermédiaires sont présents entre ces deux types.

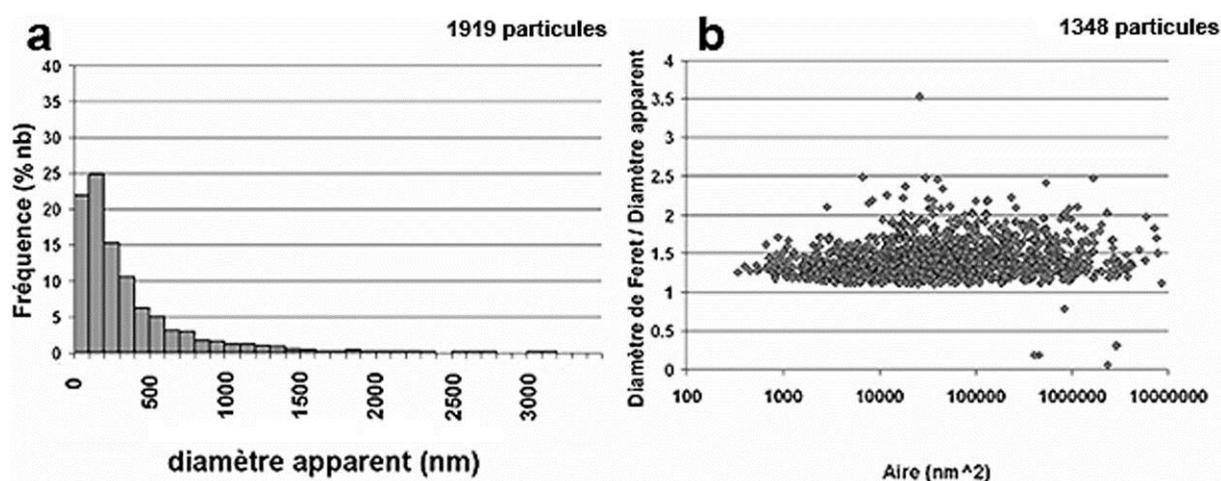


Figure 4.3. Distribution de taille et facteur de forme des particules argileuses automorphes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence du nombre de particules en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (1919 particules représentées) **b)** représentation du facteur de forme (1348 particules) en fonction de l'aire de la particule.

Des analyses chimiques semi-quantitatives en dispersion d'énergie (EDX) ont été effectuées sur différentes particules argileuses. La figure 4.4 représente, dans un diagramme ternaire ($\text{Si}^4 - \text{R}^3 (\text{Al}, \text{Fe}, \text{Mg}) - \text{M}^+ (\text{Ca}, \text{Na}, \text{K})$), le nombre de cations analysés et rapportés à la formule structurale des particules minérales individuelles¹. Il apparaît que le groupe des particules argileuses automorphes est essentiellement constitué de kaolinite, d'illite et d'argiles interstratifiées principalement de type illite-smectite.

¹ La méthode de calcul ainsi que le principe de la représentation en diagramme ternaire des analyses chimiques sont développés en annexe.

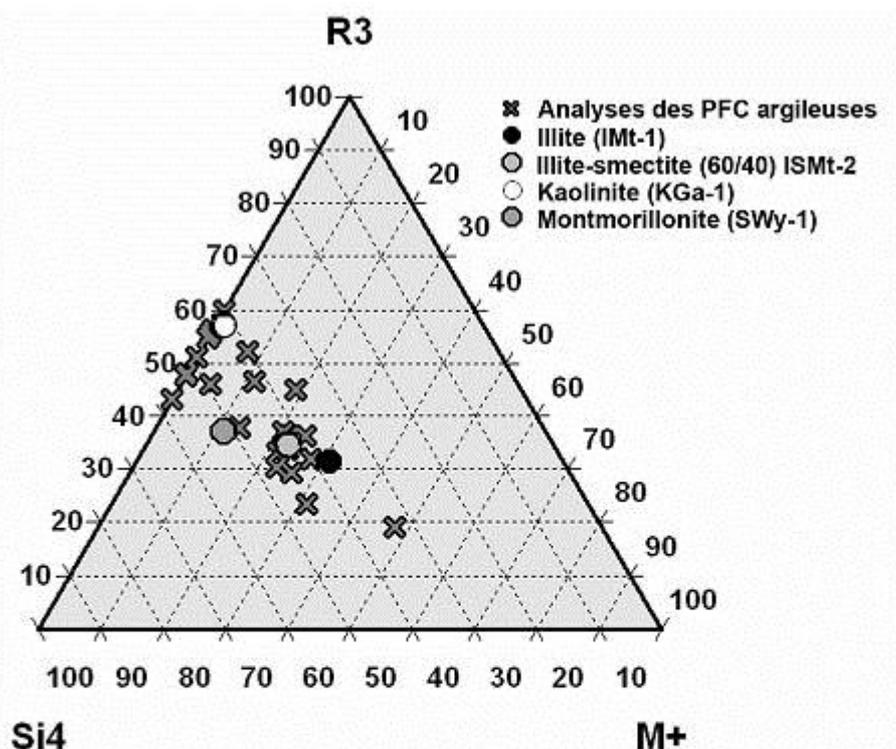


Figure 4.4. Représentation en diagramme ternaire des compositions des particules argileuses automorphes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. Les nombres de cations sont basés sur les calculs de formules structurales. Si^4 : pôle représentant le nombre de cations de silicium tétraédrique. R^3 : Pôle représentant le nombre cations octaédriques. M^+ : Pôle représentant le nombre de cations échangeables. X : PFC argileuses de Wintzenheim; ○ : minéraux de références.

La déviation observée pour les analyses de certaines kaolinites par rapport au pôle de composition théorique peut s'expliquer par une perte de cations Al^{3+} lors de l'analyse (Mackinnon & Kaser, 1987; Romero et al., 1992; Elsass, 2006). Cet écart peut également être lié à la présence de Fe en quantité non négligeable en substitution d'Al dans la couche octaédrique (figure 4.5). La détection de Fe associé aux particules argileuses des sols peut aussi être due à des revêtements d'oxy-hydroxydes de Fe à la surface des minéraux (Murad, 1988; Schwertmann, 1988; Mercier et al., 2000; Citeau, 2004; Nachtegaal & Sparks, 2004).

Dans certains cas (figure 4.5), Pb et As ont été détectés, associés aux argiles, mais ce fait reste marginal puisque seulement 2 kaolinites et 1 illite (sur 6 kaolinites, 3 illites et 10 illite-smectites analysées) contiennent du Pb à hauteur de 0,01 et 0,06 cation/demi-maille pour les kaolinites et 0,07 cation/demi-maille pour l'illite. De même 2 kaolinites contiennent de l'As

entre 0,03 et 0,1 cation/demi-maille. Il est à noter que les analyses ayant détecté la présence d'As ont toutes été effectuées sur le même appareillage (système d'analyse EDAX PV9900 couplé au MET Philips CM12 de l'ICS de Strasbourg). On pourrait suspecter un défaut dans la déconvolution des éléments Pb et As dont les spectres caractéristiques présentent des interférences sévères.

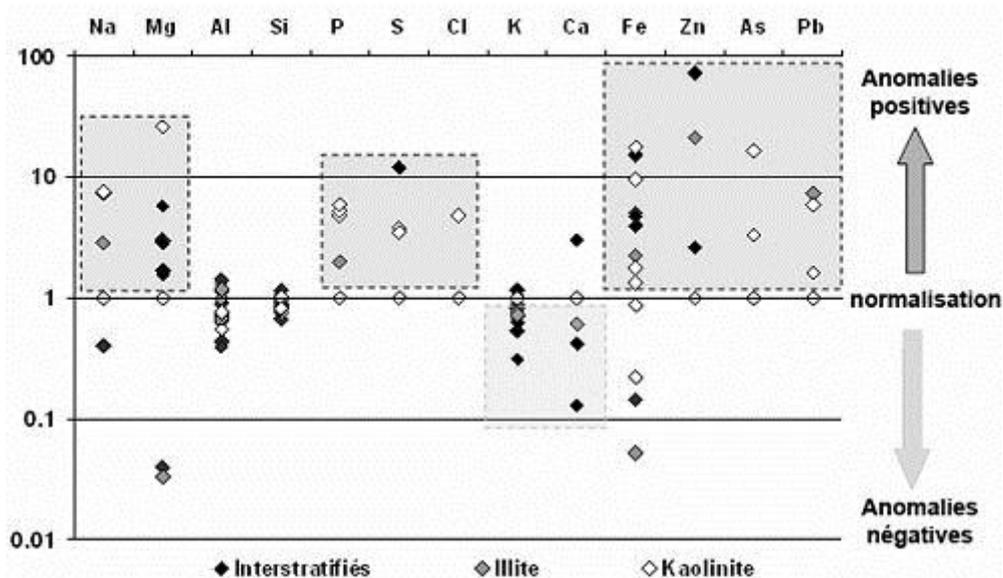


Figure 4.5. Diagramme des concentrations élémentaires normalisées des particules d'argiles automorphes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim exprimées en nombre de cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates. La ligne $y=1$ représente les minéraux de références. \blacksquare : interstratifiés. \blacklozenge : illites. \blacklozenge : kaolinites. Les points situés au-dessus de la ligne $y=1$ représentent des anomalies positives par rapport aux minéraux de références et les points situés dessous des anomalies négatives. Les compositions des minéraux de référence sont données en annexe A.

Outre la présence de Fe, As et Pb, la figure 4.5 montre pour de nombreuses particules des valeurs supérieures à 1 pour les éléments Zn, Na, Mg, S, P et Cl. La figure 4.5 est issue de la normalisation des analyses EDX par rapport à la composition de minéraux de références. Ainsi, les points situés au dessus de la ligne $y = 1$ représentent des anomalies positives du matériel analysé par rapport aux matériaux de référence et les points situés au dessous de cette même ligne résultent d'anomalies négatives par rapport aux minéraux de référence¹. Les

¹ Les principes de la construction et de la lecture de la figure 4.5 ainsi que les détails des minéraux de référence sont donnés en annexe.

valeurs de composition chimique des minéraux de référence utilisés pour la normalisation sont données en annexe.

Pour construire ce graphique, si le minéral de référence ne contient pas un élément détecté par l'analyse EDX, il convient de fixer la valeur de concentration en cet élément pour le minéral référent. Dans le cas des phyllosilicates, cette valeur minimale a été fixée à 0,01 cation par demi-maille pour les éléments P, S, Cl, Zn, As et Pb. Ainsi, un point situé sur la ligne $y = 10$ va correspondre à la présence de 0,1 cation par demi-maille et un point sur la ligne $y = 100$ va correspondre à la présence d'un cation. Cet élément peut-être intégré dans le réseau cristallin de l'argile, absorbé sur celle-ci ou appartenir à une autre phase associée à cette argile. Les anomalies positives en sodium peuvent être expliquées par la présence d'argiles à cations sodiques compensateurs contrairement aux argiles de références choisies pour la normalisation. De même, les anomalies positives en magnésium peuvent être expliquées par l'absence de prise en compte d'argile à structure riche en magnésium comme référence. En effet, les minéraux utilisés pour la normalisation sont les interstratifiés ISMt-2 et ISCz-1 à respectivement 60 et 70 % d'illite donc de composition très proche de l'illite et de ce fait riches en potassium et pauvres en sodium et magnésium. La présence de ces particules interstratifiées à anomalies positives en Mg peut être liée à la composition chimique des minéraux primaires d'où proviennent ces argiles, tels que des minéraux ferro-magnésiens d'origine granitique comme la chlorite ou la biotite fréquentes dans la roche-mère à Wintzenheim. Ceci expliquerait par ailleurs en partie les anomalies positives en fer mentionnées ci-dessus. Cependant, le principe de calcul des formules structurales utilisé ici consiste dans un premier temps à saturer les sites tétraédriques en Si, puis Al et dans un deuxième temps à saturer les sites octaédriques avec Al, puis Mg et Fe. Or, les anomalies négatives en Al des interstratifiés sont de bien moindre amplitude que les anomalies positives en Fe et Al. Il est donc probable que, en plus de fer octaédrique, du fer soit présent à la surface des argiles sous forme de revêtements d'oxy-hydroxydes de fer, déjà décrits dans la littérature (Murad, 1988; Schwertmann, 1988; Citeau et al., 2001; Nachtegaal & Sparks, 2004). Les anomalies positives en Na observables essentiellement pour les illites et kaolinites peuvent être dues au fait que ces minéraux résultent de l'altération des plagioclases de la roche-mère et ainsi contenir des inclusions reliques des minéraux parents incomplètement altérés.

Les anomalies positives en soufre, phosphore et chlore peuvent être expliquées par deux facteurs difficilement discriminables : la présence de matière organique bactérienne fixée à la surface des argiles et le potentiel salin de la solution de sol qui favorise la complexation de

sels sur la matière organique et sur les charges de bordure des phyllosilicates (Auboiroux et al., 1996). Ces deux facteurs associés sont certainement interdépendant, car la force de tension induite par la salinité de la solution augmente fortement le potentiel de complexation de la matière organique sur les argiles (Rytwo et al., 2002; Majzik & Tombacz, 2007).

III.1.1.2. Les particules argileuses altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

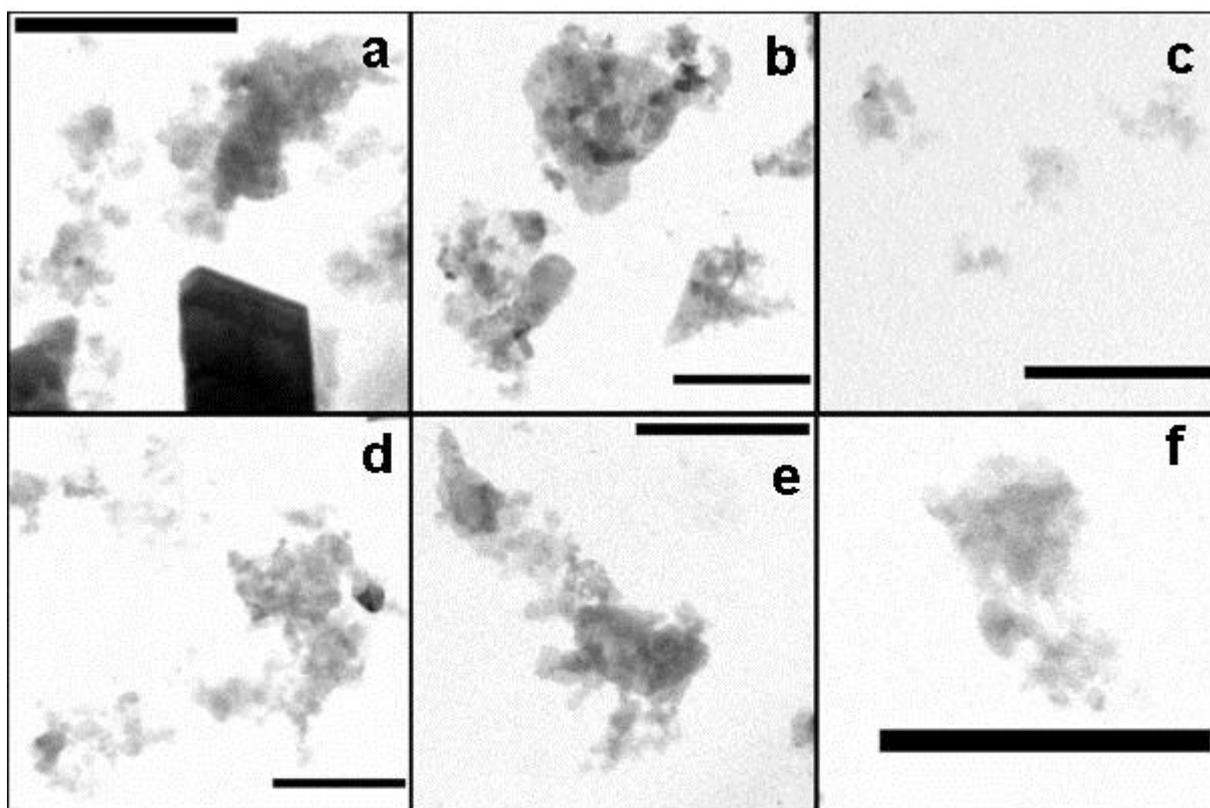


Figure 4.6. a), b), c), d), e) et f) Images en MET de particules argileuses altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. A noter la faible densité électronique et les contours diffus des particules par rapport à la particule argileuse automorphe présente sur l'image a) au milieu, en bas. Barre d'échelle : 1 μ m.

Les particules argileuses altérées sont constituées de minéraux chimiquement très similaires aux particules argileuses automorphes mais avec un faciès très différent. Il s'agit le plus souvent de particules de très petites tailles présentant des contours très diffus et une densité électronique assez faible, qui se traduit par des teintes de gris de bas ordre sur les photos de MET (figure 4.6). La taille de ces particules, mesurée sur 4478 individus, est distribuée de

manière unimodale asymptotique avec une très nette prédominance des très petites particules (figure 4.7.a). En effet, 98% d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à 0,45 μm et 78% d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à 100 nm. Le calcul du facteur de forme de 3349 particules (figure 4.7.b) montre que ce type de particules est de forme légèrement allongée, assez homogène dans les petites tailles (diamètre < 0,45 μm , aire < 160000 nm^2) avec une plus grande variété de formes pour les particules plus grosses (diamètre > 0,45 μm , aire > 160000 nm^2).

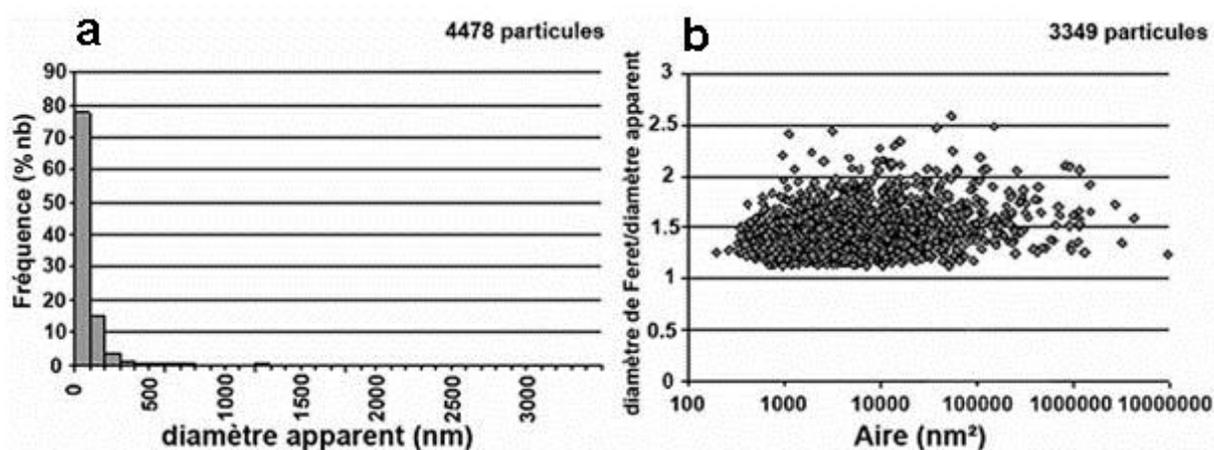


Figure 4.7. Distribution de taille et facteur de forme des particules argileuses altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence du nombre de particules en fonction du diamètre apparent de celles-ci. Une classe de diamètres tous les 100 nm (4478 particules représentées). **b)** représentation du facteur de forme (3349 particules) en fonction de l'aire de la particule.

Les analyses EDX effectuées sur les particules argileuses altérées (figure 4.8) montrent qu'elles sont pour la plupart des interstratifiés illite/smectite et des kaolinites. Par rapport aux argiles automorphes, il n'y a plus d'illite vraie. Il est à noter également la présence de feldspaths altérés qui ont été inclus dans le groupe des particules argileuses altérées du fait de leur grande similitude physique et chimique avec les argiles altérées.

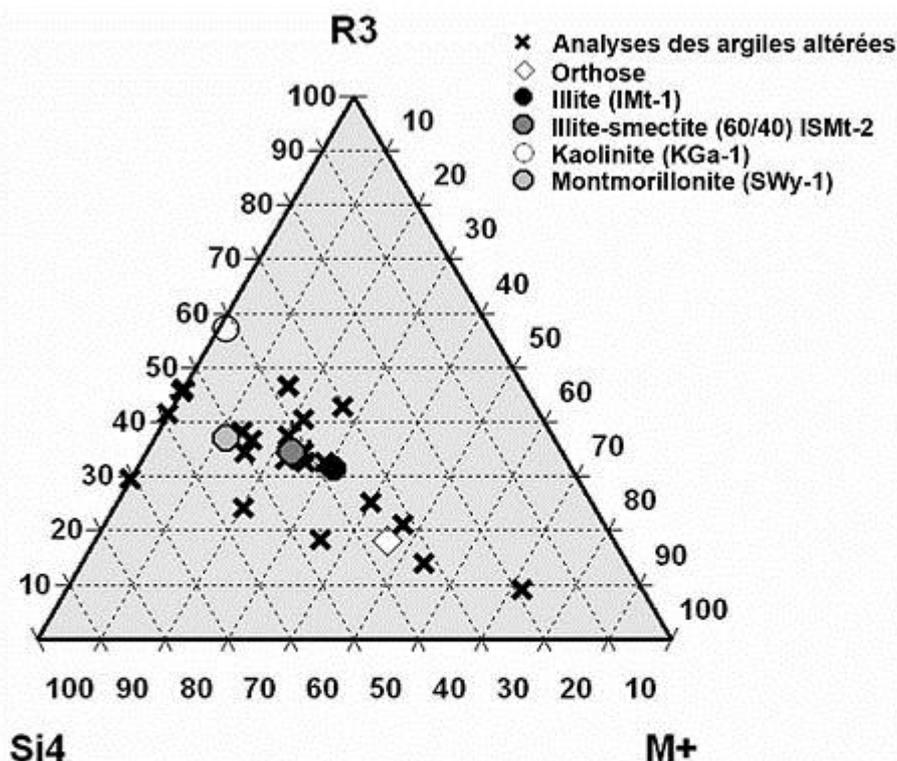


Figure 4.8. Représentation en diagramme ternaire des compositions des particules argileuses altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. Les nombres de cations sont basés sur les calculs de formules structurales. Si^4 : pôle représentant le nombre de cations de silicium tétraédrique. R^3 : Pôle représentant le nombre de cations octaédriques. M^+ : Pôle représentant le nombre de cations échangeables. **x** : argiles altérés du sol de Wintzenheim; **o** : minéraux de références..

La figure 4.9 représente les concentrations élémentaires exprimées en nombre de cations par demi-maille et normalisées par rapport à la composition des minéraux de référence. Il apparaît que les particules argileuses altérées présentent parfois de fortes concentrations en métaux et particulièrement en zinc, cadmium, nickel et plomb (figure 4.9). Les fortes concentrations en plomb peuvent être expliquées par la capacité du plomb à être mobilisé par les fluides pendant le processus d'altération puis à être complexé sur la surface des argiles (Butler, 1953; Köster, 1955; Short, 1961; Wedepohl, 1974; Mosser, 1980). Le zinc est présent régulièrement et en quantités non négligeables. Cet enrichissement a déjà été décrit à de nombreuses reprises dans le cas de particules argileuses, et est attribué à une substitution du zinc avec les cations interfoliaires (Helios Rybicka et al., 1995; Auboiron et al., 1996; Vengris et al., 2001). De plus, les différentes particules analysées montrent à la fois de fortes anomalies négatives en aluminium et potassium et de fortes anomalies positives en sodium, calcium, magnésium et fer (figure 4.9 et 4.10). De la même manière que pour les argiles automorphes, les

enrichissements en éléments ferromagnésiens peuvent être expliqués par la mauvaise prise en compte du Fe (et du Mg) octaédrique. Cependant, là encore la faible amplitude des anomalies négatives en Al, comparé à la forte amplitude des anomalies en Fe suggère la présence de Fe en revêtement sur les argiles. De tels revêtements ont également été trouvés sur certaines particules de kaolinite et des grains de feldspath.

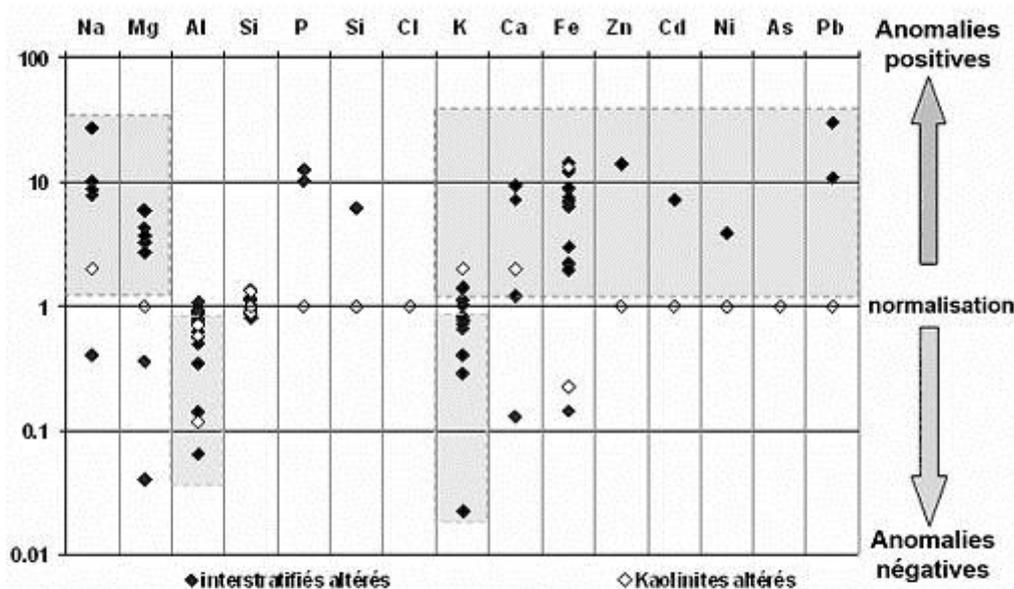


Figure 4.9. Diagramme des concentrations élémentaires normalisées des analyses d'argiles altérées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim exprimées en cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates. La ligne $y=1$ représente les minéraux de références. \blacklozenge : analyses des interstratifiés altérés. \diamond : analyses des kaolinites altérées.

Les anomalies négatives en aluminium et potassium, quant à elles, semblent correspondre à l'influence combinée de deux phénomènes : 1) une perte de cations lors du processus d'altération et 2) une perte de cations due à l'énergie du faisceau d'analyse lors de la mesure en EDX. Les anomalies positives en sodium, magnésium et calcium pour les interstratifiés sont imputables à la normalisation, du fait que les minéraux de références utilisés sont dépourvus de sodium et magnésium et à faible capacité d'échange cationique calcique. Ces anomalies positives ne sont donc que des enrichissements apparents. De plus, les analyses en diffraction des rayons X montrent la présence d'interstratifiés chlorite/vermiculite (cf. chapitre II, figure 2.14) riches en magnésium dans le sol. Enfin, les anomalies positives en

phosphore et soufre sont vraisemblablement dues à l'influence de la charge saline de la solution de sol ainsi qu'à la présence de revêtements organiques à la surface des particules.

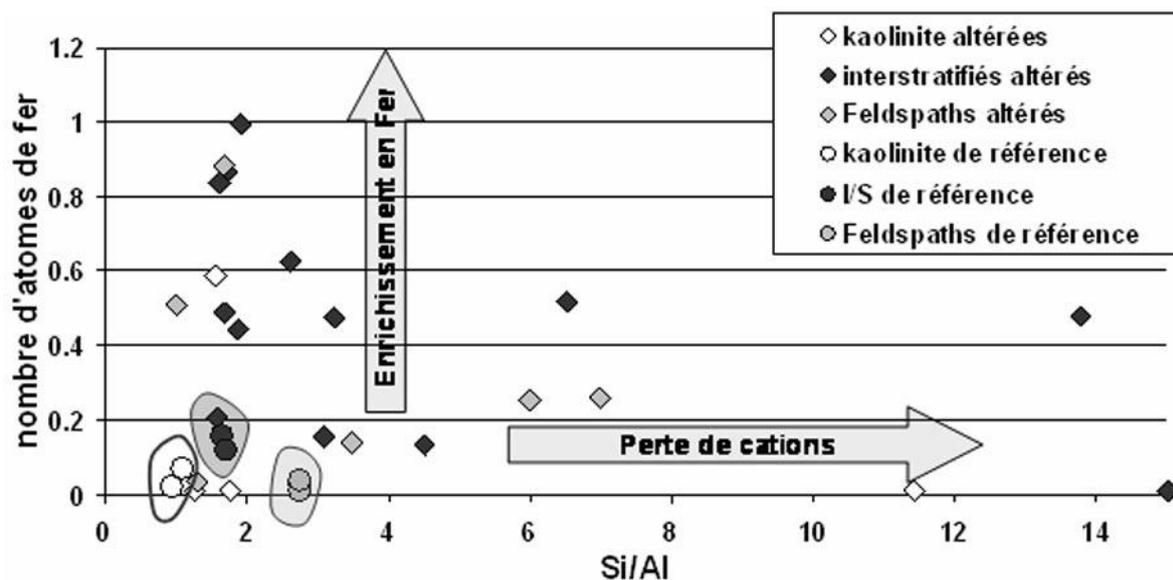


Figure 4.10. Diagramme des concentrations en Fe en fonction du rapport Si/Al pour les argiles altérées du sol de Wintzenheim. Les \diamond représentent les analyses de nanoparticules réalisées dans cette étude et les \circ les minéraux de référence. Le décalage vers la droite des points d'analyses en abscisse traduit une augmentation du rapport Si/Al c'est-à-dire une perte du cation Al. Le décalage vers le haut des points en ordonnée traduit un enrichissement en Fe.

III.1.1.3. Les sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

Les sels sont présents en quantités non négligeables sur l'ensemble des échantillons étudiés. Il s'agit d'un type de constituants très particulier. La figure 4.11 en montre différentes formes, certains étant prismatiques (figure 4.11.a,b,c,g), d'autres de forme circulaires globuleuses (figure 4.11.d,e,f). Le diagramme de distribution de taille des particules réalisé sur 12843 particules montre des tailles peu diversifiées, avec un diamètre apparent inférieur à 100 nm pour une grande majorité (78%) d'entre eux, presque tous (99%) ayant un diamètre apparent inférieur à 0.45 μm (figure 4.12.a). Il s'agit pour l'essentiel des particules représentées sur la figure 4.11.g. La caractérisation de leur forme réalisée sur 12723 particules (figure 4.12.b), montre qu'il s'agit pour l'essentiel de particules très allongées avec des facteurs de forme pouvant être supérieurs à 2.

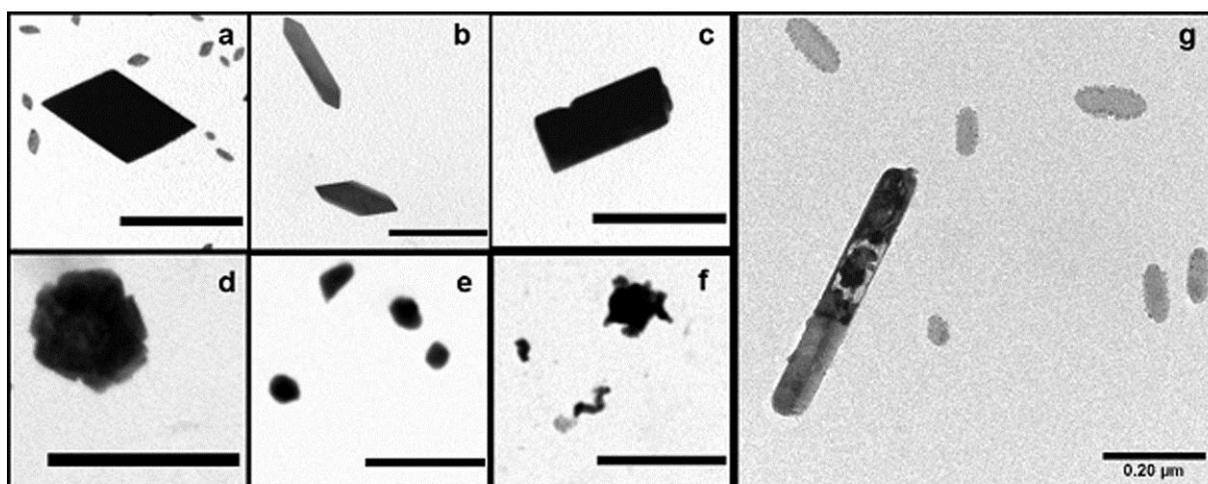


Figure 4.11. Images en MET de sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. a) b), c), g) : sels prismatiques automorphes à composition de chlorures très riches en Pb; d), e), f): sels circulaires globuleux informes à composition de sulfosels. Barres d'échelle : 1µm sauf g) barre d'échelle : 0.2µm.

Les analyses chimiques en EDX réalisées sur 35 particules individualisées montrent que les sels sont en majorité des sulfosels (13 individus) et des chlorures (6 individus) et plus rarement des phosphates (2 individus) ; les autres étant mixtes (figure 4.13). De plus, certains sels analysés sont très riches en baryum et peuvent être considérés comme des sels de baryum. Les concentrations en métaux présents dans ces sels (figure 4.14.a,b) montrent qu'ils sont souvent très riches en plomb (essentiellement les chlorures) et parfois légèrement enrichis en arsenic. De plus, certains chlorures contiennent Fe et une grande majorité des sels présente des traces de Zn.

Une discussion sur la présence de ces sels sur les grilles paraît nécessaire. En effet, la solubilité de tels composants est élevée, essentiellement en ce qui concerne les chlorures. Cependant, comme expliqué dans le chapitre III, après le démontage de la boîte de microfiltration, les grilles sont lavées à l'eau pure, ce qui élimine la solution de sol qui stagne à leur surface. Il est également possible que certaines de ces particules ne transitent pas à l'état solide dans la solution de sol, mais résultent de la cristallisation des éléments dissous par concentration de la solution lors d'épisodes de désaturation du sol. Deux hypothèses permettent ainsi d'expliquer leur présence sur les grilles : 1) un apport de sels par les eaux d'infiltration et leur transfert dans le sol, et 2) une cristallisation à partir de solutions salines dans le sol en période de désaturation.

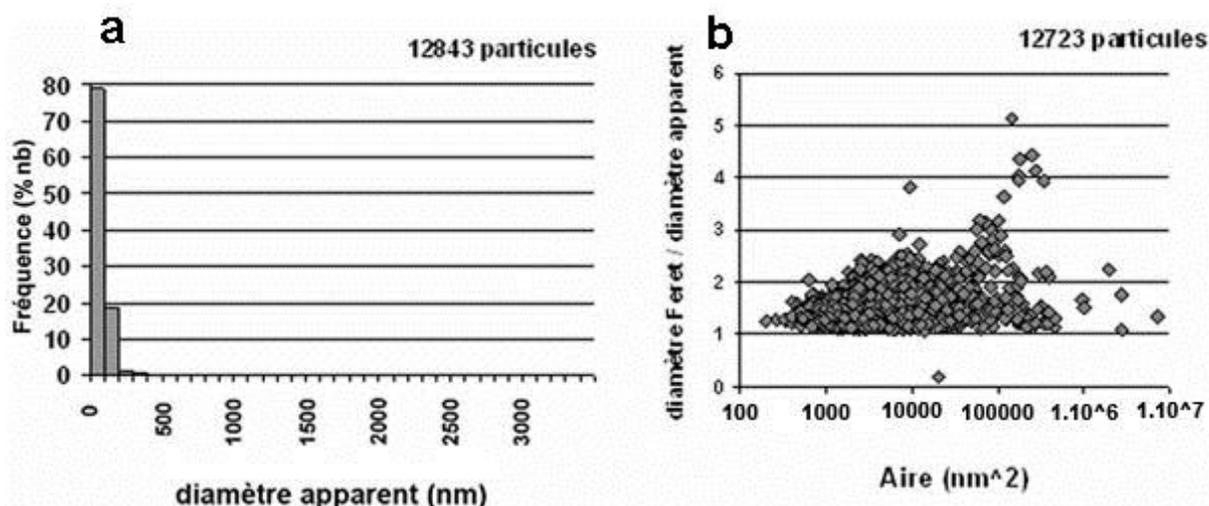


Figure 4.12. Distribution de taille et facteur de forme des sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (12843 particules représentées). **b)** Représentation du facteur de forme (12723 particules) en fonction de l'aire de la particule.

Quelle que soit l'explication, il apparaît que ces sels portent la signature de la chimie de la solution. Ainsi, leurs forts enrichissements en Pb et As permettent d'affirmer que ces métaux sont présents dans les eaux d'infiltration à l'état dissous, mais peuvent être immobilisés en période de désaturation. Enfin, les différents types de sels n'ont, semble-t-il, pas le même comportement. En effet, d'après leur forme parfaitement automorphes, il est vraisemblable que les sels de type a, b et c sont des cristallisations fraîches alors que les sels de type d, e et f sont des constituants de la population de particules des eaux d'infiltration. Ces types d, e et f sont d'ailleurs toujours des sulfosels ou des phosphates, jamais des chlorures.

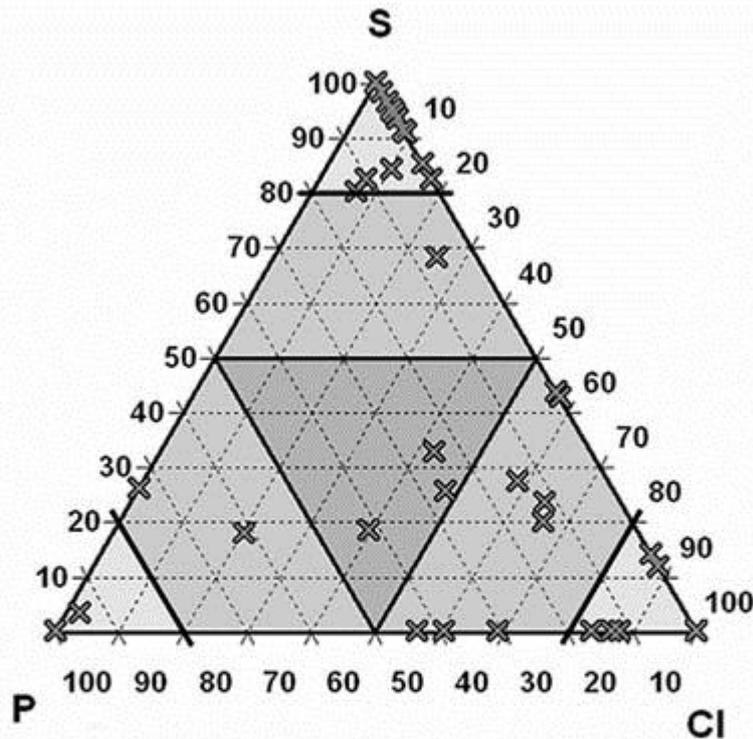


Figure 4.13. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en S, P et Cl des sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim analysés en EDX. Sont considérés comme sulfosels les sels contenant plus de 80% de S, comme chlorures ceux contenant plus de 80% de Cl et comme phosphates ceux contenant plus de 80% de P.

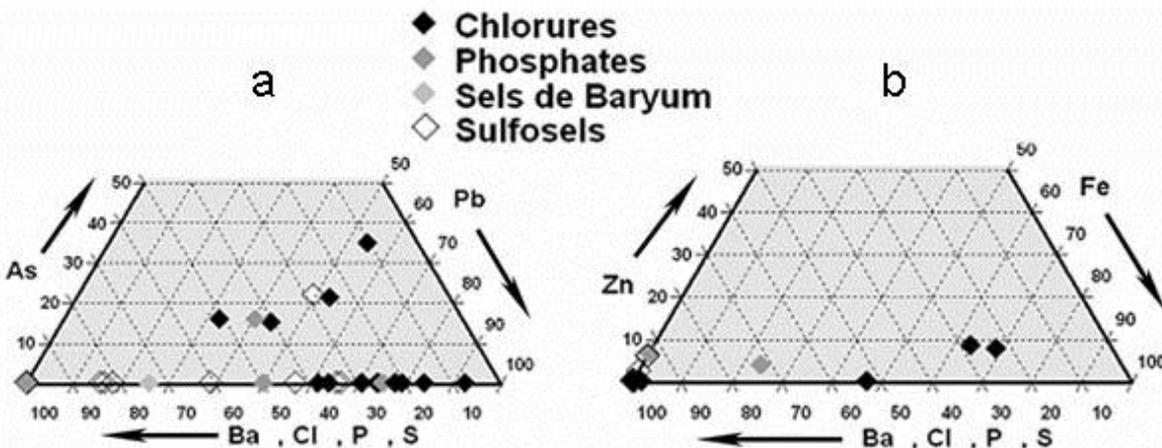


Figure 4.14. Représentation en diagrammes ternaires des concentrations relatives en métaux des sels des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. **a)** Teneurs relatives en As et Pb des différents sels. Peu d'entre eux sont riches en As mais beaucoup sont riches en Pb. **b)** Teneurs relatives en Fe et Zn des différents sels. Certains sont riches en Fe et contiennent des traces de Zn.

III.1.1.4. Les oxy-hydroxydes des eaux d'infiltration du sol de

Wintzenheim.

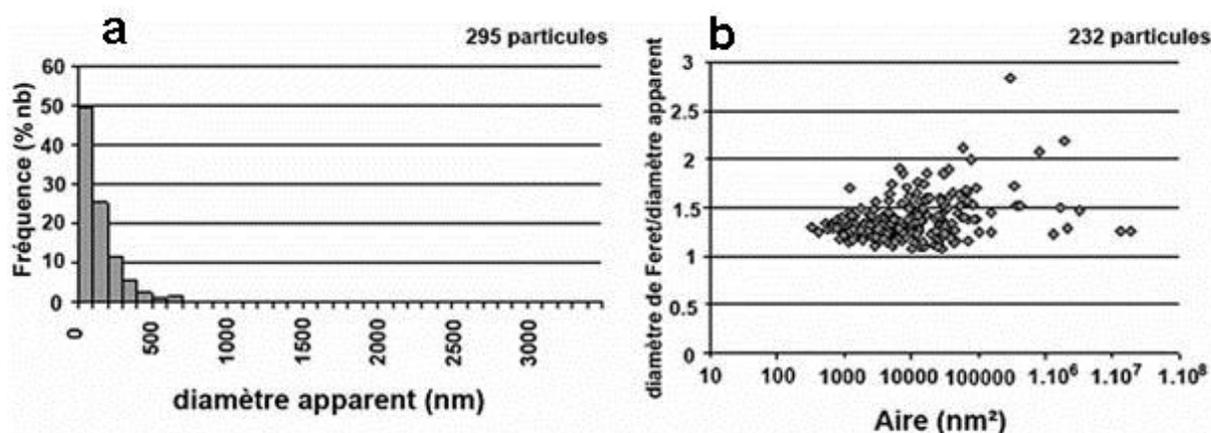


Figure 4.15. Distribution de taille et facteur de forme des particules de type oxy-hydroxydes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (295 particules représentées). **b)** Représentation du facteur de forme en fonction de l'aire (232 particules).

Parmi les constituants du pool particulaire présents dans les eaux d'infiltration des sols, les oxy-hydroxydes sont un type particulaire récurrent bien que présents en assez faibles quantités. En effet, seulement 295 particules sur les 22766 caractérisées sont des oxydes ou hydroxydes (soit 1,3 %). Ce type de constituant est très diversifié aussi bien en termes de forme (figure 4.15.b) que de taille (figure 4.15.a). Il s'agit toujours de particules de diamètre apparent inférieur à 2 μm puisque sur l'ensemble des 295 particules mesurées aucune n'a un diamètre apparent supérieur à cette valeur, 94% ont un diamètre apparent inférieur à 0,45 μm et 50% ont un diamètre apparent inférieur à 100 nm (figure 4.15.a). Les formes de ces composés sont très diverses, mais les caractéristiques électroniques sont homogènes et correspondent à une densité électronique élevée, qui contraste fortement les images obtenues en MET (figure 4.16). L'étude du rapport de forme réalisée sur 232 de ces particules montre une forte hétérogénéité de forme dans les grandes tailles avec des rapports de forme entre 1 et 2,8 (figure 4.15.b).

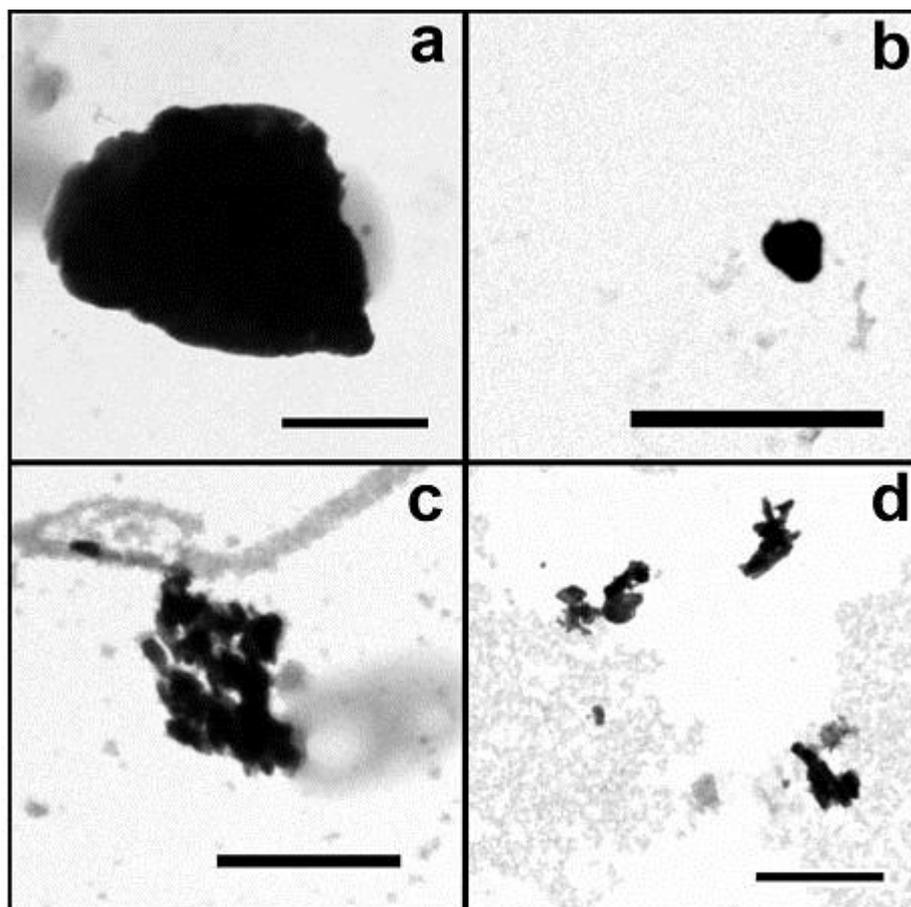


Figure 4.16. a), b), c), d) Images en MET d'oxy-hydroxydes métalliques des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. Toutes les particules présentent une forte densité électronique mais des faciès variables. Barre d'échelle : 1 μ m.

L'originalité des constituants de type oxy-hydroxydes se situe dans leurs caractéristiques chimiques plombifères. Ainsi, sur les 19 oxy-hydroxydes des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim analysés en EDX, 18 sont des oxy-hydroxydes de Pb avec pour 17 d'entre eux une concentration en Pb_2O_5 supérieure à 70% (figure 4.17). Le dernier constituant est un oxyde de fer également riche en Pb. Il est important de noter ici que toutes les analyses ont été effectuées sur des particules de même faciès que celles présentées sur la figure 4.16 et donc le regard du manipulateur n'a pas influencé le choix des analyses. Les statistiques montrent que la très grande majorité des oxydes présents sont des oxydes et/ou d'hydroxydes de plomb. Il est à noter également que presque toutes les analyses montrent la présence de chlore en concentration mineure.

En ce qui concerne la présence en faible quantité d'arsenic dans les analyses il faut être prudent sur l'interprétation car, comme il a été souligné précédemment, Pb et As ont des raies d'émission caractéristique (la raie La_1 pour le plomb et la raie $K\alpha_1$ pour l'arsenic) très proches autour de 10,5 keV, ce qui empêche une bonne déconvolution des pics par les

programmes associés aux systèmes EDX. Ceci est également valable pour le chlore dont la raie $K\alpha_1$ à 2,6 keV est très proche de la raie $M\alpha$ du plomb à 2,3 keV. Les deux éléments Cl et As peuvent donc être considérés ici comme imparfaitement détectés et quantifiés en présence de Pb même si de réels efforts ont été faits concernant la déconvolution As-Pb du fait de leur importance dans le présent travail.

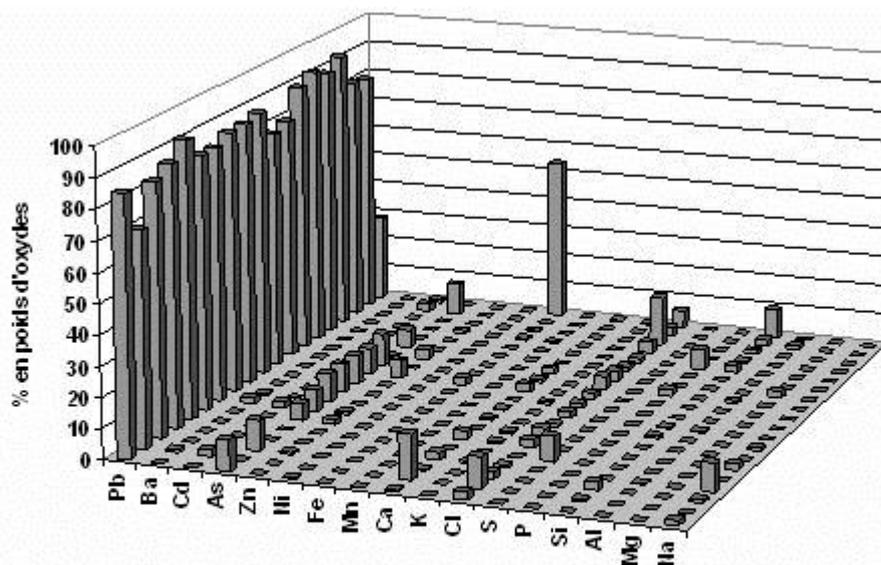


Figure 4.17. Composition chimique de 19 oxy-hydroxydes circulant dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. Les concentrations sont exprimées en poids d'oxydes. 18 particules sont des oxydes de plomb et 1 un oxyde de fer plombifère.

III.1.2 Les constituants organiques des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

III.1.2.1. Les bactéries des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

L'étude des grilles de microscopie issues du site de Wintzenheim a permis de mettre en évidence la présence très régulière de bactéries en tant que constituant de la phase particulaire circulant dans les eaux d'infiltration des sols. Ces bactéries sont de différents types, qu'elles soient observées sur des grilles différentes et sur une même grille. Il peut s'agir de microorganismes flagellés (figure 4.18.a,b,c,d) ou non (figure 4.18.f,g,h). Les microflagelles (figure 4.18.e) sont parfois difficiles à discerner du fait de leur finesse. De plus, certaines de

ces bactéries sont parfois associées ou interconnectées à et par des biofilms autoproduits (figure 4.18.f).

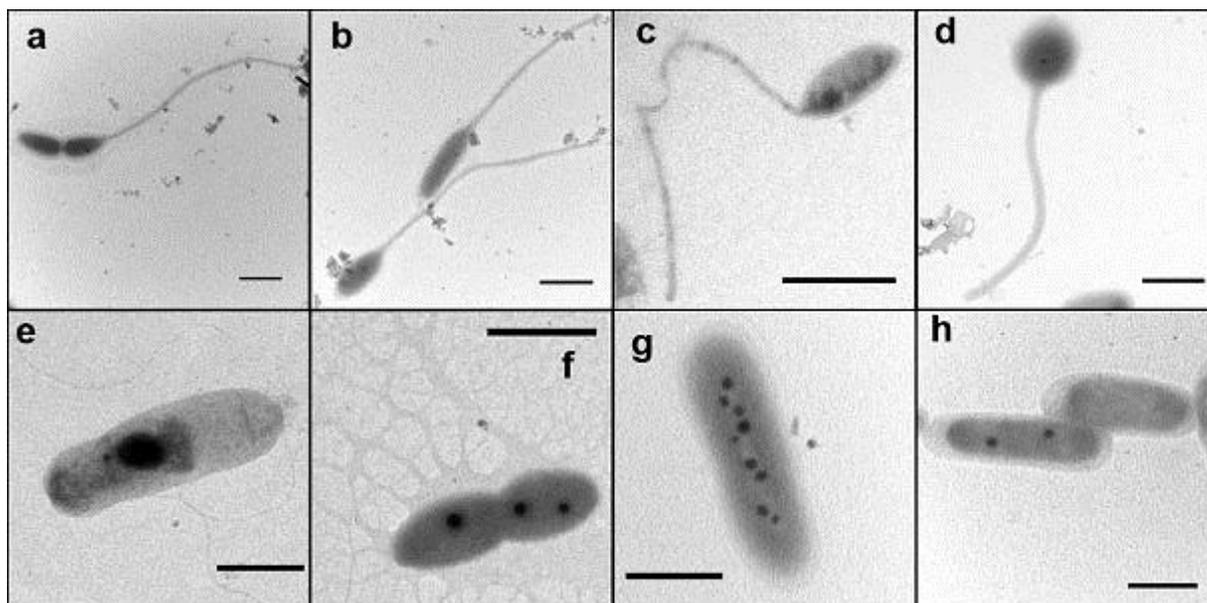


Figure 4.18. Images en MET de bactéries de la solution de sol à Wintzenheim. *a), b),c) et d)* : bactéries avec flagelles en position polaire ; *e)* bactérie avec micro-flagelles ; *f)* bactérie en cours de division et exopolysaccharides; *g) et h)* bactéries avec et sans vacuoles internes. Barre d'échelle : 1 μ m.

Les constituants micro-organiques sont présents de manière isolée (figure 4.18) ou sous forme de colonies (figure 4.19). La grande variabilité des faciès bactériens rencontrés dans la nature ne permet pas de caractériser les espèces uniquement d'après leur morphologie. A ce jour, la seule méthode fiable reste la détermination génétique globale sur un extrait de sol, mais cette technique est lourde et coûteuse. De plus, pour un échantillon naturel de sol, seuls 10 % environ des bactéries présentes sont extraites, sans certitude de leur importance quantitative (Torsvik et al., 1998). Il est donc impossible ici de déterminer avec précision les espèces de bactéries caractérisées.

La présence de colonies bactériennes (figure 4.19) sur les grilles peut-être due à deux phénomènes, (1) soit les colonies se sont développées dans la solution de sol avant la filtration et le dépôt sur les grilles, (2) soit les colonies se sont développées directement sur les grilles à partir d'individus isolés. Il est difficile de favoriser l'une ou l'autre de ces hypothèses. En effet, il est possible qu'une colonie puisse traverser le filtre à 5 μ m tout en conservant son intégrité. La présence de biofilms bien visibles permet très probablement à certaines de conserver une cohérence et une élasticité, de telle sorte qu'elles puissent traverser les pores du

filtre sans se désagréger. De plus, les colonies et leurs biofilms sont parfois associés de manière très forte à des particules argileuses ou/et des sels constituant des agrégats fréquemment décrits dans la littérature (Vadakattu & Paterson, 2004; Bronick & Lal, 2005; Huang et al., 2005) comme constituants majeurs de sols et de leur porosité. Ce type particulier d'association organo-minérales est traité à part dans la suite du chapitre.

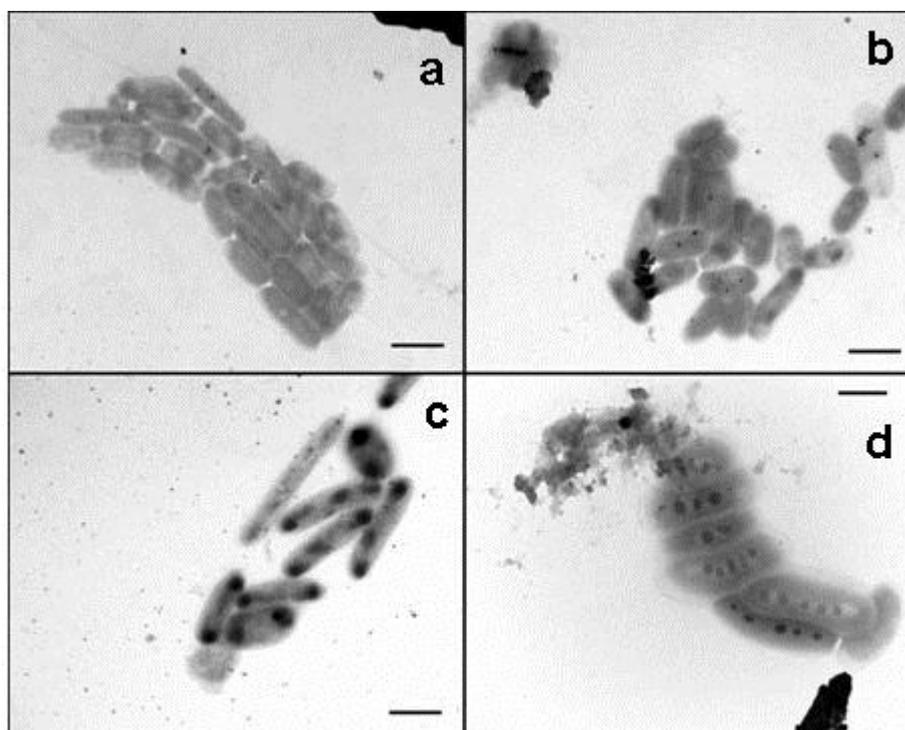


Figure 4.19. a), b), c) et d) Images en MET de colonies bactériennes présentes sur les grilles du sol de Wintzenheim. Barre d'échelle : 1 μ m.

La figure 4.20.a, réalisée sur 218 individus isolés, montre que ces bactéries ont une distribution de taille unimodale de type gaussien, avec un diamètre apparent centré autour de 800 nm. Les valeurs représentant les plus grosses bactéries (diamètre apparent > 2000 nm) sont imputables au comptage à la fois de bactéries en cours de division, et de bactéries présentant des aires plus importantes ou surdimensionnées du fait de la prise en compte dans la mesure d'éventuels flagelles ou biofilms. Le facteur de forme calculé sur 193 individus (figure 4.20.b), montre que ces constituants sont dominés par les microorganismes de type bacille (ellipsoïdaux) avec quelques bactéries plus allongées (similaires aux organismes représentés sur la figure 4.18 e et g). Les bactéries à rapports de forme très élevés (très supérieur à 2) doivent, quant à elles, correspondre à des organismes flagellés ayant une

certaine orientation (flagelle aligné dans l'axe du corps), ou à l'association de deux bactéries dans l'axe l'une de l'autre et qui ont pu être comptées pour une seule bactérie (figure 4.8.h).

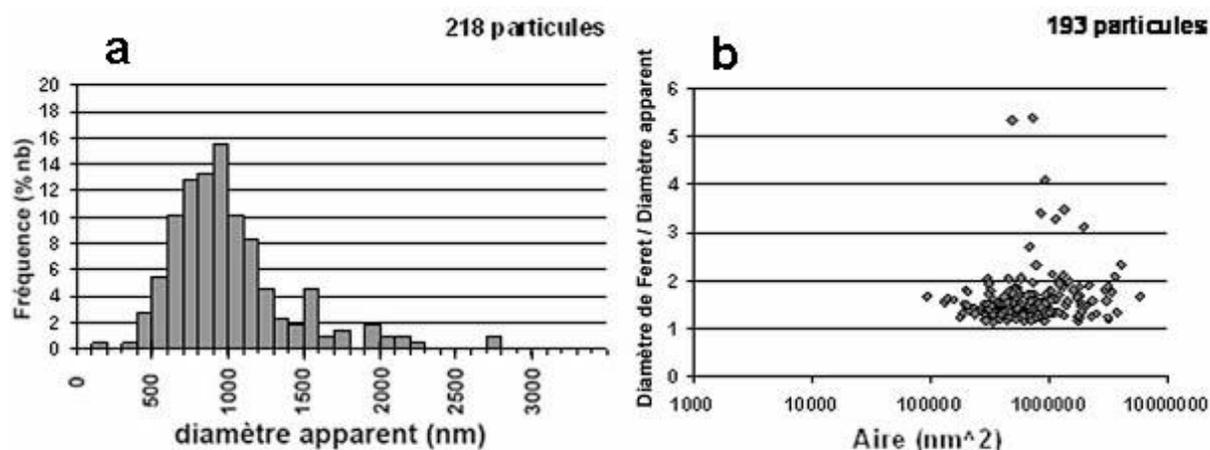


Figure 4.20. Distribution en tailles et facteurs de forme des bactéries des eaux d'infiltration du sol à Wintzenheim. **a)** Distribution en tailles des bactéries en fréquence du nombre de particules en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (218 bactéries représentées). **b)** représentation du facteur de forme en fonction de l'aire (193 bactéries).

Les bactéries ont fait l'objet d'une série d'analyses chimiques EDX approfondies. En effet, 66 analyses ont été réalisées sur les différents faciès de bactéries tout au long de la campagne d'échantillonnage à Wintzenheim. Sur ces 66 analyses, 30 ont porté sur le corps des bactéries. Les 36 autres ont consisté en analyses ponctuelles de granules sombres repérées fréquemment à l'intérieur des cellules microbiennes (figure 4.21). Les analyses effectuées sur les cellules bactériennes montrent que celles-ci sont classiquement riches en carbone, chlore et soufre et dans une moindre mesure en phosphore.

La présence de métaux dans ou associés à ces bactéries a également été notée. Il s'agit essentiellement de plomb et parfois de fer et d'arsenic. La figure 4.22 montre la représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en Pb et As par rapport à P pour l'ensemble des analyses (cellules et granules internes). Comparé aux teneurs en P, Pb est présent en très forte concentration dans une grande partie des bactéries (26 analyses sur 66). De plus, 3 analyses montrent la présence en quantité significative d'As. Cette présence a, par ailleurs, la particularité de toujours correspondre à des bactéries échantillonnées au mois d'avril. Ce point sera plus longuement discuté dans la suite du travail.

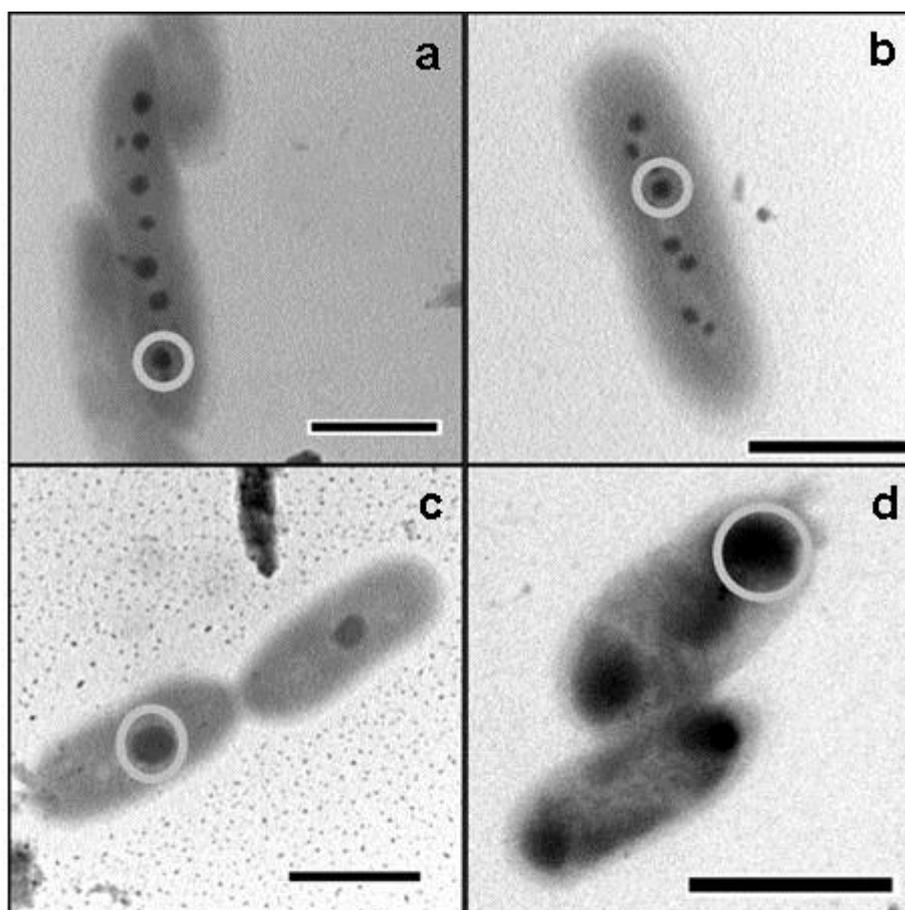


Figure 4.21. a), b), c), et d) : Exemples de granules internes dans des bactéries des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. Les cercles gris représentent les zones d'analyses de granules. Barre d'échelle : 1 μ m.

La différenciation entre les corps cellulaires et les granules internes (figure 4.23) permet de mettre en évidence les concentrations très importantes en Pb dans ces granules. En effet, la grande majorité des cellules bactériennes ne contient pas du tout de Pb alors que la très grande majorité des granules contient du Pb associé à P et pauvre en Cl. Il apparaît donc que les bactéries présentes dans les eaux d'infiltration du sol immobilisent Pb à l'intérieur de granules intracellulaires sous une forme encore indéterminée mais en association avec P. Ce point sera également discuté plus amplement dans la suite du travail.

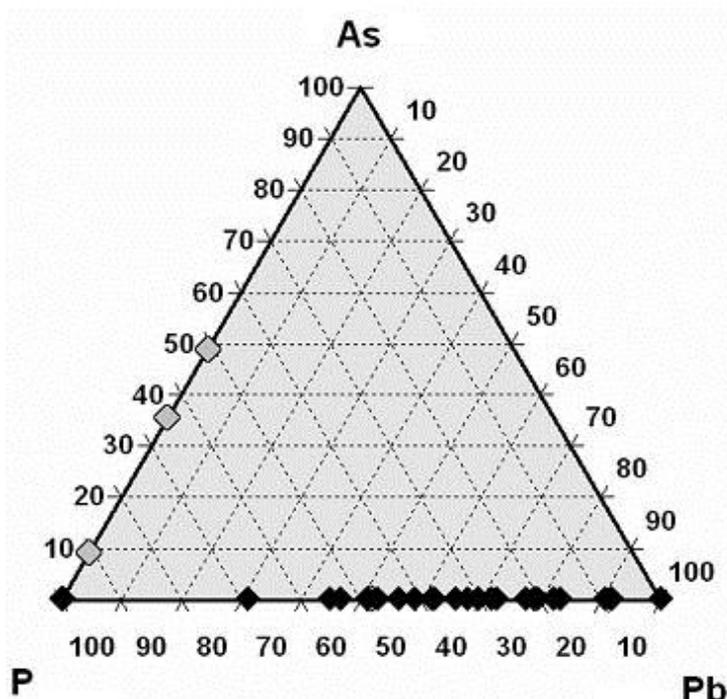


Figure 4.22. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en P, As et Pb contenues dans les 66 bactéries des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim analysées (cellules + granules). \blacklozenge : analyses des bactéries du mois d'avril. 38 analyses sont superposées sous le pôle P.

Il est important de souligner ici la difficulté afin de représenter les données obtenues par analyses EDX. En effet, l'élément chimique principal de la composition des bactéries étant le carbone et le film de collodion recouvrant ces grilles étant lui aussi de nature carbonée, la quantification du carbone est quasiment impossible. La puissance du faisceau d'analyse à de ce fait deux implications qui ne sont pas négligeables. D'une part, elle cause des dégâts d'irradiation lors de l'analyse de composés carbonés aussi fragiles que les microorganismes, pouvant aussi conduire à analyser en même temps l'objet d'étude et le support carboné. D'autre part, en utilisant un tel dispositif d'analyse, le biais rencontré est une perte en certains éléments volatiles, notamment le chlore, ce qui conduit à surestimer les éléments lourds et notamment Pb (masse atomique = 207,190 uma). Il est donc important de garder en mémoire la très probable surestimation du plomb dans les analyses, qu'elles soient quantitatives ou qualitatives. Cependant, dans le cas présent, les teneurs en Pb et, dans une moindre mesure en As (élément beaucoup moins lourd avec une masse atomique de 74,922 uma), sont suffisamment importantes pour être prises en compte et considérées comme significatives de fortes concentrations.

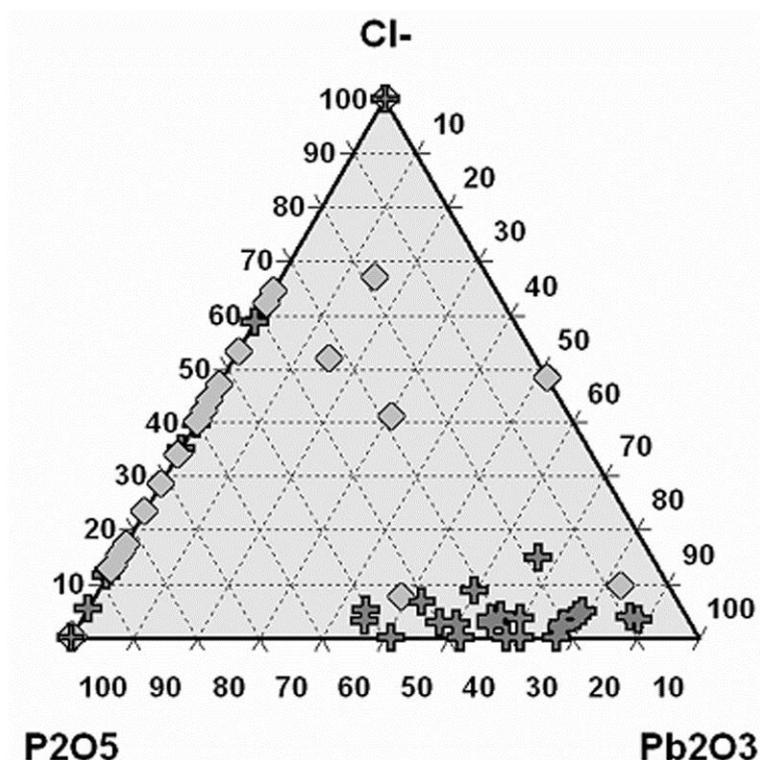


Figure 4.23. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en P, Cl et Pb contenues dans les bactéries des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim (cellules + granules). ◇ : analyses des cellules bactériennes (36 analyses). ✚ : analyses des granules internes (35 analyses). 14 analyses se superposent sur le pôle P (10 cellules et 4 granules); 4 analyses se superposent sur le pôle Cl (3 cellules et 1 granule).

