HAL
open science

Réactivité des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans une terre de cokerie: influence de réparation des contaminants et de l'introduction de matière organique fraîche

Audrey Pernot

To cite this version:

Audrey Pernot. Réactivité des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans une terre de cokerie: influence de réparation des contaminants et de l'introduction de matière organique fraîche. Agronomie. Université de Lorraine, 2013. Français. NNT : 2013LORR0237 . tel-01750531

HAL Id: tel-01750531

https://hal.univ-lorraine.fr/tel-01750531

Submitted on 29 Mar 2018

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

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

UNIVERSITÉ DE LORRAINE

AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4
Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10
http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php
http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm

Université de Lorraine

École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires

École doctorale Ressources, Procédés, Produits et Environnement

Laboratoire Sols et Environnement UL-INRA UMR 1120

Laboratoire Interdisciplinaire des Environnements Continentaux UL-CNRS UMR 7360

Thèse

présentée en vue de l'obtention du titre de

Docteur de l'Université de Lorraine en Sciences agronomiques

Réactivité des hydrocarbures aromatiques polycycliques dans une terre de cokerie : influence de la répartition des contaminants et de l'introduction de matière organique fraîche

par Audrey PERNOT

Soutenance publique le 10 décembre 2013

Composition du jury :

Marie-France DIGNAC, CR INRA, BIOEMCO, AgroParisTech	Rapporteur
Philippe GARRIGUES, DR CNRS, ISM, Université de Bordeaux I	Rapporteur
Sabine HOUOT, DR INRA, EGC, AgroParisTech	Examinateur
Patrick GERMAIN, PR, LGCIE, INSA Lyon	Examinateur
Stéphanie OUVRARD, CR INRA, LSE, Université de Lorraine	Co-directrice
Pierre FAURE, CR CNRS, LIEC, Université de Lorraine	Directeur
Alain SAADA, BRGM	Invité
Pierre LEGLIZE, MCF, LSE, Université de Lorraine	Invité

Parce que je n’ai pas réalisé cette thèse

toute seule dans mon coin

…

…

je souhaite remercier toutes les personnes qui ont contribué de près ou loin à son élaboration dans les quelques lignes qui suivent.

Cependant, les écrire s’est avéré être une tâche bien plus compliquée que l’écriture des quelques 300 pages de ce mémoire, notamment par peur d’oublier (malencontreusement) quelqu’un.

C’est pourquoi, j’espère que toutes les personnes que j’ai côtoyées ces trois dernières années ne s’arrêteront pas sur les mots qui suivent mais auront pris la mesure de toute ma reconnaissance.

Je souhaiterais tout d’abord remercier **Laurence MANSUY-HUAULT** pour tous ses conseils pendant mes années d’étude, pour m’avoir fait découvrir le monde de la recherche et pour son « vas-y fonce, c’est un sujet en or pour toi ».

Laurence, puisque tu n’as pas pu assister à la soutenance, je te laisse lire le résultat de mon engagement dans ce sujet en or.

J’adresse un GRAND MERCI à mes trois directeurs de thèse, **Stéphanie OUVRARD**, **Pierre LEGLIZE** et **Pierre FAURE** pour la confiance qu’ils m’ont accordée pour mener à bien ce projet (surtout Pierre F et ses « t’es sûre que tu ne t’ais pas trompée ? on devrait recommencer la pyrolyse pour vérifier…☺), pour leur disponibilité, leur écoute, leurs conseils, leurs encouragements et leur soutien qui m’ont permis d’aller au bout de cette aventure.

Je remercie les membres du jury pour avoir accepté de juger ce travail. Merci à **Marie France DIGNAC** et **Philippe GARRIGUES** de bien avoir voulu être rapporteurs de cette thèse, merci à **Sabine HOUOT** et **Patrick GERMAIN** de l'avoir examinée et merci à **Alain SAADA** d'avoir accepté l'invitation à faire partie de ce jury. Merci pour la discussion, peu conventionnelle mais très enrichissante.

Je remercie **Jean Louis MOREL** et **Christophe SCHWARTZ**, directeurs du Laboratoire Sols et Environnement, de m'y avoir accueillie.

Cette thèse a été réalisée dans deux laboratoires, le LSE et le LIEC (enfin plus précisément le laboratoire de géochimie organique de Géoressources). J'exprime mes plus sincères remerciements à l'ensemble du personnel de ces deux (trois) laboratoires.

Merci à **Lucas CHARROIS** et **Rémi BALDO** d'avoir tamisé ma terre, point de départ de toutes mes expérimentations, à **Adeline BOUCHARD** pour les innombrables fractionnements granulo (partante pour une nouvelle série de 16 ?), à **Stéphane COLIN** pour la récolte du maïs si précieux pour mes incubations, à **Romain GOUDON** et **Jean Claude BEGIN** pour leur aide pendant mes 200 extractions Tenax (record à battre : 15 en une heure, tout en écoutant les petites annonces sur France Bleu), à **Alain RAKOTO** pour avoir résolu tous mes problèmes informatiques et à tout le secrétariat, **Séverine BONENBERGER, Laetitia DESPOUY** et **Sylvia L'HUILLIER**, merci pour la gestion de la dizaine de contrats que j'ai signé en 3 ans !

Côté chercheur, merci à **Catherine SIRGUEY** pour son aide avec le CNS, à **Françoise WATTEAU** pour m'avoir montré les joies de la loupe binoculaire et à **Emile BENIZRI** pour m'avoir initiée à l'extraction-fumigation.

En ce qui concerne le G2R/LIEC/Géoressources, j'adresse mes sincères remerciements à **Catherine LORGEOUX.** Merci de m'avoir aidée avec mes analyses GC-MS, d'avoir réparé Shishi lorsqu'il fuitait un peu et merci pour toutes nos discussions, scientifiques ou pas.

Merci à **Pierre Joseph HATTON** pour ses conseils dans la préparation de mon expérimentation d'incubation et à **Delphine DERRIEN** pour son implication, ses réflexions et son aide dans la valorisation de ces travaux.

Cette thèse a également été réalisée dans le cadre du **GISFI**. Je remercie toutes les personnes de ce groupement pour les bons moments passés lors des échantillonnages ainsi que pour les discussions très enrichissantes lors des sessions plénières. Une pensée particulière pour **Florent MARCUOLA**, merci pour toutes les discussions du midi, les tests et échanges de recettes et les pauses thé adossés au radiateur de la salle de réunion.

A tous mes compagnons de route, MERCI d'avoir été là.

A **Cédric,** mon thésard préféré, compagnon de bureau pendant 3 ans, on a commencé ensemble mais j'ai gagné, j'ai fini la première (ce qui fait que tu me dois quelque chose…), merci pour ta bonne humeur communicative, pour toutes nos discussions et notamment celles sur la génétique de Noccaea (… je crois que ce n'est pas encore très clair), merci pour toutes les soirées où tu m'as suivi dans mes délires années 80esque en déguisements ridicules !

A **Sarah**, compagne de festoch et concerts, merci pour tous ces bons moments de calmes détentes !

A **Hermine,** merci de tout connaître dans le LSE et d'avoir répondu à mon million de questions, merci pour toute l'aide que tu m'as apportée au cours de ces trois années.

A **Childos** (ou Frédéric de son vrai prénom), compagnon d'anniversaire (j'attends toujours de te voir danser tout nu autour d'un feu), merci pour tes « délicieux » gâteaux !

A **Sophie J, Joan** et **Lucia,** mes presque stagiaires de géochimie organique. Maintenant vous êtes des pros des HAP.

A **Yueming, Fatima, Claire** et **Ogier,** compagnons G2Riens. Yueming, merci pour tous les thés que tu m'as fait découvrir, Fatima, merci d'avoir soutenu un jour avant moi, tu es la personne qui m'a fait le plus stresser☺, Ogier, merci pour le prêt de blouse « Ogier » à chaque fois que je suis venue maniper chez vous.

Je n'oublies pas les anciens qui ont montré le chemin : **Fabien** (compagnon de fin de soirée dans les Vosges), **Lucie**, **David**, **Jean Marc**, **Coralie**, **Olivia**, **Pascale**, **Van Phuc**, **Benjamin**, **Sophie** et **Nouhou** et les nouveaux qui assurent la relève du staff doctorant : **Marie**, **Robin**, **Ryad**, **Bo** et **Marine.**

Je remercie également tous mes amis qui m'ont supportée et soutenue toutes ces années. Je pense notamment à **Aristide**, parti trop tôt, et **Sébastien**, merci pour toutes vos questions « c'est sur quoi ta thèse ? çà avance ? t'en es où ? et les premiers résultats ? ». Les réponses que je vous apportais m'ont permis de lever la tête du guidon !

Remerciements en musique et en danse pour tous les amis folkeux de Nancy et d'ailleurs, merci pour l'évasion et l'échappatoire. Mention spéciale à **Florence**, merci pour toutes nos danses, bals, festivals (je t'assure, même sous la pluie et la neige, c'était bien), tu resteras mon cavalier préféré et à **Thomas**, mon papy préféré.

Merci à toute ma **famille**, parents, grands parents, frère, sœur, oncles, tantes, cousin, cousine... merci de m'avoir soutenue et encouragée toutes ces années, sans vous, je ne serais pas allée aussi loin.

Les dernières lignes sont pour **toi**, récemment arrivé dans ma vie, merci de m'avoir encouragée et soutenue dans la dernière ligne droite. Et pour avoir préféré ta guitare à une relecture de mon manuscrit (je n'ai d'ailleurs toujours pas compris pourquoi ???), je te dédicasse les quelque fôtes d'ortografe restante !

« Ce n’est pas parce que les choses sont difficiles que nous n’osons pas,

c’est parce que nous n’osons pas qu’elles sont difficiles. »

Sénèque

SOMMAIRE

Introduction générale **1**

Chapitre I : État de l'art **8**

1. Les activités anthropiques et les polluants associés dans les sols 7
   1.1. Les activités liées à l'exploitation du charbon 7
   1.2. Polluants associés à la cokéfaction 8
   1.3. Dynamique des HAP dans les sols 15
2. Composition et structuration d'un sol naturel 27
   2.1. Principaux éléments constitutifs d'un sol 27
   2.2. Facteurs intervenant sur la structuration d'un sol 30
3. Objectifs de la thèse 33

Chapitre II : Matériels et méthodes **37**

1. Terre de Neuves-Maisons et ses principales propriétés 37
2. Méthodes analytiques 38
   2.1. Prétraitement des échantillons 38
   2.2. Analyses granulométriques 39
   2.3. Techniques d'observations 44
   2.4. Caractérisation minéralogique : diffraction des rayons X 45
   2.5. Dosage du carbone du sol 46
   2.6. Extraction et fractionnement de la matière organique extractible 50
   2.7. Extraction des HAP disponibles 55
   2.8. Analyses moléculaires 56
   2.9. Estimation de la biomasse microbienne 62
   2.10. Plan des expérimentations et analyses 63
3. Analyses statistiques 63

Chapitre III : Caractérisation de la terre NM **65**

1. Résultats 68
   1.1. Caractérisation de la structure de la terre 68
   1.2. Caractérisation des constituants de la terre 70
   1.3. Caractérisation de la pollution 78
2. Discussion : un matériau anthropique complexe 98
   2.1. Nature anthropique des constituants 98
   2.2. Pollution piégée dans la terre 98

2.3. Rôle protecteur des limons fins 100
3. Conclusion 102
Chapitre IV : Rôle de la MO anthropique dans la structure de la terre NM 105
1. Protocole d'extraction de la MO 107
1.1. Conditionnement des échantillons et choix des solvants 107
1.2. Extraction des différents types de MO 108
1.3. Analyse des terres pré-extraites 111
2. Résultats 112
2.1. Impact de l'extraction sélective de MO sur la structure de la terre NM 112
2.2. Impact des extractions sélectives de la MO sur la pollution 116
3. Discussion 123
4. Conclusion 126
Chapitre V : Rôle de la MO naturelle sur la structure et la répartition des HAP 139
1. Étude à l'échelle du laboratoire 131
1.1. Incubation du maïs dans la terre NM 132
1.2. Impact agronomique 134
1.3. Impact sur la pollution 143
2. Étude à l'échelle lysimétrique 154
2.1. Parcelles lysimétriques du site expérimental du GISFI 155
2.2. ^{14}C 157
2.3. Évolution de la structure 158
2.4. Impact de la culture sur la pollution 160
3. Discussion : confrontation des expérimentations *in situ* et en conditions contrôlées 172
3.1. Incorporation de matière organique fraîche en conditions contrôlées 172
3.2. Impact des résidus végétaux sur la pollution 175
3.3. Comparaison des expérimentations en conditions contrôlées et *in situ* 176
4. Conclusion 180
Conclusion Générale : un modèle d'évolution de la MO anthropique 184
Références Bibliographiques 195
Annexes 217

INTRODUCTION

GENERALE

La fin des activités industrielles liées au charbon et à son exploitation a laissé de nombreux sites et sols pollués en France et particulièrement dans le Nord-Est de la France, région ayant connu un fort passé minier et industriel. Les terres retrouvées sur ces anciens sites industriels et notamment sur ceux des anciennes cokeries restent marquées par la présence de divers matériaux d'origine industrielle et remblais mais également de particules de coke, de goudron de houille, de charbon, de billes de fer ou encore de fragments de briques ou autres matériaux de construction (Figure 1). Selon la classification de la WRB, ces sols constituent un technosol (Monserie et al., 2009), c'est-à-dire sont composés d'au moins 20 % de matériaux technogéniques.

Figure 1 : Photographies des terres et sols retrouvés sur le site de l'ancienne cokerie d'Homécourt (Meurthe et Moselle, France)

La présence de ces matériaux et notamment celle de goudron entraîne une forte contamination de ces sites par les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (Allard et al., 2000; Bayard et al., 2000; Luthy et al., 1993), composés reconnus pour leur nocivité. Ces sols présentent donc des risques pour la santé humaine et celle des écosystèmes. Ils imposent de mettre en place des modes de gestion adaptés conduisant fréquemment à la réalisation de procédés de remédiation. Il existe plusieurs techniques de dépollution de ce type de sol, dont des techniques thermiques et chimiques. Cependant, bien que généralement efficaces, ces techniques coûteuses entraînent une dégradation des fonctions agronomiques des sols aboutissant souvent à la perte de la fonction de support de végétation. C'est pourquoi, les traitements biologiques, plus respectueux de l'environnement, peuvent être une alternative plus intéressante. Parmi ces techniques, la phytoremédiation, technique utilisant le potentiel

combiné des plantes et des microorganismes associés, permet de contenir, inactiver, dégrader ou éliminer les contaminants du sol (Sterckeman et al., 2011).

Toutefois, les sols de friches industrielles historiquement contaminés présentent le plus souvent une faible disponibilité des contaminants, ce qui entraîne une limitation majeure de l'efficacité des processus de bioremédiation. A titre d'exemple, seulement 1 % de la totalité des HAP contaminant le sol de l'ancienne cokerie de Neuves-Maisons (Lorraine, France) est disponible (Louvel, 2010; Pernot et al., 2013). Cette faible disponibilité est clairement un frein à l'application de traitements de remédiation biologiques (Allard et al., 2000; Pignatello and Xing, 1996). Il est à noter que cette très faible disponibilité est également un verrou pour certain traitement de dépollution faisant appel à des procédés chimiques comme l'ISCO (*in situ* chemical oxidation, Usman et al., 2012b).

Il a été démontré que plusieurs facteurs influençaient la disponibilité des HAP dans le sol :

(i) **le vieillissement de la contamination** : plus le temps de contact entre les contaminants et les particules du sol augmente, plus la disponibilité diminue (Alexander, 2000; Oleszczuk, 2009),

(ii) **la nature des constituants** : la sorption des contaminants organiques hydrophobes (tels que les HAP) est plus importante sur les particules de matière organique (MO) (Pan et al., 2006),

(iii) **la taille des particules du sol** : toutefois, les études réalisées sur le facteur « taille des particules » ont cependant montré des résultats contradictoires, certains auteurs montrent que les particules grossières (> 250 µm) influencent la sorption des HAP (Li et al., 2010; Yang et al., 2008) et d'autres montrent qu'il s'agit plutôt des particules fines (< 250 µm) (Liao et al., 2013; Lu et al., 2012; Uyttebroek et al., 2006).

Cependant, beaucoup de ces études portant sur une meilleure compréhension des facteurs contrôlant la disponibilité sont réalisées sur des sols artificiellement contaminés, notamment celles se focalisant sur le vieillissement des contaminants. Ces approches simplifiées ne permettent pas de prendre en compte la très grande complexité des terres industrielles. D'autres approches préfèrent aborder la complexité de tels systèmes en ciblant des terres réelles. Mais dans ce cas, elles se basent le plus souvent sur des caractéristiques incomplètes (concentration des HAP, distribution granulométrique) ne permettant pas d'appréhender tous les paramètres mis en jeu.

Par ailleurs, ces études sont réalisées le plus souvent au laboratoire en conditions contrôlées, ne permettant pas l'intégration de façon satisfaisante des conditions de terrain négligeant ainsi les effets météoriques mais également le rôle du sol comme support de végétation. La libération d'exsudats racinaires peut en effet modifier la structuration du sol (déstructuration par destruction de ponts cationiques entre les particules de sol - Barnier (2009)) et provoquer une augmentation de la disponibilité des contaminants organiques comme les HAP.

C'est pourquoi, les objectifs de ce travail de thèse sont de mettre en évidence les facteurs contrôlant la disponibilité des HAP dans un sol réel historiquement contaminé (i) en réalisant tout d'abord un travail de caractérisation exhaustif permettant notamment de déterminer la localisation de la pollution au sein des fractions granulodensimétriques de la terre, (ii) en réalisant des extractions sélectives de matière organique afin de mettre en évidence le rôle de ces fractions organiques spécifiques sur la structuration de la terre et (iii) en réalisant des expérimentations d'incorporation de résidus végétaux dans le sol au laboratoire (maïs) et de culture (luzerne) sur le terrain pour évaluer le comportement de la terre et de la pollution associée en contexte de croissance de végétation. Ces travaux permettront de proposer un modèle d'évolution de la structure d'une terre de cokerie, de la répartition et de la préservation des contaminants associés en contexte de croissance de végétation.

CHAPITRE I

ÉTAT DE L'ART

SOMMAIRE CHAPITRE I

1. Les activités anthropiques et les polluants associés dans les sols 7
1.1. Les activités liées à l'exploitation du charbon 7
1.2. Polluants associés à la cokéfaction 8
1.2.1. Le kérogène : le coke et le charbon 10
1.2.2. Les résines et asphaltènes 11
1.2.3. Les hydrocarbures aliphatiques 12
1.2.4. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques : HAP 12
1.3. Dynamique des HAP dans les sols 15
1.3.1. Adsorption des HAP sur la MO 15
1.3.1.1. La disponibilité 16
1.3.1.2. Facteurs contrôlant l'adsorption 19
1.3.2. Processus de transformation des HAP 21
1.3.2.1. Les transformations abiotiques 22
1.3.2.2. Les transformations biotiques 22
1.3.3. Les traitements de remédiation des sols 23
1.3.4. La phytoremédiation 25
2. Composition et structuration d'un sol naturel 27
2.1. Principaux éléments constitutifs d'un sol 27
2.2. Facteurs intervenant sur la structuration d'un sol 30
2.2.1. Association des constituants : la structure du sol 30
2.2.2. Influence des facteurs naturels sur la structure du sol 31
3. Objectifs de la thèse 33

1. Les activités anthropiques et les polluants associés dans les sols

Un sol anthropisé est un sol fortement modifié par l'action humaine. Actuellement ce type de sol couvre largement le territoire en incluant les zones urbaines, les réseaux routiers et ferroviaires, les zones industrielles et commerciales, les ports et aéroports, les carrières, les mines, les chantiers et décharges, les espaces verts, sportifs ou de loisirs (Séré, 2007). Les friches industrielles en sont un cas extrême, par le fort degré de pollution organique et/ou minérale résiduelle après arrêt ou démantèlement de l'usine mais également par la présence dans le sol de matériaux technogéniques spécifiques (béton, remblais, charbon, goudron, bitume…).

1.1. Les activités liées à l'exploitation du charbon

L'exploitation du charbon a commencé au 19e siècle en Europe de l'Ouest et particulièrement dans le Nord et l'Est de la France. Cette exploitation a connu une expansion rapide avec la révolution industrielle puis a diminué à la fin du 20e siècle. La dernière mine de charbon en France a fermé en 2004.

L'important passé industriel du Nord-est de la France a laissé des traces dans les sols : la Lorraine compte plus 350 sites et sols pollués par des métaux et/ou par des contaminations organiques, représentant plus de 7,5 % de la totalité des sites et sols pollués en France (BASOL, 2013). Ces 350 sites représentant plus de 6000 ha, sont depuis plusieurs décennies des enjeux majeurs pour le territoire.

Une des principales activités liées au charbon ayant eu cours en Lorraine est la cokerie. Une cokerie est une usine de transformation du charbon en coke, combustible à forte énergie calorifique, par une pyrolyse à 1200°C. La distillation du charbon produit également deux sous-produits : le goudron de houille et le gaz dit « de ville », utilisé du début du 20e siècle jusqu'au début des années 60 à des fins énergétiques industrielles, domestiques ou encore pour l'éclairage urbain (Hawthorne et al., 2002). La pyrolyse de 100 kg de charbon produit 70 à 85 kg de coke, 2 à 6 kg de goudron et 10 à 20 kg de gaz (Duchêne et al., 1991).

Le goudron de houille est une MO anthropique amorphe constituée d'un mélange de nombreux composés organiques aromatiques dont des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) de haut poids moléculaire (Allard et al., 2000; Bayard et al., 2000;

Luthy et al., 1993). C'est la raison pour laquelle les sites où étaient implantées des usines ayant utilisé le charbon telles que les cokeries se retrouvent fortement contaminés par des composés organiques (e.g. HAP) (Haeseler et al., 1999). Ces activités ayant débuté à la fin du 19e siècle ou au début du 20e, ces sols sont caractérisés par un vieillissement de la contamination présente et sont souvent appelés « sols historiquement contaminés ».

1.2. Polluants associés à la cokéfaction

Les terres présentes sur ces anciens sites de cokeries contiennent donc divers matériaux, comme des matériaux de construction et diverses matières organiques comme le coke, le charbon ou encore le goudron de houille. Ce dernier est considéré comme la source majeure de contamination organique sur ces sites (Luthy et al., 1994). Le charbon et le coke, bien qu'ils représentent des sources moins importantes de contamination sont également présents en quantité non négligeable. Ces différentes phases organiques renferment différentes familles de composés présentées dans le paragraphe ci-après.

Les polluants présents étant essentiellement hérités de la matière organique fossile (charbon) et de ses sous-produits (coke et goudron de houille), il paraît indispensable de les décrire tels qu'ils sont considérés par les géochimistes organiciens.

Dans le cadre d'une approche descriptive de géochimie organique, la terre, dans notre contexte une terre de friche, est constituée d'une fraction minérale et d'une fraction organique. Cette fraction organique est constituée de deux phases : (i) le kérogène, correspondant à la fraction organique non soluble dans les solvants organiques usuels (chloroforme, dichlorométhane) et (ii) l'extrait organique, correspondant à la fraction organique soluble dans ces solvants. Cette fraction soluble est généralement fractionnée en quatre sous-fractions (fractionnement SARA). Les composés qui ne sont pas solubles (précipitation) dans les solvants aliphatiques (*n*-pentane, *n*-hexane ou *n*-heptane) sont appelés asphaltènes. La fraction restant soluble est appelée maltène. Ces maltènes peuvent être à leur tour fractionnés en trois autres familles de constituants par chromatographie liquide : les hydrocarbures aliphatiques, les hydrocarbures aromatiques et les résines. Ces différents fractionnements sont représentés Figure 2.

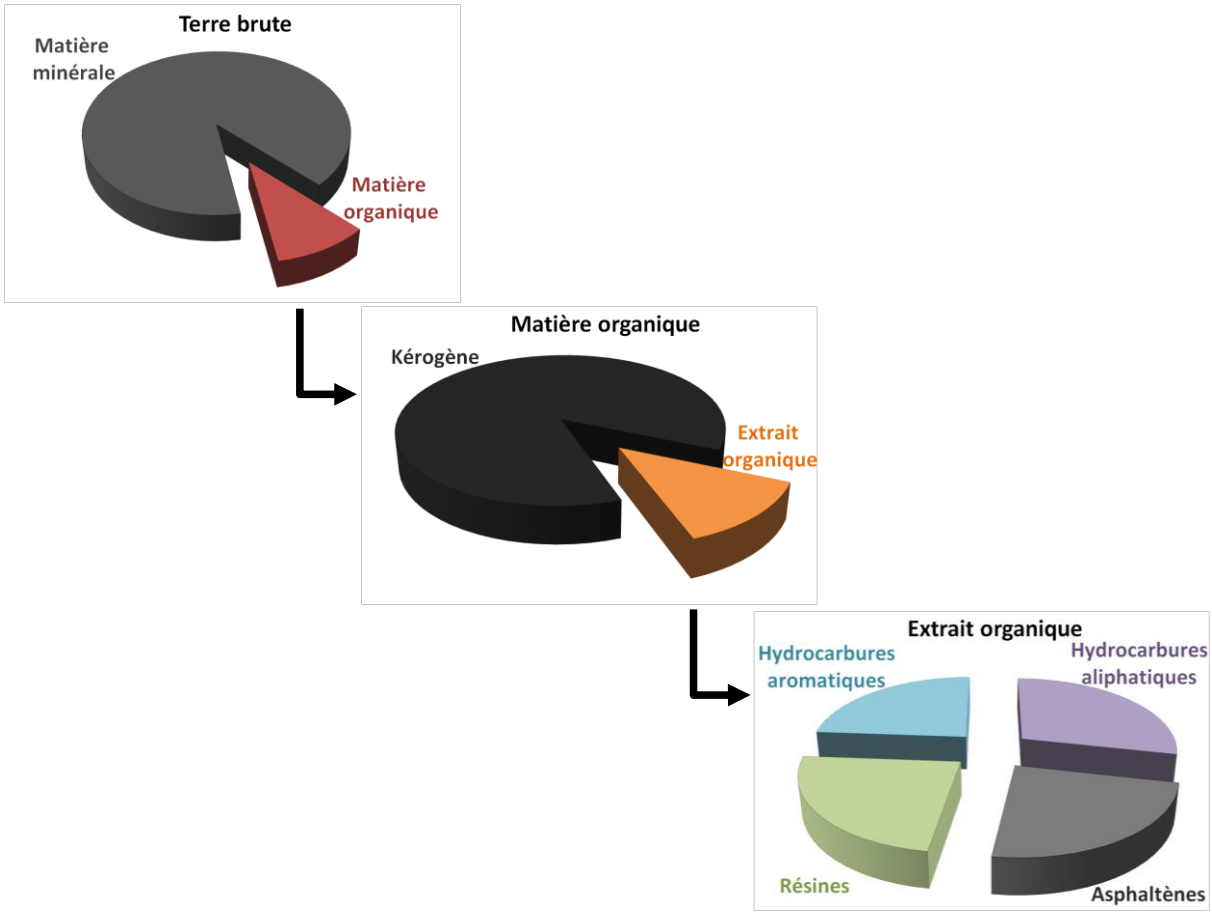

Figure 2 : Fractionnement de la matière organique

A titre d'exemple, la Figure 3 présente la proportion des quatre familles du fractionnement SARA (hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques, résines et asphaltènes) pour un goudron de houille, deux terres de cokerie (Homécourt et Neuves-Maisons, Lorraine, France), un pétrole (Péchelbronn, Alsace, France) et une terre de raffinerie. Ces exemples montrent que les hydrocarbures présents dans le goudron de houille et les terres de cokerie sont principalement des hydrocarbures aromatiques alors que pour les contaminations par du pétrole, les hydrocarbures sont principalement des hydrocarbures aliphatiques.

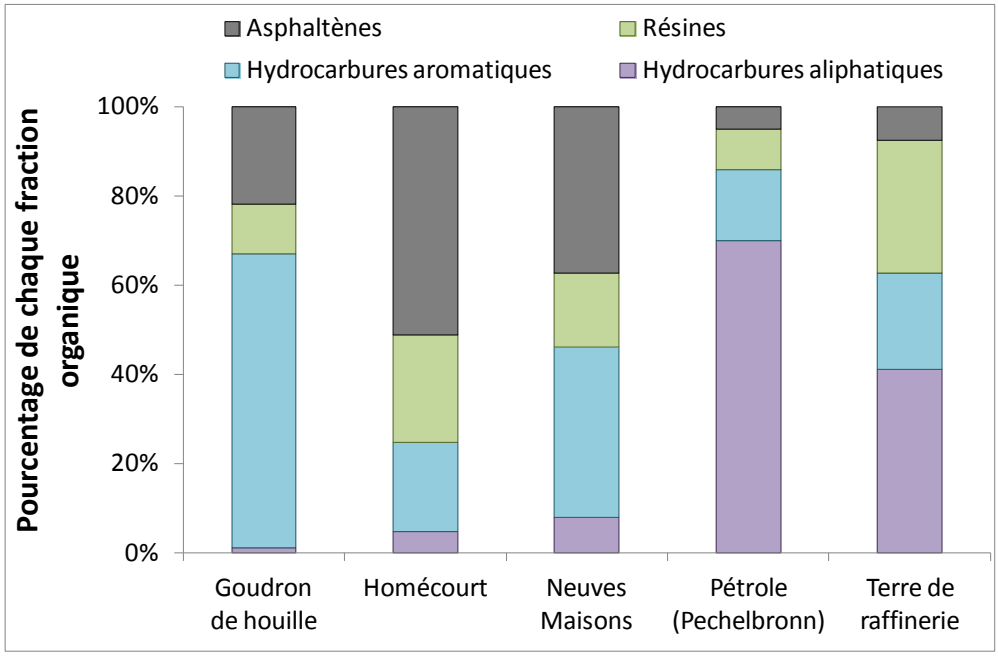

Figure 3 : Composition en hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques, composés polaires et asphaltènes d'un goudron de houille, de deux terres de cokerie, d'un pétrole et d'une terre de raffinerie (Biache, 2010)

Très brièvement, nous allons donner quelques caractéristiques de ces différentes familles avec toutefois un éclairage plus important pour la fraction « hydrocarbures aromatiques » qui contient les HAP, polluant majoritairement retrouvé dans les terres d'anciennes cokeries.

1.2.1. Le kérogène : le coke et le charbon

Le charbon fossile, à ne pas confondre avec le charbon de bois ou biochar, résulte de la fossilisation par enfouissement d'éléments organiques, principalement des plantes vasculaires, au cours des temps géologiques (Killops and Killops, 2005). Les principaux éléments composant le charbon sont le carbone (55 % au minimum), l'hydrogène, l'oxygène, l'azote et le soufre. L'oxygène se trouve principalement dans les fonctions carboxyliques, cétones et hydroxyles mais sa teneur dépend de la profondeur d'enfouissement (et donc de la température) à laquelle le charbon s'est formé : plus la profondeur est grande, plus le charbon est pauvre en oxygène (en lien avec le degré de maturation thermique). L'azote est trouvé dans les fonctions amines ainsi que dans les cycles aromatiques. Enfin, le soufre est trouvé

dans les fonctions thiols, sulfides et dans les cycles aromatiques. Le soufre peut également se trouver sous forme inorganique (pyrite).

Le coke, issu de la transformation du charbon par pyrolyse, est constitué principalement de carbone (~90 %) (Duchêne et al., 1991). Le coke est un matériau poreux présentant une faible densité apparente, de l'ordre de 0,9 à 1 g cm^{-3}. Il possède des propriétés calorifiques nettement plus importante que le charbon dont il provient et a été et reste encore de nos jours beaucoup utilisé dans la sidérurgie.

1.2.2. Les résines et asphaltènes

Les résines et les asphaltènes sont des familles de composés polaires constitués de composés aromatiques polycycliques pouvant être ramifiés par des chaînes alkyl. Ces deux familles sont distinguées par leur solubilité dans les solvants organiques. Les asphaltènes sont insolubles dans les solvants aliphatiques de types *n*-heptane ou *n*-hexane. Ils sont constitués principalement de noyaux aromatiques condensés dont les composés présentent des poids moléculaires compris entre 200 et 1500 Da (Liao et al., 2009). A l'inverse, les résines constituent la fraction polaire soluble dans les solvants aliphatiques.

Dans leur structure, les composés polaires (résines et asphaltènes) contiennent en plus du carbone et de l'hydrogène, de l'oxygène, de l'azote et du soufre à travers divers groupes fonctionnels tels que :

- alcool (-OH)
- acide carboxylique (-COOH)
- cétones (RR'-C=O)
- ethers-oxydes (R-O-R')
- esters (R-COO-R')
- aldéhydes (R-CH=O)
- thiol (-SH)
- amine ($-NH_2$)

1.2.3. Les hydrocarbures aliphatiques

Les hydrocarbures aliphatiques sont constitués d'hydrocarbures saturés appelés alcanes. Les liaisons entre les atomes de carbone sont simples. Ces molécules peuvent être cycliques (cyclo-alcanes) ou acycliques (*n*-alcanes et *iso*-alcanes). Certaines peuvent contenir une ou plusieurs liaisons doubles : il s'agit des hydrocarbures insaturés appelés alcènes (Figure 4). Les *n*-alcanes naturels proviennent principalement des cires cuticulaires des végétaux et des parois cellulaires des champignons. Mais ils sont principalement introduits dans l'environnement *via* l'utilisation des hydrocarbures pétroliers.

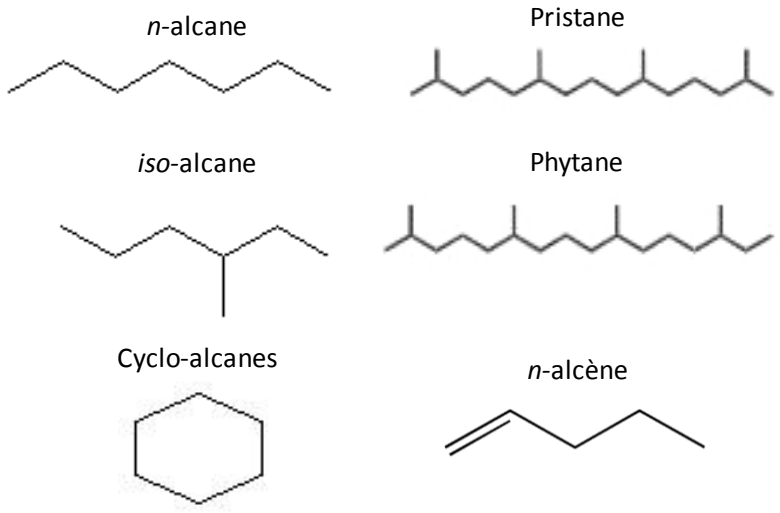

Figure 4 : Exemples d'hydrocarbures aliphatiques

1.2.4. Les hydrocarbures aromatiques polycycliques : HAP

Les HAP sont des composés organiques regroupant quelques centaines de molécules. Ils sont composés d'au moins deux noyaux benzéniques fusionnés entre eux et renfermant seulement des atomes d'hydrogène et de carbone (Menzie et al., 1992). Parmi ces nombreuses molécules, seize figurent sur la liste des polluants prioritaires de l'US-EPA (United States Environmental Protection Agency) car ils sont reconnus pour leurs propriétés toxiques, cancérigènes et pour certains mutagènes. La structure chimique de ces 16 composés est donnée Figure 5.

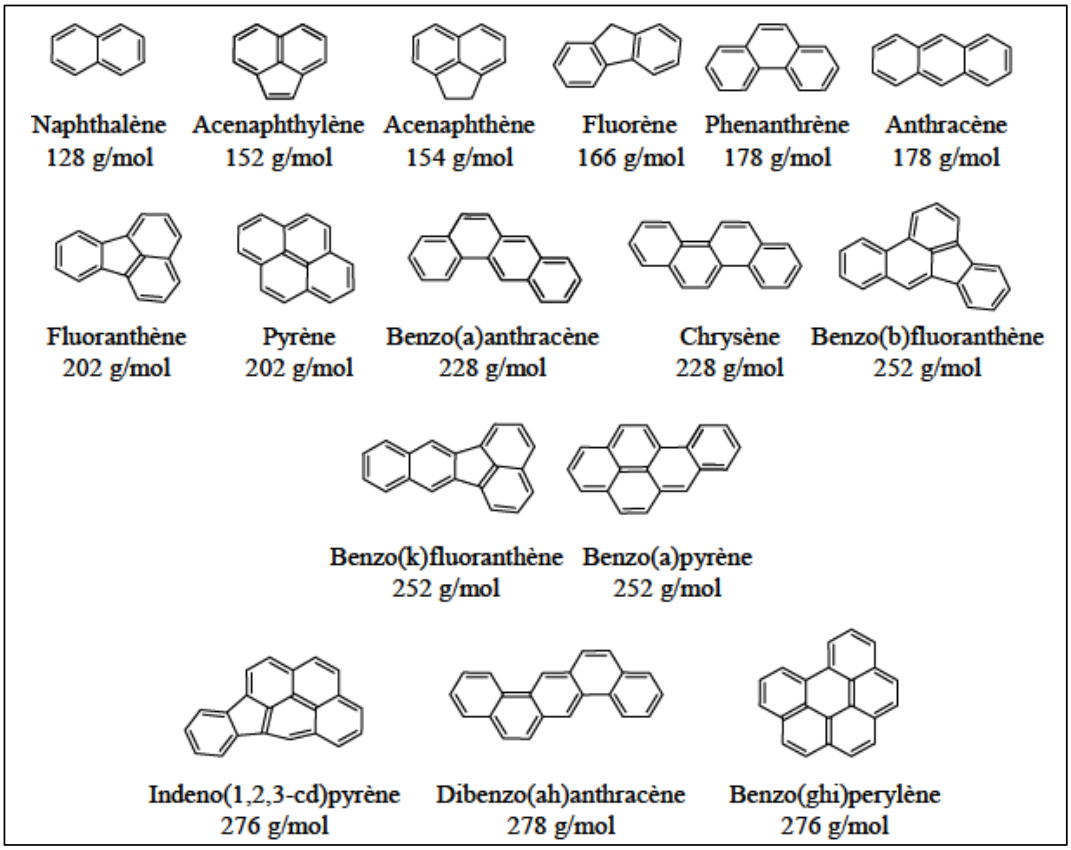

Figure 5 : Formule développée, nom et masse moléculaire des 16 HAP de la liste prioritaire de l'agence pour la protection de l'environnement des Etats-Unis (US-EPA) (Jeanneau, 2007)

Les HAP peuvent avoir quatre origines différentes : (i) naturelle, (ii) diagénétique, (iii) pétrogénique ou (iv) pyrolytique.

(i) Les HAP peuvent être introduits dans l'environnement *via* des processus naturels comme des éruptions volcaniques ou des feux de forêts (Menzie et al., 1992). Certains HAP comme le rétène et le pérylène sont synthétisés par des organismes vivants (végétaux, champignons…) (Achten and Hofmann, 2009).

(ii) Les HAP d'origine diagénétique dérivent de transformations post-dépôt de précurseurs biogéniques, ils sont formés *in situ* dans les sédiments lors de la maturation thermique de la matière organique sédimentaire (Micic et al., 2011; Silliman et al., 1998).

(iii) Les HAP d'origine pétrogénique proviennent des pétroles bruts et des produits dérivés (essence, fuel, lubrifiant, bitume) et sont formés lors de la distillation dans les raffineries (Achten and Hofmann, 2009; Micic et al., 2011).

(iv) Les HAP d'origine pyrolytique sont formés lors de la combustion incomplète et/ou de la pyrolyse de toute MO. Ainsi les gaz d'échappement des véhicules, le chauffage résidentiel ou encore des processus industriels comme la production de coke sont des sources significatives de HAP dans l'environnement (Mandalakis et al., 2005; Micic et al., 2011). L'origine pyrolytique est la source majoritaire des HAP dans l'environnement (Menzie et al., 1992).

Les propriétés physico-chimiques des HAP sont dépendantes du nombre de cycles aromatiques qui les composent. Le caractère hydrophobe est mesuré par le coefficient de partage octanol-eau, K_{ow} (Reid et al., 2000). Ce paramètre représente l'affinité d'une molécule pour une phase organique, l'octanol. Il est souvent exprimé en logarithme. Des valeurs supérieures à 4 indiquent un caractère lipophile, autrement dit hydrophobe (Killops and Killops, 2005). Le Tableau 1 présente les principales propriétés chimiques des 16 HAP réglementaires. Ce tableau montre que le caractère hydrophobe augmente avec le nombre de cycles aromatiques. Inversement, la solubilité et la volatilité diminuent avec l'augmentation du nombre de cycles aromatiques. Cette dernière est mesurée par la constante de Henry. Une substance est considérée comme volatile si sa constante de Henry est nettement supérieure à 1 Pa m^3 mol^{-1}.

Tableau 1 : Caractéristiques chimiques d'HAP possédant un nombre de cycles benzéniques croissant (données issues des fiches toxicologiques de l'INERIS)

	Nombre de cycles aromatiques	**Solubilité dans l'eau à 25°C (mg L^{-1})**	**Constante de Henry à 25°C (Pa m^3 mol^{-1})**	**Log K_{ow}**
Naphtalène	2	31,8	48,9	3,40
Acénaphthylène	2	16	8,4	4,00
Acénaphtène	2	3,7	14,7	3,92
Fluorène	2	1,98	9,2	4,18
Phénanthrène	3	1,2	2,9	4,57
Anthracène	3	0,045	5,04	4,45
Fluoranthène	3	0,26	1,5	5,10
Pyrène	4	0,13	$1,1.10^{-3}$	5,32
Benzo(a)anthracène	4	0,011	0,58	5,91
Chrysène	4	2.10^{-3}	0,1	5,70
Benzo(b)fluoranthène	4	0,0012	0,05	6,57
Benzo(k)fluoranthène	5	$7,6.10^{-4}$	0,069	6,84
Benzo(a)pyrène	5	3.10^{-3}	4.10^{-2}	6,00
Indéno(1,2,3-cd)pyrène	5	0,062	$2,9.10^{-2}$	6,60
Dibenzo(ah)anthracène	5	$0,5.10^{-3}$	$4,8.10^{-3}$	6,70
Benzo(ghi)pérylène	6	$2,6.10^{-4}$	$1,4.10^{-2}$	6,73

1.3. Dynamique des HAP dans les sols

1.3.1. Adsorption des HAP sur la MO

Lors de la contamination d'un site par des HAP, ceux de bas poids moléculaire peuvent être lessivés ou volatilisés, mais la majorité d'entre eux restent piégés dans le sol en raison de plusieurs mécanismes de sorption (Reid et al., 2000; Semple et al., 2003). La sorption correspond à la fixation d'un élément par une phase porteuse. Elle comprend deux mécanismes, l'absorption et l'adsorption.

L'absorption est le mécanisme permettant à une espèce chimique d'entrer dans une phase solide, liquide ou gazeuse (Honeyman and Santschi, 1988). L'adsorption est un phénomène de surface permettant l'association d'une espèce chimique par des liaisons de Van der Waals à la surface des particules solides du sol (Figure 6). Elle peut avoir lieu sur toutes les particules du sol, mais elle reste minime sur les particules minérales et se renforcent en présence de MO (Appert-Collin et al., 1999; Murphy et al., 1990). La diffusion est le mécanisme de transfert des composés à l'intérieur des pores des particules du sol (Semple et al., 2003) (Figure 6). Elle peut s'effectuer dans les pores de tous les types de particules, organiques ou minérales, et également dans les pores des agrégats (Bogan and Sullivan, 2003; Cornelissen et al., 1998; Hatzinger and Alexander, 1995). A l'intérieur des pores, le piégeage s'effectue par adsorption. La désorption est le processus inverse de l'adsorption qui permet la libération des éléments retenus. Cependant, l'adsorption n'est pas totalement réversible (Ressler et al., 1999) : la quantité d'éléments désorbés est inférieure à la quantité d'éléments adsorbés. Ce phénomène est appelé hystérèse. L'ensemble de ces processus, sorption et désorption, modifient le statut des polluants, qui passent d'un état libre, soit d'un état disponible, à un état piégé, soit non disponible.

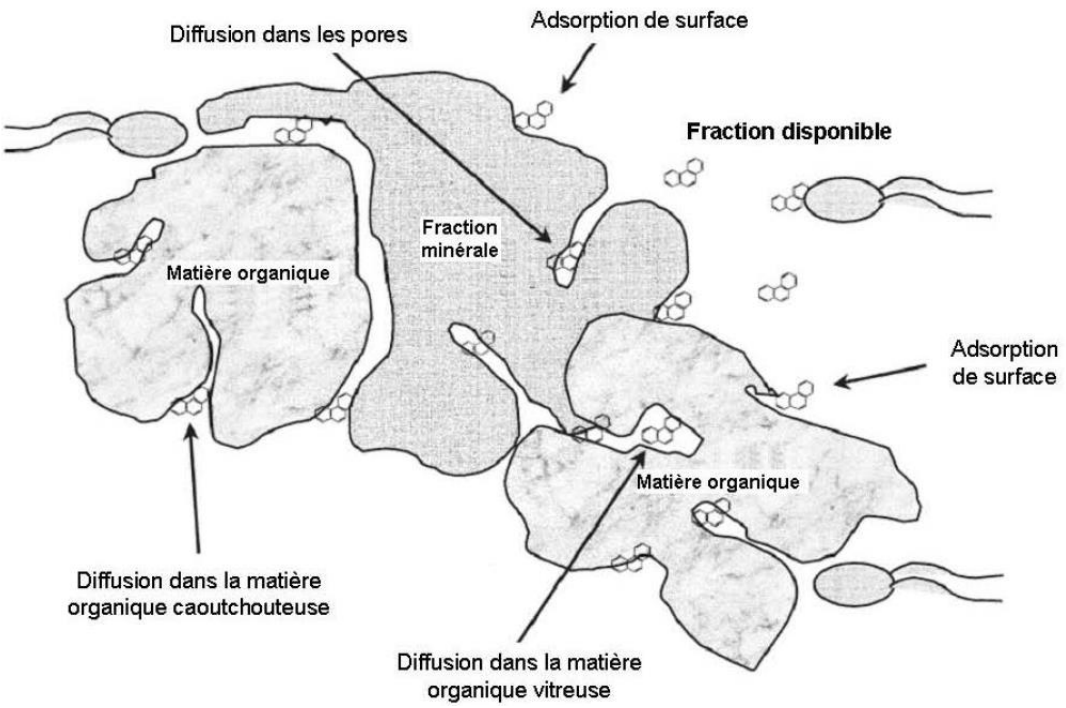

Figure 6 : Mécanismes d'adsorption et de diffusion entre un polluant et les particules de sol (Semple et al, 2003)

1.3.1.1. La disponibilité

Le statut disponible d'un contaminant désigne la forme sous laquelle il peut potentiellement subir des processus biologiques (e.g. absorption par un organisme vivant, biodégradation), chimiques (e.g. oxydation) ou physiques (e.g. lixiviation). Le statut biodisponible se réfère uniquement à la fraction d'un composé qui peut être absorbée ou transformée par des organismes vivants (végétaux, microorganismes) (Semple et al., 2004). Au cours de cette thèse, seul le terme de « disponibilité » sera utilisé afin de ne pas donner d'*a priori* quant au mode de dissipation des HAP (biologique, chimique ou physique). La disponibilité correspond à la combinaison de deux processus en série : la mobilisation et le transport (Figure 7). Ces deux processus permettent aux contaminants de passer de la phase solide du sol aux phases fluides pour atteindre les organismes cibles tels que les microorganismes ou les racines ou pour être « visibles » par un oxydant ou encore pour être lixiviés (Calvet, 2003; Semple et al., 2004). La concentration d'un polluant organique disponible est inférieure (voire identique dans le cas d'une disponibilité totale) à la concentration totale du même polluant déterminée par extraction dans des solvants organiques (Alexander, 2000; Tang et al., 2002).

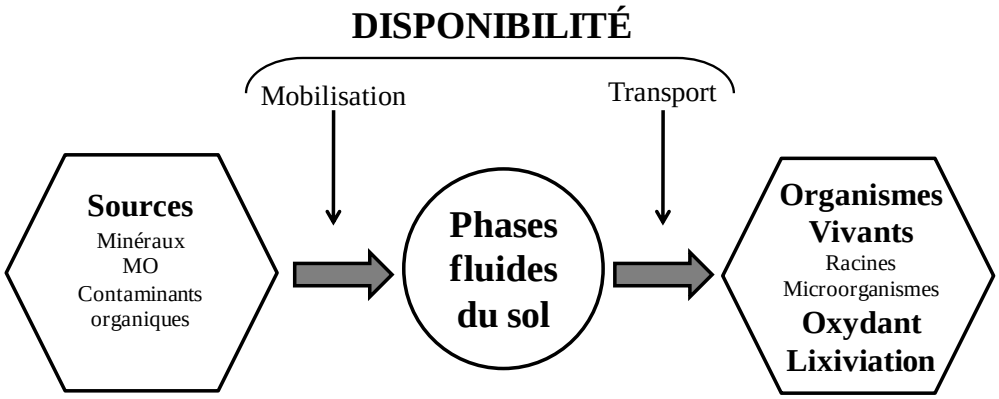

Figure 7 : Schéma général définissant la disponibilité

Il existe plusieurs méthodes pour estimer la concentration d'un polluant disponible dans un sol. Cinq principaux types de mesures peuvent être effectués : mesures à cible biologique, extraction douce avec des solvants tels que le butanol, des extractions à la cyclodextrine (molécule cage), mesures à l'aide d'échantillonneurs passifs et des extractions sur phase solide telles que des résines adsorbantes polymériques comme le Tenax®.

Les mesures à **cible biologique** consistent à mesurer la quantité de polluants biodégradée par les microorganismes du sol lors d'une incubation du sol en conditions optimales, c'est-à-dire en présence d'une biomasse microbienne dégradante active et non limitante et/ou la quantité absorbée par des vers de terre ou des végétaux (Kelsey et al., 1997). Des expérimentations de bioaccumulation avec des vers de terre peuvent ainsi être utilisées (ten Hulscher et al., 2003). Cependant, cette méthode ne semble pas adaptée au contexte de friches industrielles caractérisé par des fortes concentrations en polluants avec de très faibles pourcentages de disponibilité.

Les méthodes d'**extraction douce** par solvants ont pour objectif de faciliter la détermination de la fraction disponible par rapport à la méthode biologique. L'extraction des HAP par un solvant « doux », comme le butanol, peut présenter une bonne corrélation avec la fraction biodégradée et est rapide à mettre en œuvre (Kelsey et al., 1997; Liste and Alexander, 2002; Reid et al., 2000).