III.1.2.2. Les composés organiques non-vivants des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

Parmi les constituants organiques observés fréquemment dans la phase solide des eaux d'infiltration des sols, la matière organique libre est un constituant abondant. Il s'agit pour l'essentiel de composés organiques non-vivants. La différence est faite avec les biofilms connectés aux microorganismes. Il s'agit ici de matière libre dans la solution, à l'aspect de voiles ou d'entrelacs de formes très diffuses (figure 4.24). Il peut s'agir de bactéries « mortes », d'acides humiques, de sécrétions de mucus végétaux, etc... Ces particules sont généralement de petites tailles puisque 95% des 2524 particules mesurées ont un diamètre apparent inférieur à 0,45 μm (figure 4.25.a). Cependant certains entrelacs peuvent couvrir de grandes surfaces. Ainsi, la figure 4.25.b, réalisée sur 2141 particules montre une grande hétérogénéité de forme pour ce type de constituants avec, notamment, des particules

présentant des facteurs de forme supérieurs à 3. Par ailleurs, la forme généralement très dentelée de ces constituants permet de penser qu'ils présentent une réactivité particulièrement élevée caractérisée par des propriétés de complexation importantes.

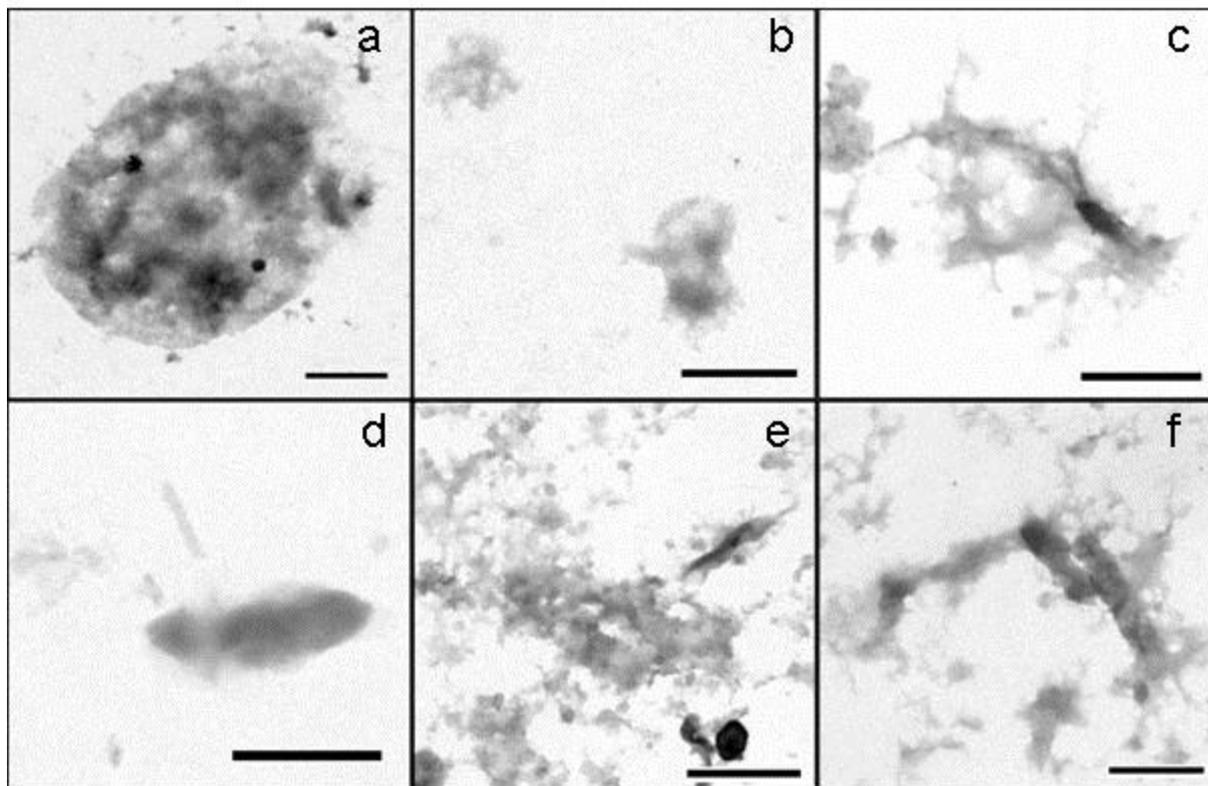


Figure 4.24. Images en MET de composés organiques non-vivants présents dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. Barre d'échelle : 1 μ m.

Les analyses chimiques en EDX réalisées sur ces nano-composés organiques montrent qu'ils sont majoritairement composés de carbone et chimiquement très proches de la composition des bactéries avec une prédominance des éléments légers d'origine biologique tels que le soufre, le chlore et le phosphore, en plus du carbone. La figure 4.26 montre dans quelle mesure le carbone est l'élément dominant de cette classe de constituants puisque sa concentration, même divisée par dix, est toujours largement plus importante que la somme des concentrations en soufre, chlore et phosphore.

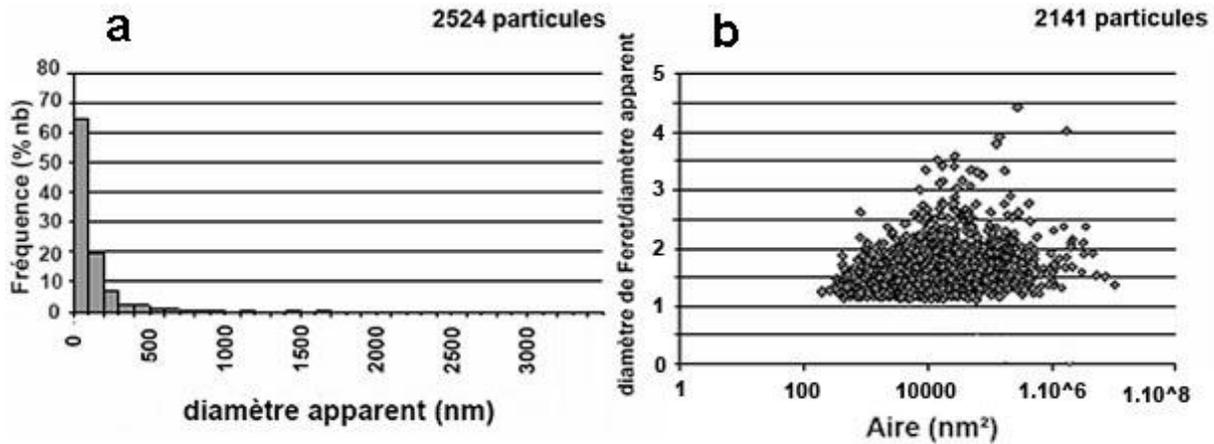


Figure 4.25. Distribution de taille et facteur de forme des particules de type composés organiques non-vivants présents dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (2524 particules représentées). **b)** Représentation du facteur de forme (2141 particules) en fonction de l'aire.

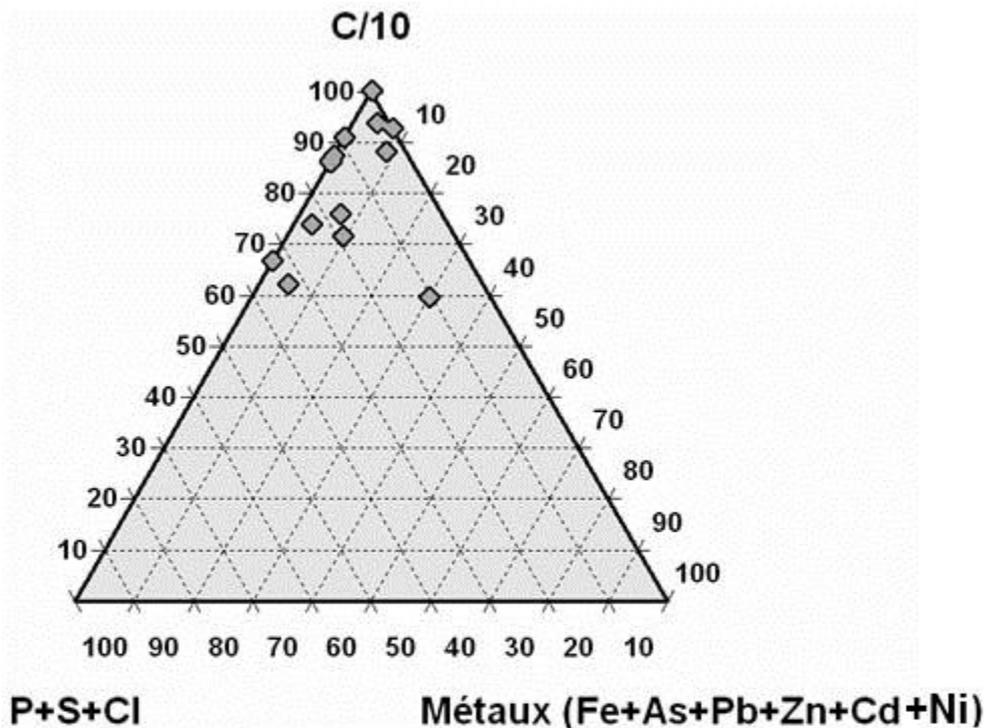


Figure 4.26. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en carbone, éléments légers et métaux lourds contenus dans les composés organiques non-vivants des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. Les valeurs en carbone sont divisées par dix. Les éléments P, S et Cl sont regroupés ainsi que les métaux.

Le troisième pôle du diagramme représente la somme des différents métaux lourds présents, soit Fe, As, Pb, Zn, Ni et Cd. Le fait que ces métaux soient de nature diverse et en faible concentration, par rapport aux éléments organiques dans les composés organiques non-vivants, oblige à les sommer. Sur les onze analyses de nano-composés organiques non-vivants représentées sur le diagramme ternaire, six montrent la présence de métaux en quantités notables. Il s'agit pour 1 de Fe, pour 2 de Zn, pour 2 de Cd, et pour 1 d'un mélange de Ni, Zn et Cd. Bien que ce type de constituant soit très répandu sur les grilles, peu d'analyses ont été effectuées du fait de la faible réponse en EDX et à cause de leur faible densité de matière, ce qui rend les analyses le plus souvent inexploitable car trop brouillées par le bruit de fond généré par le support de grille.

III.1.3. Les complexes organo-minéraux des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

L'ensemble des particules décrites précédemment peut également former des nano- ou micro-agrégats ayant toujours une phase biologique pour liant, qu'elle soit bactérienne ou d'un autre type de matière organique dégradée comme décrit au paragraphe 3.1.2.2. Ceci est particulièrement visible sur les images de MET (figure 4.27). Plusieurs associations sont possibles ; il peut s'agir de colonies bactériennes associées à des argiles, des sels ou des oxydes, ou bien de tapis organiques non-vivants ("biofilms") liant les mêmes constituants. Les agrégats sont toujours des complexes organo-minéraux. Par nature, ces complexes ont des tailles et des formes très hétérogènes (figure 4.28). En effet, la distribution de taille des particules réalisée sur 80 agrégats (figure 4.28.a), ne montre pas de mode particulier, aucune classe de diamètre n'excédant 10% du total des particules. Par ailleurs, la représentation du facteur de forme de 75 agrégats (figure 4.28.b) suggère une assez grande variabilité d'allongement et de forme, avec des valeurs de facteur de forme comprises entre 1,2 et 2,9.

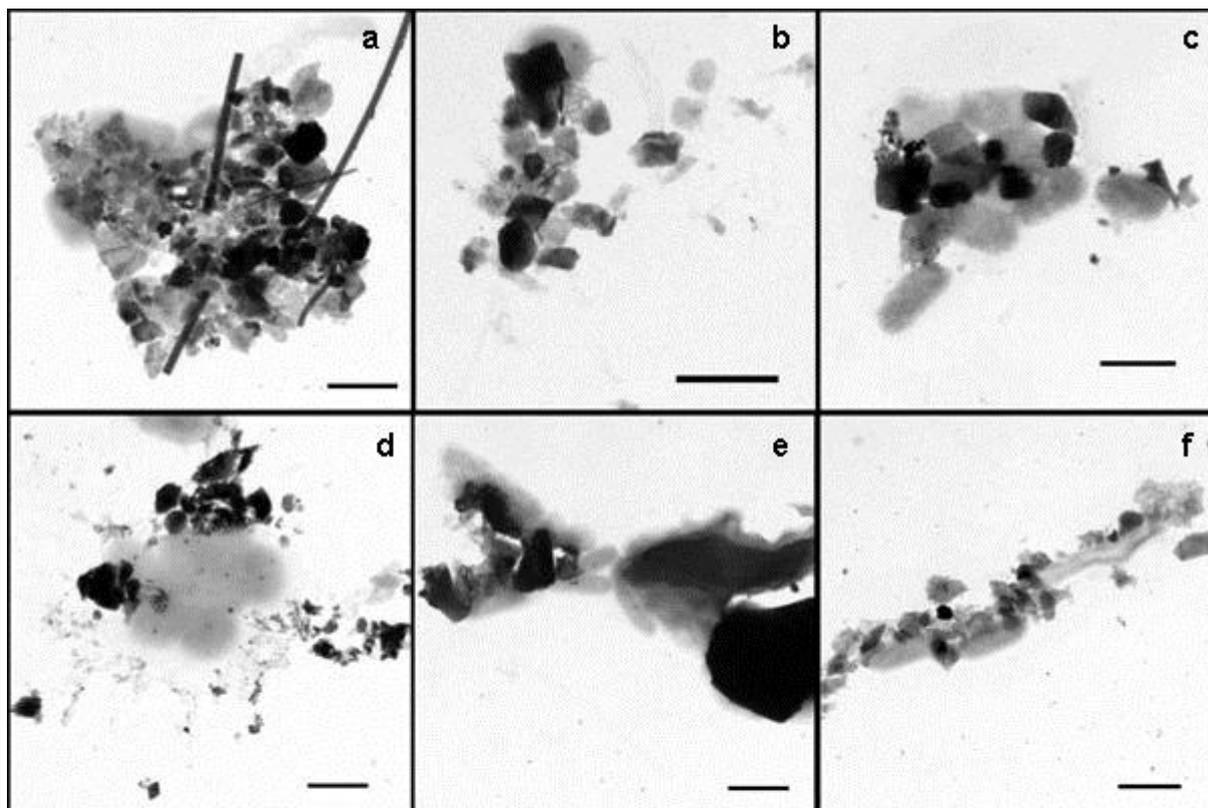


Figure 4.27. a), b), c), d), e), et f) : Images en MET de complexes organo-minéraux de la solution de sol à Wintzenheim. Le liant des agrégats est toujours de nature organique. Barre d'échelle : $1\mu\text{m}$.

La différenciation entre agrégats naturels et agrégats secondaires formés par superpositions successives de particules sur la grille n'est pas toujours évidente. Si la majorité des agrégats observés sont très certainement tels qu'ils étaient dans le sol (cas des agrégats de la figure 4.27), il est également probable que certaines se soient superposées *a posteriori* sur ces mêmes agrégats, voire que plusieurs particules individuelles se soient agrégées par dépôts successifs au cours du mois d'échantillonnage. Certains de ces agrégats "artificiels" peuvent être facilement reconnus et donc triés manuellement, mais d'autres peuvent être comptabilisés comme des agrégats naturels. Cependant, ceux-ci ne faussent pas significativement les résultats globaux car, à la base de tels agrégats, il se trouve le plus souvent un agrégat "naturel" servant de noyau à la formation des agrégats "artificiels". De plus, d'après le taux de recouvrement limité des grilles, il est statistiquement peu probable qu'en un mois d'échantillonnage beaucoup de particules tombent exactement au même endroit sur la grille.

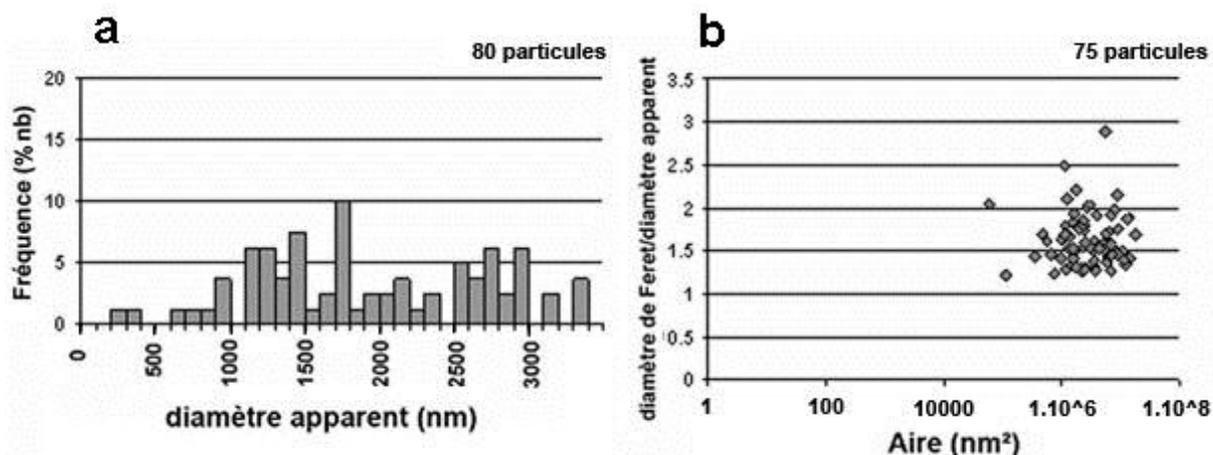


Figure 4.28. Distribution en tailles et facteurs de forme des complexes organo-minéraux des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. **a)** Distribution en tailles des agrégats en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (80 agrégats représentés). **b)** Représentation du facteur de forme de 75 agrégats en fonction de l'aire.

III.1.4. Les nanoparticules accessoires et indéterminées des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

III.1.4.1. Les minéraux accessoires des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

Un certain nombre de nanoparticules des eaux d'infiltration du sol constituent une classe de nanoparticules dites "accessoires". La distinction d'une telle classe de particules se justifie par le fait que deux types de minéraux ont été déterminés sur les grilles bien qu'assez rarement, mais néanmoins systématiquement. Il s'agit de particules automorphes, de grande taille (> 2 μm) et présentant un fort contraste électronique. Ces minéraux qui sont la calcite (figure 4.29.a,b) et le quartz (figure 4.29.c) ont été peu observés au cours de la période d'échantillonnage. Ils sont donc considérés comme ayant un faible impact sur le transport d'éléments par les eaux d'infiltration dans les sols et ne seront pas étudiés en détail.

A contrario, les feldspaths n'ont pas été classés avec la calcite et le quartz. Ceci est un choix volontaire car les feldspaths, toujours de très petite taille, sont fortement altérés et chimiquement très proches des argiles.

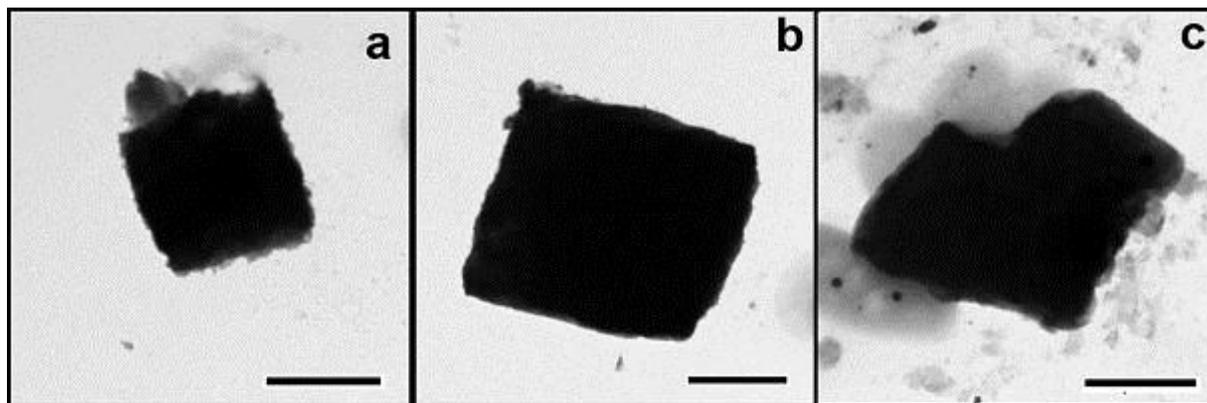


Figure 4.29. Images en MET de minéraux accessoires des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim. a), b) calcite ; c) quartz. Barre d'échelle : 1 μ m.

III.1.4.2. Les constituants indéterminés des eaux d'infiltration du sol de

Wintzenheim

Parmi les nanoparticules présentes dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim, un certain nombre n'a pas pu être identifié. Quelques exemples de ces de particules sont illustrés figure 4.30. Il s'agit le plus souvent de particules riches en soufre (figure 4.30.a), ou en carbone et silicium (figure 4.30.b), parfois fortement carbonées (figure 4.30.c,f).

Certaines de ces particules indéterminées peuvent présenter des concentrations importantes de métaux, c'est le cas notamment de la particule de la figure 4.30.d très riche en Pb qui semble être d'origine végétale. La particule de la figure 4.30.e pourrait être une diatomée. Sur l'ensemble des grilles analysées, ce type de particule (diatomée) n'a été observé qu'à deux reprises. La particule représentée par la figure 4.30.f est également d'origine biologique. Certaines grilles présentent un grand nombre de ces particules indéterminées, d'autres beaucoup moins. Lorsqu'elles sont nombreuses, ces particules sont des mêmes types que représentés sur la figure 4.30.a,b,c.

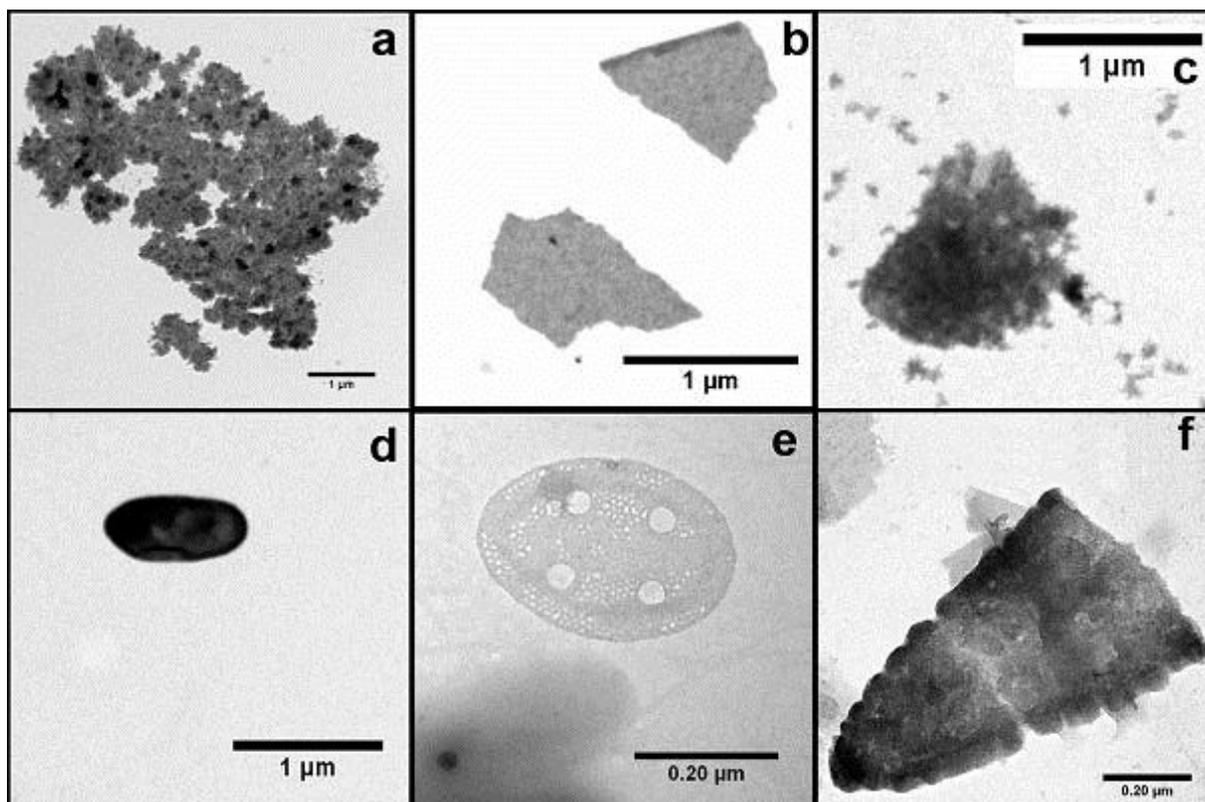


Figure 4.30. Images en MET de particules de type indéterminé des eaux d'infiltration du sol à Wintzenheim. a) particule riche en soufre ; b) et c) particules carbonées ; d), e) et f) particules organiques.

III.1.5. Synthèse des caractéristiques et réactivité des PFC des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim

Différents types de nanoparticules, avec des caractéristiques physico-chimiques bien distinctes, ont ainsi été caractérisés dans les eaux d'infiltration des sols. Il s'agit : des argiles automorphes à subautomorphes, des argiles altérées, des sels et des oxy-hydroxydes pour les particules minérales, des bactéries et des composées organiques non-vivants pour les particules organiques, du groupe des agrégats, et de deux classes "exotiques" justifiées par la présence de particules accessoires et de particules indéterminées.

Les *argiles automorphes* sont principalement des illites, des kaolinites, des interstratifiés illite-smectite avec des feldspaths altérés. Ces particules ont des tailles variées mais les diamètres sont majoritairement inférieurs à 1 µm. Le caractère automorphe des particules

induit des formes peu allongées (facteur de forme proche de 1) correspondant aux plaquettes polygonales typiques des argiles. Du point de vue de leur composition chimique, les argiles automorphes sont fréquemment appauvries en cations (potassium et calcium) par rapport aux argiles de référence. Par ailleurs, les argiles automorphes montrent fréquemment des enrichissements en fer (revêtements) et zinc (substitutions) et plus ponctuellement des enrichissements en arsenic et plomb.

Les *argiles altérées* sont, par ordre d'abondance, des interstratifiés illite-smectite, des kaolinites altérées et des feldspaths très altérés. Il s'agit de très petites particules puisque près de 80 % d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à 100 nm et leurs formes sont très variées. Chimiquement, le caractère altéré de ces particules se traduit toujours par une perte d'aluminium et de potassium et elles sont également caractérisées par de forts enrichissements en fer et des enrichissements moins systématiques en métaux lourds (Zn, Pb) que les argiles automorphes.

Les *sels* sont de différents types. Il s'agit majoritairement de sulfosels et de chlorures et plus rarement de phosphates et de sels de baryum. Leurs formes sont diverses, parfois automorphes, parfois globuleuses. La particularité chimique des sels est leur fort enrichissement en plomb et dans une moindre mesure en arsenic. Certains sels sont vraisemblablement des cristallisations fraîches pouvant se produire lors de périodes de désaturation du sol.

Les *oxy-hydroxydes* sont très majoritairement des oxy-hydroxydes de plomb. Ils sont assez petits et de formes très variées.

Les *bactéries* sont un constituant important de la phase particulaire. Elles sont de différents types et de différentes tailles et présentes sous forme de cellules isolées ou en colonies. Leurs analyses chimiques montrent leur propension élevée à mobiliser voire immobiliser les métaux, principalement le plomb. L'arsenic apparaît associé seulement aux bactéries du mois d'Avril.

Les *biofilms* ou *composés organiques non-vivants* divers sont très fréquents sur les grilles, il s'agit de films organiques hautement réactifs contenant toutes sortes de métaux.

Une classe bien particulière a été mise en évidence. Il s'agit des complexes organo-minéraux. Généralement de relativement grande taille, ils consistent en des agrégats de différents types de particules minérales liés par de la matière organique. De tels constituants ont une réactivité importante et sont le siège d'interactions chimiques fréquentes. Ils sont de ce fait de puissants vecteurs potentiels de pollution.

Enfin deux classes de constituants "exotiques" correspondent soit à des *minéraux accessoires* soit des *constituants indéterminés*. Les minéraux accessoires ne montrent pas de réactivité chimique particulière vis-à-vis des métaux lourds. Les nanoparticules indéterminées quant à elles, sont mal connues par définition et donc leur réactivité et leur importance dans le transport des polluants restent également mal définies.

III.2. Les nanoparticules des retombées atmosphériques à Wintzenheim

III.2.1. Les constituants minéraux des retombées atmosphériques à Wintzenheim

III.2.1.1. Les particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim

Les argiles automorphes à sub-automorphes sont un type de constituants important des retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim. Physiquement ces particules consistent pour la plupart en plaquettes hexagonales qui réagissent fortement aux électrons (figure 4.31.a,b,c).

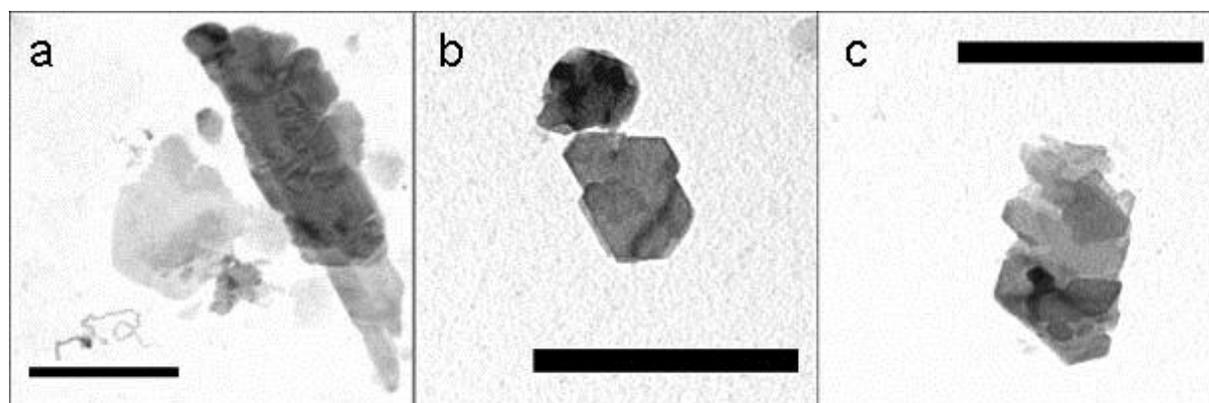


Figure 4.31. Images en MET de particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim. Barre d'échelle : 1 μ m.

La distribution de taille de ces argiles réalisée sur l'ensemble des échantillons, soit sur 1291 particules argileuses, montre qu'elles sont relativement homogènes en terme de taille tout au long de la campagne d'échantillonnage (figure 4.32.a,b). Il s'agit pour l'essentiel de nanoparticules puisque environ 88 % d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à 0,45 μm . Le mode de distribution est unimodal asymptotique et les particules sont de diamètre inférieur à 2 μm dans 99,6 % des cas (figure 4.32.a). La représentation en facteur de forme (figure 4.32.b) montre que la population est assez homogène. D'une manière générale, les particules présentent une forme légèrement allongée avec un rapport de forme majoritairement compris entre 1,1 et 1,7, c'est-à-dire qu'il s'agit de particules sphériques à ellipsoïdales ; les particules plus petites sont généralement plus sphériques. Ceci est illustré par les images présentées par la figure 4.31 : la particule la plus petite (b) est la plus sphérique, alors que la particule la plus grande (a) est la plus allongée. Tous les intermédiaires sont évidemment possibles entre ces deux types, c'est le cas par exemple de la particule (c).

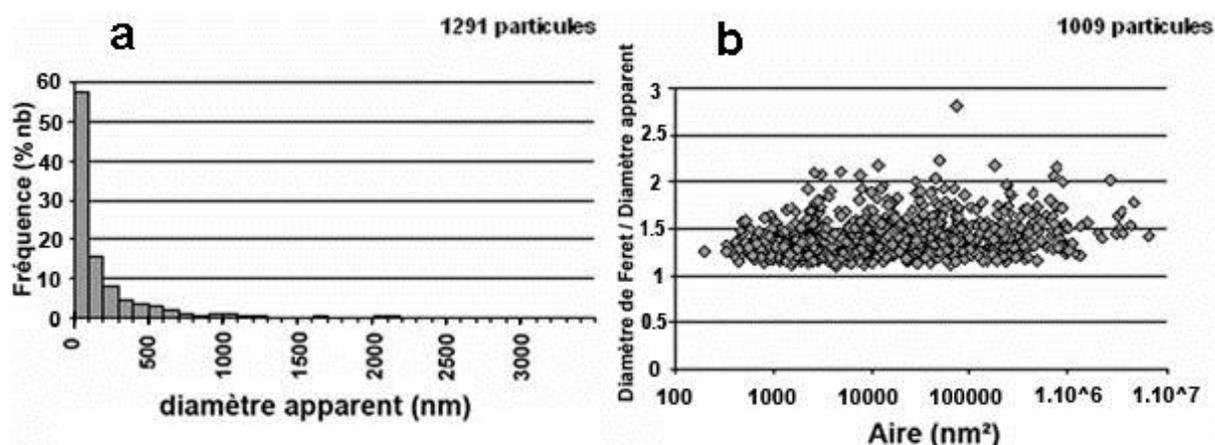


Figure 4.32. Distribution de taille et facteur de forme des particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent de celles-ci. Une classe de diamètres tous les 100 nm (1291 particules). **b)** Représentation du facteur de forme en fonction de l'aire (1009 particules).

Les analyses chimiques semi-quantitatives en dispersion d'énergie (EDX) (figure 4.33) montrent que les particules argileuses automorphes qui tombent au sol à Wintzenheim, sont de type kaolinite, interstratifiés illite-smectite, smectite et feldspaths plus ou moins altérés.

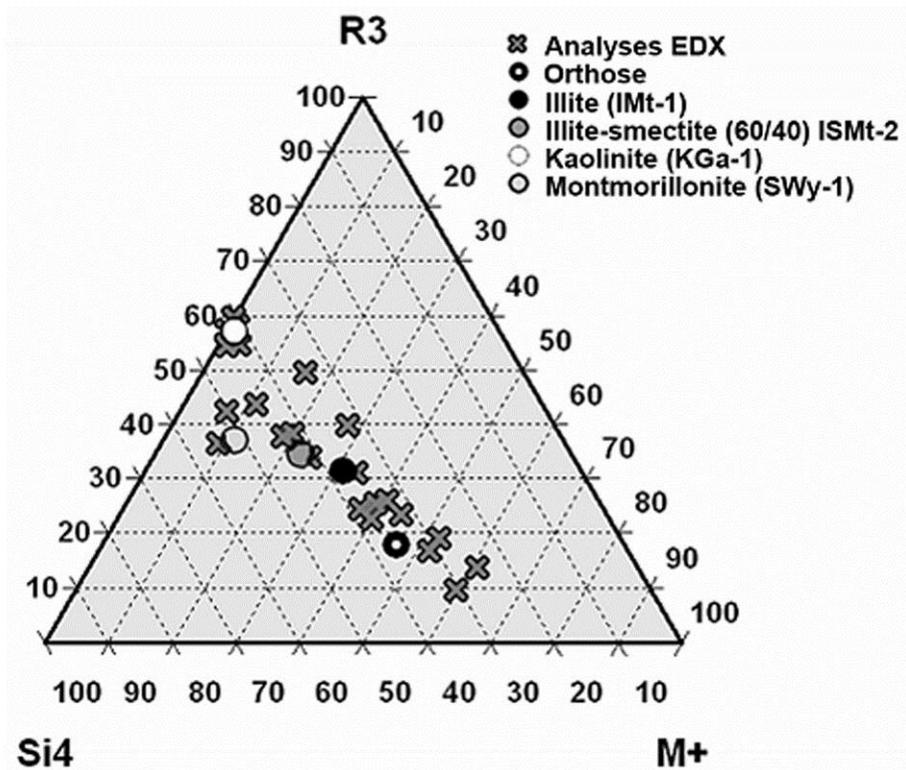


Figure 4.33. Représentation en diagramme ternaire des compositions des particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim. Les nombres de cations sont basés sur les calculs de formules structurales. X: analyses des particules individuelles par EDX; ○: minéraux de références.

Les points représentatifs des analyses de particules de kaolinite se situent au point de référence. On peut donc penser que des kaolinites pures se trouvent parmi les argiles automorphes des retombées atmosphériques. D'autres points d'analyses sont proches du point de la montmorillonite utilisée comme référence pour la smectite et d'autres sont proches du pôle de référence de l'illite-smectite ISMt-2 à 60 % d'illite. Cependant, certains de ces points sont décalés vers le pôle R3 par rapport aux deux minéraux choisis comme référence. Ce décalage soulève deux hypothèses, ou les argiles analysées sont plus riches en fer et/ou magnésium que l'argile de référence, ou elles sont plus pauvres en silicium. Il a été évoqué dans la section relative aux particules des solutions de sols (ce chapitre, § III.1.1.1.), que ce décalage peut-être lié à la présence de revêtements d'oxydes de fer sur les argiles. La présence de tels revêtements est également possible ici en adéquation avec les résultats présentés sur la figure 4.35, qui montrent une anomalie positive en Fe très nette pour les interstratifiés. Cependant, il peut également s'agir de Fe octaédrique évoquant une composition plus proche de phyllosilicates ferromagnésiens tels que biotite, phlogopite, vermicule ou chlorite. Cette

hypothèse est en accord avec une composition plus pauvre en silicium structural et s'applique aux minéraux présentant une anomalie négative en Si.

Un seul point sur la figure 4.33 se superpose au point correspondant à l'illite de référence IMt-1. Il y a donc peu d'illite pure dans les retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim.

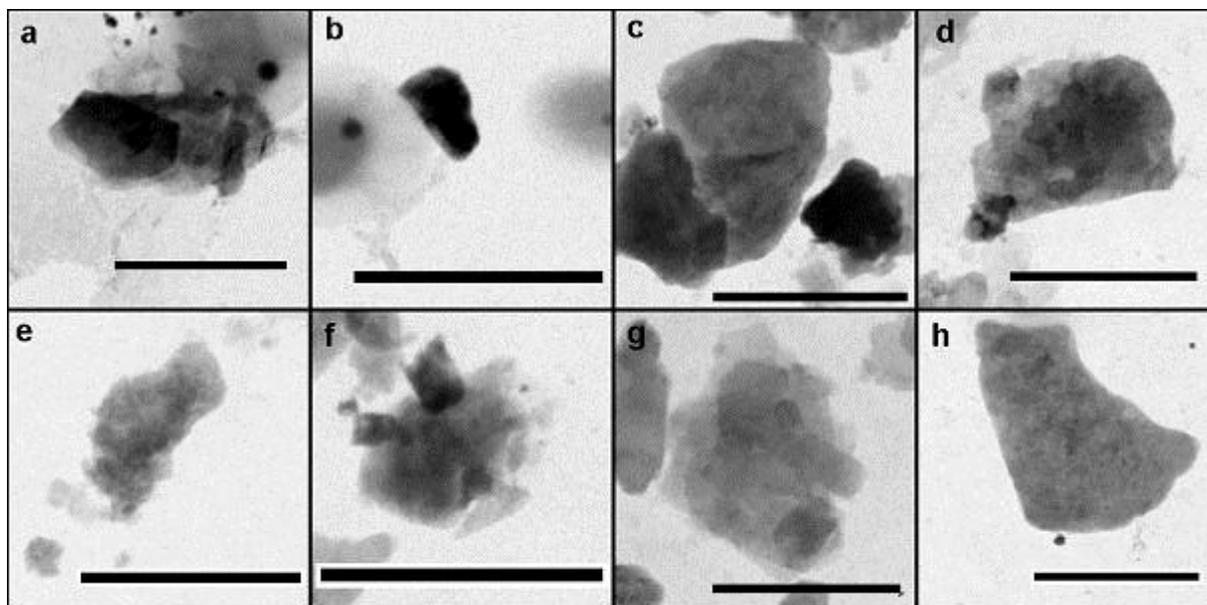


Figure 4.34. Images en MET des particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim dont les analyses sont déviées vers le pôle alcalin (M^+). **a), b), c), d)** : particules avec un pourcentage relatif en alcalins supérieur à 50% ; **e), f), g), h)** : particules avec un pourcentage relatif en alcalins compris entre 35 et 45%. Barre d'échelle : 1 μm .

Enfin, les points qui correspondent aux analyses les plus riches en alcalins se répartissent en deux groupes distincts. En effet, les 5 particules pour lesquels l'analyse montre un pourcentage relatif en alcalins compris entre 35% et 45% sont à dissocier des 4 particules ayant les concentrations en alcalins les plus fortes (> 50%). Cette différence est basée sur trois arguments : (i) les particules les plus alcalines ne contiennent pas ou très peu de fer et magnésium contrairement aux cinq autres ; (ii) les quatre particules les plus alcalines présentent des densités électroniques plus fortes (figure 4.34.a,b,c,d) que les argiles contenant entre 35 et 45% d'alcalins (figure 4.34.e,f,g,h) ; (iii) les argiles les plus alcalines sont fréquemment associées à de la matière organique, ce qui est notamment visible sur la figure 4.34.a,b. Il est donc possible de déterminer la nature des argiles correspondant à ces 9 points d'analyses : les 5 particules du groupe le moins alcalin sont des illites et les 4 du groupe le

plus alcalin sont des feldspaths potassiques. Cependant ces particules sont toutes plus riches en alcalins que les minéraux de référence du fait de leur association avec des organo-sels.

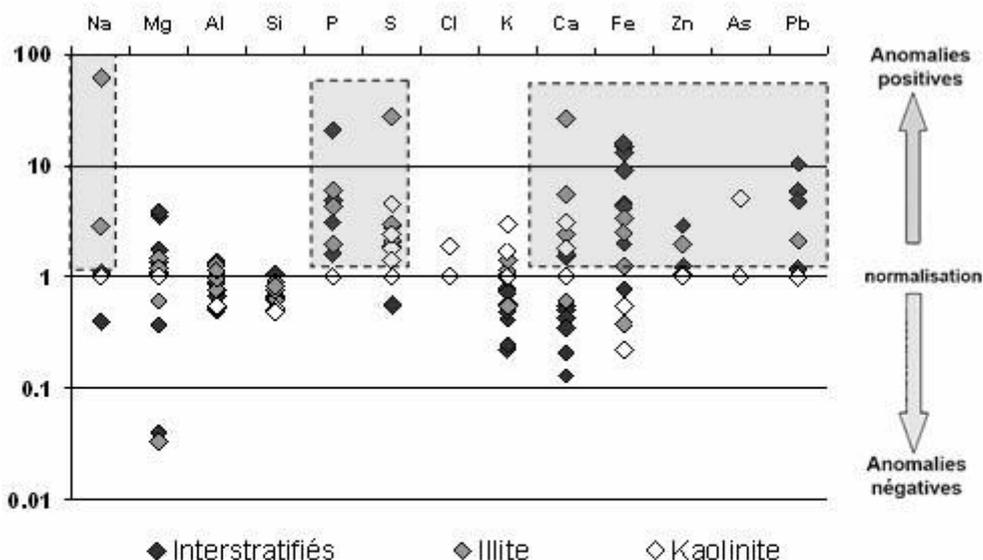


Figure 4.35. Diagramme des concentrations élémentaires normalisées des analyses d'argiles automorphes des retombées atmosphériques à Wintzenheim exprimées en nombre de cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates. La ligne $y=1$ représente les minéraux de références. ◆ : interstratifiés. ◆ : illites. ◆ : kaolinites.

Dans certains cas (figure 4.35), l'analyse a révélé la présence de plomb associé aux particules argileuses, ainsi 4 interstratifiés et 1 illite (sur 8 interstratifiés et 4 illites analysées) contiennent du plomb à hauteur de 0,01 à 0,1 cations/demi-maille pour les interstratifiés et 0,02 cations/demi-maille pour l'illite. Outre ces anomalies positives en plomb, la figure 4.35 montre des anomalies positives en soufre et phosphore pour les illites et interstratifiés ce qui corrobore l'adsorption de matière organique sur ces argiles. Les anomalies positives en fer sont attribuées soit à l'adsorption de fer sous forme d'oxy-hydroxydes à la surface des argiles, soit à la présence de fer structural présent dans le réseau cristallin des argiles. Etant donnée l'absence d'anomalie positive en fer pour les kaolinites, la deuxième hypothèse est privilégiée.

Les anomalies négatives en K et Ca pour les interstratifiés sont liées au fait que l'interstratifié de référence possède ces cations dans l'espace interfoliaire en plus grande quantité. Les particules analysées ici sont donc très certainement plus smectitiques que l'illite-smectite à 60-70% d'illite utilisée pour la normalisation.

III.2.1.2. Les particules argileuses altérées des retombées atmosphériques à Wintzenheim

Les particules argileuses altérées des retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim sont constituées de minéraux chimiquement similaires aux argiles automorphes mais avec un faciès nettement différent. Il s'agit de particules de tailles infra-micrométriques avec des contours très diffus et une densité électronique faible se traduisant par des teintes de gris de bas ordre dans les images en MET (figure 4.36). La distribution de taille de ces particules individuelles (mesurée sur 935 constituants) est de type unimodale asymptotique très resserrée vers les très petites tailles (figure 4.37.a). En effet, 99,6% des particules argileuses altérées ont un diamètre apparent $< 0,45 \mu\text{m}$ et 84,6% ont un diamètre apparent $< 100 \text{ nm}$. En termes de facteur de forme (figure 4.37.b), il apparaît que cette population de particules, de forme peu allongée, est très homogène avec un facteur de forme compris entre 1,1 et 1,7 à quelques exceptions près puisque sur les 736 particules considérées, seulement 21 ont un rapport de forme supérieur à 1,7, soit moins de 3%. Il est à noter que les particules argileuses altérées ont une forte tendance à s'agréger.

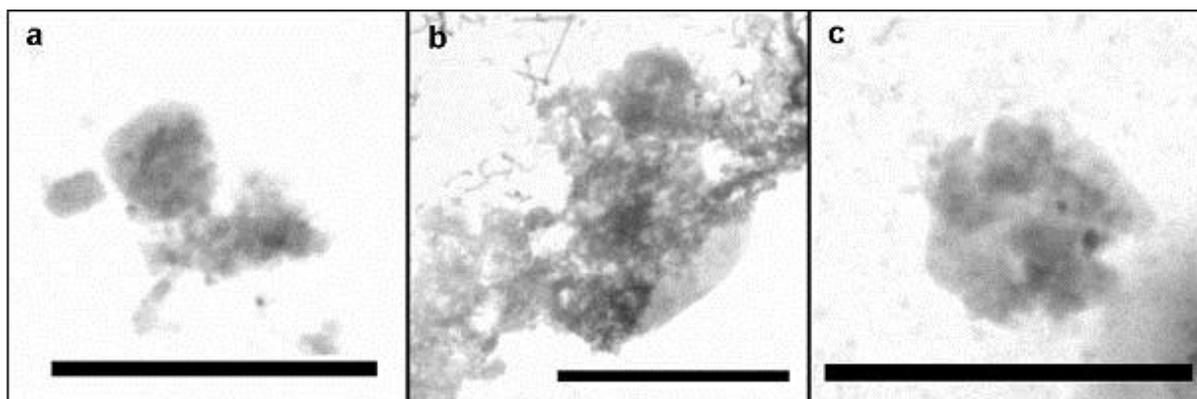


Figure 4.36. Images en MET de particules argileuses altérées présentes dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim. Barre d'échelle : $1 \mu\text{m}$.

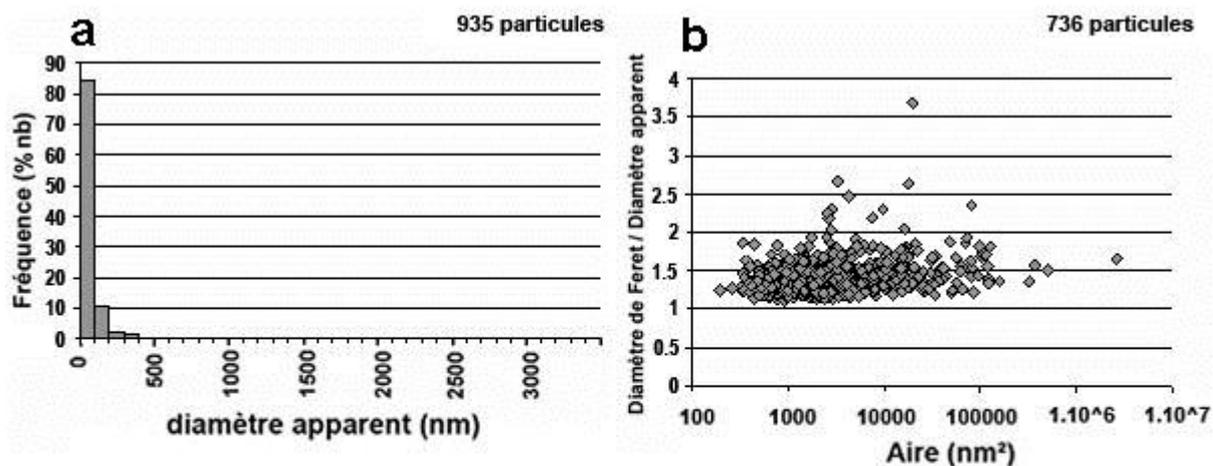


Figure 4.37. Distribution de taille et facteur de forme des particules argileuses altérées des retombées atmosphériques à Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (935 particules représentées). **b)** Représentation du facteur de forme (736 particules) en fonction de l'aire.

Les argiles altérées des retombées atmosphériques à Wintzenheim sont pour la plupart des interstratifiés illite-smectite (figure 4.38). Sur les 6 particules analysées, 4 sont du type illite-smectite, 1 a une composition de montmorillonite et la dernière correspond à un feldspath potassique altéré (figure 4.38). Contrairement aux analyses réalisées sur les argiles automorphes à sub-automorphes (figure 4.33, paragraphe III.3.1.1.), il n'y a pas de kaolinite parmi les argiles altérées et aucune des particules analysées ne présente d'enrichissement marqué en éléments alcalins.

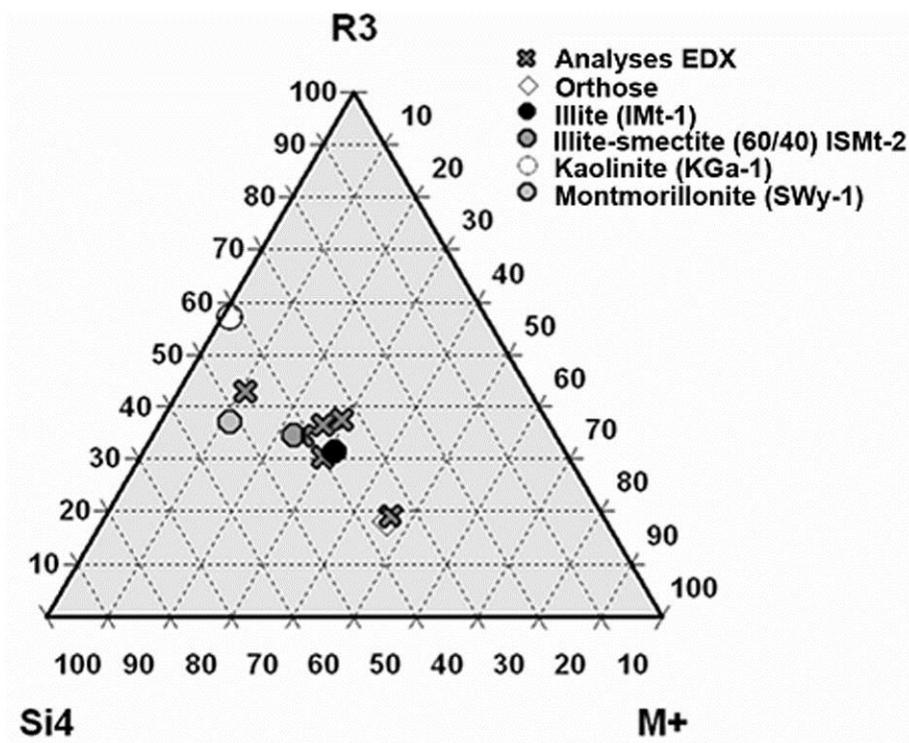


Figure 4.38. Représentation en diagramme ternaire des rapports de cations des argiles altérées des retombées atmosphériques à Wintzenheim. **x** : analyses des nanoparticules ; **○** : minéraux de références.

La figure 4.39 présente le nombre de cations métalliques (Fe, Zn, Cd, Ni, As et Pb) par demi-maille, pour les 6 particules d'argile altérée analysées. Cette représentation en nombre de cation par demi-maille est basée sur les calculs de formules structurales pour lesquels les métaux sont considérés comme des cations compensateurs à l'exception du fer considéré d'abord comme un élément de structure dans la couche octaédrique et, en cas d'excès, comme un cation compensateur. L'une des analyses d'interstratifié est complètement dépourvue de métaux lourds alors que les cinq autres analyses (feldspath compris) en contiennent. Le fer est abondant pour chacune des 5 analyses. Il peut s'agir de revêtements d'oxyde de fer à la surface des minéraux ou de fer structural entrant dans la composition des feuillets, ce qui n'est pas le cas pour le feldspath. Les concentrations en zinc sont, soit le fait d'échange cationique entre les cations interfoliaires et le zinc, soit liées à des revêtements d'oxydes de fer. Enfin, 2 des particules sont enrichies en plomb et 1 en arsenic.

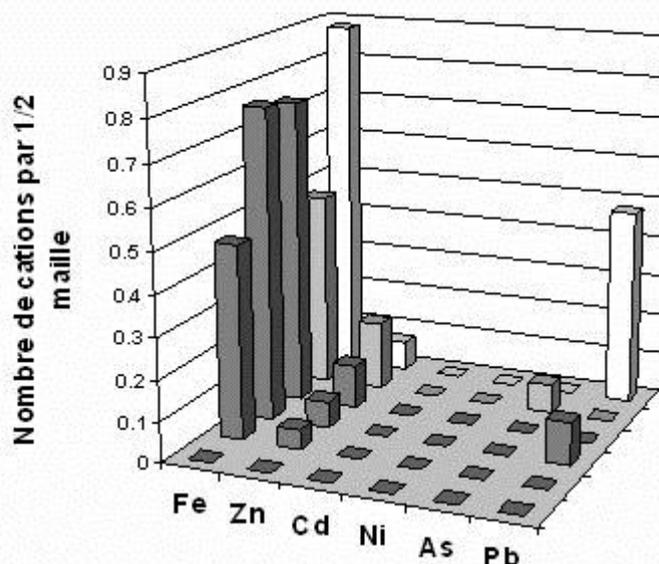


Figure 4.39. Nombre de cations métalliques par demi-maille d'argiles altérées, calculés sur la base de minéraux 2:1, dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim. ■: interstratifiés illite-smectite; ▒: montmorillonite; □: feldspath altéré.

III.2.1.3. Les sels des retombées atmosphériques à Wintzenheim

Plusieurs types de sels ont été caractérisés dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim. La figure 4.40 en montre différentes morphologies. Certaines particules sont très denses aux électrons et très découpées sans forme caractéristique (figure 4.40.a,b,c); d'autres sont sous forme de nano-billes (figure 4.40.d) et certaines apparaissent sous forme de filaments (figure 4.40.e,f).

Les sels ont des tailles assez peu diversifiées puisque 65% des 600 particules mesurées ont un diamètre apparent inférieur à 100 nm et 92% ont un diamètre apparent inférieur à 0.45 μm (figure 4.41.a). La représentation du rapport de forme de 545 particules de sels (figure 4.41.b) montre qu'il s'agit d'une population hétérogène comprenant aussi bien de particules circulaires du type nano-billes (figure 4.40.d), que de particules légèrement allongées (figure 4.40.a,b,c) ou encore très allongées correspondant à des sels en forme de filaments (figure 4.40.e,f).

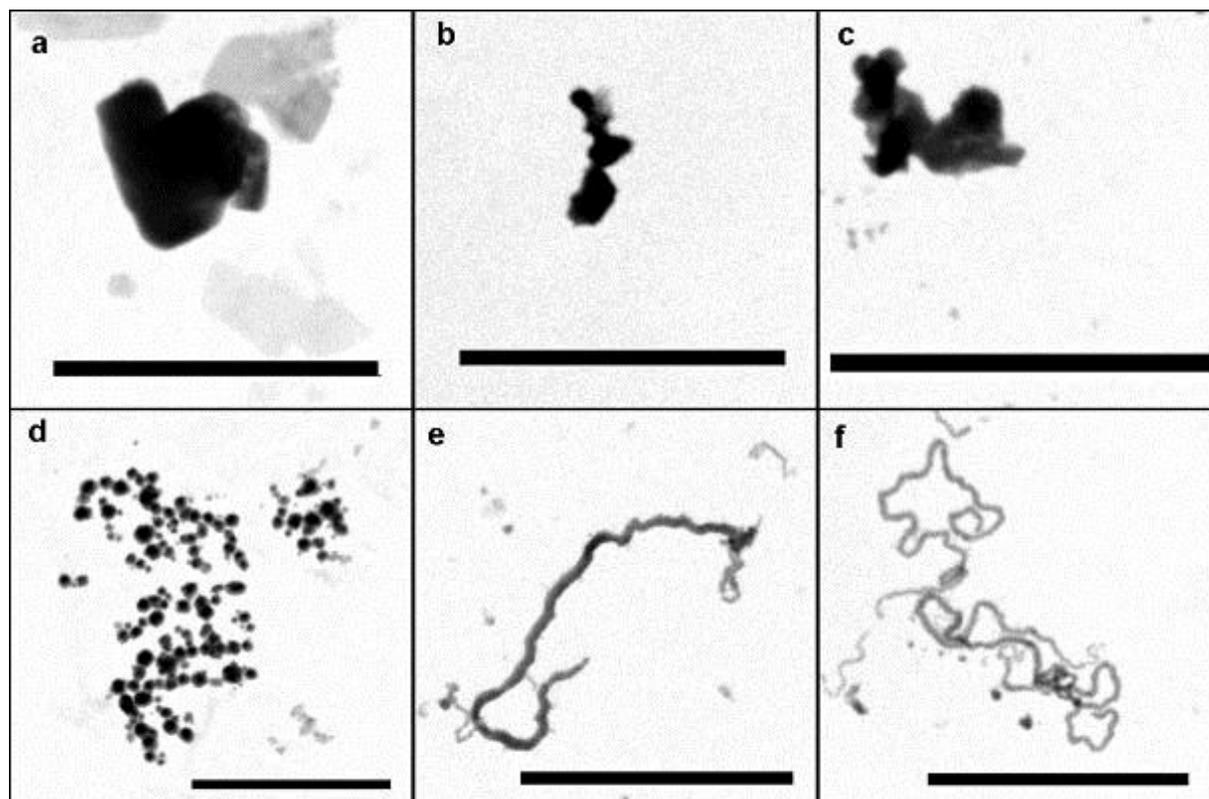


Figure 4.40. Images en MET des particules de sels des retombées atmosphériques à Wintzenheim. **a) b), c)** : sels « lourds » non automorphes; **d)** : nano-billes; **e), f)** : filaments. Barre d'échelle : 1µm.

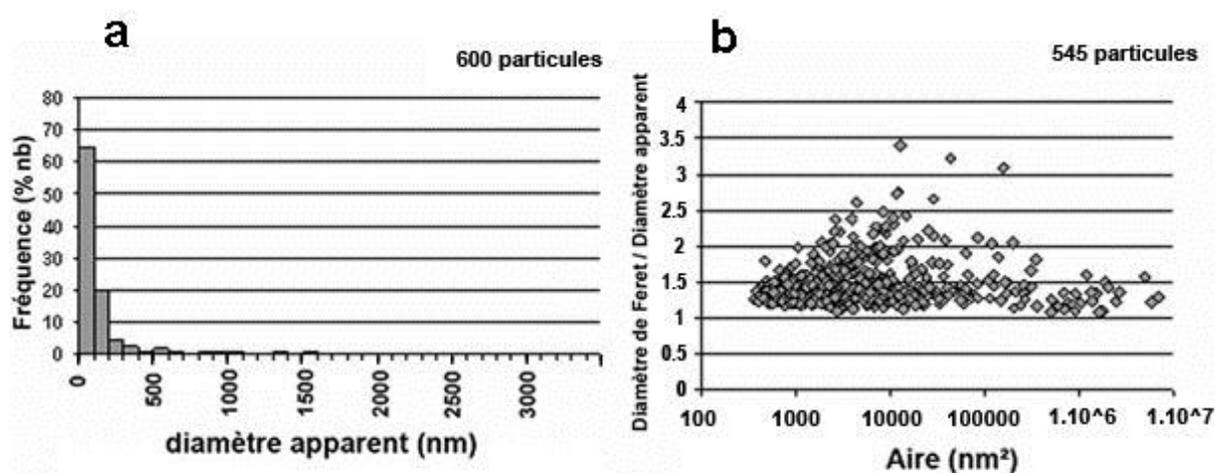


Figure 4.41. Distribution de taille et facteur de forme des particules de sels des retombées atmosphériques à Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (600 particules représentées). **b)** Représentation du facteur de forme (545 particules) en fonction de l'aire.

Sur les 23 particules de sels analysées dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim, 22 sont des sulfosels et 1 est un phosphate. Ces sulfosels contiennent toujours des métaux, qu'il s'agisse de Fe (3 particules), Ni (2 particules), Zn (9 particules), As (1 particule), Cd (1 particule) et/ou Pb (2 particules). Dans tous les cas, les métaux lourds détectés ne représentent que des concentrations mineures.

III.2.1.4. Les oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Wintzenheim

Parmi les constituants de la phase particulaire des retombées atmosphériques de Wintzenheim, les oxy-hydroxydes constituent un type bien déterminé mais peu abondant. En effet, seulement 34 particules sur les 4093 observées sont des oxydes ou hydroxydes. Une de leur spécificité est que les caractéristiques électroniques sont homogènes se caractérisant par une très forte densité électronique qui contraste fortement les images au MET (figure 4.42). Ils sont présents sous des formes très diversifiées (figure 4.42 et figure 4.43.b), toujours de petite taille (figure 4.43.a) puisqu'aucune des particules n'a un diamètre apparent excédant 600 nm et 91% ont un diamètre inférieur à 0.45 μm . L'étude du rapport de forme réalisée sur 26 particules montre une forte hétérogénéité autant en taille qu'en forme (figure 4.43.b).

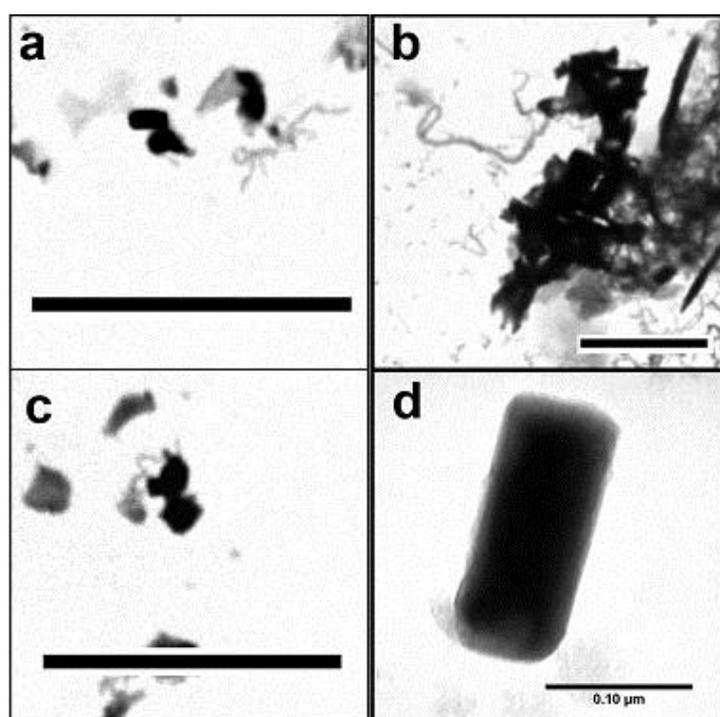


Figure 4.42. a), b), c), d) Images en MET d'oxy-hydroxydes métalliques des retombées atmosphériques à Wintzenheim. Barre d'échelle : 1 μm sauf f) 0.1 μm

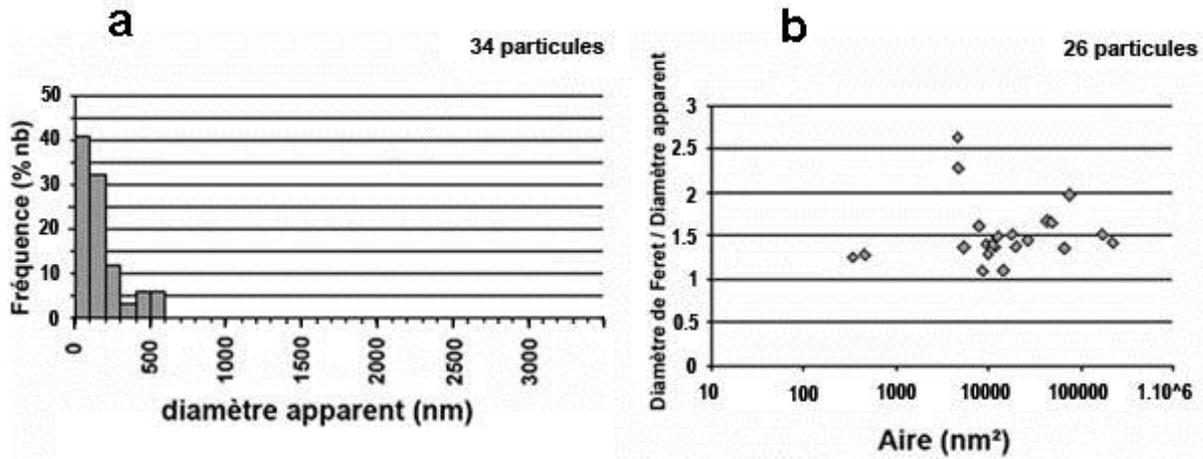


Figure 4.43. Distribution de taille et facteur de forme des particules de type oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm. (34 particules représentées). **b)** Représentation du facteur de forme (26 particules) en fonction de l'aire.

Seules quatre particules d'oxy-hydroxydes ont été analysées dans les retombées atmosphériques de Wintzenheim. Trois de ces particules sont des oxydes de plomb et 1 est un oxyde de fer légèrement plombifère (figure 4.44). Comme pour les oxy-hydroxydes des eaux d'infiltration, il faut rester prudent quant aux traces d'arsenic associées aux analyses des particules riches en plomb.

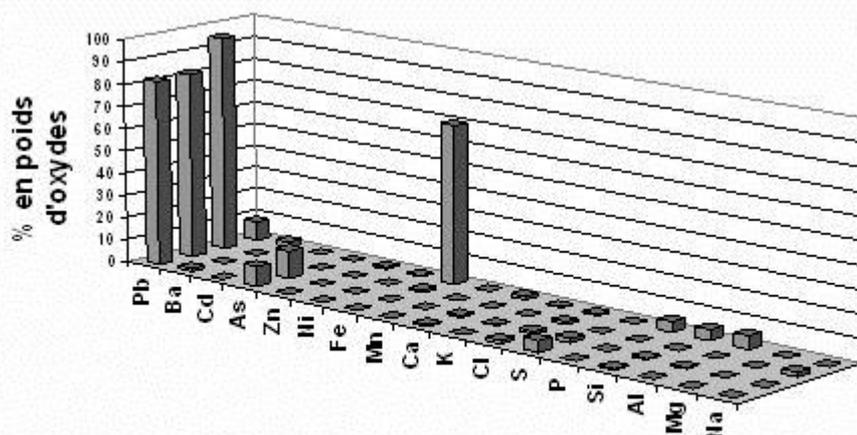


Figure 4.44. Représentation de la composition chimique des oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Wintzenheim. Les concentrations sont exprimées en poids d'oxydes. 3 particules sont des oxydes de plomb est 1 un oxyde de fer plombifère.

III.2.2. Les constituants organiques des retombées atmosphériques à Wintzenheim

III.2.2.1. Les bactéries des retombées atmosphériques à Wintzenheim

La présence de bactéries dans l'atmosphère et donc dans les retombées au sol a déjà été signalée dans de nombreux cas (Posfai et al., 2003a; Posfai et al., 2003b). Ceci est également vérifié dans le travail présent puisque sur les 4093 particules observées au cours des 5 mois de suivi, 51 bactéries ont été identifiées. Ces bactéries sont de différents types, à la fois sur des grilles différentes et sur une même grille. Il peut s'agir de microorganismes flagellés (figure 4.18.b,f) ou non (Figure 4.18.c,d,e), présentant parfois des microflagelles parfois difficiles à visualiser du fait de leur finesse (figure 4.18.a). De plus, certaines de ces bactéries sont parfois associées ou interconnectées à et par des biofilms autoproduits de type exopolysaccharide (figure 4.18.a,c,d,e). Dans les retombées atmosphériques de Wintzenheim, les bactéries ne sont jamais à proprement parler sous forme de colonies. Les seules associations de bactéries qui ont été déterminées sur les grilles n'excèdent pas 4 individus et, lorsque c'est le cas, ces regroupements constituent toujours des agrégats organo-minéraux. Comme pour les bactéries du sol, il est impossible de déterminer avec certitude les espèces présentes (ce chapitre, § III.1.2.1.).

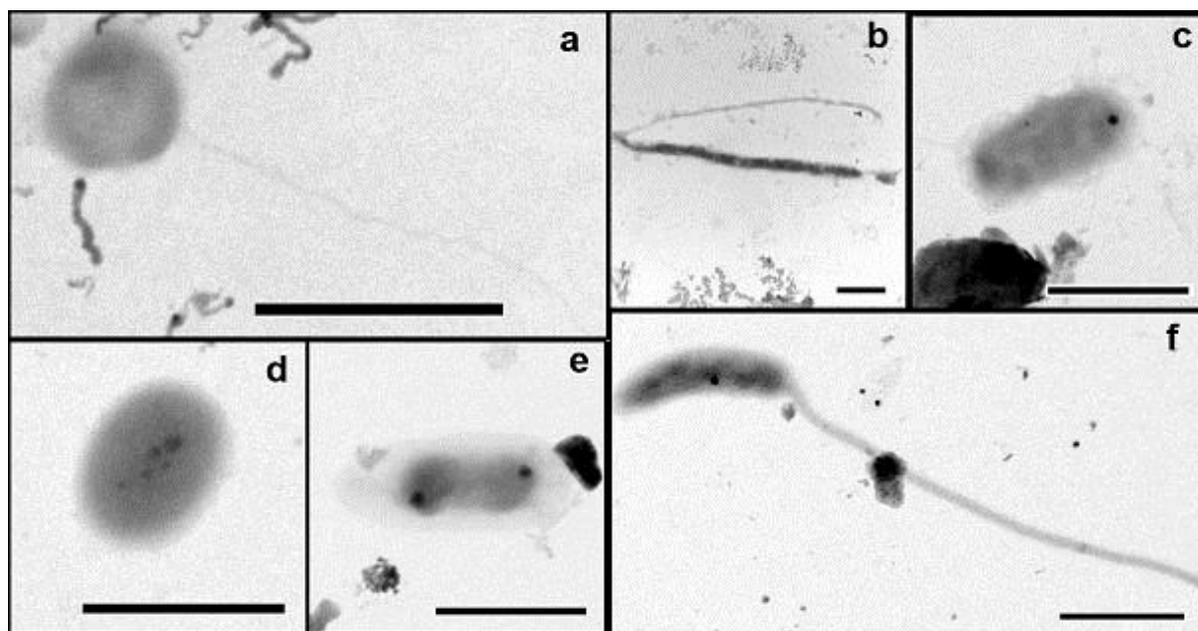


Figure 4.45. Images en MET de bactéries des retombées atmosphériques à Wintzenheim. a) : bactérie avec micro-flagelle; b) et f) bactéries avec flagelle ; c) d) et e) bactéries avec granules internes et exopolysaccharides. Barre d'échelle : 1 μ m.

La figure 4.46 montre que les bactéries ont une distribution de taille de type gaussien, avec un diamètre apparent centré autour de 700 nm. Les quelques bâtons représentatifs de plus grosses bactéries (> 1,2 µm) sont imputables à la fois au comptage de bactéries en cours de division et de bactéries présentant des aires plus importantes du fait de la prise en compte dans la mesure des flagelles ou/et d'exopolysaccharides. Le facteur de forme montre que ces constituants sont dominés par les microorganismes de type bacille (ellipsoïdaux, figure 4.45.c,d,e). Quelques bactéries plus allongées ont un facteur de forme supérieur à 2,5 (similaires à celle de la figure 4.45.b).

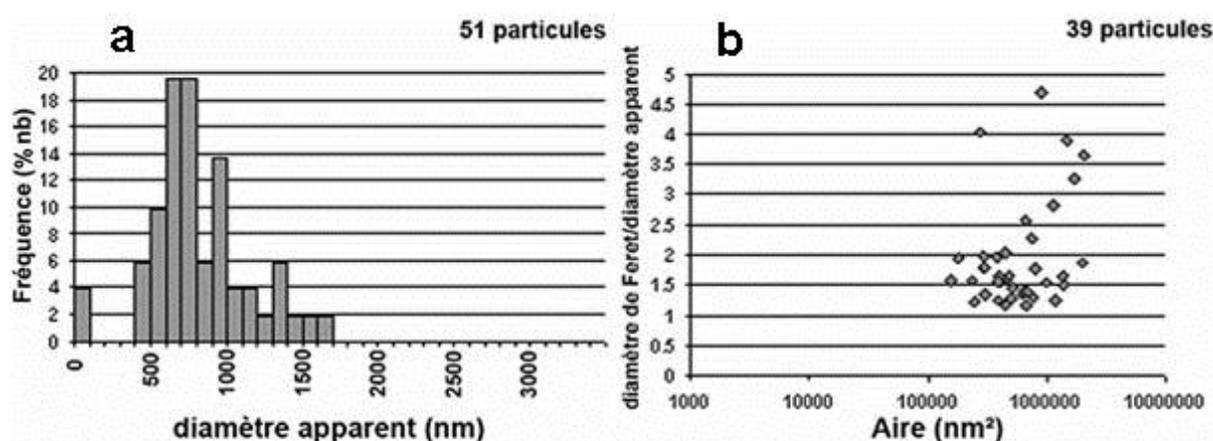


Figure 4.46. Distribution de taille et facteur de forme des bactéries des retombées atmosphériques à Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des bactéries en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (51 bactéries représentées). **b)** Représentation du facteur de forme (39 bactéries) en fonction de l'aire.

Vingt bactéries ont été analysées au cours de la campagne d'échantillonnage des retombées atmosphériques à Wintzenheim. Sur ces 20 analyses, 11 ont porté sur le corps des bactéries. Les 9 autres analyses ont consisté en une analyse ponctuelle au MET de granules internes très sombres repérés fréquemment à l'intérieur même des cellules microbiennes. Les analyses sur les cellules bactériennes montrent qu'elles sont classiquement riches en carbone, chlore et soufre et dans une moindre mesure en phosphore. La présence de métaux dans ou associés à ces bactéries a également été notée. Il s'agit essentiellement de Pb et parfois de traces de Fe, Cd, Ni, Zn et As. La figure 4.47 montre les proportions relatives en plomb et arsenic par rapport au phosphore pour l'ensemble des analyses (cellules et granules). Il apparaît ainsi que

le plomb est présent en grande quantité dans une majorité des bactéries (11 analyses sur 20). De plus la seule analyse réalisée sur une bactérie du prélèvement du mois d'avril montre la présence d'As en quantité significative. L'autre bactérie contenant de l'arsenic a été échantillonnée au mois de juillet.

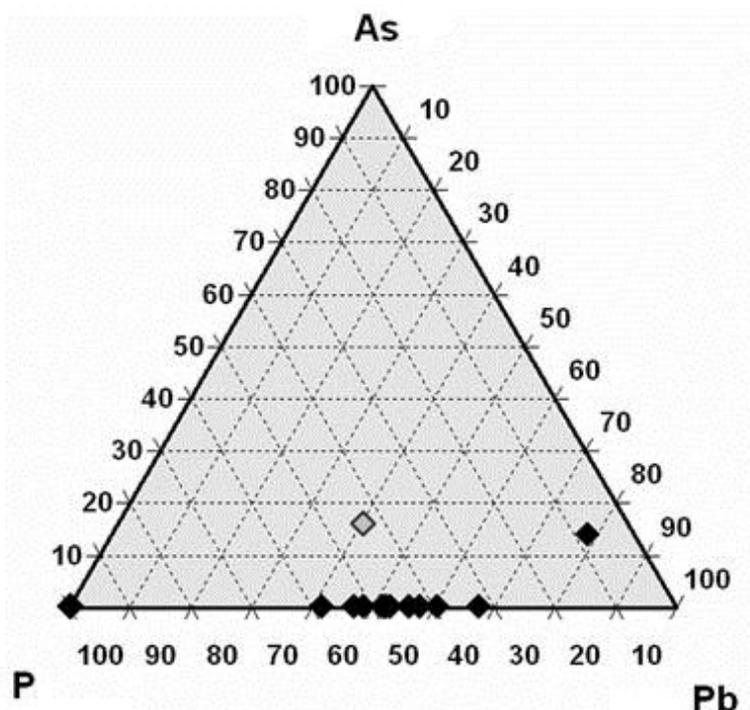


Figure 4.47. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en P, As et Pb contenus dans 20 bactéries des retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim (cellules + granules). \diamond : analyse de bactérie du mois d'avril. 7 analyses sont superposées sous le pôle P.

Par ailleurs, la différenciation faite entre les cellules et les granules internes (figure 4.48) permet de mettre en évidence des concentrations importantes en plomb dans les granules. La grande majorité des cellules bactériennes ne contient pas du tout de plomb alors que la très grande majorité des granules en contient, associé à du phosphore. Il semblerait donc, que les bactéries présentes dans les eaux d'infiltration du sol immobilisent Pb à l'intérieur de granules internes sous une forme encore indéterminée mais en association avec P. Ce point sera discuté plus amplement dans la suite du travail.

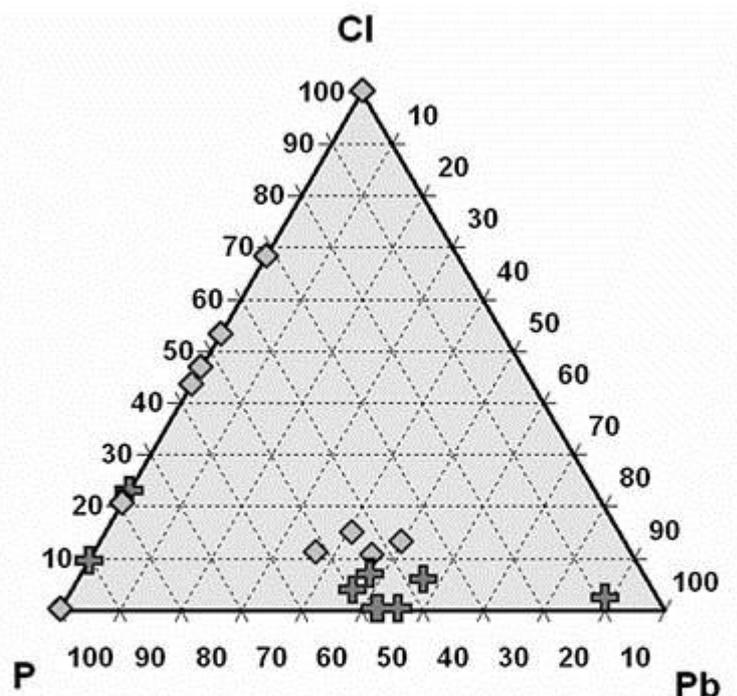


Figure 4.48. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en P, Cl et Pb contenus dans les bactéries (cellules + granules) des retombées atmosphériques à Wintzenheim. \diamond : cellules (11 analyses). \oplus : granules internes (9 analyses). 1 analyse se trouve au pôle P (1 cellule); 1 analyse se trouve au pôle chlore (1 cellule).

III.2.2.2. Les composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Wintzenheim

Parmi les constituants organiques repérés dans la phase particulaire présente dans les retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim, l'un des constituants majeurs est la matière organique libre. Il s'agit pour l'essentiel de composés organiques non-vivants de types "biofilm", sur la base d'une différence avec les biofilms connectés aux microorganismes. Il s'agit de matière libre dans la solution présente sous forme de voiles ou d'entrelacs de formes et d'aspects très variés (figure 4.49). Il peut, là encore, s'agir de bactéries "mortes", d'acides humiques, de sécrétions de mucus végétaux, etc... Ces particules sont généralement de petites tailles puisque 97% d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à $0.45 \mu\text{m}$ (figure 4.50.a). Cependant certains entrelacs peuvent présenter de très grandes surfaces. La figure 4.50.b montre une grande variabilité de forme de ce type de constituants. Par ailleurs, la forme très particulière des constituants et leur nature suggère une très forte réactivité et des propriétés de complexation importantes.

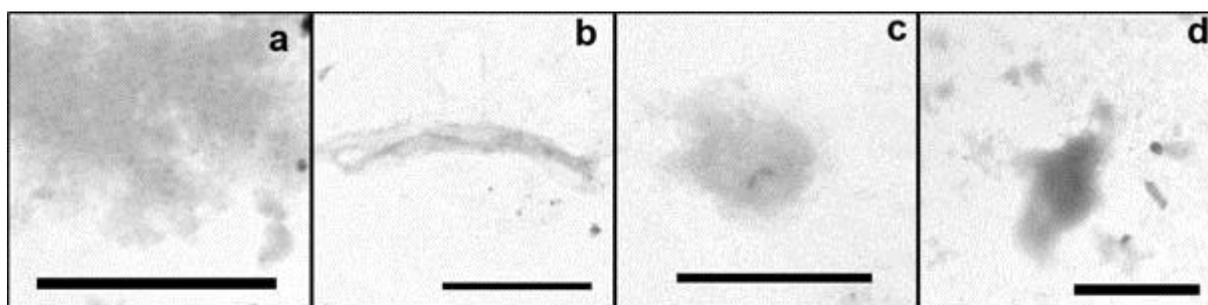


Figure 4.49. Images en MET de composés organiques non-vivants présents dans les retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim. Barre d'échelle : 1 μm .

Seules trois particules de ces composés organiques non-vivants ont été analysées en EDX. L'élément largement majoritaire est normalement le carbone qui dépasse 90%. Les analyses montrent par ailleurs que les trois particules contiennent des traces de métaux, tous différents. Une des particules présente des traces de fer, l'autre de cadmium et la dernière de nickel. Il est cependant impossible de quantifier l'importance réelle des métaux faute de standard interne pour l'élément C. De plus, le carbone mesuré correspond à la fois au carbone constitutif des composés eux-mêmes et au film de support recouvrant les grilles.

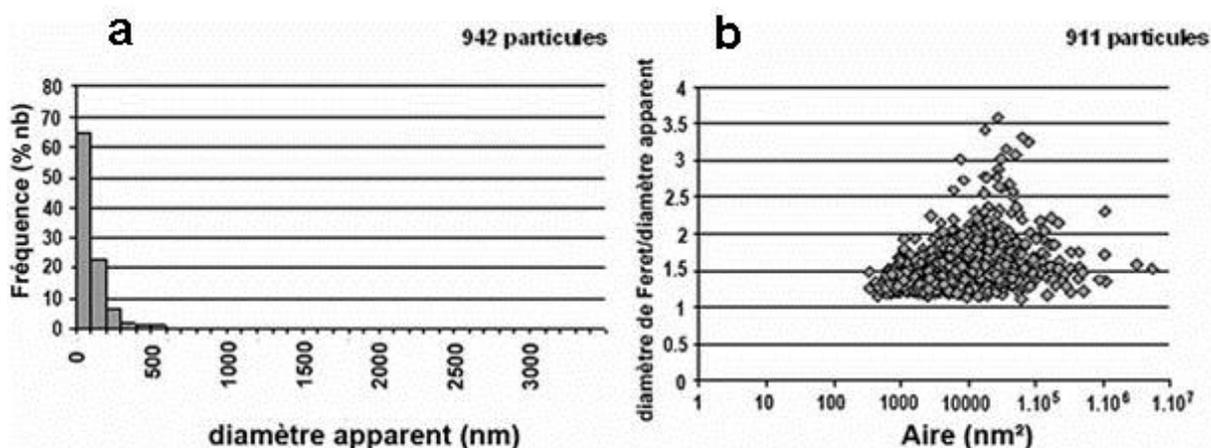


Figure 4.50. Distribution de taille et facteur de forme des particules de type composés organiques non-vivants. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (942 particules représentées). **b)** Représentation du facteur de forme de 911 particules en fonction de l'aire.

III.2.3. Les agrégats organo-minéraux des retombées atmosphériques à Wintzenheim

L'ensemble des particules décrites précédemment peut également former des nano- ou micro-agrégats. Ces agrégats comprennent toujours une phase biologique, que ce soit des bactéries ou tout autre type de matière organique. Ceci est particulièrement visible sur les particules représentées dans la figure 4.51. Plusieurs types d'associations sont possibles. Il peut s'agir de colonies bactériennes associées à des argiles, des sels ou des oxydes, ou bien de tapis organiques (« biofilms ») liant les mêmes constituants minéraux. Les agrégats sont toujours des complexes organo-minéraux. Par essence, ces complexes ont des tailles et des formes très hétérogènes (figure 4.52). Ainsi, sur les 36 particules mesurées, aucun diamètre apparent n'excède 15% en représentativité (figure 4.52.a) et les facteurs de forme calculés sur 31 particules montrent un étalement entre 1,2 et 2,5, sans concentration des points ni corrélation avec l'aire (figure 4.52.b).

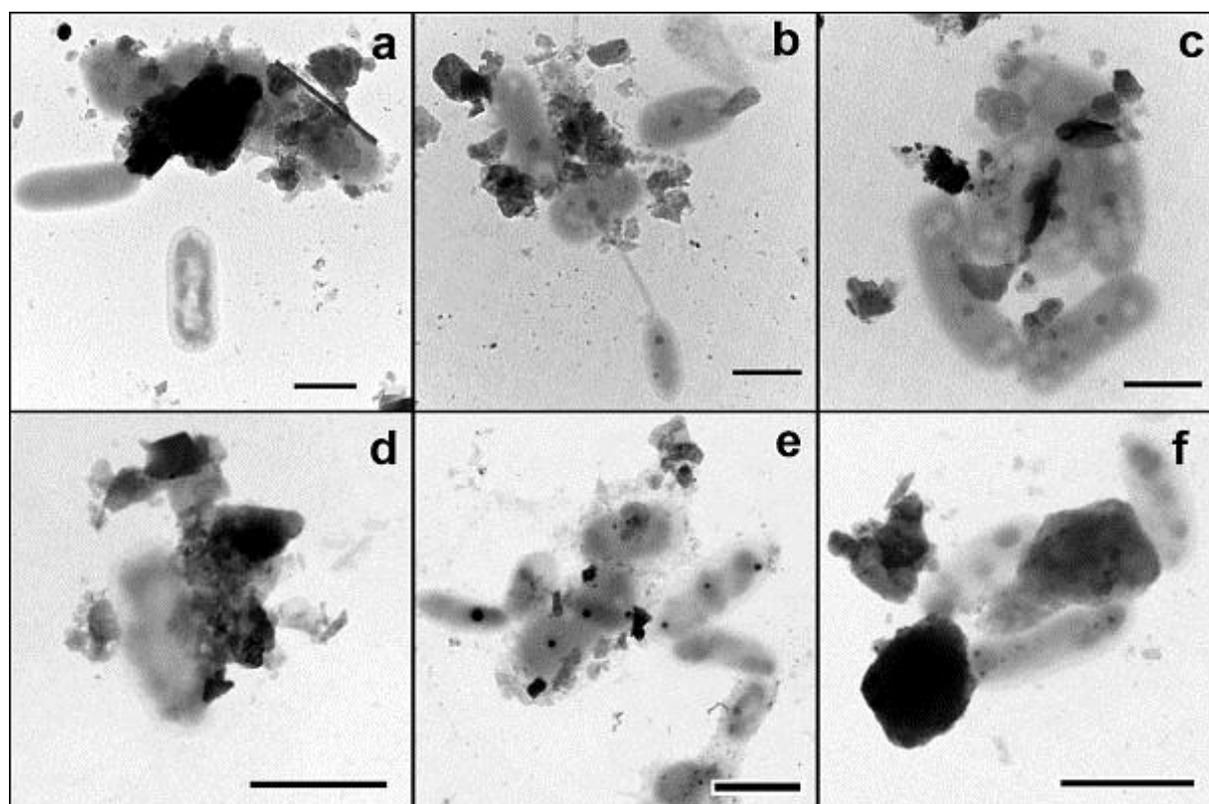


Figure 4.51. Images en MET de complexes organo-minéraux des retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim. Barre d'échelle : 1µm.

La différenciation entre agrégats naturels et agrégats secondaires formés par superposition de particules sur la grille n'est pas toujours évidente. Cependant, l'aspect très lié de ces complexes permet de penser qu'il s'agit le plus souvent d'agrégats naturels. Les agrégats figure 4.51 montrent ainsi une très nette association entre les particules minérales et le biofilm généré par les bactéries. D'un autre côté, les agrégats présentés, même s'ils sont essentiellement naturels, peuvent également avoir été modifiés par l'ajout de particules minérales supplémentaires, ou par la reproduction des bactéries pendant le mois de collecte sur le terrain.

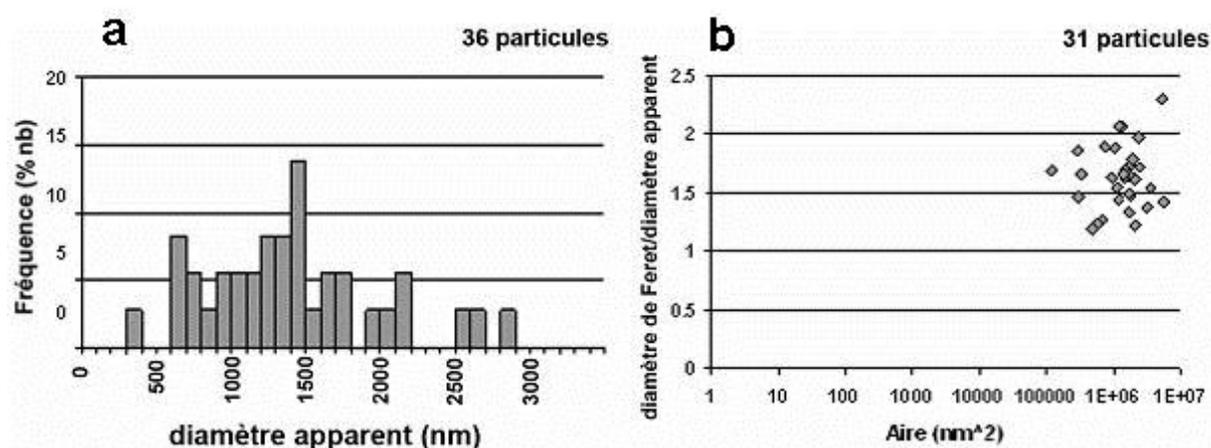


Figure 4.52. Distribution de taille et facteur de forme des agrégats atmosphériques à Wintzenheim. **a)** Distribution de taille des agrégats en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm (36 agrégats représentés). **b)** Représentation du facteur de forme (31 agrégats) en fonction de l'aire.

III.2.4. Les nanoparticules accessoires et indéterminées des retombées atmosphériques à Wintzenheim

III.2.4.1. Les minéraux accessoires des retombées atmosphériques à Wintzenheim

Dans le pool particulaire des retombées atmosphériques à Wintzenheim quelques particules ont été regroupées dans une classe de minéraux "accessoires", qui comprend deux minéraux assez rarement rencontrés lors de la campagne d'échantillonnage : le quartz (figure 4.53.a,b) et la calcite (figure 4.53.c).

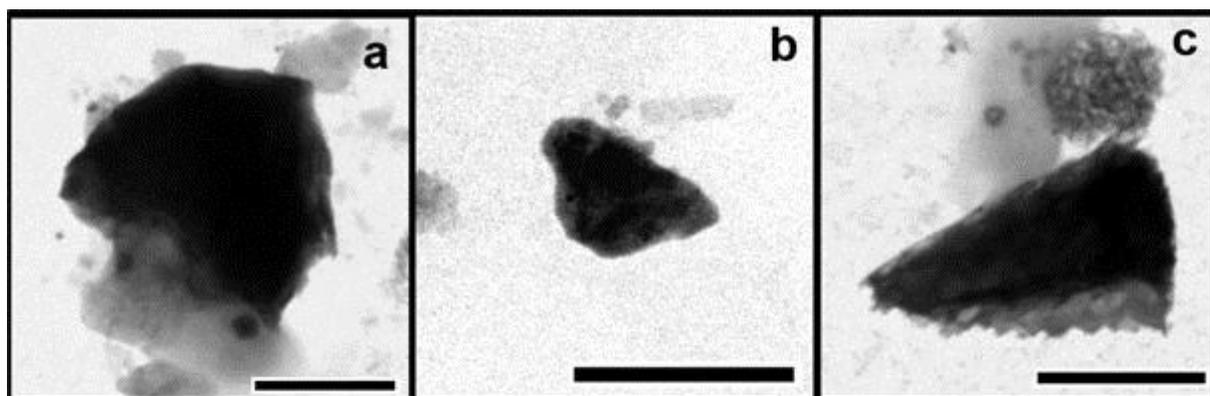


Figure 4.53. Images en MET de minéraux accessoires des retombées atmosphériques à Wintzenheim. a), b) : quartz ; c) : calcite. Barre d'échelle : 1 μ m.

Il est à noter que les feldspaths ne rentrent pas dans cette classe des minéraux accessoires. Ceci est volontaire parce que les feldspaths sont chimiquement très proches des argiles et parce qu'ils sont potentiellement altérables et parce que l'éventail des phases intermédiaires entre les feldspaths et les argiles ne permet pas toujours de les discriminer correctement.

III.2.4.2. Les constituants indéterminés des retombées atmosphériques à Wintzenheim

De même que pour les nanoparticules des eaux d'infiltration du sol, le type de certaines particules des retombées atmosphériques ne peut être déterminé avec certitude. Un exemple de telles nanoparticules est donné figure 4.54. Il s'agit le plus souvent de particules riches en phosphore (figure 4.54.a,b,d), ou bien fortement carbonées (figure 4.54.c,e). Une partie de ces

particules indéterminées, et notamment celles du type phosphaté, peuvent présenter des concentrations importantes en métaux, en particulier en Pb. Sur certaines grilles, le nombre de particules de type indéterminées, telles que présentées figure 4.54, peut être important.

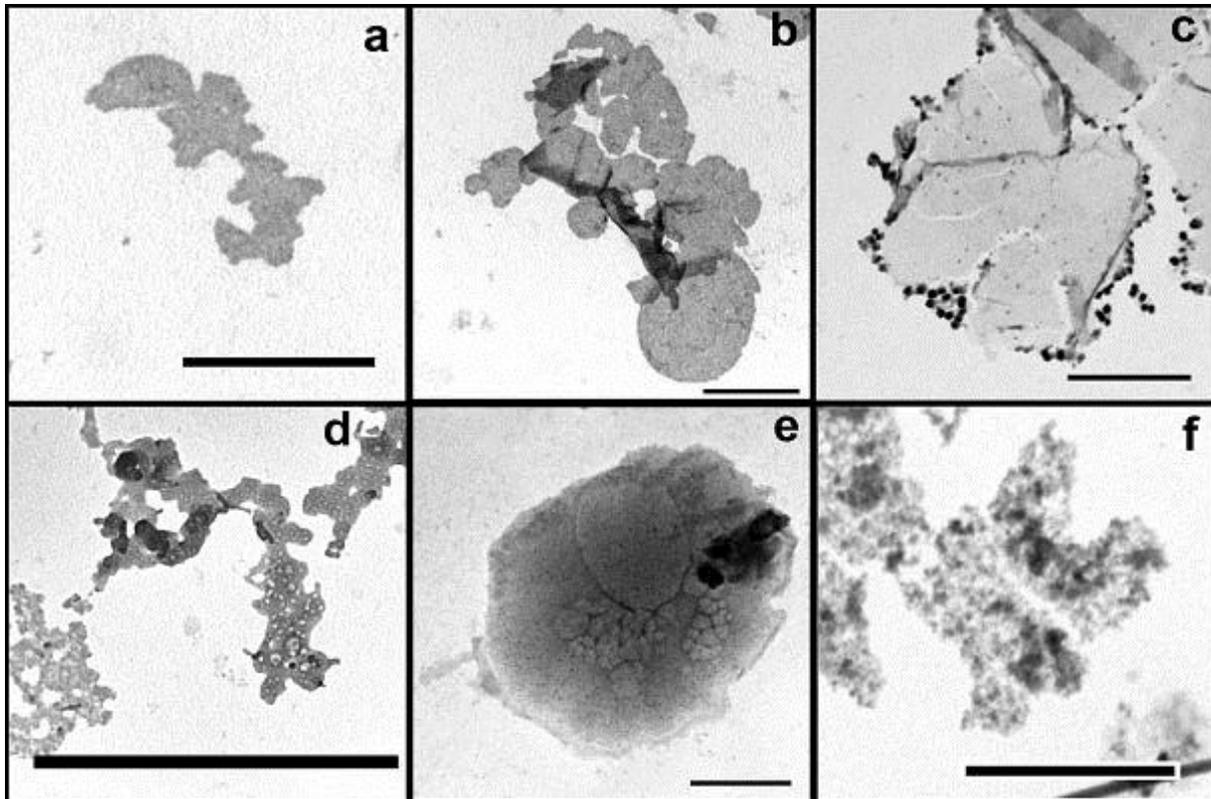


Figure 4.54. Images en MET de particules indéterminées des retombées atmosphériques à Wintzenheim. a), b) et d) sont riches en phosphore ; c) et e) riches en carbone ; la composition chimique de f) est inconnue. Barre d'échelle : 1 μm .

III.2.5. Synthèse des caractéristiques et réactivité des PFC des retombées atmosphériques à Wintzenheim

Différents types de nanoparticules et leurs caractéristiques physico-chimiques ont ainsi été caractérisés dans les retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim. Il s'agit des argiles automorphes à subautomorphes, des argiles altérées, des sels et des oxy-hydroxydes pour les particules minérales ; des bactéries et composés organiques non-vivants pour les particules organiques ; du groupe des agrégats ; et de deux classes « exotiques » par la mise en évidence de la présence de particules accessoires et de particules indéterminées.

Les *argiles automorphes* sont principalement des illites, des kaolinites et des interstratifiés de type illite-smectite. Sont inclus dans ce groupe les feldspaths altérés. Les argiles automorphes ont des tailles variées mais une grande majorité de celles-ci ont un diamètre apparent inférieur à 0,45 μm . Le caractère automorphe de ces particules implique qu'elles aient des formes très peu allongées. Les illites et feldspaths ne montrent que peu d'anomalies positives en éléments alcalins induites par un contact avec une solution saline. De plus, peu de particules présentent un enrichissement en fer attribuable à un revêtement d'oxyde de fer à leur surface ou à la présence de fer dans les couches octaédriques. Enfin, quelques argiles automorphes contiennent du plomb en assez faible quantité.

Les *argiles altérées* sont essentiellement des interstratifiés illite-smectite et plus rarement des montmorillonites et feldspaths altérés. Il s'agit de très petites particules puisque près de 85% d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à 100 nm et leurs formes sont très variées. Chimiquement, elles sont caractérisées par de forts enrichissements en fer et des enrichissements quantitativement moins importants en métaux et principalement en zinc et plus rarement en plomb. Le caractère altéré de ces particules se traduit toujours par une perte de cations alcalins.

Les *sels* identifiés sont de différents types. Il s'agit essentiellement de sulfosels. Leurs formes sont diverses, parfois automorphes, parfois sous forme de nano-billes et parfois sous forme de filaments soufrés. Leur particularité chimique réside dans leur enrichissement fréquent en métaux et notamment en zinc. L'origine de ces constituants est difficilement déterminable, mais il semble cependant qu'il s'agisse de particules peu solubles, le terme de sels étant donné d'après leur composition chimique.

Peu d'*oxy-hydroxydes* ont été analysés, ceci essentiellement parce qu'il s'agit d'un composé minoritaire dans les retombées atmosphériques. Cependant, ils sont toujours de très petite

taille et de forme très variée. Chimiquement, sur quatre analyses, trois sont des oxy-hydroxydes de Pb et un est un oxy-hydroxyde de Fe. Sans vouloir généraliser, il est probable que, au moins ces deux types d'oxy-hydroxydes, sont présents dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim.

De la même manière que dans les eaux d'infiltration du sol, les *bactéries* constituent un constituant important de la phase particulaire présente dans les retombées atmosphériques. Elles sont de différents types et de différentes tailles, présentes le plus souvent à l'état de cellules isolées et rarement en colonies regroupant seulement trois à quatre organismes. L'importance de ces microorganismes n'est pas numéraire mais réactive. En effet, Les analyses chimiques réalisées sur une vingtaine d'individus ont révélé la présence quasi-systématique de plomb associé à du phosphore dans des granules à l'intérieur même des bactéries. Ceci reflète la capacité des bactéries à mobiliser ou immobiliser le plomb et à le véhiculer dans l'atmosphère.

Les biofilms et *composés organiques non-vivants* divers sont assez fréquents sur les grilles, il s'agit de films organiques hautement réactifs contenant tous types de métaux.

Une classe supplémentaire bien particulière a été mise en évidence. Il s'agit des *complexes organo-minéraux*. Généralement de relativement grande taille pouvant atteindre plusieurs micromètres de diamètre, ces constituants sont des agrégats contenant différents types de constituants organiques et minéraux étroitement associés autour et dans un liant organique. De tels constituants présentent par essence une réactivité importante, et il a pu être vérifié qu'ils sont le siège d'interactions chimiques fréquentes avec des métaux. Ils constituent donc de « bons » vecteurs potentiels de diffusion des contaminants par voie atmosphérique.

Enfin deux classes de constituants « exotiques » ont été caractérisées dans la phase particulaire apportée au sol par les retombées atmosphériques. Il s'agit des *minéraux accessoires* ou des *constituants indéterminés*. Les minéraux accessoires, quartz et calcite, ne présentent jamais d'enrichissements en métaux. Les nanoparticules indéterminées, quant à elles, ont une importance dans le transport des polluants qui est mal connue puisqu'il s'agit de composés essentiellement carbonés ou phosphorés pouvant contenir des concentrations non négligeables de métaux.

III.3. Les nanoparticules des retombées atmosphériques à Breuil

III.3.1. Les constituants minéraux des retombées atmosphériques à Breuil

III.3.1.1. Les particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Breuil

Les argiles automorphes à sub-automorphes sont parmi les constituants majoritaires des retombées atmosphériques au sol de la forêt de Breuil. Physiquement, ces particules consistent pour la plupart en minéraux en plaquettes plus ou moins allongées et bien contrastées (figure 4.31.a,b,c,d), constituant parfois des agrégats naturels (figure 4.55.e). Dans certains cas, rares, ces argiles ont des faciès de type mica altérés (figure 4.55.f).

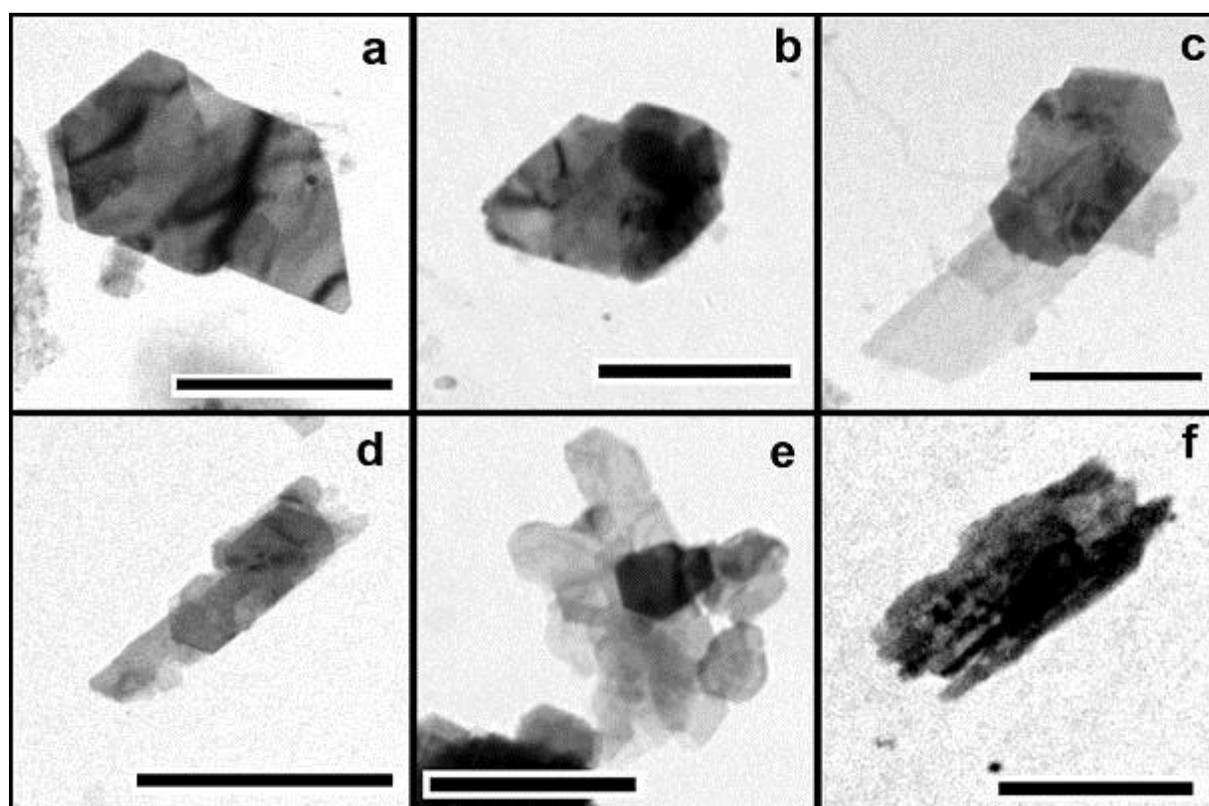


Figure 4.55. Images en MET de particules argileuses des retombées atmosphériques à Breuil. a), b), c), d) argiles automorphes de types illite et kaolinite ; e) : agrégat naturel d'argiles automorphes de types illite et kaolinite, f) phyllosilicate de type biotite. Barre d'échelle : 1 μ m.

La distribution de taille des particules argileuses automorphes, réalisée sur l'ensemble des échantillons, soit sur 2204 particules, montre qu'elles sont de taille relativement homogène tout au long de la campagne d'échantillonnage (figure 4.56.a,b). Il s'agit pour l'essentiel de nanoparticules puisque environ 85% d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à 0,45 μm . Le mode de distribution est unimodal asymptotique avec un maximum (62,5%) de particules ayant un diamètre apparent compris entre 0 et 200 nm (figure 4.56.a). Le facteur de forme (figure 4.56.b) est compris entre 1 et 2 ; la taille et la forme sont indépendantes. Il est possible d'associer ces rapports de formes aux images en MET. Ainsi les particules dont le facteur de forme est proche de 1 ont des formes de tablettes trapues telles que celles des argiles des figures 4.55.a,b,c. Les formes plus allongées avec un facteur de forme proche de 2 caractérisent, quant à elles, des argiles semblables aux particules des figures 4.2.d et f. Entre ces deux formes extrêmes, tous les intermédiaires existent.

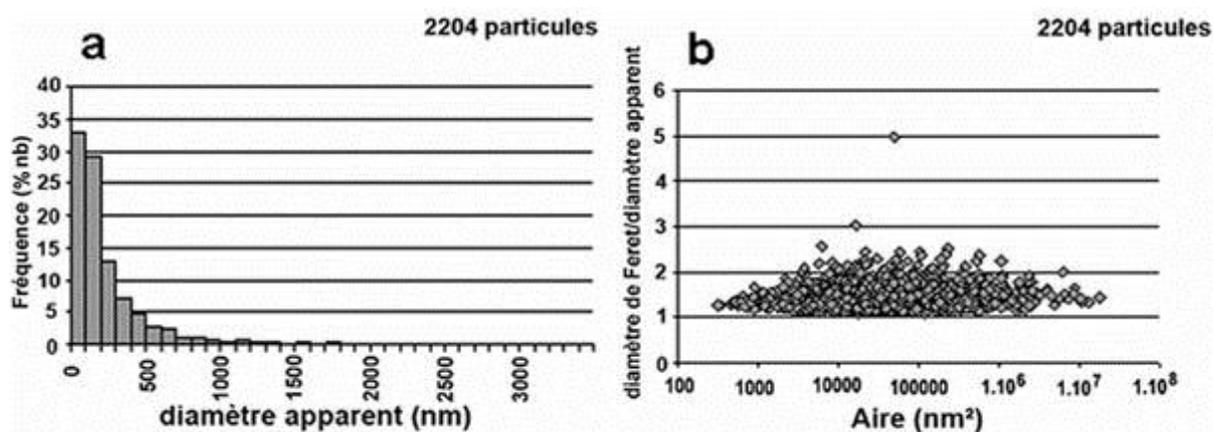


Figure 4.56. Distribution de taille et facteur de forme de 2204 particules argileuses automorphes des retombées atmosphériques à Breuil. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm. **b)** représentation du facteur de forme des argiles automorphes en fonction de l'aire.

Des analyses chimiques ont été effectuées en EDX sur 49 particules argileuses automorphes. La figure 4.57 représente ces compositions dans un diagramme ternaire ($\text{Si}^4 - \text{R}^3$ (Al, Fe, Mg) – M^+ (Ca, Na, K)) en nombre de cations calculés dans les formules structurales. Les points d'analyses sont répartis entre deux domaines bien distincts. Les argiles automorphes de la phase particulière des retombées atmosphériques au sol de Breuil sont principalement

constitué de kaolinite (31 analyses), puis d'illite (14 analyses) et de seulement quelques interstratifiés (4 analyses). Cependant, les points d'analyses de la figure 4.57 ne correspondent pas exactement aux points des minéraux de référence. Ils sont décalés vers le pôle alcalin M^+ , en particulier les illites.

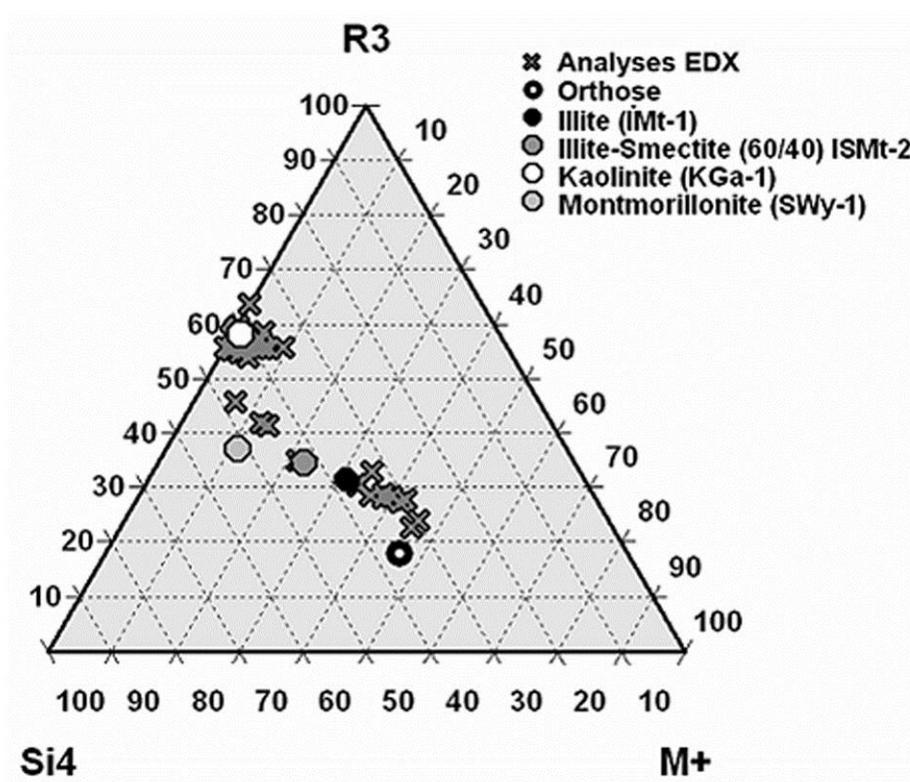


Figure 4.57. Représentation en diagramme ternaire des compositions des argiles automorphes des retombées atmosphériques à Breuil. Les nombres de cations sont basés sur les calculs de formules structurales. X: analyses des nanoparticules (49 analyses); O: minéraux de références.

Les points groupés autour du pôle kaolinite, qui contiennent des éléments alcalins correspondent à des kaolinites avec un peu de potassium. Pour les autres constituants (illites et interstratifiés), les spectres normalisés (figure 4.58) montrent des anomalies positives importantes en phosphore, soufre et zinc qui pourraient contribuer à décaler les points d'analyse vers le pôle alcalin M^+ . En effet, P et S sont généralement associés à des cations alcalins, en particulier le calcium. Les anomalies positives des illites et kaolinites en Ca (figure 4.58) sont dues, dans de tels cas, à la coalescence de sels avec les plaquettes d'argiles. Certaines kaolinites présentent des anomalies négatives en K et Fe, qui résultent simplement

du choix de la kaolinite de référence qui présente des traces de K et Fe. Les kaolinites caractérisées ici en sont totalement dépourvues et sont donc pures. Le zinc, pouvant entrer en substitution dans les sites octaédriques peut décaler légèrement les points des pôles Si^4 et M^+ vers le pôle R^3 . Dans certains cas assez rares (figure 4.58), l'analyse révèle la présence de plomb et d'arsenic associé aux argiles : une seule kaolinite contient de l'arsenic à hauteur de 0,02 cation/demi-maille ; une kaolinite et deux illites contiennent du plomb entre 0,02 et 0,05 cations/demi-maille.

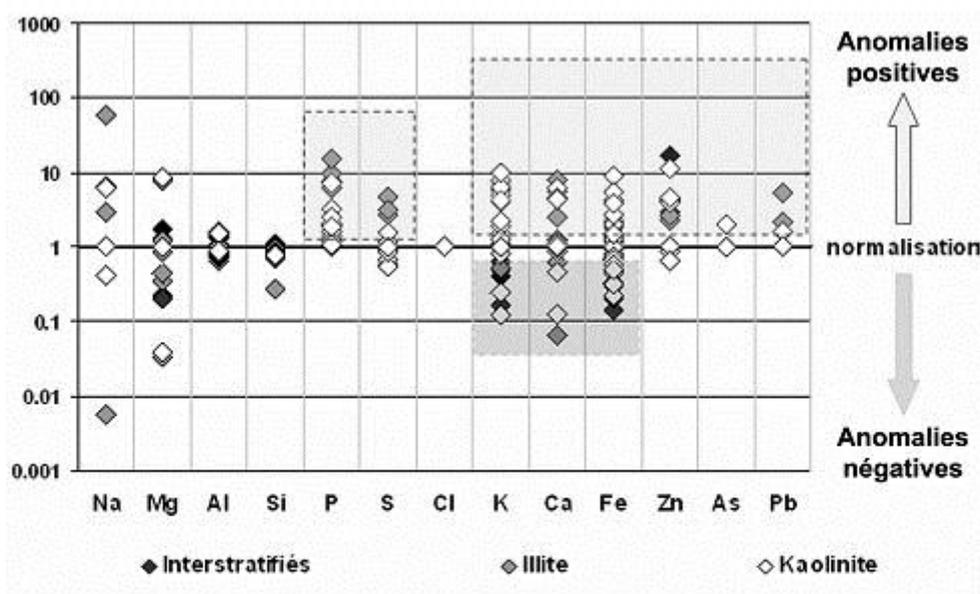


Figure 4.58. Diagramme des concentrations élémentaires normalisées des analyses d'argiles automorphes des retombées atmosphériques à Breuil exprimées en cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates. La ligne $y=1$ représente les minéraux de références. \blacksquare : interstratifiés. \blacksquare : illites. \diamond : kaolinites.

III.3.1.2. Les particules argileuses altérées des retombées atmosphériques à Breuil

Les argiles altérées sont constituées exclusivement de particules de très petites tailles présentant des contours très diffus et une densité électronique assez faible se traduisant par un faible contraste en MET (figure 4.59). La taille de ces particules, mesurée sur 1915 individus, est distribuée de manière unimodale asymptotique avec une très nette tendance aux très petites tailles (figure 4.60.a). En effet, 99% d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à 0,45 μm et 63% d'entre elles un diamètre apparent inférieur à 100 nm. En termes de facteur

de forme (figure 4.60.b), ce type de particules présente une grande variété de formes très souvent allongées avec des facteurs de forme compris entre 1,1 et 2,1.

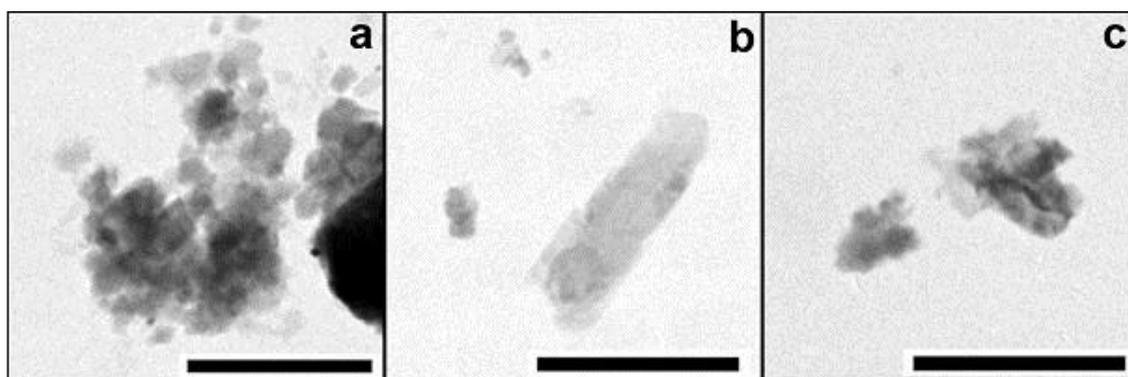


Figure 4.59. Images en MET de particules argileuses altérées présentes dans les retombées atmosphériques à Breuil. **a)** : interstratifié altéré; **b)** : illite altérée et **c)** : kaolinite altérée
Barre d'échelle : 1 μ m.

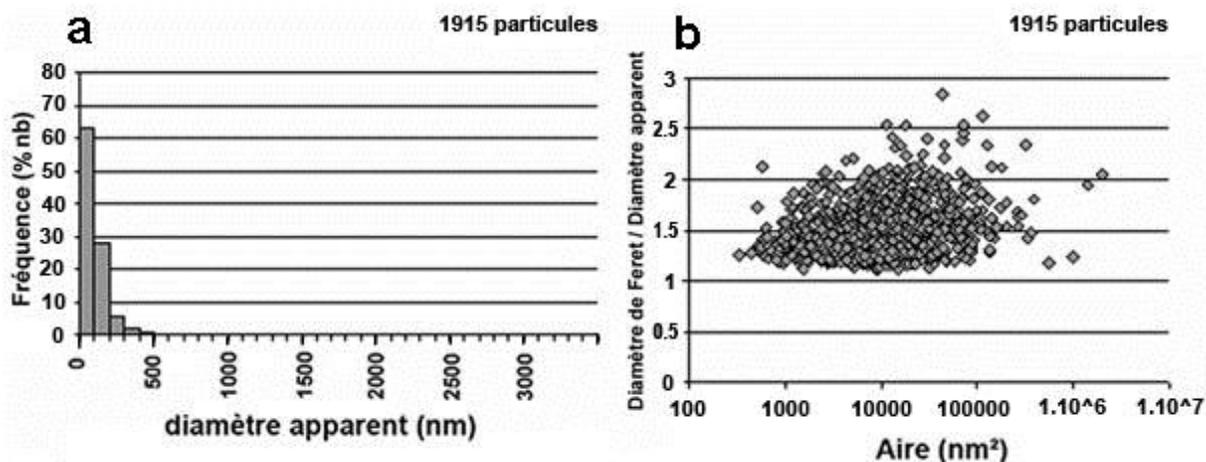


Figure 4.60. Distribution de taille et facteur de forme de 1915 particules argileuses altérées des retombées atmosphériques à Breuil. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm. **b)** Représentation du facteur de forme des argiles altérées en fonction de l'aire.

Les analyses chimiques en EDX effectuées sur les argiles altérées (figure 4.61) montrent qu'elles sont globalement de trois types : (i) de la kaolinite altérée et (ii) de la smectite, et (iii) de l'illite altérée. Des feldspaths altérés ont également été observés et ajoutés au groupe des argiles altérées du fait de leur grande similitude à la fois physique et chimique avec les "vraies" argiles altérées.

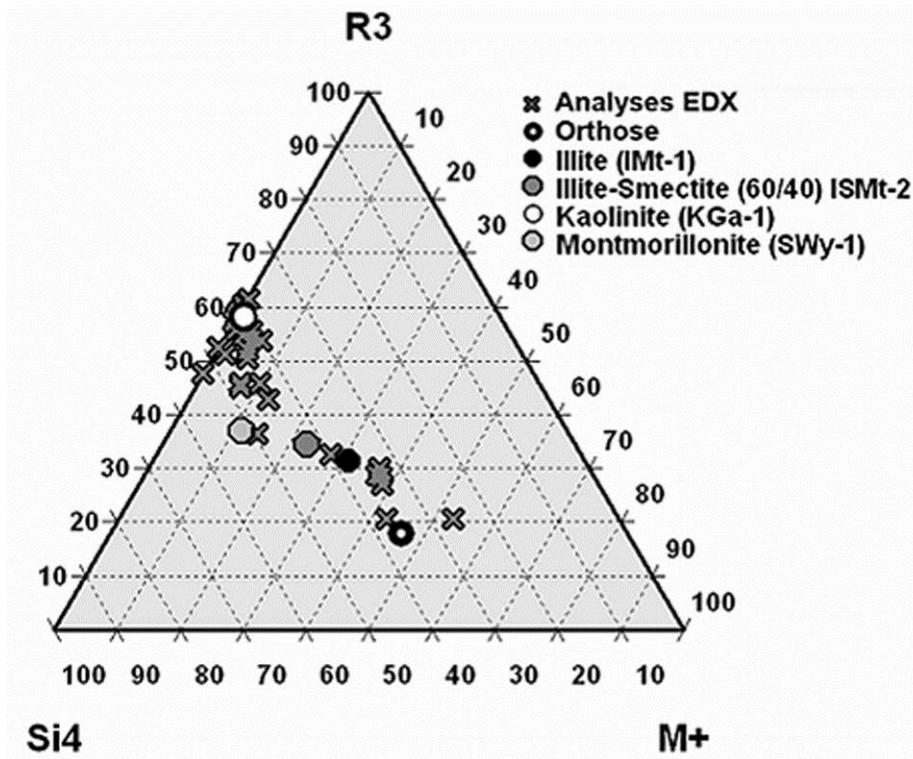


Figure 4.61. Représentation en diagramme ternaire des rapports de cations des argiles altérées des retombées atmosphériques à Breuil. X : analyses des nanoparticules ; O : minéraux de références.

La figure 4.62 montre les compositions chimiques exprimées en nombre de cations par demi-maille normalisés par rapport aux analyses des minéraux de référence. Il apparaît que les illites et interstratifiés sont généralement appauvris en cations (K^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) du fait du processus d'altération dans lequel les éléments les plus mobiles sont les alcalins, puis les cations octaédriques. De plus, ces deux minéraux sont toujours enrichis en P, en S et en Fe (figure 4.62). Les enrichissements en éléments légers P et S sont imputables à la présence de matière organique associée, alors que les enrichissements en fer sont attribuables à des revêtements d'oxydes de fer ou à un enrichissement de la couche octaédrique en fer. Les analyses de kaolinites sont quant-à elles essentiellement caractérisées par des enrichissements en P, S, Mg, K, Ca, Fe et Zn. S et P sont là aussi les marqueurs d'une association avec de la matière organique. Les enrichissements en Mg, K et Ca sont à lier à la nature de ces "kaolinites". En effet, la figure 4.61 montre que ce type d'argile altérée n'est en fait pas constitué de kaolinite vraie mais de minéraux d'altération très proches des kaolinites (tels que illites ou smectites), contenant encore des cations alcalins présents dans des inclusions issues du minéral parent non entièrement transformé. Le zinc, présent régulièrement et en quantité

non négligeable, est attribué à une substitution avec les cations interfoliaires et/ou octaédriques. Enfin, les enrichissements systématiques en fer sont dus à la présence de revêtements d'oxydes de fer à la surface des argiles. A propos des métaux, des traces de Pb et Cd ont été détectées à l'analyse mais de cas reste très marginal.

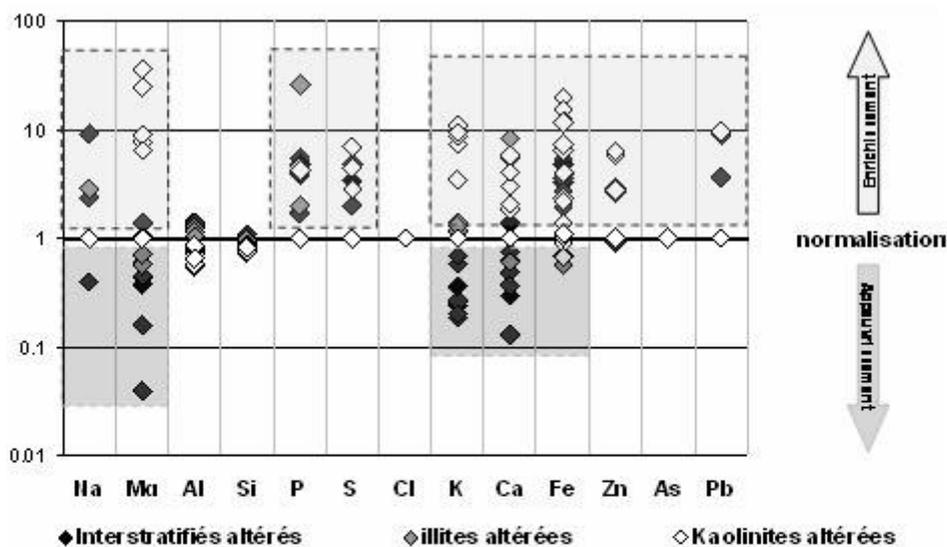


Figure 4.62. Diagramme des concentrations élémentaires normalisées des analyses d'argiles altérées des retombées atmosphériques à Breuil exprimées en cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates. La ligne $y=1$ représente les minéraux de références. ◆: interstratifiés altérés, ◆: illites altérées, ◇: kaolinites altérées.

III.3.1.3. Les sels des retombées atmosphériques à Breuil

Quelques sels sont présents dans les retombées atmosphériques à Breuil. La figure 4.63 en montre différentes formes, certains sont prismatiques (figure 4.63.a), d'autres en aiguilles (figure 4.63.b) ou encore en forme de particules circulaires globuleuses (figure 4.63.c). Les sels ont des tailles assez variées mais une grande majorité (près de 95%) d'entre eux ont un diamètre inférieur à $0,45 \mu\text{m}$ (figure 4.64.a). La caractérisation de leur forme (figure 4.64.b) montre qu'il s'agit de particules de formes variées principalement dans les grandes tailles, mais ayant cependant des rapports de forme très homogènes.

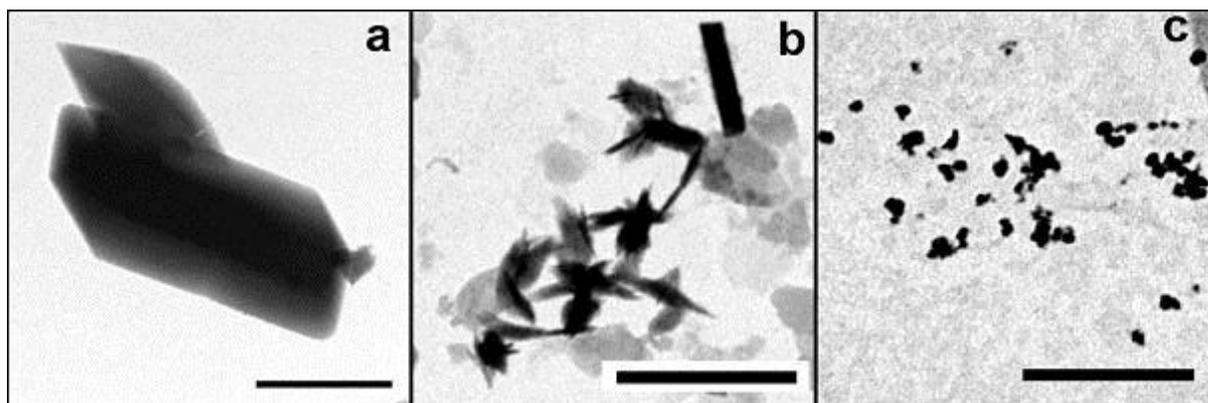


Figure 4.63. Images en MET de sels des retombées atmosphériques à Breuil. Longueur des barre d'échelle : $1\mu\text{m}$.

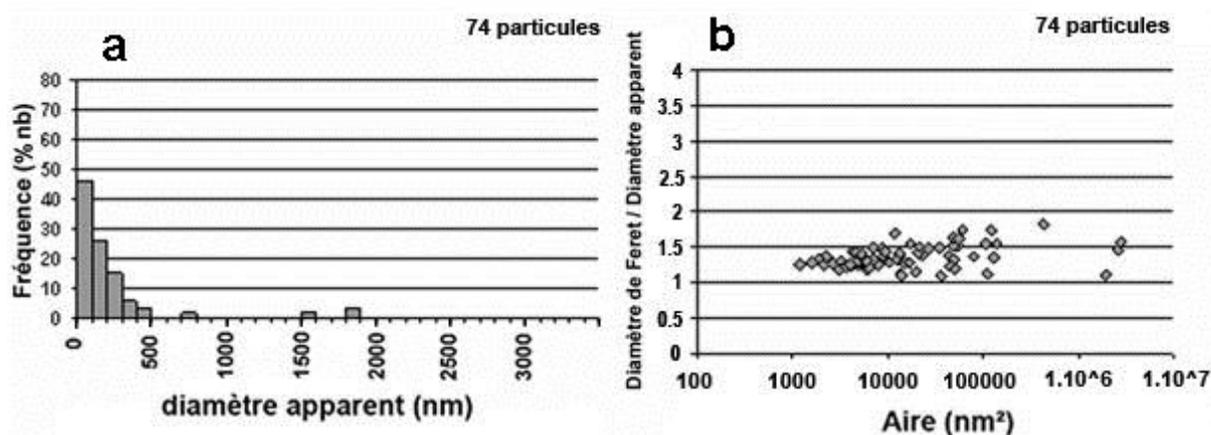


Figure 4.64. Distribution de taille et facteur de forme de 74 particules de sels des retombées atmosphériques à Breuil. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm. **b)** Représentation du facteur de forme en fonction de l'aire.

Les analyses chimiques en EDX, réalisées sur des particules individualisées montrent que ces sels sont majoritairement des chlorures (figure 4.65). Sur 10 particules analysées, 4 contiennent du plomb en quantités non négligeable et 4 contiennent des traces de zinc (une de ces particules contient les deux métaux).

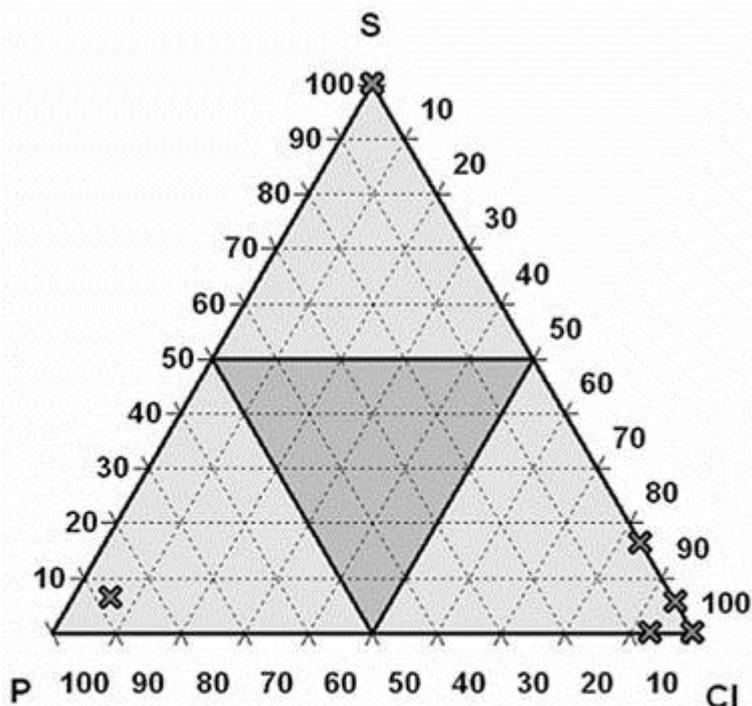


Figure 4.65. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en S, P et Cl des sels des retombées atmosphériques à Breuil analysés en EDX. Sont considérés comme sulfosels les sels contenant plus de 50% de S, comme chlorures ceux contenant plus de 50% de Cl et comme phosphates ceux contenant plus de 50% de P. 4 analyses sont à 100% S et 2 analyses à 100% Cl.

Certaines particules rencontrées à Breuil sont chimiquement similaires aux sels et ont été incluses dans ce type de particules ; il s'agit de suies (figure 4.66). De telles particules sont fréquentes dans l'atmosphère (Posfai & Molnar, 2000), mais relativement rares dans les retombées atmosphériques à Breuil, puisque seuls deux individus ont été identifiés avec certitude. Les suies sont caractérisées, outre leur teneur élevée en carbone ou en silicium par la présence de soufre, fer et calcium. Ce type de particules étant généralement dû à l'activité industrielle, domestique ou automobile, leur présence dans la population des PFC de Breuil témoigne d'un transport de certaines particules sur de longues distances.

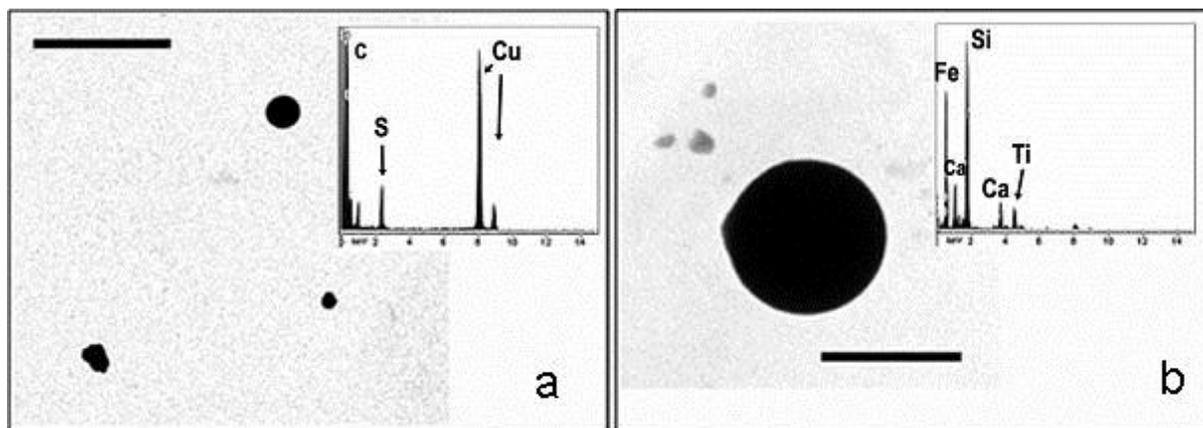


Figure 4.66. Images en MET et spectres d'analyse EDX de suies des retombées atmosphériques à Breuil. **a)** Particule carbonée riche en S, le pic Cu est dû à la grille de MET, le pic de C est lié à la chimie de la particule et du film de support de la grille de MET. **b)** Particule siliceuse, riche en Fe et Ca, le pic Ti est dû à la grille de MET. Barre d'échelle : 1µm.

III.3.1.4. Les oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Breuil

Parmi les constituants du pool particulaire trouvés dans les retombées atmosphériques au sol de Breuil, les oxy-hydroxydes sont un type particulaire peu abondant mais récurrent. Leurs caractéristiques électroniques sont homogènes avec une très forte densité électronique, qui contraste fortement les images obtenues en MET (figure 4.67). Les particules sont très diversifiées en termes de forme (figure 4.68.b) et de taille (figure 4.68.a). L'étude du rapport de forme réalisée sur 55 particules montre une hétérogénéité modérée avec des facteurs de forme généralement inférieurs à 2. Les tailles sont distribuées de manière gaussienne avec un maximum entre 100 et 200 nm en diamètre apparent (figure 4.68.a). D'une façon générale, les particules ont un diamètre apparent inférieur à 800 nm (98% des oxy-hydroxydes caractérisés), avec 75% à diamètre apparent inférieur à 0,45 µm.

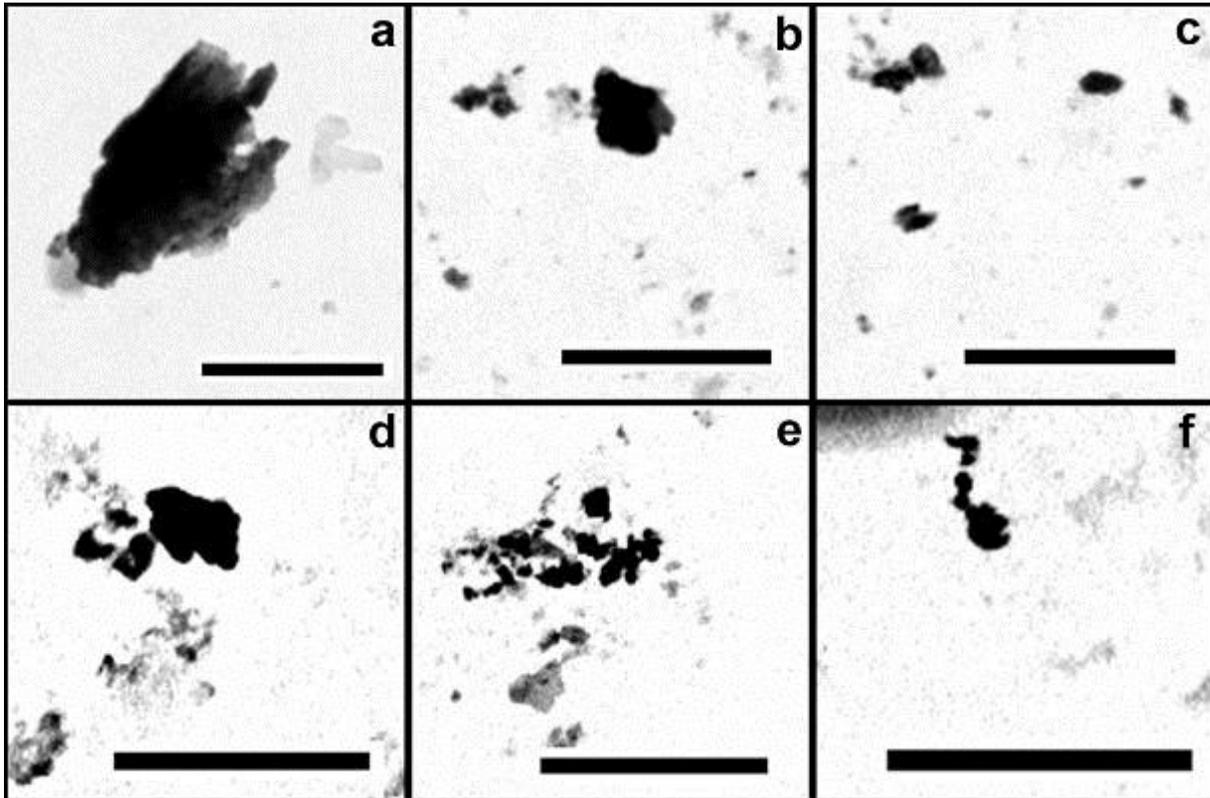


Figure 4.67. Images en MET d'oxy-hydroxydes métalliques des retombées atmosphériques à Breuil. Barre d'échelle : 1 μm sauf f) 0.1 μm

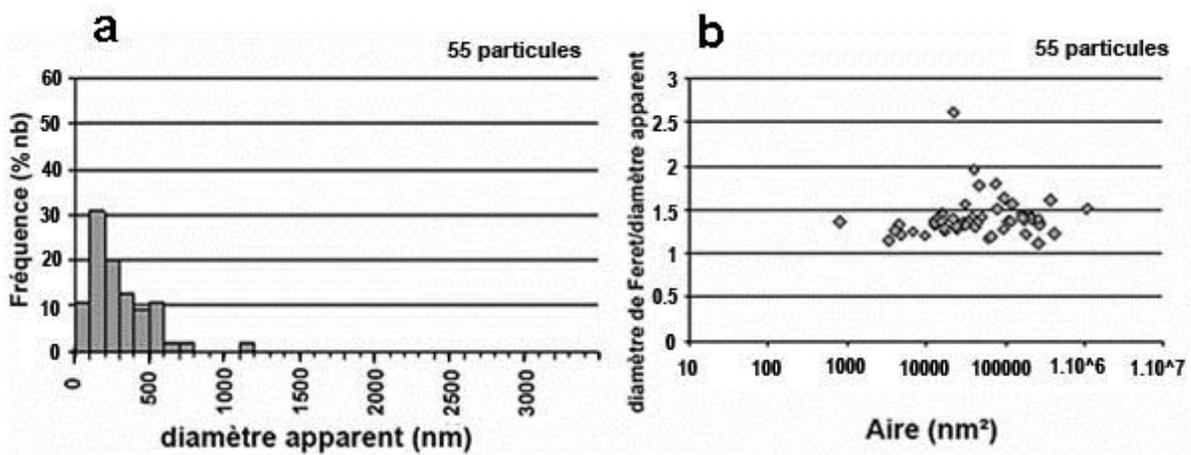


Figure 4.68. Distribution de taille et facteur de forme des 55 particules de type oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Breuil. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm. **b)** Représentation du facteur de forme en fonction de l'aire.