L'hydroxypropyl-β-cyclodextrine est un polymère composé de six molécules de glucose et transformé chimiquement pour augmenter sa solubilité dans l'eau. La structure de la cyclodextrine possède des cavités hydrophobes permettant le piégeage de composés

organiques tels que les HAP. Plusieurs études montrent une bonne corrélation entre la quantité de HAP extraite par la cyclodextrine et la quantité de HAP minéralisée par les bactéries (Reid et al., 2000; Stokes et al., 2005).

Les méthodes d’estimation de la disponibilité par **échantillonneurs passifs** sont centrées sur la détermination des concentrations dissoutes dans l’eau des pores (Barthe et al., 2008). Le polyoxyméthylène est un matériau couramment utilisé dans le cas des HAP (Hong and Luthy, 2008). Une étude de Gomez-Eyles et al. (2012) a montré que les échantillonneurs passifs fournissaient une meilleure prédiction de l’accumulation des HAP dans des vers de terre ou dans des racines de plantes par rapport aux méthodes classiquement utilisées (cyclodextrine, butanol).

Les méthodes d’**extraction sur phase solide** utilisent de nombreux types de phases comme la résine Tenax qui ont une forte affinité pour les composés hydrophobes. La résine Tenax est un adsorbant et permet de piéger les polluants passés en phase aqueuse (Cornelissen et al., 1998). Elle a fait l’objet de nombreux travaux (voir par exemple MacRae and Hall, 1998; Oleszczuk, 2009; ten Hulscher et al., 2003) et montrent notamment une bonne corrélation avec la bioaccumulation de HAP par des vers de terre. De plus, Roskam and Comans (2009) ont montré que l’estimation de la disponibilité par la résine Tenax était répétable en comparaison avec d’autres méthodes (lessivage en batch ou en colonnes) et recommandent cette technique pour la détermination de la fraction disponible de HAP. La résine Tenax a été plus particulièrement étudiée au cours d’une thèse au Laboratoire Sols et Environnement (Barnier, 2009) qui a permis la mise au point d’un protocole d’extraction adapté aux sols anciennement contaminés (Barnier et al., en révision).

Dans le cas des HAP, le processus majeur qui gouverne leur comportement c'est-à-dire leur statut, disponible ou non, est la sorption et particulièrement la sorption sur la MO (Ockenden et al., 2003; Wilcke, 2000). La MO présente dans les sols de friches industrielles et particulièrement dans les sols d’anciennes cokeries a donc à la fois un rôle de source de polluant en raison des HAP qu’elle contient et un rôle de phase porteuse.

1.3.1.2. Facteurs contrôlant l'adsorption

Plusieurs paramètres contrôlent l'adsorption des polluants sur les particules de sol tels que le temps de contact entre le polluant, la nature des particules du sol (organique ou minérale), la nature de la MO et sa composition ainsi que la taille des particules.

Les mécanismes qui contrôlent l'adsorption des HAP dans les sols de friches industrielles et donc qui contrôlent leur statut, piégé ou libre, ont beaucoup été étudiés sur des sols naturels artificiellement contaminés par un ou plusieurs HAP. Ces études ne prennent donc pas en compte la complexité du système « sol industriel » (Liste and Alexander, 2002; MacRae and Hall, 1998; Oleszczuk, 2009; White et al., 1997). Néanmoins, ces études ont mis en évidence par des expérimentations de vieillissement de plus de 200 jours de la pollution en laboratoire que la disponibilité des contaminants diminue avec l'âge de la pollution, c'est-à-dire avec l'augmentation du temps de contact avec les particules du sol. En 2010, Ling et al. ont artificiellement contaminé quatre sols avec du phénanthrène. Ils ont montré qu'après 16 semaines de vieillissement, seulement 6 à 28 % du phénanthrène initial restait disponible par extraction à la cyclodextrine. Ces expérimentations de vieillissement en laboratoire permettent d'expliquer la très faible disponibilité des contaminants des sols de friches industrielles contaminés depuis plusieurs décennies.

D'autres auteurs ont travaillé avec des sols industriels et ont mis en évidence que dans le cas des sols de cokerie, le principal mécanisme de piégeage des polluants dans le sol était l'adsorption à la surface des particules ou sur les surfaces internes des agrégats en raison d'une diffusion de ces HAP dans les agrégats (Ahn et al., 2005; Bogan and Sullivan, 2003; Hatzinger and Alexander, 1995; Semple et al., 2003). Cependant, dans ces études, le type et la nature des particules impliquées dans l'adsorption ne sont pas précisés.

D'autres études s'y sont donc intéressées et un grand nombre d'entre elles ont montré que la sorption sur la MO était le processus clé gouvernant le comportement des HAP dans le sol. En effet, Pan et al. (2006) ont montré que la sorption sur la matière minérale était négligeable si la teneur en carbone organique du sol était supérieure à 0,1 %. De plus, d'autres études ont montré que les différents types de MO (acides fulviques et humiques, humines) n'avaient pas la même affinité pour les HAP (Doick et al., 2005; Pan et al., 2007; Yang et al., 2010). Doick et al. (2005) ont montré que 60 à 70 % d'une fraction de HAP marquée avec du ^{14}C initialement introduite dans un sol agricole se retrouvaient associés à l'humine après un an d'expérimentation. Les auteurs expliquent cette affinité pour l'humine par sa plus forte teneur

en carbone organique par rapport aux acides humiques et fulviques. Cependant ces phénomènes de sorption sont des processus dynamiques dans le sol. En effet, Yang et al. (2010) ont montré qu'après 114 jours d'incubation 63 à 94 % d'une quantité initiale de six HAP (acénaphthène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène et pyrène) étaient associés aux acides fulviques. Par rapport aux résultats obtenus par Doick et al. (2005) après 1 an d'incubation, cette durée plus longue entraînerait une translocation des HAP vers les acides humiques puis vers l'humine (Yang et al., 2010). Cependant ces études se sont attachées à travailler avec des MO « naturelles » issus de processus d'humification de composés végétaux. Or ce type de MO ne constitue pas la majorité de la MO présente dans les sols de friches industrielles.

Une étude de Gaboriau and Saada (2001) s'est intéressée à la sorption de HAP (phénanthrène) sur une kaolinite (i) seule, et (ii) en présence d'une huile pétrolière lourde. Les auteurs démontrent qu'en présence d'une faible quantité de MO fossile (huile pétrolière lourde) la quantité de phénanthrène adsorbée est 4000 fois plus importante que lorsque la kaolinite est seule mettant en évidence le rôle clé des composés organiques d'un sol dans la sorption des contaminants. De récentes études se sont également intéressées aux fractions récalcitrantes de la MO telle que le black carbon (BC). Le BC est un résidu carboné provenant de la combustion incomplète de biomasse ou d'énergie fossile. Il est présent de façon ubiquiste dans les sols et représente entre 4 et 9 % de la teneur totale en carbone organique (Yang et al., 2012). En raison de sa structure aromatique condensée et de sa microporosité, le BC peut fortement adsorber de grandes quantités de composés tels que les HAP se trouvant dans l'eau des pores des particules du sol (Wang et al., 2011). Ils deviennent alors piégés et inaccessibles pour la biodégradation (Reichenberg et al., 2010). Accardi-Dey and Gschwend (2002) ont montré par des expérimentations de sorption entre du pyrène et des sédiments contenant entre 0,6 et 3,3 % de BC, une perte de plus de 80 % du pyrène initialement présent dans la phase aqueuse. La présence de BC pourrait donc expliquer la forte capacité de sorption de certains sols (Agarwal and Bucheli, 2011).

Afin de déterminer si la taille des particules influence la sorption et donc la disponibilité des HAP, de nombreuses études ont pris en compte les classes de taille de particules obtenues par fractionnement granulodensimétrique. Ces études ont essayé de mettre en évidence les fractions du sol qui jouaient un rôle prépondérant dans la sorption des HAP montrant ainsi l'importance de la structure du sol (Uyttebroek et al., 2006; Yang et al., 2008; Li et al., 2010; Lu et al., 2012; Liao et al., 2013). Ces auteurs ont tous réalisé leur étude avec des sols

historiquement contaminés en HAP : respectivement, ancienne usine à gaz, lit de la Moselle (rivière traversant la région de la Sarre ayant abritée des activités minières), ancienne cokerie, bassin de décantation de boues d'une usine d'extraction d'huile. Le niveau de contamination de ces sols est variable, allant de 11 µg g^{-1} pour l'usine d'extraction d'huile (Lu et al., 2012) à 1194 µg g^{-1} pour l'ancienne cokerie (Liao et al., 2013). Ces études ont montré des résultats contradictoires. Les études de Yang et al. (2008) et Li et al. (2010) ont montré que les HAP étaient le plus fortement concentrés dans les particules grossières (> 250 µm) alors que les études de Uyttebroek et al. (2006); Lu et al. (2012) et Liao et al. (2013) ont montré que les HAP avaient la plus forte concentration dans les fractions fines, c'est-à-dire dans les argiles et les limons fins (< 20 µm). Néanmoins, ces cinq études expliquent la forte concentration en HAP dans une fraction privilégiée par les fortes teneurs en carbone organique total et en black carbon dans ces mêmes fractions. Par exemple, Li et al. (2010) trouvent une forte corrélation entre la teneur en HAP totaux et la teneur en carbone organique total ou en BC (respectivement R^2 = 0,73 et 0,92).

Cependant, ces études ne prennent pas en compte l'effet des plantes et particulièrement de la rhizosphère sur la structure du sol et la distribution des classes de particules du sol. Une étude menée par Barnier (2009) s'est intéressée à la concentration en acides organiques dans la rhizosphère et à son effet sur la structure. Cette étude a démontré que l'acide citrique, acide organique complexant présent dans les exsudats racinaires, se complexait avec les cations du sol. Ces cations étant initialement utilisés dans des ponts cationiques pour former des agrégats, la complexation avec l'acide citrique entraîne une déstructuration du sol. Il résulte de cette déstructuration une augmentation de la disponibilité des HAP.

La structure du sol de par (i) la teneur en carbone des différentes classes d'agrégats, (ii) l'agencement des classes d'agrégats et (iii) la taille des pores des agrégats influençant la diffusion des composés, joue donc un rôle capital au niveau des processus de sorption des HAP et donc sur l'évolution de leur disponibilité.

1.3.2. Processus de transformation des HAP

Le devenir des HAP dans l'environnement dépend de nombreux facteurs biotiques et abiotiques.

1.3.2.1. Les transformations abiotiques

Les transformations abiotiques des HAP dans les sols sont associées à quatre processus : l'hydrolyse, l'oxydation, la réduction et la dégradation photochimique. L'hydrolyse est une réaction d'altération par l'eau au cours de laquelle un groupement hydroxyle remplace un autre groupement chimique. Les HAP étant hydrophobes, cette réaction reste minoritaire dans les sols de cokerie. La réduction est une réaction électrochimique dans laquelle un composé gagne un ou plusieurs électrons. Cette réaction a lieu dans des systèmes anoxiques comme les boues d'épuration ou les sols. Étant donné que la majorité des sols contaminés ne se trouvent pas en conditions réductrices, cette réaction est également minoritaire. La photodégradation est une réaction chimique due aux interactions avec le rayonnement solaire. Elle peut intervenir en surface des sols, mais devient rapidement négligeable passés les premiers millimètres de profondeur. L'oxydation est une réaction électrochimique au cours de laquelle un composé perd un ou plusieurs électrons. Elle a lieu lorsque différents oxydants (oxygène de l'air, produits pouvant être générés par les transformations photochimiques), sont présents dans l'environnement et réagissent avec les molécules organiques. Cette réaction est le processus abiotique le plus important dans les sols contaminés (Biache, 2010).

1.3.2.2. Les transformations biotiques

La biodégradation est le processus majeur de dégradation car une grande diversité d'organismes (bactéries, champignons, végétaux) est capable de métaboliser les HAP (Bamforth and Singleton, 2005; Peng et al., 2008). Cependant, cette métabolisation dépend du poids moléculaire des HAP, les plus lourds étant fortement récalcitrants à la dégradation (Haritash and Kaushik, 2009). La faune du sol ainsi que les végétaux peuvent également avoir un impact indirect *via* notamment la stimulation des microorganismes associés (Corgié et al., 2003; Eijsackers et al., 2001).

La dégradation des HAP par les bactéries peut avoir lieu en milieu aérobie ou anaérobie. (i) En milieu aérobie, certaines bactéries sont capables d'utiliser les HAP comme source de carbone et d'énergie (Lu et al., 2011). Le principal mécanisme intervenant dans cette biodégradation est l'oxydation des cycles aromatiques par l'action d'enzymes de type mono- ou dioxygénase (incorporation d'un ou de deux atomes d'oxygène). Les bactéries possédant ce type d'activité enzymatique peuvent appartenir à différents genres bactériens tels que

Pseudomonas, Rhodococcus ou. *Mycobacterium* sp. (ii) En milieu anaérobie, les bactéries oxydent les HAP en utilisant d'autres accepteurs d'électrons tels que les nitrates, le fer ferreux ou encore les sulfates, cependant les cinétiques de dégradation sont plus lentes qu'en condition aérobie.

Deux types de champignons sont également capables de minéraliser les HAP : (i) les champignons lignolytiques et (ii) les champignons non lignolytiques. La majorité des champignons sont de type non lignolytique (Bamforth and Singleton, 2005; Peng et al., 2008). (i) Les champignons lignolytiques produisent deux enzymes, la peroxydase et la laccase, permettant l'oxydation de la lignine. Ces enzymes sont également capables d'oxyder les HAP par réaction avec des radicaux libres (hydroxyles) par transfert d'électrons. (ii) Les champignons non lignolytiques, oxydent les HAP de la même manière que les bactéries, à l'aide de la monooxygénase.

L'action des végétaux sur la dégradation des HAP peut se faire de manière directe ou indirecte. En effet, les racines produisent des enzymes de type peroxydase, capables d'oxyder les HAP. Cependant, le principal effet de la rhizosphère sur la dégradation des HAP reste la libération de rhizodépôts et notamment d'exsudats racinaires qui, en devenant une source de carbone pour les microorganismes, favorisent leur croissance et leur activité stimulant ainsi la dégradation des HAP (Corgié et al., 2003; Johnson et al., 2004). De plus, des associations symbiotiques entre les racines et des champignons mycorhiziens permettent d'augmenter le volume de sol rhizosphérique et donc d'étendre l'influence des racines (Hinsinger et al., 2005). La mycorhization permet également une meilleur résistance au stress lié à la présence de polluants organiques (Leyval and Binet, 1998). La dégradation des HAP par les végétaux sera abordée plus précisément dans le paragraphe Phytoremédiation (§ 1.3.4).

1.3.3. Les traitements de remédiation des sols

Les différents processus de transformation naturelle des HAP présentés précédemment sont utilisés dans des techniques de traitements des sols à des fins de remédiation.

En fonction du niveau de contamination, de la nature de la pollution, du type de site, de la pression financière et de l'usage futur du site, plusieurs scénarios de remédiation peuvent être

envisagés : traitements thermique, chimique ou biologique (Colombano et al., 2010 ; Khan et al., 2004; Gan et al., 2009).

Les traitements thermiques consistent à appliquer de la chaleur pour extraire par volatilisation les polluants volatils et semi-volatils. Les terres excavées sont introduites dans un four pour être chauffées jusqu'à 560°C. Ce chauffage permet d'une part de désorber les polluants adsorbés sur les particules de sol et d'autre part d'augmenter la tension de vapeur des composés peu volatils et de les extraire en phase gazeuse. Les rendements épuratoires sont élevés (plus de 95 % pour des hydrocarbures pétroliers) cependant cette technique nécessite une excavation des sols préalable ainsi qu'une forte consommation énergétique, ce qui la rend coûteuse. De plus, cette technique impacte négativement les potentialités agronomiques des terres traitées : stérilisation des terres, altération des MO présentes. Des travaux récents ont démontré qu'associés à la volatilisation, des processus de condensation moléculaires conduisent à la formation de composés de hauts poids moléculaires non extractibles au solvant organique (Biache et al., 2008).

Les traitements chimiques consistent à injecter un composé chimique oxydant (peroxyde d'hydrogène, persulfate, permanganate…) dans le sol qui va dégrader totalement ou partiellement les polluants. L'oxydation chimique *in situ* (ISCO) s'applique sur des polluants organiques même à des concentrations très importantes. Néanmoins, cette technique présente de nombreux inconvénients : son coût est assez élevé, le temps de traitement peut prendre plusieurs mois et les propriétés du sol, notamment sa fertilité, sont fortement impactées (Laurent et al., 2012; Sirguey et al., 2008). De plus, son efficacité est souvent limitée par la faible disponibilité des contaminants (Usman et al., 2012a).

Les traitements biologiques consistent à optimiser le fonctionnement des microorganismes présents dans le sol grâce à l'apport de nutriments (principalement de l'azote) et d'accepteurs d'électrons (principalement de l'oxygène) et à un travail du sol qui permet une homogénéisation et une aération de la terre. Ils peuvent être mis en place *in situ* ou *ex situ*, sur des terres excavées disposées en tas (biopiles) à la surface du sol. Les coûts de traitement sont faibles mais le principal inconvénient est la durée du traitement qui peut aller jusqu'à plusieurs années. De plus, les HAP de hauts poids moléculaires (> 4 cycles), plus récalcitrants à la biodégradation, sont moins impactés par ces traitements (Haritash and Kaushik, 2009). Enfin, les techniques de bioremédiation ne sont pas applicables pour des niveaux de contamination trop élevés, toxiques pour les microorganismes (Colombano et al., 2010).

Malgré leur efficacité, chacune de ces techniques de remédiation présente un ou plusieurs inconvénients majeurs : les techniques *ex situ* sont peu adaptées aux grandes surfaces comme les friches industrielles car elles nécessitent une excavation des terres et se révèlent donc très coûteuses, les techniques thermiques et chimiques dégradent fortement les sols et les techniques de bioremédiation *in situ* peuvent être très longues. De plus, les techniques de bioremédiation, plus préservatives de l'environnement, voient leur efficacité limitée en raison de la faible disponibilité des contaminants, particulièrement dans les sols historiquement contaminés tels que les anciennes cokeries (Reid et al., 2000; Usman et al., 2012a et b). Des études ont obtenues des résultats positifs avec la phytoremediation (Schwitzguebel et al., 2011; Susarla et al., 2002). Cette technique utilisant les plantes, présente l'avantage d'être applicable sur de grandes surfaces à moindre coût en minimisant les perturbations environnementales (Macek et al., 2000) et pourrait avoir un impact positif sur le statut des polluants présents.

1.3.4. La phytoremédiation

La phytoremédiation est une technique qui a émergé dans les années 1990, utilisant les plantes et les microorganismes de la rhizosphère associés, pour supprimer, transformer ou contenir des composés toxiques présents dans les sols, les sédiments, les eaux souterraines ou les eaux de surface. Cette technique est utilisée pour traiter plusieurs classes de polluants : hydrocarbures, solvants chlorés, pesticides, métaux lourds et radionucléides (Ouvrard et al., 2014; Sterckeman et al., 2011; Susarla et al., 2002). Cependant, cette technique est encore en émergence et est très peu mise en œuvre, les principales applications sont encore à l'échelle pilote.

La phytoremédiation regroupe différents procédés dont les principaux sont la phytostabilisation, la rhizodégradation, la phytodégradation, la phytoextraction et la phytovolatilisation (Sterckeman et al., 2011; Susarla et al., 2002; Trapp and Karlson, 2001) (Figure 8). La phytostabilisation consiste à utiliser un couvert végétal pour réduire la mobilité des polluants en réduisant leur dispersion par érosion éolienne et *via* le flux d'eau (ruissellement et infiltration). La rhizodégradation tient compte des interactions naturelles entre les plantes et les microorganismes. Elle consiste en une stimulation de l'activité de biodégradation des contaminants organiques au niveau de la rhizosphère, notamment *via* la

libération de composés organiques facilement métabolisables, l'augmentation de l'infiltration des eaux et l'aération du sol lors du développement du système racinaire. La phytodégradation consiste à dégrader certains composés organiques grâce à l'activité métabolique de la plante, c'est-à-dire à travers la production de nombreuses enzymes. La phytoextraction utilise les plantes capables d'extraire les polluants, principalement les métaux, et de les stocker dans leur biomasse, de préférence dans les parties récoltables. Enfin, la phytovolatilisation consiste en une absorption des contaminants par les plantes qui les élimine vers l'atmosphère par transpiration.

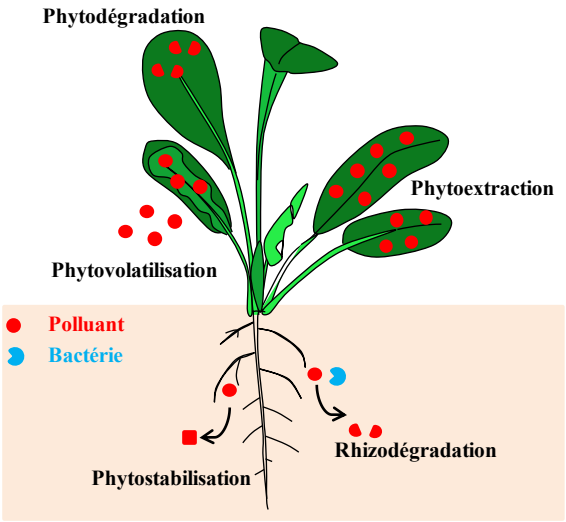

Figure 8 : Les différentes techniques de phytoremédiation (adapté de Sterckeman et al., 2011)

Dans le cas des HAP, la rhizodégradation est la technique la plus couramment utilisée. La plante, *via* son exsudation racinaire, fournit aux microorganismes présents dans la rhizosphère une source de carbone stimulant leur croissance et accélérant les processus de dissipation des polluants. En plus d'être une source de carbone, les exsudats racinaires peuvent également être des enzymes telles que la laccase ou la peroxydase, capables d'oxyder les HAP. L'efficacité de cette méthode dépend néanmoins des conditions de croissance des végétaux dans des sols contaminés ne présentant pas toujours des potentialités agronomiques adéquates, entraînant des temps de traitement relativement longs. Par exemple, un essai de phytoremédiation de sols agricoles contaminés par des hydrocarbures pétroliers en raison de l'éclatement d'un puits de pétrole situé à proximité a montré que le temps de traitement nécessaire avait été supérieur à 6 ans (Schwitzguebel et al., 2011).

La faible disponibilité des contaminants semble être le principal facteur limitant pour les techniques de remédiation biologiques (biodégradation ou phytoremédiation) ou chimiques (Ouvrard et al., 2011; Pignatello and Xing, 1996; Reid et al., 2000; Usman et al., 2012a et b). Nous avons montré que la disponibilité des HAP était principalement gouvernée par leur adsorption sur les particules du sol et que le type et la taille de ces particules n'avaient pas la même influence sur la force de l'adsorption. Il en résulte que la structuration du sol joue un rôle majeur dans la disponibilité des contaminants. Monserie et al. (2009) ont étudié un technosol formé sur le site d'une ancienne cokerie et ont mis en évidence des phénomènes d'agrégation avec une stabilité structurale élevée pouvant être imputés à la MO anthropique et aux HAP. Cependant, très peu d'études portent sur l'agrégation et les mécanismes de structuration dans les sols de friches industrielles. C'est pourquoi, dans cette partie bibliographique, nous ne présenterons qu'une synthèse de ces mécanismes dans le cas des sols naturels, afin d'avoir toutefois une référence.

2. Composition et structuration d'un sol naturel

2.1. Principaux éléments constitutifs d'un sol

Les éléments constitutifs d'un sol sont de deux types : minéraux et organiques.

(i) La nature des **éléments minéraux** dépend des roches sur lesquelles le sol s'est formé (Calvet, 2003). Les principales phases rencontrées sont des minéraux argileux, du quartz, des feldspaths, des oxyhydroxydes, des carbonates, des sulfates et des phosphates. Ces constituants représentent l'essentiel de la masse de la matière solide du sol, soit 90 à 99 %. Leur composition peut être décrite de trois manières différentes : composition élémentaire (teneurs en éléments chimiques), composition minéralogique (nature et teneur en minéraux) et composition granulométrique (répartition des particules en différentes classes selon leur diamètre apparent - Figure 9). Cette dernière composition est obtenue après destruction de la MO (traitement par H_2O_2) et des carbonates (traitement par HCl) afin d'individualiser les particules (Gobat et al., 1998). La composition granulométrique obtenue après destruction de la MO et des carbonates est appelée « texture du sol » dans la suite de la thèse.

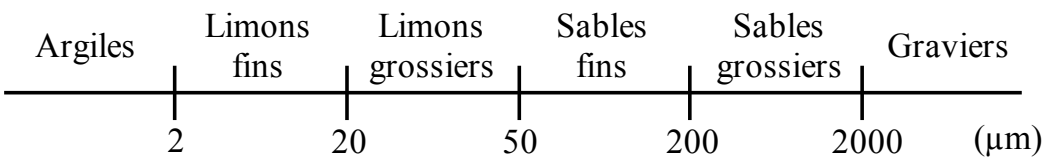

Figure 9 : Classes granulométriques des constituants inorganiques d'un sol

(ii) Les **constituants organiques** sont répartis en de nombreuses catégories dans les sols. La principale distinction est établie entre les constituants vivants et les constituants non vivants (Calvet, 2003). Les constituants vivants regroupent les tissus végétaux, les animaux du sol (micro-, meso- et macrofaune) ainsi que la biomasse microbienne correspondant à la microflore du sol (bactéries, champignons et algues). Les constituants non vivants regroupent les MO particulaires et les MO moléculaires. Les premières correspondent majoritairement à la litière et se présentent sous forme de particules de plus ou moins grandes tailles correspondant à des fragments de tissus dans lesquels des structures cellulaires sont reconnaissables. Elle comprend donc les organismes et les parties d'entre eux qui viennent de mourir et s'en détachent, qu'ils soient végétaux, animaux ou microbiens, aériens ou souterrains ainsi que les excréments d'animaux et les différents composés émis directement dans le milieu (Calvet, 2003; Gobat et al., 1998). La litière est également appelée MO fraîche. Les secondes, les MO moléculaires, sont des molécules de tailles très diverses plus ou moins associées entre elles. Certaines sont héritées directement des débris organiques, et constituent les macromolécules héritées. Elles appartiennent à des familles chimiques identifiées : les glucides, les lignines, les lipides et les composés azotés (Killops and Killops, 2005). Cependant, la plupart des MO moléculaires sont synthétisées dans le sol à la suite de processus chimiques et biochimiques complexes constituant l'humification, ce sont les macromolécules humifiées (Calvet, 2003 ; Gobat et al., 1998). Elles sont classiquement réparties en trois catégories : acides fulviques, acides humiques et humine. Cette distinction est basée sur un fractionnement opérationnel du matériel humique : l'application d'une solution alcaline sur l'humus permet de séparer l'humine qui est totalement insoluble et donc précipite, l'addition d'un acide au surnageant permet de séparer les acides humiques, insolubles à pH acide, des acides fulviques solubles. Leur analyse élémentaire C, H, et O indiquent que les acides fulviques contiennent plus d'oxygène et moins de carbone que les acides humiques. Le rapport O/C est plus faible pour les acides humiques (~0,5) que pour les acides fulviques (~0,8), ce qui indique une plus forte teneur en composés polaires dans les acides fulviques. De plus, le rapport atomique H/C est plus faible pour les acides humiques

(~0,8) par rapport à celui des acides fulviques (~1,3), ce qui indique que les acides humiques sont plus aromatiques que les acides fulviques (Kononova, 1966 ; Killops and Killops, 2005). Les humines présentent un niveau d'aromaticité plus élevé et sont fortement associées avec des éléments minéraux ce qui favorise leur protection vis-à-vis des phénomènes de biodégradation.

En comparaison avec les MO fossiles présentées dans le paragraphe 1.2, ces MO dérivées du vivant, héritées ou humifiées, sont plus riches en oxygène et en hydrogène comme le montre le diagramme de Van Krevelen représentant le rapport atomique H/C en fonction du rapport atomique O/C (Figure 10).

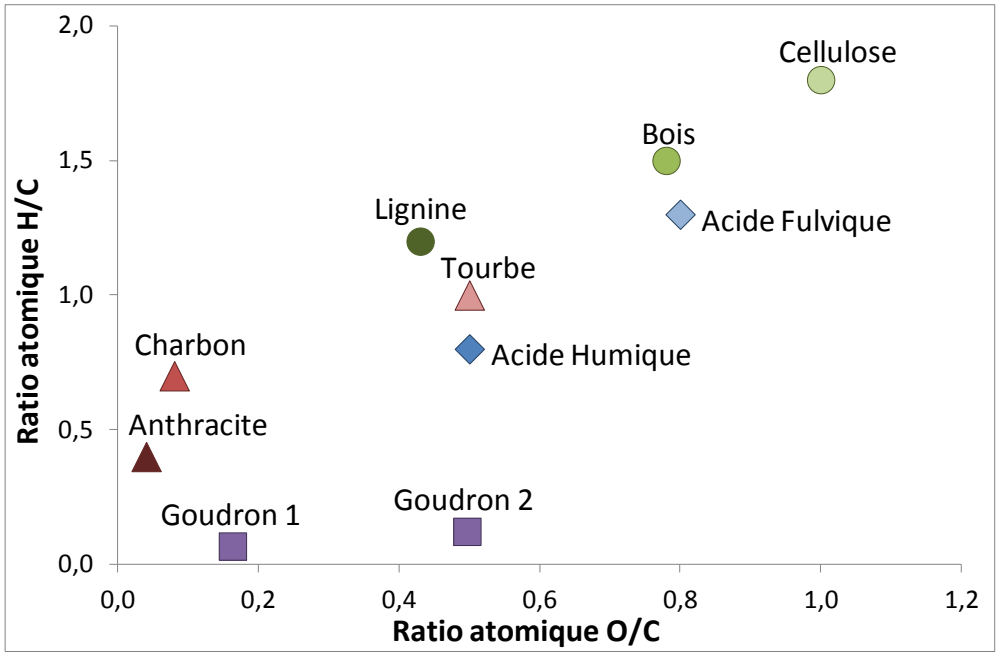

Figure 10 : Diagramme de Van Krevelen de quelques molécules héritées du vivant ( ), de quelques MO fossiles ( ) des macromolécules humifiées ( ), ainsi que de deux goudrons de houille ( ) (Haeseler et al., 1999; Killops and Killops, 2005)

Ces différents constituants, organiques et inorganiques, s'associent entre eux pour former la structure du sol. La structure du sol est donc le résultat d'interactions très complexes des facteurs physiques, chimiques et biologiques dans le sol. Le paragraphe suivant présente ces interactions ainsi que les différents facteurs agissant sur la structure du sol.

2.2. Facteurs intervenant sur la structuration d'un sol

2.2.1. Association des constituants : la structure du sol

La structure d'un sol est formée par l'association des constituants organiques et inorganiques. Elle détermine ainsi la répartition dans l'espace de la matière solide et des vides. La dynamique d'agrégation est le résultat de plusieurs facteurs tels que l'environnement, l'influence des plantes ou les propriétés du sol (composition minérale, activité microbienne, humidité…) (Bronick and Lal, 2005).

Les agrégats composant la structure sont classés par taille (Bronick and Lal, 2005; Calvet, 2003). Ceux de taille supérieure à 250 µm sont appelés macroagrégats et les agrégats de taille inférieure à 250 µm sont appelés microagrégats :

- agrégats supérieurs à 2000 µm : ce sont des associations, surtout d'agrégats plus petits de 20 à 50 µm de diamètre, mais aussi de particules de sables,
- agrégats de 250 à 2000 µm : ils sont constitués par des agrégats de taille inférieure et par des sables grossiers,
- agrégats de 20 à 250 µm : ce sont des agrégats en général très stables, constitués par l'assemblage de particules dont les diamètres sont compris entre 2 et 20 µm,
- agrégats de 2 à 20 µm : ce sont des agrégats très résistants, riches en minéraux argileux et en MO,
- agrégats inférieurs à 2 µm : ils sont constitués par des minéraux de la fraction des argiles granulométriques et par des particules de minéraux argileux.

L'agrégation est donc le résultat du réarrangement des particules solides et de leur cimentation. Cette agrégation a lieu sous l'action de divers facteurs : biologiques, chimiques et physiques (Callot et al., 1982; Duchaufour, 2001). Ces facteurs permettent la mise en place de l'agrégation mais également son évolution.

2.2.2. Influence des facteurs naturels sur la structure du sol

Les principaux facteurs influençant la structure du sol sont : le climat, les agents inorganiques tels que les oxyhydroxydes et le calcium, les êtres-vivants et la MO. Les informations données dans les paragraphes suivants sont toutes tirées de l'article de review de Six et al. (2004).

Le climat par des alternances gel/dégel ou le volume des précipitations peut entraîner une déstructuration du sol par fractionnement mécanique. Les variations de températures influencent également la vie dans le sol et à sa surface.

L'effet agrégeant des oxydes est principalement mis en évidence pour la formation de microagrégats. Les oxydes peuvent agréger les particules de sol de trois manières différentes : (i) les MO peuvent s'adsorber à leur surface, (ii) des ponts électrostatiques peuvent se créer entre les oxydes chargés positivement et les argiles chargées négativement et (iii) une couche d'oxydes à la surface des minéraux peut former des ponts entre deux particules. Le calcium divalent permet d'agréger des particules en formant des complexes argiles-calcium-MO.

Le mycélium des champignons est considéré comme un « sac de ficelles collantes » car il permet d'emprisonner les particules dans le réseau d'hyphes et de les cimenter ensemble grâce à la production d'exopolymères. Ce mécanisme d'agrégation est le principal facteur de formation de macroagrégats. De même, la production d'exopolysaccharides par les bactéries permet la formation de microagrégats.

Les végétaux influencent la structure du sol principalement par leurs racines. Celles-ci affectent la structure par cinq processus : la pénétration de la racine dans le sol, le changement de teneur en eau du sol, l'exsudation racinaire, la décomposition des racines mortes et l'enchevêtrement racinaire. La croissance des racines entraîne une réduction de la porosité par compaction provoquant une augmentation de la densité du sol de 12 à 35 % dans une zone de 50 à 200 µm autour des racines. Cette modification de densité induit une formation de microagrégats. En revanche, lorsque les racines pénètrent dans le sol elles peuvent traverser les macroagrégats et les briser. Le prélèvement d'eau par les plantes entraîne un assèchement localisé du sol et favorise la fixation des exsudats racinaires sur les particules du sol. L'exsudation racinaire réduit le taux d'humidité en obstruant les pores. Enfin, l'eau s'écoule préférentiellement le long des systèmes racinaires. Ces trois processus conduisent à des modifications de la fréquence et de l'amplitude des cycles sec-humides. Un sol planté

continuellement humide présentera 10 à 20 % moins d'agrégats que le même sol dans lequel les plantes induisent des cycles sec-humide. L'exsudation racinaire est une libération de matériel organique par les racines dans la rhizosphère. Elle agit donc directement ou indirectement par stimulation de la biomasse microbienne sur la structure du sol. Les mucilages sécrétés par les racines peuvent directement agréger des particules du sol entre elles. L'enchevêtrement des particules par les racines forment des macroagrégats. Cependant, il est difficile de distinguer l'influence de l'enchevêtrement par rapport à celle de l'exsudation racinaire.

La faune du sol et notamment les vers de terre agrègent également les particules du sol. Ils ingèrent de la MO, mélangée à des particules minérales. Le mélange passe dans l'intestin et ressort sous la forme de turricules. Grâce au mucus des intestins, le mélange matière organique/matière minérale est agrégé.

L'apport de MO fraîche par la végétation permet d'agréger le sol par stimulation des microorganismes car elle devient une source de carbone facilement assimilable. Ces microorganismes produisent des exopolymères qui permettent la cimentation des particules entre elles. D'autres études ont démontré ce phénomène d'agrégation par ajout de MO fraîche dans le sol et suivi par les outils isotopiques $\delta^{13}C$ et ^{14}C (Bravo-Garza et al., 2010, 2009; Denef et al., 2002). L'étude de Bravo-Garza et al. (2009) montre que 14 jours après l'ajout de résidus de maïs dans un vertisol, le sol présente de plus grandes quantités d'agrégats grossiers. Zhou et al. (2013) ont démontré par une étude à long terme, débutée en 1986, de fertilisation d'un ultisol avec du lisier de porc que le sol possédait une plus importante quantité d'agrégats grossiers et qu'ils étaient plus stables par rapport au sol n'ayant pas été fertilisé ou uniquement avec des éléments minéraux.

Dans un sol naturel, la structure est donc le résultat de l'association des particules minérales et organiques sous l'action de différents facteurs : biologiques, physiques et chimiques. Les facteurs biologiques semblent être les agents de structuration les plus importants avec notamment les microorganismes qui sécrètent des exopolymères cimentant les particules entre elles, l'exsudation racinaire des végétaux qui stimulent ces mêmes microorganismes et l'apport de la matière organique fraîche lors de la mort de ces végétaux qui cimentent les particules entre elles et qui devient une source de carbone stimulant les microorganismes.

3. Objectifs de la thèse

Cette étude bibliographique a mis en évidence l'importance de la MO dans un sol au niveau de l'agrégation du sol ou encore de l'adsorption de divers contaminants, que le sol soit naturel ou anthropique. Très connue dans un sol naturel, la MO peut être de plusieurs types : vivante ou morte, fraîche ou humifiée. En s'associant avec les particules minérales, elle forme des agrégats constituant la structure du sol. De plus, lorsque de la matière organique fraîche est apportée au sol par retombées de litière ou par amendements, elle favorise l'agrégation du sol. Dans un sol de friche industrielle, contaminé par des HAP, la matière organique joue un rôle important dans la dynamique des contaminants en favorisant leur adsorption et donc en diminuant leur disponibilité. Cependant, cette étude bibliographique a également mis en évidence des lacunes existantes sur l'étude des sols de friches industrielles et la compréhension des mécanismes contrôlant la faible disponibilité des contaminants de ces sols. En effet, toutes les études sont centrées sur un seul paramètre tel que le vieillissement de la contamination, le type de MO ou encore la taille des particules, mais aucune ne met en relation tous ces paramètres afin de considérer le système « sol de friche industrielle » dans son ensemble. De plus, beaucoup d'études sont réalisées en laboratoire et peu d'entre elles replace les sols étudiés dans un contexte naturel où le sol est un support de végétation. Enfin, la structure du sol est très étudiée en contexte de sol naturel mais rarement abordée en contexte de sol de friche industrielle : le rôle des particules anthropiques dans la structure est notamment inconnu.

Ce travail de thèse vise à combler ces lacunes en travaillant avec un sol réel de friche industrielle historiquement contaminé par des HAP dans le but de comprendre l'évolution à long terme de la dynamique de ces contaminants. Un couplage des outils de sciences du sol et de géochimie organique permettra d'obtenir une meilleure description des différents constituants de la terre sélectionnée et de mieux caractériser leurs évolutions en réponse à un apport ou à l'extraction de matière organique. Pour la partie « agronomie », l'étude de l'évolution des différentes classes de taille d'agrégat permettra (i) d'évaluer le rôle des MO présentes dans un sol de friche industrielle sur les phénomènes d'agrégation mais également (ii) de suivre l'impact d'un apport de MO fraîche sur ces mêmes phénomènes et (iii) de réaliser une comparaison avec des résultats obtenus en milieu naturel. En ce qui concerne la partie « géochimie organique », une caractérisation à l'échelle moléculaire de tous les pools de MO (disponible, extractible et insoluble) sera présentée à la fois sur des échantillons de

terre provenant de ce sol, mais aussi sur les agrégats obtenus par fractionnement granulodensimétrique. Cette approche permettra également de suivre le statut de la pollution au travers des HAP dans les différents contextes d'études.

Ce travail de thèse s'articule en deux parties. La première consiste à **caractériser les constituants du sol, minéraux et organiques, en identifiant les différents pools de MO, disponible, extractible et insoluble**. Cette première partie permettra de bien connaître le système d'étude en couplant les outils d'agronomie et de géochimie organique qui permettront de déterminer quelles phases minérales sont retrouvées dans le sol, quelle proportion la MO naturelle représente par rapport à la MO anthropique et comment se répartissent les différents pools de MO au sein des différentes classes d'agrégats du sol. Cette caractérisation est présentée dans le chapitre III. La seconde partie consiste à **comprendre le rôle des particules organiques, anthropiques et naturelles sur la structuration de ce sol et à déterminer leur impact sur le statut des polluants présents**. Cette seconde partie permettra ainsi de déterminer si la MO anthropique a un rôle de liant entre les particules et si elle favorise la structuration du sol (chapitre IV) et dans un deuxième temps, quel est l'impact du carbone frais apporté par les plantes sur la structure du sol et sur la pollution dans un contexte de phytoremédiation (chapitre V).

Ce travail doit donc permettre d'intégrer des études réalisées à différentes échelles pour prendre en compte (i) la complexité du système et de tous ses constituants, (ii) l'impact des plantes en conditions contrôlées au laboratoire et (iii) la comparaison avec la réalité en conditions réelles sur le terrain.

CHAPITRE II

MATERIELS ET METHODES

SOMMAIRE DU CHAPITRE II

1. Terre de Neuves-Maisons et ses principales propriétés 37
2. Méthodes analytiques 38
2.1. Prétraitement des échantillons 38
2.1.1. Lyophilisation 38
2.1.2. Broyage 38
2.2. Analyses granulométriques 39
2.2.1. Fractionnement granulodensimétrique 39
2.2.1.1. Mise en suspension de la terre et distribution des sables 40
2.2.1.2. Dispersion et distribution des fractions fines 41
2.2.1.3. Récupération des fractions fines 42
2.2.2. Granulométrie laser 43
2.3. Techniques d'observations 44
2.3.1. Observations à l'échelle photonique 44
2.3.2. Observations à l'échelle électronique 44
2.3.3. Pétrographie organique 44
2.4. Caractérisation minéralogique : diffraction des rayons X 45
2.5. Dosage du carbone du sol 46
2.5.1. Carbone total, Carbone organique total et azote total 46
2.5.2. ^{13}Carbone 47
2.5.3. ^{14}Carbone 49
2.6. Extraction et fractionnement de la MOE 50
2.6.1. Séparation de la matière organique extractible (MOE) de la matière organique insoluble (MOI) par ASE et par Soxhlet 50
2.6.1.1. Extraction de la MOE par ASE 50
2.6.1.2. Extraction de la MOE par Soxhlet 52
2.6.2. Fractionnement de la MOE par chromatographie liquide sur phase solide 53
2.7. Extraction des HAP disponibles 55
2.8. Analyses moléculaires 56
2.8.1. Analyse et quantification par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM) 56
2.8.2. Analyses par chromatographie par perméation de gel (GPC) 58
2.8.3. Analyses par pyrolyse flash couplée à une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (PyCPG-SM) 59
2.9. Estimation de la biomasse microbienne 62
2.10. Plan des expérimentations et analyses 63
3. Analyses statistiques 63

Plusieurs dispositifs expérimentaux et techniques analytiques ont été utilisés au cours de cette thèse, allant de l'échelle du laboratoire à l'échelle lysimétrique sur le terrain en conditions réelles. Ce chapitre présente uniquement la terre sélectionnée et les outils analytiques communs à toute la thèse. Les autres dispositifs, n'ayant été utilisés que pour répondre à un objectif précis, seront présentés au début de chaque chapitre de résultats.

1. Terre de Neuves-Maisons et ses principales propriétés

La terre étudiée est issue du site de Neuves-Maisons (Meurthe et Moselle, France), ayant abrité des activités industrielles multiples de 1900 à 1983 telles qu'une cokerie et une usine métallurgique. Ces activités ont entraîné une forte contamination du site par des métaux, avec par exemple 2500 mg kg^{-1} de zinc ou 700 mg kg^{-1} de plomb, et par des HAP avec des teneurs supérieures à 1000 mg kg^{-1} (Σ16 HAP, US-EPA). De précédentes études ont également mis en évidence que la pollution de cette terre est très peu disponible. Ouvrard et al. (2011) ont estimé des teneurs en HAP disponibles de l'ordre de 1 % par rapport à la concentration totale de HAP avec un protocole d'extraction des HAP disponibles par la résine Tenax. Louvel (2010) a confirmé cette estimation avec une extraction à la cyclodextrine. Usman et al. (2012a et b) ont confirmé cette faible disponibilité en montrant une absence de dégradation des HAP suite à une oxydation Fenton et au persulfate activé. Ainsi, en raison de sa forte concentration en HAP et de sa faible disponibilité, cette terre est utilisée en tant que terre de « référence » dans les études sur les friches industrielles, en particulier dans le cadre des travaux du GISFI (Groupement d'Intérêt Scientifique sur les Friches Industrielles) (Biache et al., 2008; Laurent et al., 2012; Monserie, 2009; Ouvrard et al., 2011; Cébron et al., 2009; Usman et al., 2012a et b). Le GISFI possède un site d'expérimentation *in situ*, décrit dans le chapitre V-2, permettant une confrontation des résultats obtenus au laboratoire avec ceux obtenus sur le terrain.

D'un point de vue agronomique, cette terre, dénommée NM dans la suite de la thèse, est principalement caractérisée par un pH légèrement alcalin (7,7), une faible teneur en carbonates (1,9 %) et une forte teneur en carbone organique (66 g kg^{-1}). La texture de la terre NM est dominée par les sables, représentant 65 % en masse. Le Tableau 2 résume les principales caractéristiques de la terre NM (Laboratoire d'analyses des sols de l'INRA, Arras, France). Avant utilisation, un lot de terre nécessaire à l'ensemble des travaux réalisés au laboratoire a été échantillonné. La terre a été tamisée à 2 mm puis conservée au frais (+4°C).

Tableau 2 : Propriétés agronomiques de la terre NM

pH	7,7
$CaCO_3$ total (g kg^{-1})	19,4
Corg (g kg^{-1})	66
Ntotal (g kg^{-1})	2,9
C/N	22,8
P_2O_5 Olsen (mg kg^{-1})	116
CEC Cobaltihexamine (cmol kg^{-1})	12,4
Capacité de rétention en eau (%)	23,4
Densité apparente	1,22
Sables grossiers (200-2000 µm) (g kg^{-1})	570
Sables fins (50-200 µm) (g kg^{-1})	80
Limons grossiers (20-50 µm) (g kg^{-1})	80
Limons fins (2-20 µm) (g kg^{-1})	150
Argiles (< 2 µm) (g kg^{-1})	120

2. Méthodes analytiques

2.1. Prétraitement des échantillons

2.1.1. Lyophilisation

La lyophilisation permet d'éliminer l'eau contenue dans un échantillon par sublimation. L'échantillon est tout d'abord congelé à -18°C pendant une nuit. La température est maintenue négative pendant la lyophilisation et la pression atmosphérique est réduite à 0,3 mbar permettant la sublimation de l'eau qui passe de l'état solide à l'état vapeur. Pour éliminer la totalité de l'eau de l'échantillon, 48 heures de lyophilisation sont nécessaires. Lorsque le cycle de lyophilisation est terminé, le vide est « cassé » et l'échantillon est amené à pression atmosphérique puis stocké à -18°C au congélateur dans des flacons en verre hermétiques. Cette méthode d'élimination de l'eau a été sélectionnée car elle induit une perte de composés organiques (notamment les HAP de faible poids moléculaire) limitée contrairement à des séchages plus intenses (séchage en étuve notamment).

2.1.2. Broyage

Après lyophilisation, la terre non fractionnée, appelée terre globale, ainsi que les deux fractions sableuses sont broyées à l'aide d'un broyeur en agate jusqu'à obtention d'une poudre

dont les grains sont inférieurs à 500 µm (contrôle par tamisage). Cette étape de broyage permet d'homogénéiser les échantillons et d'améliorer les rendements d'extraction de la MO. Les échantillons broyés ainsi que les limons sont utilisés pour l'extraction de la matière organique extractible (MOE) au solvant et le dosage des HAP totaux. En revanche, pour l'extraction des HAP disponibles, les échantillons globaux et les différentes fractions granulodensimétriques (sables et limons) ont été utilisés sans broyage préalable.

2.2. Analyses granulométriques

2.2.1. Fractionnement granulodensimétrique

Le fractionnement granulodensimétrique permet d'obtenir la distribution des agrégats stables à l'eau. Il permet de connaître la structure de la terre, à différencier de la texture obtenue après une désagrégation totale en détruisant les liants, c'est-à-dire en détruisant la MO et les carbonates. La distribution des agrégats est uniquement obtenue par une séparation en phase aqueuse de ces derniers réalisée par agitation de la suspension (eau/terre).

Ce fractionnement permet d'obtenir des agrégats stables à l'eau de la taille des :

- sables grossiers (SG) : agrégats de 200 à 2000 µm,
- sables fins (SF) : agrégats de 50 à 200 µm,
- limons grossiers (LG) : agrégats de 20 à 50 µm,
- limons fins (LF) : agrégats de 2 à 20 µm,
- argiles (A) : agrégats inférieurs à 2 µm.

Le protocole utilisé est adapté de celui publié par Watteau et al. (2006) et est présenté Figure 11. Cependant, les quantités de matériaux récupérées pour chaque fraction sont faibles pour réaliser l'ensemble des analyses. Le même protocole a donc été appliqué à 8 échantillons de terre provenant du même lot et les fractions obtenues ont été groupées afin d'obtenir des quantités suffisantes pour les analyses ultérieures. Il est constitué de trois étapes détaillées dans les paragraphes suivants.