Parmi les particules d'oxy-hydroxydes identifiées, 17 ont été analysées en EDX (figure 4.69). Les résultats obtenus permettent de caractériser leur composition chimique avec la présence de trois types différents dans la population des PFC étudié ici. Il s'agit (i) d'oxy-hydroxydes de plomb (6 analyses), (ii) d'oxy-hydroxydes de zinc (2 analyses) et (iii) d'oxy-hydroxydes de fer (9 analyses). A propos de la présence en faible quantité d'arsenic et de chlore dans les analyses il faut être prudent car, comme il a été signalé précédemment, le plomb a des raies d'émission en interférence avec celles de l'arsenic et du chlore. La présence de Cl et As peut donc être considérée ici comme incertaine même si de réels efforts ont été faits, en particulier concernant la déconvolution arsenic-plomb du fait de l'importance de ces éléments dans le travail.

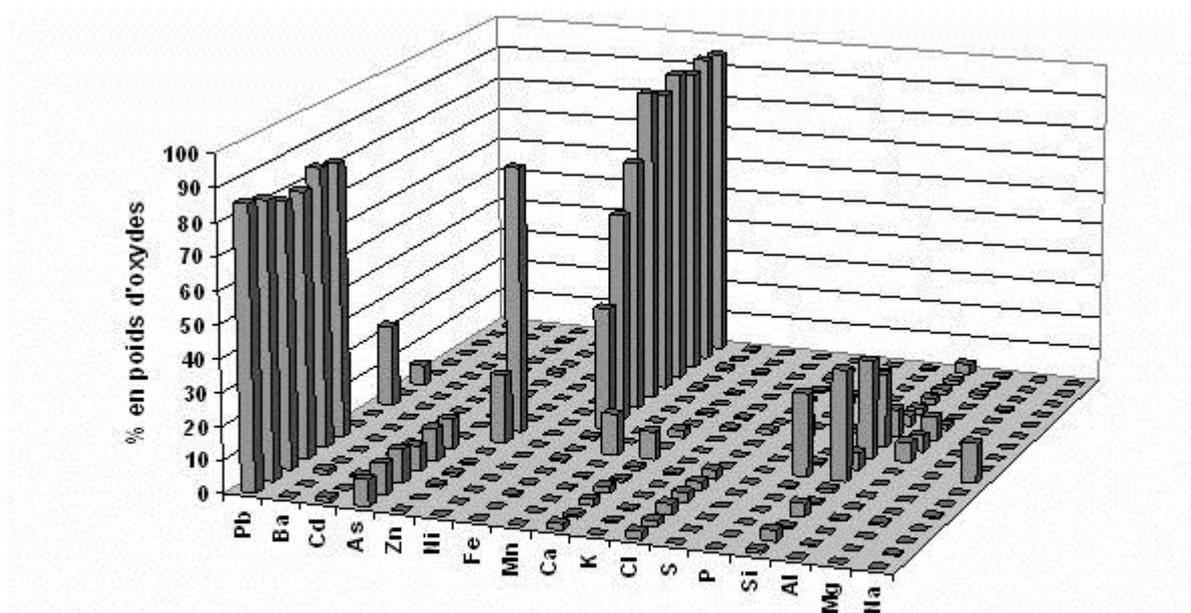


Figure 4.69. Composition chimique de 17 oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Breuil. Les concentrations sont exprimées en poids d'oxydes 6 particules sont des oxy-hydroxydes de plomb, 2 des oxy-hydroxydes de zinc et 9 des oxy-hydroxydes de fer.

III.3.2 Les constituants organiques des retombées atmosphériques à Breuil

III.3.2.1. Les bactéries des retombées atmosphériques à Breuil

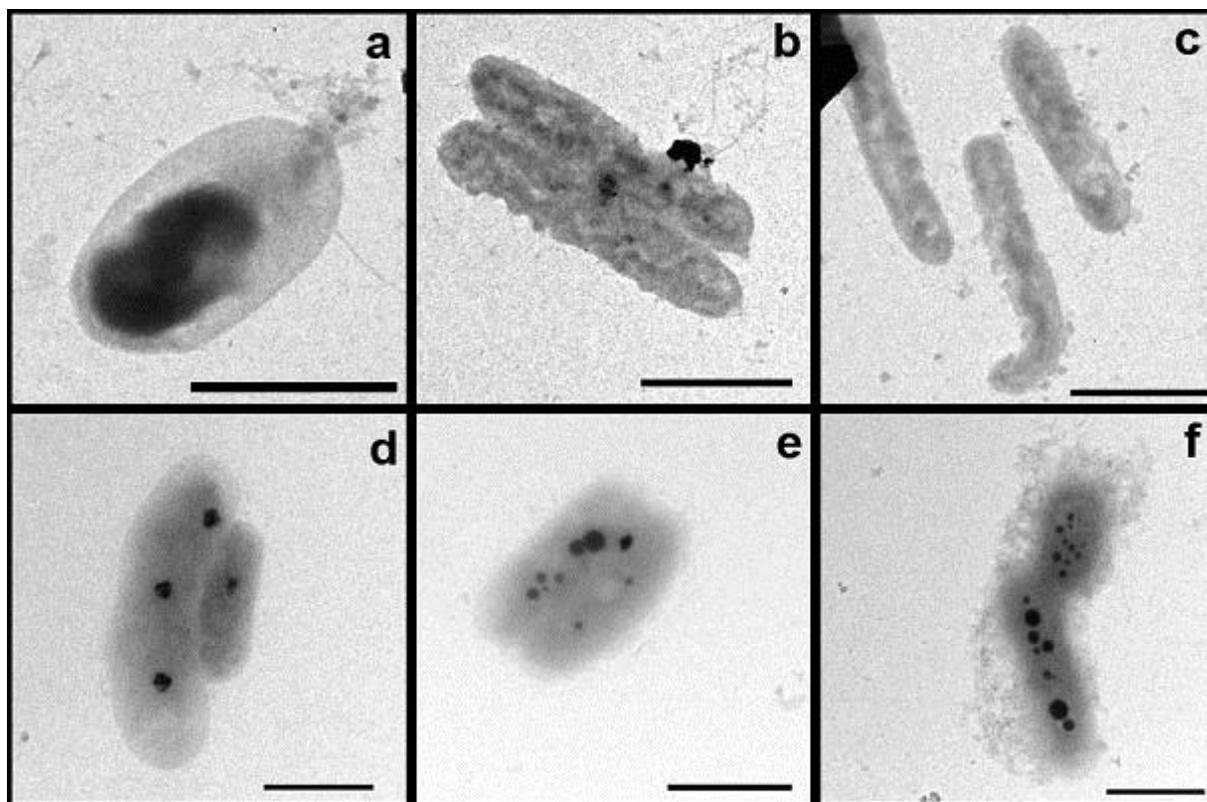


Figure 4.70. Images en MET de bactéries des retombées atmosphériques à Breuil. a) bactérie avec micro-flagelles ; b) et c) : bactéries très allongées sombres avec encroûtement ; d) et e) : bactéries de type bacille claires aux électrons avec granules internes ; f) : bactéries avec granules internes et exopolysaccharides. Barre d'échelle : 1 μ m.

L'étude des grilles de microscopie sur le site de Breuil a permis de caractériser une présence régulière de bactéries en tant que composant de la phase particulaire atmosphérique de Breuil. Ces bactéries sont visiblement de différents types à la fois sur des grilles différentes et sur une même grille. Il s'agit principalement de bactéries de deux morpho-types : (i) les unes sont très allongées et présentent des parois à l'aspect rugueux (figure 4.70.b,c) ; (ii) les autres ont un aspect de bacille trapu plus classique, lisse et leur transparence aux électrons permet de discerner la présence de granules internes (figure 4.70.a,d,e,f). Les micro-organismes sont parfois associés ou interconnectés à et par des biofilms autoproduits (figure 4.70.b,e,f). Les micro-organismes présentant un aspect de surface rugueux n'ont pas été observés à

Wintzenheim. Une telle morphologie est typique d'encroûtement à la surface des organismes, qui peuvent constituer une sorte de bouclier autour de la cellule (Zeiri et al., 2002; Wang et al., 2007).

La figure 4.71 montre que ces bactéries ont une distribution de taille de type gaussien avec un diamètre apparent centré autour de 1,2 μm . Les quelques barres représentant la présence de plus grosses bactéries sont imputables au comptage de bactéries en cours de division. Le facteur de forme (figure 4.71.b) montre que ces constituants sont dominés par les micro-organismes de type bacille (ellipsoïdaux), avec une fraction importante de bactéries plus allongées (similaires à celle des photos b et c figure 4.70). Les bactéries ayant les rapports de forme les plus élevés correspondent, soit à des organismes de type très allongé avec encroûtement (figure 4.70.b,c), soit à l'association de deux bactéries dans l'axe l'une de l'autre ayant été comptées pour une seule cellule (figure 4.70.f).

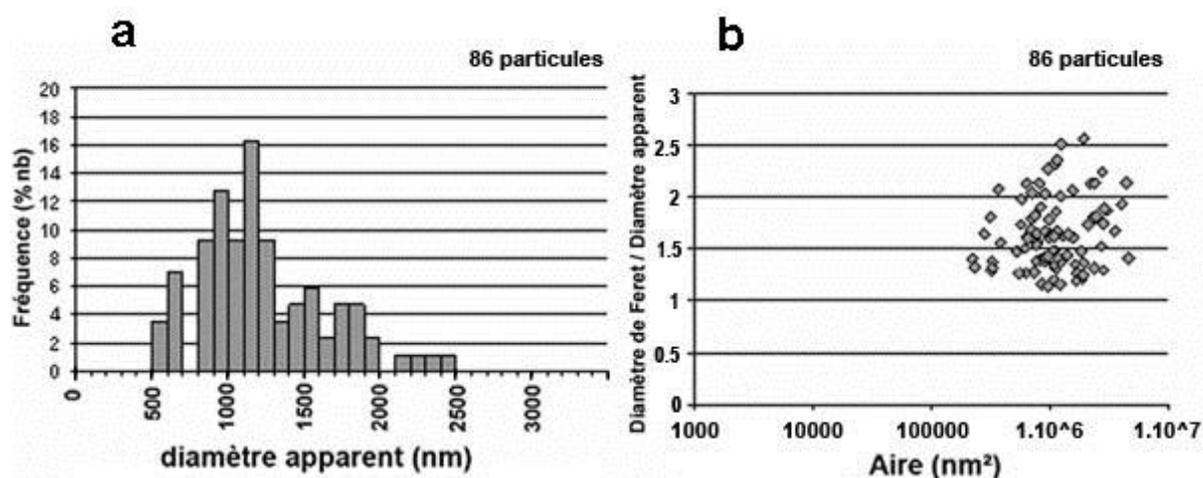


Figure 4.71. Distribution de taille et facteur de forme de 86 bactéries des retombées atmosphériques à Breuil. **a)** Distribution de taille des bactéries en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm. **b)** Représentation du facteur de forme en fonction de l'aire.

Ces bactéries ont fait l'objet d'une série d'analyses chimiques en EDX. 28 analyses ont été réalisées sur différentes bactéries tout au long de la campagne d'échantillonnage à Breuil. Sur ces 28 analyses, 15 ont porté sur le corps des bactéries et 13 sur l'analyse ponctuelle de granules très sombres en microscopie repérées fréquemment à l'intérieur des cellules (figure 4.70.d,e). Les analyses effectuées sur les cellules bactériennes montrent qu'elles sont toujours naturellement riches en C, Cl et S et dans une moindre mesure en P. La présence de métaux

dans ou associés à ces bactéries a également été notée. Il s'agit essentiellement de Pb et parfois de Zn et Cd.

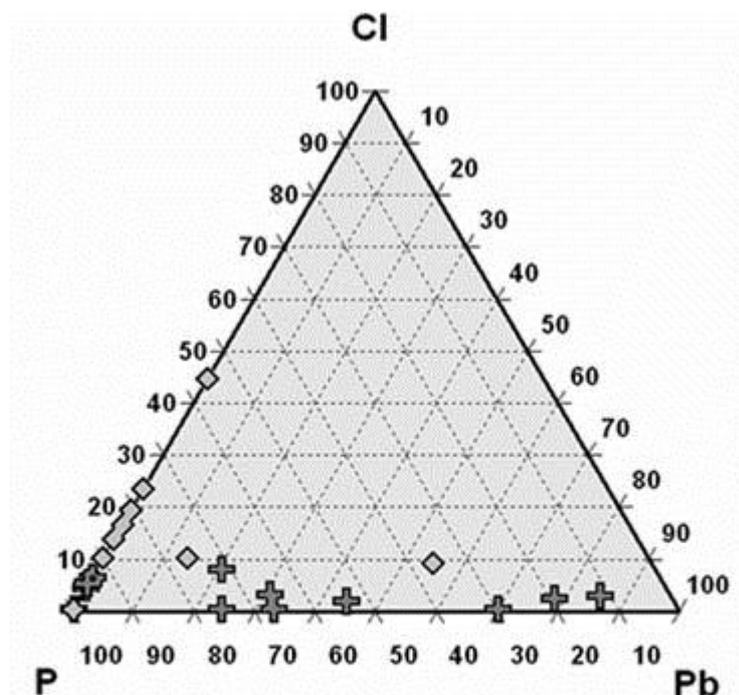


Figure 4.72. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en P, Cl et Pb contenus dans les bactéries (cellules + granules). \diamond : analyses des cellules bactériennes (15 analyses). \oplus : analyses des granules internes (13 analyses). 6 analyses se superposent sur le pôle P (5 cellules et 1 granule).

La différenciation faite entre les cellules et les granules internes (figure 4.72) permet de mettre en évidence les concentrations très importantes en plomb dans ces granules. En effet, la figure montre que la très grande majorité des corps de cellules bactériennes (13 sur 15) ne contient que très rarement du plomb (2 sur 15), alors qu'une grande majorité des granules (8 sur 13) contient du plomb associé à du phosphore. Toutes les granules sont pauvres en chlore. Il semblerait donc que les bactéries dans l'atmosphère immobilisent du Pb à l'intérieur de granules internes sous une forme encore indéterminée mais en association avec P. Ce point sera discuté plus amplement dans la suite du travail.

III.3.2.2. Les composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil.

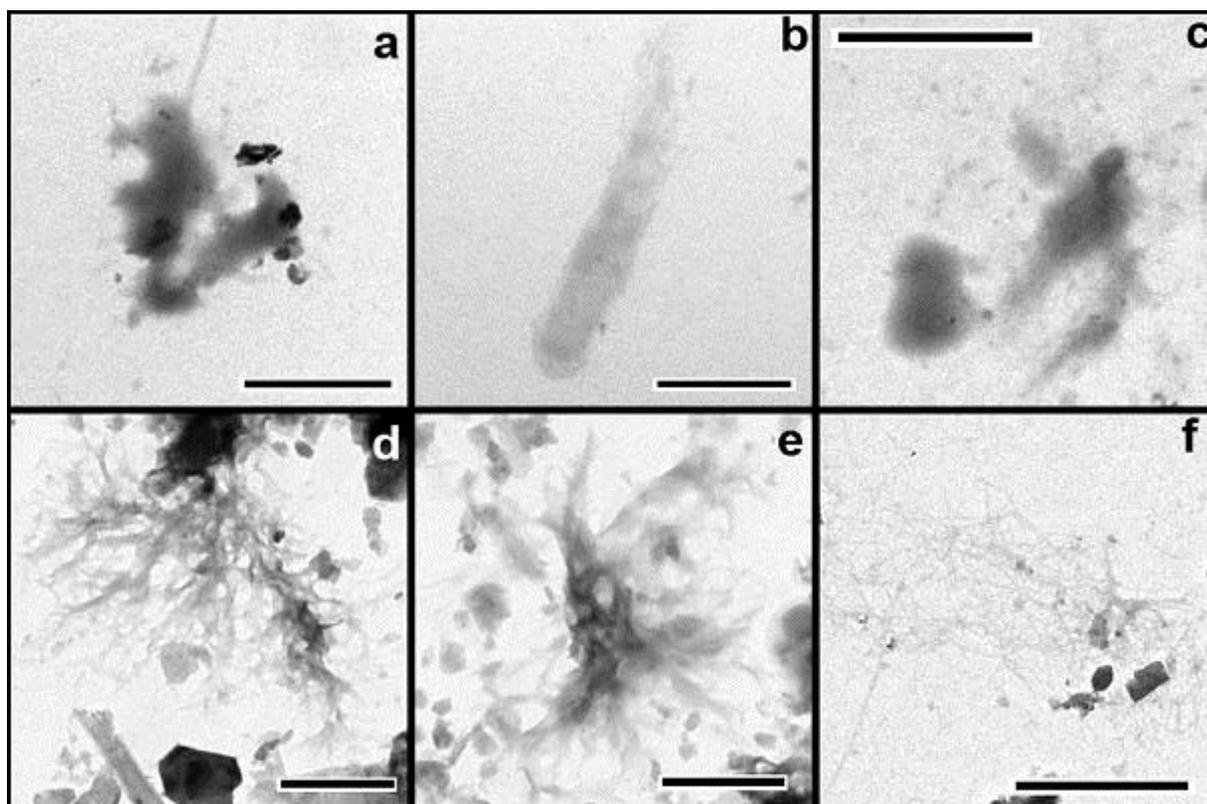


Figure 4.73. Images en MET de composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil. Barre d'échelle : 1 μ m.

Un autre constituant important des retombées atmosphériques à Breuil est la matière organique libre non-vivante. Il s'agit pour l'essentiel de composés organiques de type "biofilm" qu'il convient de différencier des biofilms connectés aux microorganismes. Il s'agit de matière libre dans la solution, présente sous forme de voiles ou d'entrelacs à l'aspect très varié (figure 4.73). Ces particules sont généralement de petites tailles puisque 94% d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à 0,45 μ m (figure 4.74.a). Cependant, la figure 4.74.b réalisée à partir de 646 individus, montre une très grande variabilité de forme puisque les valeurs du facteur de forme se situent entre 1 et 4,6. Par ailleurs, leur forme très découpée leur confèrent une grande surface spécifique, avec en conséquence une très grande réactivité et des propriétés de complexation importantes.

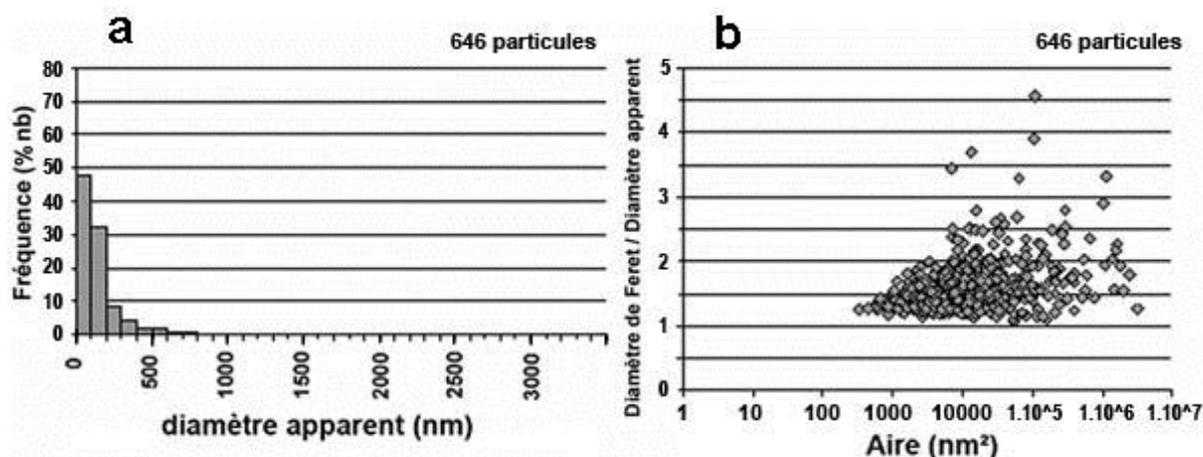


Figure 4.74. Distribution de taille et facteur de forme de 646 particules de type composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil. **a)** Distribution de taille des particules en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm. **b)** Représentation du facteur de forme en fonction de l'aire.

Les analyses chimiques en EDX réalisées sur ces nanoparticules montrent qu'elles sont essentiellement composées de carbone et chimiquement très proches de la composition des bactéries avec une prédominance des éléments légers d'origine biologique tels que les éléments S, Cl et P, en plus de C. La figure 4.75 montre dans quelle mesure C est l'élément dominant de cette classe de constituants puisque sa concentration, même divisée par dix, est toujours largement plus importante par rapport à la somme des concentrations en soufre, chlore et phosphore. Le troisième pôle de ce diagramme représente la somme des différents métaux détectés, soit le fer, l'arsenic, le plomb, le zinc et le cadmium. Sur les 35 analyses de composés organiques non-vivants présentées sur le diagramme ternaire, 75% contiennent des métaux. Les concentrations relatives de ces éléments (figure 4.76) permettent de dire que les métaux les plus fréquemment concentrés dans les composés organiques non-vivants sont Fe et Zn.

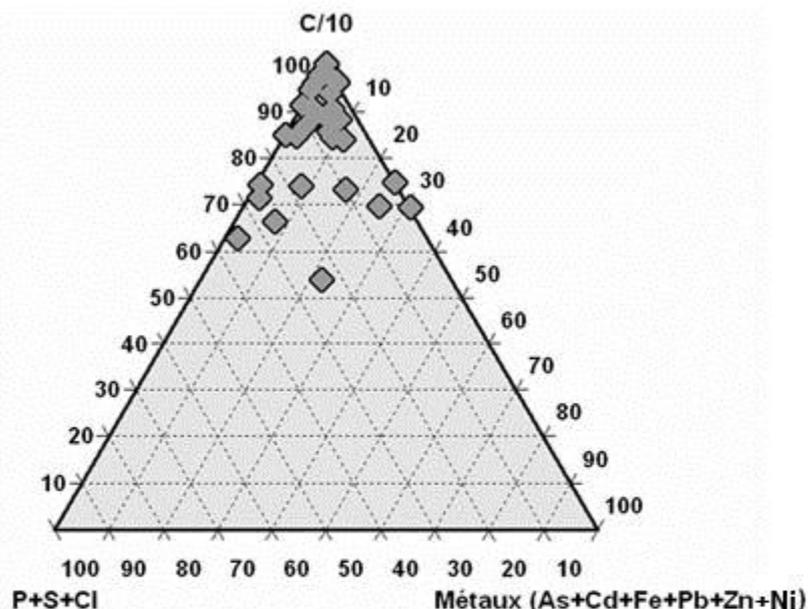


Figure 4.75. Représentation en diagramme ternaire des concentrations relatives en carbone, éléments légers et métaux lourds contenus dans les composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil. Le taux de C est divisé par dix. Les éléments P, S et Cl sont regroupés car ils marquent la signature organique des composés. 4 analyses se superposent sous le pôle C.

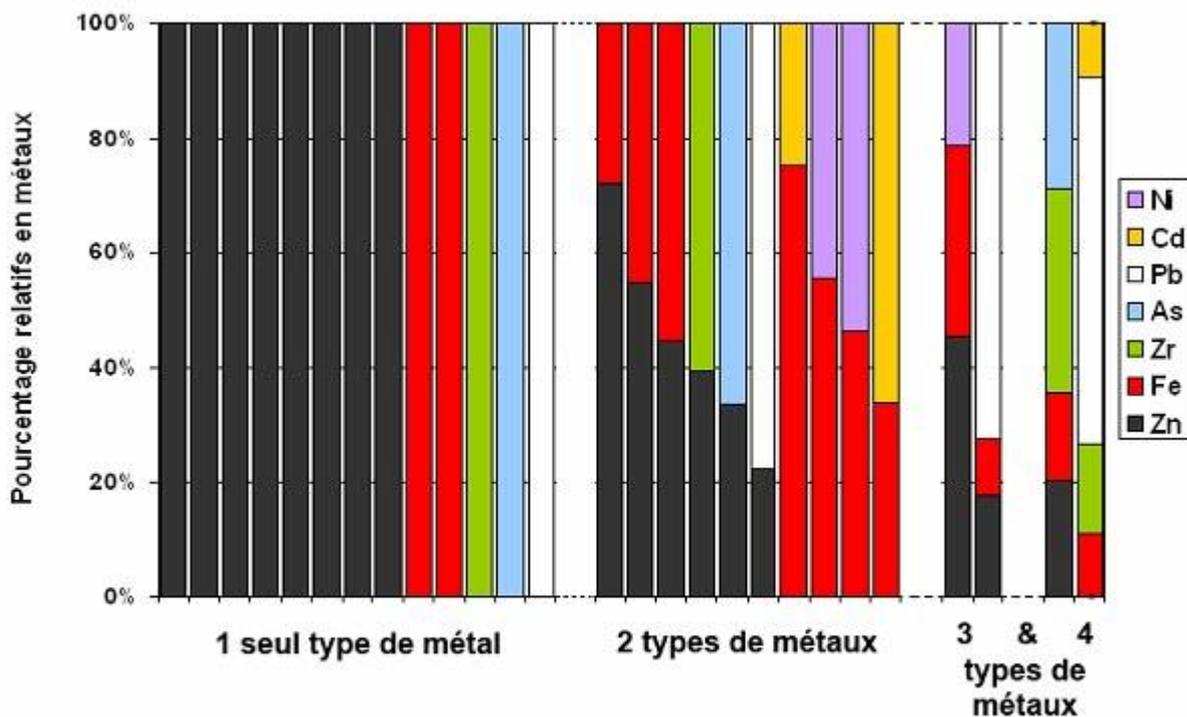


Figure 4.76. Proportions en métaux lourds contenus dans 27 composés organiques non-vivants des retombées atmosphériques à Breuil.

III.3.3. Les complexes organo-minéraux des retombées atmosphériques à Breuil

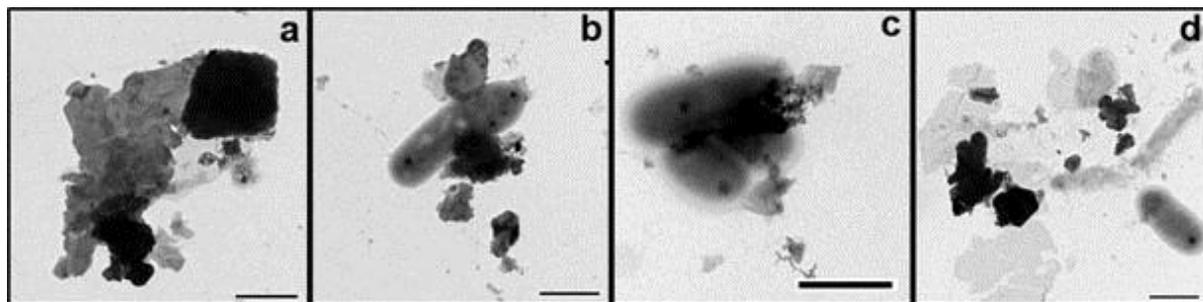


Figure 4.77. Images en MET de complexes organo-minéraux des retombées atmosphériques à Breuil. Barre d'échelle : 1 μ m.

L'ensemble des particules décrites précédemment peut également former des micro-agrégats. Ces agrégats ont toujours une phase biologique pour liant, qu'elle soit bactérienne ou d'un autre type de matière organique comme décrit au paragraphe III.5.2.2. Ceci est particulièrement visible sur les images de la figure 4.77. Plusieurs types d'associations sont possibles : il peut s'agir de colonies bactériennes associées à des argiles, des sels ou des oxydes, ou de tapis organiques ("biofilms") liant ces mêmes constituants. Les agrégats sont toujours des complexes organo-minéraux avec des tailles et des formes très hétérogènes. Ainsi, aucune des classes de taille d'agrégats ne dépasse 5% de la distribution (figure 4.78.a). De plus, l'étude du rapport de forme (figure 4.78.b) montre que les agrégats des retombées atmosphériques à Breuil ne sont pas très découpés puisque les valeurs de facteur de forme sont groupées entre 1,1 et 2,1.

Ces micro-agrégats ont une très forte réactivité puisqu'ils associent les propriétés de surface des différents constituants qui les composent.

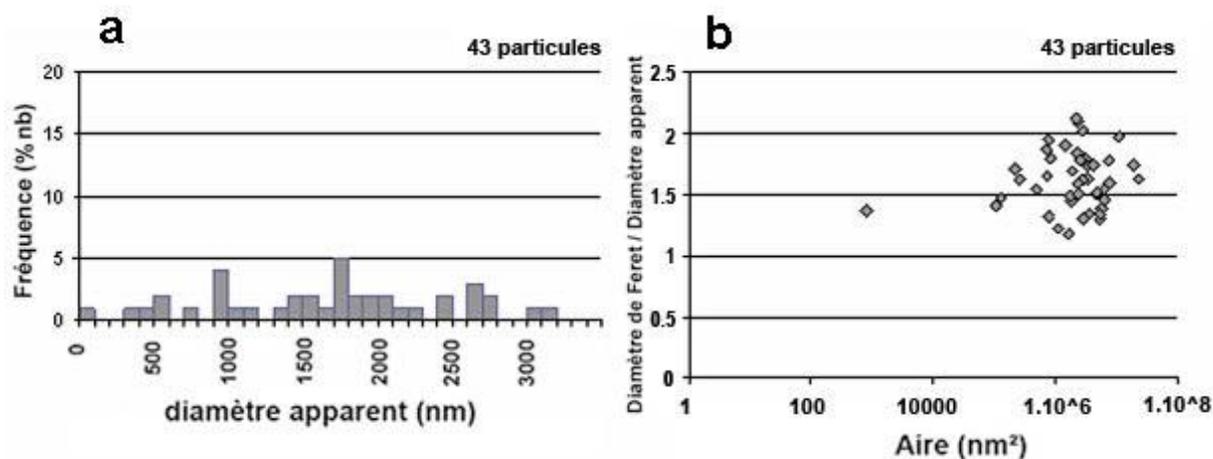


Figure 4.78. Distribution de taille et facteur de forme de 43 agrégats des retombées atmosphériques à Breuil. **a)** Distribution de taille des agrégats en fréquence en fonction du diamètre apparent. Une classe de diamètres tous les 100 nm. **b)** Représentation du facteur de forme en fonction de l'aire.

III.3.4. Les nanoparticules accessoires et indéterminées des retombées atmosphériques à Breuil

III.3.4.1. Les minéraux accessoires des retombées atmosphériques à Breuil

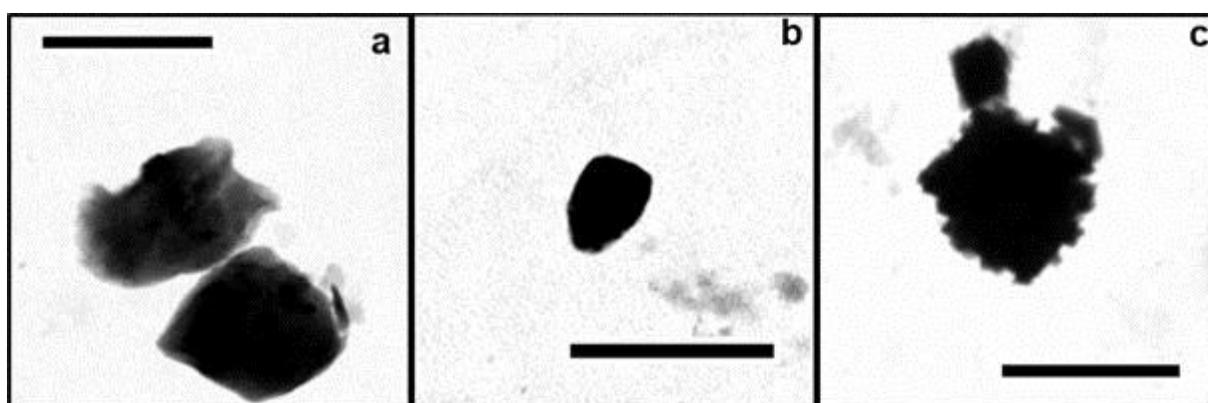


Figure 4.79. Images en MET de minéraux accessoires des retombées atmosphériques à Breuil. **a), b)** : quartz ; **c)** : calcite. Barre d'échelle : 1 µm.

Deux minéraux ont été piégés assez rarement sur les grilles et sont donc considérés comme accessoires ; il s'agit du quartz (figure 4.79.a,b) et de la calcite (figure 4.79.c). Ces minéraux sont rares au cours de toute la période d'échantillonnage. Chimiquement, malgré la présence faible de fer parfois associé aux particules de quartz, ce minéral est considéré ici comme peu réactif. A l'inverse, les trois analyses de calcite ont révélé de fortes teneurs en plomb (entre 4 et 15 wt.% Pb_2O_3), mais la rareté de ce constituant dans l'ensemble de l'échantillonnage ne permet pas d'en faire un vecteur essentiel du Pb par voie atmosphérique.

III.3.4.2. Les constituants indéterminés des retombées atmosphériques à Breuil

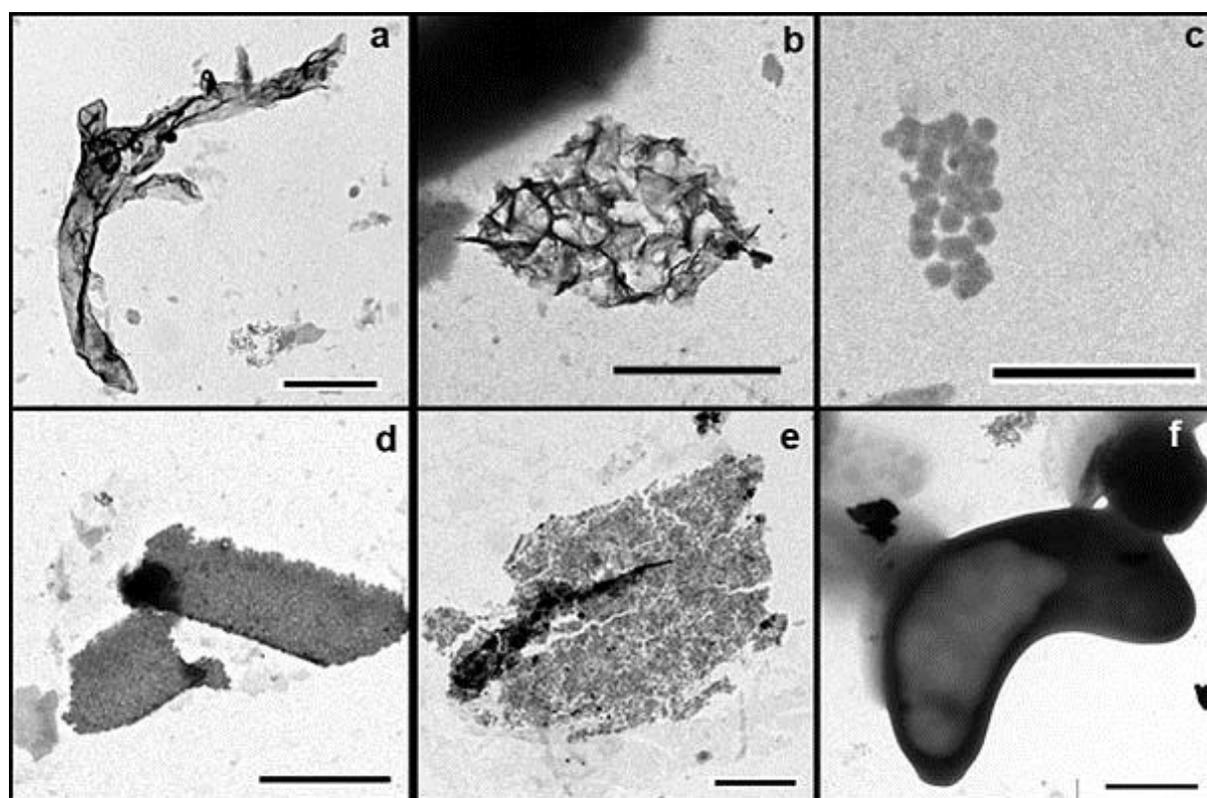


Figure 4.80. Exemples de particules de type indéterminé présentes dans les retombées atmosphériques à Breuil. **a)** : particule de type halloysite ou artéfact ; **b)** : particule de type halloysite associée à une bactérie (coin supérieur gauche) ; **c)** : nano-agrégat de billes carbonées ; **d)** et **e)** : particules riches en soufre ; **f)** : particule organique. Barre d'échelle : 1 μm .

Parmi les nanoparticules des retombées atmosphériques à Breuil, un certain nombre de constituants restent indéterminés. Un exemple de ces nanoparticules est donné dans la figure 4.80. Certaines des particules font penser à des halloysites (figure 4.80.a,b), mais ce type reste extrêmement rare et aucune analyse chimique ne permet de confirmer sa nature. Il est possible que la particule représentée sur la figure 4.80.a soit un artefact, tel qu'un morceau de plastique du container à grille ou un résidu de film carboné servant de support sur les grilles. Cependant, l'aspect de la particule de la figure 4.80.b et la présence d'une bactérie en association directe est très similaire aux observations réalisées par Tazaki (2006) à propos de la bioformation d'halloysite lors d'expérimentations en laboratoire. Des concentrations de nano-billes riches en carbone sont parfois présentes sur les grilles (figure 4.80.c), provenant peut-être de la métallisation des supports. Il s'agit fréquemment de particules riches en soufre (figure 4.80.d,e) avec d'autres qui, d'après leur aspect et leur richesse en carbone seraient d'origine biologique et contiendraient en outre du plomb (figure 4.80.f)). Certaines grilles présentent un grand nombre de particules indéterminées, d'autres beaucoup moins.

III.3.5. Synthèse des caractéristiques et réactivité des PFC des retombées atmosphériques à Breuil

Différents types de nanoparticules avec des caractéristiques physico-chimiques spécifiques ont été caractérisés dans les PFC des retombées atmosphériques sur le sol forestier de Breuil. Il s'agit : d'argiles automorphes à subautomorphes, d'argiles altérées, de sels (incluant les suies) et d'oxy-hydroxydes pour les particules minérales ; de bactéries et composés organiques non-vivants pour les particules organiques ; d'agrégats ; et de deux classes "exotiques" constituées de particules accessoires et/ou indéterminées.

Les *argiles automorphes* sont principalement des kaolinites et des illites. Elles ont des tailles variées, mais des diamètres principalement inférieurs à 1 μm . Leur caractère automorphe implique qu'elles aient des formes peu allongées. Les argiles montrent fréquemment des anomalies positives en fer (revêtement sous forme d'oxydes de Fe et couches octaédrique) et zinc (substitutions) et en phosphore et soufre liés à l'adsorption de matière organique et/ou de sels sur leurs surfaces. De plus, les illites et kaolinites sont très enrichies en cations, notamment en calcium du fait de la salinité de l'eau atmosphérique dans laquelle les particules évoluent. Ces particules sont rarement enrichies en métaux lourds.

Les **argiles altérées** sont essentiellement des kaolinites et illites altérées de très petite taille puisque près de 99% d'entre elles ont un diamètre apparent inférieur à 0,5 µm et leurs formes sont variées. Chimiquement, elles sont caractérisées par de fortes anomalies positives en fer et des anomalies positives moins systématiques en zinc. Les kaolinites altérées montrent de fortes anomalies positives en potassium car il s'agit en fait de minéraux provenant de l'altération de mica, leur composition chimique se rapprochant des kaolinites tout en conservant encore quelques inclusions du minéral parent.

Les **sels** des retombées atmosphériques à Breuil sont essentiellement des chlorures, leur particularité chimique est de contenir des concentrations non négligeables en plomb et dans une moindre mesure en zinc. Par ailleurs certaines particules, chimiquement assimilables à des sels, ont été caractérisées ponctuellement au cours de la campagne d'échantillonnage, il s'agit de suies riches en carbone et soufre d'origine anthropique.

Les **oxy-hydroxydes** sont très majoritairement de trois types dont deux largement majoritaires. Ainsi, des oxy-hydroxydes de fer et de plomb et, dans une moindre mesure, de zinc ont été caractérisés régulièrement sur le site. Ils sont assez petits et de formes très variées.

Les **bactéries** représentent un constituant important de la phase particulaire atmosphérique. Elles sont de différents types et de différentes tailles, observées à l'état de cellules isolées ou en colonies de seulement quelques individus. Les analyses chimiques de ces micro-organismes révèlent leur tendance élevée à mobiliser et/ou immobiliser le plomb dans des granules internes.

Des **composés organiques non-vivants** de natures diverses se retrouvent très fréquemment sur les grilles, il s'agit de films organiques carbonés hautement réactifs contenant souvent des métaux et principalement Fe et Zn, mais également d'autres métaux lourds tels que Pb, Ni, As et Cd.

Une classe particulière a aussi été mise en évidence. Il s'agit des **complexes organo-minéraux**. Généralement de grandes tailles, ces constituants sont des agrégats de différents constituants autour et/ou dans un liant organique. De tels composants présentent par nature une réactivité importante et sont donc le siège d'interactions chimiques fréquentes.

Enfin deux classes de constituants "exotiques" ont été observées dans la phase particulaire des retombées au sol à Breuil. Ces constituants sont soit des **minéraux accessoires** soit des **constituants indéterminés**. Les minéraux accessoires sont essentiellement le quartz et la calcite. Si le quartz ne présente pas de caractéristiques particulières, les analyses réalisées sur les rares cristaux de calcite présents soulignent des teneurs non négligeables en plomb. Les

nanoparticules indéterminées sont, par définition, mal connues et leurs propriétés chimiques et donc leur importance dans le transport des polluants reste mal connu.

IV. Conclusions

La caractérisation individuelle des différentes PFC présentes aussi bien dans le sol que dans deux environnements atmosphériques différents a permis de caractériser différents types de particules fréquemment présentes. Une des informations principales de cette étude physico-chimique est la récurrence des types de PFC, quels que soient les environnements considérés. En effet, que ce soit dans les eaux d'infiltration d'un sol sous vignoble, dans les retombées atmosphériques sur ce sol ou dans les retombées atmosphériques sous couvert forestier, les différents types de PFC mis en évidence sont toujours les mêmes. Il s'agit de *particules minérales* telles que des argiles automorphes, des argiles altérées, des sels et des oxyhydroxydes ; des *particules organiques* sous forme de bactéries ou de matière organique non-vivante ; et de *particules mixtes complexes* liant les types minéraux et organiques sous la forme d'agrégats. Il semble donc que, dans le cadre géographique de cette étude, la population de PFC est qualitativement uniforme dans différents environnements mais également dans le sol et l'atmosphère. Deux phénomènes permettent d'expliquer cela. D'une part, la nature des particules géogènes sous les climats tempérés est assez homogène puisque les sols ont des caractéristiques minéralogiques assez proches quel que soit le substratum. Aussi, une grande partie des particules des retombées atmosphériques provient du transport éolien de minéraux ou composés organiques sur des distances faibles. Par ailleurs, d'autres particules sont d'origine anthropique en réponse à une forte densité de population et d'industries en Europe, qui est assez homogène sur une échelle de plusieurs centaines de kilomètres carrés. Enfin, le type de PFC présentes dans les eaux d'infiltration des sols résulte de la conjonction entre particules libérées dans et par le sol et particules apportées par l'atmosphère. Comme cela a déjà été montré une grande partie des particules atmosphériques résulte de processus d'érosion-transport-sédimentation de particules du sol, et donc les particules atmosphériques et celles générés par les sols sont de nature très proche.

L'impact des particules du sol et de l'atmosphère dans la dynamique du transfert des éléments polluants est donc liée non pas à la nature des particules mais à leurs caractéristiques physico-chimiques. En effet, ce sont les paramètres inhérents aux différents environnements qui vont

modifier ces caractéristiques et influencer notamment la réactivité des constituants et le comportement des éléments chimiques qui leurs sont associés. En résumé, le travail de caractérisation en MET/EDX des PFC de trois environnements différents présenté ici a permis de différencier des caractéristiques physico-chimiques particulières pour chaque type de constituant. Les paramètres qui influencent les modifications des PFC et leurs impacts sont examinés dans le chapitre suivant.

CHAPITRE V

REACTIVITE ET DYNAMIQUE DES NANOPARTICULES ENVIRONNEMENTALES

Chapitre V

Réactivité et dynamique des nanoparticules environnementales

I. Introduction

La caractérisation des propriétés physiques et chimiques des PFC collectées dans trois environnements différents avait pour objectif de mettre en évidence les facteurs pouvant modifier la nature et la réactivité des PFC et donc leur rôle dans la dynamique de transfert dans la zone vadose. Les environnements échantillonnés sont : un sol sous vignoble, les retombées atmosphériques sur ce sol et les retombées atmosphériques sur un sol forestier naturel, considéré comme un état de référence non pollué (cf. chapitre II). Dans ces trois environnements, un suivi mensuel a été réalisé; ceci devrait donc permettre d'identifier les facteurs impliqués dans l'évolution de la nature et de la réactivité des particules sur les trois sites. Ainsi, dans ces milieux naturels complexes, nous avons cherché, en comparant les caractéristiques physico-chimiques des PFC en fonction de certains paramètres environnementaux connus, à caractériser les influences relatives des principaux facteurs climatiques ou pédologiques.

Par ailleurs, le suivi de la distribution des particules, connaissant leurs réactivités, est de premier intérêt pour étudier l'évolution des populations de PFC dans leurs environnements de transit respectifs et évaluer les modifications de réactivité et de distribution induites par les facteurs environnementaux.

II. Facteurs affectant la nature et la réactivité des PFC

II.1. Facteurs atmosphériques

II.1.1. Chimie des eaux atmosphériques

La chimie des eaux atmosphériques est un des facteurs ayant un effet sur la nature et les propriétés réactives des particules dans l'atmosphère. En effet, les analyses chimiques réalisées sur les différentes argiles échantillonnées dans les retombées atmosphériques à Breuil et Wintzenheim ont montré dans tous les cas des enrichissements en éléments alcalins (figure 5.1). Ces enrichissements sont à relier avec les analyses réalisées sur les eaux de pluies notamment à Breuil (Tableau 5.1) où les enrichissements en alcalins (Na, Ca et K) des PFC argileuses sont liés à la chimie de la solution. Par ailleurs, il apparaît que les sels sont toujours vecteurs de métaux. Ainsi, plus la solution est saline, plus les métaux sont immobilisés lors d'épisodes secs.

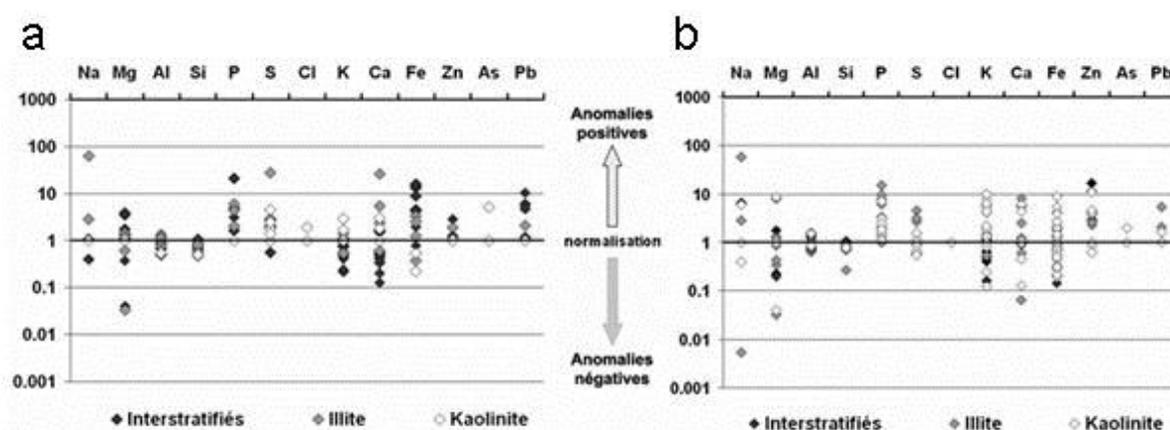


Figure 5.1. Concentrations élémentaires normalisées, par rapport à des minéraux de référence, des argiles automorphes, exprimées en nombre de cations calculés sur la base des formules structurales des phyllosilicates. **a)** argiles des retombées atmosphériques à Wintzenheim. **b)** argiles des retombées atmosphériques à Breuil. ◆ : interstratifiés. ◇ : illites. ○ : kaolinites.

De la même manière, les enrichissements très nets en soufre et phosphore sont à corroborer avec la présence de matière organique associée aux argiles dans l'atmosphère.

La présence de revêtements d'oxydes de fer sur les argiles automorphes comme sur les argiles altérées est également liée aux caractéristiques chimiques des eaux de pluies et notamment le pH (Nachtegaal & Sparks, 2004; Tombacz et al., 2004).

Il est également important de souligner la différence entre les sites de Breuil et Wintzenheim en ce qui concerne le couvert végétal. Le site de Breuil est une forêt et celui de Wintzenheim une parcelle viticole que l'on peut donc considérer comme nue. L'interception des poussières et de la pluie par le couvert végétal va ainsi avoir une incidence sur la chimie des eaux de pluie et sur la maturation de particules interceptées par le couvert végétal avant dépôt sur le sol. Ceci est notamment visible concernant les particules organiques plus riches en métaux à Breuil qu'à Wintzenheim.

		Mai	Juin	Juillet	Août	Septembre	Octobre	Novembre	Decembre	Janvier
CATIONS	S	0.53	0.83	0.58	0.84	0.51	1.01	0.65	1.01	0.42
	P	0.00	0.07	0.00	0.02	0.05	0.00	0.01	0.01	0.12
	Fe	0.02	0.03	0.05	0.03	0.01	0.02	0.02	0.02	0.01
	Si	0.10	0.00	0.14	0.19	0.20	0.26	0.33	0.28	0.04
	Mn	0.06	0.21	0.15	0.13	0.04	0.04	0.03	0.08	0.01
	Mg	0.14	0.66	0.32	0.28	0.10	0.12	0.04	0.13	0.04
	Al	0.04	0.00	0.02	0.01	0.02	0.01	0.00	0.00	0.00
	Ca	0.23	0.55	0.52	0.50	0.25	0.21	0.10	0.23	0.06
	Na	0.74	0.73	0.58	0.65	0.56	1.42	0.71	1.10	1.06
	K	2.69	11.92	4.19	3.46	2.19	4.85	7.10	5.97	3.65
	N-NO3	0.49	0.06	0.00	0.20	0.21	0.65	0.13	0.29	0.20
	N-NH4	0.33	0.00	0.00	0.37	0.48	0.67	0.26	0.19	0.10
	TC	5.18	51.44	49.27	9.93	7.79	11.07	11.54	10.54	4.42
	ANIONS	F	0.00	0.04	0.05	0.02	0.01	0.02	0.02	0.02
Cl		1.42	1.52	1.36	1.68	1.61	4.49	2.63	3.31	3.11
NO2		0.26	0.00	0.00	0.06	0.04	0.10	0.03	0.02	0.03
NO3		1.82	0.00	0.00	0.70	0.87	2.92	0.01	2.52	0.82
PO4		0.00	0.13	0.00	0.03	0.00	0.16	0.00	0.00	0.00
SO4		1.53	1.87	1.20	2.00	1.10	2.75	1.71	3.04	1.18
IC	0.000009	0.000017	0.000009	0.000012	0.000008	0.000017	0.000012	0.000017	0.00001	
pH	6.73	4.69	4.62	6.57	6.33	6.73	6.71	6.34	6.63	
Hauteur de pluie (mm)	85.24	56.58	21.98	67.39	94.98	25.22	102.54	49.01	51.23	

Tableau 5.1. Analyses chimiques et valeurs de la force ionique (IC) en mol.l⁻¹, du pH et de la hauteur de précipitations en mm sur le site de Breuil-Chenu pour la période considérée. Les valeurs de concentrations sont en mmol.l⁻¹.

II.1.2. Dynamique atmosphérique

La dynamique atmosphérique est un facteur physique important dans le contrôle des apports atmosphériques. Ce facteur se traduit principalement par deux sous-facteurs prédominants : (i) les caractéristiques du vent et (ii) les caractéristiques physiques de la pluie.

Les caractéristiques du vent jouent essentiellement sur les apports sur longue distance de particules. Dans notre cas la seule information disponible concernant le vent est sa direction préférentielle. Ceci est donc à recouper avec la nature des PFC et leurs sources éventuelles. Ainsi, la présence de suies dans les retombées atmosphériques à Breuil est vraisemblablement liée à un apport longue distance influencé par la dynamique éolienne. Le vent dominant à Breuil est un vent de sud-ouest. Etant donné la situation sur un sommet du site, la forêt agit comme un écran capable d'intercepter des apports de plusieurs kilomètres à plusieurs centaines de kilomètres. Cependant il est impossible avec les outils utilisés ici de déterminer avec précision l'influence de la force du vent.

De la même manière, l'intensité et la durée des épisodes pluvieux sont difficiles à appréhender. En effet, ces facteurs fluctuant sur plusieurs échelles de temps allant de l'heure à la saison, seul un suivi sur des intervalles de temps donné peut permettre de caractériser l'influence de ces facteurs. L'échelle mensuelle sera étudiée plus en détail dans la suite du travail.

II.1.3. Nature des terrains adjacents

Afin de caractériser les particules entrant dans le système "sol" considéré, les PFC des retombées atmosphériques recueillies dans ce travail sont les particules arrivant au sol. Ceci inclus donc à la fois les particules atmosphériques *sensus stricto* mais aussi les retombées géogènes par transport éolien sur de faibles distances. Ainsi, un certain nombre de particules et colloïdes caractérisés dans le chapitre IV ont pour origine le milieu environnant le collecteur. Ces constituants de la phase particulaire sont soulevés du sol proche du capteur puis redéposés rapidement. L'échelle sur laquelle ce processus de transport éolien est actif peut aller de quelques centimètres à plusieurs kilomètres dans la basse à très basse atmosphère.

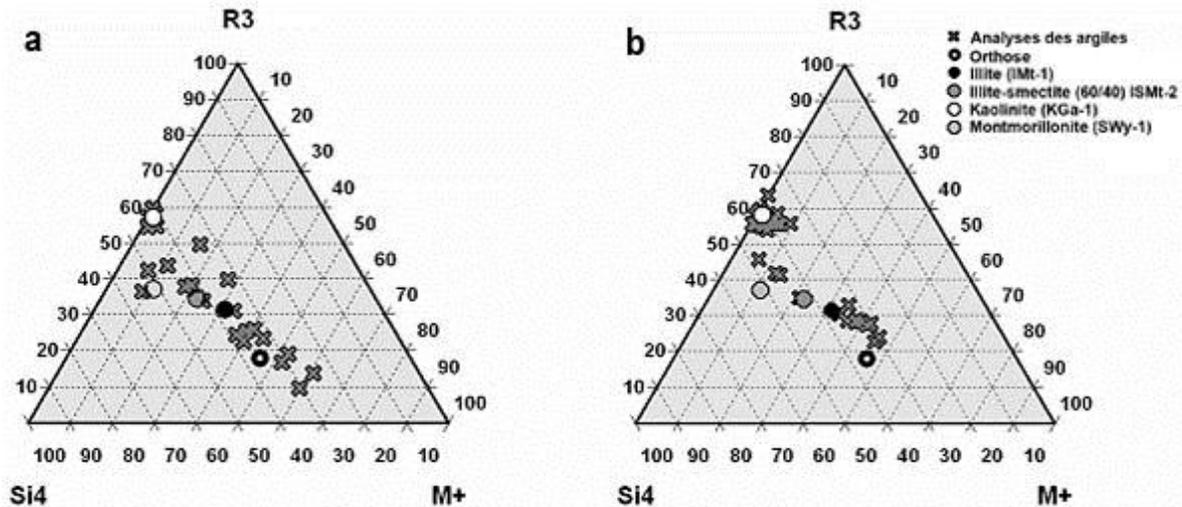


Figure 5.2. Représentation en diagramme ternaire des rapports de cations des argiles. **a)** argiles des retombées atmosphériques à Wintzenheim. **b)** argiles des retombées atmosphériques à Breuil. Les nombres de cations sont basés sur les calculs de formules structurales. **x**: analyses des nanoparticules; **○** minéraux de références.

De ce fait de nombreuses particules caractérisées comme retombées atmosphériques sont originaires du sol même sur lequel elles retombent. Ainsi la comparaison de la nature des argiles des retombées atmosphériques sur les deux sites étudiés montre que chacun de ces sites a une signature bien particulière (figure 5.2.a,b). A Breuil les retombées d'argiles sont principalement constituées de kaolinite et d'illite alcaline alors qu'à Wintzenheim il s'agit essentiellement de feldspath, d'illite et d'interstratifiés illite-smectite. Ceci est encore plus net concernant les particules d'argiles altérées qui à Breuil sont majoritairement la kaolinite (figure 5.3.b) et à Wintzenheim l'illite et des interstratifiés illites-smectites (figure 5.3.a). La comparaison de ces compositions minéralogiques de la phase particulaire avec la minéralogie du sol coïncide avec un re-dépôt de particules d'argiles de l'horizon de surface du sol sous-jacent constitué majoritairement de kaolinite et d'illite pour Breuil (figure 2.8 chapitre II) et d'illite et d'interstratifiés à Wintzenheim (figure 2.14 chapitre II).

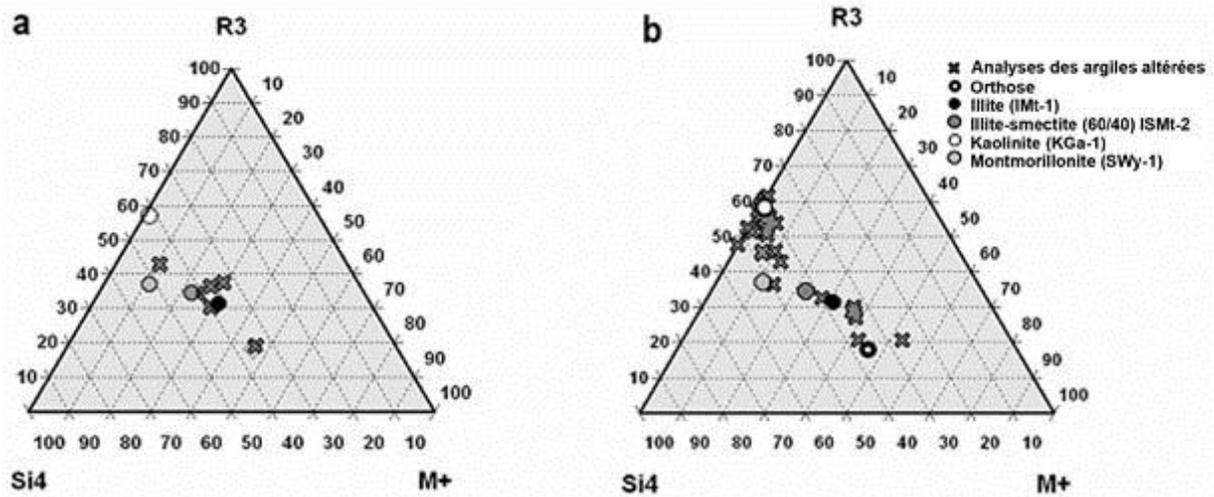


Figure 5.3. Représentation en diagramme ternaire des rapports de cations des argiles altérées des retombées atmosphériques. **a)** à Wintzenheim. **b)** à Breuil. **X** : analyses des nanoparticules ; **○** : minéraux de références.

II.1.4. Nature des apports anthropiques

Les apports anthropiques jouent un rôle important sur la dynamique particulaire dans l'atmosphère. Les particules atmosphériques sont souvent générées par l'homme (Vaughan, 2000). Ainsi, sur les deux sites étudiés, de nombreuses PFC des retombées atmosphériques sont enrichies en métaux vraisemblablement d'origine anthropique. De ce fait le plomb présent dans les bactéries et les composés organiques ainsi que le plomb sous forme d'oxy-hydroxydes sont autant d'enrichissements vraisemblablement dus à l'action de l'homme. Par ailleurs, les oxy-hydroxydes des retombées atmosphériques à Wintzenheim sont principalement des composés riches en plomb alors qu'à Breuil ils sont indifféremment riches en fer ou plomb et parfois en zinc.

II.2. Facteurs pédologiques

Le suivi et la caractérisation des PFC circulant dans la solution de sol à Wintzenheim permettent de mettre en évidence un certain nombre de facteurs déterminants influençant la réactivité de ces particules et leur impact sur le transfert dans la zone vadose.

II.2.1. Chimie de la solution de sol

La chimie de la solution de sol est un des facteurs influençant les nanoparticules circulant dans cette solution. Ainsi, la comparaison des caractéristiques chimiques des argiles circulant dans la solution de sol et des argiles des dépôts atmosphériques à Wintzenheim montre que les argiles de la solution de sol sont principalement des interstratifiés proches du pôle illitique et des kaolinites, ce qui correspond aux argiles du sol (ce chapitre paragraphe II.1.3.). Cependant, les argiles échantillonnées dans la solution de sol montrent des appauvrissements systématiques en potassium et calcium par rapport aux minéraux de référence (figure 5.4), ceci est dû aux caractéristiques de la solution de sol et notamment aux conditions de pH favorisant l'altération et donc la perte en alcalins des illites du sol se transformant progressivement en interstratifiés illite/smectite. De plus, les enrichissements en fer notés sur les argiles (figure 5.4) sont explicables par un enrichissement via des revêtements d'oxydes de fer en surface des argiles. Les enrichissements fréquents en phosphore et soufre de ces argiles sont également liés aux caractéristiques de la solution de sol et notamment à sa charge en matière organique. Ceci résulte de l'adsorption de films biologiques à la surface des argiles. Enfin, le nombre important et les caractéristiques particulières des sels présents dans la solution de sol montrent que cette dernière participe activement au transfert des métaux puisque toutes les particules sont enrichies en métaux et notamment en plomb, zinc et arsenic.

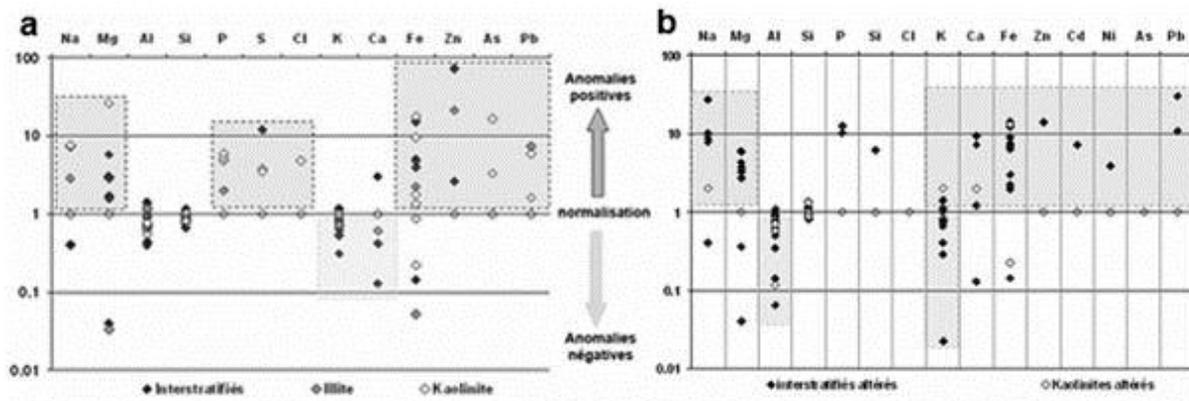


Figure 5.4. Normalisation des analyses en cations calculés sur la base des formules structurales des minéraux d'argiles circulant dans la solution du sol de Wintzenheim. La ligne $y=1$ représente les minéraux de références. \blacklozenge : interstratifiés. \diamond : illites. \circ : analyses kaolinites. **a)** argiles automorphes, **b)** argiles altérées.

II.2.2. Conditions climatiques

Les conditions climatiques telles que la température de l'air et du sol ou la pluviométrie, ont très vraisemblablement un impact sur la nature et les propriétés physico-chimiques des particules du sol. Cependant, cet impact est indirect. De plus, le temps de fluctuation d'un tel facteur ne permet pas de caractériser son impact à ce stade du travail. La chimie de la solution et le suivi dans le temps de l'évolution des populations de nanoparticules peut permettre de mettre en évidence l'influence des conditions climatiques sur la réactivité des nanoparticules du sol et sera abordé dans la suite du travail.

II.2.3. Minéralogie et texture du sol

L'un des facteurs majeur déterminant la nature et la physico-chimie des PFC circulant dans les eaux d'infiltration du sol est la minéralogie du sol. Il apparaît que les argiles présentes dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim sont majoritairement des particules de type illite/smectite proches du pôle illitique qui sont la résultante de l'altération des

constituants majoritairement illitiques du sol étudié (ce chapitre paragraphe II.1.3.). De plus les argiles du sol ont généralement une taille plus importante que celles des retombées atmosphériques du fait de la proximité de la source. La texture et la dynamique hydrique du sol permettent également le développement des colonies bactériennes, ce qui accroît la réactivité des PFC en multipliant leur surface.

II.2.4. Nature des apports et interventions anthropiques

La caractérisation de la composition chimique des bactéries présentes dans les eaux d'infiltration a permis de mettre en évidence la présence de plomb dans les bactéries ainsi que la présence ponctuelle de métaux divers associés à la matière organique du sol. De la même manière les sels présents dans les échantillons des eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim sont très souvent riches en plomb. La prédominance de cet élément, visiblement associé à la matière organique et à la solution du sol dénote des sources d'apports anthropiques d'origine indéterminées.

II.3. Devenir des retombées atmosphériques dans le sol et impact sur la réactivité des particules en tant que vecteurs de contaminants

Il a été montré précédemment (ce chapitre, paragraphe II.1.3.) que la signature minéralogique des dépôts de minéraux et notamment celle des argiles en surface est caractéristique d'un remaniement éolien de l'horizon de surface du sol. Cependant l'enrichissement en éléments salins et en matière organique de ces dépôts lors de leur séjour en surface contribue à modifier les caractéristiques de ces argiles. Ainsi, lors de leur retour dans le sol via les eaux d'infiltration, les argiles sont des vecteurs de pollution d'autant plus réactifs qu'ils sont chargés en matière organique (figure 5.5). De plus, l'enrichissement en cations alcalins et donc l'augmentation de la salinité autour des argiles augmente leur capacité à adsorber les métaux (Compère et al., 2001).

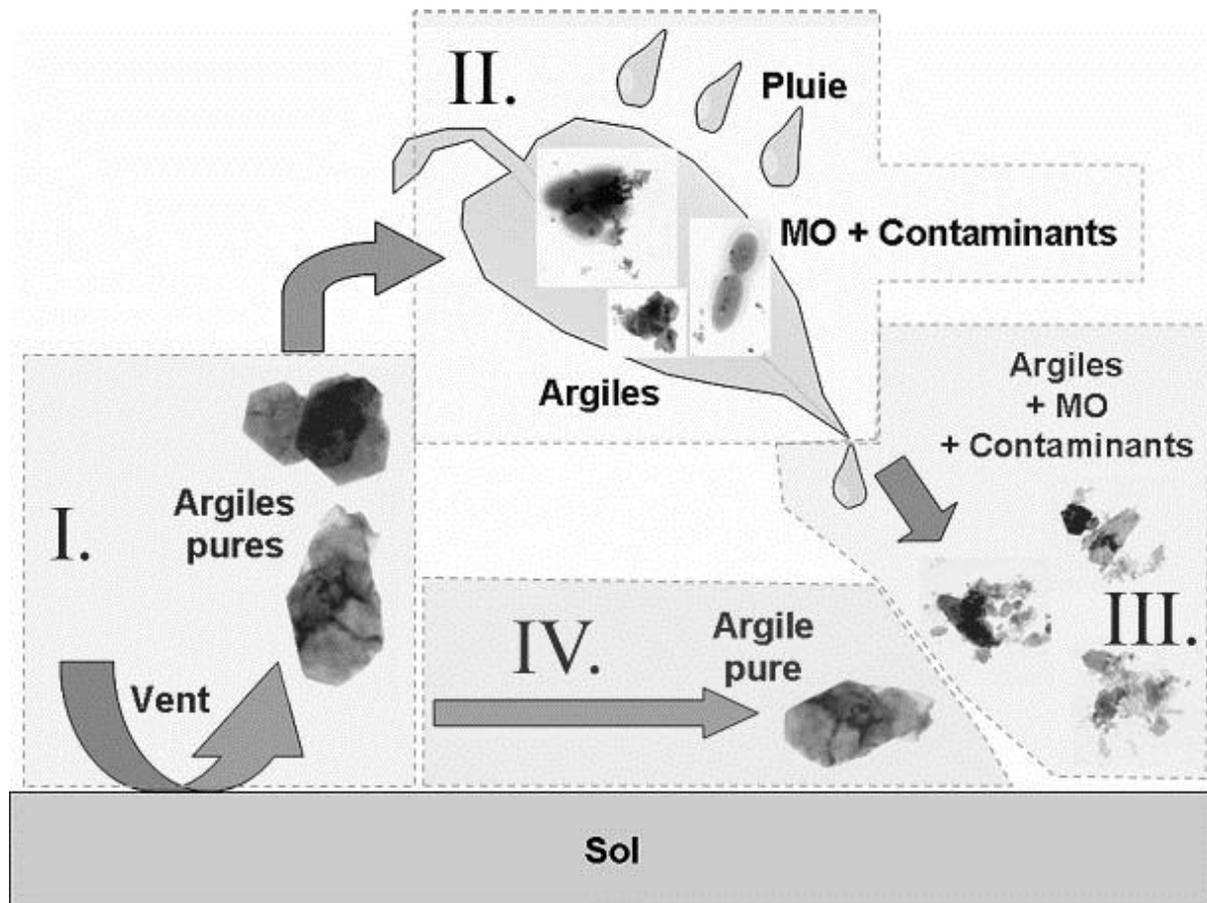


Figure 5.5. Schéma conceptuel de l'enrichissement de certaines argiles en éléments salins, matière organique et contaminants via le remaniement éolien en contexte forestier.

I. Souèvement des argiles de surface par le vent. II. Dépôts des argiles dans les frondaisons et association avec la matière organique « atmosphérique » riche en contaminants, l'eau de pluie est chargée en éléments salins. III. Lessivage et dépôt des associations ainsi formées, les argiles sont enrichies en contaminants. IV. Dépôt direct d'argiles sans passage dans la végétation. MO : matière organique. La feuille représente l'ensemble du couvert végétal.

La caractérisation minéralogique par diffraction des rayons X (DRX) des fractions argileuses du sol de Wintzenheim n'a pas permis de mettre en évidence la présence d'oxydes ou hydroxydes de plomb dans le pool particulière des solutions du sol. Par contre, la caractérisation fréquente par MET/EDX des apports en oxy-hydroxydes par les retombées atmosphériques à la surface du sol de Wintzenheim a également permis de mettre en évidence un apport en plomb. Ainsi, il est probable que le plomb présent dans les eaux d'infiltration du sol est d'origine atmosphérique. Cette hypothèse est confirmée par la caractérisation chimique des retombées atmosphériques à Breuil où, accompagnant des oxy-hydroxydes de fer, le

plomb est très fréquent. Ainsi, même si la source de ces oxydes métalliques reste indéterminée, ils contribuent de manière importante, de par leur nature chimique, au transfert d'éléments contaminants vers la zone saturée du sol.