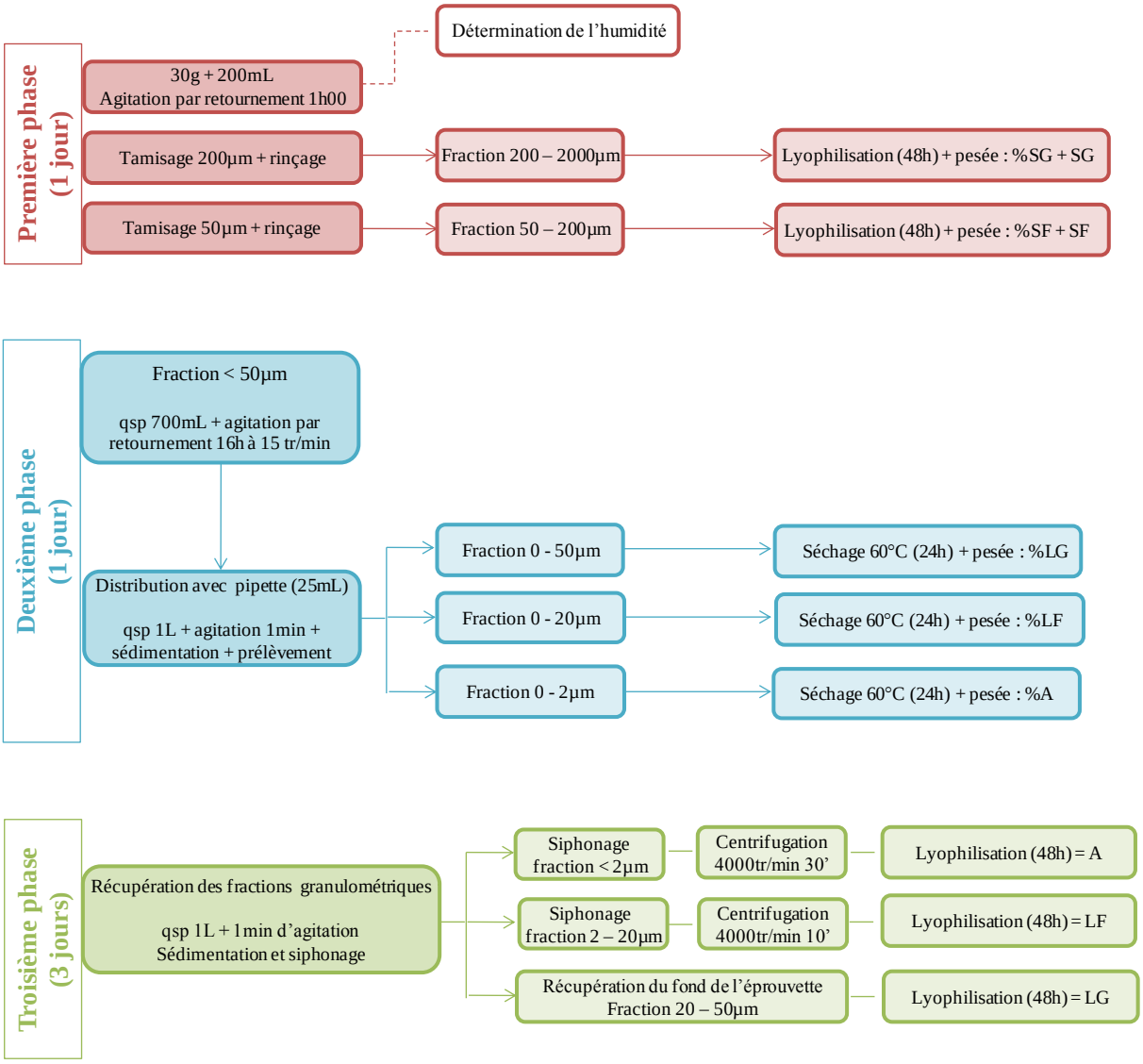

Figure 11 : Protocole de fractionnement granulodensimétrique (« %SG » signifie que l'étape permet de déterminer la proportion de la fraction considérée et « SG » signifie que l'étape permet de récupérer la fraction)

2.2.1.1. Mise en suspension de la terre et distribution des sables

Au cours de cette première étape, 30 g d'échantillon tamisé à 2 mm sont introduits dans des bouteilles en verre d'une contenance d'un litre. Deux cents millilitres d'eau distillée sont ajoutés et les suspensions sont agitées sur un agitateur rotatif à 15 rpm par minute pendant une heure. Les suspensions sont ensuite passées sur deux tamis superposés de maille 50 µm et 200 µm (Figure 12). Les tamis sont rincés plusieurs fois, jusqu'à ce que l'eau de rinçage soit claire. Ce tamisage permet de séparer les sables fins et les sables grossiers. Ces deux fractions sont respectivement récupérées dans deux cristallisoirs en aluminium préalablement pesés,

puis lyophilisées. Les pourcentages des sables sont obtenus en prenant en compte la masse exacte de terre introduite dans la bouteille ainsi que l'humidité de l'échantillon. L'eau de rinçage contenant les fractions fines inférieures à 50 µm est récupérée dans une nouvelle bouteille en verre.

Figure 12 : Tamisage des sables

2.2.1.2. Dispersion et distribution des fractions fines

Les bouteilles contenant les suspensions de fractions fines sont mises en agitation sur un agitateur rotatif à 15 rpm par minute pendant 16 heures. Les suspensions sont ensuite versées dans des allonges en verre et le volume est complété à 1 litre avec de l'eau déminéralisée. Les allonges sont ensuite agitées manuellement par retournement pendant une minute. Le temps de sédimentation de chaque fraction est déterminée par la loi de Stockes : la vitesse de chute d'une particule sphérique, tombant librement dans un fluide est proportionnelle au carré de son rayon et à sa densité. Cette vitesse dépend aussi de la viscosité et de la température du milieu. Par exemple, pour une température de 22°C et un prélèvement à 10 cm de profondeur dans l'allonge, la fraction inférieure à 50 µm, soit « LG + LF + A », est prélevée après 36 secondes de sédimentation, la fraction inférieure à 20 µm, soit « LF + A », est prélevée après 4 minutes et 26 secondes de sédimentation et la fraction inférieure à 2 µm, soit « A », est prélevée après 7 heures et 34 minutes de sédimentation. Seulement 25 mL de suspension de chaque fraction sont prélevés à l'aide d'une pipette. Ils sont ensuite placés dans un cristallisoir en verre préalablement pesé, puis séchés pendant 72 h dans une étuve à 70°C. La masse de la

fraction LG est obtenue par différence entre la masse de la fraction « LG + LF + A » et la masse de la fraction « LF + A ». De même, la masse de la fraction LF est obtenue par différence entre la masse de la fraction « LF + A » et la fraction « A », inférieure à 2 µm. Les pourcentages de chaque fraction sont ensuite calculés à partir de la formule suivante :

$$\%_{fraction} = [masse_{fraction} / (masse_{sol\ sec} * vol_{pipette})] * 100 \qquad \text{(Equation 1)}$$

avec :

$\%_{fraction}$: le pourcentage de la fraction considérée (%),

$masse_{fraction}$: masse des 25 mL secs de la fraction considérée (g),

$masse_{sol\ sec}$: masse de la prise d'essai de sol sec introduit dans la bouteille (g),

$vol_{pipette}$: volume exact prélevé par la pipette (mL).

Les pourcentages sont ajustés à 100 % et exprimés sous la forme de moyenne ± écart type.

2.2.1.3. Récupération des fractions fines

Cette dernière étape consiste à récupérer les fractions fines, 0-2 µm, 2-20 µm et 20-50 µm par siphonages successifs (Figure 13). Le contenu des allonges est à nouveau mis en suspension par agitation manuelle par retournement pendant une minute. Les prélèvements sont effectués à 20 cm de profondeur pour les argiles et à 30 cm pour les limons. La loi de Stockes est à nouveau appliquée pour connaître les temps de sédimentation de chaque fraction. La fraction inférieure à 2 µm est siphonnée la première, puis les limons fins et enfin la suspension restant dans l'allonge correspond aux limons grossiers. Les siphonages sont réalisés jusqu'à épuisement de la fraction, c'est-à-dire jusqu'à ce que l'eau dans l'allonge soit claire après le temps de sédimentation correspondant. Pour la terre NM, un seul siphonage est nécessaire pour les argiles. En revanche, 9 siphonages sont nécessaires pour les limons fins. Les suspensions ainsi siphonnées sont centrifugées, lyophilisées et conservées à -18°C dans des flacons en verre.

Figure 13 : Siphonage des limons fins

2.2.2. Granulométrie laser

Cette technique permet d'obtenir la distribution en taille de particules et a été utilisée pour valider les classes d'agrégats séparées par le fractionnement granulodensimétrique.

Cette analyse granulométrique est basée sur la technique de diffraction laser résultant de l'interaction de la lumière avec des particules dispersées dans un liquide possédant tous deux des propriétés optiques différentes. Les particules, considérées comme sphériques, produisent un spectre de diffraction lorsqu'elles sont exposées à une lumière monochromatique. Le spectre de diffraction varie en fonction de la taille des particules : plus la particule est petite, plus la lumière est déviée.

Le granulomètre Sympatec à système Helos est constitué de trois parties : un système de dispersion, un système optique et un bloc détecteur. Un agitateur à doubles pales à vitesse contrôlable ainsi qu'un transducteur à ultrasons permettent une dispersion optimale des particules dans la solution. Le bloc détecteur comprend les lentilles. Deux lentilles sont utilisées : (i) la première a une distance focale de 50 mm et permet de détecter des particules de tailles comprises entre 0,25 et 87,5 µm et (ii) la seconde a une distance focale de 500 mm et permet de détecter des particules de tailles comprises entre 4,5 et 875 µm.

Quelques mg de terre globale sont mis en suspension dans la cuve remplie d'eau déminéralisée. Les pales permettent la dispersion et l'homogénéisation des particules

introduites. Deux mesures sont effectuées : (i) mesure classique, sans application d'ultrasons, permettant d'obtenir la distribution des particules et/ou agrégats stables et (ii) mesure après 60 secondes d'ultrasons (puissance 25 W, fréquence 35 KHz) permettant de casser les agrégats instables. Les analyses de granulométrie laser ont été réalisées au Laboratoire Environnement et Minéralurgie (UMR 7569) avec la collaboration d'Yves WALDVOGEL.

2.3. Techniques d'observations

2.3.1. Observations à l'échelle photonique

Seuls les sables (grossiers et fins) lyophilisés et non broyés ont été observés à l'échelle photonique en utilisant une loupe binoculaire (LEICA MZFLIII) en raison du grandissement maximale de la loupe (x80), qui ne permet pas de distinguer des particules de taille inférieure à celle des sables fins. Les particules ont été triées selon leur taille et leur couleur.

2.3.2. Observations à l'échelle électronique

Toutes les fractions granulodensimétriques ainsi que la terre globale (lyophilisées et non broyées) ont été observées à l'échelle électronique à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB). Ces observations ont été réalisées avec un MEB HITACHI S-4800 au service commun de microscopie électronique et de microsonde (SCMEM) de Nancy Université avec la collaboration de Ludovic MOUTTON. Les échantillons sont placés sur un support d'1 cm² recouvert de scotch double face puis sont métallisés avec une fine couche de carbone. Un couplage avec un spectromètre de dispersion d'énergie (EDS, NORAN Vantage) permet d'obtenir une analyse élémentaire des particules observées.

2.3.3. Pétrographie organique

La pétrographie organique consiste à étudier la composition, les caractéristiques et l'origine des particules carbonées dans un sol. L'identification et la détermination de l'abondance relative par comptage des particules se font sous un microscope à lumière polarisée. Ces

observations ont uniquement été réalisées sur la terre globale non broyée. Les analyses de pétrographie organique ont été réalisées au laboratoire Weatherford (Texas, USA).

2.4. Caractérisation minéralogique : diffraction des rayons X

La diffraction des rayons X (DRX) a été réalisée sur la terre globale ainsi que sur les fractions granulodensimétriques. Cette technique permet d'identifier les phases cristallisées majeures à l'échelle de la maille cristalline. Les phases amorphes ou très mal cristallisées ne sont pas observables avec cette technique. Le seuil de détection pour une espèce minérale donnée est de l'ordre du pourcent (1-2 %). Elle consiste à appliquer un rayonnement de la longueur d'onde des rayons X ($0,01 < \lambda < 10$ nm) sur un échantillon. Les phénomènes d'interférences étant à la base de la DRX, les longueurs d'ondes utilisées ont le même ordre de grandeur que la longueur des liaisons interatomiques et varient de 0,5 à 2,5 Å.

L'objectif de la DRX est de mesurer l'équidistance d qui caractérise une famille de plans atomiques. La loi de Bragg établit la condition essentielle à la diffraction : deux rayons diffusés par un cristal sont en phase et s'additionnent si la différence entre leurs chemins parcourus au sein du cristal est égale à n fois leur longueur d'onde :

$$2d \sin(\theta) = n\lambda$$

avec :

n : ordre de la réflexion,

λ : longueur d'onde du rayonnement utilisé,

d : distance entre deux plans adjacents,

θ : angle de la réflexion.

Une méthode classique d'investigation sur poudre, c'est-à-dire sur les échantillons broyés, a été utilisée. Cette méthode permet d'enregistrer toutes les raies de diffraction des phases cristallisées présentes. Les diffractogrammes ont été réalisés en réflexion sur un diffractomètre D8 Advance (Bruker AXS). Le rayonnement monochromatique utilisé pour ces

mesures est la bande caractéristique K_α du cobalt (CoK_α = 1,789 Å). Les pics de diffraction ont été identifiés selon Moore and Reynolds (1997) (Tableau 3). Toutes les mesures de DRX ont été réalisées au Laboratoire Environnement et Minéralurgie (UMR 7569) dans le département d'analyse X avec la collaboration de Lise SALSI et d'Isabelle BIHANNIC.

Tableau 3 : Distance d des phases majeures cristallisées identifiées par DRX dans la terre NM et dans les fractions granulodensimétriques

Minéraux	Formule minéralogique	d (Å)
Quartz	SiO_2	4,26 – 3,35 – 2,28 – 1,82
Calcite	$CaCO_3$	3,80 – 3,03
Gypse	$CaSO_4.2H_2O$	7,60 – 2,87 – 2,22 – 1,90
Bassanite	$CaSO_4.0,5H_2O$	6,30 – 4,63
Magnétite	Fe_3O_4	4,84 – 2,96 – 2,53
Wuestite	FeO	2,14
Hématite	Fe_2O_3	3,68 – 2,68
Goethite	FeO(OH)	4,17
Magnésiochromite	$FeCr_2O_4$	4,72 – 2,49
Orthose	$KAlSi_3O_8$	3,25 – 3,19
Albite	$NaAlSi_3O_8$	4,02 – 3,78
Illite	$(K,H_3O)(Al,Mg,Fe)_2(Si,Al)_4O_{10}[(OH)_2,(H_2O)]$	9,8
Kaolinite	$Al_2Si_2O_5(OH)_4$	7,1
Chlorite	$(Fe,Mg,Al)_6(Si,Al)_4O_{10}(OH)_8$	14,3 – 3,52

2.5. Dosage du carbone du sol

Dans l'environnement, le carbone est présent sous trois formes isotopiques, ^{12}C, ^{13}C et ^{14}C, d'abondance très variable : respectivement 98,9 %, 1,1 % et 10^{-8} %. Les carbones 12 et 13 sont deux isotopes stables et le carbone 14 est radioactif. Le carbone 12 étant le plus abondant, le dosage du carbone total correspond principalement au dosage du carbone 12. La mesure des deux autres isotopes permet de calculer des rapports isotopiques afin de tracer la dynamique de la MO.

2.5.1. Carbone total, Carbone organique total et azote total

La composition élémentaire en carbone total, carbone organique total et en azote total des échantillons (terre globale et fractions granulodensimétriques) a été effectuée avec un analyseur élémentaire CNS Micro Varian. Pour les analyses de carbone total et d'azote total, environ exactement 15 mg sont pesés dans une capsule en étain. Les capsules sont ensuite

fermées par pliage et placées sur le passeur de l'analyseur. Le carbone organique total est mesuré après décarbonatation. Environ exactement 15 mg sont introduits dans une capsule en argent et 100 µL d'acide chlorhydrique à 1 M sont ajoutés. Lorsqu'il n'y a plus d'effervescence, la capsule est mise à sécher dans une étuve à 40°C pendant une nuit. Enfin, les capsules sont pliées et placées sur le passeur de l'analyseur.

2.5.2. ^{13}Carbone

La mesure du carbone 13 a été utilisée pour déterminer la proportion de carbone fraîchement apporté dans la terre sous forme de résidu de maïs au cours de l'expérimentation de simulation d'une culture de maïs dans la terre NM (chapitre V-1).

Le traçage isotopique est basé sur des mesures de rapport entre un isotope lourd et un isotope léger. Dans le cas du carbone, la différence d'abondance entre le carbone 13 (isotope lourd) et le carbone 12 (isotope léger) est mesurée dans l'échantillon. Le contenu en isotope lourd de l'échantillon est ensuite comparé à celui d'une référence. Dans le cas du carbone, la référence est le PDB. Il s'agit des restes fossiles de bélemnites de la PeeDee Formation (Crétacé de Caroline du Sud, USA) constituant le plus grand réservoir de carbone à la surface. Cette comparaison permet d'utiliser l'écriture δ, qui représente la différence relative des rapports isotopiques de l'échantillon et de la référence, exprimée en pour mille. Un $\delta > 0$ indique qu'il y a plus d'isotopes lourds dans l'échantillon que dans la référence et, inversement, un $\delta < 0$ indique qu'il y a plus d'isotopes lourds dans la référence.

Dans le cas de l'expérimentation de simulation d'une culture de maïs dans la terre NM, la MO apportée par le maïs a pu être suivie en raison de la différence d'abondance naturelle en carbone 13 entre le maïs, qui est une plante en C4, et le carbone présent dans la terre qui a une signature isotopique d'une plante C3. Le charbon, formé à partir de plantes vasculaires ayant une signature de plantes C3 (Farquhar et al., 1989), a également une signature de plante C3. La signature isotopique de produits obtenus par pyrolyse étant similaire à celle du matériau parent (Glaser, 2005), le goudron de houille a également une signature isotopique de type plante C3 et par conséquent une terre d'ancienne cokerie polluée par du goudron a aussi une signature isotopique de type C3. Ces deux types de plantes (C3 et C4) présentent un appauvrissement en ^{13}C de respectivement -27 ‰ (-35 ‰ $\leq \delta^{13}C \leq$ -20 ‰) et -13‰ (-15 ‰ $\leq \delta^{13}C \leq$ -7 ‰) par rapport au PDB (Boutton et al., 1998; Glaser, 2005). Ces différences

d'abondance naturelle du ^{13}C permettent donc d'utiliser cet isotope du carbone comme un traceur de la MO.

La composition en $\delta^{13}C$ a été déterminée sur les modalités globales et sur les fractions granulodensimétriques avec trois répétitions à l'aide d'un analyseur élémentaire (Carlo Erba, NA 1500- NC, Milano, Italie) couplé à un spectromètre de masse isotopique (Finnigan, Delta-S, Bremen, Allemagne) avec une précision de 0,2 ‰. Environ exactement 5 mg de sol ont été pesés et introduits dans une capsule en étain. Puis, 2,5 mg de V_2O_5 ont été ajoutés afin de favoriser la combustion (Bol et al., 2005). Les capsules ont été pliées et placées sur le passeur de l'analyseur. L'analyseur élémentaire permet d'obtenir également le carbone total. Les analyses ont été effectuées par la plateforme technique d'écologie fonctionnelle de l'unité Écologie forestière et écophysiologie de l'INRA de Nancy avec la collaboration Christian HOSSANN et Nicolas ANGELI.

Les données $\delta^{13}C$ ont été interprétées avec l'équation du modèle de mélange à deux sources. Ce modèle permet de distinguer la proportion de chaque source selon l'équation suivante (Dawson et al., 2002):

$$\delta_{mix} = f_A\delta_A + (1 - f_A)\delta_B \qquad \text{(Equation 2)}$$

avec

δ_{mix} : la composition isotopique du sol contenant deux sources de carbone,

δ_A et δ_B : la composition isotopique des sources A et B,

f_A : la proportion de carbone venant de la source A.

Dans notre cas, δ_{mix} correspond à la signature isotopique des terres amendées avec du maïs et les deux sources de carbone sont le carbone déjà présent dans la terre NM et le maïs. Ainsi, après réarrangement de l'équation précédente, la proportion de carbone venant de la source « maïs » peut être calculée :

$$f_{maïs} = (\delta_{mix} - \delta_{sol}) / (\delta_{maïs} - \delta_{sol}) \qquad \text{(Equation 3)}$$

2.5.3. ^{14}Carbone

La mesure du carbone 14 permet de déterminer la proportion de carbone fossile par rapport au carbone récent.

Le carbone 14, isotope radioactif, est produit dans la basse stratosphère après absorption d'un neutron par un atome d'azote suite à la collision des rayons cosmiques avec les atomes de l'atmosphère. Le ^{14}C ainsi produit s'oxyde rapidement en ^{14}CO puis en $^{14}CO_2$ et se répartit dans toute l'atmosphère en se diluant avec les deux autres isotopes du carbone. Le ^{14}C entre dans la biomasse par assimilation du CO_2 atmosphérique lors de la photosynthèse, la concentration en ^{14}C dans les tissus végétaux est donc très voisine de celle dans l'atmosphère et le rapport $^{14}C/^{12}C$ est à l'équilibre entre la biomasse et l'atmosphère. Lorsque la biomasse meurt, l'équilibre n'est plus respecté et la concentration en ^{14}C commence à décroître. La mesure du rapport entre la concentration en ^{14}C dans la MO morte et la concentration dans l'atmosphère permet donc de mesurer le temps qui s'est écoulé depuis la mort de la plante (Bonneau and Souchier, 1994). L'âge des MO est calculé à partir de la loi de décroissance radioactive en fonction de la période radioactive du ^{14}C (T = 5568 ans). Ainsi, plus la concentration en ^{14}C est faible, plus la MO est âgée. Les ratios $^{14}C/^{12}C$ mesurés sont exprimés en pourcentage de carbone moderne (pMC). La référence du $^{14}CO_2$ atmosphérique a été choisie en 1953, avant les essais nucléaires qui ont considérablement enrichis l'atmosphère en ^{14}C. Ainsi, pour les MO très récentes, le pMC est supérieur à 100 %. En revanche, pour les MO fossiles, formées au cours des temps géologiques comme le charbon, le pMC est proche de zéro (Rethemeyer et al., 2004).

L'activité du carbone 14 a été mesurée sur la terre globale (chapitre III) ainsi que sur les fractions granulodensimétriques des parcelles lysimétriques du site d'expérimentations *in situ* du GISFI (chapitre V-2). Les échantillons ont préalablement été traités à l'acide chlorhydrique 1 M afin d'éliminer le carbone minéral (Jeanneau and Faure, 2010). Les mesures ont été effectuées au laboratoire Poznan radiocarbon en Pologne.

2.6. Extraction et fractionnement de la matière organique extractible

2.6.1. Séparation de la matière organique extractible (MOE) de la matière organique insoluble (MOI) par ASE et par Soxhlet

Les échantillons sont constitués de matière minérale et de MO. Celle-ci est divisée en une fraction extractible au solvant et une fraction insoluble. Afin d'analyser la partie extractible de la MO, une étape d'extraction est donc nécessaire. Cette extraction peut être réalisée par deux techniques : (i) ASE (Accelerated Solvent Extractor) ou (ii) Soxhlet.

2.6.1.1. Extraction de la MOE par ASE

L'extraction est réalisée à l'aide d'un Extracteur Dionex ASE (Accelerated Solvent Extractor) 350 par injection d'un solvant organique dans une cellule contenant l'échantillon. Les pressions et températures élevées pendant l'extraction permettent de maintenir le solvant à l'état liquide et d'augmenter la vitesse de dissolution des composés organiques. L'appareil est entièrement automatisé, la pression et la température sont contrôlées électroniquement.

Un rinçage de la cellule est nécessaire avant l'extraction de l'échantillon afin d'éviter toute contamination. Ce rinçage consiste à extraire une première fois la cellule contenant uniquement des filtres et les réactifs (Figure 14). Deux filtres en fibre de verre de diamètre 21 mm sont placés à la base de la cellule, afin d'empêcher le passage éventuel de particules dans le système. Le soufre élémentaire contenu dans l'extrait organique peut induire des problèmes lors des analyses ultérieures et notamment un important bruit de fond en chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM). Pour l'éliminer, environ 2 g de cuivre en poudre préalablement activé à l'acide chlorhydrique 37 % puis rincé à l'eau, à l'éthanol et au dichlorométhane, sont introduits dans la cellule. Le cuivre va induire la précipitation du soufre moléculaire selon la réaction d'oxydoréduction suivante :

$$8\ Cu^0 + S_8^0 \rightarrow 8\ CuS \text{ (précipité noir)} \qquad \text{(Equation 4)}$$

Du sulfate de sodium anhydre (environ 2 g) est également ajouté afin d'éliminer les dernières molécules d'eau subsistant après la lyophilisation. Enfin, un nouveau filtre de 21 mm est introduit.

Les cellules sont ensuite fermées et placées sur le carrousel supérieur de l'extracteur ASE. Le rinçage est effectué à 130°C et 100 bars avec un mélange Acétone - Dichlorométhane (DCM) (1/1, v/v). Il permet d'éliminer toutes traces de contamination pouvant être présentes dans la cellule ou dans les différents réactifs ajoutés.

Une fois la cellule rincée, 1 g de l'échantillon à extraire est introduit dans la cellule (Figure 14). L'extraction est ensuite réalisée à 100°C et 100 bars avec du DCM. Pour chaque échantillon, deux extractions sont réalisées afin de s'assurer que l'essentiel de la MO extractible a été mobilisé.

La matière organique extractible (MOE) est ensuite concentrée par évaporation du DCM sous flux d'azote, 10 psi, à l'aide d'un évaporateur automatique Turbovap maintenu à 20°C. L'extrait organique concentré est ensuite placé dans une fiole jaugée de 20 mL, le volume étant complété avec du DCM. Ces 20 mL sont conservés au réfrigérateur. Afin de quantifier la MOE, 3 mL sont prélevés et transférés dans un flacon en verre de 4 mL préalablement pesé. L'extrait est ensuite séché par évaporation sous une Sorbonne pendant 36 heures, puis le flacon est à nouveau pesé. La différence entre la masse du flacon vide et la masse du flacon contenant les 3 mL d'extrait organique sec permet la détermination exacte de la quantité de MOE.

L'extraction de la MOE est réalisée sur la terre globale ainsi que sur les différentes fractions granulodensimétriques.

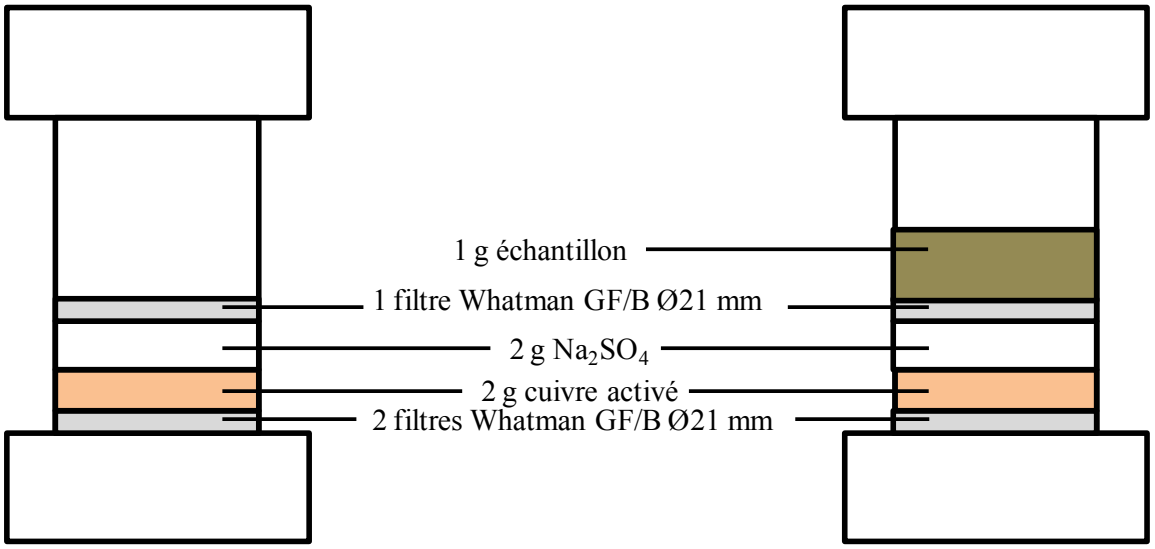

Figure 14 : Schéma du remplissage des cellules de l'ASE

2.6.1.2. Extraction de la MOE par Soxhlet

L'extraction au Soxhlet a été utilisée au cours du chapitre IV lors du protocole d'extraction sélectif de différents types de MO à l'aide de trois solvants de polarité différentes (DCM, *n*-hexane et eau chaude).

En comparaison avec l'ASE, l'extraction Soxhlet est une technique relativement longue (le temps d'extraction est de 48 heures), cependant, elle permet d'extraire des quantités de solides plus importantes, pouvant aller jusqu'à 100 g de sol.

Environ 50 g de terre sont introduits dans un filtre préalablement rincé au dichlorométhane et placés dans le réservoir du Soxhlet (Figure 15). Quatre cents millilitres de solvant sont placés dans un ballon et chauffés jusqu'à la température d'ébullition (40°C pour le DCM, 70°C pour le *n*-hexane et 100°C pour l'eau). Après évaporation, le solvant se condense sur le réfrigérant et retombe dans le réservoir. Lorsque ce dernier est plein, un système de siphon se déclenche, le solvant se déverse dans le ballon et un nouveau cycle recommence. Ainsi, pour chaque cycle, l'échantillon est extrait avec du solvant « propre », seuls les composés possédant une température d'ébullition inférieure à celle du solvant sont présents, ce qui évite une éventuelle saturation du solvant. Afin d'obtenir le meilleur rendement possible, l'extraction est effectuée pendant 48 heures et le solvant est changé après 24 heures d'extraction. Les deux ballons sont groupés uniquement dans le cas des extractions avec des solvants organiques (DCM, *n*-hexane).

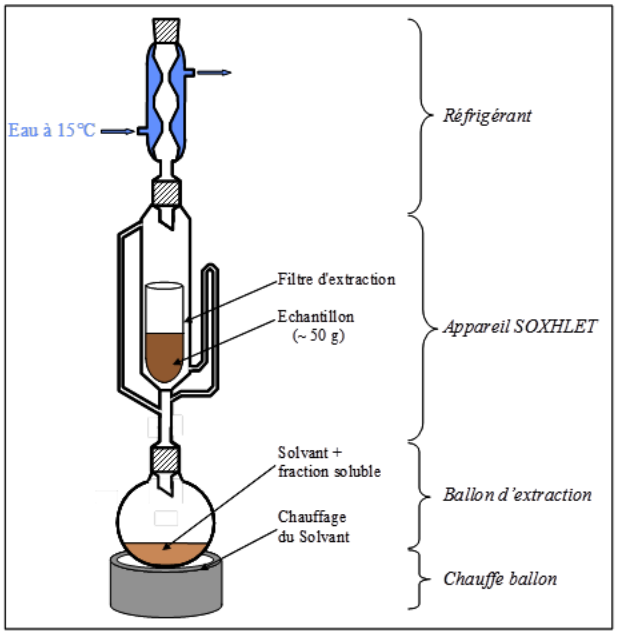

Figure 15 : Principe de l'extraction Soxhlet

2.6.2. Fractionnement de la MOE par chromatographie liquide sur phase solide

Les extraits organiques obtenus après extraction contiennent un large panel de molécules organiques présentant différentes polarités, différentes structures et différentes tailles. Or, de par cette complexité moléculaire, les chromatogrammes obtenus lors des analyses CPG-SM peuvent s'avérer trop difficile à exploiter. Par conséquent, les extraits organiques suivent un fractionnement en deux étapes par chromatographie liquide sur phase solide afin d'être séparés en trois familles (hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques et composés polaires associant les résines et les asphaltènes).

Deux phases solides sont utilisées successivement. La première, l'alumine permet de séparer les macromolécules polaires des hydrocarbures (aliphatiques et aromatiques) et des molécules polaires légères. La seconde, la silice, permet de séparer les hydrocarbures aliphatiques, des hydrocarbures aromatiques et des molécules polaires légères. Des élutions successives par des solvants à polarité croissante sur les différentes phases solides sont donc nécessaires pour récupérer les trois fractions citées précédemment.

Selon le protocole expérimental, la masse maximale d'extrait introduite en tête de colonne ne doit pas excéder 15 mg, au-delà les colonnes sont saturées et la séparation n'est plus assurée. Pour chaque échantillon, 5 mg d'extrait organique ont été introduits en tête de la colonne chromatographique.

La première étape de la séparation chromatographique utilise l'alumine (Figure 16). L'alumine est tout d'abord rincée successivement avec du cyclohexane, du méthanol (MeOH) et du DCM afin d'éliminer toute trace de MO due à la fabrication et au conditionnement de l'alumine. La phase solide est ensuite séchée une nuit à 125°C. L'alumine ainsi préparée est introduite dans une pipette pasteur équipée d'un « bouchon » en coton et préalablement rincée au DCM. L'extrait organique, dilué dans du DCM suite à l'étape d'extraction de la MOE par ASE, est concentré sous flux d'azote jusqu'à 500 µL avant d'être introduit en tête en colonne à l'aide d'une pipette pasteur (Figure 16a). L'éluat contenant les hydrocarbures ainsi que les molécules polaires légères est récupéré dans un flacon en verre de 7 mL à l'aide de 4 mL de DCM injectés en 4 prises de 1 mL (Figure 16b). Les macromolécules polaires sont ensuite éluées en augmentant la polarité de la phase mobile grâce à un mélange DCM : MeOH (1 : 1, v : v). Ce mélange est injecté jusqu'à ce que l'éluat soit incolore (Figure 16c).

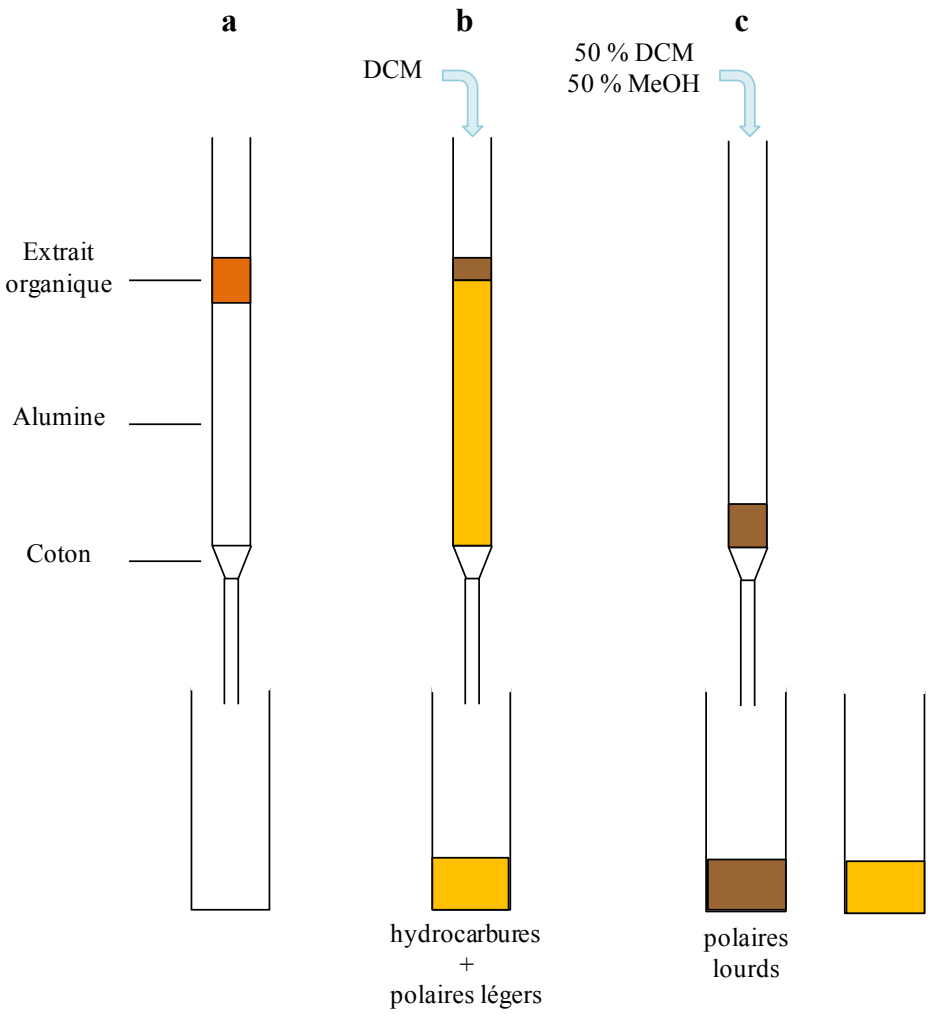

Figure 16 : Schéma du déroulement du fractionnement sur alumine

Pour le fractionnement sur silice (Figure 17) il est nécessaire de remplacer le DCM par du cyclohexane, moins polaire (échange de solvant). Le DCM est évaporé sous flux d'azote jusqu'à 500 µL, puis 3 mL de cyclohexane sont ajoutés. Le mélange est à nouveau placé sous flux d'azote. Le DCM étant plus volatil que le cyclohexane, il s'évaporera en premier. Cette étape est répétée 3 fois afin de s'assurer qu'il ne reste plus de DCM. Enfin, le cyclohexane est concentré jusqu'à 500 µL.

La silice utilisée est préalablement rincée et conditionnée de la même manière que l'alumine. Le mélange contenant les hydrocarbures et les molécules polaires légères dilué dans le cyclohexane est injecté en tête de colonne (Figure 17a). Les hydrocarbures aliphatiques sont récupérés avec 3,5 mL de cyclohexane introduits en 7 prises de 500 µL (Figure 17b). La polarité de la phase mobile est ensuite augmentée pour récupérer la fraction aromatique grâce

à un mélange cyclohexane : DCM (65/35, v/v). Les hydrocarbures aromatiques sont récupérés avec 2,5 mL du mélange cyclohexane : DCM introduits en 5 prises de 500 µL (Figure 17c). La polarité de la phase mobile est encore augmentée pour récupérer les molécules polaires légères grâce au mélange DCM : MeOH (1/1, v/v). Ces molécules sont récupérées dans le même flacon que celui ayant récupéré les molécules polaires lourdes lors du fractionnement sur alumine. Le mélange DCM : MeOH est injecté jusqu'à ce que l'éluat soit incolore (Figure 17d).

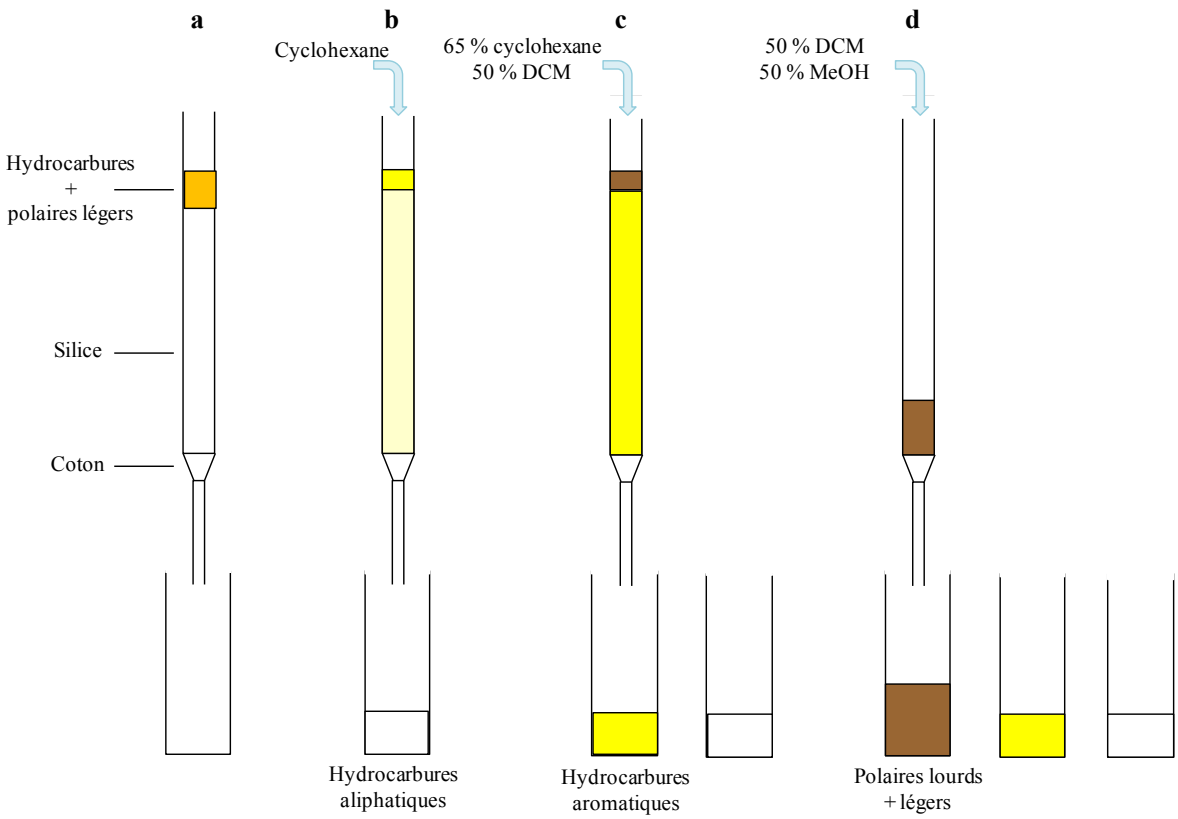

Figure 17 : Schéma du déroulement du fractionnement sur silice

2.7. Extraction des HAP disponibles

L'extraction des HAP disponibles est réalisée d'après le protocole d'extraction avec la résine Tenax mis en place par Barnier (2009) et adapté de Cornelissen et al. (1997). Cette méthode consiste à adsorber les HAP sur une phase solide, la résine Tenax, puis à les désorber par sonication dans un solvant organique.

Deux g de terre (globale ou fractionnée) non broyée sont introduits dans un flacon en verre contenant 300 mL d'une solution $CaCl_2$ à 0,01 M. Pour inhiber toute activité biologique, de

l'azoture de sodium est également ajouté (NaN_3 200 mg L^{-1}). Deux g de Tenax® TA (177-250 µm) sont ensuite ajoutés à la suspension et les flacons sont mis à agiter sur un agitateur rotatif à 15 rpm par minute pendant 30 heures. Ce temps d'agitation permet de s'assurer que tous les composés désorbables sont bien désorbés.

A la fin de l'agitation, les flacons sont laissés à décanter pendant une heure, ce qui permet la séparation des particules de terre, qui décantent, et des particules de Tenax, qui flottent. La résine est ensuite aspirée par un système sous vide et placée dans un erlenmeyer. Elle est transférée dans un tamis de maille 50 µm, rincée à l'eau distillée puis mise à sécher sous une sorbonne pendant une nuit. Lorsque la résine est sèche, elle est placée dans un tube en verre avec 20 mL d'un mélange acétone : hexane (1/1, v/v). Le tube est placé dans une cuve à ultrasons (bain à ultrasons Branson 5210) pendant une heure. L'extraction est répétée deux fois en changeant le solvant afin de s'assurer que la totalité des HAP est désorbée. Le solvant contenant les HAP est transféré dans un tube à évaporer de 60 mL. Le solvant est ensuite évaporé sous flux d'azote, 10 psi, à l'aide d'un évaporateur automatique Turbovap maintenu à 20°C. L'extrait organique concentré est ensuite placé dans une fiole jaugée de 5 mL, le volume étant complété avec le mélange acétone : hexane (1/1, v/v). Ces 5 mL sont stockés au réfrigérateur à 4°C dans un flacon en verre jusqu'à l'analyse.

2.8. Analyses moléculaires

2.8.1. Analyse et quantification par chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (CPG-SM)

Les compositions de l'extrait organique total ainsi que celui obtenu après extraction des HAP disponibles sont déterminées à l'échelle moléculaire. Cette détermination nécessite une étape de fractionnement chromatographique effectuée par chromatographie en phase gazeuse. Les analyses sont effectuées sur un chromatographe GC-2010 plus (Shimadzu) couplé à un spectromètre de masse QP2012 Ultra (Shimadzu). Le gaz vecteur est l'hélium. La séparation chromatographique est réalisée avec une colonne capillaire en silice fondue DB 5-MS (60*0,25 mm) selon le programme de température : 70°C avec un palier de 2 min jusque 130°C à 15°C min^{-1}, 130°C-315°C avec un palier de 2 minutes à 4°C min^{-1}. Les composés organiques se vaporisent avec l'élévation progressive de la température du four

chromatographique, le gaz vecteur entraîne les molécules à séparer, *via* la colonne, vers le détecteur (spectromètre de masse).

Le chromatographe est couplé au spectromètre de masse par une ligne de transfert chauffée à 300°C. Le gaz vecteur est éliminé par pompage et les molécules sont amenées dans la source d'ionisation du spectromètre de masse où elles sont bombardées par un faisceau d'électrons de 70 eV et sont fragmentées en espèces de plus petites tailles. Les ions sont ensuite accélérés par une forte différence de potentiel, puis concentrés en un faisceau grâce à une série de lentilles utilisant des champs électriques. Enfin, ils sont envoyés à travers le spectromètre de masse. Il s'agit d'un quadripôle constitué de deux pôles positifs et de deux pôles négatifs. Les ions sont sélectionnés selon leur rapport masse/charge (m/z), puis, sont détectés par un multiplicateur d'électrons et un amplificateur connectés à un système informatique d'acquisition.

L'analyse par spectrométrie de masse peut se faire selon deux modes : fullscan et SIM (Single Ion Monitoring). Le mode fullscan permet d'enregistrer les ions dont le rapport masse/charge est compris entre m/z = 50 et 500. Ce mode de détection permet d'analyser et d'enregistrer l'ensemble des ions produits par l'ionisation et la fragmentation des composés et permet donc d'identifier les composés présents dans l'extrait organique à analyser. Le mode SIM permet de détecter certains ions possédant des rapports masse/charge (m/z) prédéterminés et sélectionnés. Ce mode de détection permet d'augmenter la sensibilité du détecteur et ainsi d'analyser avec plus de précisions les distributions de certaines familles. Il a été utilisé pour l'analyse des extraits obtenus après extraction des HAP disponibles à la résine Tenax.

La quantification des molécules par CPG-SM a été effectuée avec la méthode de l'étalon interne. L'intérêt de cette méthode est d'éliminer les incertitudes liées aux effets de matrices, c'est-à-dire aux interactions entre la molécule à analyser et les autres molécules qui l'entourent. Pour cela, un standard interne est ajouté à la solution à analyser. Le standard interne est une molécule qui ne se retrouve pas dans la nature mais est structurellement proche de la molécule à analyser de manière à ce que les deux molécules subissent les mêmes effets de matrice. Afin d'effectuer une quantification, l'appareil a été calibré avec une solution contenant un mélange des 16 HAP réglementaires. Les standards internes utilisés sont des composés aromatiques polycycliques deutérés (naphtalène-D8, quinoline-D7, acénaphtène-D10, phénanthrène-D10, anthraquinone-D8, pyrène-D10, chrysène-D12 et pérylène-D12). La calibration du détecteur permet d'obtenir les constantes qui serviront à la quantification. Ces

constantes ne sont valables que pour une molécule donnée, quantifiée avec un standard interne donné avec un spectromètre de masse donné.

2.8.2. Analyses par chromatographie par perméation de gel (GPC)

La chromatographie sur gel perméable permet d'étudier la distribution en masse des molécules solubilisées dans un solvant composant un échantillon. Il s'agit donc d'une méthode de séparation basée sur la taille des molécules. Le circuit de chromatographie GPC est constitué d'une pompe binaire (HP 1100 series), d'une colonne (PLgel Mixed-E Agilent, 300 * 7,5 mm id, taille des pores : 3 µm) et d'un détecteur à barrette de diode (DAD-HP 1100 series). Le solvant d'élution est poussé à haute pression à l'aide de la pompe afin d'assurer un débit constant et d'éviter toute perte de charge au cours de l'analyse. Les échantillons sont ensuite injectés dans le circuit à haute pression et introduits dans la colonne où s'effectue la séparation chromatographique. Les molécules pénètrent dans les pores de la phase stationnaire. Les plus grosses sont éluées en premier alors que les plus petites le sont en dernier. Le détecteur DAD, placé à la sortie de la colonne, permet de mesurer l'absorption des molécules pour des longueurs d'ondes variant de 190 à 950 nm et fournit des informations sur les molécules éluées.

Les extraits organiques sont dilués à la concentration de 1 mg d'extrait (obtenu après l'extraction ASE) par mL, afin d'éviter une saturation du détecteur dans du tetrahydrofuran (THF). Le solvant d'élution, THF, circule dans le circuit chromatographique à 1 mL min^{-1} correspondant à une pression dans le système d'environ 65 bars. La colonne est calibrée avec des solutions de polystyrène standard (Mp 162-40000 Da) à partir de l'absorption à 254 nm mesurée par le détecteur DAD. Cinquante microlitres d'échantillon sont injectés. Cette technique n'est pas quantitative. La calibration de l'appareil étant effectuée avec des composés différents de ceux analysés, les valeurs absolues des masses des composés peuvent être légèrement différentes des valeurs déduites par la calibration. Cependant, l'injection d'échantillons en concentration et en quantité identiques permet de réaliser des comparaisons.

2.8.3. Analyses par pyrolyse flash couplée à une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (PyCPG-SM)

Après extraction de la matière organique extractible au solvant (§ 2.6.1), il reste dans le solide, appelé résidu d'extraction, la matière organique insoluble (MOI). Pour compléter les caractérisations de la MOI réalisées par pétrographie organique (§ 2.3.3), et pour obtenir notamment plus d'informations à l'échelle moléculaire, la MOI est caractérisée par pyrolyse flash couplée à une chromatographie en phase gazeuse et à un spectromètre de masse (PyCPG-SM).

La pyrolyse est la dégradation thermique d'un matériel dans une atmosphère inerte, à l'opposé de la combustion qui est une réaction chimique où le matériel réagit avec l'oxygène de l'air. La pyrolyse analytique est une méthode de dégradation thermique à petite échelle des MO en absence d'oxygène. Cette technique, couplée à une chromatographie en phase gazeuse et à un spectromètre de masse, permet d'analyser les macromolécules organiques et notamment celles qui ne peuvent pas être directement analysées par CPG-SM, tels que les substances humiques ou les fractions organiques insolubles. Pourtant, il est important de les caractériser afin d'appréhender la structure macromoléculaire de ces composés insolubles dans les solvants organiques.

La pyrolyse flash permet de briser les macromolécules en fragments plus petits qui peuvent être alors séparés par chromatographie. En plus des coupures de liaisons, la pyrolyse peut entraîner des déshydratations, des réarrangements ou des formations de liaisons. Les composés produits, de faible poids moléculaire, sont séparés par chromatographie en phase gazeuse et identifiés par spectrométrie de masse. Chaque fragment peut être attribué à une classe de polymères organiques, un même fragment pouvant avoir plusieurs origines. L'origine des fragments peut être déterminée à partir de la bibliographie ou par comparaison avec la pyrolyse de composés standards.

L'appareil est constitué d'un pyrolyseur couplé à un chromatographe en phase gazeuse et d'un spectromètre de masse.

Le pyrolyseur est un *CDS Pyroprobe 2000*. Il est constitué d'une interface et d'une canne chauffante (Figure 18). Cette dernière possède un filament de tungstène dont la température peut atteindre 800°C en 20 millisecondes. Le contrôle de la température s'effectue par le biais d'un boîtier électronique qui régule l'intensité du courant qui traverse le filament préalablement calibré par *CDS analytical*. Une fois l'échantillon placé au cœur du filament, la canne est introduite dans l'interface chauffée à 250°C en continu. La pyrolyse a lieu au sein de l'interface.

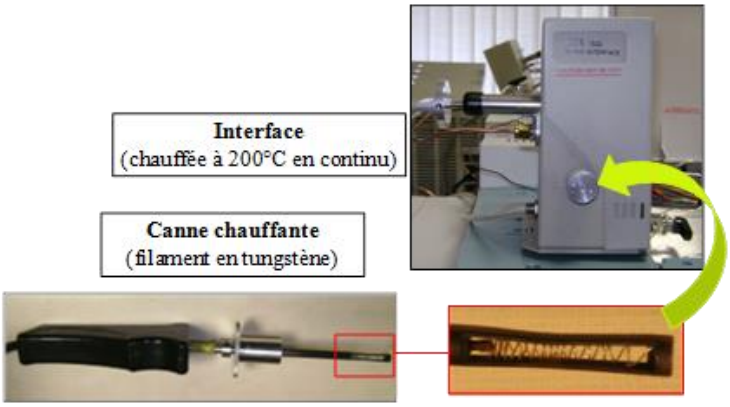

Figure 18 : Interface et canne chauffante du pyrolyseur

Le programme de température de la pyrolyse est le suivant :

- 25°C pendant 1 seconde,
- montée en température jusqu'à la température T souhaitée à 200°C ms^{-1},
- palier de 20 secondes à la température T.

Les effluents générés par la pyrolyse sont ensuite transférés par le gaz vecteur (hélium) dans l'injecteur du chromatographe *via* l'interface. Cette pyrolyse est déclenchée en même temps que le programme de température du four du chromatographe.

L'analyse des fragments de pyrolyse est réalisée par un chromatographe HP 5890 série. II est couplé à un spectromètre de masse HP 5972. L'injecteur est un injecteur Split-Splitless maintenu à une température de 300°C. La colonne capillaire utilisée est en silice fondue et présente les mêmes caractéristiques que celles de la colonne utilisée pour le couplage CPG-SM présenté dans le paragraphe 2.8.1. En revanche, le programme du four est différent :

- palier à -30°C pendant 30 secondes, en même temps que la pyrolyse de l'échantillon (cryogénie),
- augmentation rapide jusqu'à 40°C (45°C min^{-1}) suivie d'un palier à 40°C pendant 10 minutes,
- augmentation de la température jusqu'à 315°C à raison de 5°C min^{-1},
- palier à 300°C pendant 10 minutes et 30 secondes.

Pour améliorer la chromatographie des différents composés et surtout ceux de bas poids moléculaire, il est nécessaire de refroidir l'enceinte du chromatographe à -30°C en utilisant du CO_2 liquide pour que tous les composés commencent leur transfert au même moment.

Le fonctionnement et le mode de détection du spectromètre de masse sont identiques à ceux décrit pour le couplage CPG-SM utilisé lors des analyses de l'extrait organique (§ 2.8.1).

Soixante milligrammes de résidus d'extraction de la terre globale et des fractions granulodensimétriques ou de la terre globale non extraite au solvant sont introduits dans un tube en quartz, fermé de part et d'autre par de la laine de quartz.

Trois programmes de pyrolyse sont testés :

- Pyrolyse flash classique à 620°C,
- Pyrolyse à 400°C, température requise pour volatiliser tous les HAP,
- Combinaison des deux programmes précédents avec une première étape à 400°C suivie de la pyrolyse classique à 620°C (méthode dénommée « double shot »).

La quantification absolue par la méthode de l'étalon interne est très difficile du fait de sa potentielle dégradation pendant la pyrolyse. Pour pallier ce problème, nous avons choisi de travailler en quantification relative en intégrant les aires des pics détectés sur le pyrogramme. Afin de comparer les données entre elles, nous avons toujours travaillé avec la même quantité d'échantillon (60 mg).

2.9. Estimation de la biomasse microbienne

La méthode d'extraction-fumigation permet d'estimer la biomasse microbienne en mesurant le carbone organique dans deux portions d'un même échantillon, l'une après lyse des cellules microbiennes par fumigation au chloroforme et l'autre sans. Le carbone microbien est obtenu par différence des deux. Le protocole est adapté de celui publié par Vance et al. (1987).

Un échantillon de terre globale fraîche est divisé en deux portions de 10 g : la première est utilisée pour les traitements sans fumigation et la seconde pour les traitements avec fumigation. Chaque portion est préalablement lavée avec 20 mL de K_2SO_4 à 0,05 M. Les suspensions sont mises à agiter pendant 45 minutes sur un agitateur rotatif à 15 rpm, puis sont filtrées à travers un papier filtre Whatman No. 42. Les portions non destinées à être fumigées sont conservées à 4°C. Les autres sont placées dans un dessiccateur avec un bécher de chloroforme. Quelques gouttes de chloroforme sont déposées sur les échantillons afin d'amorcer la fumigation. Le dessiccateur est fermé et la pression est diminuée jusqu'à obtention du vide à l'intérieur du dessiccateur. La diminution de pression entraîne l'ébullition du chloroforme. Les vapeurs de chloroforme lysent les cellules microbiennes. Le dessiccateur est ensuite placé à l'obscurité à 25°C pendant 24 heures. Le carbone soluble est extrait des deux portions, fumigées et non fumigées, avec 40 mL d'une solution de K_2SO_4 à 0,5 M. Les suspensions sont agitées et filtrées dans les mêmes conditions que lors de l'étape de lavage. Le carbone dissous est mesuré dans les filtrats par un analyseur de carbone organique total TOC-VSCN (Shimadzu). Le carbone microbien (BM-C) est calculé selon la formule suivante :

$$BM\text{-}C = (OC_{fum} - OC_{non\text{-}fum})/k_E \qquad \text{(Equation 5)}$$

avec :

OC_{fum} : le carbone organique extrait des échantillons fumigés (mg kg^{-1} MS),

$OC_{non\text{-}fum}$: le carbone organique extrait des échantillons non fumigés (mg kg^{-1} MS),

k_{EC} : constante représentant la part extractible de C microbien après fumigation (k_{EC} = 0,45) (Joergensen, 1996).

2.10. Plan des expérimentations et analyses

Les différents traitements et techniques analytiques utilisés tout au long de la thèse sont résumés Figure 19.

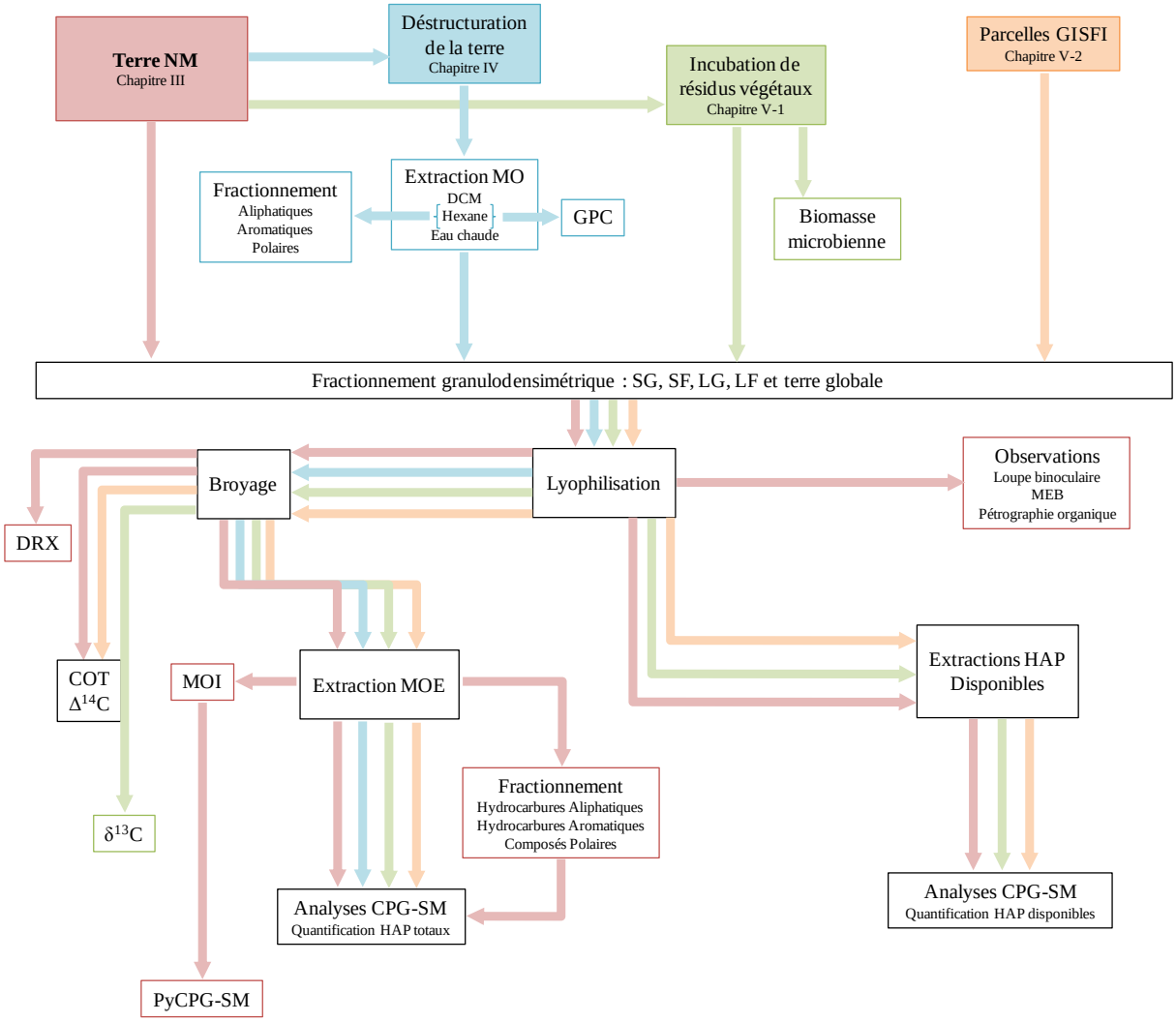

Figure 19 : Plan des expérimentations et analyses

3. Analyses statistiques

Les analyses statistiques ont été réalisées avec le logiciel R (R Development Core Team, 2011). Dans les chapitres III et IV, les comparaisons ont été réalisées avec une ANOVA à un facteur alors que dans le chapitre V, les comparaisons ont été effectuées avec une ANOVA à deux facteurs. Un test de Tukey's (HSD) a été utilisé pour les comparaisons multiples.

CHAPITRE III

CARACTERISATION DE LA TERRE NM

SOMMAIRE CHAPITRE III

1. Résultats 68
1.1. Caractérisation de la structure de la terre 68
1.2. Caractérisation des constituants de la terre 70
1.2.1. Premières distinctions macroscopiques 70
1.2.2. Caractérisations des principales phases minérales 72
1.2.3. Caractérisation des particules organiques 75
1.3. Caractérisation de la pollution 78
1.3.1. Concentration, répartition et fractionnement de la MOE 78
1.3.2. Concentration et distribution des 16 HAP 84
1.3.3. Disponibilité des HAP 87
1.3.4. Analyse de la matière organique insoluble (MOI) 87
1.3.4.1. Analyse de la terre globale 88
1.3.4.2 Analyse des fractions granulodensimétriques 92
2. Discussion : un matériau anthropique complexe 98
2.1. Nature anthropique des constituants 98
2.2. Pollution piégée dans la terre 98
2.3. Rôle protecteur des limons fins 100
3. Conclusion 102

Une partie des travaux présentés dans ce chapitre a fait l'objet d'une publication dans *Environmental Pollution* (Pernot et al., 2013) (Annexe 1 page 226).

L'étude bibliographique (chapitre I) a mis en évidence la complexité de la pollution retrouvée dans les sols de friches industrielles. Ces sols sont pollués par une multitude de matériaux (coke, charbon, goudron). Ils sont par ailleurs contaminés le plus souvent depuis plusieurs décennies ce qui conduit à un vieillissement de la pollution entraînant une diminution de la disponibilité des contaminants (Ling et al., 2010; Liste and Alexander, 2002). Cette faible disponibilité est le facteur limitant pour une bioremédiation effective de ces sols (Reid et al., 2000). Il convient donc de comprendre les facteurs qui gouvernent la disponibilité. Cependant, l'essentiel des travaux ne prend pas en compte le système « sol industriel » dans son ensemble et n'étudie qu'un seul paramètre à la fois : vieillissement de la pollution suite à une contamination artificielle d'un sol naturel ou encore étude centrée sur le compartiment organique du sol (MO) sans prendre en compte les constituants minéraux présents.

Afin de mieux comprendre les facteurs limitant la disponibilité des HAP dans ce type de sol, il semble important de se focaliser sur deux facteurs majeurs : (i) la répartition des HAP au sein des différents agrégats classés selon leur taille et (ii) les interactions entre ces contaminants et la MO du sol. Pour cela, les outils de sciences du sol et de géochimie organique ont été combinés. L'approche agronomique a consisté à réaliser dans un premier temps un fractionnement granulodensimétrique (chapitre II, § 2.2.1). La terre avant fractionnement ainsi que les différentes fractions granulodensimétriques ont fait l'objet (i) d'analyses élémentaires (carbone et azote – chapitre II, § 2.5.1), (ii) de caractérisations minéralogiques par diffraction des rayons X afin d'identifier les phases minérales présentes (chapitre II, § 2.4) et (iii) d'observations aux échelles photonique et électronique pour appréhender les associations potentielles entre les différentes phases (chapitre II, § 2.3). L'étude plus spécifique du compartiment organique de la terre NM a consisté à isoler la matière organique extractible au solvant (MOE – chapitre II, § 2.6.1.1) puis à la caractériser à l'échelle moléculaire avec un fractionnement préalable en différentes familles de composés (hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques et composés polaires – chapitre II, § 2.6.2). Enfin, les HAP totaux et disponibles ont été quantifiés (chapitre II, § 2.8.1 et 2.7). La matière organique insoluble (MOI) a également été caractérisée à l'échelle moléculaire par le couplage pyrolyse flash-chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (chapitre

II, § 2.8.3). Les différentes méthodes et analyses effectuées dans ce chapitre sont résumées Figure 20.

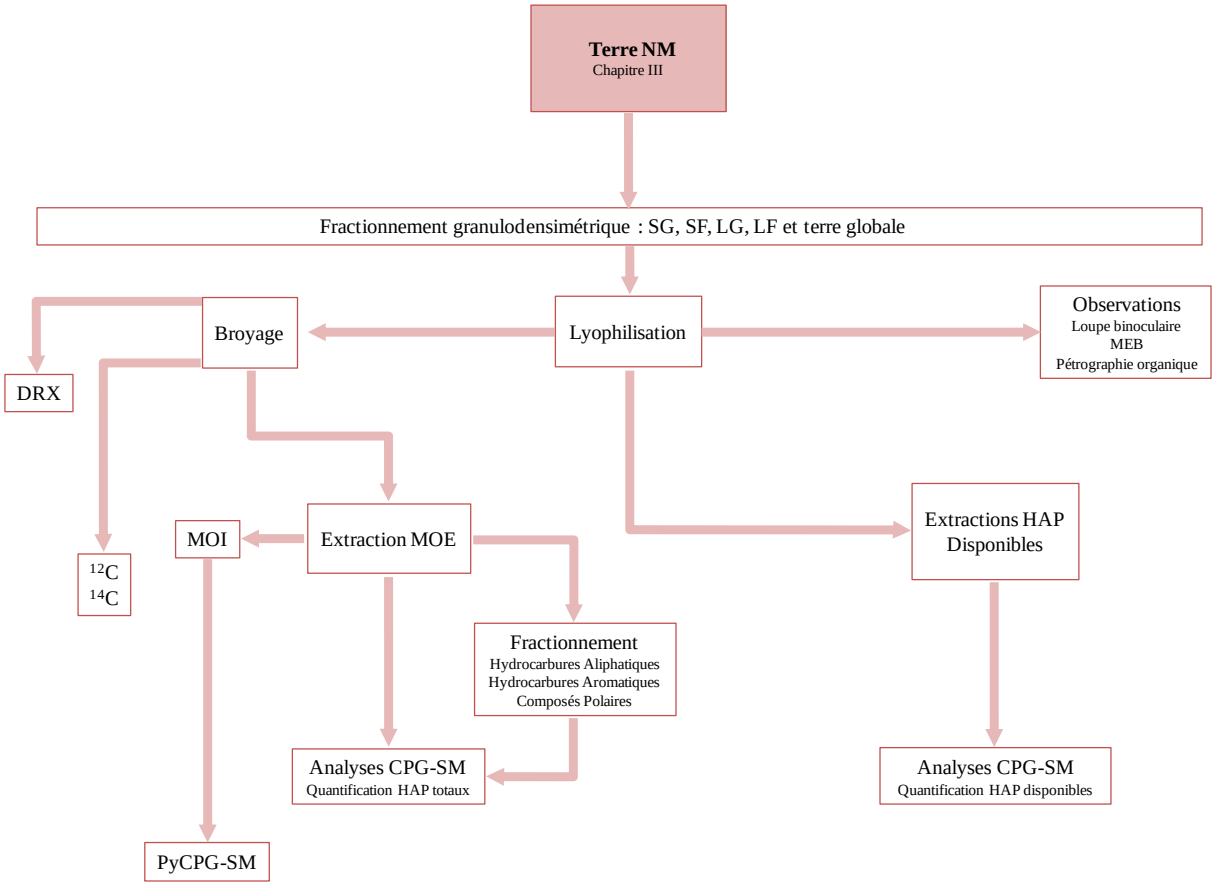

Figure 20 : Organigramme des méthodes et analyses utilisées tout au long du chapitre III

1. Résultats

1.1. Caractérisation de la structure de la terre

La texture, obtenue après destruction des carbonates et de la MO afin d'individualiser les particules est dominée par les sables grossiers qui représentent 57 %. Les autres fractions sont minoritaires avec 8 % de sables fins, 8 % de limons grossiers, 15 % de limons fins et 12 % d'argiles.

La structure, obtenue par fractionnement granulodensimétrique à l'eau, est également dominée par les sables avec 56 % de SG et 23 % de SF. Les autres fractions sont minoritaires avec 8 % de LG, 12 % de LF et 1 % de A.

La comparaison entre texture et structure (Figure 21) montre que les agrégats grossiers et particulièrement les SF présentent 14 % de matériel supplémentaire. A l'inverse, les argiles présentent une diminution de 11 %. Cette comparaison montre que l'agrégation se fait principalement dans les fractions grossières et que les argiles sont distribuées dans les fractions grossières. Les fractions limoneuses ne présentent pas de différence significative entre la structure et la texture.

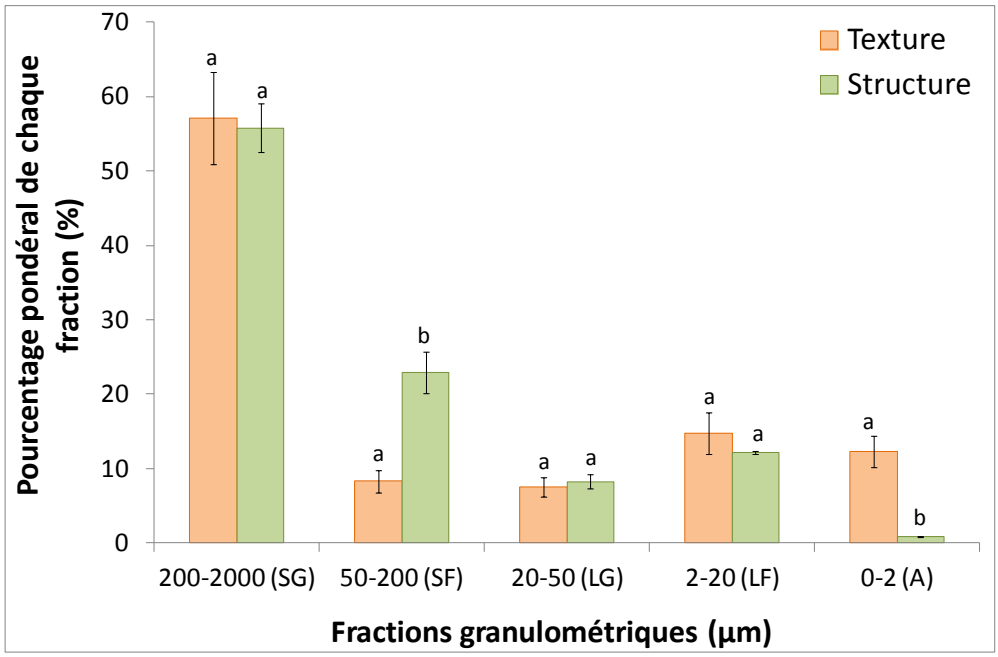

Figure 21 : Comparaison entre la texture et la structure de la terre NM (n = 8 pour la structure et n = 20 pour la texture)

L'analyse par granulométrie laser de la terre globale (Figure 22) sans application d'une force destructrice tels que les ultrasons, montre une distribution unimodale des tailles de particules centrée sur un intervalle de taille entre 400 et 500 µm. Cette distribution confirme la prédominance des sables grossiers dans la structure de la terre NM.

Lorsque des ultrasons sont appliqués sur l'échantillon, la distribution des particules est modifiée avec l'apparition de trois modes. Le premier se situe toujours dans l'intervalle de taille des sables grossiers (300 - 400 µm), le second se situe dans l'intervalle de taille des sables fins (50 - 90 µm) et le dernier se situe dans l'intervalle de taille des limons fins (5 - 20 µm). Le pourcentage de particules appartenant à l'intervalle de taille des sables grossiers est plus faible lorsque des ultrasons sont appliqués et à l'inverse, les pourcentages de particules appartenant aux intervalles de tailles des sables fins et plus particulièrement des limons fins

sont plus importants. Ces différences d'abondance signifient que les ultrasons entraînent une désagrégation d'agrégats grossiers de la taille des SG composés en partie de sables fins et plus majoritairement de limons fins.

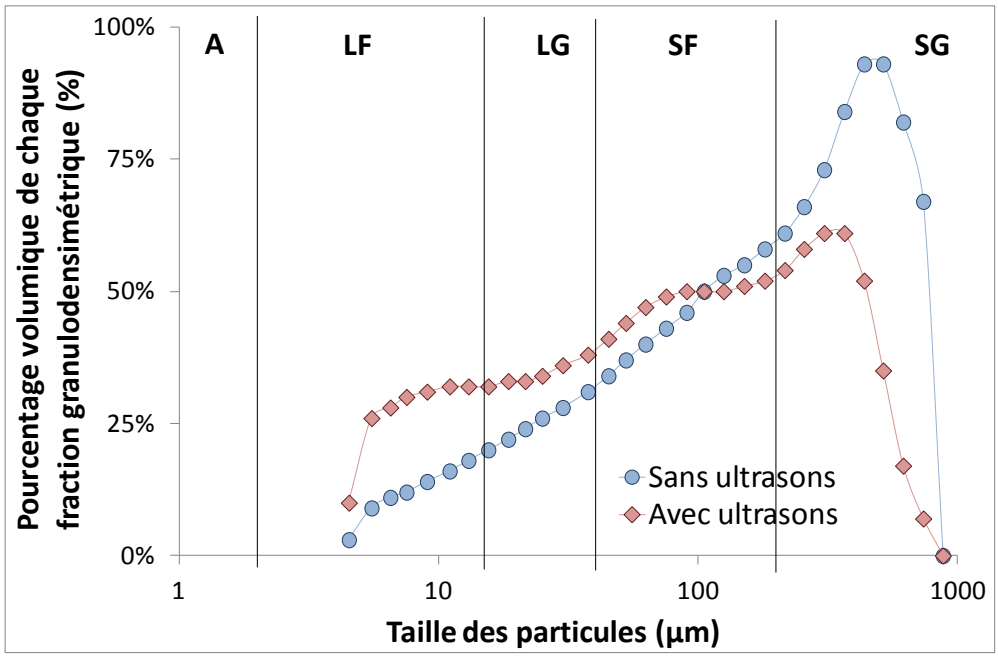

Figure 22 : Distribution volumique des particules composant la terre globale NM

1.2. Caractérisation des constituants de la terre

1.2.1. Premières distinctions macroscopiques

L'observation des deux fractions grossières (sables grossiers et sables fins) révèle deux types d'hétérogénéité au sein des agrégats : taille et nature (Figure 23).

Au sein de chaque fraction, toutes les gammes de tailles sont observées.

Pour la fraction SG, les tailles extrêmes observées sont de 1843 µm pour la plus grande et de 256 µm pour la plus petite (Figure 23a). Les particules inférieures à 1000 µm sont prédominantes.

Pour la fraction SF, les tailles extrêmes se situent entre 357 µm et 110 µm (Figure 23b). La majorité des particules ont une taille comprise entre 100 et 150 µm.

Les observations témoignent de la présence de particules identiques au sein des deux fractions. Six classes principales sont mises en évidence sur la base des différences de couleurs. Cette classification, basée sur la couleur, a été mise en place par Monserie (2009).

- La classe 1, de type « Goudron », se caractérise par un liquide visqueux noir et brillant à la surface des particules (Figure 23c). Ces particules ne semblent pas majoritaires.
- La classe 2 se compose de particules vitreuses. Ces particules, assimilables à du quartz, sont retrouvées en grand nombre dans l'échantillon. Elles ne présentent pas de forme particulière (Figure 23d).
- La classe 3 regroupe des particules orange. Celles-ci sont très poreuses et se cassent facilement. Ces particules s'apparentent à des briques (Figure 23e). Elles peuvent être seules ou associées à d'autres éléments plus sombres de type laitier.
- La classe 4 est constituée de particules bleues de ferro-cyanures (Figure 23f).
- La classe 5 rassemble des particules grises. Ce sont pour la plupart de très grosses particules car elles sont formées d'agglomérats de plusieurs particules (Figure 23g).
- La classe 6 comprend des billes grises ou noires présentant un aspect métallique (Figure 23h). Elles sont de diamètres variables.

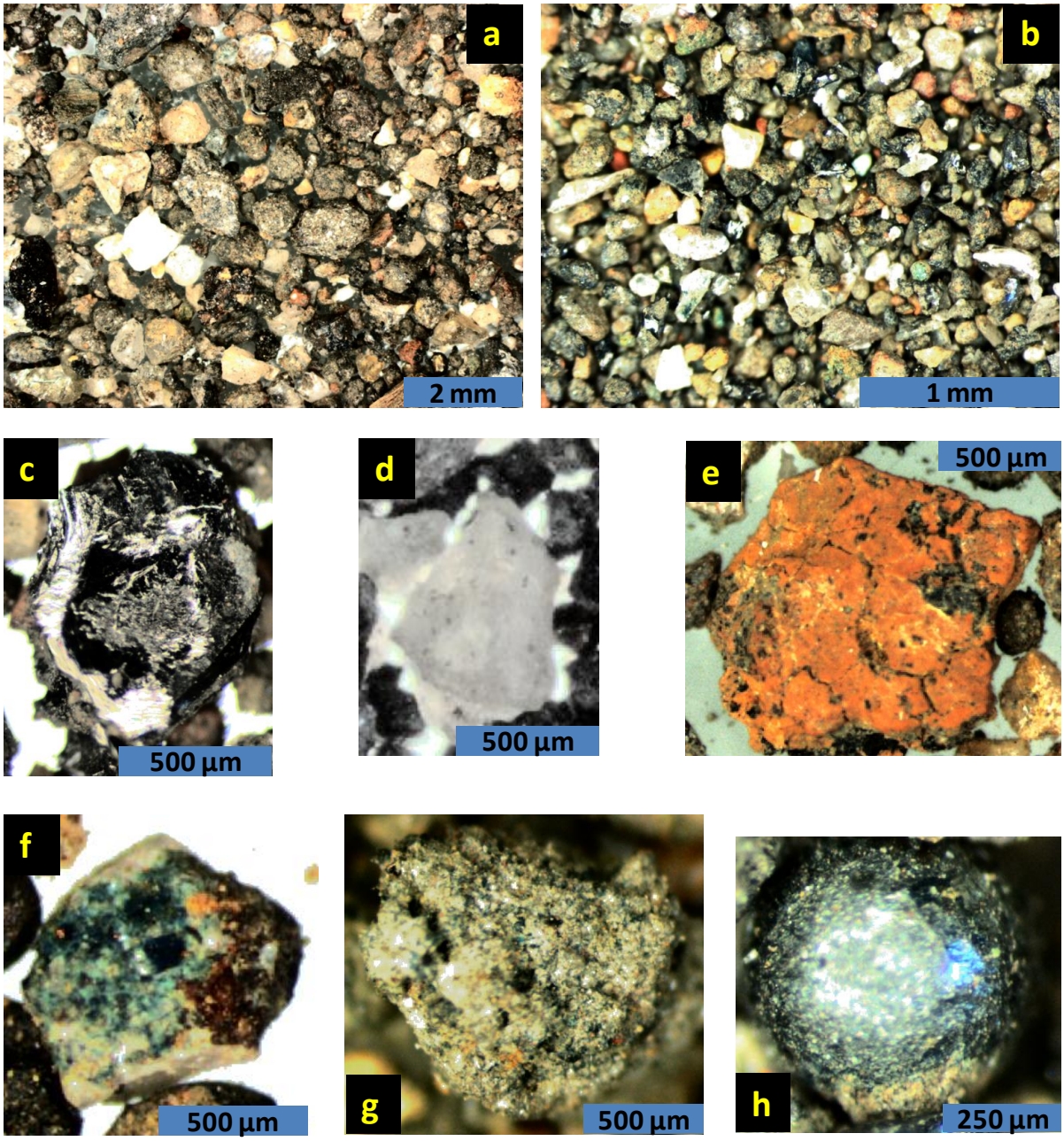

Figure 23 : Photos des principales particules constituant les sables de la terre NM : a) sables grossiers, b) sables fins, c) particule de goudron, d) particule vitreuse, e) particule de brique, f) particule de ferrocyanure, g) agglomérats de particules grises et h) billes métalliques

1.2.2. Caractérisations des principales phases minérales

Afin de compléter ces observations photoniques ciblant uniquement les fractions sableuses, l'observation au MEB couplé à une sonde EDX a été réalisée pour permettre de préciser la composition élémentaire des particules de la terre globale ainsi que des fractions granulodensimétriques. Cinq types de particules ont été observés : des oxydes de fer (Figure

24a), du gypse (Figure 24b), des silicates (Figure 24c), de l'apatite (Figure 24d) et des sulfures de fer (pyrite) (Figure 24e). Toutes ces particules sont observées dans la terre globale et les différentes fractions granulodensimétriques excepté le gypse qui n'est pas observé dans les limons (grossiers et fins).

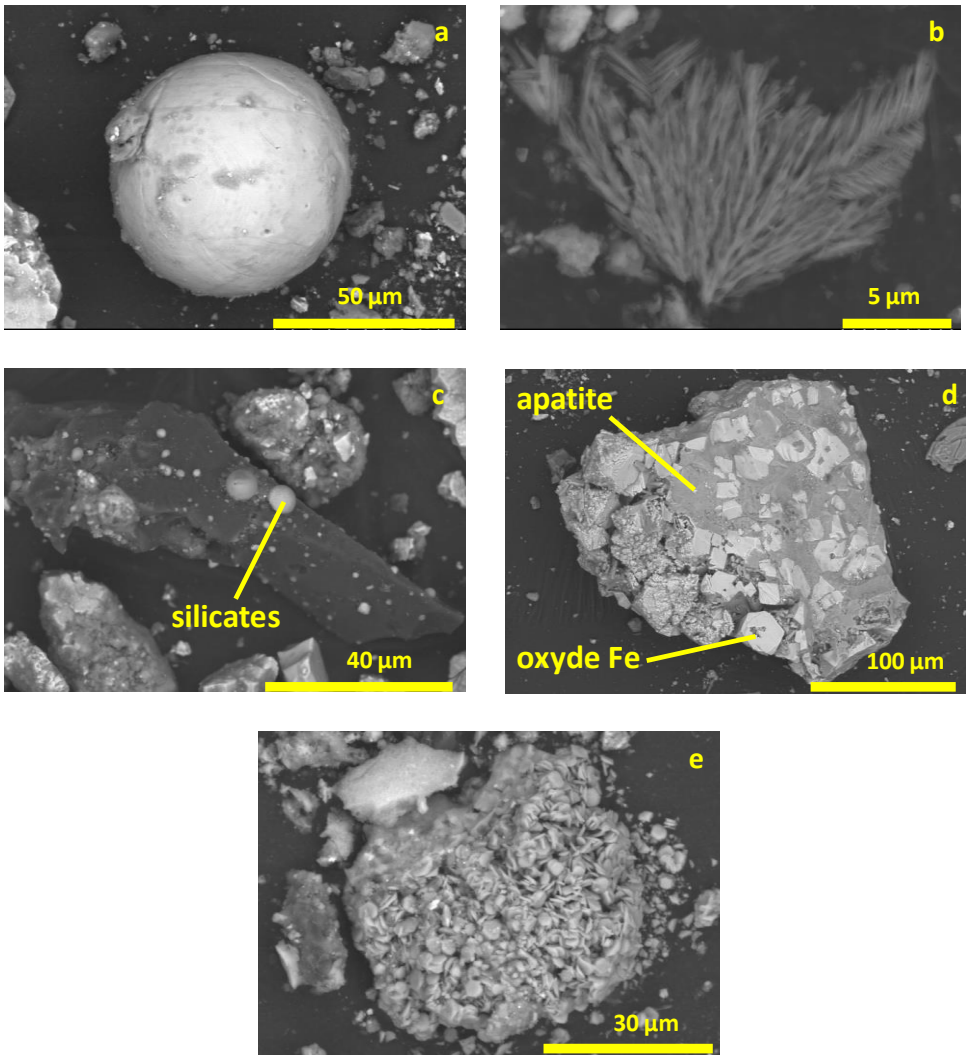

Figure 24 : Photographies des types de particules minérales observées dans la terre NM : a) bille d'oxyde de fer, b) gypse, c) billes de silicates sur une particule de carbone, d) oxyde de fer dans une matrice d'apatite et e) pyrite

Le comptage des particules de la terre globale par pétrographie organique a révélé que les particules minérales représentaient 90,4 % de la totalité des particules, dont 61 % sont clairement d'origine anthropique. Respectivement, le spinel (Figure 25a) et la magnétite représentent 39 %, le verre (Figure 25b) représente 25 % et la mullite (Figure 25c) représente 3 % de la totalité des particules minérales. Le reste des particules minérales (29,4 %) est

d'origine naturelle : le quartz, les argiles, la calcite et les minéraux mineurs représentent respectivement 15 %, 9 %, 2 % et 6 % de la totalité des particules minérales.

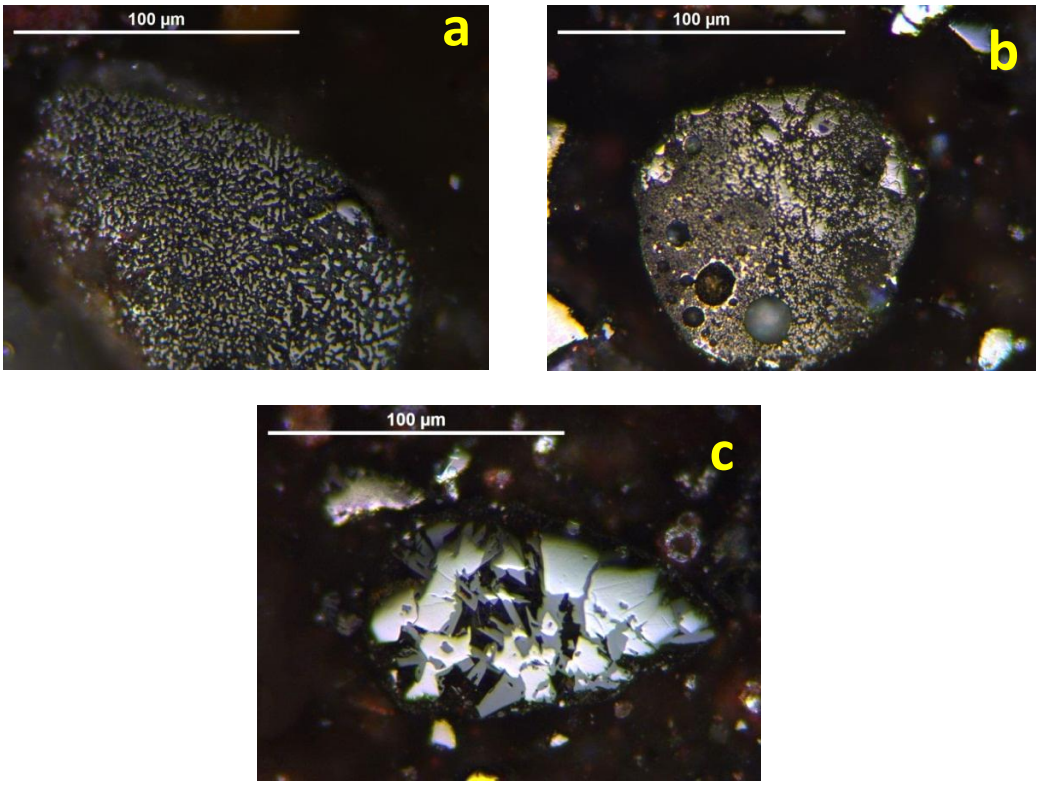

Figure 25 : Photographies de particules minérales anthropiques observées en pétrographie organique : a) spinel, b) sphère de verre et c) spinel et mullite

Les phases cristallisées mises en évidence par DRX dans la terre globale correspondent essentiellement à du quartz, de la calcite, des sulfates (gypse et bassanite), des oxydes de fer (magnétite, hématite et wuestite), de la magnésiochromite, des feldspaths (orthose) et des minéraux argileux (illite et kaolinite) (Figure 26).

Les fractions sableuses présentent des phases cristallisées majeures similaires à celles de la terre globale. Cette similarité est cohérente avec la distribution des particules : les sables représentent 80 % en masse de la terre globale. En revanche, les fractions limoneuses se distinguent de la terre globale par l'absence de certaines phases ou par la présence de nouvelles (Figure 26). En effet, les phases cristallisées présentes dans les LG sont uniquement du quartz, de l'orthose, de la magnétite, de l'hématite et de la wuestite. A l'inverse, les LF possèdent une plus grande diversité de minéraux. Ils sont caractérisés par du quartz, de la chlorite en plus de l'illite et de la kaolinite, par un feldspath supplémentaire, l'albite en plus

de l'orthose et de la goethite en plus de la magnétite, de l'hématite et de la wuestite. En complément de la présence de minéraux supplémentaires par rapport à la terre globale, les LF se distinguent par des pics de diffraction correspondant aux oxydes de fer plus intenses et plus nombreux, ce qui signifie qu'ils sont mieux cristallisés et plus abondants que dans la terre globale et dans les sables.

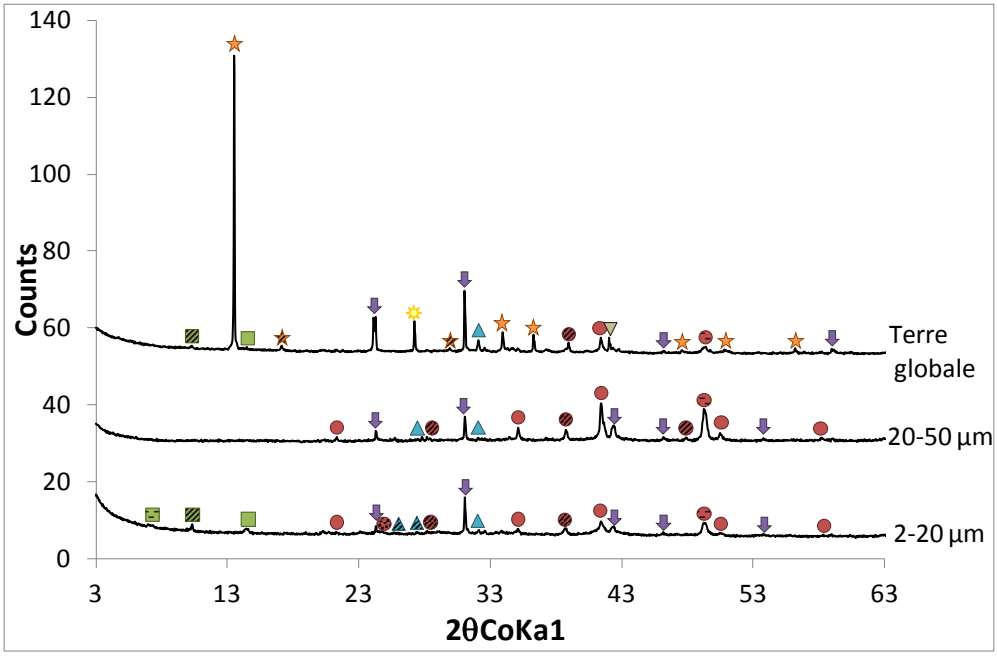

Figure 26: Diffractogrammes de poudre de la terre globale des limons grossiers et des limons fins montrant la présence de minéraux argileux (chlorite ( ), illite ( ), kaolinite ( )), quartz ( ), oxydes de fer (magnétite ( ), hématite ( ), wuestite ( ), goethite ( )), magnésiochromite ( ), feldspaths (orthose ( ), albite ( )), sulfates (gypse ( ), bassanite ( )) et calcite ( )

1.2.3. Caractérisation des particules organiques

Les mesures de l'activité du ^{14}C ont donné pour la terre globale un pourcentage de carbone moderne de 5,87 %. Ce pourcentage, très limité, indique une quasi absence de carbone récent et donc une forte prédominance de carbone d'origine fossile.

Ces résultats sont compatibles avec le contexte de l'étude, c'est-à-dire le contexte d'une terre provenant d'un site d'une ancienne cokerie contaminé par du charbon, MO fossile, et ses sous-produits : coke et goudron de houille.

Les observations au MEB des particules de carbone de la terre globale et des fractions granulodensimétriques ont permis de mettre en évidence deux types de particules organiques :

des particules poreuses (Figure 27a), identifiées à du coke, et des particules non poreuses (Figure 27b) identifiées à du charbon ou du goudron. Aucun assemblage de ces deux types de particules entre elles ni avec d'autres minéraux n'a été observé. La plupart des particules observées sont « propres », sans particules agglomérées à leur surface et individualisées (Figure 27b). Quelques unes présentent un aspect « sale » avec quelques grains attachés à leur surface (Figure 27c). Seuls les LF se distinguent des autres fractions : aucune particule poreuse n'a été observée, ils semblent n'être constitués que d'une seule famille de particule de carbone.

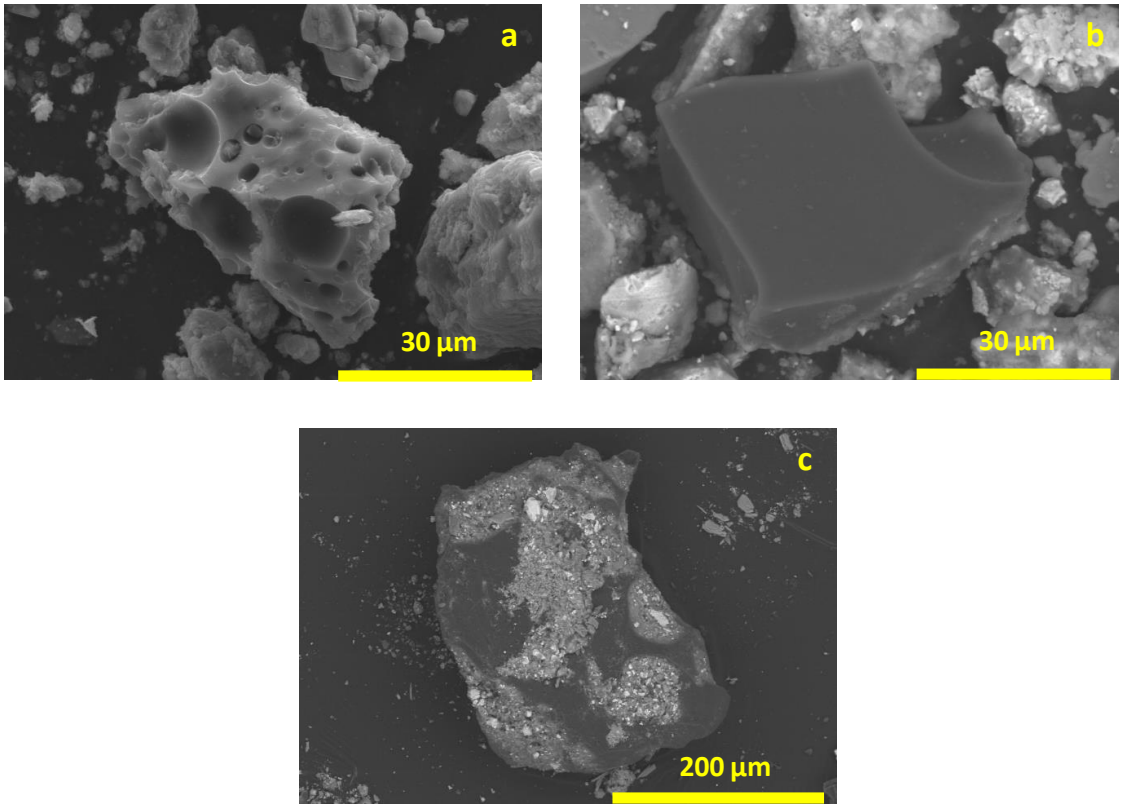

Figure 27 : Observations au MEB des particules organiques de la terre NM : a) coke, b) charbon ou goudron et c) particule présentant un aspect "sale"

Le comptage des particules de la terre NM par pétrographie organique a révélé que les particules organiques représentent 9,6 % de la totalité des particules. Toutes ces particules organiques ont une origine anthropique : le coke (Figure 28a) représente 69 % de la totalité des particules organiques, le charbon (Figure 28b) en représente 21 %, l'anthracite (Figure 28c) 8 % et enfin le goudron (Figure 28d) en représente 2 %.

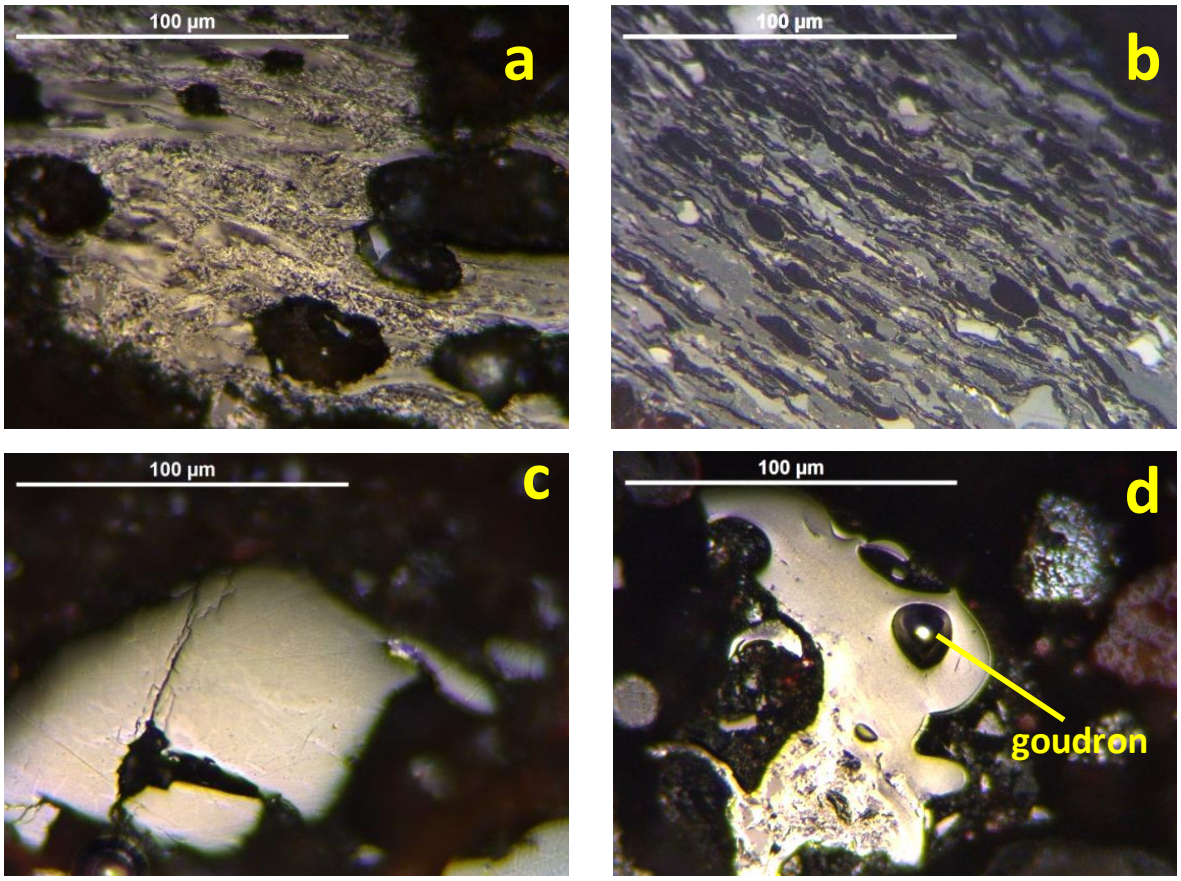

Figure 28 : Photographies des particules organiques de la terre NM observées en pétrographie organique : a) coke, b) charbon, c) anthracite et d) goudron

Les teneurs en carbone total (CT) et carbone organique total (COT) dans la terre globale et dans les fractions granulodensimétriques sont très proches, dues au faible taux de carbonates dans la terre (chapitre II § 1). Ainsi, la comparaison entre le CT et le COT indique que le carbone présent dans la terre NM est principalement organique (Tableau 4). Les SF et LF présentent les deux plus importants taux de COT et inversement les SG et LG présentent les deux plus faibles.

Tableau 4 : Carbone total, carbone organique total, azote total et rapport C/N des fractions granulodensimétriques et de la terre globale (les nombres entre parenthèses représentent les écarts type obtenus sur trois répétitions – un problème analytique survenu lors de l'analyse du COT des SG explique l'absence d'écart type)

	200-2000 µm SG	**50-200 µm SF**	**20-50 µm LG**	**2-20 µm LF**	**Terre globale**
CT (mg g^{-1})	56 (1)	115 (1)	61 (2)	88 (1)	72 (1)
COT (mg g^{-1})	61	103 (0,3)	60 (14)	89 (2)	66 (7)
NT (%)	0,19 (0,004)	0,29 (0,002)	0,26 (0,008)	0,73 (0,008)	0,29 (0,007)
C/N	33,5	34,7 (0,1)	23,6 (6,2)	12,3 (0,3)	22,8 (2,9)

La teneur en azote total (NT) est plus faible dans les SG et LG que dans la terre globale tandis qu'une teneur similaire est observée entre la terre globale et les SF (Tableau 4). En revanche, les LF présentent un enrichissement important : la teneur en NT est trois fois plus importante que celle de la terre globale. Il en résulte un fort rapport C/N pour les fractions les plus grossières avec 33,5 ; 34,7 (±0,1) et 23,6 (±6,2) pour respectivement les SG, SF et LG. Les LF présentent le plus faible rapport C/N avec 12,3 (±0,3). Cette différence de teneur en NT et donc de rapport C/N est un indicateur potentiel de la présence d'une MO de composition différente dans les LF.