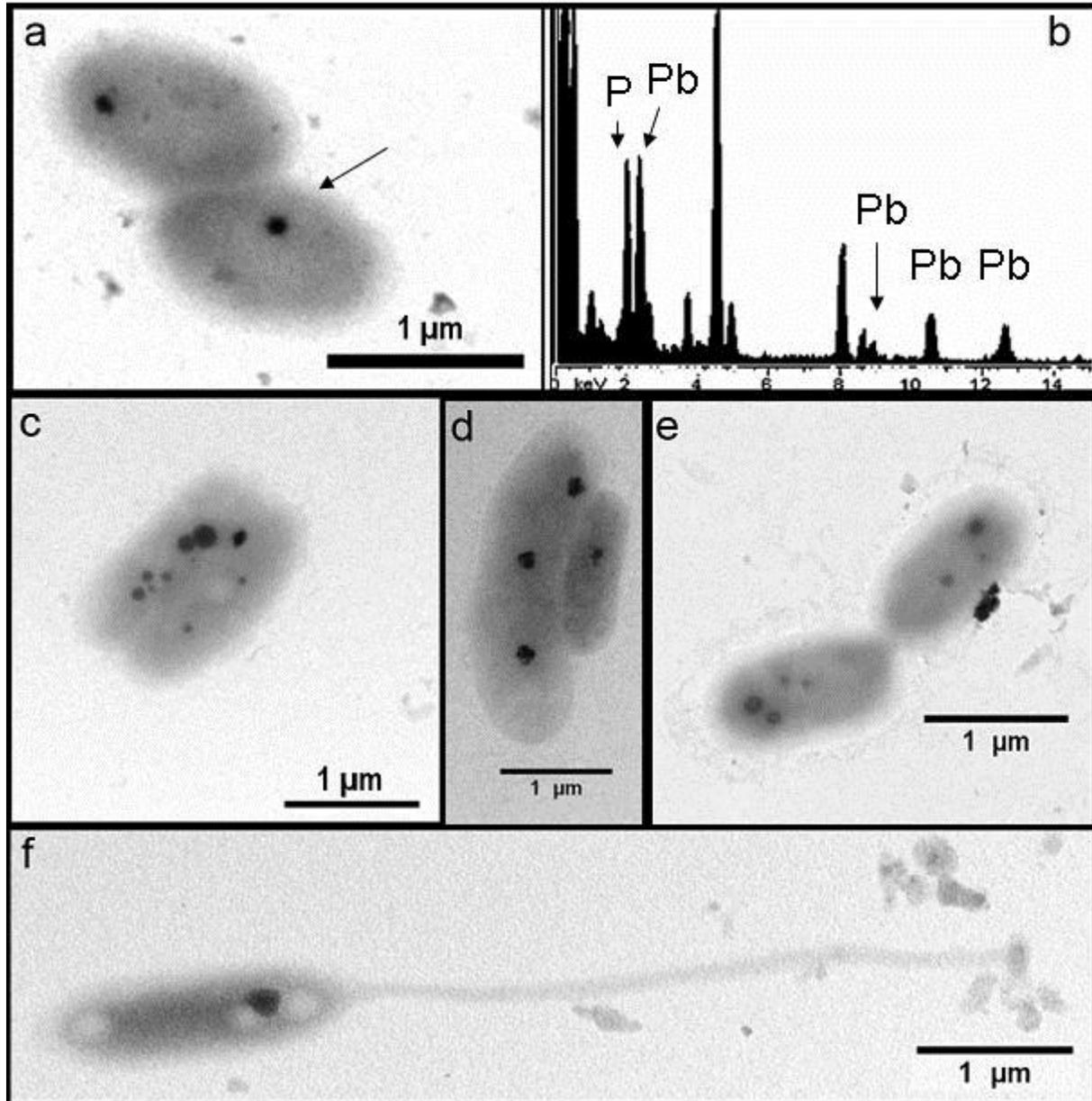


Figure 5.6. a), c), d), e) et f) Images en MET de bactéries de Breuil et Wintzenheim contenant des granules internes riches en plomb. b) Spectre d'analyse EDX correspondant à la granule pointée sur l'image a.

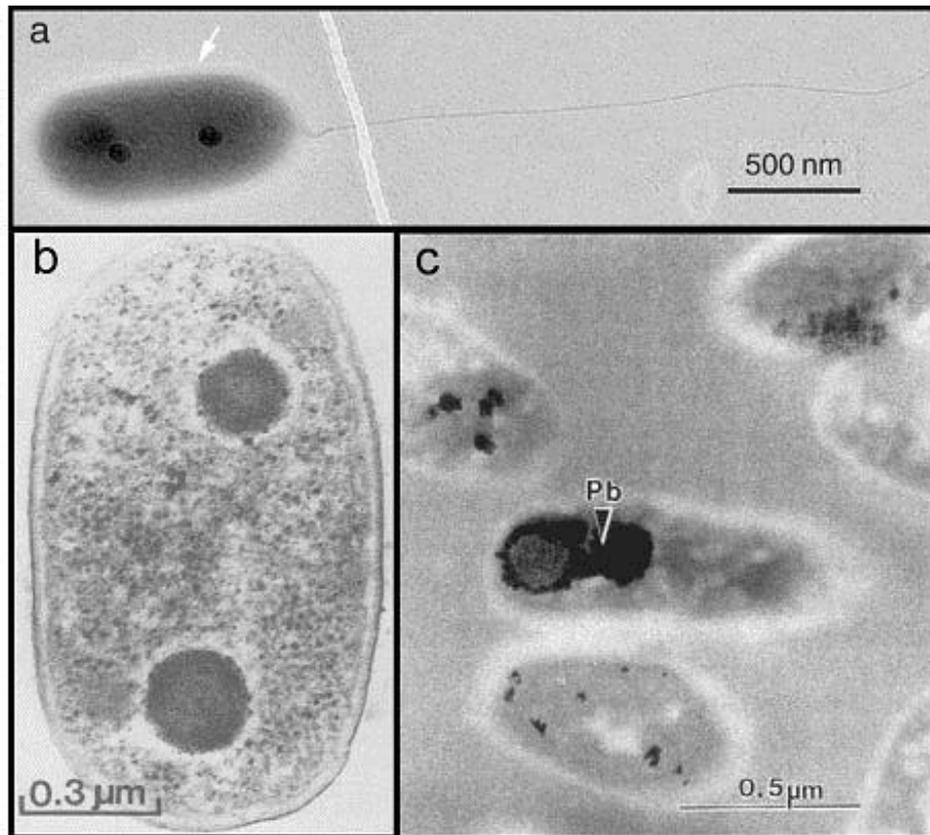


Figure 5.7. Photographies en MET de bactéries avec granules internes de la littérature. **a)** Bactérie typique des aérosols de l'océan sud polaire possédant un flagelle polaire et des granules phosphatiques. D'après Posfai et al., 2003. **b)** Section d'*Aeromonas* cultivée en milieu liquide contenant de l'acétate de plomb triméthyl et montrant des granules internes. D'après Silverberg et al., 1976. **c)** Section ultramince de *B. megaterium* montrant une sequestration et une accumulation intracellulaire de plomb. D'après Roane, 1999.

En ce qui concerne les particules organiques, il apparaît que, en surface comme dans les eaux d'infiltration du sol et quels que soient les sites échantillonnés, les microorganismes et la matière organique inerte (MOI) sont des porteurs de métaux. Ceci est notamment primordial pour les bactéries. En effet, dans les retombées atmosphériques à Breuil, dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim et dans les eaux d'infiltration du sol à Wintzenheim, les bactéries sont très majoritairement enrichies en plomb. Par ailleurs ce plomb est toujours confiné dans des granules internes en association avec du phosphore (figure 5.6). De telles "granules" riches en phosphore ont été identifiées dans des bactéries de type bacille possédant un flagelle en position polaire (figure 5.7.a) et collectées entre 120 m et 5,4 km d'altitude au dessus de l'océan sud polaire d'où elles sont originaires (Posfai et al., 2003a). Cependant, les auteurs de cette étude ne mentionnent en aucun cas la présence de plomb associé au

phosphore dans les granules. Par ailleurs des études expérimentales "in vitro" ont permis de cultiver des bactéries en présence de plomb en milieu liquide. Ainsi, Silverberg et al. (1976) ont mis en évidence la présence de plomb dans les bactéries cultivées en présence d'acétate de plomb triméthyl. Cependant, bien que les auteurs aient noté la présence de granules internes dans les bactéries (figure 5.7.b), les moyens d'analyse limités à l'époque ne leur ont pas permis de spécifier la composition chimique de ces granules. Plus récemment une étude similaire (Roane, 1999) a mis en évidence la séquestration et l'accumulation de plomb intracellulaire dans des cultures de *B. megaterium* en présence de nitrate de plomb (figure 5.7.c). Il apparaît cependant que ces accumulations ne présentent pas la forme typique des granules observées dans cette étude ainsi que dans les travaux de Posfai et al. et Silverberg et al.

Il est donc mis en évidence dans ce travail, pour la première fois, le fait que des microorganismes sont capables de séquestrer et d'accumuler du plomb dans l'environnement naturel sous forme de granules. De ce fait, les bactéries apparaissent dans ce travail comme des particules au comportement essentiel dans la mobilisation et le transfert de plomb dans l'environnement. La présence d'un tel type de bactéries à la fois dans l'atmosphère et dans le sol permet de penser que ces bactéries sont ubiquistes et que les apports en plomb sont d'origine atmosphérique.

Enfin, les enrichissements en arsenic observés dans les bactéries caractérisées sur le site de Wintzenheim au mois d'avril sont symptomatiques d'apports hors-sol. En effet, les vignes ont été traitées le 21 mars à l'aide d'un fongicide arsénié (sous forme d'arséniate de sodium, très soluble). Celui-ci est donc un traceur du transfert de l'arsenic au sol. Le fait que seules les bactéries du mois d'avril présentent des traces de cet élément montre que l'arsenic, s'il est mobilisé par les bactéries, ou du moins par certaines d'entre-elles, l'est pour un temps assez court et ne reste pas dans le sol, étant infiltré en profondeur. En corolaire, les seuls constituants présentant des enrichissements légers en arsenic sont les biofilms. De ce fait, l'arsenic est lessivé très rapidement dans le sol et seulement immobilisé pour un temps court par les particules organiques et notamment les bactéries puis remobilisé dans la solution de sol par dégradation de la MO.

III. Variations des PFC dans l'espace et le temps

La détermination fine de la typologie des matières solides en suspension dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim et dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim et à Breuil a été réalisée sur une période de neuf mois et à quatre profondeurs différentes (cf. chapitre IV). Ainsi, la distribution relative des différents types peut être étudiée en référence avec les différents facteurs mis en jeu. Afin de caractériser l'importance des facteurs dans le transfert des différentes particules solides, les variations de distribution relative des particules sont étudiées à la fois dans l'espace et dans le temps. Pour ce faire les données issues de l'analyse d'image sont exprimées en surfaces relatives, *i.e.* le rapport entre la surface couverte par un type de particule donné et l'ensemble de la surface couverte ramenée à 100%.

III.1. Variations de la charge en matière et dynamique hydrique du sol

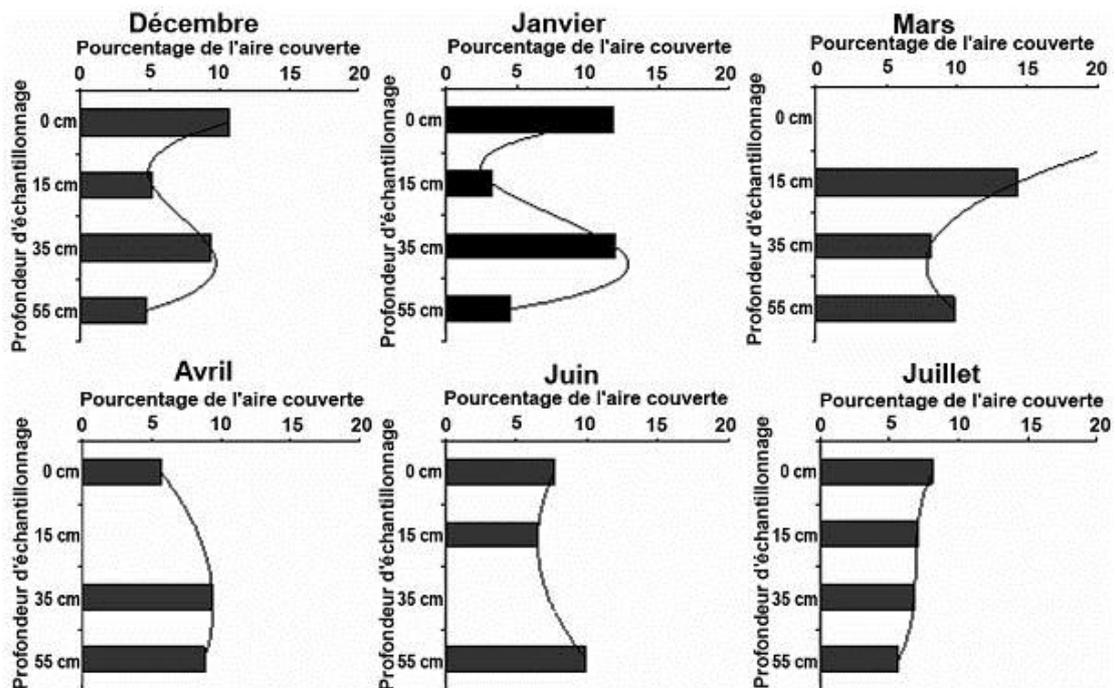


Figure 5.8. Pourcentages de l'aire totale couverte sur chacune des grilles de microscopie à chaque profondeur à Wintzenheim correspondants à la charge totale en particules pour les mois de a) décembre, b) janvier, c) mars, d) avril, e) juin et f) juillet. La profondeur 0 cm correspond aux retombées atmosphériques.

En considérant les échantillons étudiés à Wintzenheim, il est possible de caractériser la charge en particules présente à chaque profondeur de chaque mois. L'expression de la charge en particules correspond au pourcentage de la surface de la grille couverte par les particules quelle que soit leur nature. La figure 5.8 montre l'évolution de cette charge en particules entre la surface et 55 cm de profondeur. Si les dynamiques de décembre et janvier sont très similaires, il apparaît nettement que les mois de mars, avril et juin ont une dynamique très différente et le mois de juillet présente une évolution de la charge en particules moins contrastée et approchant la dynamique des mois de décembre et janvier. Le sol de Wintzenheim est homogène et principalement sableux avec environ 60% de sable, 30% de limons et 10% d'argile sur le premier mètre (cf. chapitre II, paragraphe II.2.3.). Ce taux moyen d'argile implique que le sol ne répond pas de manière très importante à l'hydratation et donc que le régime hydrique est permanent. Pour les mois de décembre et janvier, les retombées atmosphériques présentent la même charge particules (11 à 12%) alors que les mois d'avril à juillet ont des retombées atmosphériques moins abondantes (6 à 8%). Ceci a évidemment une influence sur la balance entre le nombre de particules issues du sol et le nombre de particules d'origine atmosphérique transitant dans le sol. Ainsi, pour les mois ayant une charge en particules sur les grilles de surface plus faible, l'échantillonnage en profondeur est plus influencé par les particules du sol et donc par la dynamique de libération des particules dans le sol et par la dynamique hydrique aux différentes profondeurs d'échantillonnage. La modification de cette dynamique pour les mois de mars à juin est à corréliser avec la pluviométrie du site (figure 5.9). Celle-ci corrobore les plus faibles dépôts atmosphériques de mars à juin avec une pluviométrie moins intense. Cependant, la faible pluviosité en décembre ne correspond pas avec de faibles dépôts atmosphériques. Ceci est très certainement dû à la nature des précipitations hivernales et notamment l'occurrence de précipitations neigeuses qui bloquent les apports atmosphériques, le régime souterrain étant maintenu par les fluctuations de température générant des alternances gel-dégel et une fonte progressive de la neige. Par ailleurs, Il est possible que cette baisse de la charge en particules atmosphérique soit liée à l'interception par la végétation environnante et notamment les vignes.

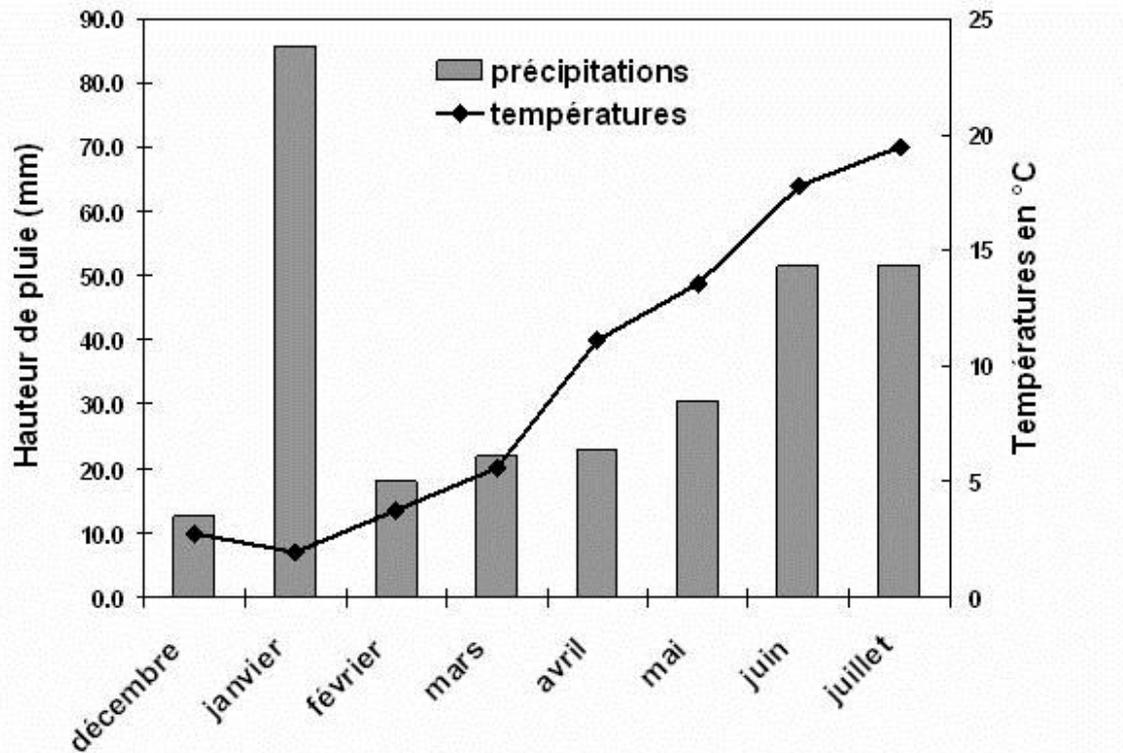


Figure 5.9. Variations des précipitations et températures moyennes mensuelles à Wintzenheim au cours de la période étudiée.

III.2. Variations de distribution avec la profondeur

L'étude statistique de la distribution des particules à Wintzenheim permet de caractériser les variations de la distribution dans l'espace suivant les différentes profondeurs d'échantillonnage. La figure 5.10 représente les diagrammes de distribution de la surface relative couverte par les différents types de particules caractérisés (cf. chapitre IV) pour les retombées atmosphériques à Breuil et Wintzenheim et la figure 5.10 pour tous les mois échantillonnés et selon les différentes profondeurs à Wintzenheim.

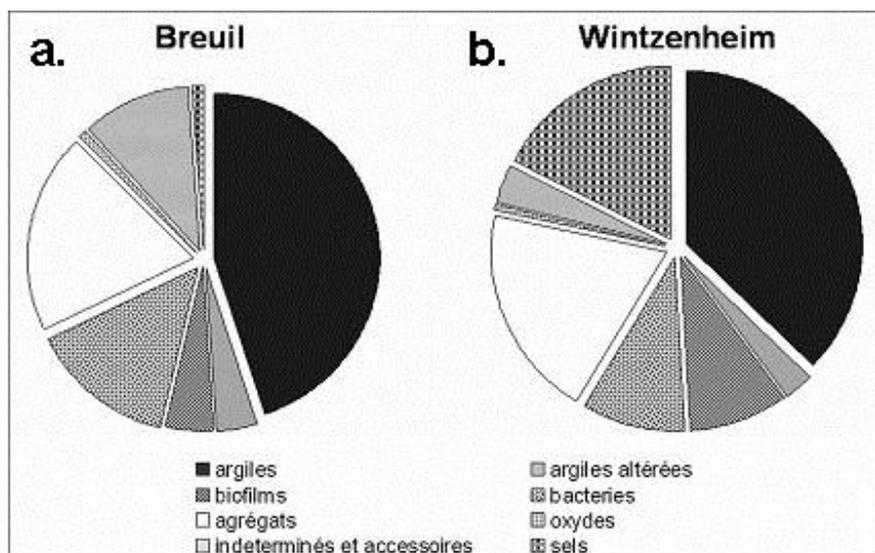


Figure 5.10. Diagrammes de distribution de la surface relative couverte par les différents types de particules caractérisés pour les retombées atmosphériques en cumul de tous les mois échantillonnés à **a)** Breuil et **b)** Wintzenheim.

Les retombées atmosphériques à Breuil sont majoritairement composées d'argiles, d'agrégats et de bactéries. A Wintzenheim, elles sont majoritairement composées d'argiles, d'agrégats et de sels et dans une moindre mesure de bactéries et biofilms. Il apparaît donc que de manière générale les retombées atmosphériques peuvent être considérées comme toujours composées d'argiles, agrégats et bactéries avec, selon les sites, des ajouts substantiels d'autres types de particules (sels et/ou indéterminés). Ainsi, sur le site forestier de Breuil les retombées atmosphériques sont riches en bactéries et composés indéterminés et sur le site alsacien de plaine à Wintzenheim elles sont plus riches en sels. Ces différences sont expliquées par les caractéristiques atmosphériques différentes régnant sur ces deux sites. Ainsi, la présence plus ou moins importante de sels dans les retombées atmosphériques est expliquée par la différence de la chimie des pluies entre les deux sites. De même, l'application de sels de déneigement à Wintzenheim à proximité du site, est susceptible d'augmenter de manière importante la présence de sels dans les retombées atmosphériques (Norrström & Bergstedt, 2001; Backstrom et al., 2004). Le site de Breuil étant beaucoup plus éloigné des voies de communication. Par contre, le couvert végétal dense au dessus du sol de Breuil joue un rôle de capteur de la pluie, la chargeant plus en matière solide lors du lessivage des feuilles. De ce fait, la fraction dissoute de la pluie est plus faible relativement à la fraction particulaire et l'eau atmosphérique se charge par ailleurs en microorganismes divers.

La figure 5.11 représente les distributions des surfaces couvertes par les différents types de PFC caractérisés à Wintzenheim. La figure 5.11.a est un rappel de la figure 5.10.b et sa lecture est donnée ci-dessus. A 15 cm de profondeur, la population de PFC des eaux d'infiltration du sol est largement dominée par les argiles automorphes et altérées ainsi que par les biofilms et dans une moindre mesure les bactéries. A 35 cm, les argiles sont également dominantes mais les agrégats, les bactéries et les sels sont également très fréquents. A 55 cm de profondeur, les argiles ne sont plus majoritaires, ce sont les bactéries, les agrégats et les sels qui sont prépondérants.

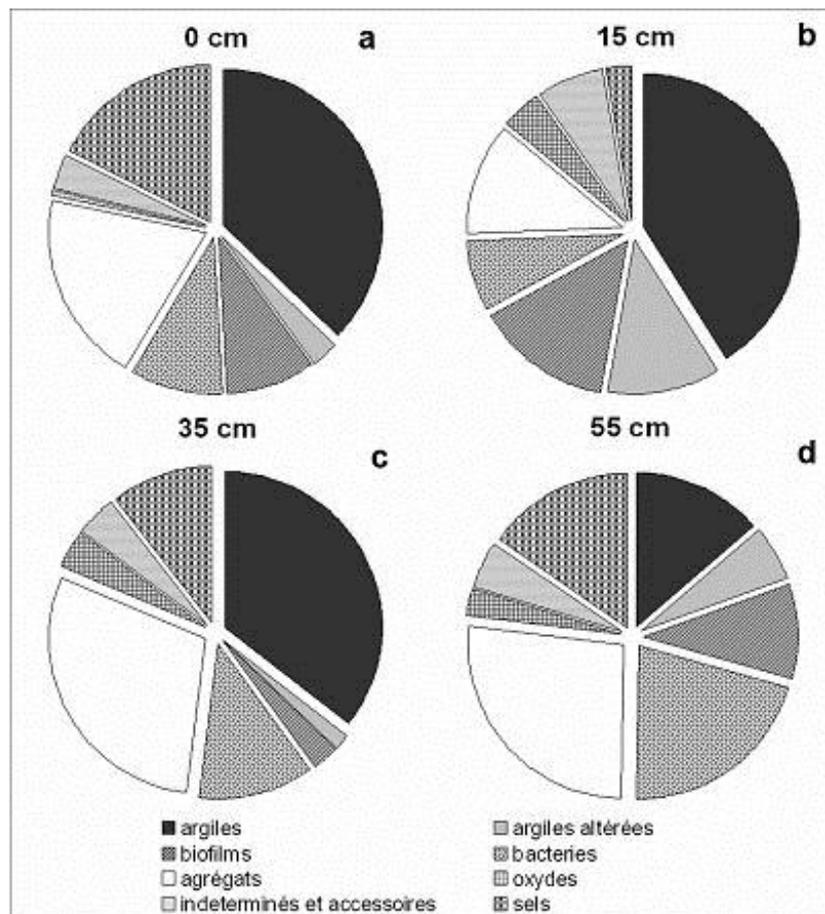


Figure 5.11. Diagrammes de distribution de la surface relative couverte par les différents types de particules caractérisés à Wintzenheim en cumul de tous les mois échantillonnés à **a)** la surface, **b)** 15 cm de profondeur, **c)** 35 cm de profondeur et **d)** 55 cm de profondeur.

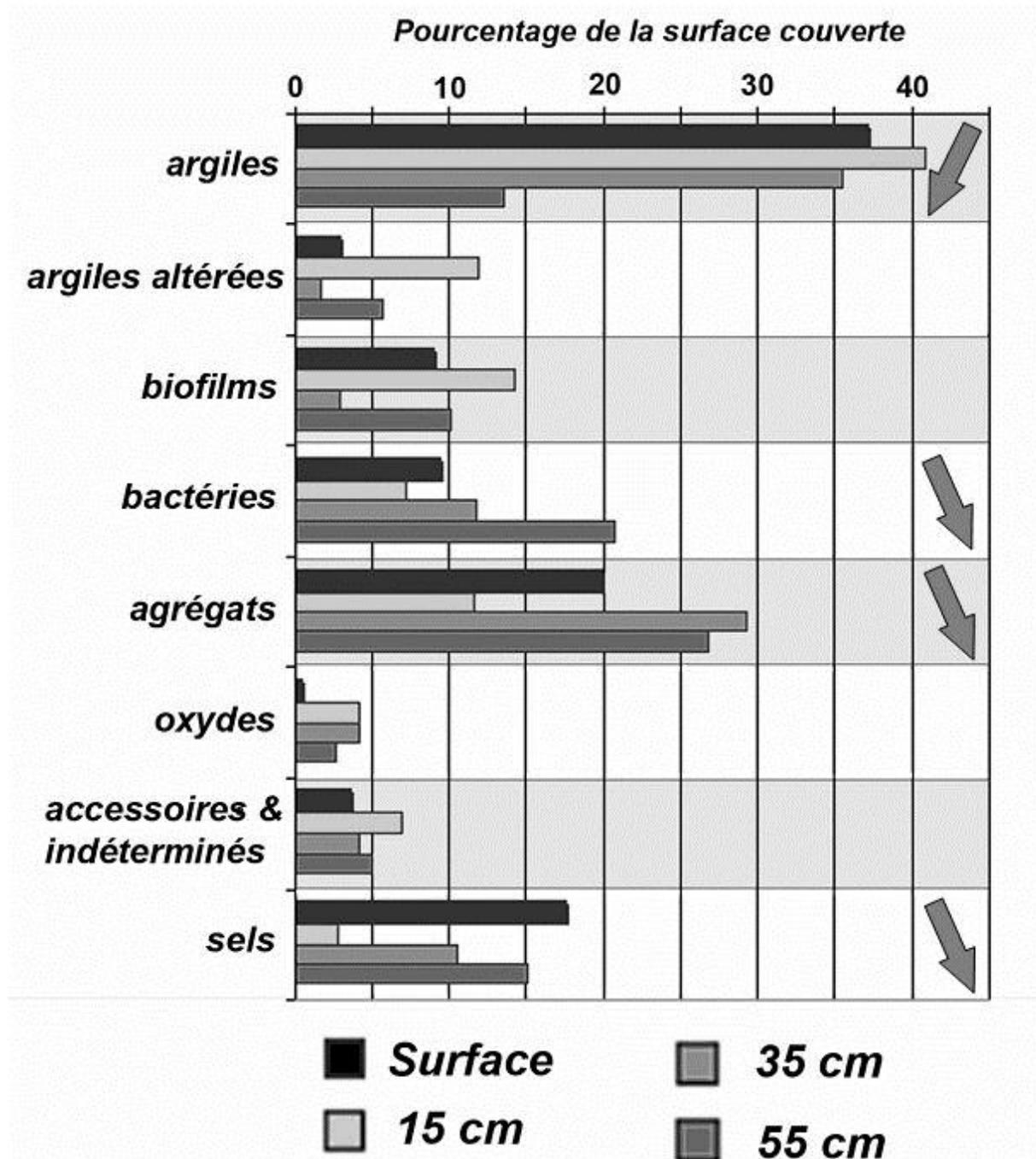


Figure 5.12. Evolution du pourcentage de la surface couverte par chaque type de particules en fonction de la profondeur. Les flèches matérialisent les tendances évolutives pour les types principaux dans la solution de sol (entre 15 cm et 55 cm).

L'analyse de l'évolution de la distribution des types de particules (figure 5.12) montre des tendances évolutives nettes pour certains types avec la profondeur. A noter que les particules présentes dans les retombées atmosphériques ne sont pas à intégrer avec ces évolutions. Ainsi, les argiles sont relativement de moins en moins dominantes avec la profondeur. Au contraire,

bactéries, agrégats et sels sont de plus en plus abondants avec la profondeur. Il apparaît par ailleurs que seuls ces quatre types ont une évolution marquée selon les différentes profondeurs d'échantillonnage, les quatre autres types que sont les argiles altérées, les biofilms, les oxydes et les particules accessoires et indéterminées ne présentent pas d'évolutions marquées. Or ces quatre types sont les moins fréquents dans les solutions de sol. Etant donné les conditions d'échantillonnage, ces évolutions avec la profondeur sont liées aux caractéristiques des niveaux de sol. En effet, les bactéries et les agrégats sont liés entre eux dans la mesure où les bactéries sont la base de ces agrégats toujours organo-minéraux avec un liant organique (cf. Chapitre IV). Ainsi, plus il y a de bactéries plus il y a un potentiel de formation des agrégats. Par ailleurs, il a été défini que certains sels présents dans le sol sont liés le résultat d'une précipitation de la solution de sol sur les grilles lors d'épisodes de désaturation. Les sels sont donc des marqueurs de la force ionique de la solution de sol. A partir de ces informations, de la distribution relative des types de particules avec la profondeur et des analyses en MET/EDX des échantillons, un modèle conceptuel de la dynamique particulière dans le sol de Wintzenheim est proposé figure 5.13.

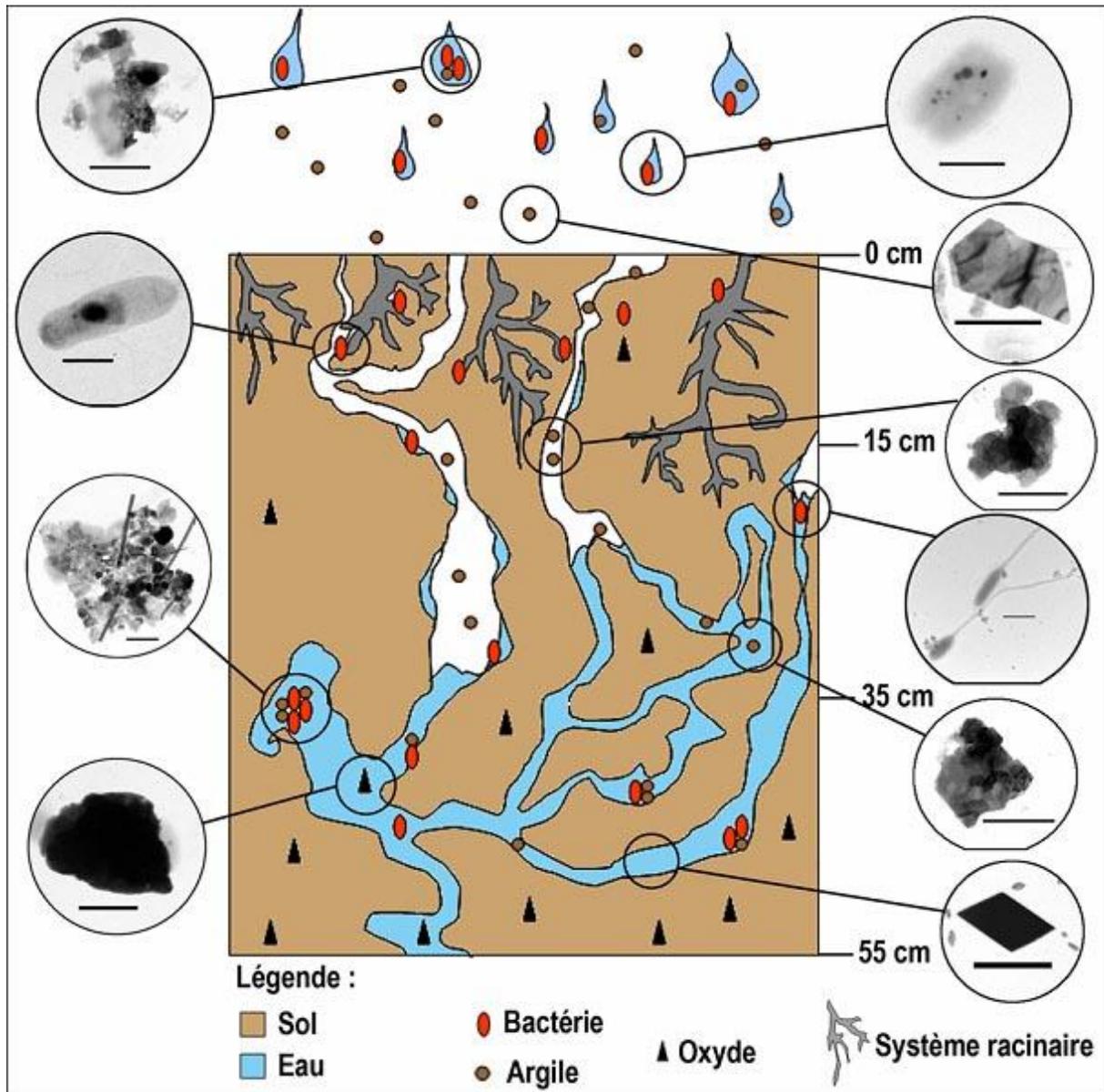


Figure 5.13. Schéma dynamique interprétatif de l'évolution de la distribution des types de particules avec la profondeur. Les échelles du schéma sont exagérées. Les barres d'échelles pour les photographies en MET sont longues de 1 μ m.

Le scénario proposé est le suivant.

1- Les retombées atmosphériques sont majoritairement constituées d'argiles, de bactéries, d'agrégats et de sels (cf. figure 5.10.b). Les sels sont les marqueurs de l'eau et sont donc liés au mode de transport des particules dans l'atmosphère via les eaux de pluie. Les agrégats résultent de l'association entre bactéries et argiles, soit dans l'atmosphère, soit à la surface du sol.

2- A une profondeur de 15 cm, les constituants dominants sont les argiles (automorphes et altérées) et les biofilms. En comparant avec la nature des retombées atmosphériques, il apparaît que les sels et donc l'eau sont peu présents à cette profondeur, ceci explique l'importance moindre des bactéries. Par ailleurs, les argiles sont dominantes à la fois du fait des retombées atmosphériques et de la libération de particules du sol. Les biofilms sont très fréquents à cette profondeur, ce qui peut être expliqué par la présence à la surface du sol d'une litière riche en matière organique liée à la décomposition de végétaux et à la présence d'un système racinaire peu profond du fait du contexte de vignoble à interrangs enherbés.

En définitive deux mécanismes essentiels influencent la distribution des particules entre la surface et 15 cm de profondeur à Wintzenheim. Ces mécanismes sont : (i) la présence d'un tapis racinaire libérant la matière organique dégradée et retenant les microorganismes et (ii) un flux d'eau rapide empêchant une saturation de la porosité et donc la formation d'agrégats organo-minéraux tout en exerçant une force abrasive libérant les constituants argileux du sol.

3- A une profondeur de 35 cm, les argiles, les agrégats et dans une moindre mesure les bactéries et les sels sont les types de constituants les plus fréquents. Les argiles sont un mélange d'argiles des retombées atmosphériques et d'argiles originaires du sol. Les agrégats sont à relier à l'abondance des sels. En effet, une quantité non négligeable de sel indique un milieu assez hydraté et la salinité favorise les processus de complexation. De ce fait, les agrégats sont formés d'argiles et bactéries associées ensemble en présence d'eau. En comparant la distribution relative des types de particules échantillonnées à 35 cm avec celle des types de particules échantillonnées à 15 cm, il apparaît que les argiles sont moins fréquentes et les bactéries, les agrégats et les sels sont plus fréquents. Ainsi, il semble que l'eau soit encore le moteur de la dynamique des particules entre les profondeurs de 15 et 35 cm. En effet entre ces deux profondeurs le sol est plus humide ce qui réduit les flux et accroît la complexation des argiles et de la matière organique pour former des agrégats. Par ailleurs, la diminution de la circulation de l'eau participe à la diminution de la fréquence des argiles issues du sol car le courant est moins énergétique et donc moins érosif et l'alternance entre les périodes de saturation et de désaturation du réseau poral est plus longue.

4. A une profondeur de 55 cm, la fraction solide circulant dans les eaux d'infiltration du sol est principalement constituée de matière organique (bactéries et biofilms), d'agrégats et de sels. Les argiles (automorphes et altérées) sont encore présentes mais elles représentent moins de 25 % de la phase particulaire (figure 5.11.d). La présence de sels en abondance implique la

présence d'eau dans le milieu. Concernant l'évolution des particules avec la profondeur, la figure 5.12 montre que les argiles sont moins dominantes à l'inverse des sels, des bactéries et surtout des agrégats. Ainsi, il semble que le niveau entre 35 et 55 cm soit un niveau riche en eau et à l'instar du niveau supérieur, argiles et bactéries s'agrègent plus facilement. Dans ce niveau, la porosité est saturée et les mécanismes sont donc les mêmes que pour le niveau supérieur mais plus exacerbés.

5. En ce qui concerne les particules minoritaires, bien qu'elles ne soient pas représentées dans le schéma dynamique (figure 5.13), il est également intéressant de discuter leurs comportements.

Ainsi les argiles altérées sont plus fréquentes dans le niveau supérieur du sol. Ce niveau est le siège d'une intense activité biologique qui, combinée à l'action de la pluie et des flux d'eau rapide, favorise les processus d'altération. Les argiles altérées résultent donc de l'altération des argiles du sol, de l'action des cycles de saturation-désaturation du sol favorisant la libération des PFC et le lessivage de l'horizon supérieur du sol.

Les biofilms sont de la matière organique inerte. Leur distribution dans le sol suit la distribution celle des argiles altérées. Plus fréquents dans le niveau supérieur du sol, les biofilms sont liés à la décomposition de la matière organique dont le taux est plus élevé dans l'horizon de surface. Cependant, leur transfert vers la profondeur est un phénomène intéressant qui doit avoir un lien avec les conditions hydriques du sol et très certainement avec les bactéries.

Les oxydes, bien que minoritaires, sont représentés sur la figure 5.13. En effet, très rares dans les retombées atmosphériques, ils sont donc majoritairement originaires du sol et leur évolution est donc seulement dépendante de leur distribution dans le sol.

III.3. Facteurs affectant la distribution des PFC avec le temps

La caractérisation individuelle des particules présentes dans les retombées atmosphériques et dans les eaux d'infiltration sur le site de Wintzenheim durant un suivi de 8 mois a permis de réaliser une étude statistique de l'évolution de la distribution et des caractéristiques des différents types définis dans le chapitre IV, en fonction de la fluctuation des conditions environnementales à l'échelle mensuelle.

De la même manière, les variations des retombées atmosphériques sur le site de Breuil ont été étudiées durant 9 mois de mai 2004 à janvier 2005.

III.3.1. Distribution mensuelle des PFC des retombées atmosphériques

III.3.1.1. Site de Breuil

La figure 5.14 représente la distribution relative des PFC récoltées dans les retombées atmosphériques pour chaque mois d'échantillonnage sur le site forestier de Breuil. Le pourcentage représenté est basé sur la représentativité en termes de pourcentage de la surface couverte. Une telle représentation permet de tenir compte du potentiel réactif en surface réelle des particules en s'affranchissant de leur représentativité individuelle. De cette manière, par exemple, les agrégats organo-minéraux, très réactifs (cf. chapitre V., § III.2) ou les argiles également connues comme très réactives sont ainsi mieux représentés et non sous-estimés par rapport à des particules plus nombreuses mais de tailles très petites telles que les argiles altérées ou les composés organiques.

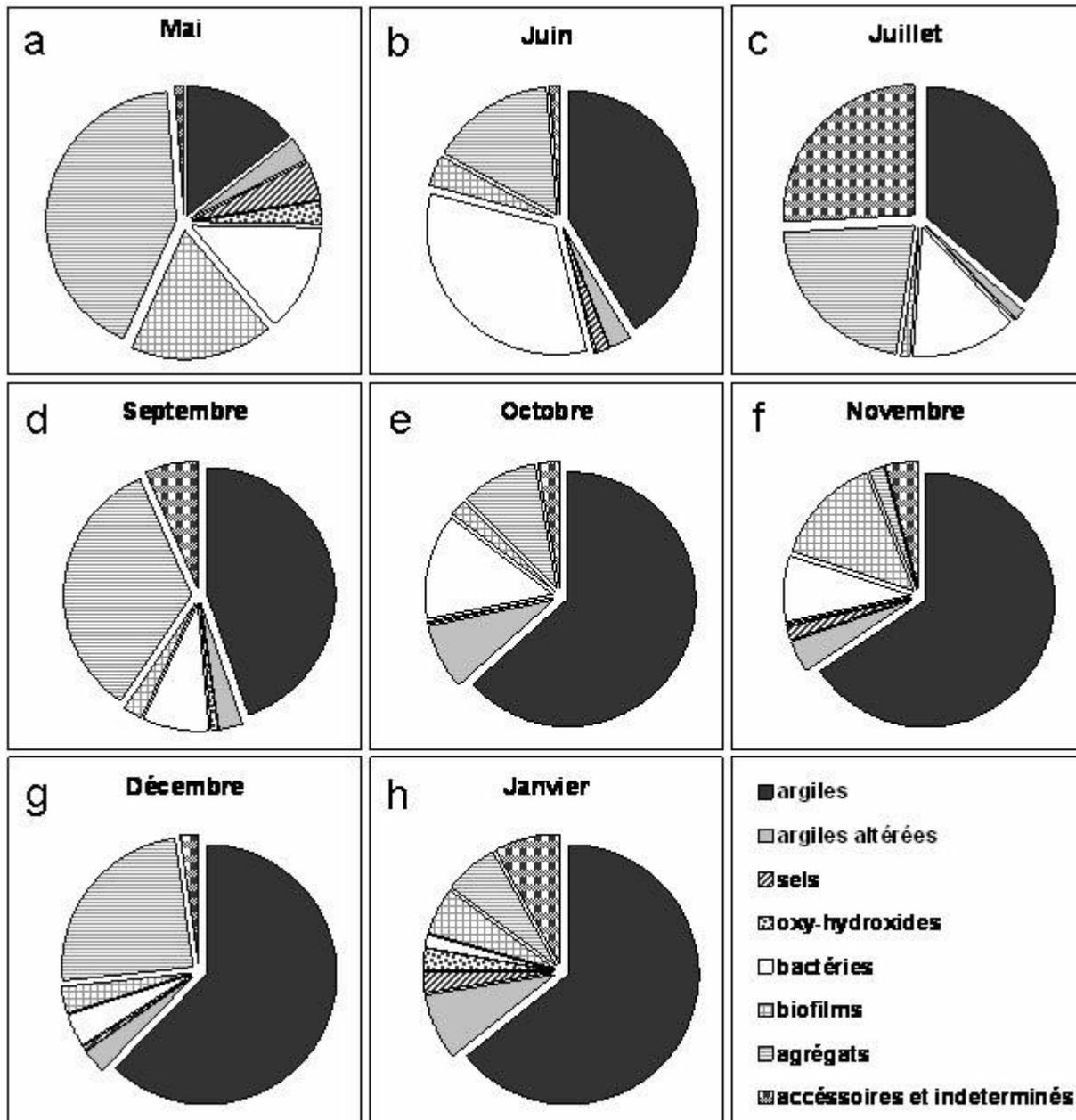


Figure 5.14. Distribution relative des types de particules dans les retombées atmosphériques à Breuil pour les mois de a) mai, b) juin, c) juillet, d) septembre, e) octobre, f) novembre, g) décembre et h) janvier.

Les diagrammes de distribution de la figure 5.14 montrent d'importantes fluctuations temporelles.

Pour le mois de **mai** la population de PFC à Breuil est dominée par les agrégats à hauteur 42%, puis viennent la matière organique (bactéries et biofilms) à hauteur de 30% et les argiles à hauteur de 15%, ces trois types constituent donc 87 % de la population de particules.

Pour le mois de **juin** on observe une domination nette des argiles (41%) et bactéries (33%) et dans une moindre mesure des agrégats (16%). Ces trois types de particules représentant 90% de l'ensemble des particules.

Le mois de **juillet** est plus particulier puisque les PFC collectées et étudiées sur les grilles sont majoritairement des argiles (36%), des agrégats (22%), des bactéries (13%) et des particules de types "minéraux accessoires" et "indéterminés" (26%). Concernant ces particules indéterminées, il s'agit essentiellement de grosses particules proches de cendres volantes telles qu'illustrées sur la figure 4.80.d,e, chapitre IV.

Concernant le mois de **septembre**, les particules majoritaires sont les argiles (45%) et les agrégats (34%), avec, dans une moindre mesure les bactéries (8%).

En **octobre** les particules dominantes sont de type argiles avec 63 % en distribution relative (71% en y ajoutant le type argile altérée). Les bactéries (13%) et agrégats (10%) couvrant néanmoins une surface importante.

Le pool particulaire du mois de **novembre** est également largement dominé par les particules de type argiles (65%) et, dans une moindre mesure, par les bactéries (8%) et biofilms (14%).

Au mois de **décembre**, les particules de type argile (62%) sont encore les plus importantes, viennent ensuite les agrégats (24%).

Enfin, en **janvier**, les particules sont toujours majoritairement des argiles (64%), les autres types étant distribués de manière assez égale.

D'une manière générale, la distribution des particules n'est pas régulière tout au long de la campagne d'échantillonnage. Cependant, les types dominants sont assez restreints puisqu'il s'agit des argiles, de la matière organique et des agrégats. Les particules telles que les oxyhydroxydes, les argiles altérées ou les sels sont généralement peu représentées.

Ces variations sont liées aux modifications du milieu au cours des saisons, et plus particulièrement aux variations des conditions environnementales à l'échelle mensuelle. La figure 5.15 montre les variations de distribution relatives des particules au cours du temps ainsi que les variations de la pluviométrie associée. L'intensité de la pluie semble être un des facteurs déterminant de la distribution des particules. En effet, on note trois périodes pluvieuses sur le site de Breuil au cours de l'année 2004 : une forte pluviométrie en mai avec 90 mm de précipitations pour le mois, suivie d'une période plus sèche en juillet, puis des mois d'août et surtout septembre plus arrosés avec 90 à 100 mm/mois de précipitations ; le mois d'octobre est ensuite assez sec avant un mois de novembre très pluvieux (plus de 100 mm/mois de précipitations) précédant une période, avec les mois de décembre et janvier,

modérément arrosés (50 mm/ mois). L'évolution de ces précipitations, associée à l'évolution du couvert végétal, permet d'expliquer les variations de distribution des PFC dans les retombées atmosphériques à Breuil.

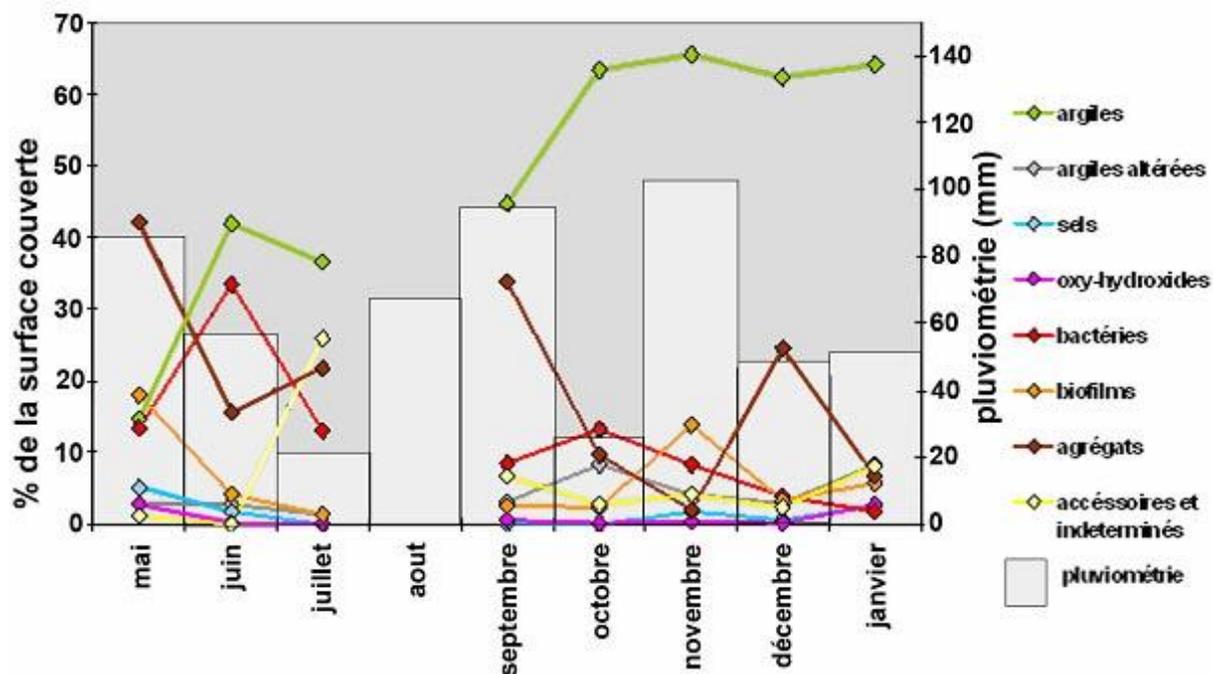


Figure 5.15. Variations de la distribution relative des types de particules en pourcentage de la surface couverte et variations de la pluviométrie sous couvert mensuelle à Breuil au cours de la campagne d'échantillonnage.

En effet, la particularité du site forestier réside dans le couvert végétal à hêtres-chênes. De ce fait une partie des PFC récoltées à la surface du sol ont préalablement été interceptées dans les frondaisons avant d'être lessivées vers la surface. De plus, comme ces arbres sont caduques, ce type d'interception est donc presque inexistant en hiver tandis que la période automnale montre un apport très important en matériel sur le sol du fait de la chute des feuilles.

L'interprétation des variations de distributions des types de particules dans les retombées atmosphériques au cours du temps à Breuil et suivant les paramètres pré-cités est donc développée ci-dessous.

Les pluies du mois de **mai** ayant suivi une période sèche (26 mm de précipitation en mars et 38 mm en avril), celles-ci ont contribué à lessiver abondamment les feuilles sur lesquelles des micro-agrégats s'étaient formés lors de la période sèche. Ces micro-agrégats, composés de bactéries et argiles, sont donc majoritaires, alors que, à la fois les bactéries et les argiles sont en moindre proportion.

Les précipitations du mois de **juin** sont moins importantes qu'au mois de mai. De ce fait, moins d'agrégats sont déposés car ils ont été lessivés en mai et n'ont pas eu le temps de se former sur les arbres. Il y a donc relativement plus de bactéries et d'argiles individuelles en juin. En juin, les apports particuliers sont plus directs qu'en mai car les feuilles des arbres ont été lessivées de leurs particules en mai.

Juillet est un mois relativement sec. Il appartient de considérer les particules étudiées en juillet sans tenir compte, dans un premier temps des particules caractérisées comme indéterminées. Ainsi, juillet est caractérisé par des dépôts de particules argileuses, de bactéries et d'agrégats. L'importance des argiles correspond aux retombées de proche distance comme aux apports de plus longues distances. Les bactéries sont ubiquistes car elles se développent en milieu aqueux et sont donc associées à l'eau. L'importance des agrégats peut être expliquée par le fait que, de fin juin à début juillet, peu de précipitations sont tombées, et une période plus sèche est favorable aux processus d'agrégations. Les particules du type des "indéterminés" sont morphologiquement et chimiquement assimilables à des cendres volantes. Il semble donc que ce mois de juillet ait ponctuellement été le siège de dépôt de cendres. Il est possible que ceci traduise d'une modification dans l'origine des dépôts (modifications des vents) mais il peut également s'agir d'un événement très ponctuel sans lien avec la dynamique environnementale mais seulement le fait d'une intervention anthropique telle que l'incinération de déchets verts.

En raison d'un problème lié à une mauvaise qualité de fabrication des grilles, les retombées atmosphériques du mois d'**août** n'ont pas pu être étudiées. La grille de cuivre a présenté une très forte corrosion et, de ce fait, la grille de titane voisine n'a pas été analysée en raison de la très forte suspicion de contamination au cuivre.

En **septembre** les phases majoritaires sont les argiles et les agrégats. Les précipitations pour les mois d'août et septembre ont été assez élevées. Ceci explique l'importance des argiles dans les retombées. Pourtant, la forte représentativité des agrégats n'est pas explicable par la seule pluviométrie. La hauteur mesurée pour la totalité du mois ne tenant pas compte de l'intensité individuelle des événements pluvieux, il est possible que les précipitations pour cette période reflètent l'addition de quelques pluies très intenses et non une pluviosité modérée régulière. De ce fait, les agrégats seraient le résultat d'une agrégation des argiles et de la matière organique dans les frondaisons pendant une période sèche entre deux pluies violentes.

Le mois d'**octobre** est une période beaucoup plus sèche, essentiellement dominée par des dépôts d'argiles et dans une moindre mesure de bactéries. Les argiles, en suspension dans l'air

ne sont plus piégées par les feuilles déjà desséchées et se déposent au sol sans modification de leurs caractéristiques ; les bactéries, ubiquistes sont toujours véhiculées par de l'air humide.

Le mois de **novembre** est caractérisé par une forte pluviométrie et des dépôts importants d'argiles et matière organique inerte. Ceci est le reflet du début de la chute des feuilles en période hivernale. En effet, les argiles sont toujours majoritaires car il s'agit des apports majeurs sur ce site et qu'elles ne se combinent plus sur les feuilles mais sont directement déposées sur le sol. Les dépôts de matière organique sont liés à la chute des feuilles se dégradant dans les arbres et au sol.

En **décembre** la pluviométrie est moyenne avec environ 50 mm/mois de précipitations. Les particules majoritaires dans les retombées atmosphériques sont les argiles ainsi que les micro-agrégats. Concernant les argiles, le phénomène est similaire à celui du mois de novembre. Cependant la présence importante d'agrégats sur les grilles peut avoir deux explications : soit les précipitations sous forme de neige favorisent l'immobilisation des particules privilégiant leur agrégation, soit la présence de matière organique inerte en abondance dans les retombées du mois précédent et leur moindre importance sur les grilles de décembre est dû à leur agrégation avec des particules au cours du temps. Les deux phénomènes peuvent par ailleurs être concomitants.

Enfin, en **janvier** seules les argiles dominent.

En résumé, il apparaît que les mécanismes contrôlant la distribution des particules dans les retombées atmosphériques au cours du temps dépendent de deux facteurs majeurs : la pluviométrie et le couvert végétal. Ceci est essentiellement visible en ce qui concerne les agrégats. Ainsi, la figure 5.16 représentant l'évolution de la part relative des agrégats au cours du temps de même que l'évolution de la force ionique de la pluie sur la même période peut être interprétée en fonction de ces deux facteurs. En effet, la force ionique est un facteur connu pour influencer sur l'agrégation des particules, plus la force ionique est importante plus les particules se complexent entre elles et s'agrègent. Sur la période de mai à octobre, les arbres possèdent leurs feuilles et à partir de novembre ils les perdent. Or, il apparaît que la représentativité des agrégats sur la période en feuilles suit, avec un mois de retard, l'évolution de la force ionique de la pluie, alors que, lorsque les arbres ne présentent plus de feuillage, force ionique et pourcentage d'agrégats sont en corrélation. Ainsi, il semble que la pluie ruisselant sur les arbres et leurs feuilles favorise l'agrégation dans la frondaison des particules qui arriveront au sol plus tardivement.

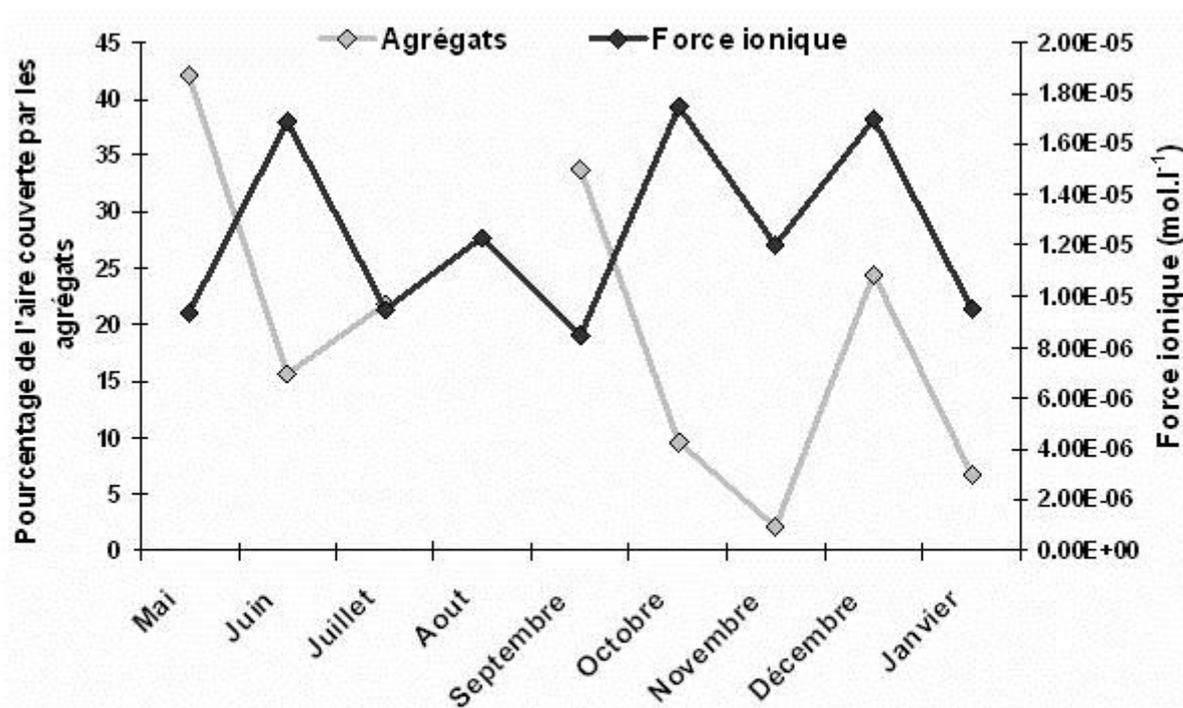


Figure 5.16. Variations de la distribution relative mensuelle des agrégats en pourcentage de la surface couverte et variations mensuelles de la force ionique (en mol.l⁻¹) de la pluie sous couvert à Breuil au cours de la campagne d'échantillonnage.

III.3.1.2. Site de Wintzenheim

De la même manière que pour les retombées atmosphériques à Breuil, la distribution relative des types de particules des retombées atmosphériques à Wintzenheim est représentée figure 5.17. Le suivi est cependant amputé des mois de février, mars et mai.

En **décembre** les particules les plus largement représentées sont les agrégats (39%), les argiles (30%) et les sels (15%) et dans une moindre mesure les bactéries (9%).

Dans les retombées atmosphériques du mois de **janvier** se sont les argiles qui sont largement majoritaires (51%), suivies des agrégats (21%) et des sels (16%).

Les mois de **février** et **mars** sont manquants.

En **avril**, ce sont les matières organiques inertes (biofilms) qui sont largement majoritaires (40%), les sels (21%), les bactéries (13%) et les argiles (12%) étant beaucoup moins représentées.

Le mois de **mai** est manquant.

En **juin**, argiles (40%) et sels (30%) sont largement dominants devant les bactéries (8%) et biofilms (7%) et les agrégats (10%).

Enfin, en **juillet**, les argiles (31%) et agrégats (28%) dominent devant les bactéries (20%).

Deux types de particules sont donc largement dominants au cours du temps dans le cas des retombées atmosphériques à Wintzenheim : les argiles et les agrégats ; les bactéries et les sels sont par ailleurs une phase importante de ces retombées. Les types argiles altérées, oxy-hydroxydes, accessoires et indéterminés sont quant-à eux peu représentés et les biofilms ne sont présents en abondance que très ponctuellement. De manière générale il apparaît que la distribution bien qu'assez variable conserve une signature typique de type argiles, agrégats, sels et bactéries.

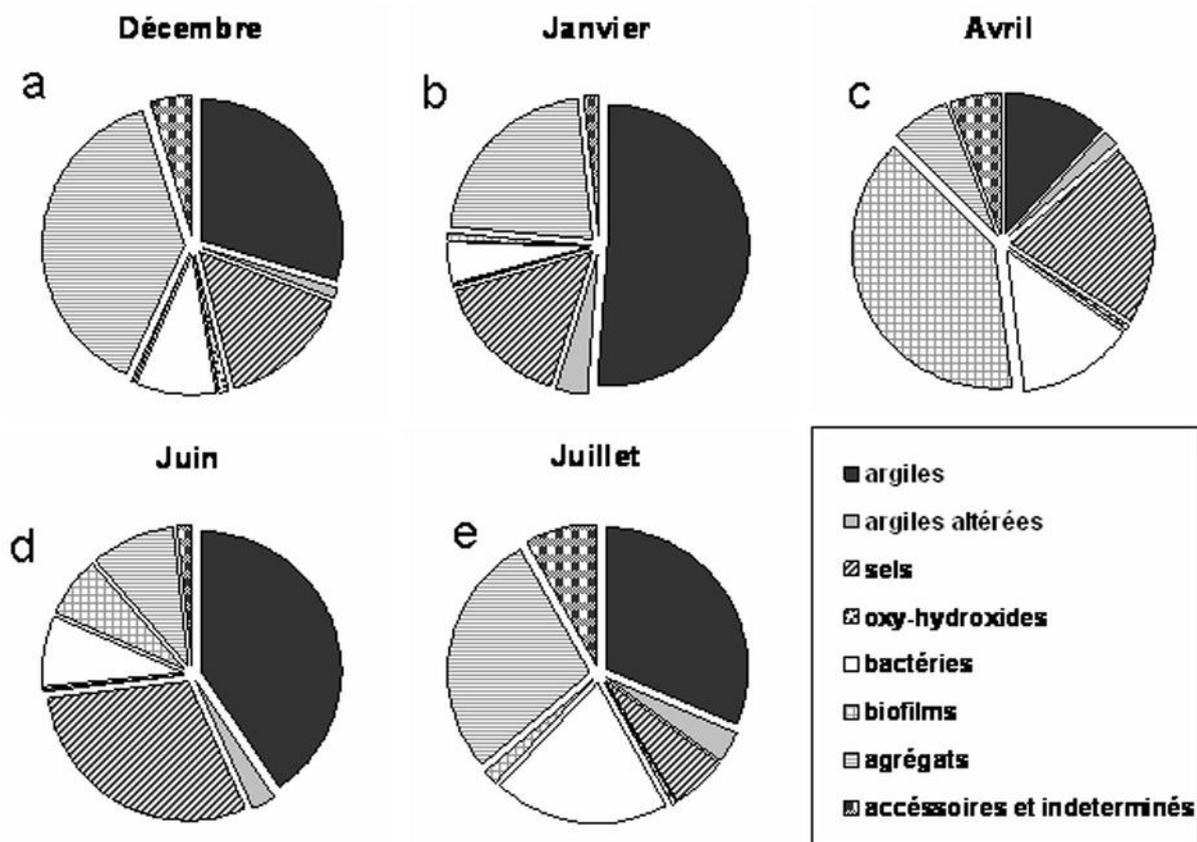


Figure 5.17. Distribution relative des types de particules dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim pour les mois de a) décembre, b) janvier, c) avril, d) juin et e) juillet.

La figure 5.18 représente les variations de la distribution des différents types de PFC présentes dans les retombées atmosphériques à Wintzenheim au cours du temps et corrélées avec la pluviométrie. Sur ce site le couvert végétal est très faible, seulement caractérisé par des vignes et d'une manière générale la pluviométrie à Wintzenheim est beaucoup plus faible

qu'à Breuil, même en tenant compte de l'interception par le couvert végétal à Breuil (pour 11 mois, 620 mm sous couvert à Breuil et 490 mm à Wintzenheim).

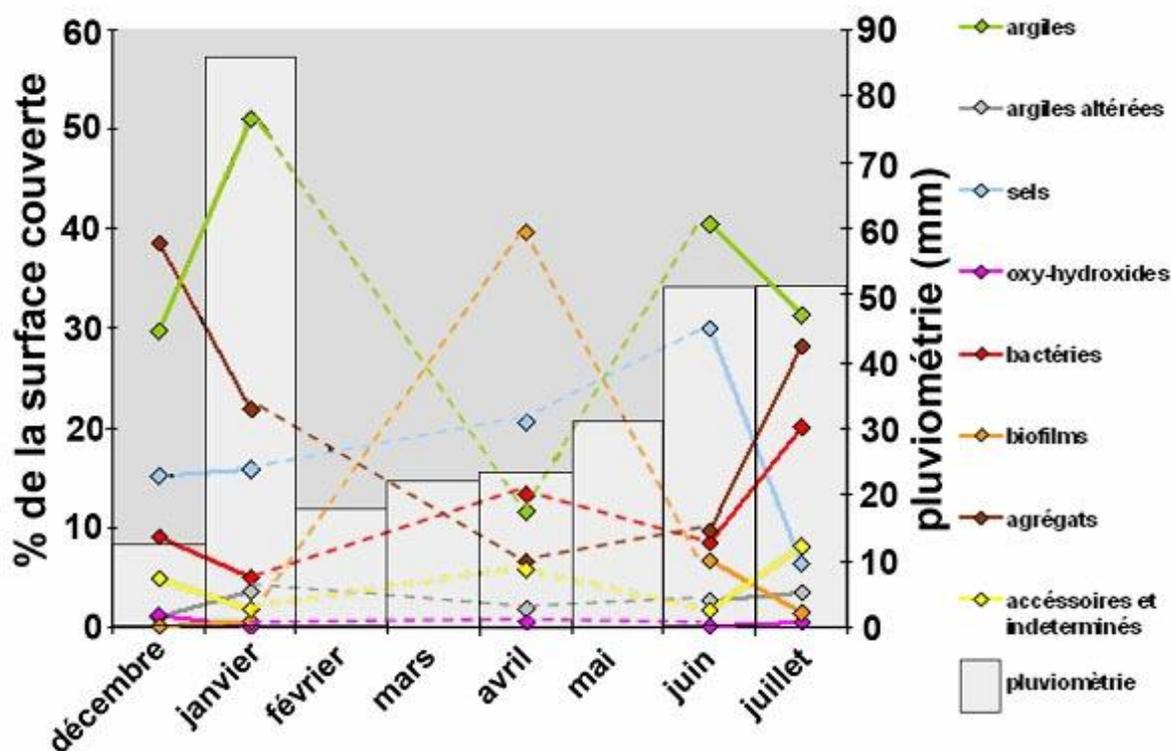


Figure 5.18. Variations de la distribution relative des types de particules des retombées atmosphériques à Wintzenheim en pourcentage de la surface couverte et variations de la pluviométrie mensuelle à Wintzenheim au cours de la campagne d'échantillonnage.

En **décembre**, les faibles précipitations favorisent la formation d'agrégats organo-minéraux, les argiles constituant également une part importante des dépôts. Il est à noter que le mois de décembre (12,6 mm de précipitations) constitue une période sèche entre deux mois pluvieux : octobre avec 90 mm de précipitations, novembre avec 30 mm et janvier avec 85 mm. Une telle période sèche favorise les apports éoliens au détriment des apports par les précipitations. Le mois de **janvier** est caractérisé par la plus forte hauteur de pluie de la période étudiée avec 85 mm de précipitations enregistrées (le mois d'octobre n'étant pas dans la période étudiée). Il apparaît que cette très forte pluviosité est corrélée avec la distribution des argiles très largement majoritaires en janvier. Cette hausse de la représentativité des argiles est contrebalancée presque exclusivement par une baisse des agrégats. Il semble donc qu'une pluviosité importante permet un dépôt d'argiles non agrégées alors qu'une pluviosité moindre favorise le dépôt d'agrégats.

Les données de distributions de **février** et **mars** ne sont pas disponibles. Cependant, il est à noter une chute notable de la hauteur des précipitations pour ces deux mois. Les données de février ne sont pas disponibles du fait de la corrosion de la grille de cuivre et à la contamination du capteur. En mars, les grilles n'ont pas été analysées car le capteur était recouvert de granulés de fongicide (sulfate de cuivre) et les résultats n'auraient donc pas été représentatifs de l'ensemble de la zone.