1.3. Caractérisation de la pollution

1.3.1. Concentration, répartition et fractionnement de la MOE

Les teneurs en matière organique extractible (MOE) sont respectivement de 8,6 (±0,3) ; 9,6 (±0,5) ; 8,0 (±0,1) ; 28,2 (±0,7) et 9,2 (±0,7) mg g^{-1} dans les SG, SF, LG, LF et la terre globale (Figure 29). Ces teneurs sont élevées pour toutes les fractions par rapport à un sol naturel dans lequel la MOE est généralement inférieure à 0,5 mg g^{-1} (Kélomé et al., 2012). Les teneurs mesurées sont du même ordre de grandeur que d'autres mesures effectuées sur d'autres sols de cokerie (Biache et al., 2008; Usman et al., 2012a et b). La concentration en MOE dans la terre globale représente 13 % de la teneur en COT. Les teneurs en MOE des fractions granulodensimétriques sont toutes dans la même gamme que celle de la terre globale excepté pour les LF qui se distinguent par une concentration en MOE trois fois plus élevée. Cette forte concentration est un nouvel indicateur de la spécificité de cette fraction.

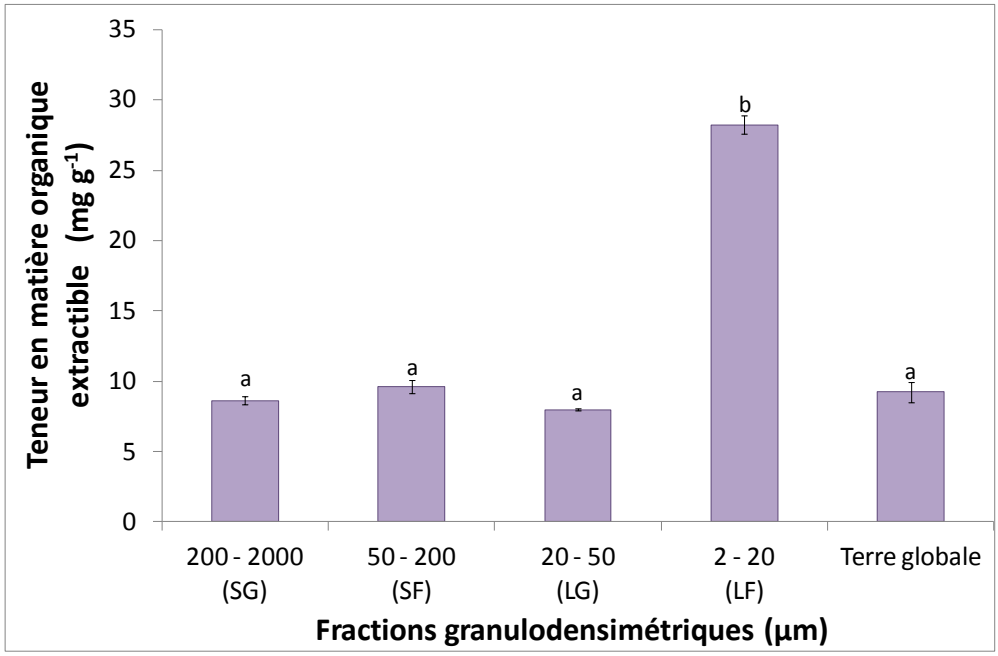

Figure 29 : Concentration en matière organique extractible dans les fractions granulodensimétriques et dans la terre globale (n = 3)

Ces concentrations en MOE ont été rapportées à l'abondance relative en masse de chaque fraction granulodensimétrique afin de quantifier la contribution spécifique de chaque fraction (Figure 30). Deux fractions contribuent principalement à la MOE : les SG (43 %) et les LF (31 %). Ces deux porteurs de carbone s'expliquent par (i) l'abondance des SG qui représentent 56 % en masse de la terre globale et (ii) la forte concentration en MOE dans les LF alors qu'ils ne représentent que 12 % en masse. Les SF et LG sont des porteurs de carbone intermédiaires avec respectivement 20 et 6 %.

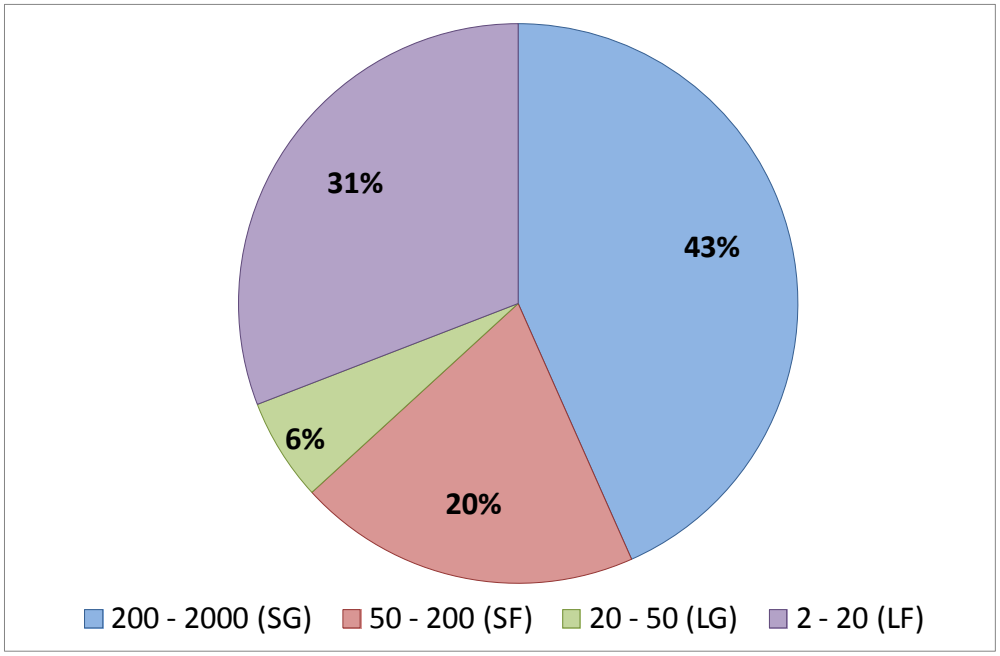

Figure 30 : Répartition de la MOE dans les fractions granulodensimétriques

L'analyse en CPG-SM de la matière organique extractible dans son ensemble (Figure 31) met en évidence dans la terre globale une prédominance des composés aromatiques et notamment des HAP. L'identification des composés détectés est donnée Tableau 5. Les fractions granulodensimétriques présentent la même distribution de composés que la terre globale.

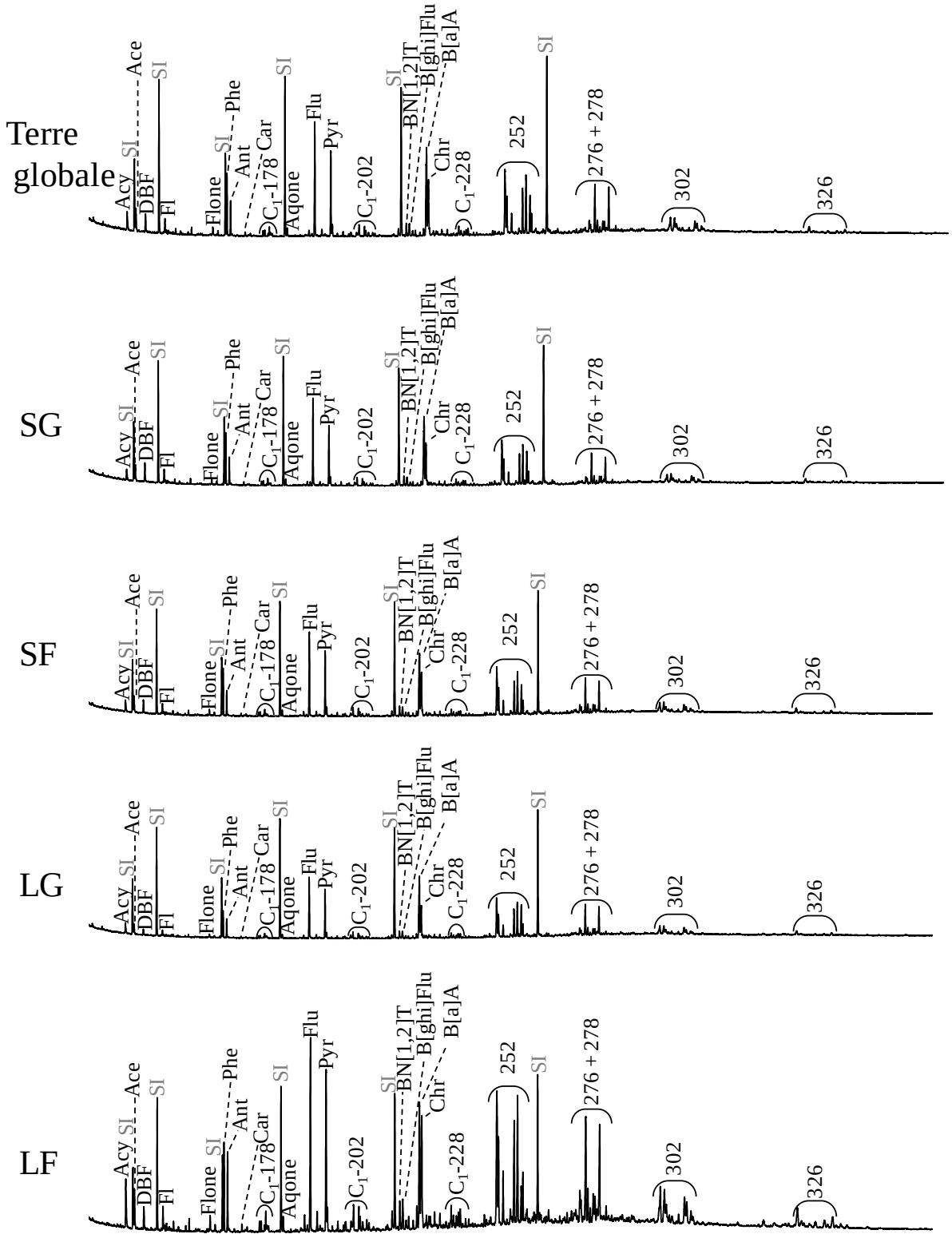

Figure 31 : Chromatogrammes de la matière organique extractible totale de la terre globale et des fractions granulodensimétriques (cf Tableau 5 pour identification)

Tableau 5 : Identification des composés représentés sur les Figures 31 et 33

Code	Composés
Na	Naphtalène
Acy	Acénaphthylène
Ace	Acénaphthène
DBF	Dibenzofurane
Fl	Fluorène
Phe	Phénanthrène
Ant	Anthracene
C_1-178	Composés méthylés de masse molaire 178
Flu	Fluoranthene
Pyr	Pyrene
C_1-202	Composés méthylés de masse molaire 202
BN[1,2]T	Benzo(b)naphto(1,2-d)thiophène
B[ghi]Flu	Benzo(ghi)fluoranthène
B[a]A	Benzo(a)anthracène
Chr	Chrysène
C_1-228	Composés méthylés de masse molaire 228
252	Composés de masse molaire 252
276 - 278	Composés de masses molaires 276 et 278
302	Composés de masse molaire 302
326	Composés de masse molaire 326
Flone	9H-Fluorénone
Car	Carbazole
Aqone	Anthraquinone
Acone	Acénaphtylénone
Npone	Naphtopyrénone
Cpone	Cyclopenta(def)phénanthrénone
O-230	Composés de masse molaire 230 oxygénés
BAcr	Benzoacridine
BCar	Benzocarbazole
Ndione	Naphtacédione
O-254	Composés de masse molaire 254 oxygénés
N-253	Composés de masse molaire 253 azotés
O-280	Composés de masse molaire 280 oxygénés

La MOE a été fractionnée par chromatographie liquide sur micro-colonnes afin d'étudier spécifiquement chaque famille de composés : hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques et composés polaires (chapitre II, § 2.6.2). La répartition des différentes familles de composés a été calculée (Figure 32). Dans la terre globale, les hydrocarbures aromatiques et les composés polaires sont majoritaires avec respectivement 3,9 et 3,4 mg g^{-1} représentant 42,6 et 37,0 % de la totalité de la MOE. Les hydrocarbures aliphatiques sont minoritaires avec 1,9 mg g^{-1}, représentant 20,4 % de la MOE totale. Ces proportions sont similaires pour les

sables et les limons grossiers mais elles diffèrent pour les LF où les proportions des hydrocarbures aromatiques et des hydrocarbures aliphatiques représentent respectivement 47,1 et 16,9 %.

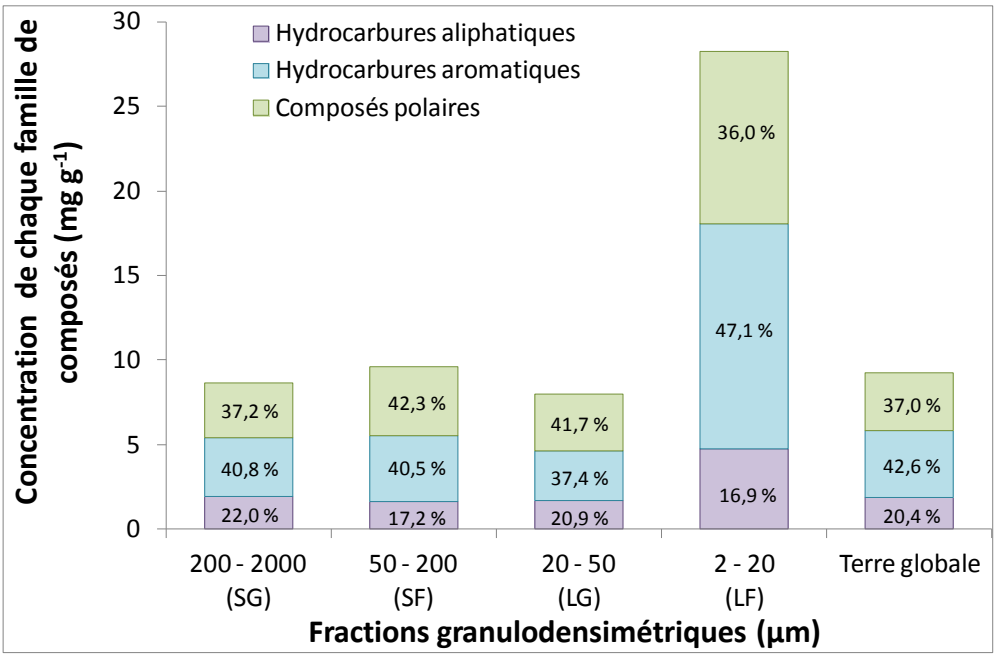

Figure 32 : Répartition de chaque famille de composés dans les fractions granulodensimétriques et dans la terre globale

Les chromatogrammes de ces familles composant la MOE de la terre globale sont présentés Figure 33. Les hydrocarbures aliphatiques sont nettement dominés par les *n*-alcanes, comprenant 11 à 41 atomes de carbone (du *n*-C_{11} au *n*-C_{41}). Les hydrocarbures aromatiques sont largement dominés par les HAP, les mêmes composés que pour la MOE totale ont été identifiés. Les composés polaires sont principalement dominés par des cétones aromatiques. Les composés détectés dans les familles organiques de la MOE des fractions granulodensimétriques sont similaires à ceux de la terre globale. Leurs chromatogrammes sont présentés en Annexe 2 (Figures 97 à 100 pages 252 à 255).

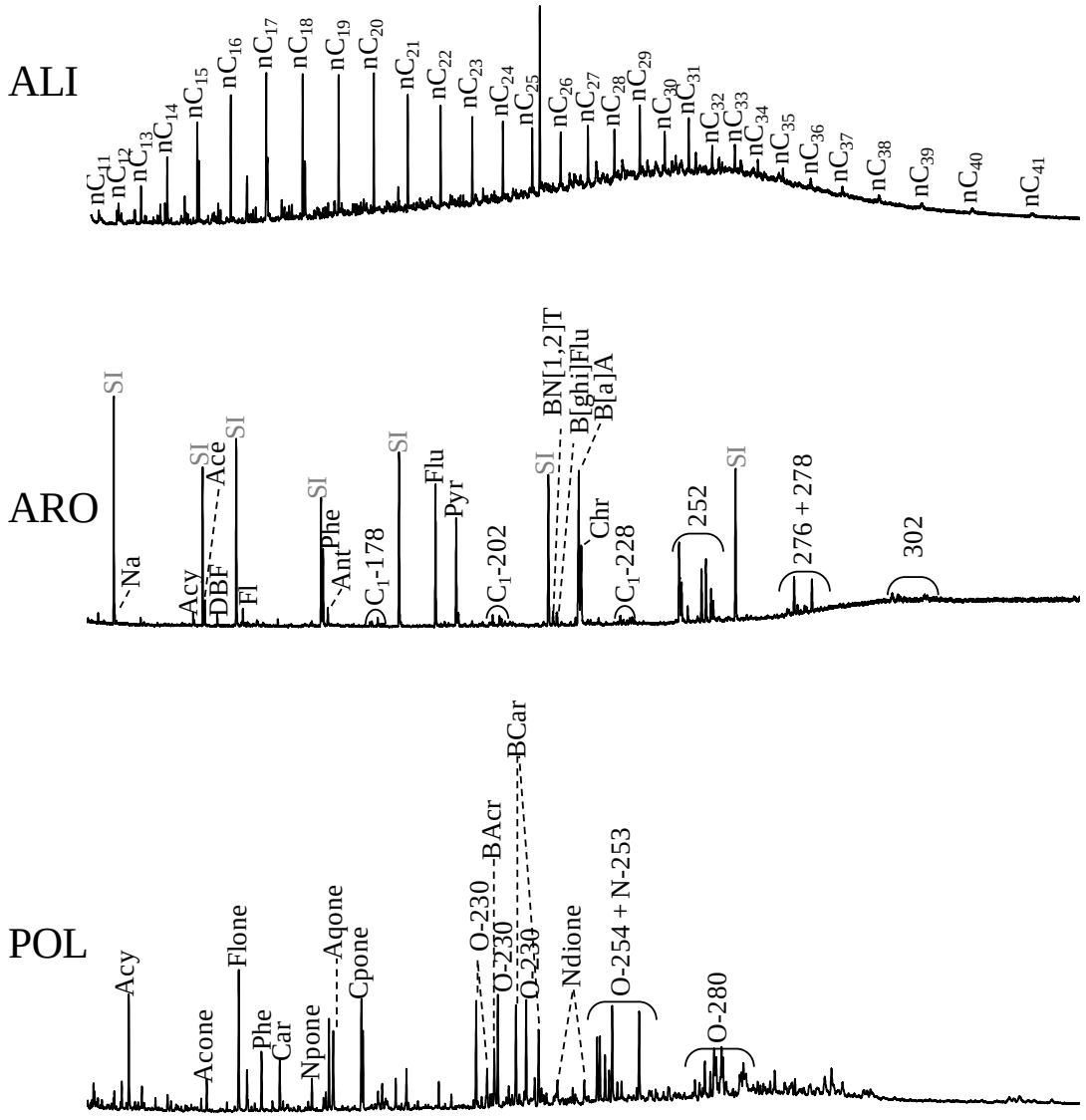

Figure 33 : Chromatogrammes des hydrocarbures aliphatiques (ALI), des hydrocarbures aromatiques (ARO) et des composés polaires (POL) constituant la MOE de la terre globale (cf Tableau 5 pour identification)

1.3.2. Concentration et distribution des 16 HAP

La somme des concentrations des 16 HAP réglementaires obtenues par CPG-SM est donnée Tableau 6. Les concentrations des 16 HAP individuels sont données Tableau 24 Annexe 3-1 page 258. La concentration mesurée sur la terre globale est similaire à celles obtenues dans des études précédentes sur la même terre, (Biache et al., 2008; Laurent et al., 2012; Usman et al., 2012a et b).

Tableau 6 : Concentration (µg g^{-1} de terre sèche) des 16 HAP totaux (liste US-EPA) dans la terre globale et dans les fractions granulodensimétriques

Fractions granulodensimétriques	Σ16HAP (liste US-EPA) (µg g^{-1} de terre sèche)
Sables grossiers (200-2000 µm)	854
Sables fins (50-200 µm)	1014
Limons grossiers (20-50 µm)	725
Limons fins (2-20 µm)	2506
Terre globale	1025

Toutes les fractions présentent des concentrations globalement voisines à celle de la terre globale exceptées pour les LF (Tableau 6). Une nouvelle fois, cette fraction se distingue avec une concentration en HAP plus de deux fois supérieure à celle de la terre globale. Cette forte concentration, compatible avec la forte teneur en MOE de cette même fraction ainsi qu'avec sa proportion élevée en hydrocarbures aromatiques montre à nouveau la spécificité des limons fins.

La distribution globale des HAP regroupés par nombre de cycles aromatiques pour toutes les fractions granulodensimétriques est relativement similaire à celle de la terre globale (Figure 34). La distribution de chaque HAP individuel est donnée Tableau 25 Annexe 3-2 page 259. Elle est centrée sur les composés à 3- et 4 cycles. Mais en détails, les particules fines montrent un appauvrissement en composés de bas poids moléculaires (2-3 cycles) par rapport aux particules grossières (SG et SF) et à la terre globale, et un enrichissement en composés de haut poids moléculaires (5-6 cycles). De plus, parmi les 16 HAP US-EPA, deux isomères (phénanthrène et anthracène) présentent des différences de distribution dans les fractions granulodensimétriques (Figure 35). Les limons présentent un enrichissement en anthracène. Cet enrichissement n'est pas visible dans les sables.

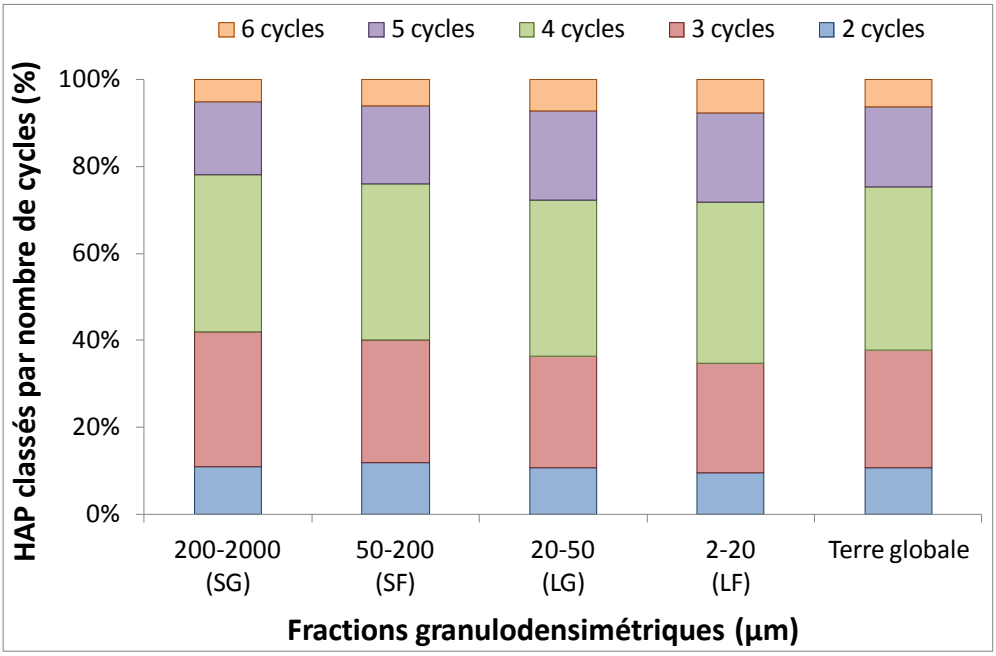

Figure 34 : Distribution des 16 HAP US-EPA classés par nombre de cycles aromatiques dans les fractions granulodensimétriques et dans la terre globale

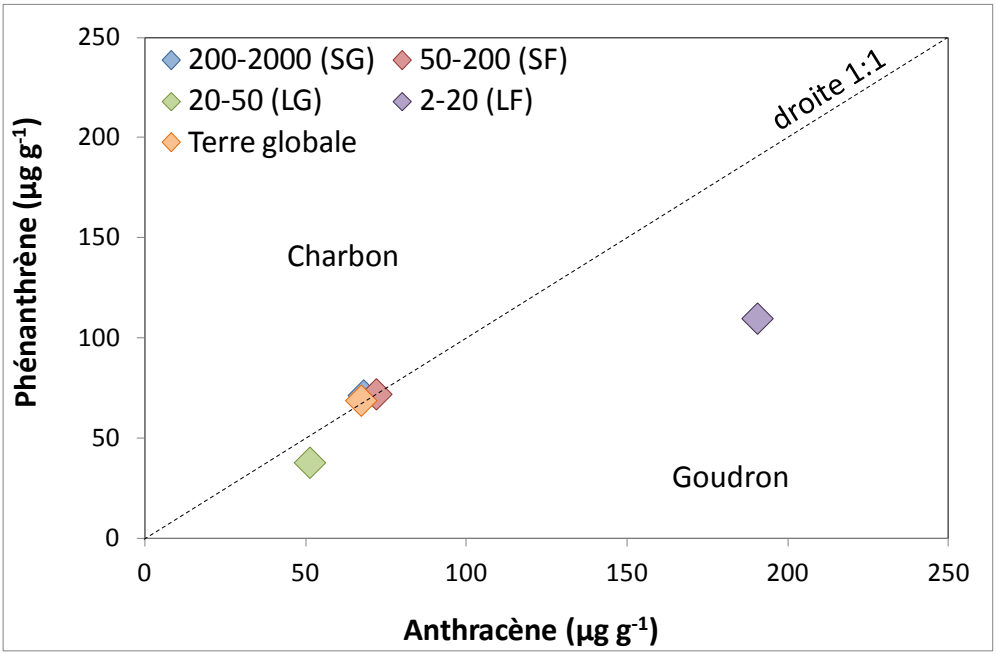

Figure 35 : Concentration en phénanthrène en fonction de la concentration en anthracène dans les fractions granulodensimétriques et la terre globale

1.3.3. Disponibilité des HAP

La proportion de HAP disponibles par rapport aux HAP totaux dans la terre globale est estimée à 1,7 % (Figure 36). Cette faible valeur s'explique du fait de l'ancienneté de la pollution. La disponibilité est limitée pour toutes les fractions et se situe dans la même gamme que celle de la terre globale excepté les LF qui présentent une plus faible disponibilité avec 1,3 %.

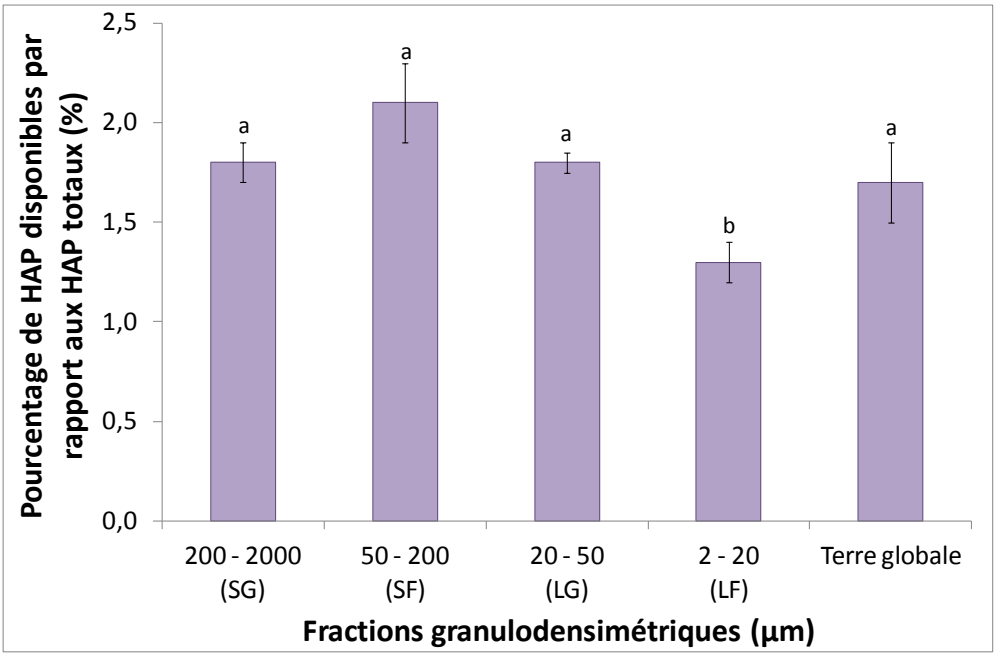

Figure 36 : Pourcentage de HAP disponibles par rapport aux HAP totaux dans les fractions granulodensimétriques et la terre globale (n =3)

1.3.4. Analyse de la matière organique insoluble (MOI)

Les informations sur la MOI obtenues par pétrographie organique (§ 2.3.3) ont montré que la MOI est majoritairement composée de coke et de goudrons en traces sous forme de gouttelettes (Figure 28d). Afin d'obtenir d'avantage d'informations, la MOI est caractérisée à l'échelle moléculaire par le couplage PyCPG-SM (chapitre II, § 2.8.3). Pour l'ensemble des pyrogrammes présentés dans cette partie (Figures 37 à 45), l'échelle de l'axe des ordonnées est proportionnel à l'intensité du signal. Le Tableau 7 regroupe la nomenclature de tous les composés identifiés sur tous les pyrogrammes présentés dans ce paragraphe.

Tableau 7 : Identification des composés présents dans les pyrogrammes des Figures 37 à 45

Code	Composés
Na	Naphtalène
Acy	Acénaphthylène
DBF	Dibenzofurane
Fl	Fluorène
Phe	Phénanthrène
Ant	Anthracene
C_1-178	Composés méthylés de masse molaire 178
Flu	Fluoranthène
Pyr	Pyrène
C_1-202	Composés méthylés de masse molaire 202
BN[1,2]T	Benzo(b)naphto(1,2-d)thiophène
B[a]A	Benzo(a)anthracène
Chr	Chrysène
252	Composés de masse molaire 252
Flone	9H-Fluorénone
Car	Carbazole
Tol	Toluène
C_1-Th	Thiophène méthylé
C_2-Bz	Ethyl-benzène
Sty	Styrène
Cum	Cumène
C_3-Bz	Xylène
C_1-Sty	Styrène méthylé
BN	Benzonitrile
BF	Benzofurane
Ind	Indène
DHI	Dihydro-indène
BTh	Benzothiophène
C_1-BTh	Benzothiophène méthylé
C_1-Na	Naphtalène méthylé
BP	Biphényl
NCN	Naphtocarbonitrile
DBF	Dibenzofurane
DBTh	Dibenzothiophène
IQ	Isoquinoline

1.3.4.1. Analyse de la terre globale

Dans un premier temps, les résidus d'extraction (après élimination de la fraction organique extractible au dichlorométhane) de la terre globale sont analysés par pyrolyse à 620°C pendant 20 secondes, dans le but de mettre en évidence (i) si des composés et notamment des HAP sont restés piégés dans la terre après l'extraction au solvant et donc de déterminer si

l'extraction des HAP au dichlorométhane est totale et/ou (ii) si des composés sont générés par « cracking thermique » des produits organiques. Le pyrogramme obtenu est caractérisé par une faible diversité de composés (Figure 37). Ainsi, seulement sept HAP sont identifiés : naphtalène, acénaphtylène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène et pyrène.

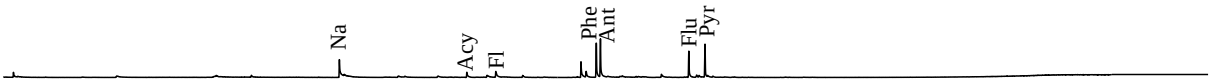

Figure 37 : Pyrogramme obtenu après pyrolyse à 620°C du résidu d'extraction de la terre globale (cf Tableau 7 pour identification)

Une pyrolyse identique (620°C – 20 secondes) en utilisant la même quantité de terre (60 mg) est réalisée sur la terre globale mais sans extraction préalable de la MOE (Figure 38). Cette pyrolyse permet d'obtenir l'abondance relative des HAP totaux détectables par PyCPG-SM sans extraction préalable au solvant. Le pyrogramme obtenu est caractérisé par une forte abondance des composés et par une large diversité de composés, notamment des HAP de haut poids moléculaire (Figure 38).

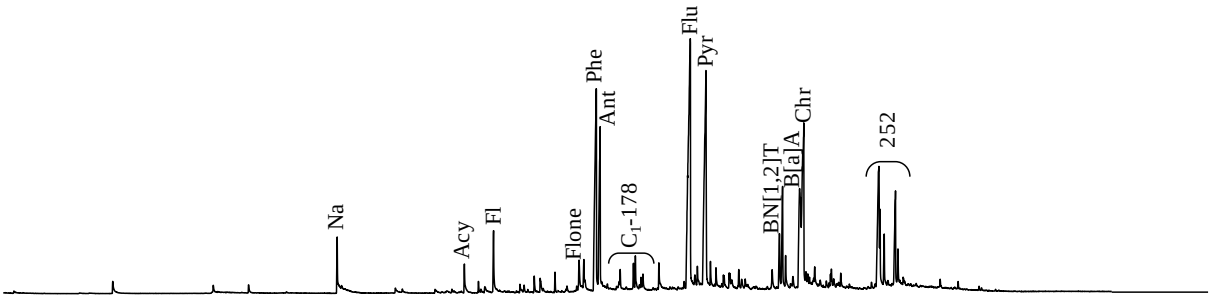

Figure 38 : Pyrogramme obtenu après pyrolyse à 620°C de la terre globale avant extraction de la MO au solvant (cf Tableau 7 pour identification)

Ainsi pour les sept HAP identifiés dans les deux pyrogrammes (Figures 37 et 38), l'aire des pics chromatographiques a été mesurée. Le Tableau 8 présente les aires de ces sept HAP dans les deux échantillons de terre (extrait et non extrait), ainsi que le rapport de ces aires afin de déterminer la proportion de HAP générés lors de la pyrolyse du résidu d'extraction par rapport aux HAP issus de la terre non extraite et thermodésorbés.

Tableau 8 : Aires relatives des sept HAP dans le résidu d'extraction de la terre globale et dans la terre globale non extraite ainsi que la proportion que représentent les HAP dans le résidu par rapport aux HAP totaux

	Aires des pics chromatographiques		**Proportion des HAP générés lors de la pyrolyse du résidu d'extraction (%)**
	Résidus d'extraction	**Terre globale (non extraite)**	
Naphtalène	2746224	9308249	29,5
Acénaphtylène	517354	3124742	16,6
Fluorène	261918	6326998	4,1
Phénanthrène	250030	35129336	0,7
Anthracène	824797	22918909	3,6
Fluoranthène	72984	61903152	0,1
Pyrène	94814	46845108	0,2
Somme	4768121	185556494	**2,6**

Le calcul de la proportion des HAP détectés après PyCPG-SM dans le résidu d'extraction (Tableau 8) montre qu'ils représentent seulement 2,6 % des HAP détectés dans la terre non préalablement extraite. Cette proportion est très faible, l'extraction de la MO au dichlorométhane par ASE semble donc très efficace. Les composés de bas poids moléculaire (naphtalène et acénaphtylène) présentent les deux plus fortes proportions : le naphtalène et l'acénaphtylène retrouvés dans le résidu d'extraction représentent respectivement plus de 29 et plus de 16 % du naphtalène et de l'acénaphtylène totaux. Cette plus forte proportion de composés légers pourrait être liée à la genèse de ces produits par « cracking thermique » de macromolécules.

Dans un second temps, pour s'assurer que les HAP générés par le résidu solide lors de la pyrolyse réalisée à 620°C proviennent principalement d'une thermodésorption (et non d'un « cracking thermique ») une nouvelle pyrolyse a été réalisée à plus basse température (400°C pendant 20 secondes). Cette température correspond à une température suffisante pour réaliser une volatilisation des sept HAP retrouvés dans le résidu d'extraction mais assez basse pour limiter un éventuel « cracking thermique » des macromolécules. Le pyrogramme obtenu ne présente presque aucun pic et notamment aucun HAP n'a pu être identifié (Figure 39). L'absence de composés après une pyrolyse à 400°C indique que les HAP détectés lors de la pyrolyse classique à 620°C (Figure 37) ne sont pas des produits résiduels de l'extraction au solvant.

Figure 39 : Pyrogramme obtenu après pyrolyse à 400°C du résidu d'extraction de la terre globale

Dans un troisième temps, afin de s'assurer que les sept HAP obtenus lors de la pyrolyse à 620°C du résidu solide de la terre globale, sont issus « du cracking thermique » des macromolécules présentes, une nouvelle pyrolyse à 620°C sur le même échantillon précédemment pyrolysé à 400°C est réalisée. Ces deux pyrolyses successives sont appelées « double-shot ». Le pyrogramme obtenu (Figure 40) est caractérisé par une forte abondance et une forte diversité de composés.

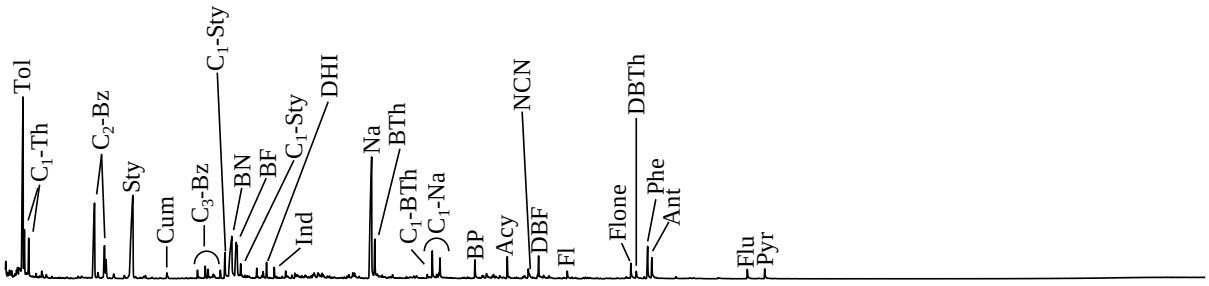

Figure 40 : Identification des composés détectés après la pyrolyse "double shot" sur le résidu d'extraction de la terre globale (cf Tableau 7 pour identification)

En terme de diversité, en plus des sept HAP déjà observés dans la pyrolyse réalisée à 620°C (Figure 37), de nombreux hydrocarbures de bas poids moléculaires et des composés aromatiques polycycliques sont identifiés (Figure 40).

Cette identification met en avant la prédominance de composés aromatiques de faible poids moléculaire : environ la moitié des composés identifiés sont de poids moléculaire inférieur à celui du naphtalène, HAP le plus léger.

Cette pyrolyse « double-shot » révèle ainsi la présence de composés piégés dans le résidu d'extraction de la terre globale, qui ne sont pas détectables lors d'une pyrolyse classique. La proportion de ces composés piégés par rapport à la quantité totale de HAP peut être estimée en rapportant les aires des pics des sept HAP sur le pyrogramme obtenu après la pyrolyse « double-shot » à celles obtenues sur le pyrogramme de la terre non extraite au solvant (Figure 38). Cette proportion est donnée dans le Tableau 9.

Tableau 9 : Proportion des HAP piégés dans la terre globale

	Aire des pics chromatographiques		**Proportion des HAP générés lors de la pyrolyse du résidu d'extraction – double-shot (%)**
	Aire dans résidus d'extraction après « double-shot »	**Aire dans terre globale non extraite**	
Naphtalène	35979830	9308249	386
Acénaphtylène	3072722	3124742	98
Fluorène	3709412	6326998	59
Phénanthrène	5363110	35129336	15
Anthracène	3811671	22918909	17
Fluoranthène	1501520	61903152	2
Pyrène	1558716	46845108	3
Somme	54996981	185556494	**30**

En se basant sur l'aire des sept pics de HAP, une quantité de HAP équivalente à 30 % des HAP extraits au solvant semble piégée dans la terre. La concentration totale en HAP, déterminée par analyse CPG-SM après extraction au dichlorométhane est de 1025 µg g^{-1} (§ 1.4.2), ainsi il y aurait encore dans la terre plus de 300 µg g^{-1} de HAP « occlus ». Par ailleurs cette comparaison d'abondance relative est basée uniquement sur 7 HAP. La très grande diversité de composés générés par la pyrolyse « double shot » suggère que la quantité des produits « occlus » (en plus des HAP) est très élevée incluant des composés mono-aromatiques et des composés aromatiques polaires (soufrés et oxygénés).

1.3.4.2. Analyse des fractions granulodensimétriques

Le même protocole a été appliqué aux différentes fractions granulodensimétriques afin de déterminer si une fraction en particulier est porteuse de ces composés piégés. Dans un premier temps, les résidus d'extraction de chaque fraction ont été analysés avec une pyrolyse classique à 620°C. Les pyrogrammes obtenus (Figure 41) sont similaires à celui obtenu pour la terre globale (Figure 37). Ils sont caractérisés par une faible abondance et par une faible diversité de composés. Les sept mêmes HAP (naphtalène, acénaphtylène, fluorène, phénanthrène, anthracène, fluoranthène et pyrène) sont identifiés. Les limons fins se distinguent des autres fractions et de la terre globale : l'abondance relative des pics est deux fois plus importante et d'autres composés sont détectés : styrène, méthyl-styrène, indène et benzo(a)anthracène.

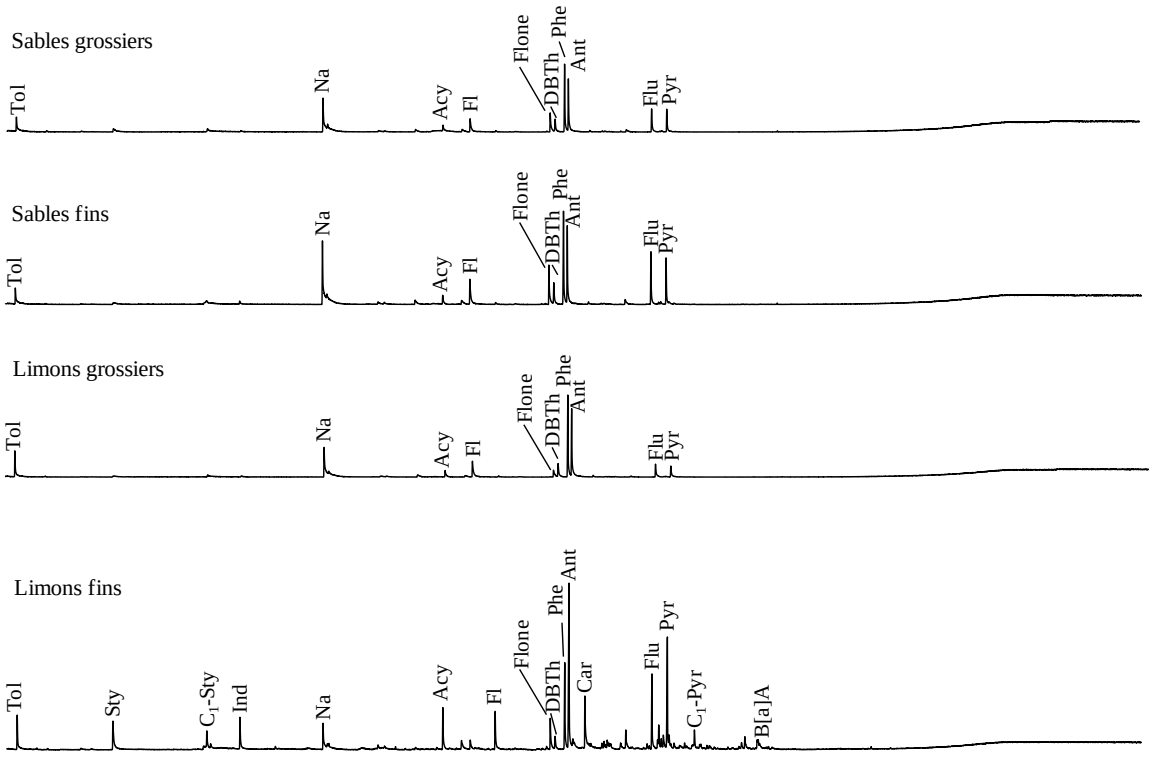

Figure 41 : Pyrogrammes obtenus après pyrolyse à 620°C des résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques (cf Tableau 7 pour identification)

Les aires des sept HAP identifiés dans les fractions granulodensimétriques sont comparées à celles de la terre globale qui n'a pas été extraite au solvant afin d'estimer la proportion que représente les HAP restés dans la terre par rapport à la quantité totale de HAP déduite par extraction. Pour toutes les fractions, la proportion de HAP restés dans le résidu est plus importante que celle estimée pour la terre globale (Tableau 10). En effet, les HAP retrouvés dans les résidus d'extractions des sables grossiers, des sables fins, des limons grossiers et des limons fins représentent respectivement 5,5 %, 7,7%, 6,2 % et 12,5 % de la quantité de HAP totale. Les limons fins se distinguent à nouveau des autres fractions : leur résidu d'extraction contient la plus grande quantité de HAP. De même que pour la terre globale, les HAP de bas poids moléculaire sont retrouvés en plus grande quantité dans les résidus d'extraction.

Tableau 10 : Proportion des HAP restés dans les résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques déduite sur la base des produits générés lors de la pyrolyse de la terre globale non extraite

Proportion des HAP restés dans le résidu (%)	Sables grossiers	Sables fins	Limons grossiers	Limons fins
Naphtalène	21,1	31,6	21,8	16,0
Acénaphtylène	16,9	15,9	14,3	55,6
Fluorène	14,4	22,5	18,4	30,1
Phénanthrène	7,0	9,3	9,2	10,0
Anthracène	9,8	12,6	14,3	32,3
Fluoranthène	1,7	2,9	1,2	4,9
Pyrène	2,2	3,2	1,4	8,8
Somme	**5,5**	**7,7**	**6,2**	**12,5**

Les résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques sont ensuite pyrolysés à 400°C afin de déterminer si les HAP détectés lors de la première pyrolyse sont thermodésorbés ou issus d'un « cracking thermique ». Les pyrogrammes obtenus (Figure 42) sont similaires à celui obtenu pour la terre globale. Ils sont caractérisés par une faible abondance et seulement trois HAP sont détectés : naphtalène et phénanthrène dans les résidus d'extraction des sables grossiers et acénaphtylène dans les résidus d'extraction des limons fins.

L'absence de composés volatilisés à 400°C laisse supposer qu'il y a très peu de composés thermodésorbables de la même manière que dans la terre globale.

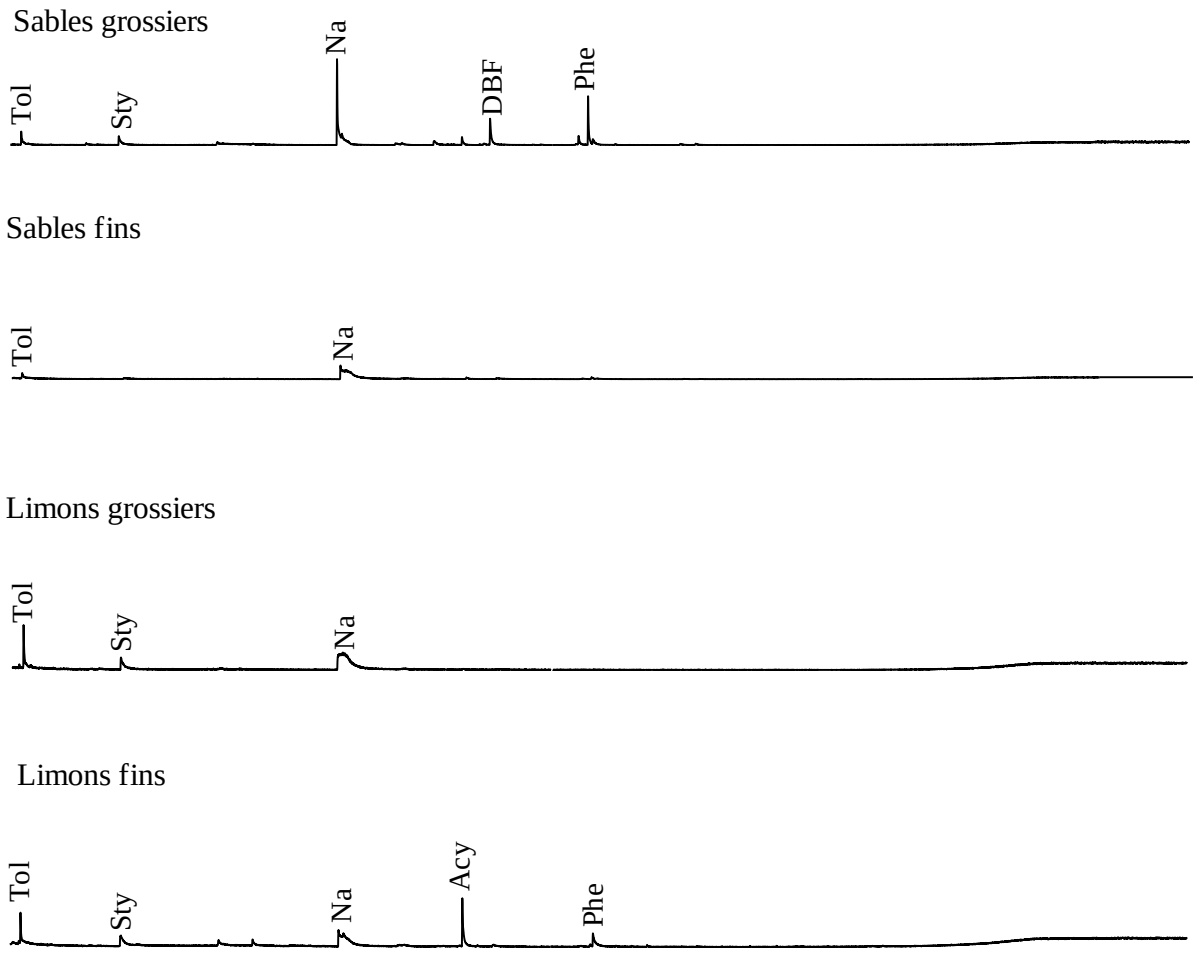

Figure 42 : Pyrogrammes obtenus après pyrolyse à 400°C des résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques (cf Tableau 7 pour identification)

Une pyrolyse « double-shot » est réalisée sur les résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques pour mettre en évidence comment les HAP « occlus » se répartissent au sein des différentes fractions. De même que pour la terre globale, la proportion de HAP piégés dans les différentes fractions est estimée par comparaison entre les aires des pics des sept HAP identifiés après pyrolyse « double-shot » et dans la terre globale non extraite, correspondant à la quantité de HAP totale extractible. Ces proportions sont données dans le Tableau 11.

Tableau 11 : Proportion des HAP piégés dans les résidus d'extractions des fractions granulodensimétriques détectés après pyrolyse "double-shot"

Proportion des HAP restés dans le résidu (%)	Sables fins	Limons grossiers	Limons fins
Naphtalène	211,3	203,1	546,9
Acénaphtylène	10,2	10,1	537,9
Fluorène	27,5	24,0	326,6
Phénanthrène	5,3	3,5	38,8
Anthracène	1,3	0,7	100,6
Fluoranthène	0,3	0,04	8,0
Pyrène	0,2	0,02	14,1
Somme	**13,0**	**11,9**	**73,6**

Les pyrogrammes obtenus montrent des comportements opposés entre les différentes fractions (Figure 43). Aucun composé n'est détecté dans le pyrogramme des sables grossiers. Il n'y a donc pas de HAP « occlus » dans cette fraction. Les pyrogrammes des sables fins et des limons grossiers sont proches et montrent comme pour la terre non fractionnée la présence de composés en forte abondance non détectés avec la pyrolyse classique (Figure 41). Cependant, leur abondance semble inférieure à celle obtenue après la pyrolyse « double-shot » de la terre globale, ce qui signifie que ces deux fractions ne semblent pas être celles contribuant majoritairement aux composés détectés dans la terre globale. En revanche, le pyrogramme des limons fins obtenu après la pyrolyse « double-shot » est caractérisé par une abondance qui semble plus importante que celles des sables fins, limons grossiers et de la terre globale. De plus, une très large diversité de composés est détectée. L'identification de ces composés révèle qu'il s'agit des mêmes que ceux retrouvés dans la terre globale (Figure 43). La fraction limon fin pourrait donc être la source principale des composés « occlus » détectés après traitement de la terre globale par la pyrolyse « double-shot ».

L'estimation des proportions de HAP piégés par rapport à la quantité de HAP totale extractible confirme les déductions réalisées suite aux observations des pyrogrammes : la quantité de pollution piégée est faible dans les sables fins et les limons grossiers (13 % de la quantité totale des sept HAP) et forte dans les limons fins (plus de 70 % de la quantité totale des sept HAP). Connaissant la concentration en HAP totaux dans la terre globale (1025 µg g^{-1}), la quantité de HAP piégés dans les résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques peut être estimée : respectivement, environ 130 µg g^{-1}, 120 µg g^{-1} et 750 µg g^{-1} dans les sables fins, les limons grossiers et les limons fins. Cette importante

quantité de composés piégés dans la fraction limon fin met en avant une fois encore la spécificité de cette fraction.

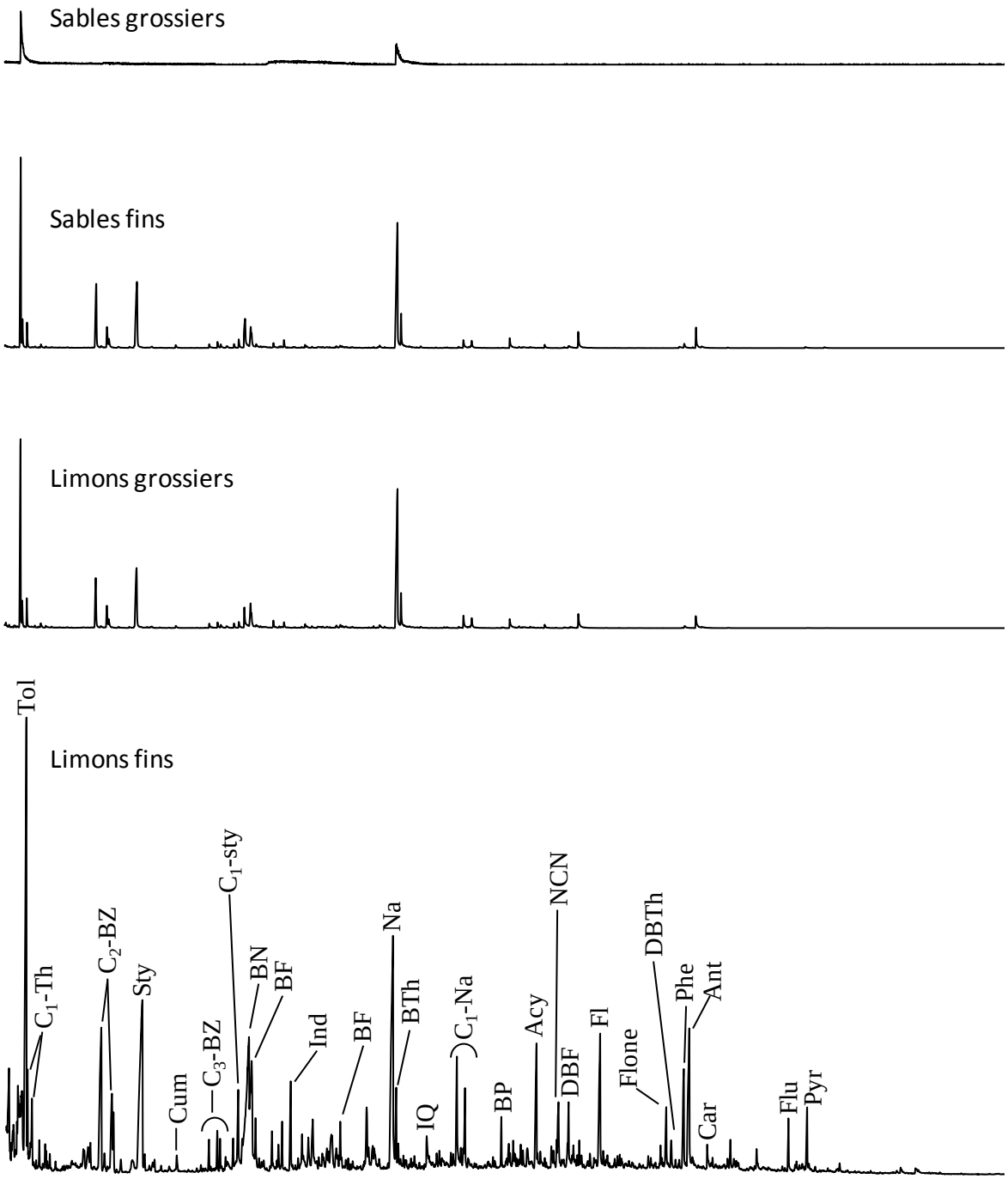

Figure 43 : Pyrogrammes obtenus après pyrolyse "double-shot" des résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques

2. Discussion : un matériau anthropique complexe

2.1. Nature anthropique des constituants

Des études précédentes (Biache et al., 2008; Monserie et al., 2009) avaient déjà montré le caractère anthropique très marqué de la terre de cokerie de Neuves-Maisons (terre NM) : présence de morceaux de briques ou de billes de métal ainsi qu'une forte teneur en HAP. Les caractéristiques agronomiques de la terre NM (chapitre II, § 1) ont également confirmé cette origine anthropique en montrant un ratio C/N élevé (22,8) avec un pH alcalin (7,7). De telles valeurs n'existent pas dans les sols naturels : en effet, les fortes valeurs de C/N sont généralement dues à un pH acide qui empêche la dégradation de la MO par les microorganismes (Soltner, 1979). Afin de compléter ces études et de caractériser plus précisément le pool « MO », des mesures de ^{14}C ont été combinées avec des observations microscopiques (pétrographie organique, loupe binoculaire et microscope électronique à balayage). Ces outils ont montré que d'un point de vue organique, la terre NM est majoritairement composée de coke et de goudron avec une absence quasi totale de carbone récent. Ils ont donc démontré que la MO de la terre de Neuves-Maisons est exclusivement d'origine anthropique. L'observation de billes de métal, de briques ou encore de ferrocyanures indique que la matière minérale est également majoritairement d'origine anthropique.

En outre, nous savons que cette terre est caractérisée par une forte teneur en COT (66 mg g^{-1}), ainsi que par des concentrations en MOE et HAP totaux élevées bien que les activités de cokerie se soient arrêtées il y a 30 ans. Cette préservation remarquable de MOE et HAP indique que des processus de préservation pourraient être associés à la répartition de la MO au sein de la terre.

2.2. Pollution piégée dans la terre

Une quantité non négligeable de HAP a été mise en évidence dans la terre globale lors de l'analyse de la matière organique insoluble par pyrolyse. Cette pollution occluse n'est pas détectable suite aux extractions classiquement utilisées. La combinaison d'une première pyrolyse à faible température suivie d'une seconde à une température plus élevée est nécessaire pour libérer cette pollution. La première pyrolyse à faible température semble

apporter une énergie suffisante pour fragiliser les structures des pièges mais sans permettre leur ouverture. La seconde pyrolyse, à température plus importante, semble permettre cette libération. La présence de ces goudrons occlus est à rapprocher des observations réalisées à l'échelle microscopique où le goudron apparaît sous la forme de gouttes dans les pores des particules de coke (Figure 28d).

Dans un contexte de sols de cokerie, les composés détectés après les deux pyrolyses successives ne peuvent provenir que de deux origines : le charbon ou le goudron de houille et ses sous-produits. Le charbon est caractérisé par des structures aliphatiques et le goudron par des structures aromatiques (Biache et al., 2011). Aucun composé aliphatique n'a été observé, ce qui laisse donc supposer que les composés détectés après la pyrolyse « double-shot » dérivent du goudron. Par ailleurs, la distribution moléculaire des composés obtenus après la pyrolyse « double-shot » est très voisine d'un goudron de houille frais avec la prédominance de produits mono-benzéniques de faible poids moléculaire. Ce goudron frais (sans perte de produit par évaporation) est probablement associé aux particules de coke présentes dans l'échantillon. En effet, c'est lors de la transformation du charbon en coke, que le goudron est généré. La température de ce processus implique une forte plasticité du coke et doit favoriser l'incorporation de « gouttes » de goudron en son sein. En fin de cokéfaction, lors du refroidissement, le coke perd sa plasticité et emprisonne ces « gouttes de goudron ».

Ainsi, contre toute attente, ces résultats démontrent que les HAP générés lors de la pyrolyse « double shot » ne sont ni associés à une simple thermo-désorption, ni associés à un « cracking thermique » de macromolécules, mais à la libération de goudron de houille occlus au sein des particules de coke. Il semble nécessaire de réaliser une double pyrolyse (400°C puis 620°C) pour le libérer.

L'analyse des fractions granulodensimétriques a mis en évidence que les limons fins renferment la plus grande quantité de goudrons occlus et que les composés détectés dans la terre globale correspondent majoritairement aux composés détectés dans les limons fins. Ainsi, la fraction limon fin semble piloter le comportement de la terre globale. Cette importante quantité de goudrons occlus dans les limons fins rejoint les fortes concentrations en COT, en MOE et en HAP observées dans cette fraction. Il semble donc que la fraction limon fin se distingue des autres fractions dans la terre NM et joue un rôle particulier sur la dynamique des polluants organiques que sont les HAP.

2.3. Rôle protecteur des limons fins

D'un point de vue quantitatif, la MO n'est pas distribuée de façon homogène dans les fractions granulodensimétriques. Les LF présentent plusieurs caractéristiques les distinguant nettement des autres fractions : teneur en COT élevée, les plus fortes concentrations en MOE et HAP totaux, la plus forte quantité de composés organiques occlus et la plus faible disponibilité de HAP. D'un point de vue qualitatif, la MO n'est à nouveau pas distribuée de façon homogène. Les LF se distinguent une nouvelle fois des autres fractions par un enrichissement en azote total (NT) induisant un faible rapport C/N et une distribution spécifique des 16 HAP US-EPA avec particulièrement un enrichissement en anthracène par rapport à son isomère le phénanthrène. Ces différences de distribution peuvent être expliquées par deux hypothèses : (i) une différence d'origine de MO entre les LF et les autres fractions et/ou (ii) des processus de préservation de la MO contrôlés par la taille des particules et entraînant une évolution différentielle entre les fractions.

Trois résultats soutiennent l'hypothèse d'une origine différente entre la MO des LF et celle des autres fractions. Le premier est la teneur en NT élevée dans les LF. Cette forte teneur est un indicateur de la contribution de goudron de houille caractérisé par la présence de composés aromatiques polycycliques azotés. Cette teneur en NT retrouvée dans les LF est similaire aux valeurs mesurées sur des goudrons de houille (Haeseler et al., 1999).

Cette signature est confirmée par le rapport des deux isomères phénanthrène et anthracène. Ces deux HAP sont fréquemment utilisés pour déterminer les sources de MO. Le phénanthrène est un composé cinétique, préférentiellement produit à basse température au cours des temps géologiques, suggérant une origine fossile telle que le charbon. A l'inverse, l'anthracène est un composé thermodynamique, préférentiellement produit à haute température, révélant une origine industrielle tel que le goudron de houille (Budzinski et al., 1997). La quantification de ces deux isomères a montré un enrichissement en anthracène dans les limons et particulièrement dans les limons fins par rapport aux fractions sableuses. Cet enrichissement suggère que les limons présentent une signature de type « goudron » et les sables une signature de type « charbon ».

Enfin, la présence de goudrons occlus dans la fraction limon fin alors qu'il n'y en a pas dans les sables grossiers confirme également la signature de type « goudron » des limons fins suggérée par le rapport phénanthrène/anthracène.

Cependant, quelle que soit la fraction granulodensimétrique, la distribution en familles de composés aliphatiques, aromatiques et polaires est très similaire. Cette distribution est dominée par les composés aromatiques, caractéristiques du goudron de houille. Une signature charbon aurait induit une prédominance des composés polaires et aliphatiques (Biache et al., 2011). L'origine de la MO ne peut donc pas complètement expliquer les différences de répartition de MO qualitative et quantitative observées. Ces différences résultent probablement d'une évolution différentielle entre les fractions.

Les principaux mécanismes proposés pour expliquer la séquestration du carbone et la préservation de MO dans les sols sous climat tempéré sont : (i) une préservation sélective due à la récalcitrance de la MO à la biodégradation, (ii) l'inaccessibilité spatiale de la MO face aux organismes décomposeurs due à une occlusion, une intercalation, l'hydrophobie ou à une encapsulation et (iii) une stabilisation par des interactions avec des surfaces minérales (oxydes de Fe, Mn, Al, phyllosilicates) ou des ions métalliques (Lützow et al., 2006). Cependant, de nombreux travaux témoignent que la récalcitrance biologique seule ne permet pas d'expliquer les faibles taux de turnover rencontrés dans les sols naturels et que l'accumulation de MO dans les sols est plutôt due à d'autres mécanismes de stabilisation tels que les interactions de surface avec des minéraux ou l'hydrophobie (Marschner et al., 2008). La caractérisation minéralogique de la terre NM montre que les limons sont les principaux porteurs de fer avec 44,4 % dans les LG et 29,0 % dans les LF (Monserie et al., 2009). De plus, les analyses de DRX confirment la présence de phases minérales réactives dans les LF avec des minéraux argileux et des oxydes de fer. La présence spécifique de ces minéraux dans la fraction LF expliquerait alors le processus de préservation de la MO dans cette fraction. L'impact positif de phases minérales fortement réactives sur la préservation de la MO dans des fractions limoneuses a également été mis en évidence par Heim and Schmidt (2007).

Ces processus de préservation sont aussi confirmés par la caractérisation des HAP dans les différentes fractions d'un sol naturel (Lu et al., 2012) et industriel (Lorenzi et al., 2010). Dans ce dernier travail, les 16 HAP réglementaires (US-EPA) sont analysés dans deux fractions (< 250 µm et > 250 µm - < 2 mm) de 16 sols industriels liés à des activités utilisant du goudron. Les auteurs montrent que les HAP s'accumulent dans la fraction fine (< 250 µm) avec une prédominance des HAP de haut poids moléculaire suggérant une origine des composés pyrogénétique. La fraction fine est également caractérisée par une augmentation du benzo(b)fluoranthène, du benzo(a)pyrène et de l'indéno(1,2,3-cd)pyrène par rapport à la fraction grossière, alors que le phénanthrène et le fluoranthène sont plus abondants dans la

fraction grossière. Il en résulte une évolution du rapport phénanthrène / anthracène similaire à la nôtre. Ainsi, la préservation des HAP dans la fraction LF peut expliquer complètement la forte concentration en HAP ainsi que la faible disponibilité de cette fraction. Cette hypothèse est également en accord avec le faible rapport C/N mesuré dans les limons fins. En effet, dans un sol naturel, un faible rapport C/N est associé à une bonne dégradation de la MO, ce qui n'est pas le cas de la MO présente dans les limons fins, soulignant le caractère spécifique de la MO présente dans les limons fins par rapport à une MO naturelle.

Les premiers dépôts des sous produits de l'activité de cokerie ont commencé en 1953 (Monserie et al., 2009). Le matériel a donc subi une période de vieillissement de 60 ans. Ce vieillissement a entraîné une dégradation des composés les plus disponibles, qui, comme nous l'avons montré précédemment se trouvent dans les sables. La terre NM a donc subit une évolution différenciée avec une dégradation des composés dans les particules grossières et une préservation dans les particules fines. Cette évolution différenciée explique la signature goudron observée dans les limons correspondant à la signature de la pollution originelle.

3. Conclusion

Les différentes analyses réalisées sur la terre NM ont confirmé son origine industrielle avec (i) une MO exclusivement anthropique avec l'absence quasi-totale de carbone naturel récent ainsi que (ii) des particules minérales également dominées par des contributions industrielles. Le fractionnement de la terre en classes de taille d'agrégats a montré que les SG et les LF étaient les porteurs principaux de carbone. Les LF ont été identifiés comme étant un agent de préservation de la MO anthropique. Cette préservation est mise en évidence par la forte concentration en carbone total, en matière organique extractible et en HAP ainsi que par la faible disponibilité de ces derniers. La signature moléculaire de goudron de houille occlus, correspondant à la signature de la pollution originelle, observée dans les LF est une conséquence de cette préservation. Des phases réactives minérales telles que les minéraux argileux et les oxydes de fer semblent agir, de même que dans les sols naturels, comme des agents de protection pour la MO anthropique. La forte présence de goudrons occlus dans cette fraction est également le résultat de cette préservation. Les limons fins jouent ainsi un rôle protecteur majeur sur la MO anthropique de cette terre industrielle.

D'un point de vue environnemental, la présence de composés occlus ne doit pas être négligée. Elle représente un potentiel important de pollution. Il est alors nécessaire de vérifier la stabilité de ces goudrons occlus en milieu naturel et de déterminer s'ils peuvent être mobilisés par une très faible énergie telle que la température atteinte à la surface du sol. De plus, cette pollution potentielle a été estimée à partir de l'abondance relative de seulement sept HAP alors qu'une grande diversité de composés présentant une forte mobilité dans les eaux souterraines a été détectée (BTEX, composés aromatiques polaires). Ces composés devraient être pris en compte pour réaliser une estimation juste de la quantité de composés piégés dans la terre et potentiellement mobilisables.

Les résultats obtenus ont montré la particularité des MO présentes dans la terre NM tant au niveau de la terre globale que des différentes fractions granulodensimétriques. De plus, la comparaison des résultats de texture et de structure a montré l'occurrence de processus d'agrégation dans la terre NM. Afin de mieux comprendre les liens entre MO et processus d'agrégation dans ces sols d'une part et entre MO et dynamique des polluants d'autre part, des expérimentations d'élimination de la MO anthropique, d'incorporation de résidus végétaux en conditions contrôlées et de culture de luzerne en parcelles lysimétriques répondant à ces questions ont été mises en place. Ces travaux sont présentés dans les chapitres IV et V.

CHAPITRE IV

ROLE DE LA MO ANTHROPIQUE DANS LA STRUCTURE DE LA TERRE NM

SOMMAIRE CHAPITRE IV

1. Protocole d'extraction de la MO 107
1.1. Conditionnement des échantillons et choix des solvants 107
1.2. Extraction des différents types de MO 108
1.2.1. Application des extractions par ASE 108
1.2.2. Extraction douce par Soxhlet 110
1.3. Analyse des terres pré-extraites 111
2. Résultats 112
2.1. Impact de l'extraction sélective de MO sur la structure de la terre NM 112
2.1.1. Structure des modalités pré-extraites à l'ASE 112
2.1.2. Comparaison des deux types d'extraction 114
2.2. Impact des extractions sélectives de la MO sur la pollution 116
2.2.1. Impact du type de solvant sur le type de MO éliminée 117
2.2.1.1. Analyse de l'extrait organique obtenu lors de la pré-extraction au n-hexane 117
2.2.1.2. Analyse de la MOE résiduelle dans les quatre modalités pré-extraites 119
2.2.2. Impact des pré-extractions sur la répartition de la pollution 120
3. Discussion 123
4. Conclusion 126

Le chapitre précédent (chapitre III) a révélé que les constituants de la terre NM étaient de nature anthropique, notamment les constituants organiques. L'étude bibliographique (chapitre I) a montré que le rôle de cette MO anthropique dans la structure d'un technosol était très mal connu. L'objectif de ce chapitre est donc de déterminer le rôle de cette MO anthropique dans la structure de la terre NM. A-t-elle, à l'instar de la MO naturelle dans un sol naturel, un rôle de liant entre les particules ? En supposant que cette hypothèse soit vraie, nous proposons d'appliquer sur la terre NM un protocole d'extraction sélectif de différents types de MO : (i) extrait organique (MOE), (ii) une sous fraction de la MOE, à savoir les maltènes et enfin (iii) la matière organique mobilisable par l'eau. Ces extractions devraient permettre d'identifier à l'aide d'un fractionnement granulodensimétrique l'impact de ces différents types de MO sur la structure de la terre.

1. Protocole d'extraction de la MO

1.1. Conditionnement des échantillons et choix des solvants

La terre tamisée à 2 mm a été lyophilisée afin d'éliminer l'eau et d'éviter tout problème de miscibilité avec les solvants lors des extractions.

Trois solvants, de polarité différente, ont été sélectionnés afin d'extraire trois types de MO différents :

- le dichlorométhane (DCM) : permet d'extraire la totalité de la MO extractible. Cette modalité est appelée « DCM ».
- le *n*-hexane : solvant apolaire, permet de conserver la fraction organique macromoléculaire (asphaltènes) et de mobiliser les maltènes (hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques et résines). Cette modalité est appelée « Hexane ».
- l'eau chaude (100°C) : permet d'éliminer la totalité de la fraction organique susceptible d'être mobilisée par l'eau météorique ou de nappe. Cette modalité est appelée « Eau chaude ».

1.2. Extraction des différents types de MO

1.2.1. Application des extractions par ASE

Les extractions ont été effectuées à l'aide de l'ASE 350 (chapitre II, § 2.6.1.1) : 30 g de terre tamisée à 2 mm et lyophilisée ont été introduits dans une cellule d'extraction de 30 mL. Contrairement aux extractions réalisées dans les autres parties de ce mémoire, basées sur l'utilisation d'une petite quantité de matériel (~1g), et qui avaient pour but de déterminer la teneur en MOE et en 16 HAP, pour ce chapitre, nous avons dû traiter plus de matériel (~30g) afin de pouvoir ensuite réaliser des fractionnements granulodensimétriques. Cette quantité importante de matériel traitée a nécessité de faire des tests préliminaires pour déterminer le nombre d'extractions nécessaires pour mobiliser la quasi-totalité de la fraction que nous souhaitions éliminer. Ainsi, un test préliminaire de 12 extractions successives pour chaque solvant a été réalisé afin de déterminer le nombre optimal d'extractions à réaliser pour éliminer un maximum de MO ciblée tout en restant dans des conditions expérimentales réalistes. Dans le cas des extractions au DCM et au *n*-hexane, la quantité de MO éliminée après chaque extraction est déterminée en calculant les taux d'extraits par pesée des extraits organiques secs (chapitre II, § 2.6.1.1). Dans le cas de l'extraction à l'eau chaude, la masse de carbone éliminé après chaque extraction est estimée par spectroscopie UV en mesurant le COD (carbone organique dissous) à la longueur d'onde $\lambda = 254$ nm.

La Figure 44 présente les résultats de ce test préliminaire pour les trois solvants et montre les quantités cumulées de MOE et de COD éliminés au cours des 12 extractions. En complément, la Figure 45 présente le pourcentage cumulé de MOE ou de COD en fonction des 12 extractions successives. Pour la modalité DCM, après 12 extractions, 10,1 mg g^{-1} MS de matière organique extractible (MOE) sont éliminés de la terre. Quatre extractions ont été sélectionnées pour notre étude car elles permettent d'éliminer 9,5 mg g^{-1} MS de MOE représentant 94 % de la totalité de la MOE. Pour la modalité Hexane, 12 extractions permettent de mobiliser 4,4 mg g^{-1} de maltènes. Cinq extractions ont été appliquées permettant d'éliminer 3,9 mg g^{-1} MS de maltènes représentant 88 % de la totalité des maltènes. Dans le cas de la modalité « Eau chaude », 12 extractions permettent de dissoudre 1,5 mg g^{-1} MS de carbone organique. Sept extractions ont été sélectionnées afin de mobiliser 1,06 mg g^{-1} MS de COD représentant 70 % de la masse de carbone totale soluble dans l'eau. Même si dans le cas de l'extraction à l'eau, l'évolution du COD augmente en continu (évolution clairement différente de celles du DCM et du *n*-hexane), nous avons limité le

nombre d'extractions successives à 7 afin de rester dans des conditions opératoires réalistes. L'annexe 4 (pages 262 à 268) présente le détail des quantités de MOE et COD extraites au cours de ces tests préliminaires.

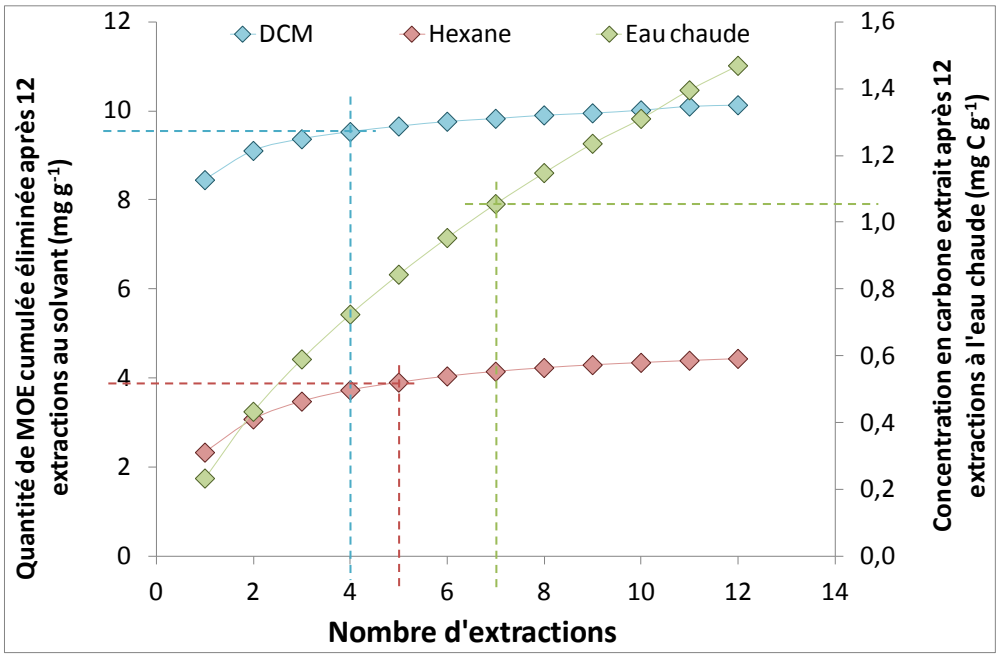

Figure 44 : Quantité de MOE après 12 extractions successives au DCM et n-hexane ou de COD après 12 extractions successives à l'eau chaude permettant de déterminer un nombre optimal d'extractions

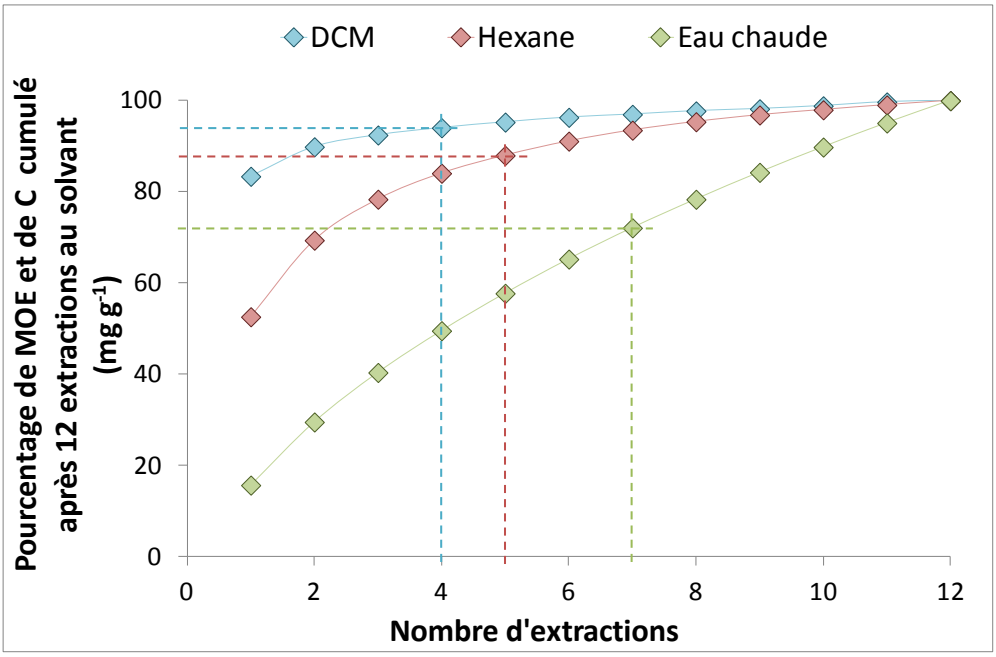

Figure 45 : Pourcentage cumulé de MOE après 12 extractions successives au DCM et n-hexane ou de COD après 12 extractions successives à l'eau chaude

1.2.2. Extraction douce par Soxhlet

L'extraction automatisée par ASE est réalisée sous de fortes pressions (100 bars, chapitre II, § 2.6.1.1). Afin de déterminer si cette pression a elle-même un impact sur la structure de la terre, des extractions douces avec les trois mêmes solvants ont été réalisées sur 50 g de terre NM en parallèle des extractions ASE par un système Soxhlet (chapitre II, § 2.6.1.2).

A la fin des 48 heures d'extractions au DCM et au *n*-hexane, les extraits obtenus après 24 et 48 heures sont groupés dans une fiole jaugée de 1 litre et le volume est ajusté respectivement avec du DCM ou du *n*-hexane. Les taux d'extrait organique sont calculés sur un aliquote de 3 mL afin de déterminer la quantité de MO éliminée de la même manière qu'après l'extraction à l'ASE (chapitre II, § 2.6.1.1). Pour la modalité extraite à l'eau chaude, les extraits obtenus à 24 et 48 heures sont conservés dans une bouteille en verre sans être groupés afin d'éviter une dilution du carbone extrait. La quantité de carbone extrait est déterminée par une mesure de COD à l'aide d'un COT-mètre TOC-VSCN (Shimadzu) sur les deux solutions (24h et 48h).

Les quantités de MOE, de maltènes et de COD éliminées par Soxhlet sont inférieures d'un facteur 2 pour l'extraction au DCM et d'un facteur 4 pour les extractions au *n*-hexane et à l'eau chaude par rapport à celles éliminées avec l'ASE (Tableau 12). La comparaison entre les structures des terres obtenues après ces deux modes d'extraction permettra donc de déterminer si le rendement d'extraction plus faible pour le Soxhlet a eu une influence sur la déstructuration potentielle de la terre.

Tableau 12 : Comparaison des quantités de MO et de carbone extraites au DCM, au n-hexane et à l'eau chaude par Soxhlet

	ASE	**Soxhlet**
DCM **Quantité MOE extraite (mg g^{-1})**	9,5 (4 extractions)	6,0
Hexane **Quantité maltènes extraits (mg g^{-1})**	3,9 (5 extractions)	1,0
Eau chaude **Quantité COD extrait (mg g^{-1})**	1,06 (7 extractions)	0,35

Les résultats présentés dans ce qui suit portent donc sur sept modalités appelées par la suite DCM, DCM Sox, Hexane, Hexane Sox, Eau chaude, Eau chaude Sox et Témoin (modalité n'ayant pas subi de pré-extraction avec un solvant).

1.3. Analyse des terres pré-extraites

Deux types d'analyses ont été effectués sur les échantillons après extraction au solvant et sur la terre initiale : (i) le premier consiste à mettre en évidence l'impact des pré-extractions sur la structure de la terre grâce à des fractionnements granulodensimétriques. Pour cela, un fractionnement granulodensimétrique est appliqué sur les échantillons pré- et post-extractions. Le fractionnement granulodensimétrique s'effectuant à l'eau (chapitre II, § 2.2.1), les modalités DCM, DCM Sox, Hexane et Hexane Sox sont séchées pendant 4 heures dans une étuve à 105°C afin de volatiliser le solvant éventuellement piégé dans les agrégats et d'éviter des problèmes de miscibilité. (ii) Le second type d'analyses permet de mettre en évidence l'impact des pré-extractions sur la pollution. Les terres globales pré-extraites ainsi que les fractions granulodensimétriques correspondantes sont broyées et la MOE résiduelle est extraite par ASE (chapitre II, § 2.6.1.1). La MOE résiduelle ainsi récupérée est analysée par CPG-SM afin de quantifier les HAP (chapitre II, § 2.8.1) permettant d'évaluer l'impact des pré-extractions sur la répartition de la pollution.

Dans le cas de l'extraction au *n*-hexane, les maltènes obtenus sont (i) analysés par HPLC-GPC afin de séparer les composés organiques selon leur taille (chapitre II, § 2.8.2) et (ii) fractionnés (chapitre II, § 2.6.2) afin d'obtenir la proportion des différentes familles de composés organiques (hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques et composés polaires), afin d'identifier le type de MO éliminée par ce solvant. Un organigramme de toutes les méthodes et analyses utilisées tout au long de ce chapitre est présenté Figure 46.

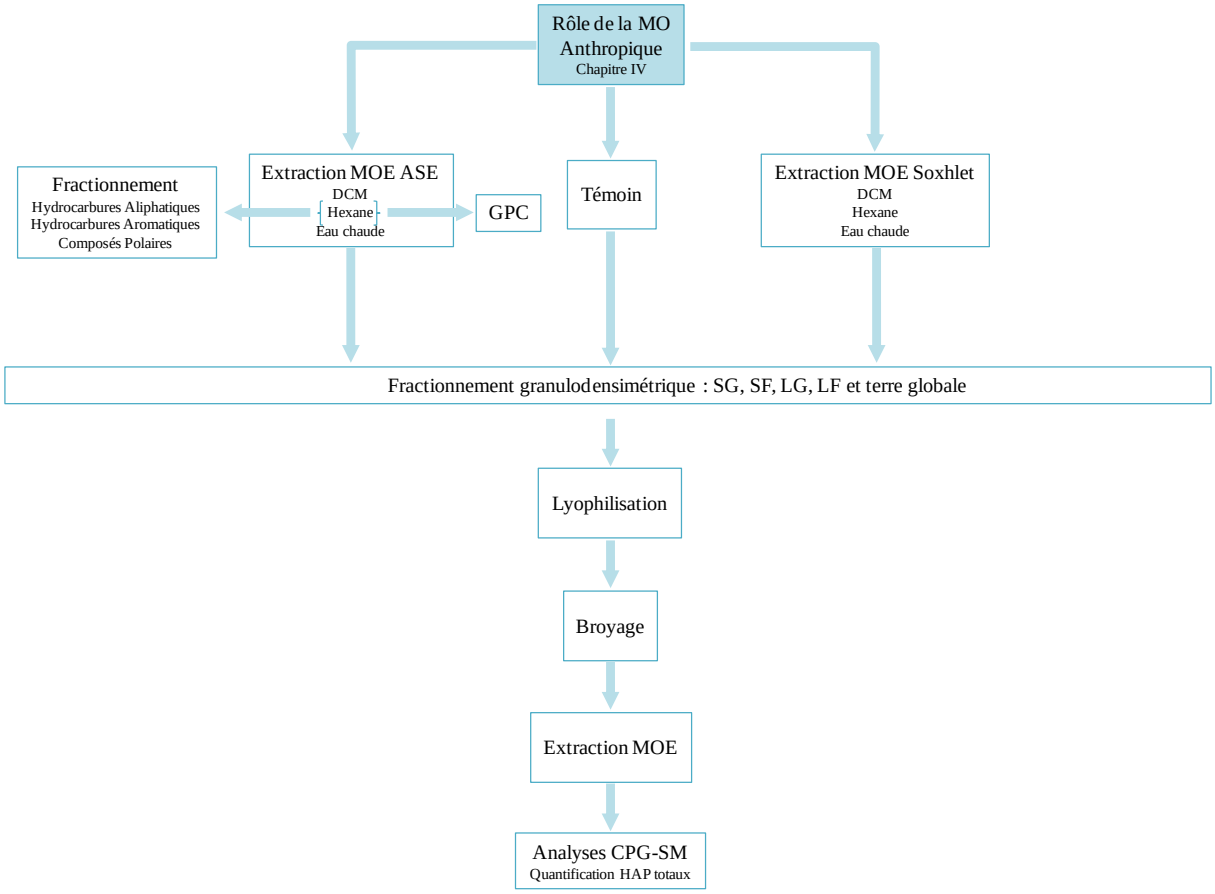

Figure 46 : Organigramme des méthodes et analyses utilisées tout au long du chapitre IV

2. Résultats

2.1. Impact de l'extraction sélective de MO sur la structure de la terre NM

2.1.1. Structure des modalités pré-extraites à l'ASE

La structure des terres ayant subies les pré-extractions à l'ASE au DCM, au *n*-hexane et à l'eau chaude ainsi que celle de la modalité Témoin sont présentées Figure 47.

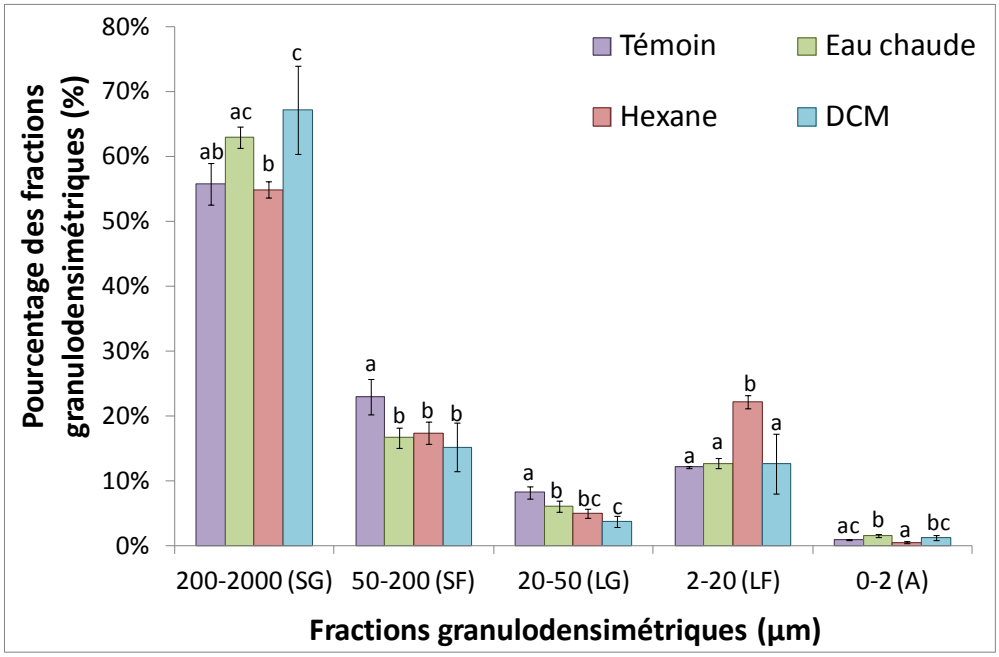

Figure 47 : Distribution des agrégats et/ou particules stables à l'eau des modalités Témoin et pré-extraites au solvant (Eau chaude, Hexane et DCM) (n = 8)

La structure de la modalité Témoin a déjà été présentée dans le chapitre III § 1.2. Elle est constituée de 56 % de SG, 23 % de SF, 8 % de LG, 12 % de LF et 1 % d'argiles.

La structure de la modalité Eau chaude est également dominée par les sables avec 63 % de SG et 16,6 % de SF. Cependant, par rapport à la modalité Témoin, la structure de la modalité Eau chaude présente une augmentation, mais non significative, des SG de 7,2 points et une diminution des SF de 6,3 points. Les limons (grossiers et fins) représentent respectivement 6,1 et 12,7 %. Les LG présentent une diminution de 2,1 points par rapport à la modalité Témoin et les LF ne présentent pas de différence. Les argiles sont très minoritaires avec 1,6 % et présentent une augmentation de 0,7 point par rapport à la modalité Témoin. La structure de la modalité Eau chaude semble donc montrer une tendance à l'agrégation.

De même, la structure de la modalité Hexane est dominée par les sables avec 54,9 % de SG et 17,4 % de SF. Les SG ne présentent pas de différence par rapport à ceux de la modalité Témoin, en revanche, les SF présentent une diminution de 5,6 points. Les limons (grossiers et fins) représentent respectivement 5 et 22,3 %. Par comparaison avec la modalité Témoin, les LG présentent une légère diminution (3,3 points) et les LF une importante augmentation (10,1 points). Les argiles sont très minoritaires avec 0,5 % et ne présentent pas de différence par rapport à la modalité Témoin. Il semble donc que l'élimination sélective des maltènes

(modalité Hexane) implique une modification de la structure avec une tendance à la désagrégation des SF et des LG.

Enfin, comme les trois autres modalités, la structure de la modalité DCM est dominée par les sables avec 67,2 % de SG et 15,2 % de SF. Les SG présentent une forte augmentation par rapport à la modalité Témoin (11,4 points) et à l'inverse, les SF présentent une forte diminution (7,8 points). Les limons (grossiers et fins) représentent respectivement 3,7 et 12,6 %. Par comparaison avec la modalité Témoin, les LG présentent une diminution de 4,5 points et les LF ne présentent pas de différence. Les argiles sont très minoritaires avec 1,2 % et ne présentent pas de différence avec la modalité Témoin. Ainsi, l'élimination de la MOE (associant les maltènes et les asphaltènes) semble montrer une tendance à l'agrégation.

D'une manière générale, la structure des 3 modalités extraites avec différents solvants par ASE est dominée par les sables grossiers et ne possède pas d'argiles. Les extractions au DCM et à l'eau chaude ont eu pour principal effet une augmentation de la proportion des sables grossiers et l'extraction au *n*-hexane, a eu pour principal effet une augmentation des limons fins. Dans le cas de l'extraction au DCM, l'augmentation des SG semble provenir des SF et des LG alors que dans le cas de l'extraction à l'eau chaude, elle semble surtout provenir des SF. Dans le cas de l'extraction au *n*-hexane, l'augmentation des LF semble surtout provenir des SF et légèrement des LG. Il semble donc que les SF soit la fraction granulodensimétrique la plus affectée par les extractions sélectives que nous avons réalisées.

Afin de s'assurer de l'impact de la forte pression (100 bars) appliquée lors des extractions par ASE, sur l'augmentation de la proportion des sables grossiers, les extractions sélectives de la terre NM ont également été réalisées par Soxhlet. Les structures des modalités pré-extraites à l'ASE et au Soxhlet sont comparées entre elles.

2.1.2. Comparaison des deux types d'extraction

La comparaison des structures des modalités pré-extraites à l'ASE et au Soxhlet est donnée Figure 48.

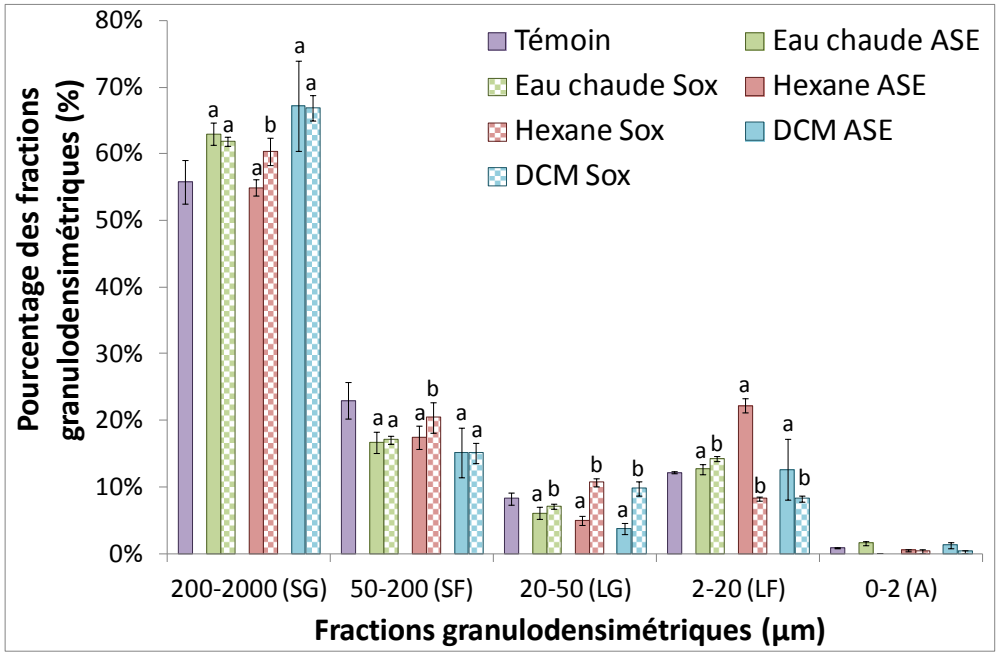

Figure 48 : Comparaison des structures obtenues sur les modalités DCM, Hexane et eau chaude après une pré-extraction réalisée à l'ASE ou au Soxhlet (n =8). Le test statistique (ANOVA p = 0,05) a été réalisé séparément pour chaque modalité afin de comparer l'extraction à l'ASE avec l'extraction au Soxhlet.

Pour l'extraction à l'eau chaude, les fractions granulodensimétriques présentent les mêmes proportions après une extraction réalisée à l'ASE ou au Soxhlet : respectivement 63 et 61,9 % pour les SG, 16,7 et 17,1 % pour les SF, 6,1 et 7,1 % pour les LG, 12,7 et 14,2 % pour les LF et 1,6 et 0 % pour les A. Par rapport à la structure de la modalité Témoin, pour les deux types d'extraction, la proportion de sables grossiers est plus importante et les proportions des sables fins et des limons grossiers sont plus faibles. Ainsi, après une extraction du COD à l'eau chaude par ASE ou Soxhlet, une tendance à l'agrégation est observée.

Pour la modalité Hexane, les proportions de chaque fraction sont différentes entre les deux types d'extractions. La structure de la modalité pré-extraite au Soxhlet présente plus de SG (5,4 points), de SF (3 points) et de LG (5,7 points) et moins de LF (14 points) par rapport à la modalité pré-extraite à l'ASE. Par rapport à la modalité Témoin, la structure de la modalité Hexane pré-extraite à l'ASE présente moins de sables fins et de limons grossiers et plus de limons fins alors que la modalité Hexane pré-extraite au Soxhlet présente plus de sables grossiers et de limons grossiers et moins de sables fins et de limons fins. Ainsi, après une extraction des maltènes au *n*-hexane par ASE la structure de la terre présente une tendance à la désagrégation alors qu'après une extraction des mêmes composés au Soxhlet, la structure de la terre présente une tendance à l'agrégation.

Enfin, pour la modalité DCM, les proportions des sables après une extraction réalisée à l'ASE ou au Soxhlet sont identiques, respectivement 67,2 et 66,9 % pour les SG et 15,2 et 15,1 pour les SF. En revanche, les proportions des limons présentent d'importantes différences. Les LG de la terre pré-extraite au Soxhlet augmentent de 6 points par rapport aux LG de la terre pré-extraite à l'ASE et les LF de la terre pré-extraite au Soxhlet diminuent de 4,5 points par rapport aux LF de la terre pré-extraite à l'ASE. En comparaison avec la modalité Témoin, les structures obtenues après les deux types d'extraction présentent une augmentation de la proportion des sables grossiers et une diminution de la proportion des sables fins. Ainsi, après une extraction de la MOE au DCM par ASE ou Soxhlet, une tendance à l'agrégation est observée.

Pour les modalités DCM et Eau chaude, malgré quelques petites différences, les deux types d'extraction ont eu la même influence sur la structure de la terre NM d'origine (modalité Témoin). La comparaison des résultats obtenus par ASE par rapport à ceux obtenus par Soxhlet au niveau de la structure de la terre NM semble indiquer que la forte pression utilisée pendant l'extraction à l'ASE n'a pas d'impact sur la structure de la terre (modalité DCM et Eau chaude). Dans le cas des traitements DCM et Eau chaude, le fait d'enlever une partie de la MO (hydrophobe pour la modalité DCM et hydrophile pour la modalité Eau chaude) n'induit pas de désagrégation. Cet effet de désagrégation a été cependant observé avec la modalité Hexane pré-extraite à l'ASE qui a permis l'élimination d'une autre fraction de la MO.

Il semble donc important d'analyser plus finement la qualité des MO extraites suite aux différentes pré-extractions : DCM, Hexane et Eau chaude. De plus, ces analyses permettront également de mettre en évidence l'impact des pré-extractions sur la pollution.

2.2. Impact des extractions sélectives de la MO sur la pollution

La forte pression utilisée pendant l'extraction à l'ASE n'ayant pas eu d'influence notable sur la structure de la terre, les modalités pré-extraites au Soxhlet n'ont pas été analysées. L'impact des pré-extractions sur la pollution est uniquement mis en évidence avec les modalités pré-extraites avec l'ASE.

2.2.1. Impact du type de solvant sur le type de MO éliminée

2.2.1.1. Analyse de l'extrait organique obtenu lors de la pré-extraction au n-hexane

Dans un premier temps, les maltènes obtenus lors de la pré-extraction au *n*-hexane sont analysés par HPLC-GPC afin de connaître leur distribution en masse[1]. Cette distribution est comparée avec celle de la MOE de la terre globale, obtenue après extraction au DCM (Figure 49).