En **avril**, les distributions sont très différentes du reste des échantillons, y compris ceux de Breuil. Pour ce mois-ci, ce sont les biofilms qui sont les particules dominantes et il est à noter une baisse notable de la représentativité en argiles et agrégats. Les sels sont également très importants dans les retombées atmosphériques de ce mois. La pluviométrie est assez faible avec une hauteur de 23 mm. Ces particularités sont à relier au fait que le mois de mars est la période de traitement des parcelles. Il semble donc que, à la fois l'action mécanique humaine et l'action chimique des pesticides, herbicides et fongicides produisent une grande quantité de matière organique inerte et de sels. L'augmentation de la représentativité des bactéries est explicable par le fait que le printemps est très généralement le siège d'un bourgeonnement bactérien dans l'environnement. La baisse des argiles et agrégats est une baisse relative par rapport aux autres types de PFC dont la part pour cet échantillon est plus importante.

Les échantillons du mois de **mai** n'ont pas été analysés pour la même raison que ceux de février.

En **juin**, la hauteur de pluie est plus importante et les argiles et sels dominant. Ces retombées sont principalement liées à la pluie. L'origine des sels est inconnue.

En **juillet**, la pluviométrie est identique à celle du mois de juin et les types de particules prédominants sont les argiles, les agrégats et les bactéries.

En résumé, les retombées atmosphériques au sol de Wintzenheim sont dépendantes de la pluviométrie et de l'activité anthropique.

III.3.1.3. Dynamique des PFC des retombées atmosphériques au cours du temps

L'étude sur deux sites des variations de la distribution des PFC atmosphériques au cours du temps et des facteurs contrôlant cette distribution permet de mettre en évidence des caractéristiques inhérentes aux retombées atmosphériques sur chacun de ces sites et, à une échelle plus large, dans un environnement tempéré.

En effet, l'examen des figures 5.14 et 5.17 montre que, aussi bien sur le site forestier que pour le vignoble péri-urbain, les particules les plus représentées dans les retombées atmosphériques sont les argiles et les agrégats organo-minéraux alors que argiles altérées et oxy-hydroxydes sont des phases peu fréquentes.

Concernant la matière organique, une différence est visible entre les deux environnements d'échantillonnage puisque le site de Breuil présente une forte représentativité de la matière organique en général, c'est-à-dire bactéries et matière organique inerte (MOI) alors que le site de Wintzenheim montre la forte présence de bactéries sans MOI associée, à l'exception d'un seul échantillon. Ces différences sont à relier avec le mode d'occupation des sites. En effet, la présence d'un fort couvert végétal au dessus du sol de Breuil favorise la création de MOI, ce qui n'est généralement pas le cas à Wintzenheim.

Par ailleurs, la présence en abondance de sels à Wintzenheim et pas à Breuil constitue également une différence notable liée à l'environnement de dépôt. Ainsi, la proximité d'industries et d'infrastructures routières à Wintzenheim permet d'expliquer les apports relativement constants de sels, par ailleurs enrichis en métaux (chapitre IV) dans l'atmosphère périurbaine du site.

De plus, les deux types d'environnement montrent que l'acteur majeur gérant les dépôts de particules sur les deux sites est la pluviométrie. Cependant la dynamique de dépôt et d'évolution des distributions de PFC sur les deux sites est différente, liée essentiellement à la présence ou non d'un couvert végétal faisant écran et favorisant la maturation des PFC, comme dans le cas de Breuil.

Enfin, il est à noter que dans les deux environnements, l'impact des activités anthropiques est visible dans la distribution des types de particules, qu'il s'agisse des dépôts importants de "cendres volantes" à Breuil en juillet aussi bien que des dépôts importants de MOI en avril, période des traitements de la vigne, à Wintzenheim.

III.3.2. Distribution des PFC des eaux d'infiltration du sol au cours du temps

La dynamique gérant l'évolution des distributions de type de particules avec la profondeur ayant été traitée précédemment (chapitre V, paragraphe III.2), et l'évolution temporelle

s'avérant similaire selon les différentes profondeurs, dans ce paragraphe les distributions seront traitées indépendamment de la profondeur dans un premier temps, puis, la dynamique des trois profondeurs sera traitée conjointement dans un deuxième temps.

III.3.2.1. A 15 cm de profondeur

Les distributions relatives des types de particules présentes sur les grilles de microscopie des microlysismètres situés à 15 cm mois par mois sont représentées sur la figure 5.19.

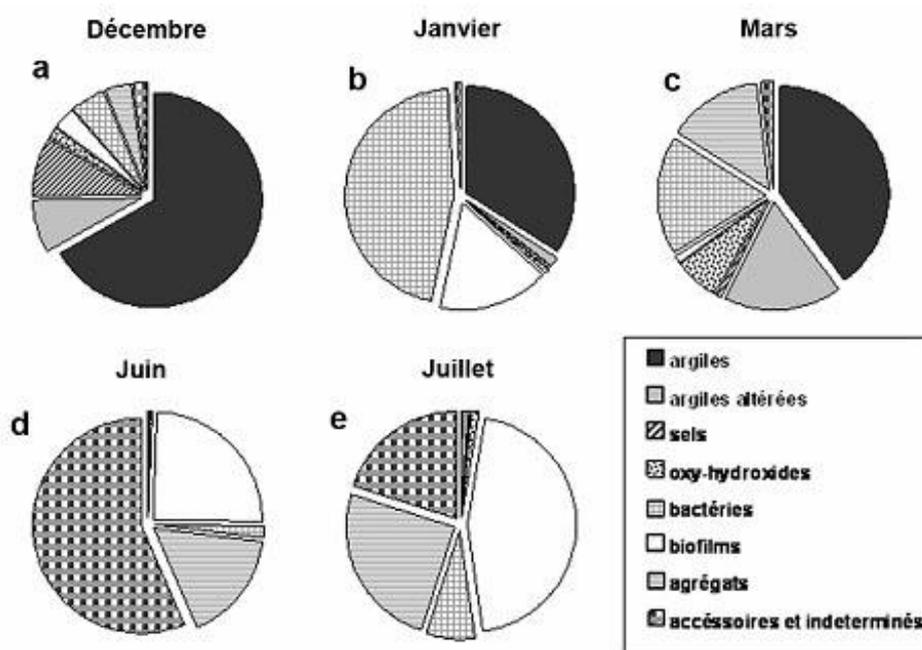


Figure 5.19. Distribution relative des types de particules dans les eaux d'infiltration à 15 cm de profondeur à Wintzenheim pour les mois de **a) décembre**, **b) janvier**, **c) mars**, **d) juin** et **e) juillet**.

Les particules à 15 cm de profondeur au mois de **décembre** sont très largement dominées par les argiles (67%). Au mois de **janvier**, les PFC prédominantes sont les matières organiques inertes (46%), les argiles (34%) et les bactéries (17%). En **mars**, le pool particulaire est plus équilibré avec cependant une prédominance des argiles (40%) sur les argiles altérées (17%), les biofilms (18%) et les agrégats (14%). Les PFC du mois de **juin** sont distribuées très différemment, il s'agit en très grande majorité de particules accessoires et indéterminés (56%), de bactéries (25%) et d'agrégats (17%). Enfin, en **juillet** le type de particules le plus fréquent

est le type bactérien (45%), les agrégats (25%) et les indéterminés (20%) étant également assez fréquents.

Ces distributions montrent une très forte hétérogénéité au cours du temps. Ainsi les argiles sont très présentes en hiver (décembre à mars), alors que la matière organique (bactéries et MOI) et les agrégats prennent une importance très forte dès janvier jusqu'en juillet. Les particules de type accessoire et indéterminé sont également très présentes en été, il s'agit de particules représentées sur la figure 4.30.c (chapitre IV, paragraphe III.1.4.2.), assimilables à des cendres volantes. Sels et oxy-hydroxydes sont des types toujours peu représentés au cours du temps et à cette profondeur.

III.3.2.2. A 35 cm de profondeur

A 35 cm de profondeur, les distributions relatives des types de PFC au cours du temps sont également très fluctuantes (figure 5.20).

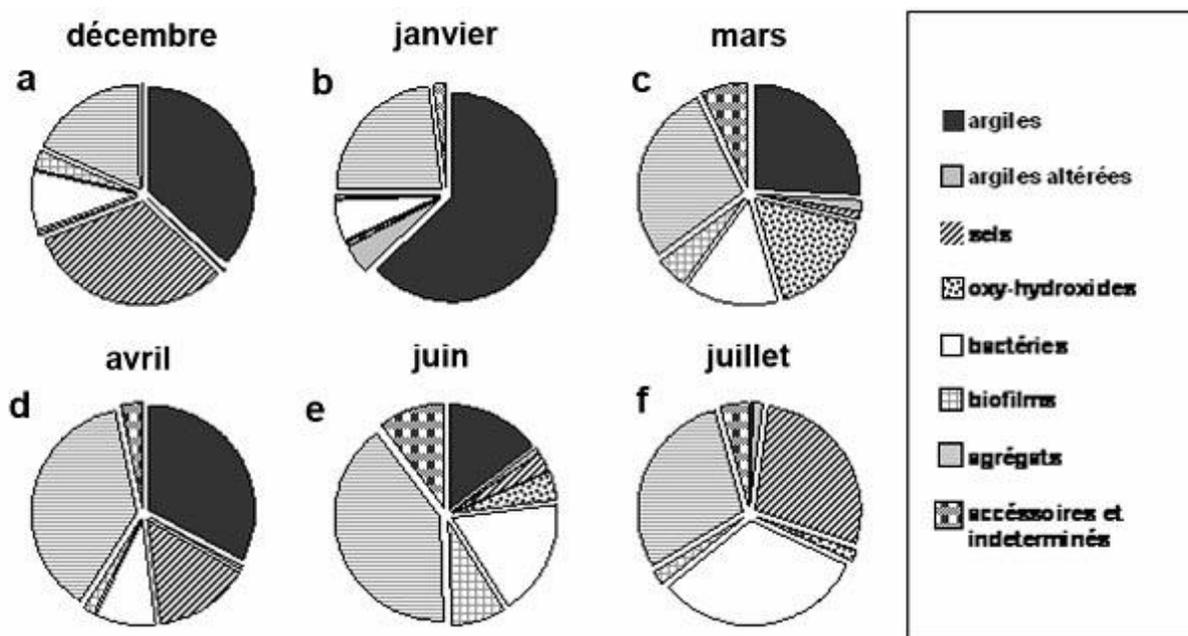


Figure 5.20. Distribution relative des types de particules dans les eaux d'infiltration à 35 cm de profondeur à Wintzenheim pour les mois de **a)** décembre, **b)** janvier, **c)** mars, **d)** avril, **e)** juin et **f)** juillet.

Ainsi, le mois de **décembre** est dominé par les argiles à hauteur de 37%, les sels pour 32% et, dans une moindre mesure les agrégats (18%) et les bactéries (9%). En **janvier**, le type de PFC prédominant est celui des argiles qui représentent 63% de la totalité des PFC et les agrégats

pour 23%. Les PFC recueillies au mois de **mars** sont plus homogènes puisque argiles (26%), oxy-hydroxydes (16%), bactéries (15%) et agrégats (28%) sont à peu près identiquement représentés dans le pool particulaire. En **avril**, deux types dominent : les argiles pour 33% et les agrégats pour 37%. Les sels (15%) et bactéries (9%) constituant la quasi-totalité des particules restantes. Les particules échantillonnées en **juin** montrent une part importante d'agrégats (40%), et, dans une moindre mesure d'argiles (15%) et bactéries (18%). Enfin, en **juillet** l'essentiel des particules présentes dans les eaux d'infiltrations à 35 cm est réparti entre des bactéries pour 32%, des agrégats pour 29% et des sels pour 28%.

D'une manière générale, le suivi à 35 cm de profondeur des PFC présentes dans les eaux d'infiltration du sol de Wintzenheim montre de fortes hétérogénéités entre les mois échantillonnés avec une nette baisse de la part des argiles, mais une assez constante représentativité des agrégats. Les bactéries sont assez fréquemment représentées au contraire des sels abondants certains mois et minoritaires pour d'autres. Globalement, les argiles altérées, biofilms et particules accessoires et indéterminées sont peu fréquents. De même, hormis pour le mois de mars, les oxy-hydroxydes sont rares. Il s'agit, pour ce mois particulier, de particules du même type de PFC que celles représentées sur la figure 4.16.b (chapitre IV, paragraphe III.1.1.4.).

III.3.2.3. A 55 cm de profondeur

La figure 5.21 représente les distributions relatives mois par mois des types de PFC présentes dans les eaux d'infiltration à 55 cm de profondeur. Là aussi les distributions sont très fluctuantes.

En **décembre**, l'essentiel des particules est de type sels (37%), argiles (27%) ou bactéries (23%). En **janvier**, deux types de particules prédominent largement : principalement les sels (55%) et, secondairement, les bactéries (29%). Les PFC recueillies au mois de **mars** sont plus également réparties avec cependant une part plus importante d'agrégats (34%) devant les argiles (17%), bactéries (14%), argiles altérées (13%) et biofilms (10%). En **avril**, ce sont essentiellement les agrégats pour 39% et bactéries pour 29% qui représentent la plus grande surface couverte sur les grilles, les biofilms (MOI) à 13% étant également assez importants. Au mois de **juin** les argiles (37%), la MOI (28%) et les agrégats (22%) représentent la quasi-totalité des particules circulant dans les eaux d'infiltration à 55 cm. Enfin, les PFC du mois de

juillet à 55 cm de profondeur sont essentiellement des agrégats (37%), des sels (27%) et des bactéries (20%).

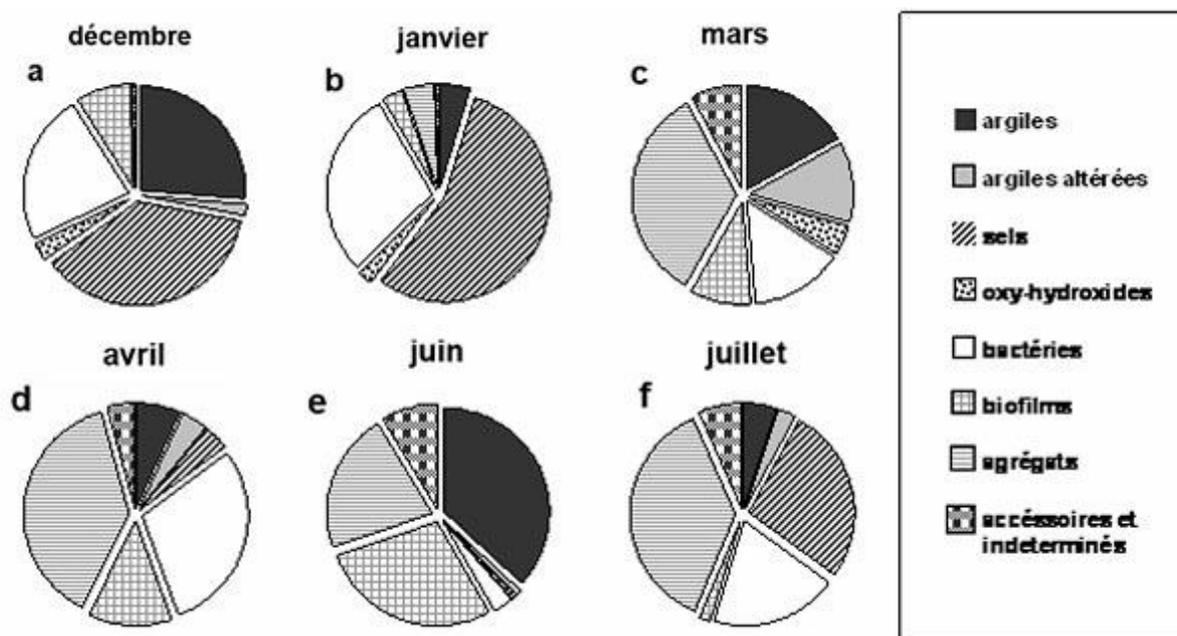


Figure 5.21. Distribution relative des types de particules dans les eaux d'infiltration à 55 cm de profondeur à Wintzenheim pour les mois de **a)** décembre, **b)** janvier, **c)** mars, **d)** avril, **e)** juin et **f)** juillet.

Il apparaît que les différents types de PFC sont diversement représentés selon les mois. Cependant, argiles altérées, oxy-hydroxydes et accessoires et indéterminés sont peu présents, l'essentiel des PFC étant variablement représenté, selon les mois, par des particules de type argiles, sels, bactéries, biofilms ou agrégats.

III.3.2.4. Dynamique des PFC des eaux d'infiltration du sol au cours du temps

Les diagrammes de distributions des types de PFC en fonction du temps pour chacune des profondeurs étudiées ont montré des hétérogénéités de représentativité fortes selon les échantillons (paragraphe précédent). L'étude de la distribution avec la profondeur a par ailleurs montré que les variations le long du profil sont largement dépendantes de la dynamique hydrique du sol (ce chapitre, paragraphe III.2).

Ainsi, de manière à s'affranchir du facteur eau, la distribution des particules a été recalculée sans tenir compte du pourcentage de sels préalablement défini comme un marqueur de la présence d'eau dans le sol. De plus, afin de simplifier l'évaluation des variations, les différents types de PFC ont été reclassés en : (i) PFC minérales incluant les argiles, les argiles altérées et les oxy-hydroxydes, (ii) PFC organiques incluant les bactéries et la MOI et (iii) PFC organo-minérales ne prenant en compte que les agrégats et normalisés à 100%.

Les PFC minérales contiennent des argiles et argiles altérées provenant, comme il a été montré précédemment (ce chapitre, paragraphe III.2) des dépôts atmosphériques ainsi que de l'érosion propre du sol. De même, les oxy-hydroxydes sont principalement issus de l'altération du sol. La dynamique hydrique montre par ailleurs que l'érosion du sol est maximale dans les horizons supérieurs les moins saturés, du fait de la fluctuation importante des épisodes de saturation-désaturation. Par ailleurs, il a été montré que les argiles se combinent avec la matière organique pour former des complexes organo-minéraux avec la profondeur. De ce fait les PFC minérales sont des marqueurs des apports atmosphériques et de subsurface.

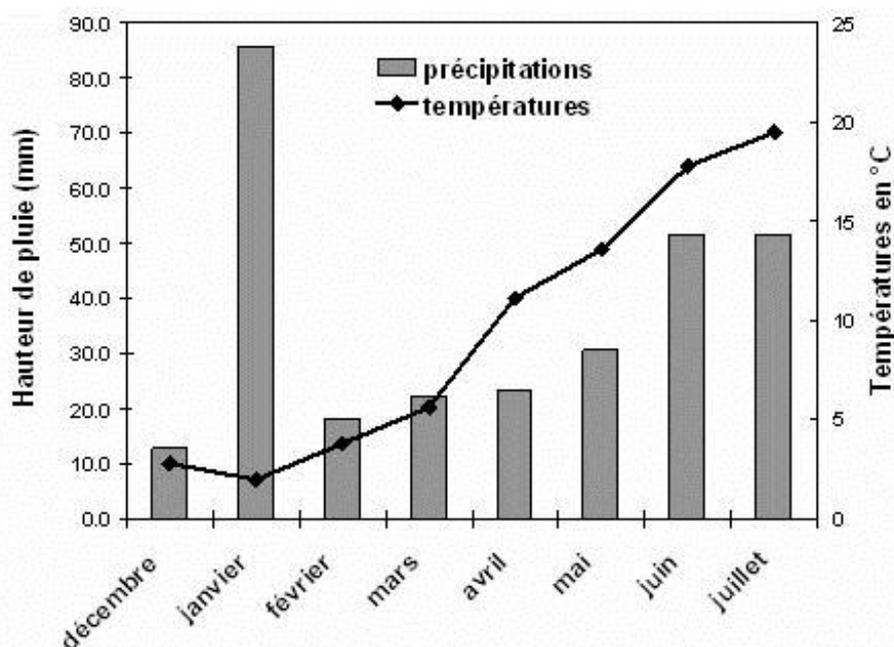


Figure 5.22. Variations des précipitations et températures moyennes mensuelles à Wintzenheim au cours de la période étudiée.

La figure 5.22 montre les variations mensuelles de pluviométrie et de température sur le site de Wintzenheim durant la période d'étude. Il apparaît que l'hiver (décembre à mars) est une

période froide et que les pluies sont peu importantes hormis en ce qui concerne le mois de janvier. Au printemps et au début de l'été les températures et la hauteur de pluie sont de plus en plus élevées. Ceci est à relier à l'état de saturation du sol : saturé en hiver, et principalement à partir de janvier, il se désature au printemps et les températures élevées en juin et juillet empêche une resaturation complète du sol au début de l'été, le tout contribuant à maintenir de bonnes conditions hydriques du sol.

La figure 5.23.a montre l'évolution de la distribution cumulée des PFC minérales dans les eaux d'infiltration, à 15, 35 et 55 cm de profondeur à Wintzenheim. En axe Z est représentée la fraction de ces PFC minérales par rapport à la somme des PFC excluant les sels et les particules accessoires et indéterminées. Il apparaît très clairement que pour les trois profondeurs, la part de PFC minérales diminue de manière continue au cours du temps. En hiver, de décembre à mars, les transferts en minéraux sont importants, puis, au fur et à mesure de la désaturation du sol, la part des apports minéraux diminue (figure 5.22). La baisse significative des PFC minérales en juin et juillet est corrélée (i) à une hausse des PFC organiques (ii) à l'importance grandissante de leur agrégation et (iii) à la faible saturation du sol.

D'importantes variations en fonction des saisons sont aussi visibles en étudiant l'évolution de la distribution des PFC organiques et organo-minérales au cours du temps (figure 5.23.b,c). En effet, il apparaît pour ces deux types de PFC, qu'elles deviennent de plus en plus importantes au cours de temps, c'est-à-dire de l'hiver vers l'été. La hausse de la part de la matière organique d'avril à juillet est due à deux phénomènes, d'une part au fait que les PFC minérales diminuent, ce qui augmente de manière relative la part de PFC organiques mais ce n'est pas la seule raison car les bactéries sont des organismes indépendants dans le sol, se développant et se multipliant naturellement sans tenir compte d'une source éventuelle, à la différence des minéraux. Ainsi, l'évolution des pourcentages de PFC organiques se corrèle tout à fait avec les courbes météorologiques mesurées sur le site (figure 5.22). Une température douce combinée avec des précipitations modérées est en effet favorable au foisonnement bactérien. La forte proportion de matière organique en janvier à 15 et 55 cm est explicable par la très forte hauteur des précipitations pour ce mois-ci ; ces précipitations importantes, liées aux faibles températures ont généré la libération de matière organique dans les horizons supérieurs du sol.

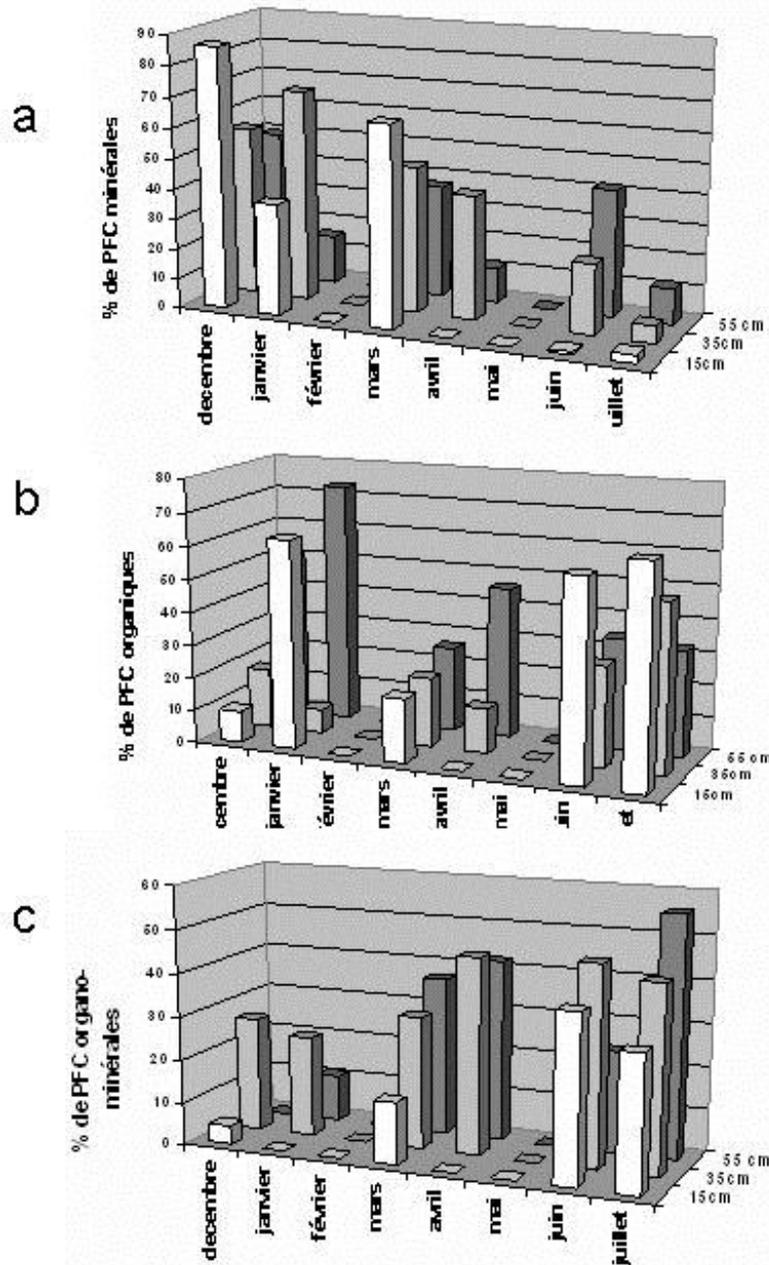


Figure 5.23. Variations de la distribution cumulée des types de PFC des eaux d'infiltration à Wintzenheim en pourcentage relatif de la surface couverte au cours du temps aux trois profondeurs échantillonnées. **a)** PFC minérales (argiles, argiles altérées et oxy-hydroxydes), **b)** PFC organiques (bactéries et composés organiques non-vivants), **c)** PFC organo-minérales (agrégats).

L'évolution de la part des PFC organo-minérales dans les particules d'infiltration du sol est représenté par la figure 5.23.c. Ce type de particules est lui aussi dépendant des conditions du milieu. En effet, les variations au cours du temps de la part des PFC organo-minérales dans les particules circulant dans les eaux d'infiltration du sol sont corrélables à la fois à l'évolution des PFC organiques et aux conditions de précipitation et températures sur le site. Cette augmentation des agrégats avec le temps est principalement le fait de l'augmentation de la matière organique conjuguée avec l'augmentation des précipitations, créant des conditions favorables au développement bactérien et à la complexation des PFC organiques avec les PFC minérales. En corollaire de ce processus, la part de PFC minérales libres dans la solution de sol diminue.

En conclusion, il apparaît que ce sont (i) les conditions climatiques saisonnières et notamment l'état de saturation du sol et la gamme des températures et (ii) les phénomènes d'agrégation liés à la dynamique hydrique, qui gouvernent la dynamique des PFC dans les eaux d'infiltration sur le site de Wintzenheim.

D'une part, des conditions froides et humides favorisent les écoulements de PFC minérales vers la profondeur car le matériel organique se développe mal dans de telles conditions. D'autre part, une pluviométrie modérée et régulière, combinée à un adoucissement des températures génère des conditions favorables à la prolifération des microorganismes, le sol libérant par ailleurs moins de minéraux. De plus, la matière organique de plus en plus importante se complexe, du fait d'une pluviométrie plus forte en été, capable de maintenir de bonnes conditions hydriques du sol, avec les quelques PFC minérales déposées sur le sol et/ou libérées dans la solution de sol. Ces facteurs contribuent donc à diminuer en été la part des PFC minérales, au profit des PFC organiques et organo-minérales.

IV. Conclusions

L'étude des caractéristiques chimiques des PFC sur les différents sites permet de souligner quelques points similaires dans le comportement réactif des PFC dans les retombées atmosphériques. Dans un premier temps il apparaît que les deux sites considérés reçoivent les mêmes types de PFC. De plus, les argiles présentes dans les retombées atmosphériques sont

sur les deux sites très similaires aux argiles du sol, ceci permet de dire que la source de ces argiles et en partie une source très proche, les PFC argileuses étant majoritairement issues de l'érosion éolienne du sol environnant et transportées sur de faibles distances.

Les PFC recueillies dans les dépôts atmosphériques sur les deux sites montrent une distribution dépendante de deux facteurs. Le facteur majeur est la pluviométrie, le deuxième facteur, mis en évidence du fait de la différence du mode d'occupation des sols entre les deux sites, est le couvert végétal. Celui-ci joue comme un écran aux PFC permettant leur évolution avant dépôt.

Par ailleurs, l'étude de l'évolution des distributions de types de PFC avec la profondeur a montré que trois types sont majoritaires : les argiles, les bactéries et les agrégats organo-minéraux. Ces trois types évoluent les uns en rapport avec les autres car le phénomène gérant leur distribution est le phénomène d'agrégation des argiles avec les bactéries constituant des agrégats organo-minéraux hautement réactifs puisque combinant la grande surface spécifique de ces deux types. Enfin, il a été montré que le facteur majeur contrôlant ce phénomène est la dynamique hydrique du sol et plus particulièrement sa teneur en eau grandissante avec la profondeur.

Finalement l'étude de l'évolution des distributions de types de PFC dans le temps à toutes les profondeurs échantillonnées sur le site de Wintzenheim a montré une très forte hétérogénéité des distributions dans le temps. De plus, une simplification de la classification typologique en trois classes majeures : PFC minérales, PFC organiques et PFC organo-minérales a permis de mettre en évidence des évolutions temporelles très nettes de ces trois types. Cette classification met l'accent sur le phénomène d'agrégation et son rôle sur les évolutions des distributions des PFC, ce phénomène étant contraint par les conditions climatiques et essentiellement la température et la pluviométrie.

CHAPITRE VI

INTERACTIONS

BACTERIES - ARSENIC

Chapitre VI

Interactions bactéries - arsenic

I. Introduction

Les observations réalisées sur la nature et l'évolution des particules dans le sol et l'atmosphère ont montré que les métaux sont véhiculés de manière importante par la matière organique (cf. chapitre IV). Ceci est notamment vrai en ce qui concerne les métaux tels que le plomb et dans une moindre mesure l'arsenic. En effet, il est apparu que les bactéries sont très fréquemment enrichies en plomb que ce soit dans l'atmosphère ou dans le sol (cf. chapitre IV, figure 4.23, 4.48 et 4.72 et chapitre V, figure 5.6). En ce qui concerne l'arsenic, les analyses de bactéries ont révélées la présence de cet élément dans cinq bactéries échantillonnées (quatre dans le sol et une en surface) directement après la campagne de traitement à l'arséniate de sodium (cf. chapitre IV, figure 4.22 et 4.47). L'intervention des bactéries dans le cycle biogéochimique de l'arsenic est connue et décrite dans la littérature. En effet, dans un article de synthèse, Oremland and Stolz (2003) soulignent l'impact potentiel que peuvent avoir les bactéries métabolisant l'arsenic sur la spéciation et la mobilisation de cet élément dans les différents compartiments environnementaux. Par ailleurs, très récemment, le premier séquençage complet du génome d'une bactérie arsénophile a été réalisé. Ce séquençage, associé à des observations physiologiques, biochimiques et biophysiques, montre d'une part que cette bactérie (*Herminiimonas arsenicoxydans*) pourrait non seulement être utilisée dans la remédiation de sites pollués mais les auteurs soulignent également l'importance qu'aurait pu avoir eu un tel métabolisme dans les processus originels de colonisation biologique (Muller et al., 2007).

II. Comportement de l'Arсениc

II.1 Généralités

L'arsenic, de numéro atomique 33, est ubiquiste dans l'environnement. Il est le 20ème élément en abondance dans le milieu naturel, le 14ème dans l'eau de mer et le 12ème dans le corps humain (Mandal & Suzuki, 2002) . Il constitue environ 0,00005% de la croûte terrestre. Sa concentration dans la plupart des roches est comprise entre 0,5 et 2,5 mg/kg, les concentrations les plus fortes ayant été mesurées dans les argilites fines et des phosphorites (Mandal & Suzuki, 2002) . Dans sa forme pure, cet élément se présente sous forme d'un cristal gris argenté de point atomique égal à 74,9 et de densité 5.73. La température de fusion de l'arsenic est 817°C. Il a été isolé pour la première fois en 1250 par Albertus Magnus (Mandal & Suzuki, 2002) .

L'arsenic est mobilisé par les processus engendrés par l'altération chimique, l'activité biologique, les réactions géochimiques, les émissions volcaniques et les activités anthropiques. L'érosion des sols et le lessivage contribuent à mobiliser 612.10^2 à 2380.10^2 tonnes par an d'arsenic respectivement sous forme dissoute et de matière en suspension dans les océans (Mohan & Pittman Jr., 2007). La majorité des problèmes environnementaux liés à l'arsenic sont le résultat de la mobilisation dans les conditions naturelles. Cependant, les activités minières, la combustion des énergies fossiles, l'utilisation de pesticides et herbicides arséniés sont autant d'impacts additionnels (Mohan & Pittman Jr., 2007).

L'arsenic présente quatre degrés d'oxydation possible : (-3), (0), (+3) et (+5) (Matera et al., 2003). Dans les sols, ses composés correspondent principalement à des espèces inorganiques présentant les degrés d'oxydation As[V] (arséniate) et As[III] (arsénite) (Corwin et al., 1999). La forme As[V] est moins toxique et moins mobile que la forme As[III] du fait du plus fort potentiel d'adsorption sur les minéraux de l'arsenic en degré d'oxydation V (Pierce & Moore, 1982). Il existe plus de 200 minéraux contenant de l'arsenic. Dans les sols, la mobilité de l'arsenic est principalement contrôlée par les processus d'adsorption/désorption, les réactions de dissolution/précipitation et les mécanismes microbiologiques. La capacité d'adsorption de l'arsenic sur les différents constituants du sol (argiles, oxydes d'aluminium, de fer, de manganèse, carbonates de calcium et/ou matière organique) est fortement dépendante des

facteurs physico-chimiques du milieu tels que l'état d'hydratation, le pH et l'état de coordination des cations (Sadiq, 1997). Ainsi As[V] est préférentiellement adsorbé sur les oxydes pour des pH de 4 à 7 et As[III] pour des valeurs de pH entre 7 et 10 (Pierce & Moore, 1982). De plus, Lin & Puls (2000) ont montré que As[V] est plus fortement adsorbé sur les argiles que As[III]. Concernant les substances humiques il apparaît que l'adsorption d'As[V] est maximale pour un pH égal à 5,5 et celle As[III] pour un pH de 8,5 (Thanabalasingam & Pickering, 1986).

Dans les sols d'environnements contaminés, de nombreuses études ont montré des précipitations d'arsenic, ainsi Voigt et al. (1996) ont rapporté le cas de précipitation naturelle d'hornesite ($Mg_3(AsO_4)_2 \cdot 8H_2O$), Juillot et al. (1999) ont relevé des occurrences d'arséniates de calcium, de même que la formation de scorodite ($FeAsO_4 \cdot 2H_2O$) et la sorption d'arséniate sur des oxy-hydroxydes ferriques et des aluminosilicates a été mise en évidence par Foster et al. (1998). Enfin, Davis et al. (1992) ont observé la formation d'oxydes arséniés métalliques, d'oxydes de fer arsénié et de phosphates d'arsenic tels que $FeAlPbAs(PO_4)(SO_4)$. En résumé, les oxy-hydroxydes métalliques s'avèrent de bons pièges à arsenic qui s'y adsorbent suivant des phénomènes de complexation de surface. De plus il existe une interconnexion étroite entre les mécanismes abiotiques et les phénomènes biologiques. Si les réactions d'oxydation, de réduction, d'adsorption, de dissolution, de précipitation et de volatilisation se produisent fréquemment dans les sols, certaines de ces réactions sont associées aux micro-organismes bactériens et fongiques. En effet, les microorganismes sont connus pour influencer la géochimie de l'arsenic du fait de leur métabolisme. Comme illustré par la figure 6.1, il en résulte des réactions de réduction, d'oxydation, et/ou de méthylation (Bhumbla & Keefer, 1994; Oremland et al., 2004; Silver & Phung, 2005). La biotransformation des espèces arséniées se produit selon trois mécanismes principaux : (i) les réactions d'oxydo-réduction entre arsénite et arséniate ; (ii) la réduction et la méthylation de l'arsenic ; (iii) la biosynthèse de composés organoarséniés. La méthylation de l'arsenic est un processus métabolique transformant des espèces arséniées inorganiques en formes méthylées organiques et volatiles. (Jain & Ali, 2000) ont montré que les composés inorganiques arséniés sont environ 100 fois plus toxiques que les composés organiques, il semble ainsi que les micro-organismes ont développé des mécanismes de détoxification de l'arsenic.

II.2. Comportement des microorganismes envers l'arsenic

Il apparaît que l'oxydation de l'arsénite, préalablement supposée constituer un mécanisme de détoxification (Anderson et al., 1992), peut également servir de source d'énergie pour les microorganismes chimiolithotrophiques (Silver & Phung, 2005).

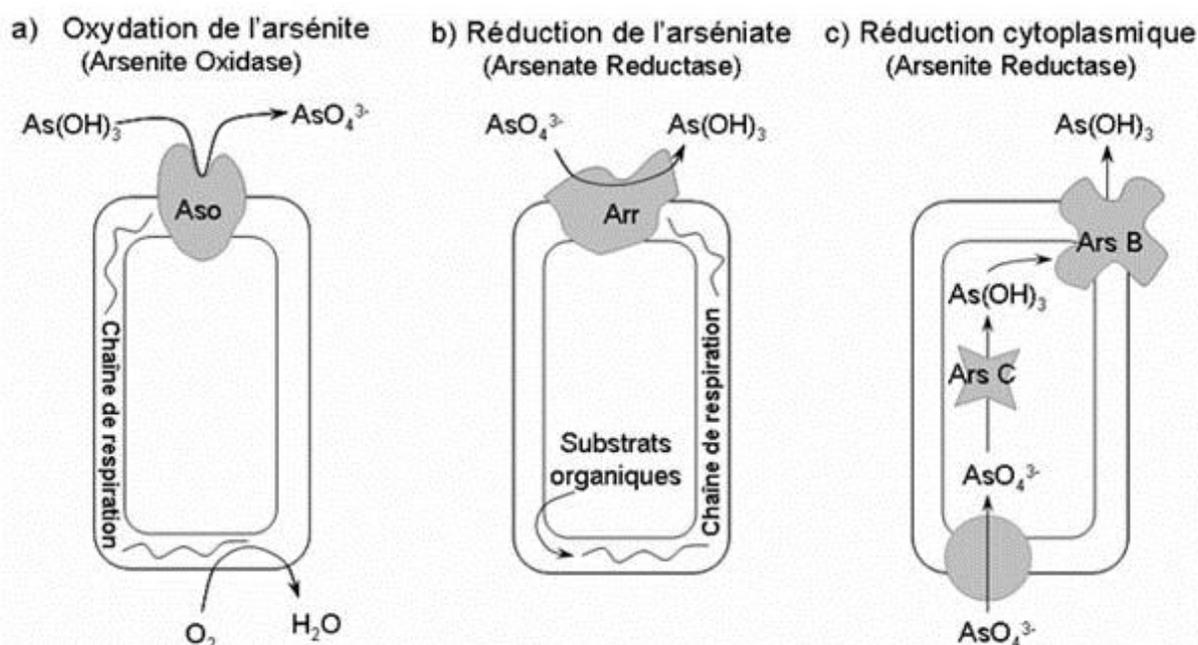


Figure 6.1. Principaux mécanismes cellulaires d'action des bactéries sur l'arsenic. **a)** Oxydation de l'arsénite par respiration, **b)** Réduction de l'arséniate par respiration et **c)** Réduction cytoplasmique de l'arséniate. En grisé sont représentées les protéines agissant dans les mécanismes. D'après Silver & Phung, 2005.

L'oxydation bactérienne de l'arsénite en arséniate est un mécanisme connu qui a été observé principalement avec des bactéries isolées d'environnements arséniés (Bhumbla & Keefer, 1994; Silver & Phung, 2005) mais également dans des sols et rejets d'eaux usées non exposés à des quantités importantes d'arsenic (réf. in Silver & Phung, 2005). Les bactéries "mangent" et "respirent" (Nealson et al., 2002), en ce qui concerne l'arsenic "manger" signifie que l'arsénite sert de donneur d'électron au début de la chaîne respiratoire (figure 6.1.a) et "respirer" signifie que l'arséniate fonctionne comme un accepteur final d'électron (en fin de chaîne respiratoire) en conditions anaérobies (figure 6.1.b). Par ailleurs un troisième mécanisme de détoxification et résistance bactérienne à l'arsenic existe, c'est le système ArsC (Silver & Phung, 1996; Mukhopadhyay et al., 2002; Silver & Phung, 2005; Simeonova et al.,

2005; Muller et al., 2007). En résumé, la protéine ArsC réduit As[V] en As[III] dans le cytoplasme. La forme As[V] étant plus toxique que la forme As[III], la présence d'une protéine ArsB permet d'excréter As[III] en dehors de la cellule (figure 6.1.c).

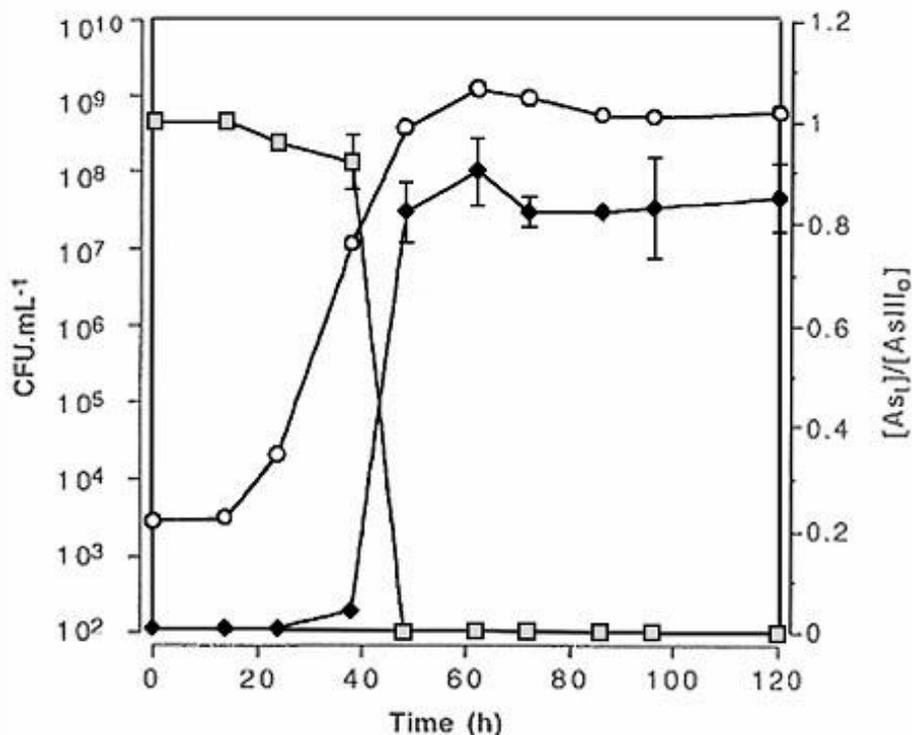


Figure 6.2. Courbe de croissance d'*H. arsenicoxydans* exprimée en CFU mL⁻¹ (●), cinétiques d'oxydation d'As[III] correspondante (□) et formation d'As[V] dans le milieu (◆). D'après Weeger et al. (1999).

Les bactéries métabolisant l'arsenic représentent donc un outil attractif pour les processus de décontamination des sites pollués. De ce fait, *Herminiimonas arsenicoxydans* (préalablement nommée ULPAs1 puis *Caenibacter arsenoxydans*), qui oxyde As[III] dans la forme moins toxique et plus aisément immobilisable As[V] a été proposée comme un candidat potentiel des premières étapes de la bioremédiation (Simeonova et al., 2005; Muller et al., 2007). Cette bactérie a été isolée de boues de traitement d'un site pollué aux métaux lourds tels que l'arsenic, le plomb, le cuivre et l'argent (Muller et al., 2006). Les études préliminaires de la résistance d'*H. arsenicoxydans* à l'arsenic ont montré sa capacité d'oxydation de As[III] en As[V] (figure 6.2). Cependant, il apparaît que cette oxydation n'est pas complètement stoechiométrique (Weeger et al., 1999). Afin de mieux appréhender les mécanismes permettant la colonisation d'environnements riches en arsenic, les caractéristiques physiologiques de *H. arsenicoxydans* ont été étudiées d'un point de vue à la fois génétique et

physiologique (Muller et al., 2007). Le travail présenté ci-après représente les investigations physiologiques par microscopie à transmission (MET) du fonctionnement d'*H. arsenicoxydans* vis-à-vis de l'arsenic. Par ailleurs, une comparaison est faite avec le comportement face à l'arsenic d'une souche mutante de *H. arsenicoxydans*, appelée M1 et non oxydante ; de deux souches génétiquement très proches de *H. arsenicoxydans* : *Herminiimonas aquatilis*, connue pour oxyder l'arsenic et *H. fonticola*, connue pour ne pas oxyder l'arsenic ; ainsi qu'une souche bactérienne connue pour sa capacité à oxyder l'arsenic et extraite de sols contaminés à l'arsenic : la souche *Acinetobacter calcoaceticus*.

III. Matériel et méthode

III.1. Souches bactériennes

H. arsenicoxydans : isolée d'un environnement aquatique contaminé à l'arsenic ($0,47 \text{ mMol.kg}^{-1}$) (Weeger et al., 1999).

M1 est une souche mutante de *H. arsenicoxydans*, pour laquelle le mécanisme d'oxydation de As[III] en As[V] n'est pas actif.

H. aquatilis : isolée, d'un environnement aquatique utilisé comme eau potable (Kampfer et al., 2006). C'est la bactérie la plus proche génétiquement de *H. arsenicoxydans* et elle oxyde As[III].

H. fonticola : la souche a été d'une eau minérale en bouteille (Fernandes et al., 2005). C'est, avec *H. aquatilis*, la bactérie la plus proche génétiquement de *H. arsenicoxydans* et elle n'oxyde pas As[III].

Acinetobacter calcoaceticus : la souche a été isolée d'un sol. Elle oxyde As[III].

Les cultures sont réalisées dans un milieu liquide CDM dont la composition est donnée ci-dessous (§ III.2.) et complémenté de 133 mM d'arsénite ($100 \text{ mg.L}^{-1} \text{ As[III]}$).

III.2. Milieu de culture.

Les différentes souches ont été cultivées dans un milieu CDM (Chemically Defined Medium) obtenu en mélangeant suivant le protocole décrit par Weeger et al. (1999) les 3 solutions A, B et C suivantes :

Solution A :

0,446 M	de Na lactate	(Sigma, 98%)
0,187 M	de NH ₄ Cl	(Merck, 99,8%)
0,0812 M	de MgSO ₄ , 7H ₂ O	(Sigma)
0,07 M	de Na ₂ SO ₄	(Prolabo, 99%)
4,57 mM	de CaCl ₂ , 2H ₂ O	(Merck, 99,5%)
0,574 mM	de K ₂ HPO ₄	(Prolabo, 97%)

Solution B :

4,8 mM	de Fe ₂ SO ₄ , 7H ₂ O	(Prolabo, 99%)
--------	--	----------------

Solution C :

0,95 M	de NaHCO ₃	(Prolabo, 99,5%)
--------	-----------------------	------------------

Le milieu est obtenu en mélangeant 100mL de solution A, 2,5 mL de solution B et 10 mL de solution C avec ajout d'eau pour 1L de solution totale. Le pH du milieu est de 7,2. Toutes les solutions sont préparées en utilisant de l'eau déionisée (Milli-Q system, Millipore) préalablement stérilisée en autoclave (120°C, 20 min). La solution A est stérilisée (120°C, 20min) et les solutions B et C filtrées à 0,45 µm.

100 ppm d'arsenic, sous forme As[III] (NaAsO₂) est ajouté aux différentes cultures à une concentration finale de 100mg.L⁻¹ (133mM).

III. 3. Préparation des échantillons pour l'observation

III.3.1. Microscopie électronique à balayage conventionnelle et cryomicroscopie

Après 48h d'une culture bactérienne dans le milieu CDM contenant 100 ppm d'arsenic sous le degré d'oxydation III, une fraction de la suspension est pipetée puis diluée vingt fois dans de l'eau pure stérile. Sous boîte à gants, 6µL de cette culture sont alors prélevés et déposés sur des membranes en polycarbonate à 0,22 µm de porosité et des grilles de MET pour les observations en mode microscopie électronique à balayage conventionnelle (MEB) et basse température (cryo-MEB). Les grilles et filtres sont ensuite laissés à l'air afin de sécher. En parallèle, le même protocole est toujours réalisé avec des cultures sans arsenic servant de témoin.

III.3.2. Microscopie électronique à transmission

Après 48h d'une culture bactérienne dans le milieu CDM contenant 100 ppm d'arsenic sous le degré d'oxydation III, une fraction de la suspension est pipetée puis diluée vingt fois dans de l'eau pure stérile. Sous boîte à gants, 6 μ L de cette culture sont alors prélevés et déposés sur des grilles quadrillées en cuivre préalablement recouvertes de Formvar. Les grilles sont ensuite laissées à l'air afin de sécher. En parallèle, le même protocole est toujours réalisé avec des cultures sans arsenic servant de témoin.

III.4. Conditions opératoires

III.4.1. Microscopie électronique à balayage conventionnelle et cryomicroscopie

Les observations en microscopie électronique à balayage (MEB) en mode conventionnel ont été effectuées au service de microscopie électronique analytique du département Ecologie, Physiologie et Ethologie (DEPE) de l'IPHC de Strasbourg. Le microscope utilisé est un ESEM XL30 (Philips) à filament LaB6 équipé d'un système d'analyse EDX Spirit (PGT). Les images ont été acquises entre 10 et 30 kV.

Ce microscope est conçu de manière à fonctionner en mode environnemental, c'est-à-dire que les échantillons peuvent être observés à l'état brut, sans préparation, à basse pression et à l'état humide. Cependant les tentatives d'observation des préparations microbiennes en mode environnemental n'ont pas été, dans notre cas, concluantes. Ceci est imputable à l'état très hydraté des préparations qui provoque, lors de l'acquisition de l'image sous le faisceau d'électrons, un nuage très dense d'électrons secondaires et un brouillard lié au dégazage des molécules d'eau. Par ailleurs, la petite taille des objets étudiés (1 μ m) et leur caractère organique n'ont pas permis de s'affranchir des difficultés d'observation. De ce fait, les préparations ont été légèrement déshydratées et recouvertes d'une couche de carbone puis étudiées en mode conventionnel.

Les observations en cryomicroscopie à balayage ont été effectuées au service de microscopie électronique analytique de l'INRA de Versailles (unité PESSAC). Le microscope utilisé est un SEM 525M (FEI Company) équipé d'un système Cryotrans CT 1500 (Gatan). Les échantillons déposés sur des filtres en polycarbonate à 0,22 μ m sont cryogénisés à -180°C dans de l'azote liquide. Les images ont été acquises à 10 kV.

L'intérêt de cette méthode est de permettre l'observation, sans déformation structurale, d'un échantillon biologique dans son état natif.

III.4.2. Microscopie électronique à transmission

Les échantillons ont été examinés avec un microscope électronique à transmission de type Philips STEM 420 équipé d'une caméra CCD SiS Megaview II pour l'acquisition d'images numériques et d'un détecteur de rayons X à dispersion d'énergie (EDX) Oxford INCA pour les analyses chimiques. Le microscope a été utilisé à 120 kV en mode transmission avec un diamètre d'ouverture de la lentille objectif de 50 μm . Les images ont été acquises avec un temps d'exposition de 1 seconde maximum et en corrigeant l'intensité du faisceau incident pour optimiser la gamme d'intensité dans l'histogramme de l'image détectée par la caméra. Les analyses EDX ont été acquises en mode transmission à la même tension d'accélération avec l'échantillon en position strictement eucentrique et la platine échantillon inclinée d'un angle de $+20^\circ$ vers le détecteur. Les signaux de fluorescence X ont été enregistrés dans une gamme d'énergie entre 0 et 20 keV. Le détecteur est de type Si/Li avec une fenêtre mince atmosphérique (ATW) permettant la détection d'éléments légers à partir de $Z=6$ (carbone).

IV. Résultats

IV.1. Observations morphologiques en microscopie électronique à balayage

Les observations en MEB effectuées sur les souches de *H. arsenicoxydans* sans arsenic permettent d'étudier la morphologie bactérienne ainsi que les caractéristiques de surface des cellules.

Ces observations montrent que des exopolysaccharides (EPS) sont produits en abondance (figure 6.3.). En effet, la figure 6.3. montre que les bactéries sont difficilement individualisables car toujours engluées dans des EPS épais constituant un gel autour des bactéries.

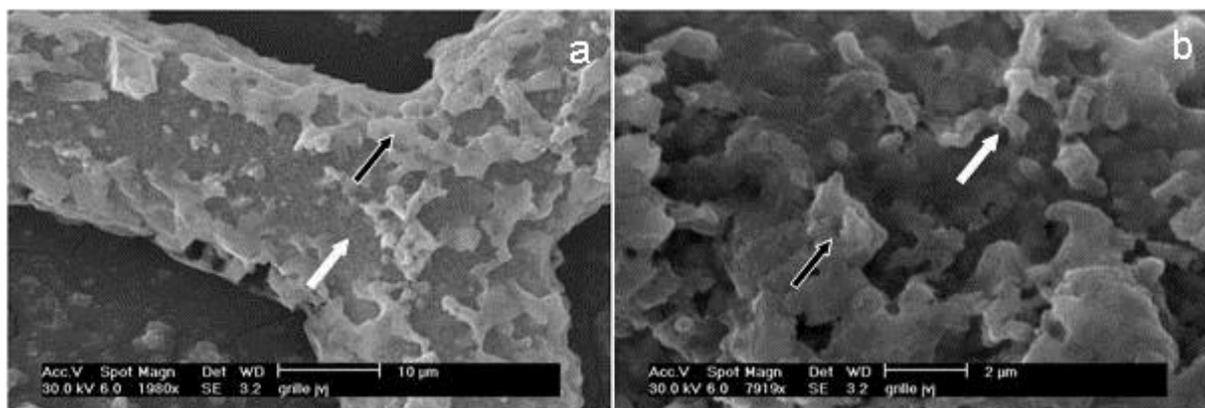


Figure 6.3. a) et b) Image en microscopie à balayage en mode conventionnel de *H. arsenicoxydans* sans arsenic. Les flèches blanches pointent les bactéries, les flèches noires les exopolysaccharides.

De la même manière, les observations réalisées sur les souches cultivées en présence d'arsenic soulignent le fait que les microorganismes constituent des micro-colonies. La figure 6.4 illustre ainsi le fait que le contact entre les différentes cellules individualisées est flou du fait de la présence d'un EPS entourant chacune des bactéries. Par ailleurs, il est important de noter l'absence de structures externes aux cellules révélatrices d'interactions entre métaux et bactéries (Akai et al., 2004). Il n'y a visiblement pas de présence de "coatings" à la surface des cellules mais une production d'EPS toujours importante lorsque *H. arsenicoxydans* est mise en présence d'arsenic.

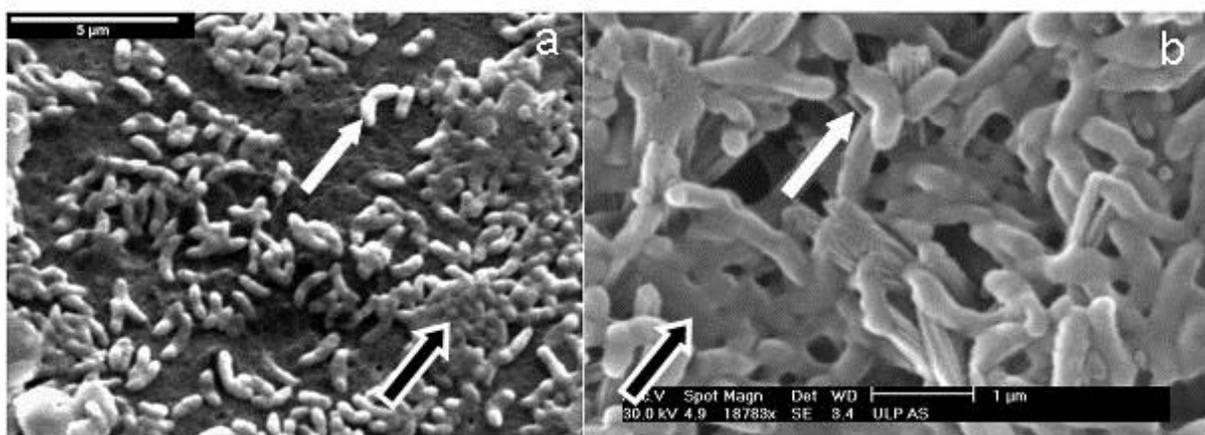


Figure 6.4. a) Image en microscopie à balayage à basse température de *H. arsenicoxydans* en présence d'As[III]. **b)** Image en microscopie à balayage en mode conventionnel de *H. arsenicoxydans* en présence d'As[III]. Les flèches blanches pointent les bactéries, les flèches noires les exopolysaccharides.

A titre de comparaison, une culture de *H. aquatilis* (figure 6.5) en présence d'arsenic a été observée au MEB en mode conventionnel. Il apparaît que les micro-colonies présentent des contours flous représentatifs de la production d'EPS. De plus, les cellules individuelles ne présentent pas de structures externes particulières.

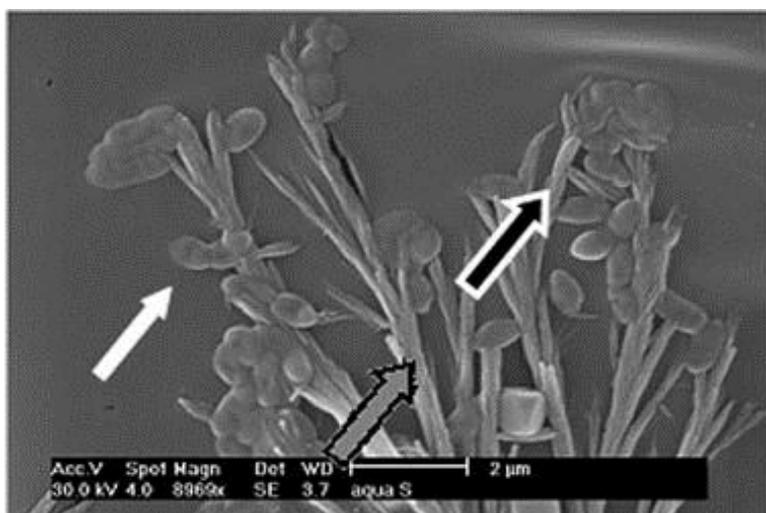


Figure 6.5. Image en microscopie à balayage en mode conventionnel de *H. aquatilis* en présence d'As[III]. La flèche blanche pointe une bactérie, la flèche noire une micro-colonie incluse dans un exopolysaccharide et la flèche grise une cristallisation du milieu de culture.

En résumé, les observations morphologiques des cultures de *H. arsenicoxydans* réalisées en MEB soulignent la production d'EPS avec et sans arsenic ainsi que le fait qu'aucune structure externe de type "coating" n'est visible à la surface des microorganismes. De plus, *H. aquatilis* montre un comportement similaire.

IV.2. Observations morphologiques et analyses chimiques en microscopie électronique à transmission analytique

IV.2.1. Observations morphologiques en MET

Les images en microscopie électronique à transmission des préparations de *H. arsenicoxydans* traitées à l'arsenic montrent dans tous les cas la présence d'un composé très dense aux électrons sur la membrane cellulaire et dans l'EPS (figure 6.6.c). Ce composé se présente

toujours sous forme fibreuse, avec une architecture présentant un réseau dense de très fines aiguilles plus ou moins courbes (figure 6.6.d). La biomasse qui n'a pas été exposée à l'arsenic ne contient quand à elle pas de précipités en fines aiguilles (Figure 6.6.a,b).

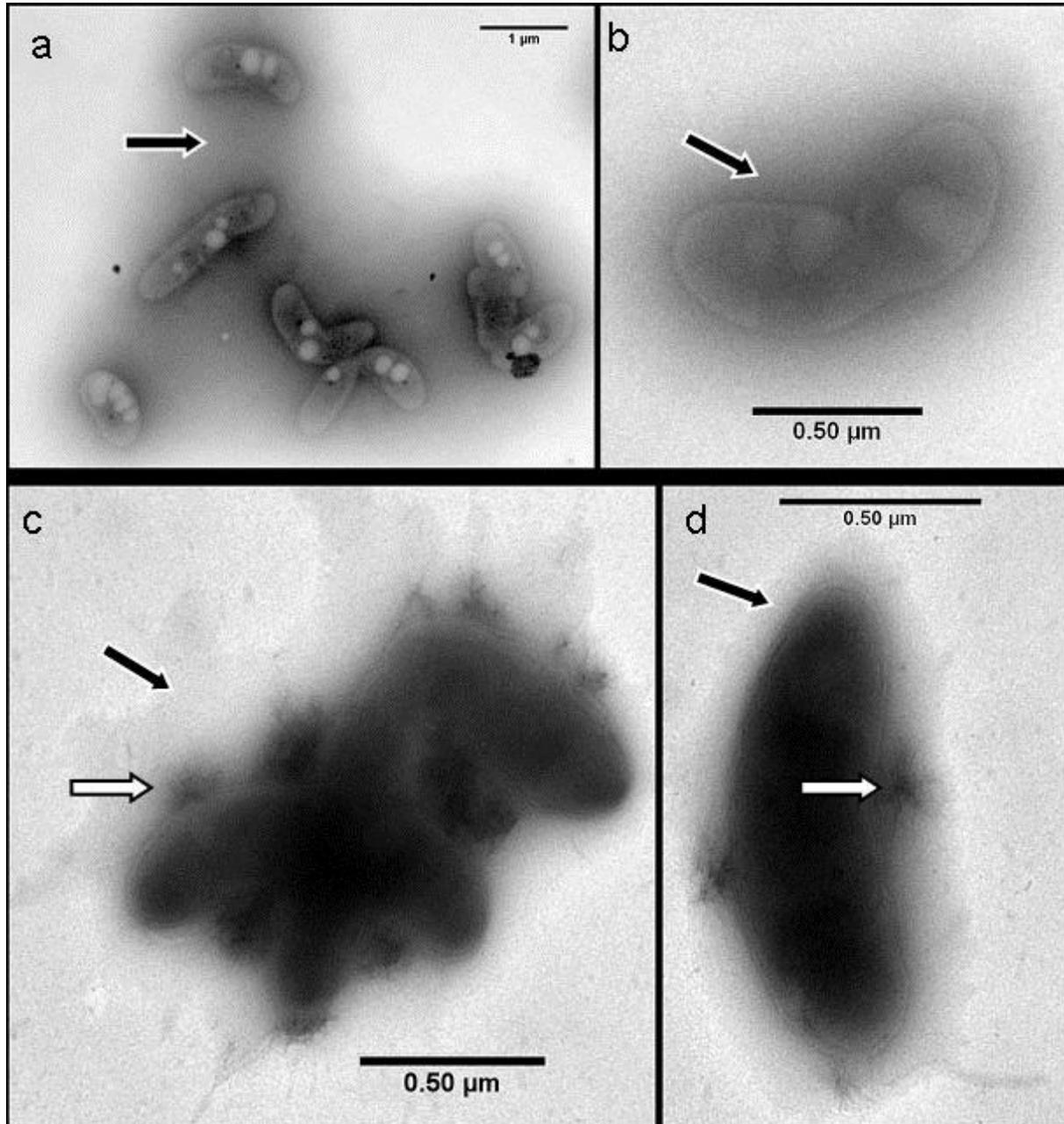


Figure 6.6. *a) et b) Image en microscopie à transmission de *H. arsenicoxydans* cultivée sans As[III]. c) Image en microscopie à transmission d'une micro-colonie de *H. arsenicoxydans* cultivée en présence d'As[III] et d) Image en microscopie à transmission d'une cellule de *H. arsenicoxydans* cultivée en présence d'As[III] et possédant un flagelle. Les flèches blanches pointent les précipités en fines aiguilles, les flèches noires les exopolysaccharides.*

De manière plus précise, un traitement approprié des images c et d de la figure 6.6 (de résolution 150 px/cm) par filtre passe-haut avec un rayon de 50 pixels permet de mettre en évidence les précipitations associées aux micro-organismes (figure 6.7). L'application sur une image d'un filtre passe-haut conserve les détails de contour dans le rayon spécifié là où des transitions nettes surviennent. Il apparaît ainsi que les réseaux d'aiguilles sont localisés à l'extérieur du cytoplasme mais dans les EPS et très fréquemment dans les zones confinées, comme par exemple au contact entre deux organismes, ou à proximité des flagelles.

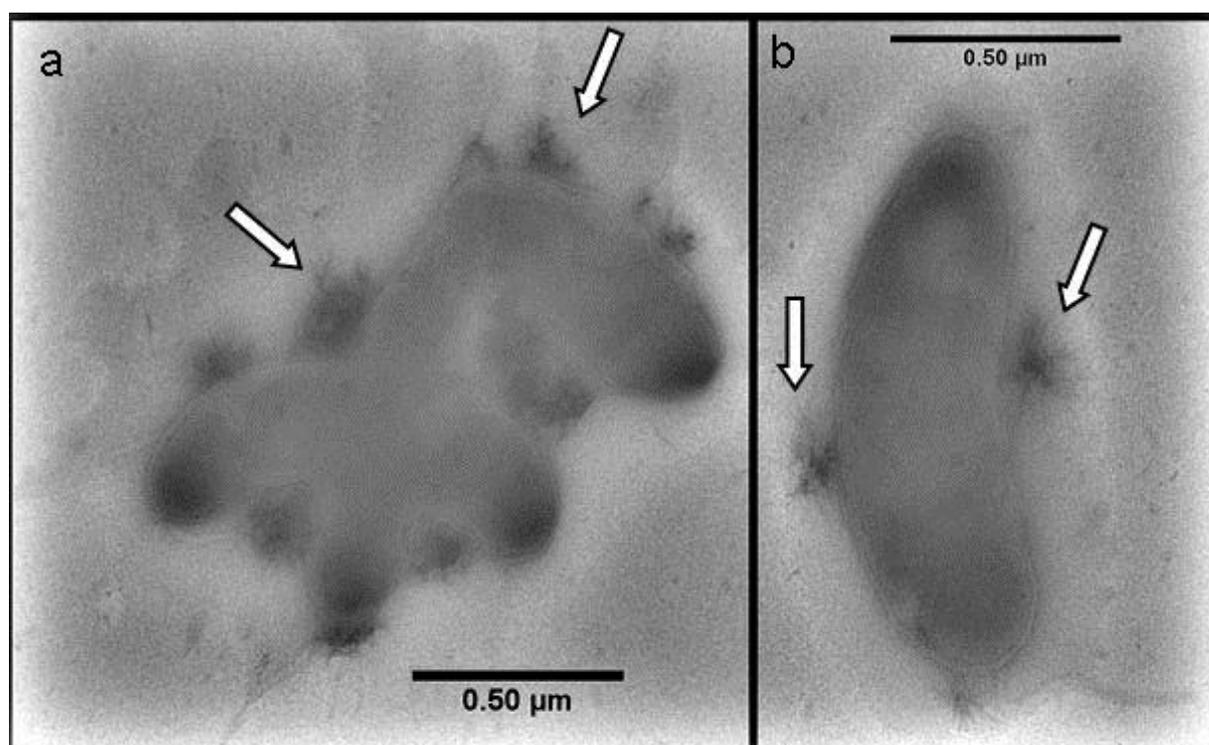
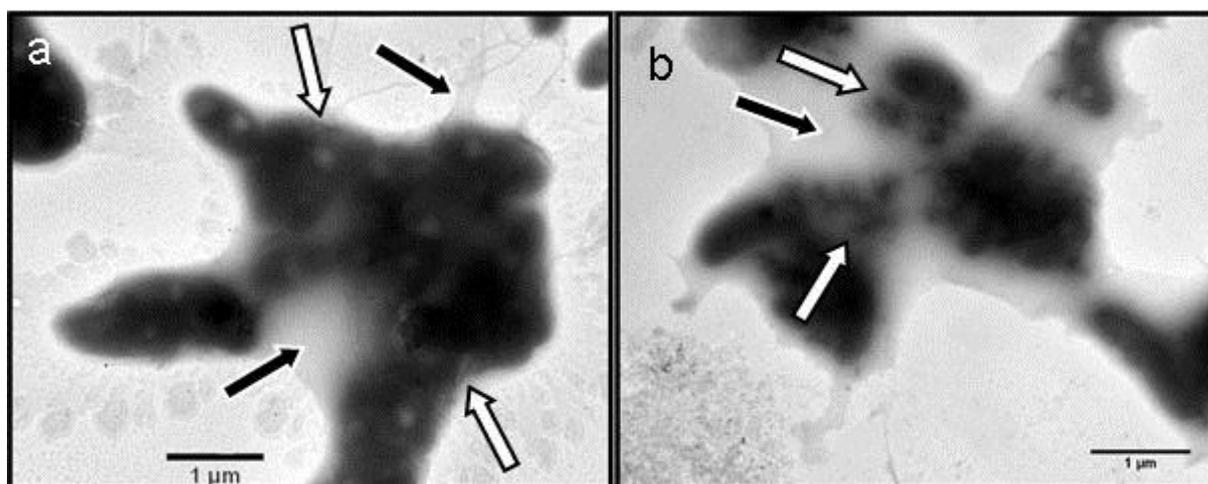


Figure 6.7. *a)* Image traitée avec un filtre passe-haut avec un rayon de 50 pixels de la photo de la figure 6.6 c) et mettant en évidence les précipitations sous forme d'aiguilles. *b)* Image traitée de la photo de la figure 6.6 d). Les flèches blanches pointent les précipités en fines aiguilles.

Enfin, l'utilisation d'un diaphragme de contraste en MET permet également de souligner la présence très importante d'EPS autour des colonies (figure 6.8). Il apparaît que les EPS contiennent les précipitations fibreuses. De plus, la photo de la figure 6.8.b montre que les EPS peuvent lier plusieurs micro-colonies entre lesquelles les parois cellulaires des organismes ne se touchent pas nécessairement mais dont les précipitations en aiguilles peuvent relier les organismes.

En définitive, l'ajout d'arsenic aux cultures de *H. arsenicoxydans* a un effet visible sur les cultures. Ainsi, si les EPS sont toujours très présents, ils renferment systématiquement des précipités sous forme de fines aiguilles très denses aux électrons. Il semble par ailleurs que les EPS produits lors de l'ajout d'As[III] sont plus épais que ceux observés autour des cellules cultivées sans arsenic.



*Figure 6.8. a) et b) Image avec diaphragme de contraste en microscopie à transmission de *H. arsenicoxydans* cultivée en présence d'As[III]. Les flèches blanches pointent les précipités en fines aiguilles, les flèches noires les exopolysaccharides.*

IV.2.2. Analyses en EDX

Les microanalyses réalisées sur les microorganismes cultivés en présence d'As[III] (figure 6.9) montrent que les précipités internes aux EPS sont riches voire extrêmement riches en arsenic puisque le point d'analyse I., figure 6.9.a présente par exemple 16.5 wt.% d'As_{tot} et le point IV., figure 6.9 b, 3,52 wt.% As_{tot} (figure 6.9.a I. et 6.9. b IV.). A titre de comparaison, il apparaît que les cellules bactériennes contiennent relativement peu d'arsenic : 0,75 wt.% As_{tot} (figure 6.9.b I.). Ce qui est également le cas des granules internes bien que les granules noires sont plus enrichies avec 1,47 wt.% d'As_{tot} (figure 6.9.b II.). Il est à noter également que ces "granules sombres" présentent toujours des enrichissements en phosphore prononcés, ceci étant à rapprocher des observations décrites dans les chapitres 4 et 5 pour lesquels les concentrations élevées en plomb dans les granules internes des bactéries sont toujours associées à des concentrations en phosphore importantes. Par ailleurs l'analyse réalisée sur le support carboné de la grille sert de témoin (analyse II., figure 6.9.a), elle montre que l'arsenic est seulement contenu dans les micro-colonies bactériennes et que les concentrations

mesurées ne sont donc pas dues à un enrichissement général des préparations. En définitive, les précipités sont très majoritairement constitués d'arsenic. Cependant, les analyses ne permettent pas de savoir si l'arsenic est sous la forme As[III] ou As[V].

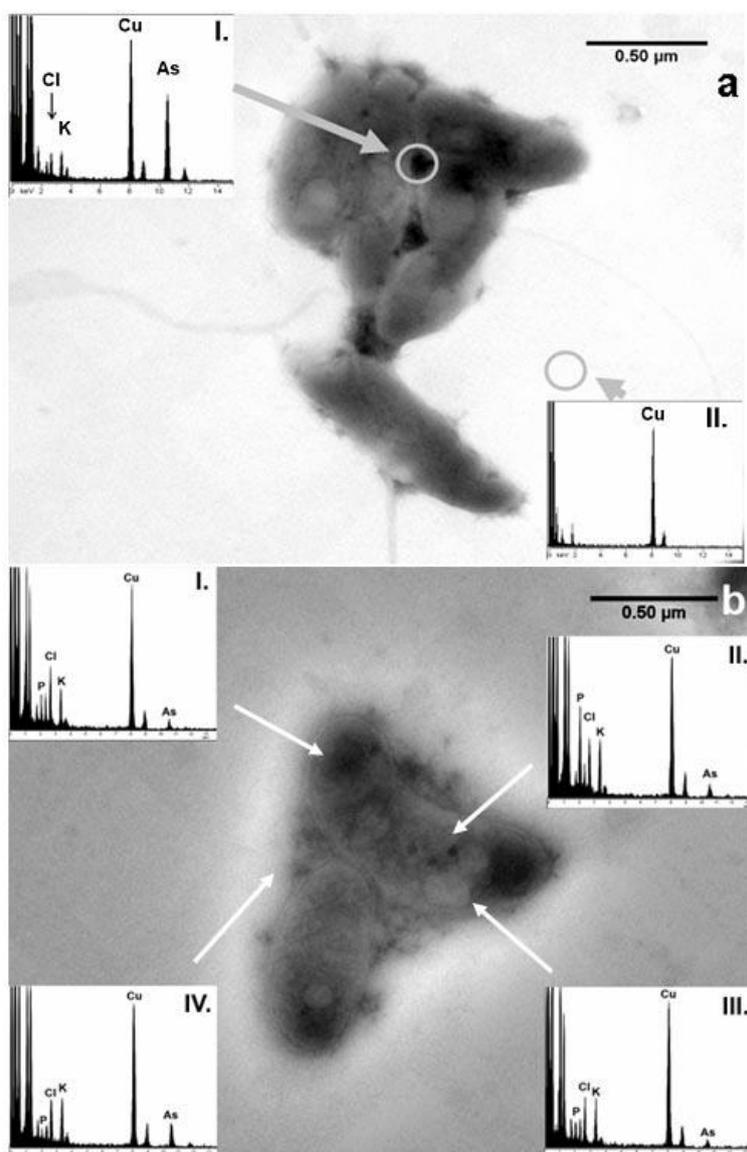


Figure 6.9. *a)* image MET de *H. arsenicoxydans* cultivée dans un milieu enrichi en As[III] (100 mg.L^{-1}). **I** : Analyse EDX d'un précipité interne à la micro-colonie, dans l'EPS et **II** : Spectre d'analyse EDX Analyse d'un point externe à la micro-colonie. *b)* image MET de *H. arsenicoxydans* cultivée dans un milieu enrichi en As[III] (100 mg.L^{-1}). **I** : Spectre d'analyse EDX d'une cellule, **II** : Spectre d'analyse EDX d'une granule noire interne, **III** : Spectre d'analyse EDX analyse d'une zone blanche interne et **IV** : Spectre d'analyse EDX d'un précipité interne à la micro-colonie, dans l'EPS. Les pics Cl, P et K représentent les constituants de la phase organique et le pic Cu correspond à la grille servat de support. La concentration en arsenic en a) I. est 16.5 wt.% As_{tot} et la concentration en arsenic en a) II. est 0.0 wt.% d' As_{tot} . La concentration en arsenic en b) I. est 0.75 wt.% As_{org} la concentration en arsenic en b) II. est 1.47 wt.% As_{org} la concentration en arsenic en b) III. est 0.66 wt.% As_{tot} et la concentration en arsenic en b) IV. est 3.52 wt.% As_{tot} Toutes les quantifications ont été faites sans corriger des concentrations en C dues à la fois aux microorganismes et au support des grilles.

IV. 3. Comportement du mutant M1 de *H. arsenicoxydans* n'oxydant pas As[III]

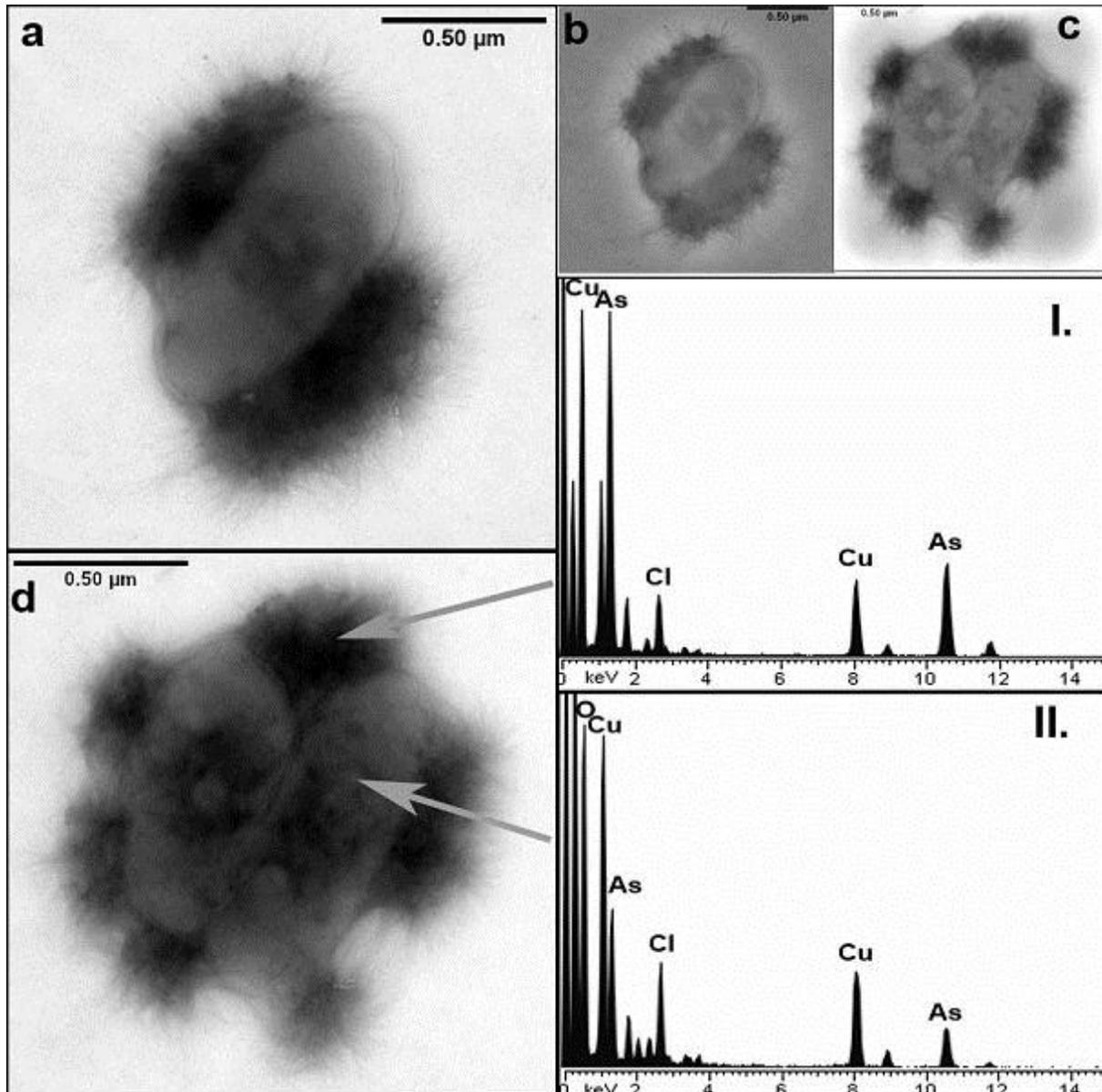


Figure 6.10. *a) et d) image MET de M1 cultivée dans un milieu enrichi en As[III] (100 mg.L^{-1}). b) et c) Images a et d traitées. I. Analyse EDX d'un précipité pointé par la flèche en d). II. Analyse en EDX d'une cellule pointée en d). La concentration en As en I. est $30.64 \text{ wt.}\% \text{ As}_{\text{tot}}$. La concentration en As en II. Est $8.86 \text{ wt.}\% \text{ As}_{\text{tot}}$. Les quantifications ont été faites sans corriger la concentration en C due à la fois au microorganisme et au revêtement de la grille. Le pic Cu correspond à la grille servant de support.*

Afin de mettre en évidence l'influence du mécanisme d'oxydation de As[III] dans la formation des précipitations observées lors de la mise en culture de *H. arsenicoxydans* en présence de

100 mg.L⁻¹ d'As[III], une souche mutante de *H. arsenicoxydans*, nommée M1, qui a perdu l'aptitude à oxyder As[III] en As[V], a été préparée et observée suivant le même protocole.

La figure 6.10 montre l'observation en MET et les analyses associées en EDX de cette bactérie, cultivée en milieu CDM en présence de 100 mg.L⁻¹ d'As[III]. Il apparaît que le mutant présente un faciès similaire à *H. arsenicoxydans* cultivée dans les mêmes conditions avec notamment la formation de fines aiguilles très riches en arsenic à l'extérieur des micro-colonies. Les analyses en EDX de ces aiguilles montrent de très fortes concentrations en As avec notamment plus de 30% wt. As_{tot} pour l'analyse I. Cependant, que ce soit sur la figure 6.10.a ou 6.10.b, il apparaît clairement que ces aiguilles ne sont pas confinées dans un EPS. En effet, aucun EPS n'est visible autour des aiguilles.

La présence de précipités d'arsenic, sous un état d'oxydation indéterminé, associé à ces deux souches de bactéries (*H. arsenicoxydans* et M1) cultivées en présence d'As[III] souligne le fait que l'aptitude à oxyder As[III] n'est pas une condition nécessaire à la formation d'aiguilles riches en arsenic associées aux micro-organismes.

IV. 4. Comportement d'autres microorganismes

IV.4.1. Les bactéries génétiquement proches de *H. arsenicoxydans*

En parallèle des observations réalisées sur des cultures de *H. arsenicoxydans* et M1, un protocole exactement identique a été réalisé sur les deux espèces de bactéries phylogénétiquement les plus proches de *H. arsenicoxydans*. Il s'agit de *H. aquatilis* et *H. Fonticola*.

Les images et analyses réalisées sur *H. aquatilis* montrent un comportement très similaire à celui observé sur *H. arsenicoxydans* (figure 6.11). En effet, la figure 6.11.a montre une précipitation sous forme d'aiguilles très fines et un détail de ces précipitations (figure 6.11.b) souligne le fait que le point de germination est situé sur la paroi cellulaire, les aiguilles étant limitées par le développement de l'EPS. L'analyse réalisée sur une de ces précipitations représentée sur la figure 6.11.a montre la très forte concentration en arsenic de ces aiguilles avec plus de 25% wt.% As_{tot}.

H. aquatilis, a donc un comportement identique face à l'arsenic et montre même des concentrations en arsenic des précipitats généralement plus élevées.

Cependant, *Herminiimonas fonticola*, qui ne peut pas oxyder As[III] (Muller et al., 2007) ne montre pas le même comportement que les deux autres *Herminiimonas* de cette étude (figure 6.12).

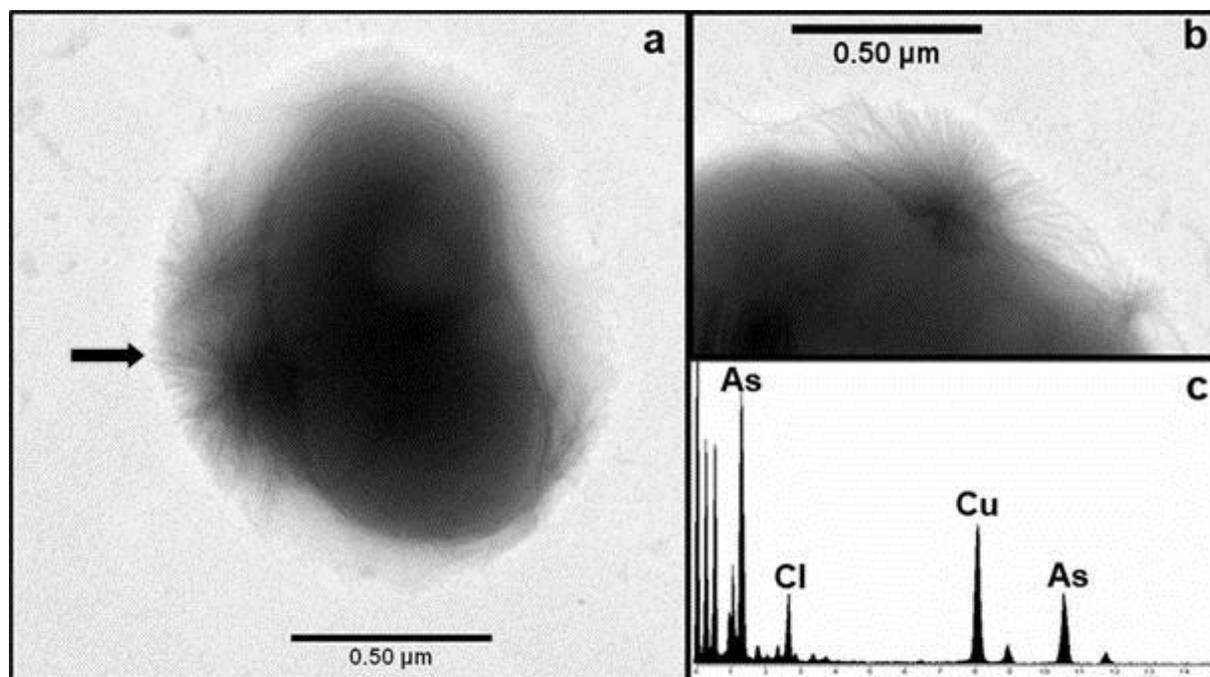


Figure 6.11. a) image MET de *H. aquatilis* cultivée dans un milieu enrichi en As. b) détail des précipitations en fines aiguilles. c) Analyse EDX d'un précipité interne à l'EPS et pointé par la flèche en a). La concentration en arsenic en c) est 25.26 wt.% As_{tot} . La quantification a été faite sans corriger la concentration en C due à la fois au microorganisme et au revêtement de la grille. Le pic Cu correspond à la grille servant de support.

En effet, il apparaît que *H. fonticola* produit également des EPS mais ceux-ci ne contiennent jamais de précipités en aiguilles. Les analyses montrent cependant des concentrations en As dans les bactéries et dans les EPS à hauteur respectivement de 1 et 5 wt.% As_{tot} . Il semble donc que dans les concentrations considérées ici ($100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, 133 mM) cette bactérie est résistante.

Ainsi, si cette bactérie semble résister à une dose assez forte d'As[III] elle ne présente pas de précipités riches en arsenic dans l'EPS.

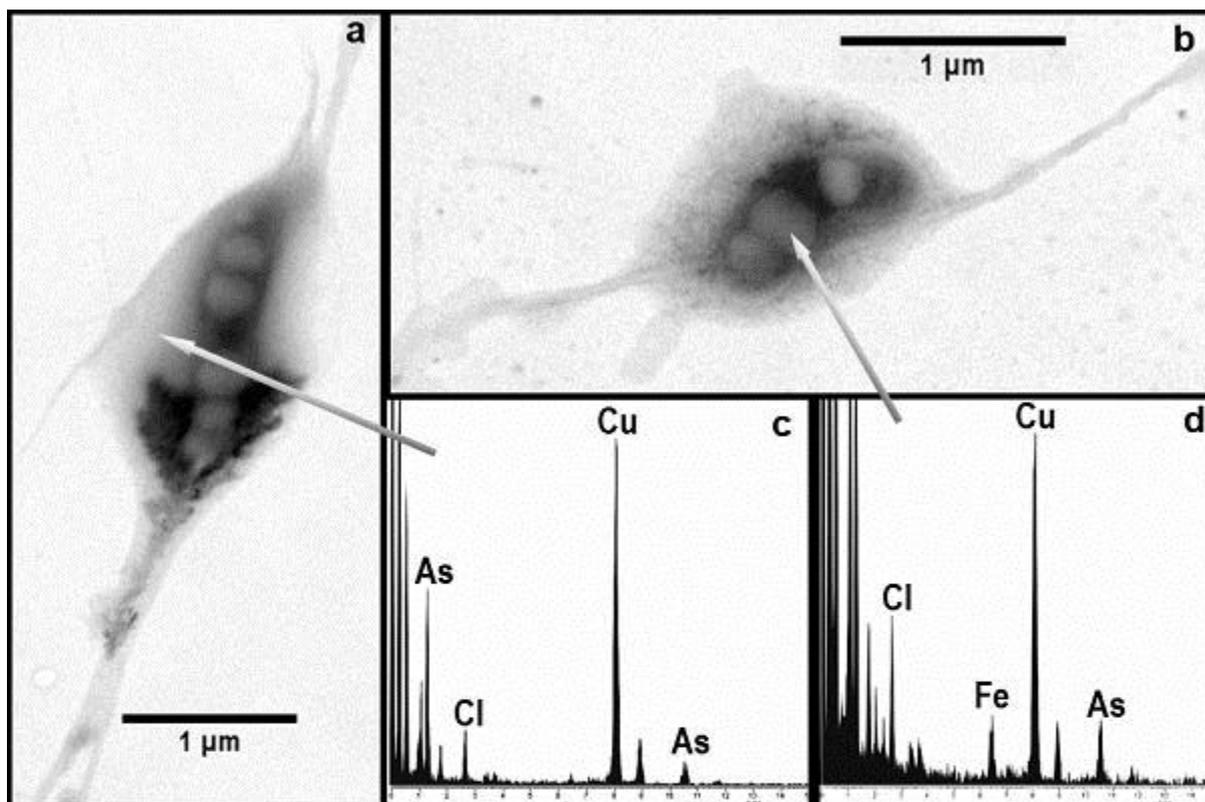


Figure 6.12. *a) et b)* image MET de *H. fonticola* cultivée dans un milieu enrichi en As[III] ($100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$). *c)* Analyse EDX d'un EPS pointé par la flèche en *a)*. *d)* Analyse EDX d'une bactérie pointée par la flèche en *b)*. La concentration en arsenic en *c)* est $4.98\text{ wt.}\% \text{As}_{\text{tot}}$. La concentration en arsenic en *d)* est $2.41\text{ wt.}\% \text{As}_{\text{tot}}$. La concentration en fer en *d)* est $1.12\text{ wt.}\% \text{Fe}_{\text{tot}}$. Les quantifications ont été faites sans corriger les concentrations en C dues à la fois au microorganisme et au revêtement de la grille. Les pics Cu correspondent à la grille servant de support.

IV. 4. 2. Comportement d'une bactérie arsénite oxydante de sols arséniés

Afin de savoir si ce comportement face à l'arsenic est également un comportement possible en environnement pédologique, les expériences réalisées sur les trois *Herminiimonas* et le mutant M1 ont été réalisées sur une souche isolée d'un environnement contaminé à l'arsenic (mines d'or de Salsigne, France) et issues des collections du laboratoire de Génétique Moléculaire, Génomique et Microbiologie de l'Université Louis Pasteur de Strasbourg (UMR 7156), nommée *Acinetobacter calcoaceticus*. Cette bactérie est arsénite oxydante et elle réalise une oxydation totale de 100 ppm d'As[III] en 48h.

L'expérience de culture en milieu CDM avec ajout d'arsenic a été étudiée au MET. L'aspect des EPS et de ce qu'ils contiennent dans le cas de *A. calcoaceticus* (figure 6.13.a) est très semblable aux précipités observés pour les cultures de *H. arsenicoxydans* (figures 6.6, 6.7 et

6.9) et *H. aquatilis* (figure 6.11.a,b). Par ailleurs, les analyses de ces composés montrent là aussi de très fortes concentrations en As, dépassant fréquemment les 10% wt.% As_{tot} (figure 6.13.b).

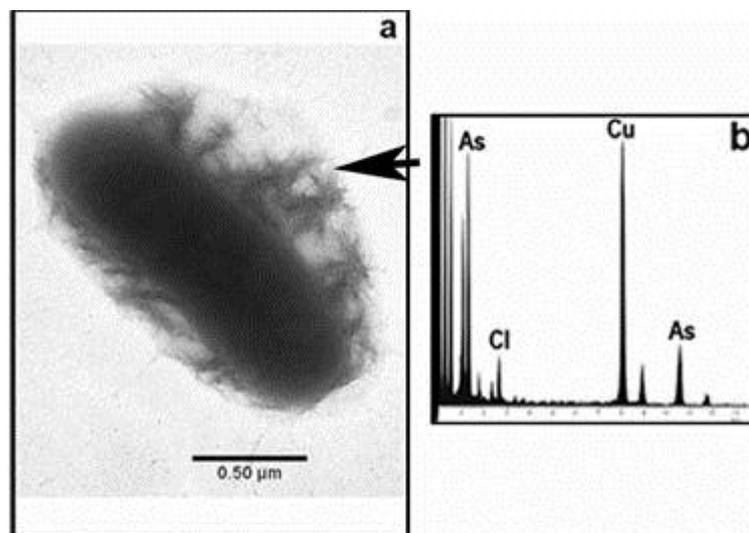


Figure 6.13. a) image MET de *A. calcoaceticus* cultivée dans un milieu enrichi en $As[III]$. b) Analyse EDX des fines aiguilles dans l'EPS pointées par la flèche en a). La concentration en arsenic en b) est 13.75 wt.% As_{tot} . La quantification a été faite sans corriger les concentrations en C dues à la fois au microorganisme et au revêtement de la grille. Le pic Cu correspond à la grille servant de support.

V. Discussion

L'ajout d'arsenic à des cultures de microorganismes montre dans certains cas la cristallisation d'arsenic dans les EPS. Il apparaît à partir des analyses réalisées sur les supports d'échantillon que l'arsenic est bien séquestré à l'intérieur des EPS.

Les phénomènes de sorption des métaux sur les parois cellulaires accompagnés de cristallisation dans les EPS associés aux organismes est un mécanisme connu de séquestration des métaux par les bactéries. En effet, de nombreuses études traitent de ce mécanisme pour divers métaux tels que Cd, Cu, Mn, Pb, La, Am, U, Th, Pu, ou Fe (Beveridge, 1989; Macaskie et al., 1992; Emerson & Moyer, 1997; Warren & Ferris, 1998; références dans Ehrlich, 1999; Beveridge, 2005; Merroun et al., 2005). L'une des illustrations les plus significatives de ce phénomène ayant été observée par Merroun et al. (2003) avec l'interaction entre *Myxococcus*

xanthus et du lanthane (figure 6.14). Dans ces cas de piégeage, les observations montrent que les métaux sont fixés sur les parois cellulaires et forment des sels en s'associant aux groupements CO_3^{2-} , HPO_4^{2-} ou HS^- contenus dans les lipopolysaccharides des parois bactériennes ; c'est le phénomène de "binding" (Beveridge, 1989). Des sites de nucléation sont ainsi créés et permettent aux bactéries de précipiter passivement des minéraux [dans (Ehrlich, 1999)].

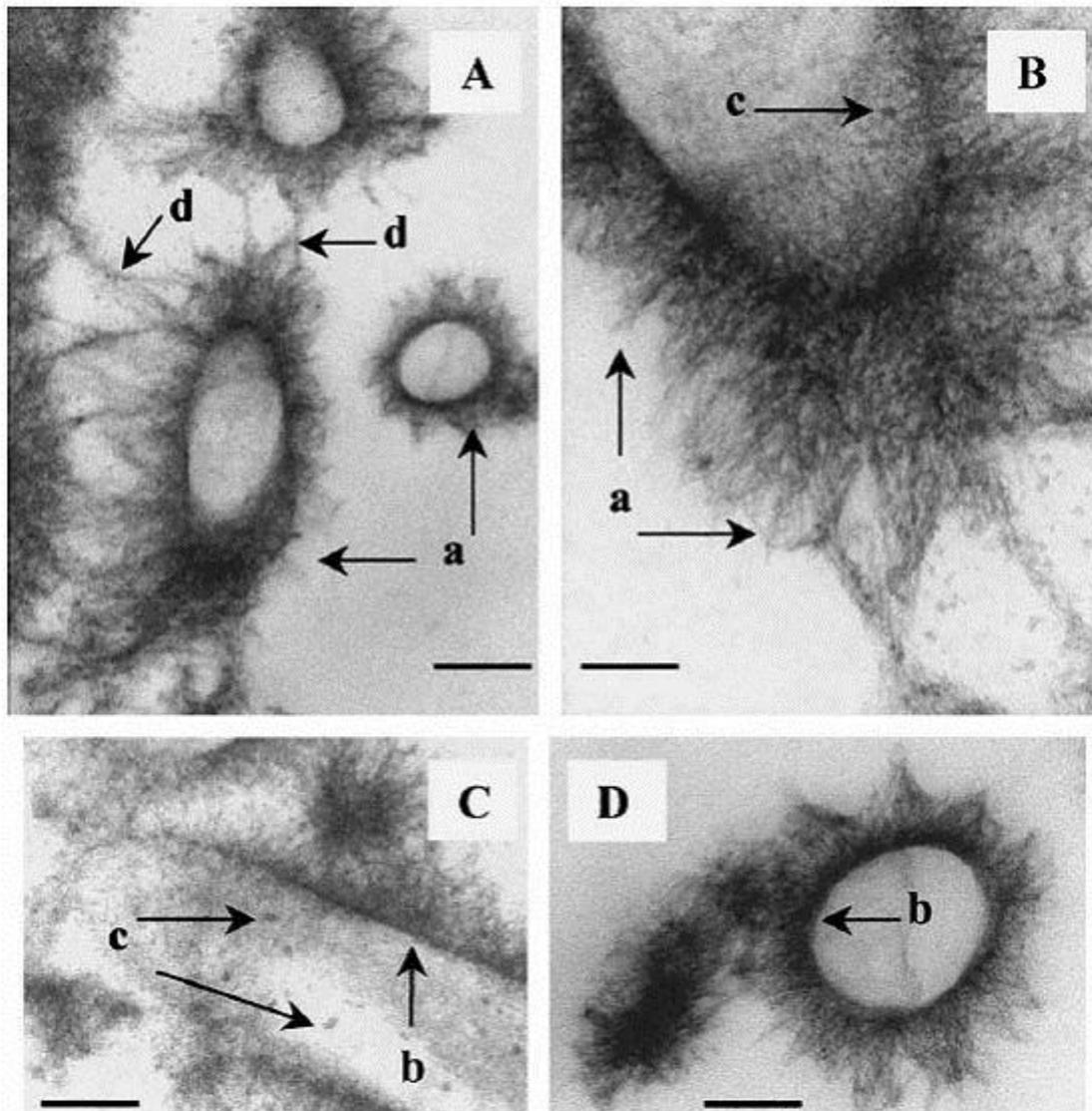


Figure 6.14. Localisation du lanthane fixé par *M. xanthus* A-D : photographies au MET de sections des cellules microbiennes. L'élément La est principalement fixé sur la partie externe des cellules (b) et dans l'EPS (a) qui apparaît comme un réseau de fibres denses; (c) petits dépôts électriquement denses de La dans les cellules. Les échelles représentent respectivement 0.53, 0.64, 0.333 et 0.287 μm dans A, B (détail de A), C et D. En A et B, on peut observer des fibres interconnectant des cellules (d). Figure extraite et traduite de Merroun et al. (2003).

Jamais encore un tel mécanisme n'a été observé pour l'arsenic. En effet, à notre connaissance la quasi-totalité de ce type d'observations en microscopie sur les interactions entre bactéries et métaux porte sur des métaux de nature cationique. Seuls des travaux récents sur les interactions entre iode (I) et bactéries (*Bacillus subtilis*) on mis en évidence des phénomènes d'adsorption, sous une forme indéterminé, de l'iode sur la surface des cellules à des pH acides (MacLean et al., 2004).

Parmi les six souches étudiées, trois montrent une réponse très similaire au stress arsénié illustré par la cristallisation d'aiguilles d'arsenic sur la paroi cellulaire et confinées dans un EPS très localisé autour des cellules : il s'agit de *H. arsenicoxydans*, *H. aquatilis* et *A. calcoaceticus*. Le mutant M1 montre une réponse légèrement différente avec la cristallisation d'aiguilles d'arsenic sur la paroi et visiblement absence d'EPS. Enfin, le comportement de *H. fonticola* envers le stress arsénié ne se traduit que par la production d'EPS.

L'originalité des résultats obtenus ici est double : en effet, pour la première fois ce type de séquestration de l'arsenic dans les EPS est mis en évidence et c'est également, à notre connaissance, la première fois que ce type de réponse est observé pour un anion.

La nature anionique de l'arsenic est ici très importante car elle ne permet pas d'expliquer les processus de sorption sur les parois à l'origine de la germination des aiguilles. En effet, les charges négatives portées sur les parois cellulaires contribueraient à répulser un anion. Cependant la liaison avec un cation n'est pas forcément nécessaire dans le cas de l'arsenic pour créer un germe, en effet, il est possible que l'arsenic rentre naturellement en substitution avec le phosphore avant de germer. Arsenic et phosphore ont des caractéristiques très proches et sont aisément substituables l'un à l'autre, or les analyses montrent que les EPS sont également riches en phosphore. Ceci reste cependant une hypothèse et l'étude plus précise des points de germination pourrait permettre de le vérifier.

Dans notre cas, en l'absence d'expérience de spéciation, la caractérisation du composé cristallisé n'est pas certaine. En effet, M1 est un mutant ayant perdu la capacité à oxyder As[III], de ce fait, la cristallisation d'arsenic sur les parois de M1 montre que ce phénomène n'est vraisemblablement pas lié à la capacité à oxyder As[III] et, de toute évidence l'arsenic contenu dans les aiguilles liées à M1 doit se trouver sous la forme As[III]. Mais, en ce qui

concerne les trois autres cas de cristallisation d'arsenic, les organismes sont arsénite-oxydant et rien ne permet d'affirmer la forme de l'arsenic dans l'EPS. L'hypothèse proposée est que l'EPS produit par les bactéries arsénite-oxydantes joue le rôle de stock d'arsenic tels que proposé par Kaplan et al. (1987) concernant les polysaccharides de parois ("cell wall polysaccharides"). Ceci expliquerait la présence d'arsenic dans les EPS ainsi que la différence notée sur la figure 6.2 entre la quantité d'As[III] introduite et la quantité d'As[IV] récupérée après oxydation par *H. arsenicoxydans*. Cependant, l'absence de production d'EPS par M1 n'est pas clairement expliquée puisque cet organisme est sensé agir exactement de la même manière que *H. arsenicoxydans* hormis le processus d'oxydation. Un lien entre les processus d'oxydation et de production de biofilms est la seule possibilité.

Enfin, le comportement de *H. fonticola* face au stress arsénié montre la production d'EPS et les microanalyses EDX soulignent la présence d'arsenic dans les cellules. Il semble donc que ces organismes résistent à l'arsenic pour les concentrations utilisées dans cette expérience.

Les observations physiques et chimiques obtenues sur les bactéries du sol de Wintzenheim traité à l'arsenic ont montré des bactéries sans altérations physiques, parfois entourées d'EPS et contenant des quantités non négligeables d'arsenic (chapitre IV). Aucune de ces bactéries échantillonnées sur le terrain ne montre de cristallisations associées aux EPS des organismes. Par ailleurs seules des bactéries échantillonnées juste après le traitement montrent de telles concentrations et aucune particule de matière organique non vivante présentant des teneurs en arsenic élevées n'a été trouvée dans les échantillons du même mois ou des mois suivants. Il semble donc que les organismes échantillonnés présentant des teneurs en arsenic aient un comportement plus proche de *H. fonticola*. Ce sont des bactéries résistantes à l'arsenic mais ne l'utilisant pas pour leur métabolisme.

VI. Conclusions

Ainsi, les bactéries vivant dans les environnements arséniés présentent différents types de réponse au stress arsénié. Les bactéries échantillonnées dans la population de PFC du sol de

Wintzenheim apparaissent comme des organismes résistant à l'arsenic mais ne jouant, en aucun cas, un rôle sur une quelconque détoxification du milieu.

Cependant, l'étude de *H. arsenicoxydans* en présence de As[III] a mis en évidence des cristallisations d'arsenic sur les parois de l'organisme et les comparaisons avec d'autres espèces bactériennes telles que *H. aquatilis* et *A. calcoaceticus* soulignent le fait que son comportement n'est pas unique.

C'est la première fois qu'un tel comportement microbien face à un stress arsenié est observé. Si le phénomène de sorption puis cristallisation est connu concernant bon nombre de métaux, la nature anionique de l'arsenic ne permet pas d'expliquer sa sorption par un processus d'attraction électronique lié aux charges négatives de la paroi cellulaire.

La forme sous laquelle l'arsenic (As[III] ou As[V]) est présent dans ces aiguilles n'a pas pu être déterminée et les processus responsables restent hypothétiques ; néanmoins, le comportement de ces trois espèces de bactéries qui contribuent à immobiliser l'arsenic dans l'EPS et à le transformer en As[V], moins toxique, est de première importance dans le contexte de la bioremédiation des environnements contaminés, menant à la séquestration de l'élément toxique.

CONCLUSIONS

&

PERSPECTIVES

Conclusions

L'objectif de ce travail était de caractériser la nature et le rôle des particules fines et colloïdales (PFC) dans les milieux de subsurface, à travers l'étude de deux sites-atelier. Par ailleurs, le suivi dans le temps des PFC contenues à la fois dans les retombées atmosphériques et dans les eaux d'infiltration avait pour objectif de déterminer les facteurs contrôlant la distribution et l'évolution des PFC dans l'environnement. Afin d'atteindre ces deux objectifs, nous avons utilisé une démarche basée essentiellement sur des observations *in situ*. Cette démarche a consisté à prélever mensuellement, sur le terrain, les PFC contenues dans les retombées atmosphériques et dans les eaux d'infiltration d'un sol. L'étude en MET/EDX des PFC individuelles a permis de réaliser une caractérisation typologique et physico-chimiques et d'étudier leur abondance et leur réactivité face aux contaminants. Par ailleurs, la connaissance des paramètres environnementaux de chacun des sites et l'étude statistique détaillée de l'évolution de PFC a permis de proposer un modèle conceptuel de la l'évolution dynamique (distribution, réactivité) des PFC dans les environnements considérés. Les résultats originaux du travail sont présentés et discuté ci-dessous.

Mise en évidence des différents types de PFC.

Le travail de caractérisation physico-chimique et de suivi de 12 000 PFC atmosphériques collectées sur les deux sites et de 20 000 PFC des eaux d'infiltrations du sol d'un de ces sites a permis de mettre en évidence la nature des PFC présentes dans ces différents milieux.

Les résultats obtenus en microscopie montrent (chapitre IV) que la très grande majorité des particules ont un diamètre inférieur à 0,45 μm et ceci bien que le diamètre de la porosité de filtration soit de 5 μm . L'étude systématique au MET et à l'EDX des échantillons a, par ailleurs, permis de caractériser les particules présentes et de différencier plusieurs types récurrents. En effet, bien que les sites reflètent des contextes environnementaux distincts, les types de nanoparticules présentes sont globalement homogènes, aussi bien dans les eaux d'infiltration du sol que dans les retombées atmosphériques : les PFC sont, (i) minérales et

constituées par des argiles plus ou moins altérées, des oxy-hydroxydes et des sels (sulfures, chlorures) avec, selon les sites, la présence ponctuelle de carbonates et de tectosilicates, ou (ii) organiques et constituées par des bactéries ou de la matière organique non-vivante (exsudats de bactérie et matière organique dégradée), ou encore (iii) des associations mixtes de particules organiques et minérales formant des agrégats organo-minéraux.

Identification de l'origine, de l'abondance et de la réactivité des PFC.

Au-delà de l'étude typologique, la caractérisation des propriétés physico-chimiques des différents types de PFC a permis d'en identifier les sources, l'abondance et la réactivité. Le tableau C.1 ci-dessous résume ces caractéristiques pour chacun des types.

a	diamètre moyen	surface couverte			origine	Contaminants	
		% moyens	Max	Min		traces	quantités significatives
Argiles automorphes	264 nm	49	65	15	géogène	Pb, As, Zn	
Argiles altérées	105 nm	4	8	1	géogène	Zn, Pb	
Sels	452 nm	2	5	0	activités anthropiques	Zn	Pb
Oxy-hydroxydes	305 nm	1	3	0	géogène		Pb, Zn
Bactéries	1189 nm	12	33	2	ubiquistes		Pb
Composés organiques non-vivants	177 nm	6	18	1	microorganismes, végétaux	Pb, Zr, Cd, Zn	
Agrégats	1748 nm	19	42	2	formation in situ		Pb

b	diamètre moyen	surface couverte			origine	Contaminants	
		% moyens	Max	Min		traces	quantités significatives
Argiles automorphes	191 nm	33	51	12	géogène	Pb, As, Zn	
Argiles altérées	68 nm	3	4	1	géogène	Pb, Zn	
Sels	162 nm	18	30	6	activités anthropiques	Ni, Zn, As, Cd, Pb	
Oxy-hydroxydes	163 nm	1	1	0	géogène		Pb
Bactéries	818 nm	11	20	5	ubiquistes	As	Pb
Composés organiques non-vivants	115 nm	10	40	0	microorganismes, végétaux	Cd, Ni	
Agrégats	1410 nm	21	39	7	formation in situ		Pb

c	diamètre moyen	surface couverte			origine	Contaminants	
		% moyens	Max	Min		traces	quantités significatives
Argiles automorphes	357 nm	24	43	2	géogène	Pb, As, Zn	
Argiles altérées	84 nm	3	11	1	géogène	Zn, Cd, Ni, Pb	
Sels	76 nm	11	26	3	activités anthropiques	Zn, As	Pb
Oxy-hydroxydes	200 nm	7	18	1	géogène		Pb
Bactéries	1001 nm	7	18	0	ubiquistes		As, Pb
Composés organiques non-vivants	130 nm	9	16	4	microorganismes, végétaux	Ni, Zn, Cd	
Agrégats	2118 nm	18	32	7	formation in situ		Pb

Tableau C.1. Tableau récapitulatif des caractéristiques de tailles, d'abondance, d'origine et de réactivité des différents types de PFC pour a) les retombées atmosphériques à Breuil, b) les retombées atmosphériques à Wintzenheim et c) les eaux d'infiltrations à Wintzenheim.

- Les **particules argileuses automorphes** sont les plus fréquentes dans les trois environnements considérés, leur taille moyenne est toujours inférieure à 0,45 μm (450 nm) et leur origine est supposée géogène. En termes de transfert de contaminants, les argiles automorphes sont porteuses de traces de trois types de métaux dans tous les environnements: le plomb, l'arsenic et le zinc. Cependant, il a été montré que ces contaminants sont soit associés à de la matière organique (MO) couvrant les argiles (cas du plomb et de l'arsenic), soit présents dans le réseau cristallin lui-même. Les argiles automorphes sont donc des vecteurs de MO, elle-même vecteur de contaminants.

- Les **particules argileuses altérées** sont les plus petites particules présentes dans les retombées atmosphériques (en moyenne 100 nm de diamètre) et elles représentent une très faible part des PFC (en moyenne moins de 5%). Leur origine est géogène s'agissant d'argiles du sol altérées et elles contiennent des traces de zinc et plomb comme les argiles automorphes. Dans les eaux d'infiltration du sol, ce type de PFC est également de petite taille mais parfois plus abondant que dans les retombées atmosphériques, ce qui confirme l'origine géogène. Par ailleurs, les argiles altérées du sol sont porteuses de traces de métaux plus diversifiées que dans l'atmosphère.

- Les **sels** constituent un type de PFC très particulier et extrêmement variable dans les environnements étudiés. Ainsi, dans les retombées atmosphériques sous forêt ils sont de grande taille (en moyenne de diamètre supérieur à 0,45 μm) mais peu fréquents. Au contraire, dans un environnement anthropisé tel que le vignoble, les sels sont de petites tailles et fréquent. Ceci confirme l'origine anthropique de ces PFC et leur importance parce qu'ils sont des porteurs de contaminants, notamment du plomb et parce qu'ils interviennent dans les phénomènes de complexation en particulier dans le sol.

- Les **oxy-hydroxydes** sont parmi les PFC les moins fréquemment rencontrés. Généralement de petite taille, leur origine est difficilement déterminable mais la caractérisation chimique de ces constituants a montré de fortes concentrations en métaux, et particulièrement en plomb.

- Les **bactéries** sont un constituant majeur des populations de PFC. De grande taille, elles représentent fréquemment plus de 10% du pool particulaire dans chacun des environnements étudiés. Leur source est locale puisqu'elles se développent naturellement dans chacun des milieux. Cependant un apport atmosphérique de bactéries sur des distances moyennes ou longues distances, ce qui contribue aux apports de plomb dans le milieu

forestier. En effet, les bactéries sont des porteurs de plomb en quantités significatives dans tous les environnements. Dans le sol, les bactéries ont également été caractérisées comme des vecteurs d'arsenic, ceci directement après le traitement des vignes par de l'arséniate de sodium.

- Les **composés organiques non-vivants** sont des PFC de petites tailles présentes dans tous les environnements. Elles sont issues de la décomposition des végétaux et de la production des bactéries. Ces constituants sont toujours porteurs de traces de métaux et ils sont très sensibles aux modifications de l'environnement et particulièrement aux interventions anthropiques.

- Les **agrégats** sont parmi les particules les plus importantes en termes de surface couverte et de réactivité. Ce sont des particules micrométriques qui se forment dans le milieu par l'association de plusieurs types de PFC et notamment d'argiles, de bactéries et de composés organiques non-vivants. Ces particules sont très réactives par rapport aux métaux associés aux différents constituants les composant, ce sont ainsi des vecteurs très importants de la diffusion des contaminants dans l'environnement.

Identification des facteurs contrôlant la dynamique des PFC

L'étude de la distribution au cours du temps des PFC des retombées atmosphériques et la connaissance des facteurs environnementaux sur les deux sites étudiés a permis de mettre en évidence les facteurs clefs contrôlant la distribution des PFC. Ainsi, il apparaît, dans un premier temps, que l'intensité et la hauteur de pluie sont les facteurs principaux mis en jeu. Cependant, la localisation et le mode d'occupation des sols influent également en modifiant, en amont, les sources de PFC et en aval l'action de la pluie.

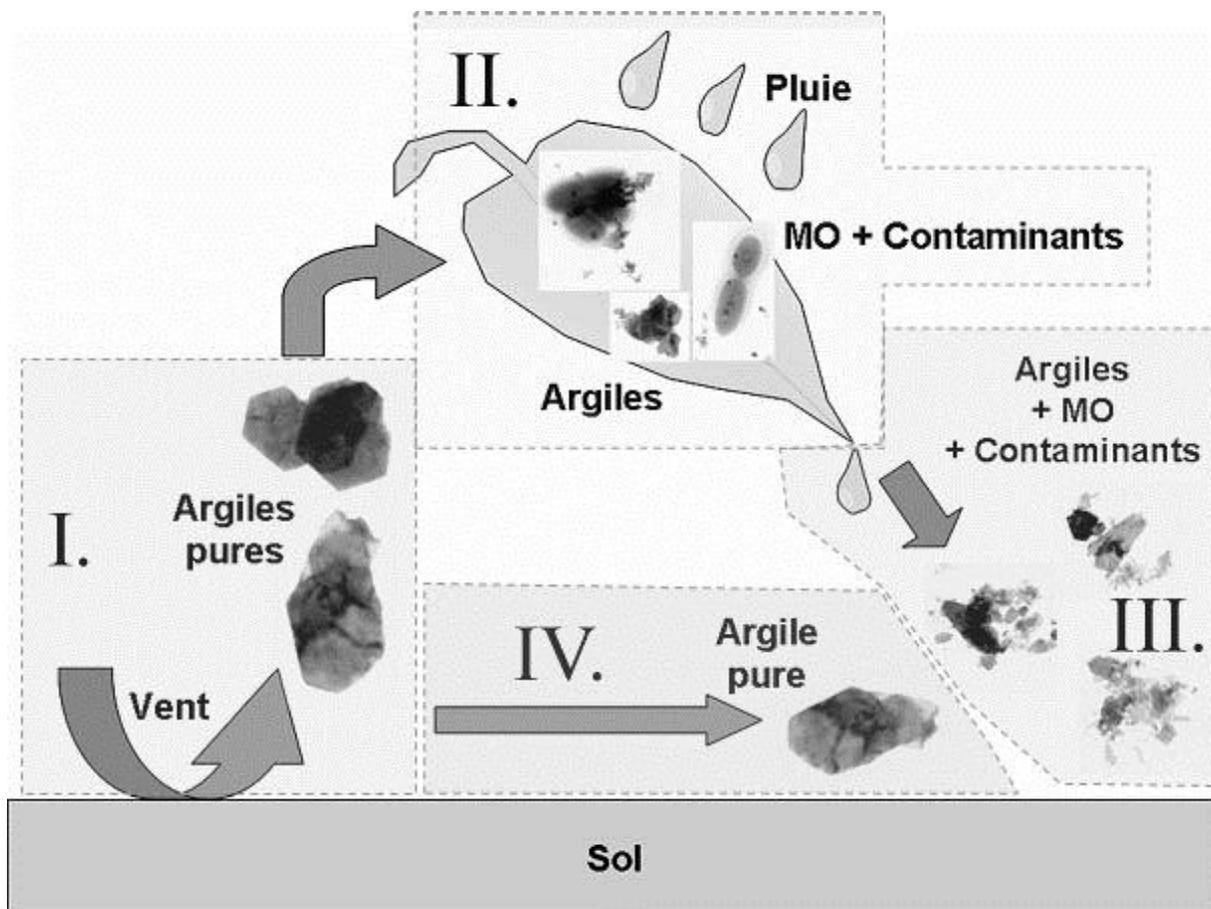
En effet, si l'étude de la dynamique des PFC des retombées atmosphériques sur les deux sites montre une influence très nette de la pluie (chapitre V), les deux sites montrent une réponse différente. Ceci est principalement lié au couvert végétal et donc au mode d'occupation :

- Dans un environnement forestier non anthropisé, les frondaisons agissent comme des écrans au vent et à la pluie et constituent de ce fait des sites privilégiés où les PFC sont modifiées physiquement et chimiquement avant leur arrivée à la surface du sol lors d'épisodes pluvieux (figure 5.5, page 177, résumé ci-dessous). L'absence de telles modifications en période hivernale (lorsque les arbres sont dépourvus de feuilles) corrobore cette hypothèse.

De plus les PFC organiques sont présentes en quantités importantes dans cet environnement forestier.

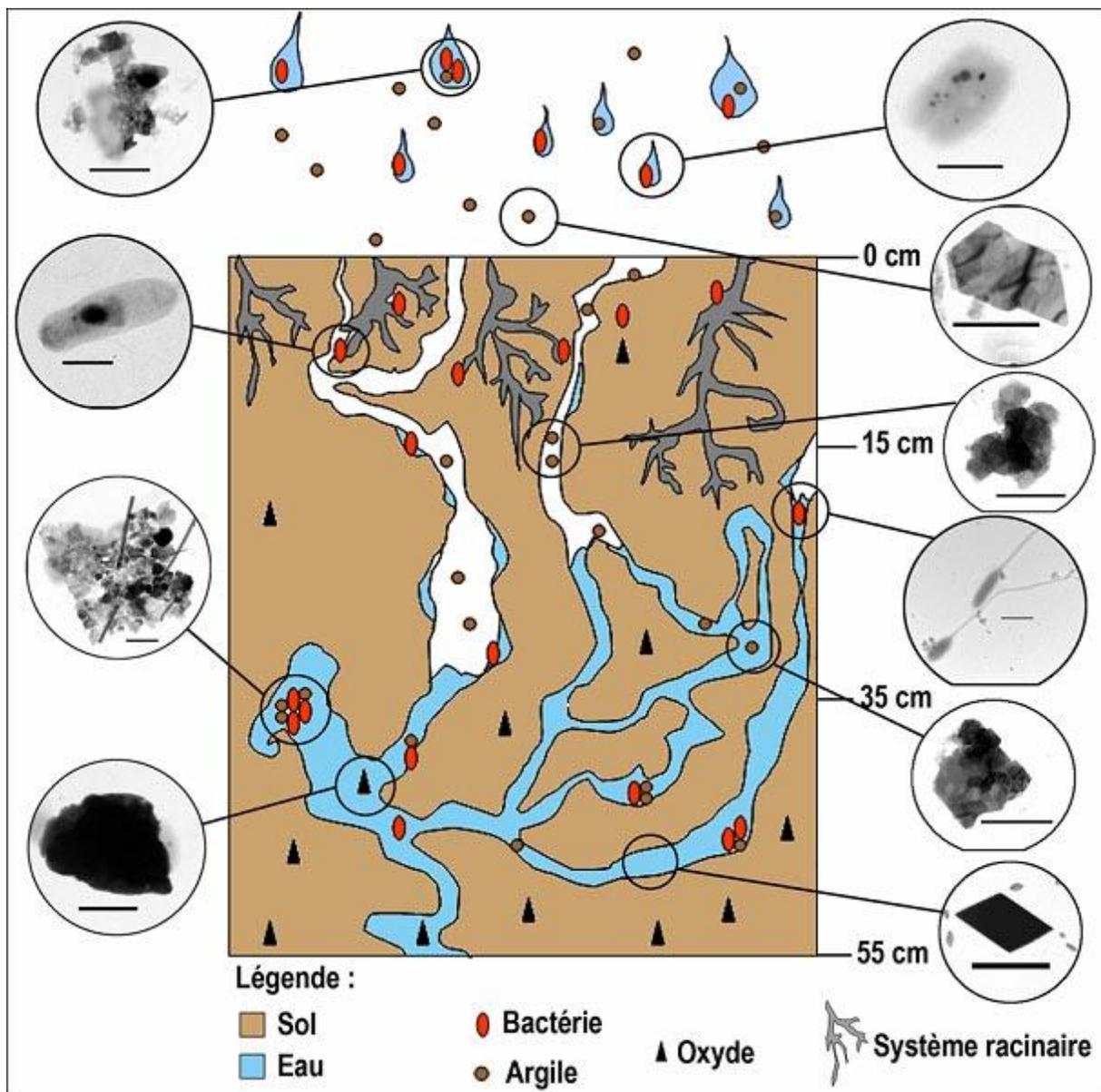
- Dans un environnement de plaine péri-urbain de vignoble et fortement anthropisé, l'absence de couvert végétal important se caractérise par une influence constante de la pluviométrie au cours du temps. Cependant, le caractère anthropisé du site modifie grandement les sources de PFC, avec notamment une évolution marquée de la distribution des PFC organiques lors des traitements de la vigne et de la distribution des PFC de type "sels" liée à la proximité d'industries et d'infrastructures routières.

En résumé, l'acteur majeur contrôlant les dépôts de PFC dans les deux environnements étudiés est la pluie, modifié par le mode d'occupation des sols et principalement la présence de couvert végétal.



Ce travail montre que le facteur clef contrôlant la dynamique des PFC des eaux d'infiltration du sol est la dynamique hydrique du sol. Ainsi, l'étude de la distribution des types de PFC en fonction de la profondeur a révélé l'importance de la profondeur dans les processus. Le schéma dynamique conceptuel proposé (figure 5.13, page 188, résumée ci-dessous) montre

ainsi que l'état de saturation influence de manière importante la nature et donc la réactivité des PFC avec la profondeur en favorisant les processus d'agrégation. Par ailleurs, le suivi dans le temps de la distribution des types aux différentes profondeurs échantillonnées corrobore cette observation par la mise en évidence de modifications de la distribution des PFC, là encore par des processus d'agrégation liés à la pluviosité et donc, indirectement, à l'état hydrique du sol.



En résumé, l'acteur majeur contrôlant les PFC dans les eaux d'infiltration du sol étudié est la dynamique hydrique des sols et donc les fluctuations de leur état de saturation en fonction de la profondeur considérée et de la pluviosité en surface.

En plus de ces résultats originaux apportant des informations nouvelles sur la compréhension de la nature et la dynamique des PFC dans l'environnement, trois points conceptuels mis en évidence dans ce travail méritent d'être soulignés.

Mise au point d'une méthodologie efficace

L'ensemble des résultats, depuis la caractérisation typologique jusqu'à l'identification des facteurs clefs contrôlant la dynamique des PFC dans l'environnement, permet de dire que la méthodologie d'échantillonnage utilisée ici est efficace et adaptée aux objectifs. En effet, il apparaît que le dispositif de captage permet d'échantillonner tous les types de PFC, qu'elles soient minérales, organiques ou organo-minérales. Ce point est essentiel, car il permet de conserver les propriétés physiques et chimiques de tous les constituants. Ce travail a donc pu traiter des interactions entre PFC organiques et PFC minérales telles qu'elles apparaissent dans le milieu naturel.

Mise en évidence d'un vecteur de contaminants essentiel et souvent négligé

La caractérisation précise des PFC organiques réalisée dans cette étude a permis de mettre en évidence un type de PFC très réactives et de première importance dans le transfert de contaminants : les bactéries. En effet, la présence systématique de bactéries présentant des granules internes très riches en plomb, quels que soient les environnements, est pour la première fois mise en évidence ici. Ainsi, comme il a été montré dans le chapitre I, les bactéries sont rarement considérées dans le milieu pédologique et, bien que leur importance soit toujours supposée, elles sont généralement négligées faute de données suffisantes sur leur comportement dans le milieu naturel. A la lumière des résultats obtenus ici, il est possible de dire que les bactéries sont les vecteurs principaux de plomb dans les environnements étudiés et ceci aussi bien sous forme d'individus isolés qu'en tant que constituants d'agrégats réactifs. De plus, les résultats montrent que, dans les conditions des sols et de l'atmosphère, le plomb est biodisponible. Cependant, il s'agit d'un élément fortement insoluble et aucune source précise n'a été identifiée dans ce travail.

Par ailleurs, les expérimentations en laboratoire réalisées sur certains types de bactéries mises en interaction avec un certain type de contaminants apportent la preuve que certains microorganismes ont un impact sur la mobilisation et l'immobilisation de l'arsenic dans l'environnement, ce qui constitue une avancée dans la compréhension des phénomènes de

transfert de contaminants par les microorganismes dans l'environnement et une base à l'élaboration de processus de remédiation.

Importance des mécanismes d'agrégation dans le transport des PFC.

Enfin, le troisième point conceptuel qui mérite d'être souligné ici concerne la mise en évidence de processus d'agrégation essentiels dans la dynamique du transport des PFC dans l'atmosphère et dans les sols. Ce phénomène est ici de première importance, mettant en relation les différents paramètres influençant les PFC organiques et minérales généralement étudiées séparément. Il semble nécessaire, à l'avenir, de tenir compte de ces mécanismes dans l'établissement de modèles de transfert des PFC.

En résumé, la grande diversité des types de PFC souligné dans le chapitre I (figure 1.1) à pu être étudiée ici. Il apparaît que ces particules ont des caractéristiques physico-chimiques très différentes les unes des autres. En effet, si leur taille est généralement inférieure à 0.45 μm , leur réactivité, leur abondance et leur origine sont autant de facteurs clés du transfert de contaminants dans l'environnement sujet à de fortes variations liées aux conditions environnementales.

Au regard des thèmes actuels de recherche et des défis encore nombreux dans ce domaine, ce travail apporte une méthodologie efficace permettant de caractériser tous les types de PFC naturels de très petite taille, aussi bien morphologiquement que chimiquement, et de mettre en évidence leurs réactivité, abondance et dynamique respectives de manière précise en tenant compte de paramètres environnementaux des milieux dans lesquelles elles évoluent. Toutes ces informations sont aujourd'hui encore parcellaires dans la littérature et la prise en compte des PFC de tous types d'un environnement apparaît, à la lumière des résultats et points conceptuels résumés ci-dessus, de première importance dans une problématique de transfert d'éléments chimiques dans l'environnement.

Perspectives

Les résultats énoncés ci-dessus, s'ils apportent des réponses aux problèmes du transport des PFC, permettent aussi d'ouvrir de nouvelles perspectives de recherches dans ce domaine.

Etudes in situ complémentaires

Les résultats de ce travail ont permis de mettre en évidence les types de particules et les facteurs contrôlant leur dynamique dans l'environnement naturel. Il apparaît utile de réaliser des études similaires complémentaires, en utilisant le même dispositif d'échantillonnage et la même méthodologie afin :

- de prolonger la période d'étude de manière à couvrir des variations des conditions climatiques à l'échelle annuelle ou pluri-annuelle ;
- de caractériser les types de PFC et les facteurs contrôlant leur dynamique dans d'autres types d'environnement. Sont pressentis en particulier des sites-atelier bien connus et notamment des sites agricoles recevant des amendements divers.

Expériences en conditions contrôlées

Bien que les études *in situ* soient de premier intérêt et incontournables pour caractériser les objets et les facteurs en conditions naturelles et dans toute leur complexité, elles constituent une première étape permettant de mettre en évidence les points importants. Nous avons déterminé quels sont les facteurs contrôlant la dynamique des PFC dans l'environnement naturel ; il appartient maintenant de faire varier ces facteurs afin de mieux comprendre les processus mis en jeu et de les quantifier dans une optique de modélisation. Pour ce faire, des études en conditions contrôlées sur colonnes non-remaniées paraissent les plus appropriées.

Plusieurs facteurs ont été identifiés, il s'agit donc d'étudier le comportement des PFC en faisant varier :

- l'intensité et les caractéristiques physico-chimiques de la pluie,
- la présence d'un couvert végétal, avec et sans apport de minéraux connus sur les feuilles (comme par exemple des kaolinites) et de microorganismes,
- l'état de saturation du sol et ses propriétés hydrodynamiques.

Identification des microorganismes

Les microorganismes ont une part très importante dans le pool particulaire et ils sont un des acteurs majeurs du transfert de contaminants dans ce travail. Il semble maintenant nécessaire de caractériser les espèces présentes afin de mieux appréhender leurs propriétés métaboliques et comprendre les processus qu'elles engendrent. Les nouvelles méthodes de type FISH (Eickhorst & Tippkötter) ou FAME (Caesar-TonThat et al., 2007) basées sur des analyses de séquence ADN par fluorescence ou séquençage de type 16S rDNA paraissent bien adaptées à une telle caractérisation. Ceci permettrait notamment de réaliser des études sur les interactions plomb-micro-organismes similaires à celles présentée dans le chapitre VI de ce travail.

Caractérisation des sources de plomb

Comme il a été souligné dans les conclusions ci-dessus, le contaminant principal détecté dans les environnements étudiés est le plomb. De plus, le principal vecteur de cet élément est de nature biologique : il s'agit des bactéries. Ce plomb, essentiellement biodisponible, n'a pas été caractérisé jusqu'ici et il semble donc absolument nécessaire de tracer ces sources potentielles. Pour cela, nous suggérons de réaliser une étude de traçage isotopique du plomb dans les eaux de pluie, dans la solution de sol et sur les PFC (notamment les microorganismes) des retombées atmosphériques et des eaux d'infiltration ainsi que dans les profils de sol. Les méthodologies d'extraction des granules polyphosphatées décrites dans la littérature (Dodge & Wackett, 2005; Eixler et al., 2005) semblent présenter un outil efficace dans la caractérisation du plomb des granules observées très fréquemment dans ce travail.

Investigation des mécanismes de micro-agrégation

Enfin, l'une des autres perspectives intéressante ouverte par les résultats de ce travail porte sur l'étude des processus d'agrégation des PFC. Nous proposons d'étudier physiquement et chimiquement les mécanismes de micro-agrégation des nanoparticules entre elles dans des expérimentations *in vitro*. En faisant varier des facteurs tels que la force ionique ou le pH des solutions, nous proposons l'étude en microscopie (MET, ESEM, AFM) et granulométrie laser de la micro agrégation de bactéries et argiles entre elles, avec ou sans contaminants associés.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- Akai J., Izumi K., Fukuhara H., Masuda H., Nakano S., Yoshimura T., Ohfuji H., Anawar H. M. and Akai K.** (2004). "Mineralogical and geomicrobiological investigations on groundwater arsenic enrichment in Bangladesh." *Applied Geochemistry* **19**: 215-230.
- Anderson G. L., Williams J. and Hille R.** (1992). "The purification and characterization of arsenite oxidase from *Alcaligenes faecalis*, a molybdenum-containing hydroxylase." *Journal of Biological Chemistry* **267**(33): 23674-23682.
- Atteia O. and Kozel R.** (1997). "Particle size distributions in waters from a karstic aquifer : from particles to colloids." *Journal of Hydrology* **201**: 102-119.
- Auboiroux M., Baillif P., Touray J. C. and Bergaya F.** (1996). "Fixation of Zn²⁺ and Pb²⁺ by a Ca-montmorillonite in brines and dilute solutions: Preliminary results." *Applied Clay Science* **11**(2-4): 117-126.
- Aurousseau P.** (1976). Morphologie et genèse des sols sur granite du morvan. *INRA. PhD*: 210.
- Azadpour-Keeley A., Faulkner B. R. and Chen J.-S.** (2003) "Movement and longevity of viruses in the subsurface". *Ground Water Issues*, 24 pp.
- Backhus D. A., Ryan J. N., Groher D. M., MacFarlane J. K. and Gschwend P. M.** (1993). "Sampling Colloids and Colloid-Associated Contaminants in Ground Water." *Ground Water* **31**(3): 466-479.
- Backstrom M., Karlsson S., Backman L., Folkesson L. and Lind B.** (2004). "Mobilisation of heavy metals by deicing salts in a roadside environment." *Water Research* **38**(3): 720-732.
- Baltensperger U., Kalberer M., Dommen J., Paulsen D., Alfarra M. R., Coe H., Fisseha R., Gascho A., Gysel M., Nyeki S., Sax M., Steinbacher M., Prevot A. S. H., Sjögren S., Weingartner E. and Zenobi R.** (2005). "Secondary organic aerosols from anthropogenic and biogenic precursors." *Faraday Discussions* **130**: 265-278.
- Beveridge T. J.** (1989). Metal ions and bacteria. *Metal ions and bacteria*. RJ Doyle TJ Beveridge. New York, Wiley: 1-29.
- Beveridge T. J.** (2005). "Bacterial cell wall structure and implications for interactions with metal ions and minerals." *Journal of Nuclear and Radiochemical Sciences* **6**(1): 7-10.
- Bhumbla D. K. and Keefer R. F.** (1994). Arsenic mobilization, bioavailability in soils. *Arsenic in the environment, Part I: Cycling, characterization*. J. O. Nriagu, John Wiley & Sons: 51-82.
- Blo G., Contado C., Grandi D., Fagioli F. and Dondi F.** (2002). "Dimensional and elemental characterization of suspended particulate matter in natural waters: quantitative aspects in the integrated ultrafiltration, split-flow thin cell and inductively coupled plasma-atomic emission spectrometry approach." *Analytica Chimica Acta* **470**(2): 253-262.
- Boerner R. E. J.** (1982). "An inexpensive, tension-free lysimeter for use in sandy soils." *Bulletin of the Torrey Botanical Club* **109**(1): 80-83.
- Boll J., Steenhuis T. S. and Selker J. S.** (1992). "Fiberglass wicks for sampling of water and solutes in the vadose zone." *Soil Science Society of America Journal* **65**: 1571-1572.
- Bronick C. J. and Lal R.** (2005). "Soil structure and management: a review." *Geoderma* **124**(1-2): 3-22.
- Brown K. W., Thomas J. C. and Holder M. W.** (1986). Development of a capillary wick unsaturated zone pore water sampler. *USEPA Tech. Rep.* USEPA Environ. Monit. Syst. Lab. Las Vegas.
- Buddemeier R. W. and Hunt J. R.** (1988). "Transport of colloidal contaminants in groundwater: radionuclide migration at the Nevada test site." *Applied Geochemistry* **3**(5): 535-548.
- Buffle J. and Van Leeuwen H. P.** (1992). *Environmental particles*. London, Lewis Pub, 554 pp.
- Buseck P. R. and Posfai M.** (1999). "Airborne minerals and related aerosol particles: Effects on climate and the environment." *PNAS* **96**(7): 3372-3379.
- Butler J. R.** (1953). "The geochemistry and mineralogy of Rock weathering (I). The Lizard area, Cornwall." *Geochimica et Cosmochimica Acta* **4**: 157-178.
- Caesar-TonThat T. C., Caesar A. J., Gaskin J. F., Sainju U. M. and Busscher W. J.** (2007). "Taxonomic diversity of predominant culturable bacteria associated with microaggregates from two different agroecosystems and their ability to aggregate soil in vitro." *Applied Soil Ecology* **36**(1): 10-21.

- Cerda C. M.** (1987). "Mobilization of kaolinite fines in porous media." Colloids and Surfaces **27**(1-3): 219-241.
- Champ D. R., Young J. L., Robertson D. E. and Abel K. H.** (1984). "Chemical speciation of long-lived radionuclides in a shallow groundwater flow system." Water Pollution Research Journal of Canada **19**(35-54).
- Chen Y.-W. and Buffle J.** (1996a). "Physicochemical and microbial preservation of colloid characteristics of natural water samples. I: Experimental conditions." Water Research **30**(9): 2178-2184.
- Chen Y.-W. and Buffle J.** (1996b). "Physicochemical and microbial preservation of colloid characteristics of natural water samples. II: Physicochemical and microbial evolution." Water Research **30**(9): 2185-2192.
- Choi H. and Corapcioglu M. Y.** (1997). "Transport of a non-volatile contaminant in unsaturated porous media in the presence of colloids." Journal of Contaminant Hydrology **25**(3-4): 299-324.
- Chu Y., Jin Y., Flury M. and Yates M. V.** (2001). "Mechanisms of virus removal during transport in unsaturated porous media." Water Resources Research **37**(2): 243-263.
- Chu Y., Jin Y., Baumann T. and Yates M. V.** (2003). "Effect of soil properties on saturated and unsaturated virus transport through columns." Journal of Environmental Quality **32**: 2017-2025.
- Citeau L., Lamy I., Van Oort F. and Elsass F.** (2001). "Nature des sols et nature des colloïdes circulant dans les eaux gravitaires : une étude in situ. ." Comptes Rendus de l'Academie des Sciences. Paris, Earth & Planetary Science Letter **332**: 657-663.
- Citeau L., Lamy I., Van Oort F. and Elsass F.** (2003). "Colloidal facilitated transfer of metals in soils under different land use." Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects **217**: 11-19.
- Citeau L.** (2004). Etude des colloïdes naturels présent dans les eaux gravitaires de sols contaminés : relation entre nature des colloïdes et réactivité vis-à-vis des métaux (Zn, Cd, Pb, Cu). Paris, INA-PG. **PhD Thesis**: 251.
- Citeau L., Gaboriaud F., Elsass F., Thomas F. and Lamy I.** (2006). "Investigation of physico-chemical features of soil colloidal suspensions." Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects **287**: 94-105.
- Cole D. W.** (1958). "Alundum tension lysimeter." Soil Science **85**: 293-296.
- Cole D. W., Gessel S. P. and Held E. E.** (1961). "Tension lysimeter studies of ion and moisture movement in glacial till and coral atoll soils." Soil Science Society Proceedings: 321-324.
- Coles D. G. and Ramspott L. D.** (1982). "Migration of Ruthenium-106 in a Nevada test site aquifer: discrepancy between field and laboratory results." Science **215**: 1235-1237.
- Colman E. A.** (1946). "A laboratory study of lysimeter drainage under controlled soil moisture tension." Soil Science **62**: 365-382.
- Compère F., Porel G. and Delay F.** (2001). "Transport and retention of clay particles in saturated porous media. Influence of ionic strength and pore velocity." Journal of Contaminant Hydrology **49**: 1-21.
- Corwin D. L., David A. and Goldberg S.** (1999). "Mobility of arsenic in soil from the Rocky Mountain Arsenal area." Journal of Contaminant Hydrology **39**(1-2): 35-58.
- Corwin D. L.** (2000). "Evaluation of a simple lysimeter-design modification to minimize sidewall flow." Journal of Contaminant Hydrology **42**(1): 35-49.
- Crist J. T., McCarthy J. F., Zevi Y., Baveye P., Throop J. A. and Steenhuis T. S.** (2004). "Pore-Scale Visualization of Colloid Transport and Retention in Partly Saturated Porous Media." Vadose Zone Journal **3**(2): 444-450.
- Crossan A. N., Lee N., Sharma R., Kennedy I. R. and Beckett R.** (2002). "Assessment of the distribution of pesticides on soil particle fractions in simulated irrigation run-off using centrifugal SPLITT fractionation and ELISA." Analytica Chimica Acta **468**: 199-208.
- Czigany S., Flury M., Harsh J. B., Williams B. C. and Shira J. M.** (2005). "Suitability of Fiberglass Wicks to Sample Colloids from Vadose Zone Pore Water." Vadose Zone Journal **4**(1): 175-183.
- Davis A., Ruby M. V. and Bergstrom P. D.** (1992). "Bioavailability of arsenic and lead in soils from the Butte, Montana, mining district." Environmental Science and Technology **26**(3): 461-468.