Les distributions en masse des molécules constituant ces deux fractions organiques (MOE et maltènes) sont assez similaires et sont dominées par des molécules de taille limitée (~50 Da). En revanche, les deux modalités se distinguent au niveau des composés les plus lourds. En effet, la distribution en masse des molécules de la modalité Témoin met en évidence la présence de composés de taille supérieure à 100 Da, alors que ces composés sont absents de la modalité Hexane.

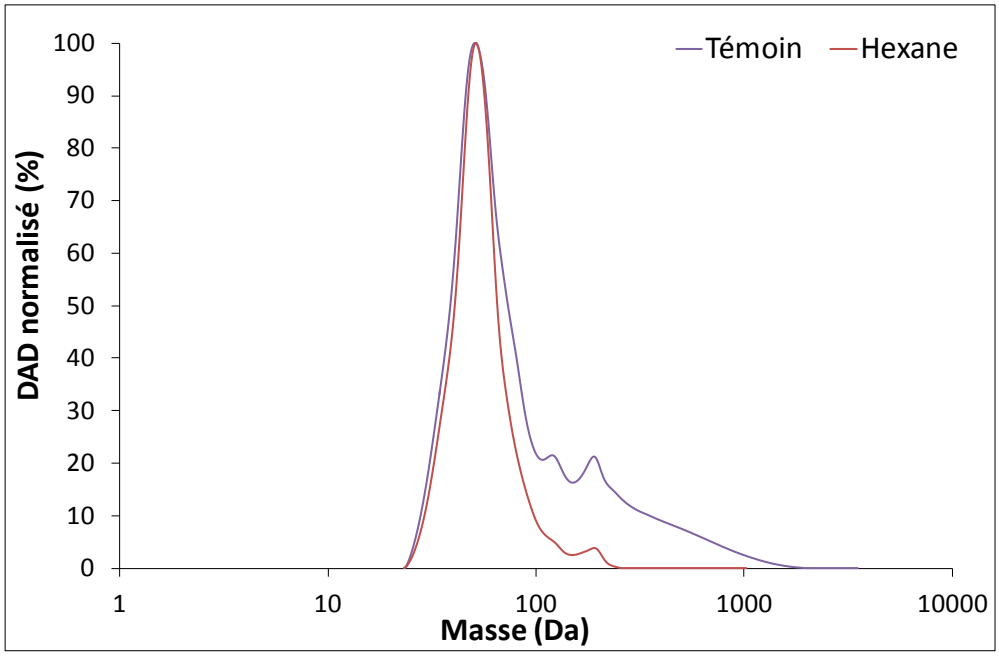

Figure 49 : Distribution en masse des molécules composant l'extrait organique de la pré-extraction au n-hexane et de la MOE de la terre globale Témoin

[1] *Remarque : il est bon de rappeler que la calibration en masse de la GPC est basée sur l'injection de mélanges de polymères (chapitre II, § 2.8.2) dont la structure chimique diffère des produits organiques contenus dans la MOE et les maltènes de la terre NM. Il en résulte, une incertitude des valeurs absolues de masses. Toutefois, les échantillons peuvent être comparés entre eux, pour une même terre (terre de Neuves-Maisons)*

Les maltènes obtenus pendant la pré-extraction au *n*-hexane ont ensuite été fractionnés sur microcolonnes afin d'étudier et de quantifier la proportion de chaque famille de composés : hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques et composés polaires. Les hydrocarbures aliphatiques sont majoritaires : ils représentent 47,8 % de la totalité des maltènes. Les composés polaires sont minoritaires et ne représentent que 17,7 %. Enfin, les hydrocarbures aromatiques sont intermédiaires avec 34,5 %.

Les chromatogrammes de ces trois familles composant les maltènes obtenus pendant la pré-extraction au *n*-hexane sont présentés Figure 50. Les hydrocarbures aliphatiques sont dominés par les *n*-alcanes, comportant entre 11 et 41 atomes de carbone. Les hydrocarbures aromatiques sont largement dominés par les HAP. De plus, l'analyse des chromatogrammes montrent la présence des mêmes composés que pour la MOE de la terre globale (chapitre III, § 1.4.1) exceptés les composés les plus lourds de masse molaire 302 g mol^{-1}. Le chromatogramme des composés polaires est caractérisé par une faible abondance et seulement six composés ont été identifiés. Le Tableau 13 présente l'identification des composés.

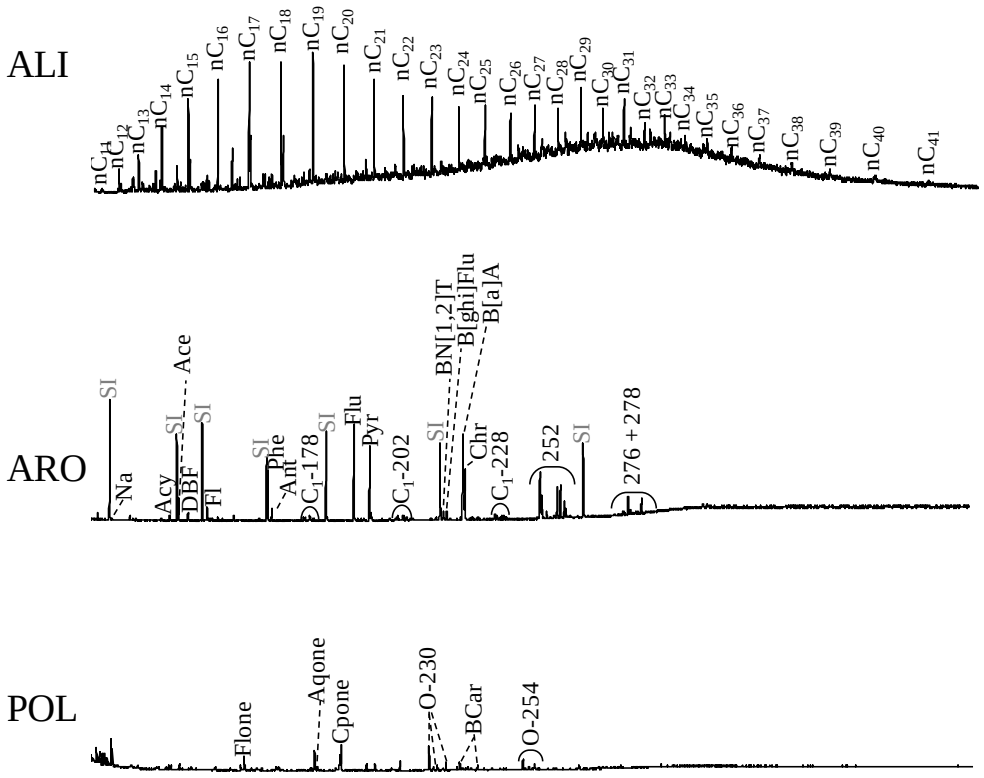

Figure 50 : Chromatogrammes des hydrocarbures aliphatiques (ALI), des hydrocarbures aromatiques (ARO) et des composés polaires (POL) de l'extrait organique obtenu pendant la pré-extraction au n-hexane (cf Tableau 13 pour identification)

Tableau 13 : Identification des composés présents sur les chromatogrammes de la Figure 50

Code	Composés
Na	Naphtalène
Acy	Acénaphthylène
Ace	Acénaphthène
DBF	Dibenzofurane
Fl	Fluorène
Phe	Phénanthrène
Ant	Anthracene
C_1-178	Composés méthylés de masse molaire 178
Flu	Fluoranthene
Pyr	Pyrene
C_1-202	Composés méthylés de masse molaire 202
BN[1,2]T	Benzo(b)naphto(1,2-d)thiophène
B[ghi]Flu	Benzo(ghi)fluoranthène
B[a]A	Benzo(a)anthracène
Chr	Chrysène
C_1-228	Composés méthylés de masse molaire 228
252	Composés de masse molaire 252
276 - 278	Composés de masses molaires 276 et 278
Flone	9H-Fluorénone
Aqone	Anthraquinone
Cpone	Cyclopenta(def)phénanthrénone
O-230	Composés de masse molaire 230 oxygénés
BCar	Benzocarbazole
O-254	Composés de masse molaire 254 oxygénés

2.2.1.2. Analyse de la MOE résiduelle dans les quatre modalités pré-extraites

A la suite du fractionnement granulodensimétrique, les terres globales des quatre modalités (DCM, Hexane, Eau chaude et Témoin) ainsi que leurs fractions granulodensimétriques respectives ont été broyées et leur MOE résiduelle a été extraite à l'ASE.

Les taux d'extraits obtenus pour les modalités globales ainsi que le pourcentage de MOE éliminée par rapport à la modalité Témoin au cours de la pré-extraction sont présentés dans le Tableau 14. Le taux d'extrait de la modalité Eau chaude est très proche de celui de la modalité Témoin, ce qui ne permet pas de déduire un pourcentage de MOE éliminée par l'eau chaude au cours de la pré-extraction. Le taux d'extrait de la modalité Hexane est environ deux fois plus faible que celui de la modalité Témoin correspondant à un pourcentage d'élimination de la MOE au cours de la pré-extraction de plus de 45 %. Enfin, le taux d'extrait de la modalité

DCM est inférieur d'un facteur 10 à celui de la modalité Témoin, correspondant à un pourcentage d'élimination de la MOE au cours de la pré-extraction de plus de 90 %. Pour les modalités DCM et Hexane, les teneurs en MOE résiduelles obtenues sont compatibles avec la quantité de MOE et de maltènes déjà éliminée pendant la pré-extraction (§ 1.2). En effet, l'addition des deux correspond à la quantité de MOE de la terre globale Témoin (Figure 51).

Tableau 14 : Concentration en MOE dans les modalités globales pré-extraites au solvant ainsi que le pourcentage de MOE éliminée au cours de la pré-extraction

	Teneur en MOE résiduelle ($mg\ g^{-1}$)	**Pourcentage d'élimination au cours de la pré-extraction (%)**
Témoin	9,2 (± 0,7)	
Eau Chaude	10,1 (± 0,4)	
Hexane	5,0 (± 0,3)	- 45,9
DCM	0,6 (± 0,4)	- 93,5

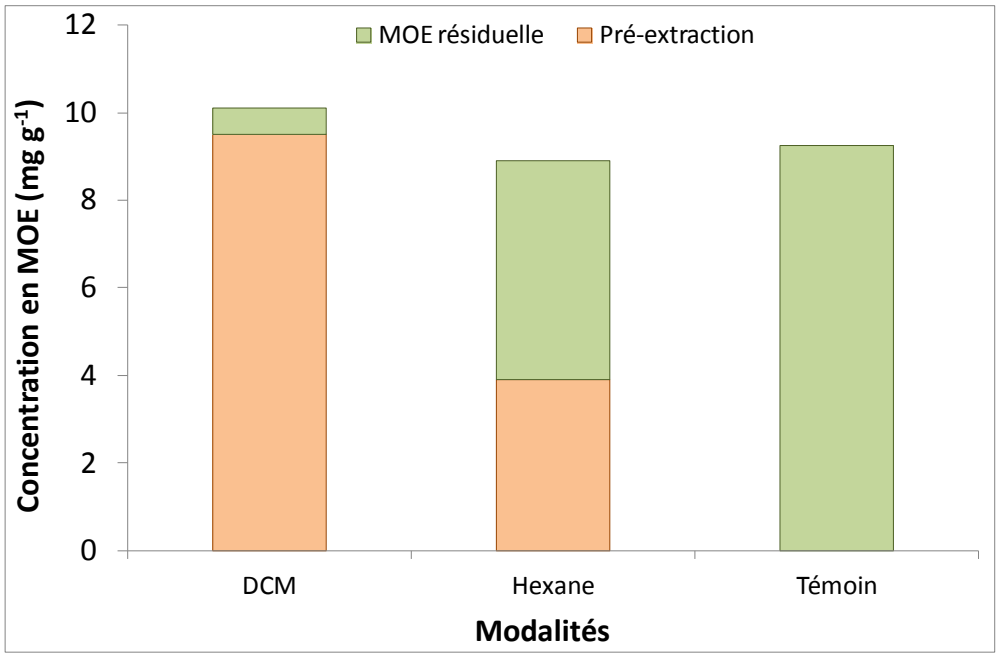

Figure 51 : Quantité de MOE éliminée au cours de la pré-extraction et quantité de MOE résiduelle pour les modalités DCM, Hexane et Témoin

2.2.2. Impact des pré-extractions sur la répartition de la pollution

La MOE résiduelle a également été extraite des fractions granulodensimétriques des quatre modalités (Figure 52).

Les concentrations en MOE des fractions granulodensimétriques de la modalité Témoin ont déjà été présentées dans le chapitre III (§ 2.4.1). Ces concentrations sont de 8,6 (±0,3) ; 9,6 (±0,5) ; 8,0 (±0,1) ; 28,2 (±0,7) et 9,2 (±0,7) mg g^{-1} respectivement dans les SG, SF, LG, LF et la terre globale.

Les taux d'extraits dans les fractions granulodensimétriques des modalités pré-extraites au solvant suivent la même évolution que ceux des modalités globales en présentant quasiment les mêmes taux d'élimination de la MOE, de maltènes ou de COD suite aux pré-extractions (§ 2.2.1.2). En effet, pour la modalité Eau chaude, quelle que soit la fraction granulodensimétrique, le taux d'extrait est sensiblement le même que celui de la modalité Témoin. Pour la modalité Hexane, les sables grossiers et les limons fins présentent, de même que pour l'échantillon global, des concentrations en MOE résiduelle deux fois plus faibles que celles de la modalité Témoin. En revanche, les concentrations en MOE résiduelle des sables fins et des limons grossiers ont été légèrement moins impactées par la pré-extraction : ces fractions présentent seulement 30 % d'élimination de la MOE par rapport aux mêmes fractions de la modalité Témoin. Pour la modalité DCM, toutes les fractions granulodensimétriques sont fortement impactées : les sables (grossiers et fins) et les limons grossiers présentent des pourcentages d'élimination de MOE suite à la pré-extraction de 80 % et les limons fins de 90 % par rapport aux concentrations en MOE dans la modalité Témoin.

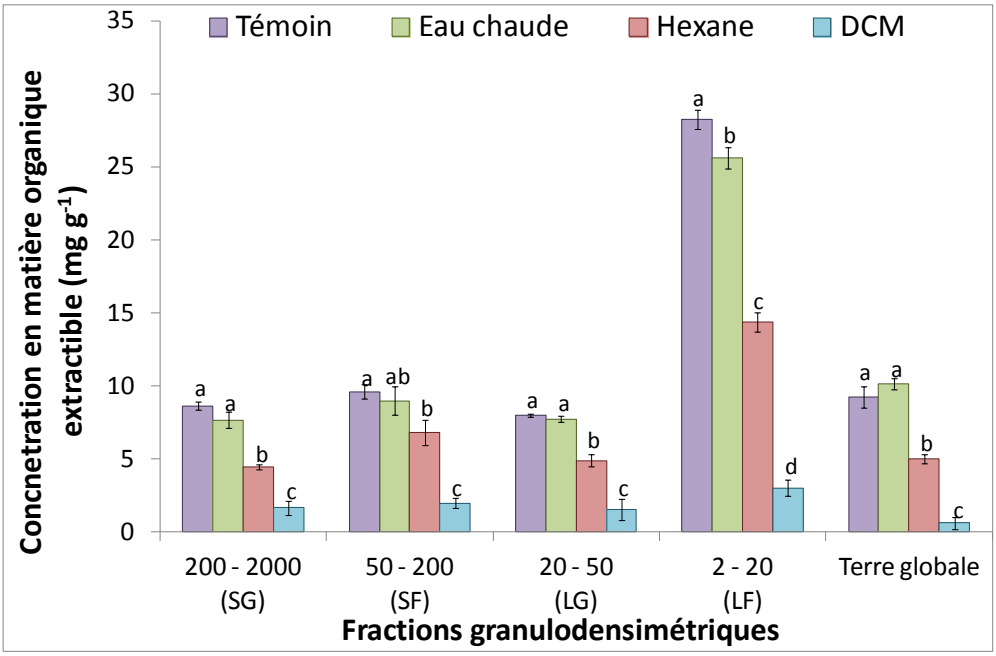

Figure 52 : Concentration en MOE résiduelle dans les fractions granulodensimétriques et dans l'échantillon global des modalités pré-extraites au solvant et de la modalité Témoin (n = 3)

Les HAP ont été quantifiés dans les échantillons de terre globale ainsi que dans les fractions granulodensimétriques des quatre modalités (Figure 53).

Les concentrations en HAP de la modalité Témoin ont déjà été présentées dans le chapitre III (§ 1.4.2). Ces concentrations sont de 854, 1014, 725, 2506 et 1025 µg g^{-1} respectivement dans les SG, SF, LG, LF et la terre globale.

Dans les échantillons de terre globale, les concentrations en HAP sont de 1040, 202 et 12 µg g^{-1} respectivement pour les modalités Eau chaude, Hexane et DCM. Par rapport à la concentration de la terre globale de la modalité Témoin, la concentration en HAP de la modalité Eau chaude est identique, inférieure d'un facteur 5 pour la modalité Hexane et inférieure d'un facteur 100 pour la modalité DCM. Les fractions granulodensimétriques de ces trois modalités présentent les mêmes facteurs d'abattement.

Les évolutions de ces concentrations en HAP, quelle que soit la modalité et quelle que soit la fraction granulodensimétrique ou l'échantillon de terre globale, sont similaires à celles de la MOE (Figures 53).

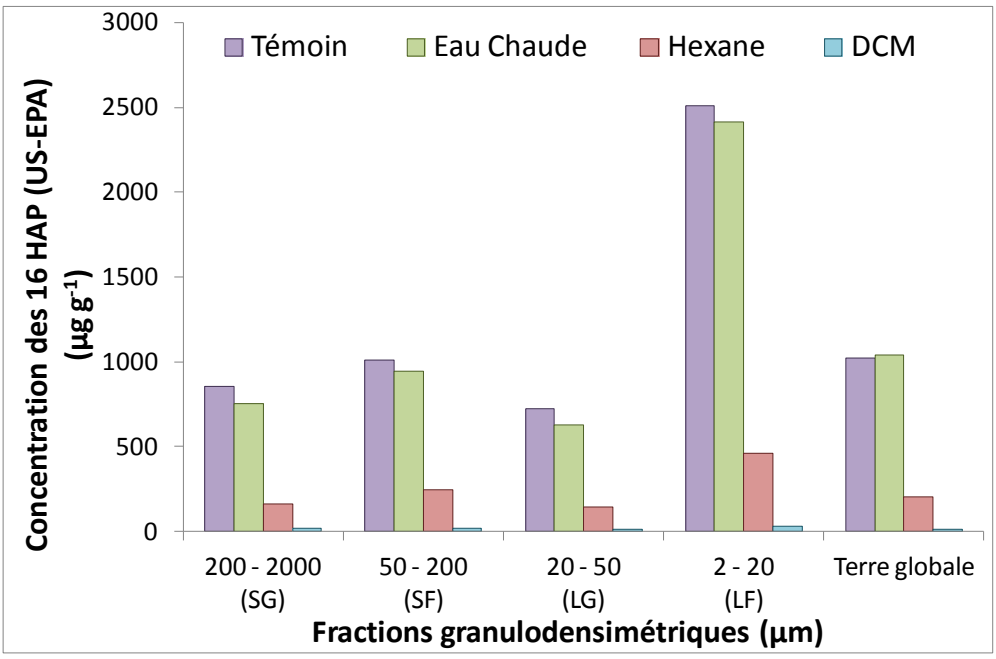

Figure 53 : Concentration en HAP dans les fractions granulodensimétriques et dans l'échantillon global des modalités pré-extraites au solvant et de la modalité Témoin

3. Discussion

L'analyse de la MOE résiduelle et la quantification des HAP dans la terre après les pré-extractions ont montré que (i) la terre pré-extraite à l'eau chaude ne présente pas de différence avec la terre Témoin, (ii) la terre pré-extraite au *n*-hexane présente des concentrations en MOE et en HAP respectivement deux et cinq fois plus faibles que les concentrations dans la terre Témoin et (iii) la terre pré-extraite au DCM présente des concentrations en MOE et en HAP respectivement 10 et 100 fois inférieures aux concentrations dans la terre Témoin. Ces concentrations en MOE et en HAP des modalités pré-extraites sont donc compatibles avec l'hypothèse posée au début de l'expérimentation (§ 1.1) :

- le DCM élimine la totalité de la MO extractible : les concentrations en MOE résiduelle et en HAP résiduels de la modalité DCM sont très faibles.
- l'eau chaude élimine uniquement la fraction organique susceptible d'être mobilisée par l'eau météorique ou de nappe et n'a donc que peu d'effet sur la MOE et les HAP (les concentrations en MOE et en HAP de la modalité Eau chaude sont égales à celles de la modalité Témoin. En revanche il y a bien eu extraction de carbone au cours de cette pré-extraction. Ce carbone extrait à l'eau ne contient donc que très peu de HAP, laissant supposer que sur un site de friche industrielle, la pluie ne mobilise pas les HAP, ce qui est en accord avec le caractère hydrophobe de ces composés. Cependant, la MO composant la terre NM étant de nature anthropique, sa mobilisation par l'eau est susceptible d'avoir un impact sur l'environnement (nappes, cultures…). De plus, le test préliminaire des 12 extractions a montré que, contrairement aux extractions au DCM et au *n*-hexane, aucun palier d'extraction n'a été atteint avec l'extraction à l'eau chaude, le pool de COD semble donc très important. Enfin, dans le cadre de cette thèse, seuls les 16 HAP réglementaires ont été analysés. D'autres composés moins hydrophobes tels que les composés aromatiques polycycliques oxygénés ou azotés peuvent se retrouver dans l'eau. Il serait donc intéressant d'analyser le COD extrait à l'eau chaude et de réaliser des tests d'écotoxicité afin de déterminer les risques potentiels et les conséquences d'une mobilisation de ce carbone pour l'environnement. Une étude précédente a montré que les lixiviats de la terre NM étaient toxiques et que les cyanures présents expliquaient en grande partie cette toxicité (Manar et al., 2011).
- le *n*-hexane conserve la fraction organique macromoléculaire (Figure 49) : les concentrations en MOE et en HAP de la modalité Hexane sont intermédiaires entre la modalité DCM et la modalité Eau chaude. Ces concentrations intermédiaires indiquent qu'il y

a bien eu élimination de certains composés (une partie des maltènes) et conservation d'autres (fraction organique macromoléculaire : les asphaltènes).

L'analyse des fractions granulodensimétriques après pré-extraction a montré des comportements différents : (i) pour les pré-extractions au DCM et à l'eau chaude, toutes les fractions ont été impactées par la pré-extraction de la même manière et (ii) pour la pré-extraction au *n*-hexane, les sables fins et les limons grossiers présentent un taux d'abattement de la MOE plus faible que les autres fractions et que la terre globale. Ceci pourrait s'expliquer par une répartition non homogène des maltènes : ils seraient moins présents dans les sables fins et les limons grossiers. Cependant, la caractérisation des fractions granulodensimétriques réalisée au chapitre précédent n'a pas montré de différence de quantité de MOE extraite entre les sables grossiers, les sables fins et les limons grossiers. De plus, le fractionnement de l'extrait organique en hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques et composés polaires a montré une répartition identique de ces trois familles dans les sables fins, limons grossiers et dans les sables grossiers. Ainsi, cette caractérisation ne permet pas de confirmer ou d'infirmer l'hypothèse d'une répartition non homogène des maltènes entre les différentes fractions granulodensimétriques. Seul, un fractionnement de type asphaltènes/maltènes de l'extrait organique des fractions granulodensimétriques permettrait de connaître leur proportion respective et de valider ou non cette hypothèse.

La structure des deux modalités obtenues après extraction à l'ASE au dichlorométhane et à l'eau chaude a montré une augmentation de la proportion des sables grossiers semblant provenir des sables fins et des limons grossiers. L'élimination d'une MO hydrophobe ou d'une MO hydrophile conduit donc, de façon surprenante au même résultat, c'est-à-dire à une agrégation de la terre NM. Cette augmentation des sables grossiers ne peut pas être due à un artefact du protocole mis en place. En effet, d'une part, les extractions douces au Soxhlet ont également mis en évidence une augmentation des sables grossiers après extraction de la terre au DCM et à l'eau chaude, démontrant ainsi que la pression nécessaire à l'extraction par ASE n'agrège pas les particules fines entre elles. D'autre part, le séchage à 105°C de la terre pendant 4 heures après les extractions au solvant a permis de volatiliser le solvant piégé dans les agrégats. Ainsi, il n'y a pas eu de problème de miscibilité avec l'eau lors du fractionnement granulodensimétrique, les agrégats ont donc bien été séparés. L'augmentation des sables grossiers après l'extraction au DCM pourrait être due à une perte de masse liée à

l'élimination des particules organiques dans les fractions fines provoquant non pas une augmentation de la quantité des sables grossiers mais une augmentation de leur proportion. L'extraction au DCM a éliminé 9,5 mg g^{-1} MS de MOE lors de la préparation de la modalité (§ 1.2). De plus, l'analyse de la MOE résiduelle dans les fractions granulodensimétriques a montré que la pré-extraction a impacté de la même façon toutes les fractions (§ 2.2.2). Ainsi, respectivement dans les limons grossiers et les sables fins, fractions semblant alimenter les sables grossiers, 78 et 218 mg de MOE ont été éliminés. Cependant cette quantité éliminée est trop faible pour induire l'augmentation de la proportion des sables grossiers observée. De plus, cette hypothèse n'est pas compatible avec les extractions à l'eau chaude. En effet, l'eau chaude ne permet pas d'éliminer de telles quantités de carbone organique et pourtant une agrégation est observée.

La structure de la modalité extraite au *n*-hexane par ASE a montré une tendance à la désagrégation avec une diminution de la proportion des sables fins et des limons grossiers ainsi qu'une augmentation de la proportion des limons fins. L'analyse de la qualité des maltènes extraits par le *n*-hexane a donc montré que seules les molécules légères (Figure 49) comprenant une faible proportion de composés polaires (Figure 50) ont été extraites. La combinaison de ces deux résultats (structure de la terre et qualité des maltènes) laisse supposer que les molécules légères sont responsables de l'agrégation. En revanche, après une extraction avec le même solvant mais réalisée au Soxhlet, cette désagrégation n'est pas observée. Cette différence peut être due à la quantité de maltènes extraits qui est inférieure dans le cas de l'extraction au Soxhlet par rapport à l'extraction à l'ASE d'un facteur 4. La quantité de maltènes éliminés pourrait donc être responsable des effets opposés observés sur la structure de la terre. La terre NM est composée de 37 % d'asphaltènes et 63 % de maltènes (Ouvrard et al., 2011). La pré-extraction au *n*-hexane par ASE a éliminé 45 % des maltènes alors que la pré-extraction par Soxhlet a éliminé seulement 11 % des maltènes. Il reste donc respectivement 18 % et 52 % de maltènes dans la terre suite à la pré-extraction. Ces différences de pourcentages d'abattement des maltènes par les deux types d'extraction peuvent expliquer les différences observées au niveau de la structure de la terre. En effet, en supposant que les maltènes soient responsables de l'agrégation, l'extraction au Soxhlet n'en a pas extrait une quantité suffisante permettant de désagréger la terre. Ainsi, il faudrait éliminer une certaine quantité de maltènes, supérieure à 1 mg g^{-1} MS pour déstructurer la terre NM.

Cependant, cette hypothèse n'est pas confirmée par l'extraction au DCM qui a également éliminé les maltènes et qui n'a pas montré de déstructuration.

L'hypothèse de la MO anthropique ayant un rôle de liant entre les particules s'avère donc en partie inexacte. L'erreur commise dans la formulation de cette hypothèse est sans doute liée à une mauvaise représentation du système : la MO anthropique était imaginée sous la forme de goudron plus ou moins visqueux circulant entre les particules de la terre, provoquant leur agglomération. Les pré-extractions réalisées au DCM, solvant permettant d'extraire ces goudrons, conduisent à une agrégation, contredisant ainsi l'hypothèse formulée. De plus, les observations réalisées au MEB (chapitre III, § 2.3.3) montrent que les particules de carbone de la terre NM sont individuelles et qu'il n'y a pas d'autres particules associées avec, confirmant que les particules organiques n'ont pas un rôle de liant.

4. Conclusion

L'analyse de la MO résiduelle dans la terre globale et les fractions granulodensimétriques ayant subi une pré-extraction par trois solvants (dichlorométhane, *n*-hexane et eau chaude) a permis de confirmer l'hypothèse formulée au début de l'expérimentation concernant le type de MO éliminée. L'eau chaude a éliminé très peu de MO, correspondant au carbone organique dissous mobilisable par l'eau de pluie ou de nappe, le DCM a éliminé la quasi-totalité de la MO extractible et le *n*-hexane a permis de conserver la fraction organique macromoléculaire et n'a mobilisé qu'une partie des maltènes. L'analyse de cette MO résiduelle a également permis de mettre en évidence que toutes les fractions granulodensimétriques étaient impactées de la même façon par les extractions au DCM et à l'eau chaude, mais qu'en revanche, avec l'extraction au *n*-hexane, les sables fins et les limons grossiers étaient sous-extraits, suggérant une répartition non homogène des maltènes au sein des fractions granulodensimétriques.

L'élimination sélective d'une partie de la MO anthropique de la terre NM, par trois solvants de polarité différente a également permis de mettre en évidence le rôle de cette MO dans la structure de la terre NM. Pour les modalités extraites au DCM et à l'eau chaude, une agrégation avec une augmentation de la proportion des sables grossiers et une diminution de

la proportion des sables fins et des limons grossiers par deux techniques d'extractions (ASE et Soxhlet) a été mise en évidence. En revanche, les deux techniques d'extractions ont montré des résultats contradictoires pour la modalité extraite au *n*-hexane : après extraction à l'ASE, une désagrégation est observée alors qu'à l'inverse, après l'extraction au Soxhlet, une agrégation est observée. Les deux techniques n'éliminant pas la même quantité de maltènes, le Soxhlet est quatre fois moins performant, la différence de comportement de la terre NM après extraction des maltènes pourrait être due à la différence de quantité extraite.

Cette expérimentation a donc démontré que, excepté dans le cas de l'extraction au *n*-hexane par ASE, où l'élimination des maltènes semble désagréger la terre, la MO anthropique de la terre NM n'a pas un rôle de liant entre les particules, ce qui confirme les observations de particules individuelles réalisées au microscope.

Après avoir mis en évidence le rôle de la MO anthropique présente dans la terre NM sur sa structure et sur la répartition des polluants par extraction de cette MO, le chapitre suivant est consacré à déterminer le rôle de la MO naturelle c'est-à-dire le rôle des végétaux et de l'incorporation de litière sur les deux mêmes facteurs : (i) la structure de la terre et (ii) la répartition des HAP en terme de concentration, distribution et disponibilité.

CHAPITRE V

ROLE DE LA MO NATURELLE SUR LA STRUCTURE ET LA REPARTITION DES HAP

SOMMAIRE CHAPITRE V

1. Étude à l'échelle du laboratoire 131
1.1. Incubation du maïs dans la terre NM 132
1.2. Impact agronomique 134
1.2.1. Estimation de la biomasse microbienne 134
1.2.2. Évolution de la structure de la terre 136
1.2.3. Impact sur le stockage de carbone 138
1.2.3.1. Teneur en carbone total (CT) 138
1.2.3.2. Données isotopiques $\delta^{13}C$ 140
1.2.3.3. Modèle de mélange à deux sources 141
1.3. Impact sur la pollution 143
1.3.1. Impact sur la matière organique extractible (MOE) 143
1.3.2. Impact sur les HAP totaux 144
1.3.2.1. Concentration des HAP totaux 144
1.3.2.2. Distribution des 16 HAP 145
1.3.3. Impact sur les HAP disponibles 149
2. Étude à l'échelle lysimétrique 154
2.1. Parcelles lysimétriques du site expérimental du GISFI 155
2.2. ^{14}C 157
2.3. Évolution de la structure 158
2.4. Impact de la culture sur la pollution 160
2.4.1. Matière organique extractible 160
2.4.2. Concentration des HAP totaux 163
2.4.3. Distribution des HAP 166
2.4.4. HAP disponibles 170
3. Discussion : confrontation des expérimentations *in situ* et en conditions contrôlées 172
3.1. Incorporation de matière organique fraîche en conditions contrôlées 172
3.2. Impact des résidus végétaux sur la pollution 175
3.3. Comparaison des expérimentations en conditions contrôlées et *in situ* 176
4. Conclusion 180

Les chapitres dédiés à la caractérisation de la terre NM (chapitre III) et à l'identification des rôles joués par ses constituants (chapitre IV) ont démontré que (i) la terre NM est d'origine industrielle avec une MO exclusivement anthropique (principalement coke et goudron) et des constituants minéraux majoritairement d'origine anthropique également (briques, billes d'oxydes de fer), (ii) les limons fins jouent un rôle de protection de la MO de la terre, (iii) la MO anthropique n'est pas responsable de l'agrégation des particules entre elles. Ces rôles ont été identifiés au laboratoire en caractérisant la terre NM nue. Toutefois, aucun élément ne permet de prédire l'évolution de cette terre sous couvert végétal dans un contexte de végétalisation naturelle ou de traitement par phytoremédiation. Il est donc important de pouvoir prédire le fonctionnement de la terre NM dans un tel contexte par rapport à celui d'un sol naturel et d'en déduire les conséquences sur le cycle du carbone. Il s'agit en particulier de confronter les cinétiques et mécanismes d'incorporation de la MO « fraîche » et de vérifier si cette incorporation impacte le rôle protecteur des limons fins vis-à-vis des polluants et peut favoriser la libération de la pollution.

Ces questions ont été abordées à deux échelles et sont développées dans deux parties distinctes de ce chapitre. L'une au laboratoire avec un système simplifié d'incubation de sol sur 15 mois suite à un apport maîtrisé de matière organique ; l'autre à l'échelle du terrain, sur une période de 6 années, sur des dispositifs de parcelles lysimétriques *in situ* en présence ou en absence de culture. Dans ces deux situations il s'agira d'évaluer l'impact de l'incorporation de MO fraîche dans la terre NM contenant exclusivement de la MO d'origine anthropique sur sa structure et sur la répartition, la concentration et la disponibilité de la pollution. Les résultats de ces deux expérimentations seront discutés dans une troisième partie.

1. Étude à l'échelle du laboratoire

Le protocole d'incorporation du maïs et d'incubation de la terre est présenté dans le paragraphe suivant. L'évolution de la terre a été suivie pendant 15 mois : (i) la biomasse microbienne de la terre a été quantifiée par la méthode d'extraction-fumigation (chapitre II, § 2.9), (ii) un fractionnement granulodensimétrique (chapitre II, § 2.2.1) a permis de suivre l'évolution de la structure de la terre, (iii) la matière organique extractible au solvant a été extraite (chapitre II, § 2.6.1) et les HAP totaux (chapitre II, § 2.8.1) et disponibles (chapitre II, § 2.7) ont été quantifiés et enfin (iv) les outils isotopiques ont permis de suivre le carbone

provenant de la biodégradation du maïs (chapitre II, § 2.5.2). La Figure 54 résume les méthodes et analyses utilisées tout au long de cette première partie.

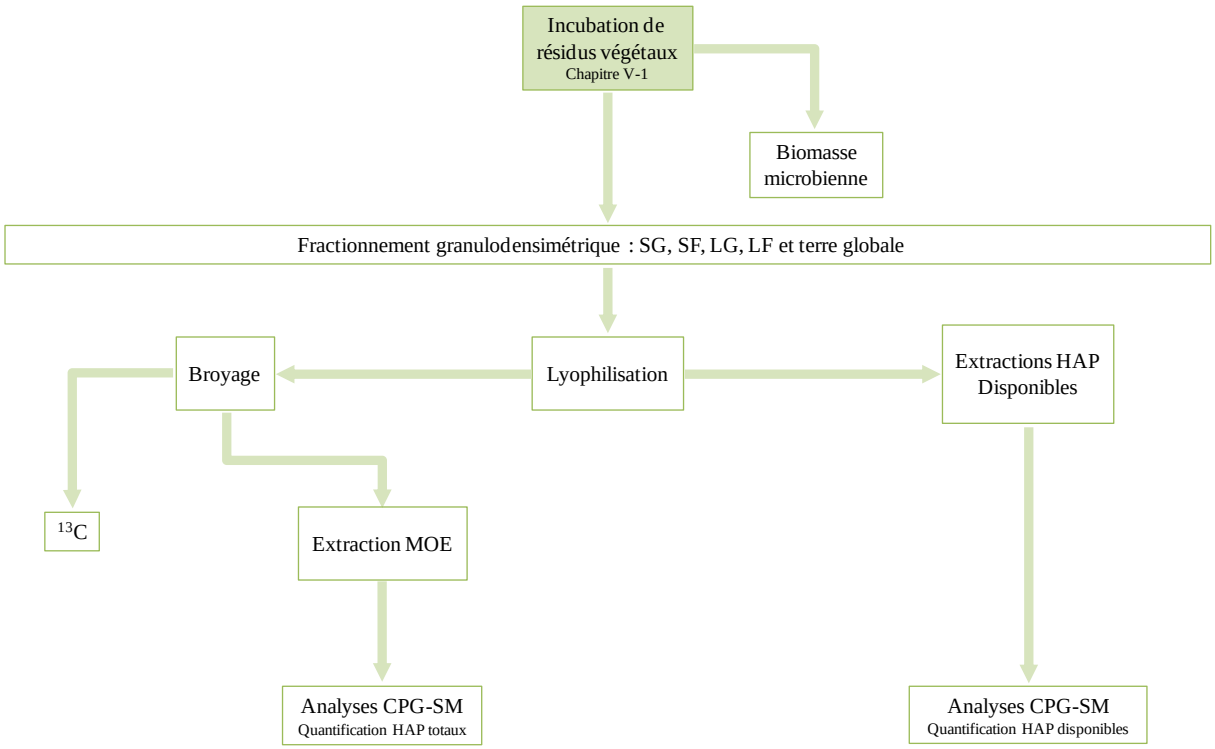

Figure 54 : Organigramme des méthodes et analyses utilisées tout au long de la partie 1 du chapitre V

1.1. Incubation du maïs dans la terre NM

Cette simulation d'apport de carbone végétal par incubation de résidus végétaux dans la terre NM a nécessité un matériau supplémentaire, le maïs, ainsi qu'un protocole de mélange terre-maïs. Ce paragraphe est dédié à leur présentation.

Avant l'incorporation du maïs, l'humidité de la terre a été ajustée à 50 % de la capacité de rétention en eau. Cette teneur en eau a été maintenue tout au long de l'expérimentation. Le maïs a été prélevé à la ferme expérimentale de l'ENSAIA (École Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires) « La Bouzule » à Champenoux (Meurthe et Moselle, France) en septembre 2011 juste avant la récolte (Figure 55). Seules les parties aériennes (tiges et feuilles) ont été utilisées. Elles ont été lavées à l'eau déminéralisée, séchées à 105°C pendant 48 heures puis broyées à 500 µm.

Figure 55 : Parcelles de la ferme expérimentale de l'ENSAIA "La Bouzule" plantées avec du maïs

La quantité de maïs incorporée dans la terre a été déterminée en prenant en compte la quantité de carbone qui retourne au sol après un an de culture de maïs. Environ 350 g de carbone venant des parties aériennes du maïs retournent au sol dans les trente premiers cm et pour un mètre carré, après un an de culture pour un sol de densité 1,44 (Balesdent et al., 1998). Ces trente premiers cm de profondeur pour un mètre carré correspondent donc à 430 kg de sol. De plus, le maïs contient 445 g de carbone pour 1000 g de matière sèche (mesures effectuées avec un analyseur élémentaire CNS Micro Varian, chapitre II, § 2.5.1). La densité de la terre NM (1,22 ; Chapitre II, Tableau 2) est compatible avec celle du sol cultivé utilisé dans l'étude de Balesdent et al. (1998). Ainsi, pour simuler un an d'apport de carbone végétal, 0,08 g de carbone soit 0,18 g de maïs sec ont été incorporés à 100 g de terre NM. Cette modalité est appelée M1. Une deuxième modalité représentant dix ans de restitution de carbone végétal apporté en une fois a également été préparée dans le but d'accélérer les interactions qui pourront avoir lieu entre le maïs et la terre, cette modalité est appelée M10. Ainsi, 0,8 g de carbone soit 1,8 g de maïs sec ont été incorporés dans 100 g de terre. Afin de les homogénéiser, les mélanges « terre + maïs » ont été tamisés à 2 mm dix fois. Une modalité témoin sans apport de maïs a également été préparée de la même manière. Cette modalité est appelée M0.

Les incubations ont été conduites dans des flacons en verre remplis avec 150 g des mélanges ou de terre sans maïs maintenus à 50 % de la capacité de rétention en eau. Les incubateurs ont ensuite été placés à l'obscurité à 20°C. Une fois par semaine, (i) l'humidité a été contrôlée par pesée et ajustée lorsque cela était nécessaire et (ii) les incubateurs ont été ouverts et

homogénéisés à l'aide d'une tige en verre afin d'assurer le renouvellement de l'air ainsi qu'une activité des microorganismes optimale.

Les incubations ont été stoppées par congélation des incubateurs à six dates prédéfinies 0, 3, 6, 9, 12 et 15 mois d'incubation. Ces temps de prélèvements sont notés pour la suite t_0, t_3, t_6, t_9, t_{12} et t_{15}. Pour chaque modalité et chaque date de prélèvement, 4 répétitions ont été préparées.

Les tests statistiques de cette expérimentation ont été réalisés toutes modalités confondues. Pour les résultats d'estimation de la biomasse microbienne par extraction fumigation et pour le suivi de la structure de la terre par fractionnement granulodensimétrique, les tests statistiques ont été réalisés sur les quatre répétitions initialement préparées. En revanche, afin d'obtenir suffisamment de matériel de chaque fraction pour toutes les analyses, les quatre répétitions initiales ont été groupées à la fin du fractionnement granulodensimétrique. La variabilité de mes répétitions expérimentales ne pouvait donc plus être visualisée et ainsi les tests statistiques pour la composition isotopique en ^{13}C, la teneur en matière organique extractible, la concentration des 16 HAP totaux et le pourcentage de HAP disponibles ont été réalisés sur trois répétitions analytiques.

1.2. Impact agronomique

1.2.1. Estimation de la biomasse microbienne

Les résidus végétaux ont été lavés et séchés à 105°C. C'est pourquoi nous considérons que tous les microorganismes présents sur les parties aériennes du maïs ont été tués et que l'incorporation de maïs dans les modalités M1 et M10 n'a pas apporté de microorganismes vivants. La biomasse vivante présente dans les trois modalités est uniquement celle native de la terre NM.

Pour les trois modalités, aucun développement algal ou fongique n'a été observé au cours de l'incubation. La courbe de la modalité M0 représente l'évolution de la biomasse microbienne native de la terre NM (Figure 56). Au début de l'expérimentation, le carbone microbien est respectivement de 119, 153 et 216 mg C kg^{-1} pour M0, M1 et M10 (Figure 56) ce qui représente 0,18 ; 0,23 et 0,32 % du carbone total. La différence de quantité de carbone microbien entre les trois modalités est due aux microorganismes qui étaient présents sur le

maïs (Potthoff et al., 2005), lors de la fumigation avec le chloroforme, celui-ci lyse également les cellules microbiennes mortes.

Après trois mois d'incubation (t_3), une forte augmentation du carbone microbien est observée dans les trois modalités mais cette augmentation est statistiquement non significative pour M1 (Figure 56). A cette date, le carbone microbien est respectivement de 190, 198 et 340 mg kg^{-1} pour les modalités M0, M1 et M10, ce qui correspond à une augmentation de 71, 45 et 124 mg kg^{-1}. Cette forte augmentation est probablement due aux conditions optimales de l'incubation pour les microorganismes c'est-à-dire (i) pour les trois modalités à la température d'incubation (20°C), à l'humidité maintenue à 50 % de la capacité au champ et à l'homogénéisation de la terre et (ii) pour les modalités M1 et M10 à l'apport de MO fraîche. Ce phénomène est appelé « priming effect » (Jenkinson, 1966; Kuzyakov and Gavrichkova, 2010).

Après ce « priming effect », la biomasse microbienne diminue et se stabilise autour de la valeur initiale. Dans les modalités amendées, la biomasse microbienne est supérieure à celle de la modalité M0 jusqu'à 12 mois d'incubation mais de manière non significative pour la modalité M1. La MO apportée semble donc constituer une source d'éléments nutritifs pour la biomasse microbienne. Dans le cas de la modalité M1, l'apport moindre stimule l'activité microbienne mais de manière limitée contrairement à la modalité M10 pour laquelle l'augmentation de la biomasse est importante (124 mg kg^{-1}). L'évolution des valeurs de biomasse microbienne des modalités M1 et M10 qui tendent à rejoindre les valeurs de la modalité M0 pourrait être liée au non renouvellement de l'apport en maïs, au-delà de l'effet initial, les activités de dégradation de la MO initialement présente dans la terre NM se situent à des niveaux équivalents pour les trois modalités.

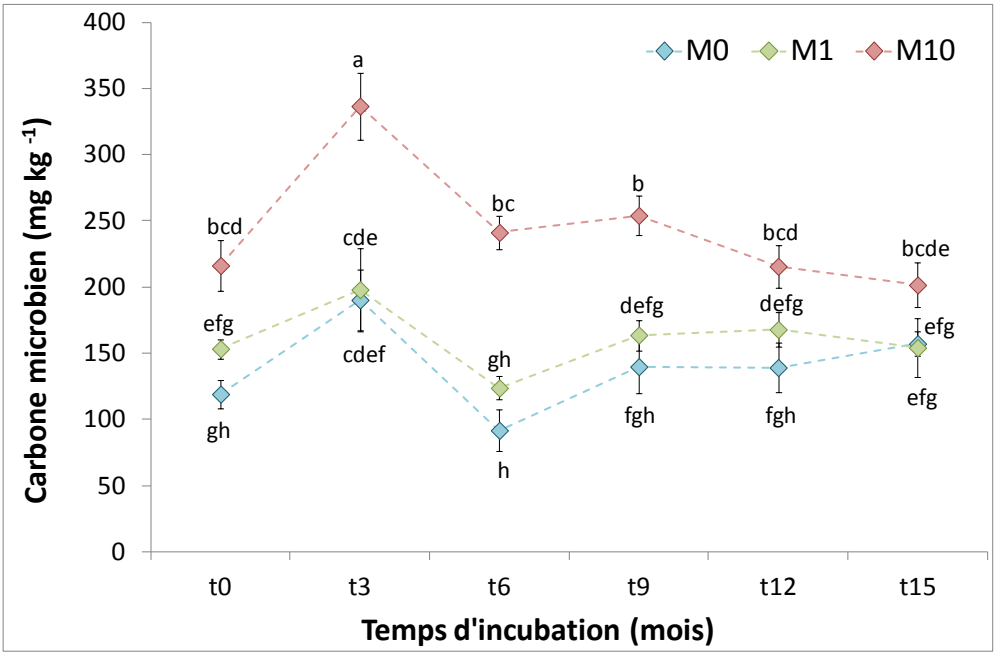

Figure 56 : Estimation de la biomasse microbienne dans les modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 4)

1.2.2. Évolution de la structure de la terre

Le suivi de la structure des trois modalités est présenté Figure 57. Pour tous les résultats présentés, un code couleur unique a été utilisé. La modalité de contrôle M0 est représentée en bleu, la modalité M1 est en vert et la modalité M10 est en rouge. Le dégradé de couleur représente l'évolution dans le temps, le plus clair correspondant à t_0 et le plus sombre à t_{15}.

La proportion des sables (grossiers et fins) des modalités M1 et M10 est différente de celle de la modalité M0 au début de l'expérimentation : la modalité M0 contient plus de sables grossiers (environ 3 points) et moins de sables fins (environ 3 points) par rapport aux deux autres modalités. Ces différences, dues à l'hétérogénéité de l'échantillon, ne permettent pas de confirmer statistiquement une évolution de la structure de la terre entre les trois modalités au cours des 15 mois d'incubation.

Néanmoins, deux tendances opposées sont observées entre les modalités amendées et la modalité de contrôle. La modalité M0 présente une diminution de la quantité des sables grossiers et des limons grossiers et une augmentation des sables fins et des limons fins. En effet, les SG et les LG diminuent respectivement de 1,4 et 1,3 points et les SF et les LF augmentent respectivement de 1,3 et 1,4 points entre t_0 et t_{15}. A l'inverse, les modalités M1 et

M10 présentent une augmentation continue des sables grossiers et une diminution des sables fins et des limons grossiers. En effet, les SG augmentent respectivement de 3,3 points pour M1 et de 3,6 points pour M10 et les SF et LG diminuent respectivement de 2,3 et 1,7 points pour M1 et de 2,0 et 2,3 points pour M10 entre t_0 et t_{15}. Les LF restent stables dans ces deux modalités. Ainsi, la modalité M0 montre une tendance à la désagrégation alors que les modalités M1 et M10 montrent une tendance à l'agrégation.

Cependant, une différence entre les deux modalités amendées est notable au niveau de la dynamique de l'agrégation. La modalité M1 s'agrège fortement entre t_0 et t_3 avec 3,2 points d'augmentation des SG et 1,7 et 1,5 points de diminution des SF et des LG. Pendant les 12 mois suivants, la modalité M1 a tendance à rester stable avec seulement 0,1 point d'augmentation supplémentaire de SG et 0,6 et 0,2 point de diminution supplémentaire de SF et de LG. A l'inverse, la modalité M10 montre une tendance continue à l'agrégation. Entre t_0 et t_3, les SG augmentent seulement de 1,4 points et les SF et les LF diminuent respectivement de 1,2 et 1,0 points. Pendant les 12 mois suivants, la modalité M10 continue à s'agréger : les SG augmentent de 2,2 points et les SF et les LG diminuent de 0,8 et de 1,3 points jusque t_{15}.

L'évolution de la structure des trois modalités est donnée sous forme de tableau en Annexe 5-1 page 271 (Tableau 29 – les résultats des tests statistiques sont donnés avec le tableau).