- Davis A., Ruby M. V., Bloom M., Schoof R., Freeman G. and Bergstrom P. D.** (1996). "Mineralogic Constraints on the Bioavailability of Arsenic in Smelter-Impacted Soils." Environmental Science and Technology **30**(2): 392-399.
- Davis B. E. and Davis R. J.** (1963). "A simple centrifugation method for obtaining small samples of soil solution." Nature **198**: 216-217.
- DeBorde D. C., Woessner W. W., Lauerman B. and Ball P. N.** (1998). "Virus Occurrence and Transport in a School Septic System and Unconfined Aquifer." Ground Water **36**(5): 825-834.
- Degeldre C., Baeyens B., Goerlich W., Riga J., Verbist J. and Stadelmann P.** (1989). "Colloids in water from a subsurface fracture in granitic rock, Grimsel Test Site, Switzerland." Geochimica et Cosmochimica Acta **53**(3): 603-610.
- DeJonge H., Jacobsen O. H., DeJonge L. W. and Moldrup P.** (1998). "Particle-facilitated transport of Prochloraz in undisturbed soil columns." Journal of Environmental Quality **27**(6): 1495-1503.
- DeJonge L. W., Kjaergaard C. and Moldrup P.** (2004). "Colloids and colloid-facilitated transport of contaminants in soil: An Introduction." Vadose Zone Journal **3**: 221-325.
- DeLaHire P.** (1703). "Sur l'origine des rivières." Histoire de l'Académie Royale des Sciences **1**: 1-6.
- Denaix L., Semlali R. M. and Douay F.** (2001). "Dissolved and colloidal transport of Cd, Pb, and Zn in a silt loam soil affected by atmospheric industrial deposition." Environmental Pollution **114**(1): 29-38.
- DeNovio N. M., Saiers J. E. and Ryan J. N.** (2004). "Colloid Movement in Unsaturated Porous Media: Recent Advances and Future Directions." Vadose Zone Journal **3**(2): 338-351.
- Desboeufs K. V., Losno R. and Colin J. L.** (2001). "Factors influencing aerosol solubility during cloud processes." Atmospheric Environment **35**(20): 3529-3537.
- Dodge A. G. and Wackett L. P.** (2005). "Metabolism of Bismuth Subsalicylate and Intracellular Accumulation of Bismuth by *Fusarium* sp. Strain BI." Appl. Environ. Microbiol. **71**(2): 876-882.
- Domange N., Gregoire C., Gouy V. and Tremolieres M.** (2004). "Effet du vieillissement des ceramiques poreuses sur leur capacite a evaluer la concentration de pesticide en solution Effect of ceramic cups ageing on the capacity to assess pesticide concentration." Comptes Rendus Geosciences **336**(1): 49-58.
- Dong H.** (2002). "Significance of electrophoretic mobility distribution to bacterial transport in granular porous media." Journal of Microbiological Methods **51**(1): 83-93.
- Duce R. A.** (1995). Sources, distributions, and fluxes of mineral aerosols and their relationship to climate. Aerosol forcing of climate. R. J. Charlson and J. Heintzenberg. New York, Wiley: 43-72.
- Ehrlich H. L.** (1999). "Microbes as Geologic Agents: Their Role in Mineral Formation." Geomicrobiology Journal **16**(2): 135 - 153.
- Eickhorst T. and Tippkotter R.** "Detection of microorganisms in undisturbed soil by combining fluorescence in situ hybridization (FISH) and micropedological methods." Soil Biology and Biochemistry **In Press, Uncorrected Proof**.
- Eixler S., Selig U. and Karsten U.** (2005). "Extraction and detection methods for polyphosphate storage in autotrophic planktonic organisms." Hydrobiologia **533**(1-3): 135-143.
- Elimelech M. and O'Melia C. R.** (1990). "Kinetics of Deposition of Colloidal Particles in Porous Media." Environmental Science & Technology **24**: 1528-1536.
- Elsass F.** (2006). Transmission Electron Microscopy. Handbook of Clay Science. F. Bergaya B. K. G. Theng and G. Lagaly, Elsevier Ltd: 939-963.
- Emerson D. and Moyer C.** (1997). "Isolation and characterization of novel iron-oxidizing bacteria that grow at circumneutral pH." Applied and Environmental Microbiology **63**(12): 4784-4792.
- EPA U. S.** (2004) "Air Quality Criteria for Particulate Matter". U.S. Environmental Protection Agency, 900 pp.
- Eyrolle F., Charmasson S. and Louvat D.** (2004). "Plutonium isotopes in the lower reaches of the River Rhone over the period 1945-2000: fluxes towards the Mediterranean Sea and sedimentary inventories." Journal of Environmental Radioactivity **74**(1-3): 127-138.
- Faegri A., Torsvik V. and Goksoyr J.** (1977). "Bacterial and fungal activities in soil: Separation of bacteria and fungi by a rapid fractionated centrifugation technique." Soil Biology and Biochemistry **9**(2): 105-112.
- Faivre R. and Weiss R.** (1963). Plombates alcalino-terreux. Nouveau Traité de Chimie Minérale. P. Pascal, Masson. **VIII**: 627-631.

- Fernandes C., Rainey F. A., Fernanda Nobre M., Pinhal I., Folhas F. and da Costa M. S.** (2005). "Herminiimonas fonticola gen. nov., sp. nov., a Betaproteobacterium isolated from a source of bottled mineral water." *Systematic and Applied Microbiology* **28**(7): 596-603.
- Fontes D. E., Mills A. L., Hornberger G. M. and Herman J. S.** (1991). "Physical and chemical factors influencing transport of microorganisms through porous media." *Applied and Environmental Microbiology* **57**(9): 2473-2481.
- Ford R. M. and Harvey R. W.** (2007). "Role of chemotaxis in the transport of bacteria through saturated porous media." *Advances in Water Resources* **30**(6-7): 1608-1617.
- Foster A. L., Brown Jr. G. E., Tingle T. N. and Parks G. A.** (1998). "Quantitative arsenic speciation in mine tailings using X-ray absorption spectroscopy." *American Mineralogist* **83**(5-6): 553-568.
- Gamerding A. P. and Kaplan D. I.** (2001). "Physical and Chemical Determinants of Colloid Transport and Deposition in Water-Unsaturated Sand and Yucca Mountain Tuff Material." *Environmental Science & Technology* **35**(12): 2497-2504.
- Gargiulo G., Bradford S., Simunek J., Ustohal P., Vereecken H. and Klumpp E.** (2007). "Bacteria transport and deposition under unsaturated conditions: The role of the matrix grain size and the bacteria surface protein." *Journal of Contaminant Hydrology* **92**(3-4): 255-273.
- Gerba C. P., Wallis C. and Melnick J. L.** (1975). "Fate of wastewater bacteria and viruses in soil." *Journal of the Irrigation and Drainage Division, ASCE* **101**(IR3): 157-174.
- Giesler R., Lundstrom U. S. and Grip H.** (1996). "Comparison of soil solution chemistry assessment using zero-tension lysimeters or centrifugation." *European Journal of Soil Science* **47**(3): 395-405.
- Gilbertson A. W., Fitch M. W., Burken J. G. and Wood T. K.** (2007). "Transport and survival of GFP-tagged root-colonizing microbes: Implications for rhizodegradation." *European Journal of Soil Biology* **43**(4): 224-232.
- Ginn T. R., Wood B. D., Nelson K. E., Scheibe T. D., Murphy E. M. and Clement T. P.** (2002). "Processes in microbial transport in the natural subsurface." *Advances in Water Resources* **25**(8-12): 1017-1042.
- Gounaris V., Anderson P. R. and Holsen T. M.** (1993). "Characteristics and environmental significance of colloids in landfill leachate." *Environmental Science & Technology* **27**(7): 1381-1387.
- Govindaraju R. S., Reddi L. N. and Kasavaraju S. K.** (1995). "A physically based model for mobilization of kaolinite particles under hydraulic gradients." *Journal of Hydrology* **172**: 331-350.
- Grolimund D., Elimelech M. and Borkovec M.** (2001). "Aggregation and deposition kinetics of mobile colloidal particles in natural porous media." *Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects* **191**: 179-188.
- Grout H., Tarquis A. M. and Wiesner M. R.** (1998). "Multifractal Analysis of Particle Size Distributions in Soil." *Environmental Science & Technology* **32**(9): 1176-1182.
- Gueguen C. and Dominik J.** (2003). "Partitioning of trace metals between particulate, colloidal and truly dissolved fractions in a polluted river: the Upper Vistula River (Poland)." *Applied Geochemistry* **18**(3): 457-470.
- Haines B. L., Waide J. B. and Todd R. L.** (1982). "Soil solution nutrient concentrations sampled with tension and zero-tension lysimeters: report of discrepancies." *Soil Science Society of America Journal* **46**(3): 658-661.
- Harper G. B. and Haswell S. J.** (1988). "A comparison of copper, lead and arsenic extraction from polluted and unpolluted soils." *Environmental Technology Letters* **9**: 1271-1280.
- Harter T., Wagner S. and Atwill E. R.** (2000). "Colloid Transport and Filtration of *Cryptosporidium parvum* in Sandy Soils and Aquifer Sediments." *Environmental Science & Technology* **34**(1): 62-70.
- Harvey R. W., George L. H., Smith R. L. and LeBlanc D. R.** (1989). "Transport of microspheres and indigenous bacteria through a sandy aquifer: results of natural- and forced-gradient tracer experiments." *Environmental Science & Technology* **23**(1): 51-56.
- Harvey R. W., Kinner N. E., MacDonald D., Metge D. W. and Bunn A.** (1993). "Role of physical heterogeneity in the interpretation of small-scale laboratory and field observations of bacteria, microbial-sized microsphere, and bromide transport through aquifer sediments." *Water Resources Research* **29**(8): 2713-2722.
- Harvey R. W.** (1997). "Microorganisms as tracers in groundwater injection and recovery experiments: a review." *FEMS Microbiology Reviews* **20**(3-4): 461-472.

- Heise S. and Gust G.** (1999). "The influence of physiological status of bacteria on their transport into permeable sediments." *Marine Ecology Progress Series* **190**(141-153).
- Helios Rybicka E., Calmano W. and Breeger A.** (1995). "Heavy metals sorption/desorption on competing clay minerals; an experimental study." *Applied Clay Science* **9**(5): 369-381.
- Hens M. and Merckx R.** (2001). "Functional Characterization of Colloidal Phosphorus Species in the Soil Solution of Sandy Soils." *Environmental Science & Technology* **35**(3): 493-500.
- Hiemenz P. C. and Rajagopalan R.** (1997). *Principles of Colloid and Surface Chemistry.*, CRC Press, 650 pp.
- Hochella M. F., Jr. and Madden A. S.** (2005). "Earth's nano-compartment for toxic metals." *Elements* **1**(4): 199-203.
- Holmes C. W. and Miller R.** (2004). "Atmospherically transported elements and deposition in the Southeastern United States: local or transoceanic?" *Applied Geochemistry* **19**: 1189-1200.
- Honeyman B. D.** (1999). "Colloidal culprits in contamination." *Nature* **397**: 23-24.
- Hornberger G. M., Mills A. L. and Herman J. S.** (1992). "Bacterial transport in porous media: Evaluation of a model using laboratory observations." *Water Resources Research* **28**(3): 915-923.
- Huang P.-M., Wang M.-K. and Chiu C.-Y.** (2005). "Soil mineral-organic matter-microbe interactions: Impacts on biogeochemical processes and biodiversity in soils." *Pedobiologia* **49**(6): 609-635.
- Hubbard S. S., Chen J., Peterson J., Majer E. L., Williams K. H., Swift D. J., Mailloux B. and Rubin Y.** (2001). "Hydrogeological characterization of the South Oyster Bacterial Transport Site using geophysical data." *Water Resources Research* **37**(10): 2431-2456.
- Huber K.** (1999). *Forme des métaux dans les eaux de sites pollués sous différents modes d'occupation des sols (friche industrielle, périmètre agricole et écosystème forestier).* INRA de Versailles. **Rapport de post-doctorat: 72.**
- Itami K. and Fujitani H.** (2005). "Charge characteristics and related dispersion/flocculation behavior of soil colloids as the cause of turbidity." *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **265**(1-3): 55-63.
- Jacobsen O. H., Moldrup P., Larsen C., Konnerup L. and Petersen L. W.** (1997). "Particle transport in macropores of undisturbed soil columns." *Journal of Hydrology* **196**: 185-203.
- Jacotot B. and Le Parco J.-C.** (1999). *Nutrition et alimentation.* Paris, Masson, 311 pp.
- Jain C. K. and Ali I.** (2000). "Arsenic: occurrence, toxicity and speciation techniques." *Water Research* **34**(17): 4304-4312.
- Jenny H. and Smith G. D.** (1935). "Colloid transport aspects of clay pan formation in soil profiles." *Soil Science* **39**: 377-379.
- Jewett D. G., Logan B. E., Arnold R. G. and Bales R. C.** (1999). "Transport of *Pseudomonas fluorescens* strain P17 through quartz sand columns as a function of water content. ." *Journal of Contaminant Hydrology* **36**(1-2): 73-89.
- Jin Y., Chu Y. and Li Y.** (2000). "Virus removal and transport in saturated and unsaturated sand columns. ." *Journal of Contaminant Hydrology* **43**(2): 111-128.
- Joffe J. S.** (1932). "Lysimeter studies: I. Moisture percolation through the soil profile." *Soil Science* **34**: 123-142.
- Johnson W. P., Blue K. A., Logan B. E. and Arnold R. G.** (1995). "Modelling bacterial detachment during transport through porous media as a residence-time-dependent process." *Water Resources Research* **31**(11): 2649-2658.
- Juillot F., Ildefonse P., Morin G., Calas G., Kersabiec A. M. d. and Benedetti M.** (1999). "Remobilization of arsenic from buried wastes at an industrial site: mineralogical and geochemical control." *Applied Geochemistry* **14**(8): 1031-1048.
- Kampfer P., Busse H.-J. and Falsen E.** (2006). "Herminiimonas aquatilis sp. nov., a new species from drinking water." *Systematic and Applied Microbiology* **29**(4): 287-291.
- Kaplan D., Christiaen D. and Arad S.** (1987). "Chelating Properties of Extracellular Polysaccharides from *Chlorella* spp." *Applied and Environmental Microbiology* **53**(12): 2953-2956.
- Kaplan D. I., Bertsch P. M., Adriano D. C. and Miller W. P.** (1993). "Soil-borne mobile colloids as influenced by water flow and organic carbon." *Environmental Science & Technology* **27**(6): 1193-1200.

- Keeney D.** (1986). "Sources of nitrate to groundwater." Critical Reviews in Environmental Control **16**: 257-304.
- Kersting A. B., Efurud D. W., Finnegan D. L., Rokop D. J., Smith D. K. and Thompson J. L.** (1999). "Migration of plutonium in ground water at the Nevada Test Site." Nature **397**(6714): 56-59.
- Khilar K. C. and Fogler H. S.** (1984). "The existence of a critical salt concentration for particle release." Journal of Colloid and Interface Science **101**(1): 214-224.
- Kia S. F., Fogler H. S. and Reed M. G.** (1987). "Effect of pH on colloiddally induced fines migration." Journal of Colloid and Interface Science **118**(1): 158-168.
- Kinoshita T., Bales R. C., Yahya M. T. and Gerba C. P.** (1993). "Bacteria transport in a porous medium: Retention of bacillus and pseudomonas on silica surfaces." Water Research **27**(8): 1295-1301.
- Kjaergaard C., DeJonge L. W., Moldrup P. and Schjonning P.** (2004). "Water-Dispersible Colloids: Effects of Measurement Method, Clay Content, Initial Soil Matric Potential, and Wetting Rate." Vadose Zone Journal **3**(2): 403-412.
- Kohnke H., Dreibelbis F. R. and Davidson J. M.** (1940) "A survey and discussion of lysimeters and a bibliography on their construction and performance." Miscellaneous Publication (United States, Department of Agriculture) S72., pp.
- Köster H. M.** (1955). "Beitrag zur Kenntnis indisler laterite Heidelberger." Beiträge zur Mineralogische und Petrographische **5**: 23-64.
- Kretzschmar R., Borkovec M., Grolimund D. and Elimelech M.** (1999). "Mobile subsurface colloids and their role in contaminant transport." Advances in Agronomy **66**(121-193).
- Kretzschmar R. and Schäfer T.** (2005). "Metal retention and transport on colloidal particles in the environment." Elements **1**(4): 205-210.
- Laegdsmand M., Moldrup P. and de Jonge L. W.** (2007). "Modelling of colloid leaching from unsaturated, aggregated soil." European Journal of Soil Science **58**(3): 692-703.
- Lance J. C. and Gerba C. P.** (1984). "Virus movement in soil during saturated and unsaturated flow." Applied and Environmental Microbiology **47**(2): 335-337.
- Landon M. K., Delin G. N., Komor S. C. and Regan C. P.** (1999). "Comparison of the stable-isotopic composition of soil water collected from suction lysimeters, wick samplers, and cores in a sandy unsaturated zone." Journal of Hydrology **224**(1-2): 45-54.
- Laperche V., Bodéan F., Dictor M. C. and Baranger P.** (2003) "Guide méthodologique de l'arsenic appliqué à la gestion des sites et sols pollués". BRGM, 91 pp.
- Lead J. R. and Wilkinson K. J.** (2006a). "Aquatic Colloids and Nanoparticles: Current Knowledge and Future Trends." Environmental Chemistry **3**(3): 159-171.
- Lead J. R. and Wilkinson K. J.** (2006b). Environmental colloids and particles: behaviour, structure and characterisation. Chichester, John Wiley and Sons, pp.
- Lenhart J. J. and Saiers J. E.** (2002). "Transport of Silica Colloids through Unsaturated Porous Media: Experimental Results and Model Comparisons." Environmental Science & Technology **36**(4): 769-777.
- Liang L., McCarthy J. F., Jolley L. W., McNabb J. A. and Mehlhorn T. L.** (1993). "Iron dynamics: Transformation of Fe(II)/Fe(III) during injection of natural organic matter in a sandy aquifer." Geochimica et Cosmochimica Acta **57**(9): 1987-1999.
- Lin Z. and Puls R. W.** (2000). "Adsorption, desorption and oxidation of arsenic affected by clay minerals and aging process." Environmental Geology **39**(7): 753-759.
- Loebenstein J. R.** (1994) "The materials flow of arsenic in the United States". United States Bureau of Mines, U. S. Departement of Interior, 12 pp.
- Louie M. J., Shelby P. M., Smesrud J. S., Gatchell L. O. and Selker J. S.** (2000). "Field evaluation of passive capillary samplers for estimating groundwater recharge." Water Resources Research **36**(9): 2407-2416.
- Lyklema J.** (1991). Fundamentals of Interface and Colloid Science., Elsevier, 736 pp.
- Macaskie L. E., Empson R. M., Cheetham A. K., Grey C. P. and Skarnulis A. J.** (1992). "Uranium bioaccumulation by a Citrobacter sp. as a result of enzymically mediated growth of polycrystalline H₂UO₂PO₄." Science **257**(5071): 782-784.
- Mackinnon I. D. R. and Kaser S. A.** (1987). "Microanalysis of clays at low temperature." Microbeam Analysis **22**: 332-334.

- MacLean L. C. W., Martinez R. E. and Fowle D. A.** (2004). "Experimental studies of bacteria-iodide adsorption interactions." Chemical Geology **212**(3-4): 229-238.
- Madigan M. T., Martinko J. M. and Parker J.** (2003). Brock biology of microorganisms.10th ed. Upper Saddle River, Pearson Prentice Hall., 1019 p. pp.
- Majzik A. and Tombacz E.** (2007). "Interaction between humic acid and montmorillonite in the presence of calcium ions I. Interfacial and aqueous phase equilibria: Adsorption and complexation." Organic Geochemistry In Press, Corrected Proof.
- Mandal B. K. and Suzuki K. T.** (2002). "Arsenic round the world: a review." Talanta **58**(1): 201-235.
- Matera V., Le Hecho I., Laboudigue A., Thomas P., Tellier S. and Astruc M.** (2003). "A methodological approach for the identification of arsenic bearing phases in polluted soils." Environmental Pollution **126**(1): 51-64.
- Mavrocordatos D., Mondi-Couture C., Atteia O., Leppard G. G. and Perret D.** (2000). "Formation of a distinct class of Fe-Ca(-Corg)-rich particles in a complex peat-karst system." Journal of Hydrology **237**(3-4): 234-247.
- McCarthy J. F. and Zachara J. M.** (1989). "Subsurface transport of contaminants ; Mobile colloids in the subsurface environments may alter the transport of contaminants." Environmental Science & Technology **23**: 496-502.
- McCarthy J. F. and Degueudre C.** (1993). Sampling and characterization of groundwater colloids for studying their role in the subsurface transport of contaminants. Environmental Particles. J. Buffle and H. Van Leeuwen. Chelsea, Lewis Publ. **II**.
- McCarthy J. F., Czerwinski K. R., Sanford W. E., Jardine P. M. and Marsh J. D.** (1998a). "Mobilization of transuranic radionuclides from disposal trenches by natural organic matter." Journal of Contaminant Hydrology **30**(1-2): 49-77.
- McCarthy J. F., Sanford W. E. and Stafford P. L.** (1998b). "Lanthanide field tracers demonstrate enhanced transport of transuranic radionuclides by natural organic matter." Environmental Science & Technology **32**(3901-3906).
- McCarthy J. F. and Shevenell L.** (1998). "Processes controlling colloid composition in a fractured and karstic aquifer in eastern Tennessee, USA. ." Journal of Hydrology **206**: 191-218.
- McCarthy J. F. and McKay L. D.** (2004). "Colloid transport in the subsurface: past, present and future challenges." Vadose Zone Journal **3**: 326-337.
- McDowell-Boyer L. M., Hunt J. R. and Sitar N.** (1986). "Particle Transport through porous media." Water Resources Research **22**(13): 1901-1921.
- McGechan M. B. and Lewis D. R.** (2002). "Transport of particulate and colloid-sorbed contaminants through soil, Part I : General principles. ." Biosystems Engineering **83**(3): 255-273.
- McKay L. D., Cherry J. A., Bales R. C., Yahya M. T. and Gerba C. P.** (1993). "A field example of bacteriophage as tracers of fracture flow." Environmental Science & Technology **27**(6): 1075-1079.
- McMurry P. H.** (2000). "A review of atmospheric aerosol measurements." Atmospheric Environment **34**(12-14): 1959-1999.
- Mercier P., Denaix L., Robert M. and de Marsily G.** (2000). "Caracterisation des matieres colloïdales evacuees au cours du drainage agricole : incidence sur l'evolution pedogenetique des sols Colloid transfer by subsurface drainage." Comptes Rendus de l'Academie des Sciences - Series IIA - Earth and Planetary Science **331**(3): 195-202.
- Merroun M. L., Ben Chekroun K., Arias J. M. and Gonzalez-Munoz M. T.** (2003). "Lanthanum fixation by *Myxococcus xanthus*: cellular location and extracellular polysaccharide observation." Chemosphere **52**: 113-120.
- Merroun M. L., Raff J., Rossberg A., Hennig C., Reich T. and Selenska-Pobell S.** (2005). "Complexation of uranium by cells and S-layer sheets of *Bacillus sphaericus* JG-A12." Applied and Environmental Microbiology **71**(9): 5532-5543.
- Mohan D. and Pittman Jr. C. U.** (2007). "Arsenic removal from water/wastewater using adsorbents-A critical review." Journal of Hazardous Materials **142**(1-2): 1-53.
- Mosser C.** (1980). Etude Géochimique de Quelques Eléments Traces dans les Argiles des Altérations et des Sédiments. Sciences Geologiques: 229.
- Mukhopadhyay R., Rosen B. P., Phung L. T. and Silver S.** (2002). "Microbial arsenic: from geocycles to genes and enzymes." FEMS Microbiology Reviews **26**(3): 311-325.

- Muller D., Simeonova D. D., Riegel P., Mangenot S., Koechler S., Lievremont D., Bertin P. N. and Lett M.-C. (2006). "Herminiimonas arsenicoxydans sp. nov., a metalloresistant bacterium." International Journal of Systematic Bacteriology **56**(8): 1765-1769.
- Muller D., Médigue C., Koechler S., Barbe V., Barakat M., Talla E., Bonnefoy V., Krin E., Arsène-Ploetze F., Carapito C., Chandler M., Cournoyer B., Cruveiller S., Dossat C., Duval S., Heymann M., Leize E., Lieutaud A., Liévremont D., Makita Y., Mangenot S., Nitschke W., Ortet P., Perdrial N., Schoepp B., Siguier P., Simeonova D., Rouy Z., Segurens B., Turlin E., Vallenet D., Van Dorselaer A., Weiss S., Weissenbach J., Lett M.-C., Danchin A. and Bertin P. N. (2007). "A Tale of Two Oxidation States: Bacterial Colonization of Arsenic-Rich Environments." PLoS Genetics **3**(4): e53.
- Murad E. (1988). Properties and behavior of iron oxides as determined by Mössbauer spectroscopy. Iron in Soils and Clay Minerals. Stucki J. W. Goodman B. A. and Schwertmann U. Dordrecht, D. Reidel: 309-350.
- Nachtegaal M. and Sparks D. L. (2004). "Effect of iron coatings on zinc sorption mechanisms at the clay-mineral/water interface." Journal of Colloid and Interface Science **276**: 13-23.
- Ndzangou S. O., Richer-LaFleche M. and Houle D. (2006). "Anthropogenic Pb accumulation in forest soils from Lake Clair watershed: Duchesnay experimental forest (Quebec, Canada)." Applied Geochemistry **21**(12): 2135-2147.
- Nealson K., Belz A. and McKee B. (2002). "Breathing metals as a way of life: geobiology in action." Antonie van Leeuwenhoek **81**: 215-222.
- Nightingale H. I. and Bianchi W. C. (1977). "Ground-water turbidity resulting from artificial recharge." Ground Water **15**: 146-152.
- Norrström A.-C. and Bergstedt E. (2001). "The impact of road de-icing salts (NaCl) on colloid dispersion and base cation pools in roadside soils." Water Air & Soil Pollution **127**: 281-299.
- Oremland R. S. and Stolz J. F. (2003). "The Ecology of Arsenic." Science **300**(5621): 939-944.
- Oremland R. S., Stolz J. F. and Hollibaugh J. T. (2004). "The microbial arsenic cycle in Mono Lake, California." FEMS Microbiology Ecology **48**(1): 15-27.
- Oygard J. K., Gjengedal E. and Royset O. (2007). "Size charge fractionation of metals in municipal solid waste landfill leachate." Water Research **41**(1): 47-54.
- Party J.-P., Sauter J., Burtin M.-L. and Koller R. (1999). Guide des Sols d'Alsace : Petite région naturelle Plaine Sud-Alsace, Région Alsace, 183 pp.
- Pierce M. L. and Moore C. B. (1980). "Adsorption of arsenite on amorphous iron hydroxide from dilute aqueous solution." Environmental Science & Technology **14**(2): 214-216.
- Pierce M. L. and Moore C. B. (1982). "Adsorption of arsenite and arsenate on amorphous iron hydroxide." Water Research **16**(7): 1247-1253.
- Poortinga A. T., Bos R. and Busscher H. J. (2001). "Electrostatic interactions in the adhesion of an ion-penetrable and ion-impenetrable bacterial strain to glass." Colloids and Surfaces B: Biointerfaces **20**(2): 105-117.
- Poortinga A. T., Bos R., Norde W. and Busscher H. J. (2002). "Electric double layer interactions in bacterial adhesion to surfaces." Surface Science Reports **47**(1): 1-32.
- Posadas A. N. D., Gimenez D., Bittelli M., Vaz C. M. P. and Flury M. (2001). "Multifractal Characterization of Soil Particle-Size Distributions." Soil Science Society of America Journal **65**(5): 1361-1367.
- Posfai M., Anderson J. R., Buseck P. R., W. S. T. and W. T. N. (1994). "Constituents of a remote pacific marine aerosol: A tem study." Atmospheric Environment **28**(10): 1747-1756.
- Posfai M. and Molnar A. (2000). Atmospheric aerosol particles: A mineralogical introduction. EMU Notes in Mineralogy. D. Vaughan and R. Wogelius. Budapest, Eötvös University Press. **2**: 197-252.
- Posfai M., Li J., Anderson J. R. and Buseck P. R. (2003a). "Aerosol bacteria over the Southern Ocean during ACE-1." Atmospheric Research **66**(4): 231-240.
- Posfai M., Simonics R., Li J., Hobbs P. V. and Buseck P. R. (2003b). "Individual aerosol particles from biomass burning in southern Africa: 1. Compositions and size distributions of carbonaceous particles." Journal of Geophysical Research **108**(D13): 10.1029/2002JD002291.
- Praveen P. S., Rao P. S. P., Safai P. D., Devara P. C. S., Chate D. M., Ali K. and Momin G. A. (2007). "Study of aerosol transport through precipitation chemistry over Arabian Sea during winter and summer monsoons." Atmospheric Environment **41**(4): 825-836.

- Prospero J. M.** (1999). "Long-range transport of mineral dust in the global atmosphere: Impact of African dust on the environment of the southeastern United States." *PNAS* **96**(7): 3396-3403.
- Puls R. W. and Powell R. M.** (1992). "Acquisition of representative groundwater quality samples for metals." *Ground Water Monitoring Review* **12**(167-176).
- Rader D. J. and Marple V. A.** (1985). "Effect of ultra-stokesian drag and particle interception on impaction characteristics. ." *Aerosol Science and Technology* **4**: 141-156.
- Ranger J., Marques R. and Jussy J.-H.** (2001). "Forest soil dynamics during stand development assessed by lysimeter and centrifuge solutions." *Forest Ecology and Management* **144**(1-3): 129-145.
- Ranger J. and Gelhaye D.** (2006) "Présentation du site expérimental de la forêt de Breuil-Chenue". *Effet de l'essence forestière sur le fonctionnement biogéochimique et biologique d'un écosystème forestier.*, INRA, 51 p pp.
- Rasband W. S.** (1997-2006). ImageJ. *National Institutes of Health*. U.S. Bethesda, Maryland, USA, <http://rsb.info.nih.gov/ij/>.
- Rasmussen L., von Freiesleben N. E. and Jorgensen P.** (1988). "Leaching of ions from a forested Typic Udipsamment by acidified throughfall, Denmark." *Geoderma* **43**(1): 33-47.
- Richards L. A., Neal O. R. and Russell M. B.** (1938). "Observations on moisture conditions in lysimeters: II. ." *Soil Science Society of America Journal* **4**: 55-59.
- Rijnaarts H. H. M., Norde W., Lyklema J. and Zehnder A. J. B.** (1999). "DLVO and steric contributions to bacterial deposition in media of different ionic strengths." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* **14**(1-4): 179-195.
- Roane T. M.** (1999). "Lead resistance in two bacterial isolates from heavy metal-contaminated soils." *Microbial Ecology* **37**: 218-224.
- Romero R., Robert M., Elsass F. and Garcia C.** (1992). "Evidence by transmission electron microscopy of weathering microsystems in soils developed from crystalline rocks." *Clay Minerals* **26**: 409-420.
- Roy S. B. and Dzombak D. A.** (1997). "Chemical factors influencing colloid-facilitated transport of contaminants in porous media." *Environmental Science & Technology* **31**: 656-664.
- Rubin A. J., Hayden P. L. and Hanna G. P.** (1969). "Coagulation of Escherichia Coli by neutral salts." *Water Research* **3**(11): 843-852.
- Ryan J. N. and Elimelech M.** (1996). "Colloid mobilization and transport in groundwater (Review)." *Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects* **107**: 1-56.
- Ryan J. N., Illangasekare T. H., Litaor M. I. and Shannon R.** (1998). "Particle and Plutonium Mobilization in Macroporous Soils during Rainfall Simulations." *Environmental Science & Technology* **32**(4): 476-482.
- Ryan J. N., Ard R. A., Magelky R. D., Elimelech M., Sun N. and Sun N.-Z.** (1999) "Colloid mobilization and transport in contaminant plumes: Field experiments, laboratory experiments and modeling". *Environmental Research Brief*, 38 pp.
- Rytwo G., Tropp D. and Serban C.** (2002). "Adsorption of diquat, paraquat and methyl green on sepiolite: experimental results and model calculations." *Applied Clay Science* **20**(6): 273-282.
- Sadiq M.** (1997). "Arsenic chemistry in soils: An overview of thermodynamic predictions and field observations." *Water Air & Soil Pollution* **93**: 117-136.
- Salma I., Ocskay R., Chi X. and Maenhaut W.** (2007). "Sampling artefacts, concentration and chemical composition of fine water-soluble organic carbon and humic-like substances in a continental urban atmospheric environment." *Atmospheric Environment* **41**(19): 4106-4118.
- Schäfer A., Ustohal P., Harms H., Stauffer F., Dracos T. and Zehnder A. J. B.** (1998). "Transport of bacteria in unsaturated porous media." *Journal of Contaminant Hydrology* **33**(1-2): 149-169.
- Schelde K., Moldrup P., Jacobsen O. H., DeJonge H., DeJonge L. W. and Komatsu T.** (2002). "Diffusion-Limited Mobilization and Transport of Natural Colloids in Macroporous Soil." *Vadose Zone Journal* **1**(1): 125-136.
- Schwertmann U.** (1988). Occurrence and formation of iron oxides in various pedoenvironments. *Iron in Soils and Clay Minerals*. Stucki J. W. Goodman B. A. and Schwertmann U. Dordrecht, D. Reidel: 267-308.
- Sen T. K., Mahajan S. P. and Khilar K. C.** (2002). "Colloid-Associated contaminant transport in porous media: 1. Experimental studies." *AIChE Journal* **48**(10): 2366-2374.

- Sen T. K. and Khilar K. C.** (2006). "Review on subsurface colloids and colloid-associated contaminant transport in saturated porous media." Advances in Colloid and Interface Science **119**(2-3): 71-96.
- Shevenell L. and McCarthy J. F.** (2002). "Effects of precipitation events on colloids in a karst aquifer." Journal of Hydrology **255**(1-4): 50-68.
- Short N. M.** (1961). "Geochemical variation in four residual soils." Journal of Geology **69**: 534-571.
- Short S. A., Lowson R. T. and Ellis J.** (1988). "234U/238U and 230Th/234U activity ratios in the colloidal phases of aquifers in lateritic weathered zones." Geochimica et Cosmochimica Acta **52**(11): 2555-2563.
- Siciliano S. D., Germida J. J., Banks K. and Greer C. W.** (2002). "Changes in Microbial Community Composition and Function during a Polyaromatic Hydrocarbon Phytoremediation Field Trial." Applied and Environmental Microbiology **69**(1): 483-489.
- Silver S. and Phung L. T.** (1996). "BACTERIAL HEAVY METAL RESISTANCE: New Surprises." Annual Review of Microbiology **50**(1): 753-789.
- Silver S. and Phung L. T.** (2005). "Genes and enzymes involved in bacterial oxidation and reduction of inorganic arsenic." Applied and Environmental Microbiology **71**: 599-608.
- Silverberg B. A., Wong P. T. S. and Chau Y. K.** (1976). "Ultrastructural examination of *Aeromonas* cultured in the presence of organic lead." Applied and Environmental Microbiology **32**(5): 723-725.
- Simeonova D. D., Micheva K., Muller D. A. E., Lagarde F., Lett M.-C., Groudeva V. I. and Lièvreumont D.** (2005). "Arsenite oxidation in batch reactors with alginate-immobilized ULPAs1 strain." Biotechnology and Bioengineering **91**(4): 441-446.
- Simoni S. F., Harms H., Bosma T. N. P. and Zehnder A. J. B.** (1998). "Population Heterogeneity Affects Transport of Bacteria through Sand Columns at Low Flow Rates." Environmental Science & Technology **32**(14): 2100-2105.
- Simunek J., He C., Pang L. and Bradford S. A.** (2006). "Colloid-Facilitated Solute Transport in Variably Saturated Porous Media: Numerical Model and Experimental Verification." Vadose Zone Journal **5**(3): 1035-1047.
- Sirivithayapakorn S. and Keller A.** (2003). "Transport of colloids in unsaturated porous media: A pore-scale observation of processes during the dissolution of air-water interface." Water Resources Research **39**(12): 1346.
- Sogn T. A., Abrahamsen G. and Stuanes A. O.** (1993). "Lysimeter study with a cambic Arenosol exposed to artificial acid rain: I. Concentrations of ions in leachate." Water Air & Soil Pollution **68**(3-4): 493-504.
- Sparks D. L.** (2001). "Elucidating the fundamental chemistry of soils: past and recent achievements and future frontiers." Geoderma **100**: 303-319.
- Sparks D. L.** (2005). "Toxic metals in the environment: the role of surfaces." Elements **1**(4): 193-196.
- Sun J. and Ariya P. A.** (2006). "Atmospheric organic and bio-aerosols as cloud condensation nuclei (CCN): A review." Atmospheric Environment **40**(5): 795-820.
- Suresh L. and Walz J. Y.** (1996). "Effect of Surface Roughness on the Interaction Energy between a Colloidal Sphere and a Flat Plate." Journal of Colloid and Interface Science **183**(1): 199-213.
- Suresh L. and Walz J. Y.** (1997). "Direct Measurement of the Effect of Surface Roughness on the Colloidal Forces between a Particle and Flat Plate." Journal of Colloid and Interface Science **196**(2): 177-190.
- Tazaki K.** (2006). Clays, microorganisms, and biomineralization. Handbook of Clay Science. F. Bergaya B. K. G. Theng and G. Lagaly, Elsevier Ltd.: 477-497.
- Tegen I. and Fung I.** (1994). "Modeling of mineral dust in the atmosphere: Sources, transport, and optical thickness." Journal of Geophysical Research **99**(D11): 22,897-22,914.
- Thanabalasingam P. and Pickering W. F.** (1986). "Arsenic sorption by humic acids." Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical **12**(3): 233-246.
- Thorp J., Strong L. E. and Gamble E.** (1957). "Experiments in soil genesis - The role of leaching." Soil Science Society of America Journal **21**: 99-102.
- Tobiason J. E.** (1989). "Chemical effects on the deposition of non-Brownian particles." Colloids and Surfaces **39**(1): 53-75.

- Tombacz E., Libor Z., Illés E., Majzik A. and Klumpp E.** (2004). "The role of reactive surface sites and complexation by humic acids in the interaction of clay mineral and iron oxide particles." Organic Geochemistry **35**: 257-267.
- Torsvik V., Goksoyr J. and Daae F. L.** (1990). "High diversity in DNA of soil bacteria." Applied and Environmental Microbiology **56**(3): 782-787.
- Torsvik V., Daae F. L., Sandaa R.-A. and Ovreas L.** (1998). "Novel techniques for analysing microbial diversity in natural and perturbed environments." Journal of Biotechnology **64**(1): 53-62.
- Turco R. F., Kennedy A. C. and Jawson M. D.** (1994). Microbial indicators of soil quality. Defining soil quality for a sustainable environment. SSSA Spec. Publ. 35. SSSA and ASA. Madison, WI: 73-90.
- Utsunomiya S., Jensen K. A., Keeler G. J. and Ewing R. C.** (2004). "Direct Identification of Trace Metals in Fine and Ultrafine Particles in the Detroit Urban Atmosphere." Environmental Science & Technology **38**(8): 2289-2297.
- Vadakattu G. and Paterson J.** (2004). "Microbes and soil structure intimately linked." Farming Ahead **150**: 43.
- Vaughan D. J.** (2000). Introduction: The nature and scope of environmental mineralogy. Environmental Mineralogy. David J. Vaughan and Roy A. Wogelius. Budapest, Eotvos University Press. **2**: 3-5.
- Vengris T., Binkiene R. and Sveikauskaite A.** (2001). "Nickel, copper and zinc removal from waste water by a modified clay sorbent." Applied Clay Science **18**(3-4): 183-190.
- Vincent B.** (2005). Colloid Science - Theory, Methods and Applications., Blackwell Publishing, 288 pp.
- Vinten A. J. A. and Nye P. H.** (1985). "Transport and deposition of dilute colloidal suspensions in soils." European Journal of Soil Science **36**(4): 531-541.
- Voigt D. E., Brantley S. L. and Hennet R. J.-C.** (1996). "Chemical fixation of arsenic in contaminated soils." Applied Geochemistry **11**(5): 633-637.
- Wagner G. H.** (1962). "Use of porous ceramic cups to sample soil water within the profile." Soil Science **94**: 379-386.
- Wallihan E. F.** (1940). "An improvement in lysimeter design." Journal of American Society of Agronomy **32**: 395-404.
- Walton F. B. and Merritt W. F.** (1980). Long-term extrapolation of laboratory glass leaching data for the prediction of fission product release under actual groundwater conditions. Scientific basis for nuclear waste management., Plenum Press. **2**: 155-166.
- Wan J. and Wilson J. L.** (1994a). "Colloid transport in unsaturated porous media." Water Resources Research **30**(4): 857-864.
- Wan J. and Wilson J. L.** (1994b). "Visualization of the role of the gas-water interface on the fate and transport of colloids in porous media." Water Resources Research **30**(1): 11-24.
- Wan J. and Tokunaga T. K.** (1997). "Film Straining of Colloids in Unsaturated Porous Media: Conceptual Model and Experimental Testing." Environmental Science & Technology **31**(8): 2413-2420.
- Wan J. and Tokunaga T. K.** (1998). "Measuring Partition Coefficients of Colloids at Air-Water Interfaces." Environmental Science & Technology **32**(21): 3293-3298.
- Wan J. and Tokunaga T. K.** (2002). "Partitioning of Clay Colloids at Air-Water Interfaces." Journal of Colloid and Interface Science **247**(1): 54-61.
- Wan J., Tokunaga T. K., Saiz E., Larsen J. T., Zheng Z. and Couture R. A.** (2004). "Colloid Formation at Waste Plume Fronts." Environmental Science & Technology **38**(22): 6066-6073.
- Wang J., He S., Xie S., Xu L. and Gu N.** (2007). "Probing nanomechanical properties of nickel coated bacteria by nanoindentation." Materials Letters **61**(3): 917-920.
- Warren L. A. and Ferris F. G.** (1998). "Continuum between Sorption and Precipitation of Fe(III) on Microbial Surfaces." Environmental Science & Technology **32**(15): 2331-2337.
- Wedepohl K. H.** (1974). Handbook of Geochemistry. Berlin, Springer-Verlag, pp.
- Weeger W., Liévremont D., Perret M., Lagarde F., Hubert J.-C., Leroy M. and Lett M.-C.** (1999). "Oxidation of arsenite to arsenate by a bacterium isolated from an aquatic environment." BioMetals **12**: 141-149.

- Whitby K. T.** (1978). "The physical characteristics of sulfur aerosols." Atmospheric Environment **12**: 135-159.
- Wilkinson K. J., Balnois E., Leppard G. G. and Buffle J.** (1999). "Characteristic features of the major components of freshwater colloidal organic matter revealed by transmission electron and atomic force microscopy." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **155**(2-3): 287-310.
- Yao K.-M., Habibian M. T. and O'Melia C. R.** (1971). "Water and waste water filtration: Concepts and applications." Environmental Science & Technology **5**: 1105-1106.
- Zeiri L., Bronk B. V., Shabtai Y., Czege J. and Efrima S.** (2002). "Silver metal induced surface enhanced Raman of bacteria." Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects **208**(1-3): 357-362.
- Zheng M., Guo Z., Fang M. and Kester D. R.** (2007). "The influence of meteorology on the organic and inorganic properties of aerosols in Hong Kong." Atmospheric Research **84**(4): 323-336.
- Zhu Y., Fox R. H. and Toth J. D.** (2002). "Leachate Collection Efficiency of Zero-tension Pan and Passive Capillary Fiberglass Wick Lysimeters." Soil Science Society of America Journal **66**(1): 37-43.

ANNEXES

ANNEXE A

PRINCIPE D'ETUDES DES MINERAUX ARGILEUX

Dans l'ensemble de l'étude deux types de PFC sont très fréquents : les particules argileuses automorphes et les particules argileuses altérées. Le chapitre IV concerne la caractérisation physico-chimique des PFC et notamment de ces deux types dans les différents milieux étudiés (§ III.1.1.1, III.1.1.2., III.2.1.1., III.2.1.2., III.3.1.1. et III.3.1.2.)

Dans cette étude la caractérisation des types d'argiles a été effectuée en microscopie électronique à transmission (MET) avec un système d'analyse en spectroscopie d'analyse ne dispersion d'énergie (EDX), ce qui permet d'obtenir des informations sur l'aspect physique des PFC et sur leur composition chimique. A partir de ces données une caractérisation des argiles est proposée. Elle s'appuie principalement sur deux modes de représentations des analyses : une représentation sous forme de diagrammes ternaires (figures 4.4., 4.8., 4.33., 4.38., 4.57. et 4.61.) et une représentation des compositions chimiques normalisées sur les compositions de minéraux de références (figures 4.5., 4.9., 4.35., 4.58 et 4.62).

Ces modes de représentation ont été choisie afin d'une part de caractériser les argiles présentes et d'autre part les éventuelles modifications chimiques les affectant.

Cette annexe présente la méthodologie utilisée afin de :

- I. Calculer la formule structurale des PFC argileuses,
- II. Construire et interpréter les diagrammes ternaires,
- III. Construire et interpréter les compositions chimiques normalisées.

I. Calcul de la formule structurale des PFC argileuses

Les analyses obtenues en EDX sur les PFC sont nombreuses. La première étape consiste, en associant l'analyse aux images de MET, à caractériser les argiles potentielles. Dans un deuxième temps, le calcul du rapport Si/Al permet d'avoir une idée du type d'argile. La figure A.1. présente les intervalles de valeur des rapports Si/Al pour les minéraux les plus fréquents. Cependant, dans le milieu naturel et notamment le sol, ces rapports sont rarement identiques aux rapports théoriques et il est nécessaire de corréliser ceux-ci avec la nature des autres éléments présent dans le minéral. En effet, la structure des argiles dépend certes de l'empilement de ses feuillets (argiles 1:1, 2:1) qui gère le rapport Si/Al, mais aussi de la nature des autres cations informant notamment de la présence ou non d'espace interfoliaires et de leurs natures ainsi que du caractère di- ou tri-octaédrique des sites octaédriques. Pour le calcul des formules structurales les argiles ont été considérées de deux types :

- des minéraux 1:1 (kaolinites) avec une formule structurale du type $(Al, Mg, Fe)_2 (Si_x, Al_{2-x})_2 O_5 (OH)_4$
- des minéraux 2:1 (illites, smectites et interstratifiés) avec une formule structurale du type $(Si_x, Al_{4-x})_4 (Al_{y-(4-x)}, Mg, Fe)_2 O_{10}(OH)_2 (K, Ca, Na)_{n<0,5}$ avec x le nombre de cation de Si et y celui d'Al.

Sur ces bases, les formules structurales des argiles ont été calculées en utilisant 7 oxygènes pour les minéraux de type 1:1 et 11 oxygènes pour les minéraux de type 2:1, ce qui correspond à une demi-maille structurale.

Ainsi, par exemple, une kaolinite ayant l'analyse en poids d'oxyde suivante :

$Na_2O = 0\%$; $MgO = 0\%$; $Al_2O_3 = 46,30\%$; $SiO_2 = 53,70\%$; $K_2O = 0\%$; $CaO = 0\%$; $Fe_2O_3 = 0\%$ est proposée avec la formule structurale suivante : $(Al)_2 (Si_{1,99}, Al_{0,01})O_5 (OH)_4$

De même une illite dont l'analyse en poids d'oxyde est la suivante :

$Na_2O = 0\%$; $MgO = 0\%$; $Al_2O_3 = 33,99\%$; $SiO_2 = 54,33\%$; $K_2O = 5,68\%$; $CaO = 0\%$; $Fe_2O_3 = 0\%$ est proposée avec la formule structurale suivante : $(Si_{3,27}, Al_{0,73}) (Al_{2,1}) O_{10}(OH)_2 (K_{0,44})$

Et une argile 2:1 (type smectite ou illite-smectite) avec l'analyse en poids d'oxyde suivante :

$Na_2O = 0\%$; $MgO = 4,99\%$; $Al_2O_3 = 15,54\%$; $SiO_2 = 64,02\%$; $P_2O_5 = 4,08\%$; $ClO = 1,12\%$; $K_2O = 1,31\%$; $CaO = 1,86\%$; $Fe_2O_3 = 7,08\%$ % est proposée avec la formule structurale suivante : $(Si_{3,86}, Al_{0,14}) (Al_{0,97}, Mg_{0,45}, Fe_{0,32}) O_{10}(OH)_2 (K_{0,10}, Ca_{0,12})$

Ces exemples montrent que les calculs de sont pas toujours en totale adéquation avec les formules théoriques des minéraux. Ainsi, si la kaolinite prise en exemple est parfaitement en adéquation avec la formule théorique, ce n'est pas le cas des deux autres exemples. Dans le cas de l'illite le nombre d'Al octaédrique est légèrement supérieur à 2 ceci peut-être dû à une perte en éléments alcalins dans l'argile elle-même, ou lors de l'analyse, qui fait augmenter de manière relative les taux de Si et Al analysés du fait du forçage à 100% induit par le mode de calcul du logiciel EDX. A l'inverse, dans l'argile de type smectite ou illite-smectite prise dans le troisième exemple, le nombre de cations octaédriques est inférieur à 2. Il peut s'agir, là aussi, d'une perte en éléments lors de l'analyse. Cependant, c'est en fait la présence de phosphore et chlore dans cette analyse qui fait baisser les taux des autres éléments.

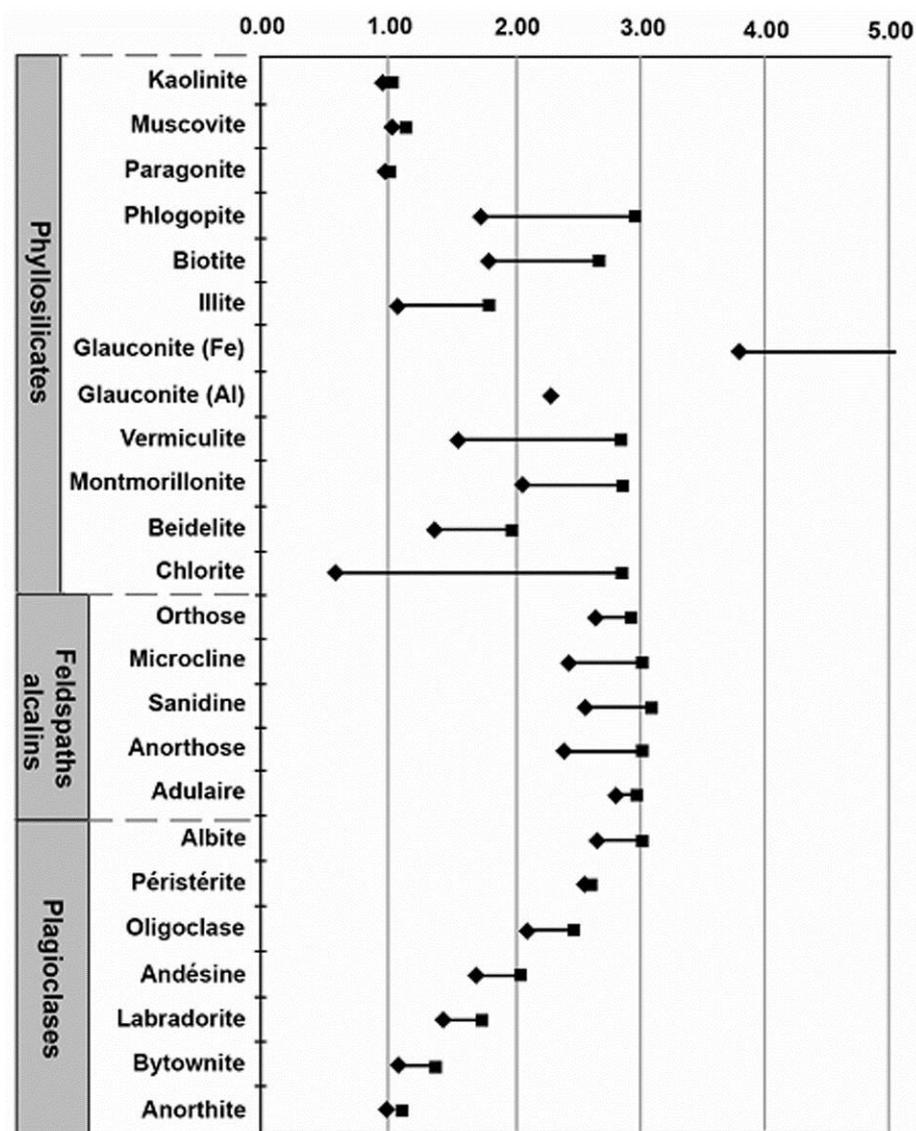


Figure A.1. Classification des minéraux selon le rapport Si/Al. Les valeurs du rapport Si/Al sont en abscisse D'après Deer et al. (1965).

II. Construction et interprétation des diagrammes ternaires

Il apparaît donc que les résultats des calculs basés sur la formule structurale doivent être analysés en détail. Pour ce faire un mode de représentation en diagramme ternaire à été choisi ici. Les trois pôles choisis pour le diagramme sont appelés 4Si, R3 et M+ et correspondent respectivement aux cations du site tétraédrique, aux cations du site octaédrique et aux cations présents dans l'interfoliaire.

Les coordonnées des points pour chacun des pôles sont calculées comme suit :

Pôle 4Si = nombre de $\text{Si}^{4+}/4$

Pôle R3 = (nombre de $\text{Al}^{3+}/3$ + nombre de $\text{Mg}^{2+}/2$ + nombre de $\text{Fe}^{3+}/3$)

Pôle M+ = (nombre de K^+ + nombre de $\text{Ca}^{2+}/2$ + nombre de Na^+)

Dans un tel diagramme chaque type d'argile à un domaine propre. Ainsi, des minéraux de références sont placés dans le diagramme afin de matérialiser ces domaines. Les minéraux de référence sont les minéraux « sources » de la Clay Mineral Society disponible en ligne sur le site <http://www.agry.purdue.edu/cjohnston/sourceclays/chem.htm> auxquels à été ajouté un feldspath représentant le matériel parent. La figure A.2. montre les minéraux de référence dans un diagramme 4Si-R3-M+. Il apparaît très nettement l'évolution depuis les feldspaths vers les kaolinites qui suit les processus d'altération typique de la formation des argiles correspondant à un lessivage des cations interfoliaires puis octaédriques (l'aluminium restant le moins mobile de tous les éléments). La gibbsite ($\text{Al}(\text{OH})_3$) terme ultime de l'altération n'est pas représentée ici.

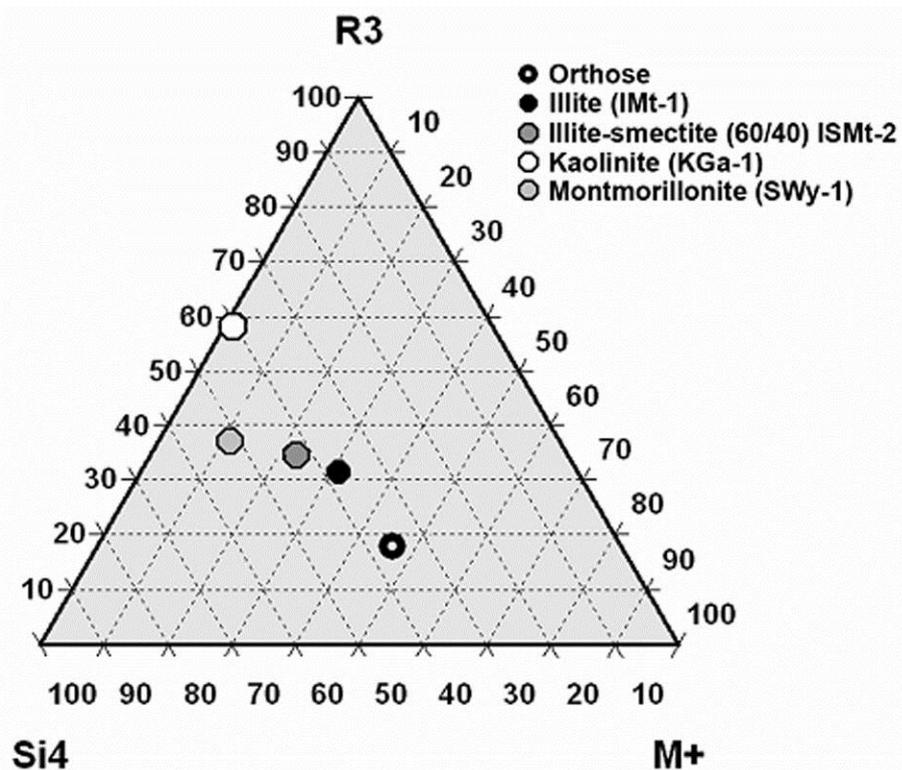


Figure A. 2. Diagramme Si⁴-R₃-M⁺ pour les minéraux de référence. Si⁴ : pôle représentant le nombre de cations de silicium tétraédrique divisé par sa valence 4. R₃ : somme des cations octaédriques divisés par leurs valences. M⁺ : Somme des cations échangeables divisés par leurs valences.

Les formules des minéraux de référence sont les suivantes :

- Pour la kaolinite le point correspond à une moyenne des Kaolinites KGa-1 et KGa-2 avec les caractéristiques de KGa – 1 telles que:

Origine: Conté de Washington, Géorgie, USA (stratigraphie incertaine)

Composition chimique (%) : SiO₂ : 44,2, Al₂O₃ : 39,7 ; TiO₂ : 1,39 ; Fe₂O₃ : 0,13 ; FeO : 0,08 ; MnO : 0,002 ; MgO : 0,03 ; CaO : n.d. ; Na₂O : 0,013 ; K₂O : 0,05 ; F : 0,013 ; P₂O₅ : 0,034 ; Perte au feu : -550°C : 12,6; 550-1000°C : 1,18.

Capacité d'échange cationique (CEC) : 2,0 meq/100g

Surface spécifique : 10,05 +/- 0,02 m²/g

Structure : (Mg_{0,02}, Ca_{0,01}, Na_{0,01}, K_{0,01})[Al_{3,86}, Fe³⁺_{0,02}, Mn_{tr}, Ti_{0,11}][Si_{3,83}, Al_{0,17}] O₁₀(OH)₈

Les caractéristiques de KGa – 2 telles que :

Origine: Conté de Warren, Géorgie, USA (tertiaire)

Composition chimique (%) : SiO₂ : 44,9, Al₂O₃ : 38,5 ; TiO₂ : 2,08 ; Fe₂O₃ : 0,98 ; FeO :

0,15 ; MnO : n.d. ; MgO : 0,03 ; CaO : n.d. ; Na₂O : <0,005 ; K₂O : 0,065 ; S : 0,02 ; P₂O₅ : 0,045 ; F : 0,02 ; Perte au feu : -550°C : 12,6 ; 550-1000°C : 1,17.

Capacité d'échange cationique (CEC) : 3,3 meq/100g

Surface spécifique : 23,50 +/- 0,06 m²/g

Structure : (Ca_{tr.}, K_{tr.})[Al_{3,66}, Fe³⁺_{0,07}, Mn_{tr.}, Mg_{tr.}, Ti_{0,16}][Si_{4,00}] O₁₀(OH)₈

- Pour la smectite, la montmorillonite sodique SWy-1 dont les caractéristiques sont :

Origine: Conté de Crook, Wyoming, USA (crétacé)

Composition chimique (%) : SiO₂ : 62,9, Al₂O₃ : 19,6 ; TiO₂ : 0,09 ; Fe₂O₃ : 3,35 ; FeO : 0,32 ; MnO : 0,006 ; MgO : 3,05 ; CaO : 1,68 ; Na₂O : 1,53 ; K₂O : 0,53 ; F : 0,111 ; P₂O₅ : 0,049 ; S : 0,05 ; Perte au feu : -550°C : 1,59 ; 550-1000°C : 4,47.

Capacité d'échange cationique (CEC) : 76,4 meq/100g

Surface spécifique : 31,82 +/- 0,22 m²/g

Structure : (Ca_{0,12}, Na_{0,32}, K_{0,05})[Al_{3,01}, Fe³⁺_{0,41}, Mn_{0,01}, Mg_{0,54}, Ti_{0,02}][Si_{7,98}, Al_{0,02}] O₂₀(OH)₄

- Pour l'illite-smectite à 60% illite et 40% smectite, L'illite-smectite ISMt-2 dont les caractéristiques sont :

Origine: Shale de Mancos (crétacé)

Composition chimique (%) : SiO₂ : 51,2, Al₂O₃ : 26,3 ; TiO₂ : 0,17 ; Fe₂O₃ : 1,49 ; FeO : 0,1 ; MnO : 0,01 ; MgO : 2,41 ; CaO : 1,4 ; Na₂O : 0,04 ; K₂O : 4,74 ; Perte au feu : 12,6.

Structure : (Mg_{0,05}, Ca_{0,21}, Na_{0,01}, K_{0,84})[Al_{3,37}, Fe³⁺_{0,16}, Fe²⁺_{0,01}, Mn_{tr.}, Mg_{0,45}, Ti_{0,02}][Si_{7,08}, Al_{0,92}] O₂₀(OH)₄

- Pour l'illite le point correspond à une moyenne des illites IMt-1 et M8 (Srodon et al., 1986) avec les caractéristiques de IMt-1 telles que:

Origine: Silver Hill, Montana, USA

Composition chimique (%) : SiO₂ : 49,3, Al₂O₃ : 24,25 ; TiO₂ : 0,55 ; Fe₂O₃ : 7,32 ; FeO : 0,55 ; MnO : 0,03 ; MgO : 2,56 ; CaO : 0,43 ; Na₂O : 0,00 ; K₂O : 7,83 ; P₂O₅ : 0,08 ; Perte au feu : 8,02,

Structure : (Mg_{0,09}, Ca_{0,06}, K_{1,37}) [Al_{2,69}, Fe³⁺_{0,76}, Mn_{tr.}, Mg_{0,43}, Ti_{0,06}][Si_{6,77}, Al_{1,23}] O₂₀(OH)₄

Les caractéristiques de M8 telles que :

Origine: Aymestry, Worcestershire, UK

Composition chimique (%) : SiO₂ : 51,25, Al₂O₃ : 23,53 ; TiO₂ : 0,17 ; Fe₂O₃ : 2,02 ; FeO : 0,33 ; MnO : n.d. ; MgO : 3,32 ; CaO : 0,59 ; Na₂O : 0,05 ; K₂O : 7,61 ; P₂O₅ : 0,02

Capacité d'échange cationique (CEC) : 22,3 meq/100g

Surface spécifique : 220 m²/g

Structure : (Na_{0,01}, Ca_{0,01}, K_{0,72}) [Al_{1,68}, Fe³⁺_{0,06}, Fe²⁺_{0,01}, Mg_{0,28}][Si_{3,53}, Al_{0,47}] O₁₀(OH

- Pour le feldspath, l'orthose de Spencer (Spencer, 1930), dont les caractéristiques sont :

Origine : Ceylan

Composition chimique (%) : SiO₂ : 64,66, Al₂O₃ : 19,72 ; Fe₂O₃ : 0,08 ; MgO : tr. ; CaO : 0,34 ; Na₂O : 3,42 ; K₂O : 11,72

Structure : (K_{0,68}, Na_{0,3}, Ca_{tr.}) Al_{1,06} Si_{2,95} O₈

Cette représentation permet donc de déterminer les types de PFC argileuses analysée avec précision tout en les comparant avec des minéraux de référence connus.

III. Construction et interprétation des diagrammes de compositions chimiques normalisées

Cependant, le mode de représentation en diagramme ternaire ne permet pas, d'une part, de dissocier les éléments chimiques regroupés en chacun des pôles et, d'autre part, de caractériser la présence d'éléments absents dans la représentation en diagramme ternaire. Afin de pallier ces manques nous proposons une représentation des compositions des PFC argileuses sous forme de diagrammes de compositions chimiques normalisés aux compositions des minéraux de références pré-cités. La composition en nombre de cations par demi-maille des minéraux référents est donnée dans le tableau A.1. La figure A.3.a présente un exemple de spectre normalisée d'une kaolinite, la figure A.3.b celui d'un interstratifié illite-smectite. En abscisse de ces spectres sont représentés les éléments pris en compte lors de l'analyse, classé en ordre croissant de leur poids atomique. Pour toutes ces figures la ligne $y = 1$ correspond à la composition chimique du minéral référent et tous les points situés au dessus de cette ligne sont considérés comme des anomalies positives pour l'élément considéré et les points situés au dessous (valeur entre 0 et 1) sont considérés comme des anomalies négatives. Ceci est alors l'expression d'une composition chimique différente de celle du minéral référent.

	Kaolinite		Illite-Smectite		Illite	
	Composition	A.N.	Composition	A.N.	Composition	A.N.
Na	0		0.03	0.4000	0	
Mg	0		0.25	0.0396	0.30	0.0330
Al	3.85	0.0026	2.12	0.0047	1.95	0.0051
Si	3.92	0.0026	3.57	0.0028	3.48	0.0029
P	0		0		0	
S	0		0		0	
Cl	0		0		0	
K	0		0.45	0.0223	0.68	0.0147
Ca	0		0.08	0.1290	0.02	0.6061
Fe	0.05	0.2222	0.07	0.1429	0.19	0.0516
Zn	0		0		0	
As	0		0		0	
Pb	0		0		0	

Tableau A.1. Composition en cations des minéraux de référence et valeurs d'anomalies négatives (A.N.) lors de l'absence totale d'élément du minéral référent dans le minéral analysé.

Ces spectres étant des normalisations, lors de l'absence d'un élément dans le minéral référent la valeur de normalisation devient infini, il est donc nécessaire de fixer une valeur supérieur à zéro pour les cations absent des minéraux référents et analysés. Nous avons choisi de fixer cette valeur à 0,01 cation par demi-maille. De ce fait, un point situé sur la ligne $y=10$ correspond à une anomalie positive de 0,1 cation par demi-maille et un point situé sur la ligne $y=100$ correspond à la présence d'un cation. Les éléments traduisant ces anomalies positives sont alors soit dans le réseau cristallin du minéral, soit ils appartiennent à une autre phase. A l'inverse, lorsque le minéral analysé est totalement dépourvu en un des éléments présent dans le minéral référent, la valeur de l'anomalie négative est dépendante du nombre de cations de cet élément présent dans le minéral référent. Ces valeurs sont donc fixes pour chaque élément de chacun des type et sont résumées dans le tableau A.1. L'étude des différentes anomalies positives et négatives d'un minéral ou d'un type de minéral permet alors de déterminer laquelle des deux hypothèses est correcte. En effet, la connaissance du réseau cristallin permet de vérifier si les amplitudes des anomalies sont en adéquation avec d'éventuelles substitutions, auquel cas il s'agit d'éléments du réseau cristallin, ou si elles ne sont pas compensables les unes avec les autres à l'intérieur d'un même site cristallin, auquel cas les éléments présentant des anomalies positives appartiennent à une autre phase.

Par exemple, une anomalie positive forte en Fe, liée à une anomalie négative forte en Mg sans anomalie en Al montre que l'argile analysé possède du fer à la place du magnésium dans le site octaédrique. A l'inverse, si la même anomalie en fer existe et pas d'anomalie en Mg et Al, alors le fer est en excès est n'entre pas entièrement dans la composition du feuillet octaédrique, une part est donc liée à une autre phase, c'est le cas des deux exemples de la figure A.3.

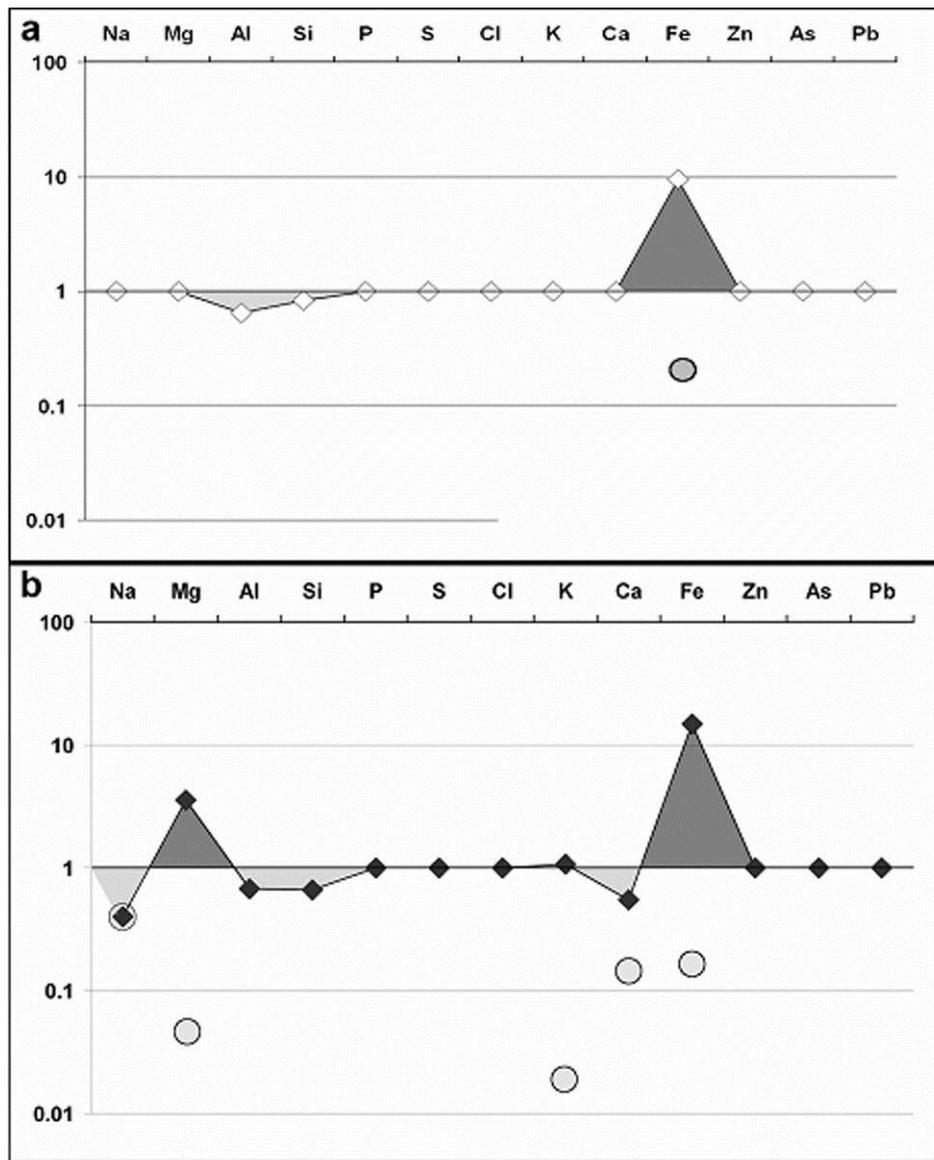


Figure A.3. Compositions minéralogiques normalisées. **a)** kaolinite normalisée, **b)** illite-smectite normalisée. Les cercles représentent les valeurs d'anomalies négatives lorsque le minéral analysé est dépourvu de l'élément considéré.