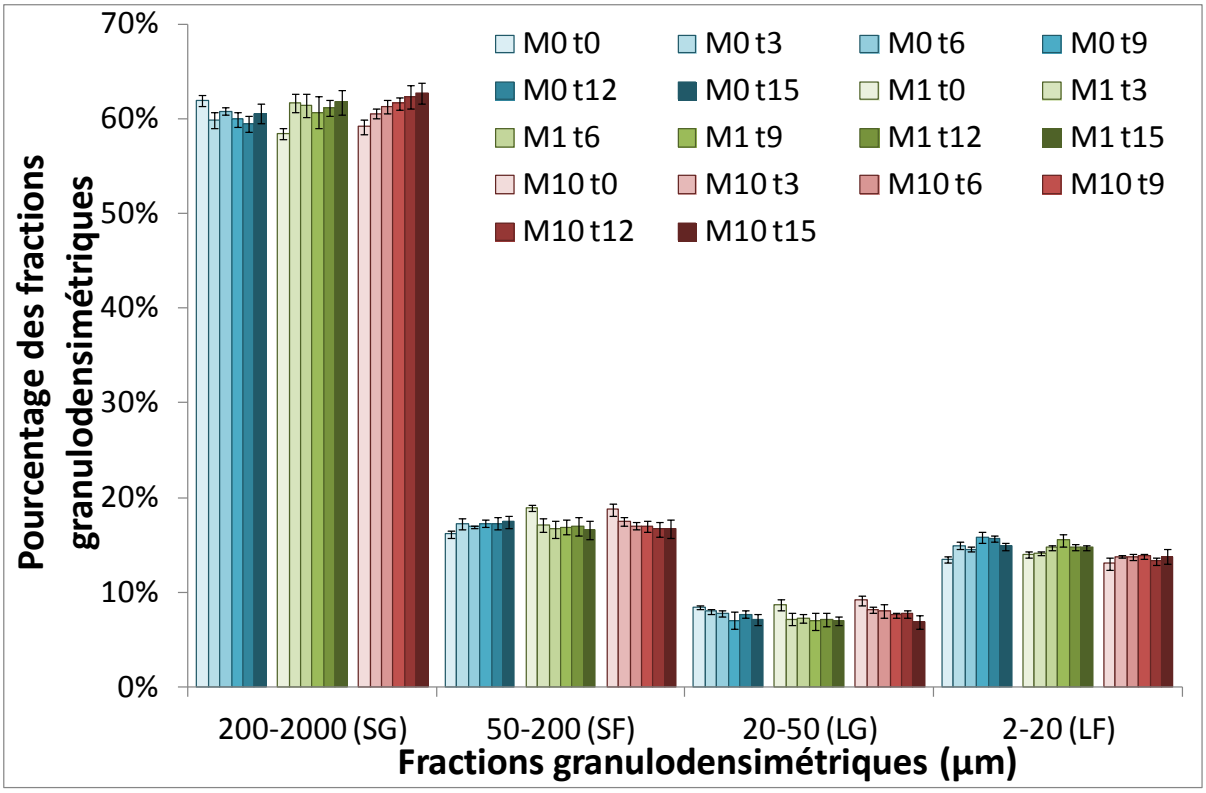

Figure 57 : Évolution de la structure des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 4)

1.2.3. Impact sur le stockage de carbone

1.2.3.1. Teneur en carbone total (CT)

Les teneurs en carbone total des fractions granulodensimétriques ainsi que des échantillons de terre globale pour les trois modalités sont données Tableau 15.

Dans l'échantillon de terre globale de la modalité M0, la teneur en carbone total (CT) est de 66 mg g^{-1} au début de l'expérimentation et reste stable autour de cette valeur tout au long des 15 mois d'incubation. Au contraire, dans les échantillons de terre globale des modalités amendées, les teneurs en CT à t_0 sont supérieures à celle de la modalité M0, respectivement 80 et 92 mg g^{-1} pour M1 et M10, du fait de l'apport de carbone végétal, et diminuent progressivement jusqu'à la fin de l'expérimentation jusqu'à atteindre la teneur en CT de M0.

La teneur en CT dans les sables (grossiers et fins) de la modalité M0 est respectivement de 52 et 122 mg g^{-1}. Dans les sables grossiers, elle reste stable jusqu'à la fin de l'expérimentation alors que dans les sables fins, elle est stable jusqu'à t_{12} puis augmente de 25 mg g^{-1}. Dans la modalité M1, la teneur en CT dans les sables est similaire à celle de la modalité M0 à t_0 avec

51 et 125 mg g^{-1} pour les sables grossiers et les sables fins et reste stable jusqu'à la fin de l'expérimentation. En revanche, dans la modalité M10, la teneur en CT dans les sables à t_0 est supérieure à celle de M0 : dans les sables grossiers, elle augmente, mais de façon non significative, de 14 mg g^{-1} et dans les sables fins, elle augmente de 24 mg g^{-1}. La teneur en CT reste stable dans les sables grossiers, et diminue dans les sables fins jusqu'à être inférieure de 25 mg g^{-1} à M0 à t_{15}.

Les teneurs en CT à t_0 dans les limons de la modalité M0 sont de 59 et 92 mg g^{-1} respectivement pour les limons grossiers et les limons fins et restent stables autour de ces valeurs initiales tout au long de l'expérimentation. Les teneurs en CT dans les limons grossiers des modalités M1 et M10 sont respectivement de 62 et 60 mg g^{-1}, sont similaires à celle de la modalité M0 à t_0 et restent constantes pendant les 15 mois d'incubation. Dans les limons fins, les teneurs en CT sont similaires à celle de la modalité M0 à t_0 pour les deux modalités amendées. Elles sont respectivement de 90 et 90 mg g^{-1}. Pour M1, cette valeur reste stable jusqu'à t_{12} autour de la valeur initiale puis diminue de 6 mg g^{-1}. Pour M10, elle augmente à t_3 de 12 mg g^{-1} puis reste stable et enfin diminue à t_{15} pour revenir à la valeur initiale.

L'évolution de la teneur en CT dans la terre globale montre donc une incorporation du carbone au début de l'expérimentation, puis une dégradation rapide les six premiers mois d'incubation. L'étude des fractions granulodensimétriques montre que cette incorporation a lieu dans les sables au début de l'expérimentation. Après trois mois d'incubation, le carbone est stocké dans les limons fins. Cette incorporation dans les limons fins n'est pas visible à l'échelle de la terre globale en raison du faible pourcentage de cette fraction granulodensimétrique.

Tableau 15 : Teneur en carbone total (mg g^{-1}) dans chaque fraction granulodensimétrique et dans l'échantillon global des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 3)

Fractions	Mod	t_0	t_3	t_6	t_9	t_{12}	t_{15}
200-2000 (µm) - SG	**M0**	52 (bc)	64 (abc)	61 (abc)	62 (abc)	67 (ab)	53 (bc)
	M1	51 (c)	63 (abc)	55 (abc)	60 (abc)	58 (abc)	68 (a)
	M10	66 (ab)	59 (abc)	64 (abc)	59 (abc)	53 (abc)	55 (abc)
50-200 (µm) – SF	**M0**	122 (cd)	118 (cd)	123 (cd)	129 (bcd)	117 (cd)	142 (ab)
	M1	125 (cd)	124 (cd)	131 (abc)	130 (abcd)	119 (cd)	127 (bcd)
	M10	146 (a)	115 (d)	130 (abcd)	130 (abcd)	123 (cd)	117 (cd)
20-50 (µm) – LG	**M0**	59 (bc)	64 (abc)	55 (c)	56 (bc)	63 (abc)	62 (abc)
	M1	62 (abc)	64 (abc)	51 (c)	56 (bc)	59 (bc)	65 (abc)
	M10	60 (abc)	65 (abc)	60 (abc)	74 (ab)	78 (a)	54 (c)
2-20 (µm) - LF	**M0**	92 (bcd)	93 (bc)	93 (bc)	93 (bc)	94 (b)	95 (b)
	M1	90 (cd)	94 (bc)	95 (b)	94 (b)	96 (b)	84 (e)
	M10	90 (cd)	102 (a)	103 (a)	101 (a)	103 (a)	89 (d)
Terre globale	**M0**	66 (bcd)	67 (bcd)	74 (bc)	68 (bcd)	67 (bcd)	69 (bcd)
	M1	80 (ab)	74 (bc)	71 (bc)	73 (bc)	69 (bcd)	61 (cd)
	M10	92 (a)	76 (bc)	72 (bc)	69 (bcd)	66 (bcd)	53 (d)

1.2.3.2. Données isotopiques $\delta^{13}C$

Les valeurs de $\delta^{13}C$ pour les trois modalités sont données dans le Tableau 16. Les terres globales M0, M1 et M10 ont des valeurs croissantes de $\delta^{13}C$ à t_0 avec respectivement -23,41 ± 0,12 ‰, -23,36 ± 0,01 ‰, -22,41 ± 0,09 ‰. La signature $\delta^{13}C$ du maïs est de -12,15 ± 0,08 ‰. Les signatures des trois modalités sont représentatives d'une terre dominée par du carbone organique fossile tel que le charbon et ses sous-produits formés à partir d'une végétation de type C_3 (Boutton et al., 1998; Killops and Killops, 2005). La signature isotopique du maïs est similaire à celle reportée dans la littérature (Kristiansen et al., 2005; Tang et al., 2012).

L'enrichissement en ^{13}C des modalités M1 et M10, mis en évidence par des valeurs de $\delta^{13}C$ plus élevées par rapport à la valeur de la modalité M0, est dû à la présence de maïs, enrichi en ^{13}C. De même, l'enrichissement en ^{13}C de la modalité M10 par rapport à la modalité M1 est dû à la présence de maïs en quantité plus importante.

L'interprétation de ces valeurs de ^{13}C a été réalisée en utilisant le modèle de mélange à deux sources (chapitre II, § 2.5.2), avec le carbone organique fossile de la modalité M0 comme première source de carbone et le carbone apporté par le maïs comme seconde source. Ce modèle doit permettre d'identifier dans quelles fractions granulodensimétriques le maïs s'incorpore.

Tableau 16 : Valeurs de $\delta^{13}C$ (‰) des fractions granulodensimétriques et de la terre globale pour M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 3 – les nombres entre parenthèses correspondent aux écarts types)

Fractions	Mod	t_0	t_3	t_6	t_9	t_{12}	t_{15}
200-2000 (µm) SG	**M0**	-23,29 (0,11)	-23,45 (0,09)	-23,34 (0,07)	-23,58 (0,04)	-23,05 (0,11)	-23,26 (0,03)
	M1	-23,25 (0,04)	-23,41 (0,13)	-23,26 (0,11)	-23,70 (0,05)	-23,12 (0,07)	-23,39 (0,10)
	M10	-22,25 (0,08)	-22,85 (0,15)	-23,15 (0,14)	-23,25 (0,11)	-22,79 (0,12)	-23,21 (0,06)
50-200 (µm) SF	**M0**	-23,57 (0,06)	-23,41 (0,02)	-23,67 (0,05)	-23,54 (0,10)	-23,38 (0,10)	-23,52 (0,02)
	M1	-23,42 (0,09)	-23,45 (0,08)	-23,64 (0,08)	-23,64 (0,22)	-23,45 (0,05)	-23,45 (0,01)
	M10	-22,52 (0,03)	-23,07 (0,04)	-23,15 (0,10)	-23,22 (0,07)	-22,92 (0,10)	-23,09 (0,00)
20-50 (µm) LG	**M0**	-23,60 (0,18)	-23,52 (0,05)	-23,82 (0,06)	-23,52 (0,03)	-23,62 (0,09)	-23,56 (0,02)
	M1	-23,53 (0,16)	-23,42 (0,03)	-23,49 (0,06)	-23,40 (0,06)	-23,39 (0,03)	-23,55 (0,04)
	M10	-22,85 (0,09)	-22,73 (0,09)	-22,92 (0,23)	-23,01 (0,20)	-22,82 (0,12)	-22,89 (0,05)
2-20 (µm) LF	**M0**	-24,04 (0,17)	-23,97 (0,05)	-24,19 (0,27)	-24,19 (0,04)	-23,82 (0,12)	-24,02 (0,02)
	M1	-23,71 (0,28)	-23,71 (0,03)	-23,81 (0,05)	-24,01 (0,10)	-23,70 (0,11)	-23,78 (0,02)
	M10	-22,80 (0,03)	-22,53 (0,05)	-22,42 (0,35)	-22,66 (0,14)	-22,29 (0,03)	-22,55 (0,01)
Terre globale	**M0**	-23,41 (0,12)	-23,48 (0,18)	-23,83 (0,02)	-23,75 (0,02)	-23,25 (0,20)	-23,52 (0,05)
	M1	-23,36 (0,01)	-23,40 (0,05)	-23,55 (0,06)	-23,68 (0,12)	-23,10 (0,14)	-23,43 (0,06)
	M10	-22,41 (0,09)	-22,65 (0,11)	-23,08 (0,16)	-22,96 (0,14)	-22,54 (0,11)	-22,68 (0,13)

1.2.3.3. Modèle de mélange à deux sources

La quantité de maïs apportée pour la modalité M1 étant trop faible, le modèle de mélange ne permet pas de distinguer les deux sources. Seuls les résultats de la modalité M10 sont présentés dans ce paragraphe.

Les résultats du modèle de mélange à deux sources présentant l'évolution du carbone dérivant du maïs sont présentés Figure 58 et sous forme de tableau en Annexe 5-2 page 272 (Tableau 30).

Au début de l'expérimentation, dans l'échantillon de terre globale, le carbone dérivant du maïs représente 8,9 % du carbone total. Cette proportion reste statistiquement constante au

cours des 15 mois d'incubation avec seulement une légère tendance à la baisse. A t_0, le carbone frais est distribué dans toutes les fractions granulodensimétriques et représente environ 9 % du carbone total dans les sables, 6,5 % dans les limons grossiers et 10,4 % dans les limons fins. Le pourcentage de carbone dérivant du maïs dans l'échantillon de terre globale est similaire à celui des sables, ce qui est compatible avec la proportion des sables qui représentent 80 % en masse de l'échantillon.

Parmi les fractions granulodensimétriques, différentes évolutions sont observées : (i) dans les sables grossiers, le carbone dérivant du maïs diminue continuellement pendant les 15 mois d'incubation jusqu'à devenir presque nul, (ii) dans les sables fins, le carbone dérivant du maïs diminue fortement les trois premiers mois, jusqu'à représenter 3 % du CT, puis reste constant, (iii) dans les limons grossiers, le carbone dérivant du maïs reste constant et (iv) dans les limons fins, le carbone dérivant du maïs montre une tendance à l'accumulation au cours des six premiers mois puis reste constant jusqu'à la fin de l'expérimentation. A la fin de l'expérimentation, les limons fins contiennent la plus forte proportion de carbone dérivant du maïs (12,4 % du CT).

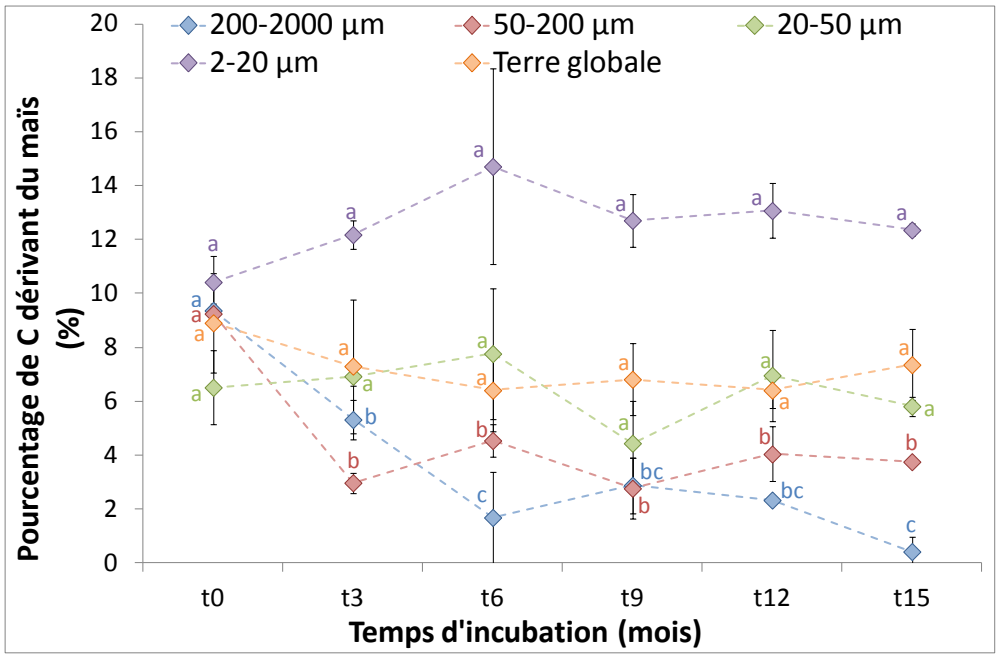

Figure 58 : Évolution du carbone dérivant du maïs au sein des fractions granulodensimétriques et de l'échantillon de terre globale de la modalité M10 (n = 3)

1.3. Impact sur la pollution

1.3.1. Impact sur la matière organique extractible (MOE)

La modalité M1 ne se distinguant pas suffisamment de la modalité M0 en raison d'un trop faible apport en maïs, aucune extraction de MO n'a été effectuée au-delà de neuf mois d'incubation.

Les teneurs en MOE des échantillons de terre globale et des fractions granulodensimétriques des trois modalités sont présentées Figure 59. Les teneurs en MOE sont également données sous forme de tableau en Annexe 5-3 page 273 (Tableau 31 – les résultats des tests statistiques sont donnés avec le tableau).

A t_0, la concentration en matière organique extractible au solvant (MOE) est similaire dans les trois modalités de terre globale avec 10,44 mg g^{-1} pour M0, 9,91 mg g^{-1} pour M1 et 10,27 mg g^{-1} pour M10, représentant environ 13 % du carbone total. Les trois modalités de terre globale présentent la même évolution. Leur teneur en MOE décroit faiblement mais en conservant des valeurs similaires entre elles : à t_{15}, la teneur en MOE des modalités M0 et M10 est de 8,95 mg g^{-1}. Ces deux modalités ont donc perdu 1,35 mg g^{-1} de MOE représentant une diminution de 13 %.

Deux évolutions sont observées dans les fractions granulodensimétriques. La teneur en MOE dans les sables reste constante, excepté dans les sables grossiers des modalités M0 et M1 qui présentent une tendance à la diminution, respectivement de 1 et 1,20 mg g^{-1}. En revanche, la teneur en MOE évolue significativement dans les limons et particulièrement dans les limons fins. Dans les limons grossiers de la modalité M0, elle présente une diminution de 2,1 mg g^{-1}, et elle reste constante dans ceux des modalités M1 et M10. Dans les limons fins, elle présente une diminution dans les trois modalités, respectivement de 3 mg g^{-1} pour M0, 5,6 mg g^{-1} pour M1 et 7,1 mg g^{-1} pour M10 entre le début et la fin de l'expérimentation. Cette diminution est plus marquée les trois premiers mois d'incubation pour les modalités M1 et M10.

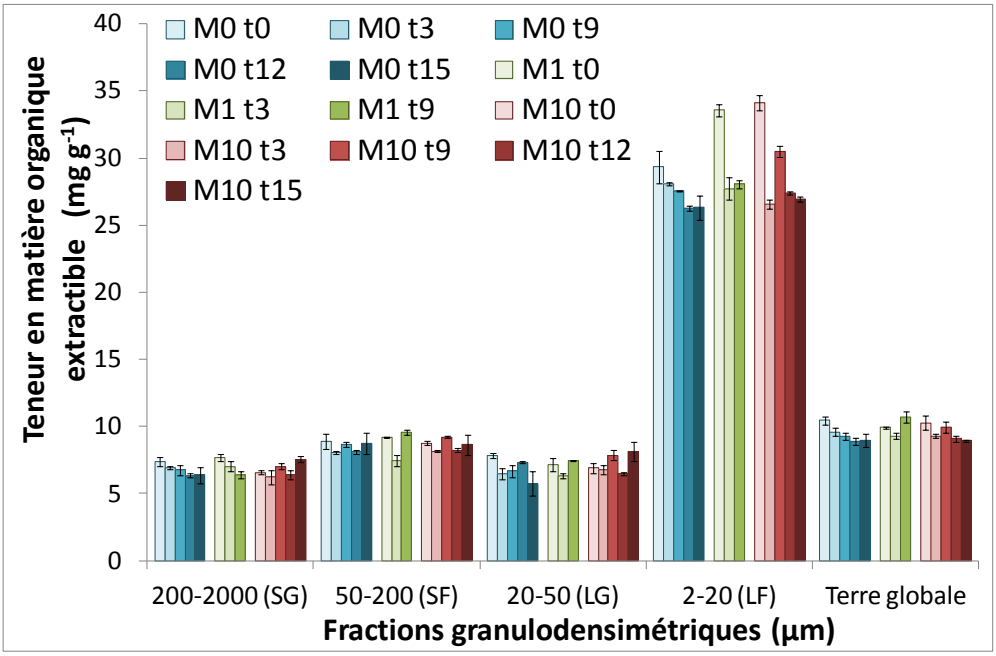

Figure 59 : Concentration en matière organique extractible dans les trois modalités de terre globale ainsi que dans leurs fractions granulodensimétriques au cours des 15 mois d'incubation (n = 3)

1.3.2. Impact sur les HAP totaux

1.3.2.1. Concentration des HAP totaux

Les concentrations des 16 HAP réglementaires (liste US-EPA) dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques sont données Figure 60. Les concentrations en HAP totaux sont également présentées sous forme de tableau en Annexe 5-4 page 274 (Tableau 32).

A t_0, la concentration en HAP totaux dans les échantillons de terre globale des trois modalités est similaire avec 1163, 1148 et 1144 µg g^{-1} pour M0, M1 et M10 représentant 11,5 % de la concentration en matière organique extractible. Dans la modalité M0, cette concentration en HAP totaux diminue à t_3 jusque 1033 µg g^{-1} puis reste constante jusqu'à la fin de l'expérimentation. Dans les modalités amendées, cette diminution intervient seulement à t_9, respectivement jusque 1021 et 1038 µg g^{-1} pour M1 et M10, puis la concentration en HAP totaux reste constante jusqu'à t_{15} pour M10. Dans les trois modalités, une diminution d'environ 10 % est donc observée au cours des 15 mois d'incubation.

Dans les fractions granulodensimétriques, à t_0, les concentrations en HAP totaux des trois modalités sont différentes, mettant en évidence l'hétérogénéité de l'échantillon. Dans les

sables grossiers et les limons grossiers des modalités M0 et M1, les concentrations en HAP totaux présentent une tendance à la diminution alors que dans la modalité M10, elle reste constante. Dans les sables fins, la concentration en HAP totaux est constante jusqu'à t_{12} puis augmente de 200 µg g^{-1}. Dans les limons fins des trois modalités, la concentration en HAP totaux montre une tendance à augmenter continuellement pendant les 15 mois d'incubation.

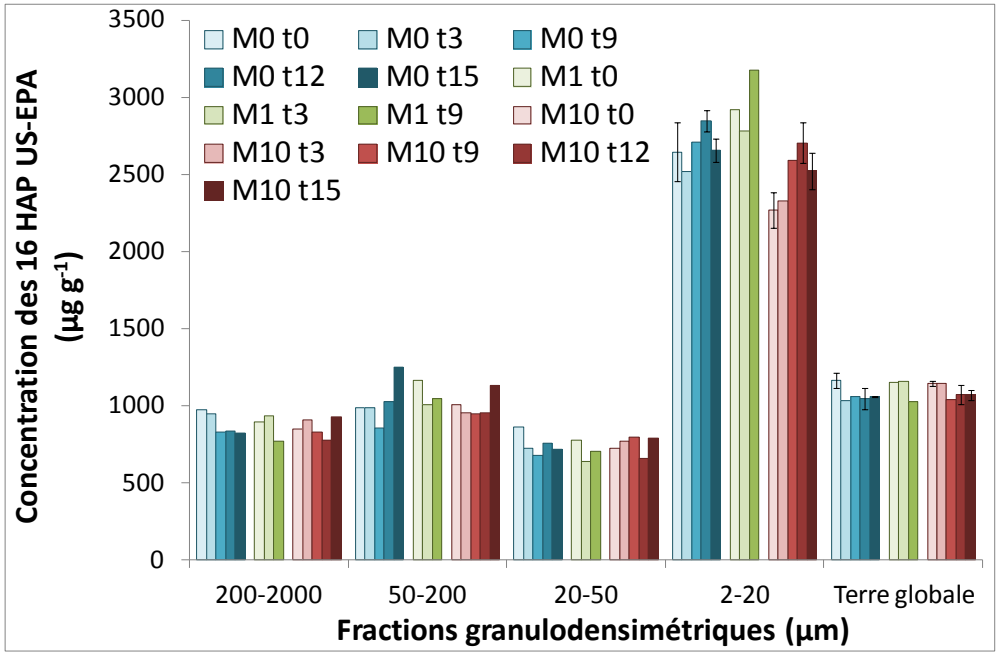

Figure 60 : Évolution des concentrations en HAP totaux des échantillons de terre globale et des fractions granulodensimétriques des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation

1.3.2.2. Distribution des 16 HAP

A t_0, la distribution des HAP classés selon le nombre de cycles aromatiques qui les composent dans la terre globale est similaire pour les trois modalités : elle est centrée sur les HAP contenant 4 cycles aromatiques (Figure 61). Ils représentent en effet 40 % des HAP totaux. Les autres classes de HAP, contenant 2-, 3-, 5- et 6 cycles représentent respectivement 10, 25, 20 et 5 %.

Au cours du temps, cette distribution reste constante pour les trois modalités. Seule une diminution d'environ 5 % est observée pour les HAP composés de 3 cycles à t_9 pour les trois modalités. Plus en détails, cette diminution des HAP à 3 cycles correspond à une diminution du phénanthrène et du fluoranthène (Tableau 33 Annexe 5-5 page 275).

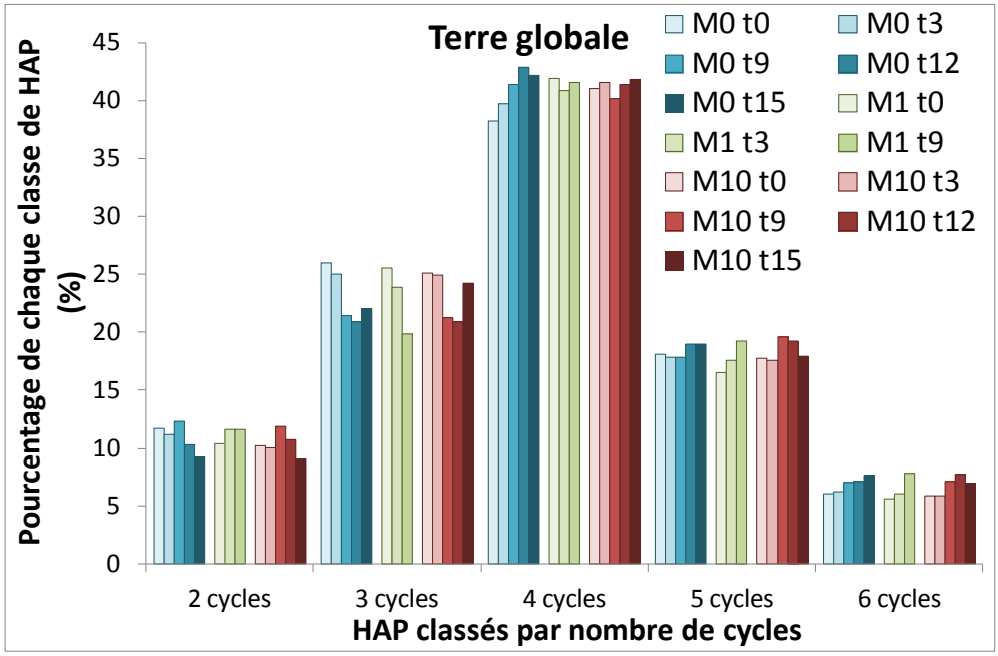

Figure 61 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les trois modalités globales au cours des 15 mois d'incubation

La distribution des HAP dans les fractions granulodensimétriques des trois modalités est similaire à celle observée dans les échantillons de terre globale (Figures 63, 64, 65 et 66). Elle est également centrée sur les HAP composés de 4 cycles aromatiques qui représentent 40 % des HAP totaux.

Les mêmes diminutions à t_9 des HAP à 3 cycles et particulièrement du phénanthrène et du fluoranthène sont observées dans les sables grossiers, sables fins et limons grossiers (Figures 62, 63 et 64 et Tableaux 34 à 36 Annexe 5-5 pages 276 à 278). En revanche, les limons fins ne présentent pas de diminution d'une classe de composés en particulier (Figure 65), aucune variation des distributions n'est observée. Du point de vue de la distribution des HAP individuels, une diminution de la proportion du phénanthrène est observée à t_9 (Tableau 37 Annexe 5-5 page 279), mais elle est compensée par une augmentation de celle du fluoranthène n'amenant aucune variation au niveau de la distribution en fonction du nombre de cycles.

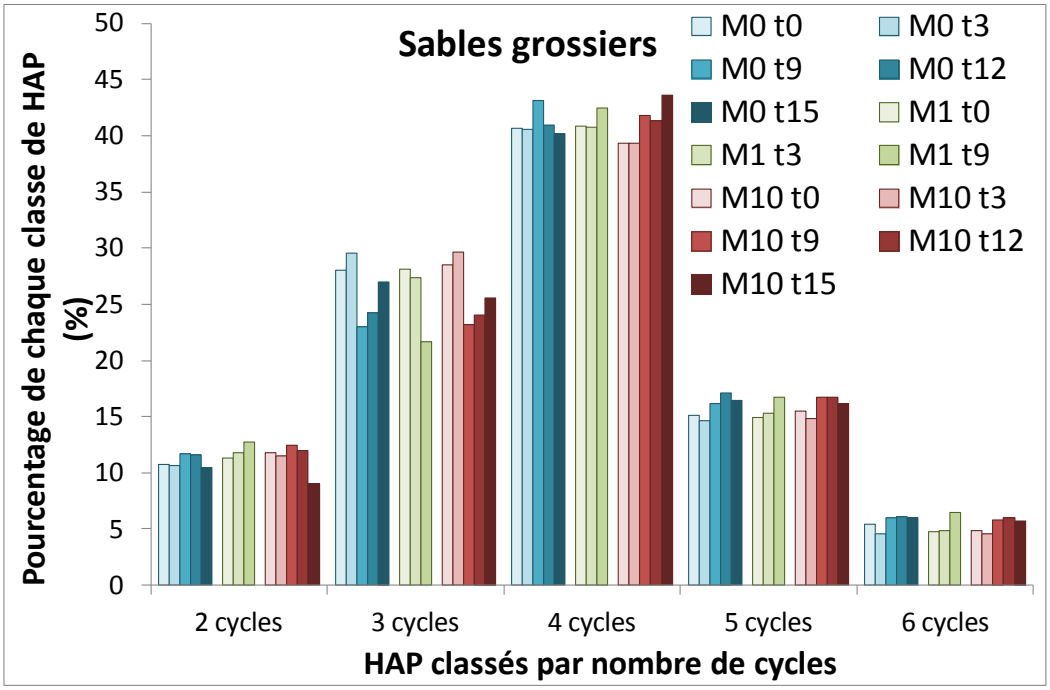

Figure 62 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les sables grossiers des trois modalités au cours des 15 mois d'incubation

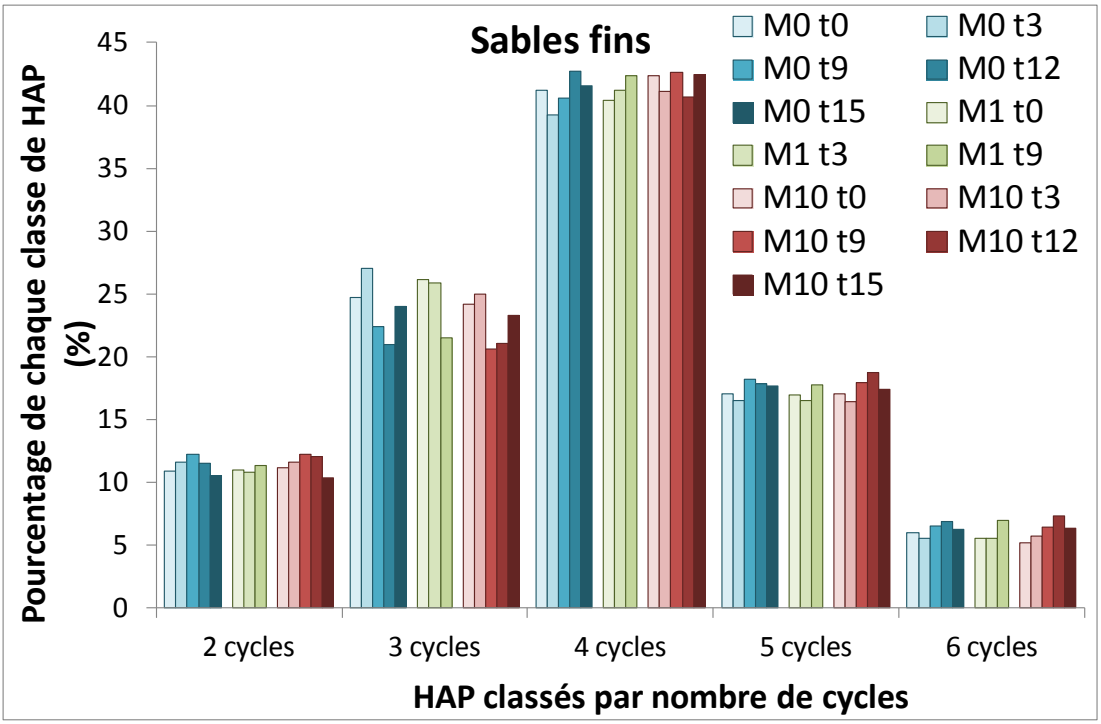

Figure 63 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les sables fins des trois modalités au cours des 15 mois d'incubation

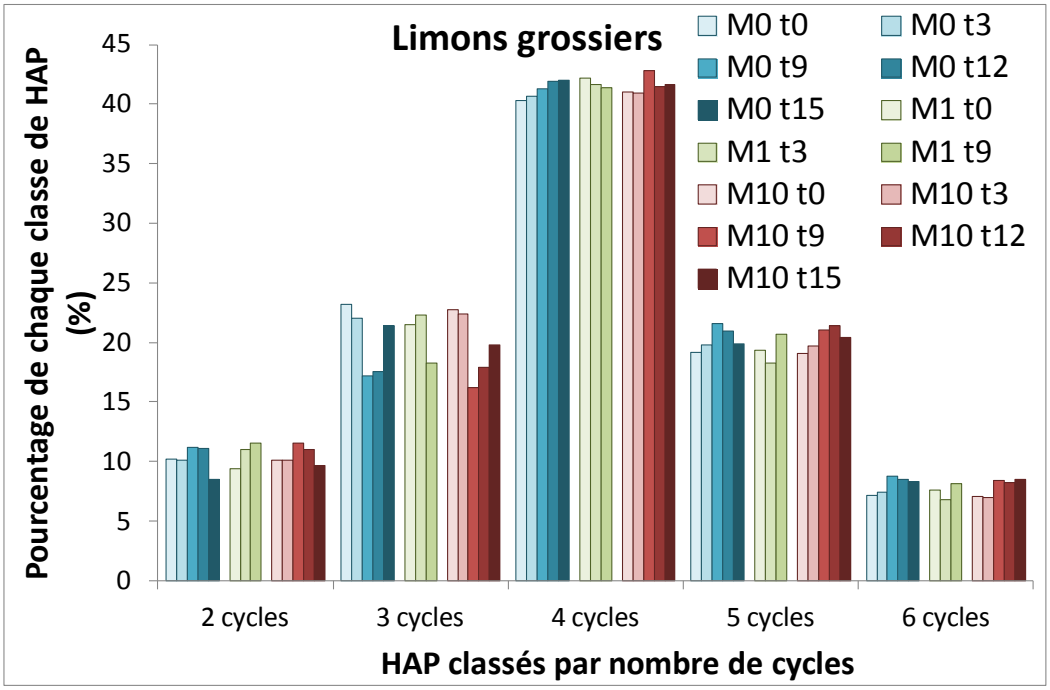

Figure 64 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les limons grossiers des trois modalités au cours des 15 mois d'incubation

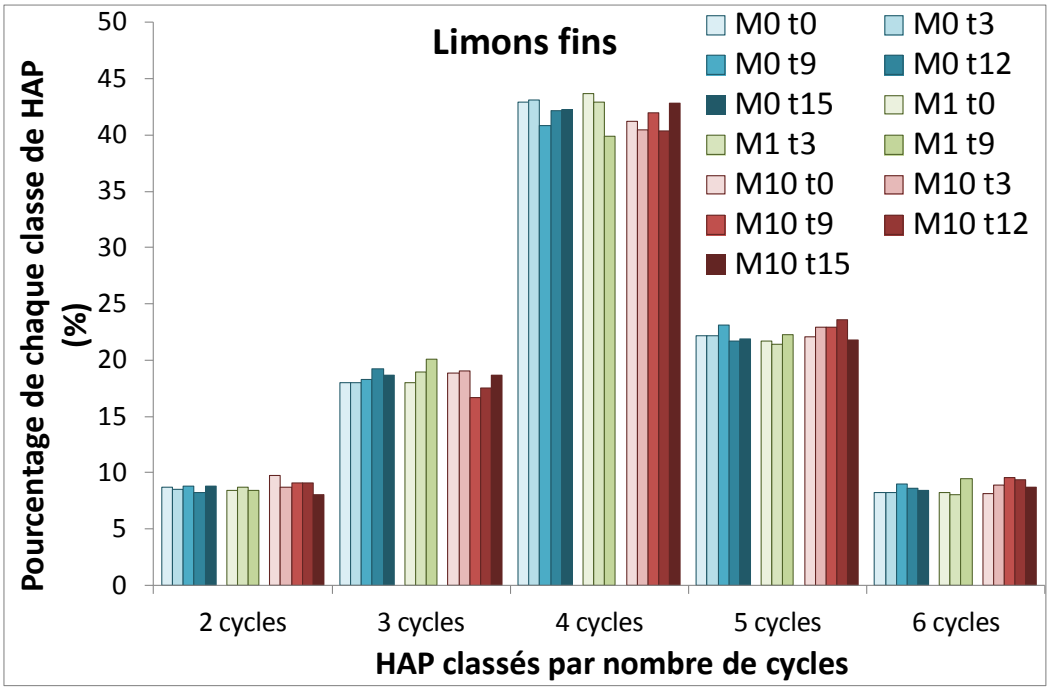

Figure 65 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les limons fins des trois modalités au cours des 15 mois d'incubation

1.3.3. Impact sur les HAP disponibles

Étant donné le peu d'évolution des HAP totaux dans la modalité M1, la quantification des HAP disponibles a été arrêtée à t_3. Son évolution au cours du temps n'est donc pas présentée.

Les pourcentages de HAP disponibles par rapport aux HAP totaux sont donnés Figure 66. Ces pourcentages sont également donnés sous forme de tableau en Annexe 5-6 page 280 (Tableau 38 – les résultats des tests statistiques sont donnés avec le tableau).

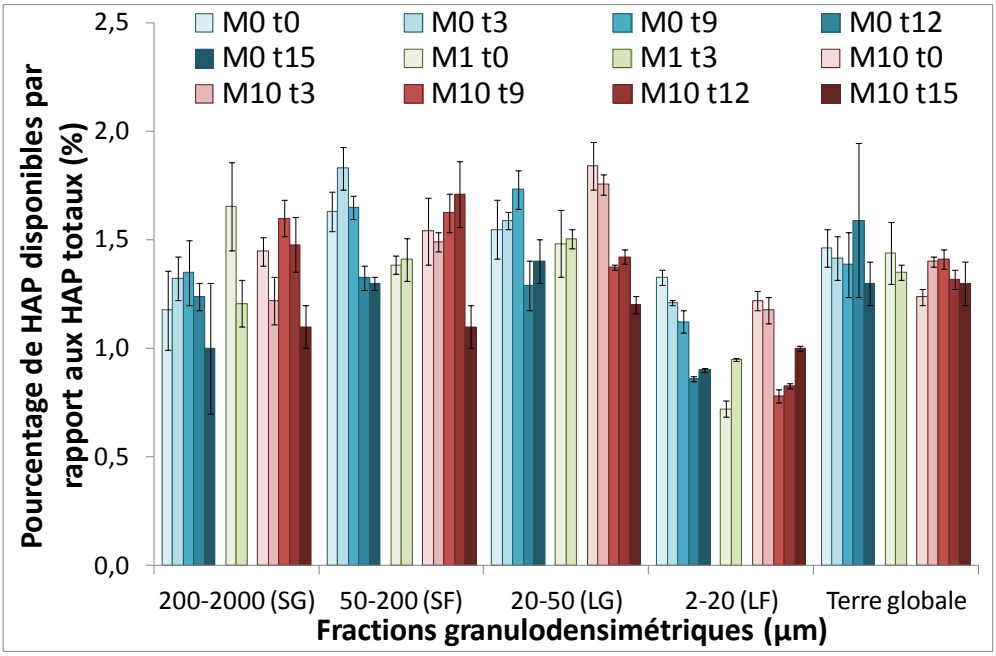

Figure 66 : Évolution du pourcentage de HAP disponibles dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques au cours des 15 mois d'incubations pour les modalités M0, M1 et M10 (n = 3)

La disponibilité des HAP dans les échantillons de terre globale à t_0, exprimée en pourcentage de HAP disponibles par rapport à la concentration totale de HAP, est très faible et est similaire pour les trois modalités. Elle est respectivement de 1,5 %, 1,4 % et 1,2 % pour M0, M1 et M10. Au cours des 15 mois d'incubation, cette disponibilité reste constante dans les modalités M0 et M10.

Les fractions granulodensimétriques présentent des pourcentages de HAP disponibles à t_0 aussi faibles que ceux des échantillons de terre globale. Dans les sables grossiers, le pourcentage de HAP disponibles est de 1,2 % pour M0, 1,7 % pour M1 et 1,4 % pour M10. Dans les sables fins, il est de 1,6 % pour M0, 1,4 % pour M1 et 1,5 % pour M10. Dans les

limons grossiers, il est de 1,5 % pour M0, 1,5 % pour M1 et 1,8 % pour M10. Enfin, les limons fins présentent les plus faibles pourcentages de disponibilité avec 1,3 pour M0, 0,7 % pour M1 et 1,2 % pour M10.

Par rapport aux échantillons de terre globale, les pourcentages de HAP disponibles dans les fractions granulodensimétriques évoluent légèrement au cours des 15 mois d'incubation : toutes les fractions des trois modalités présentent une légère diminution du pourcentage de HAP disponibles, mais à des temps différents. Dans les sables grossiers, la disponibilité des HAP diminue à t_{15} (0,2 point pour M0 et 0,4 point pour M10), mais non significativement du fait de l'hétérogénéité des échantillons. Dans les sables fins, la disponibilité des HAP diminue à t_{12} pour M0 (0,3 point) et à t_{15} pour M10 (0,6 point) (statistiquement non significatif pour M0 du fait de l'hétérogénéité des échantillons). Dans les limons (grossiers et fins), la disponibilité des HAP diminue trois mois plus tôt pour la modalité M10 par rapport à la modalité M0 : respectivement à t_9 et t_{12}. Cette diminution est respectivement de 0,4 point dans les limons grossiers et dans les limons fins des deux modalités M0 et M10. De plus, ces évolutions de la disponibilité des HAP ont également lieu à des temps différents entre les fractions de la modalité M10. En effet, la disponibilité des HAP diminue six mois plus tôt dans les limons par rapport aux sables : respectivement t_9 et t_{15}.

Les pourcentages de HAP disponibles ont également été calculés pour chaque classe de HAP (classés par nombre de cycles aromatiques). Dans les échantillons de terre globale (Figure 68) les trois modalités présentent la même répartition des HAP disponibles à t_0 : les HAP comprenant 4 cycles aromatiques sont les plus disponibles et les HAP en comprenant 6 sont les moins disponibles. Aucune tendance particulière n'est observée au cours des 15 mois d'incubation, en accord avec l'évolution de la somme des 16 HAP disponibles (Figure 67).

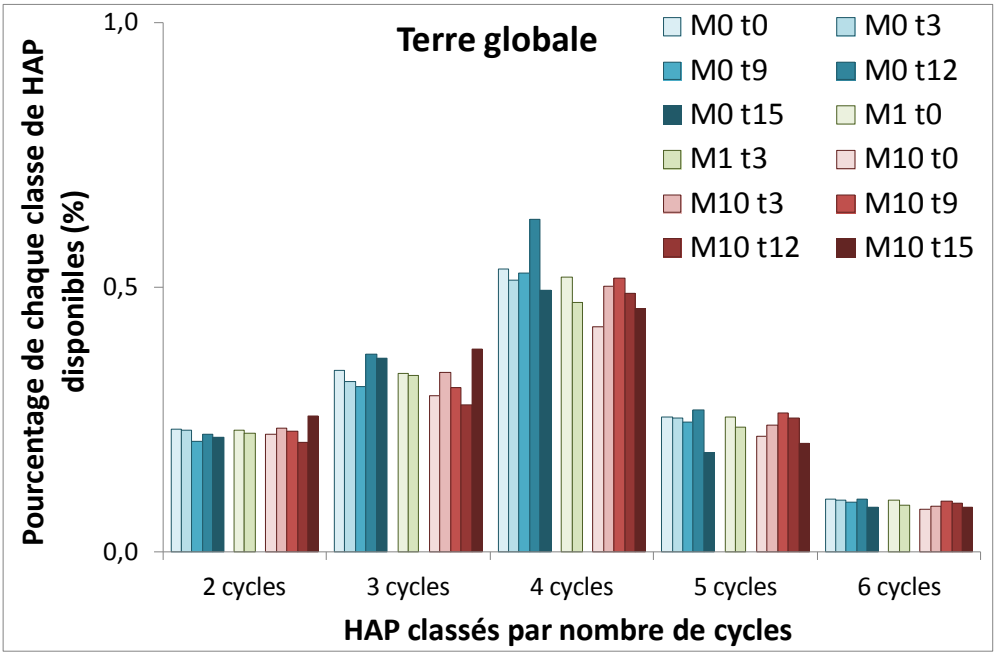

Figure 67 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les échantillons de terre globale des modalités M0, M1 et M10

Dans toutes les fractions granulodensimétriques, les HAP composés de 4 cycles aromatiques sont les plus disponibles (Figures 68, 69, 70 et 71). Au cours de l'incubation, toutes les classes de HAP diminuent. Cependant, les HAP composés de 4 cycles présentent une plus forte diminution (Figures 106 et 107 Annexe 5-8 page 282). De plus, le décalage dans le temps observé avec la somme des 16 HAP pour les fractions SF, LG et LF (Figure 66) est également observable pour chaque classe de HAP (Figures 69, 70 et 71). Dans les sables, la disponibilité des HAP diminue respectivement à t_{12} et à t_{15} pour les modalités M0 et M10 et dans les limons, elle diminue respectivement à t_{12} et à t_9.

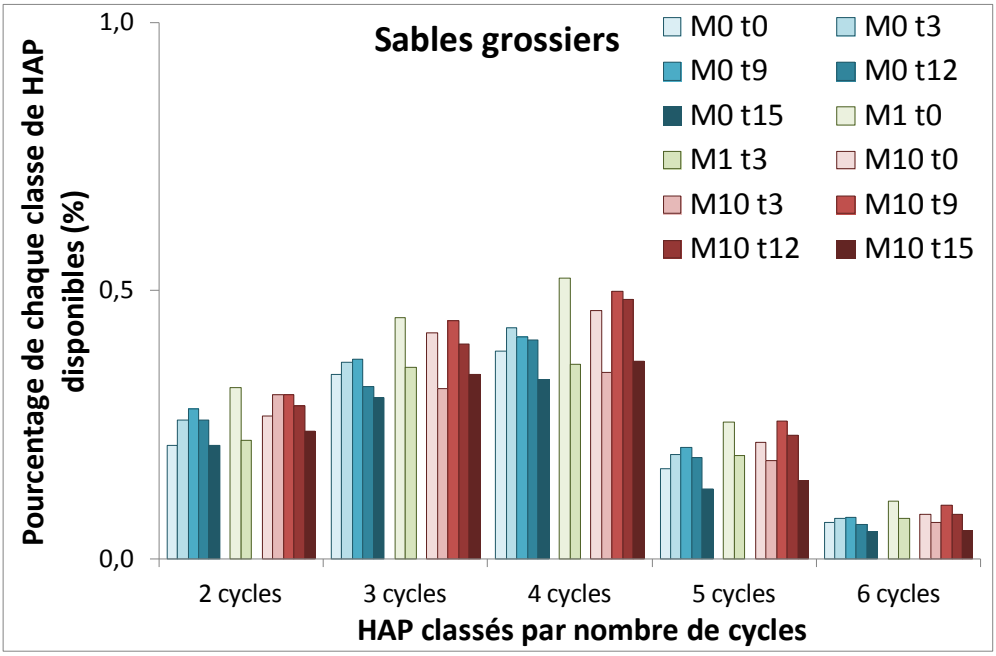

Figure 68 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les sables grossiers des modalités M0, M1 et M10

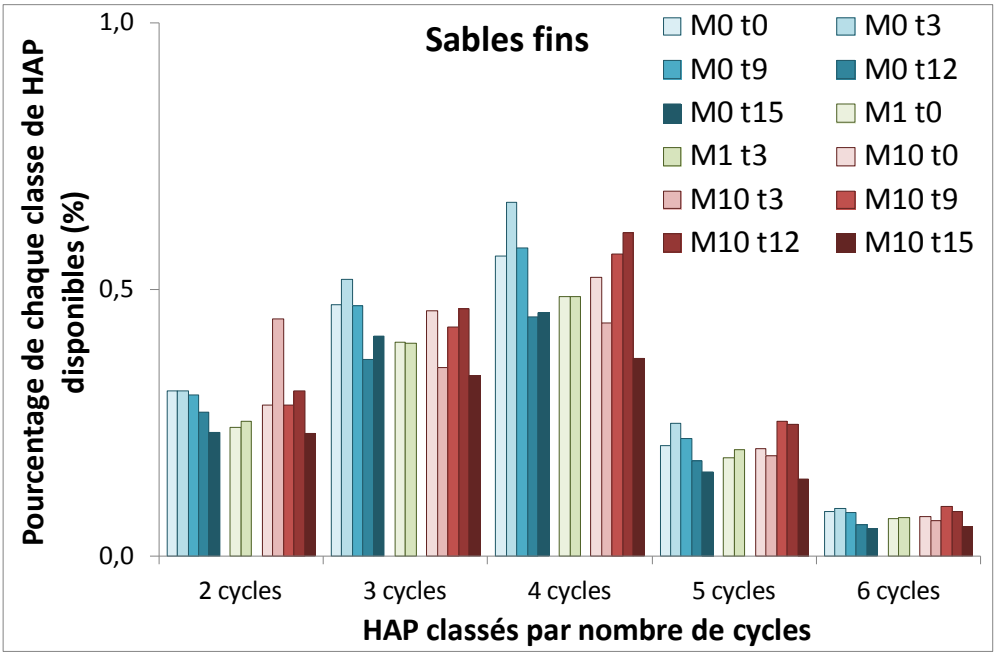

Figure 69 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les sables fins des modalités M0, M1 et M10

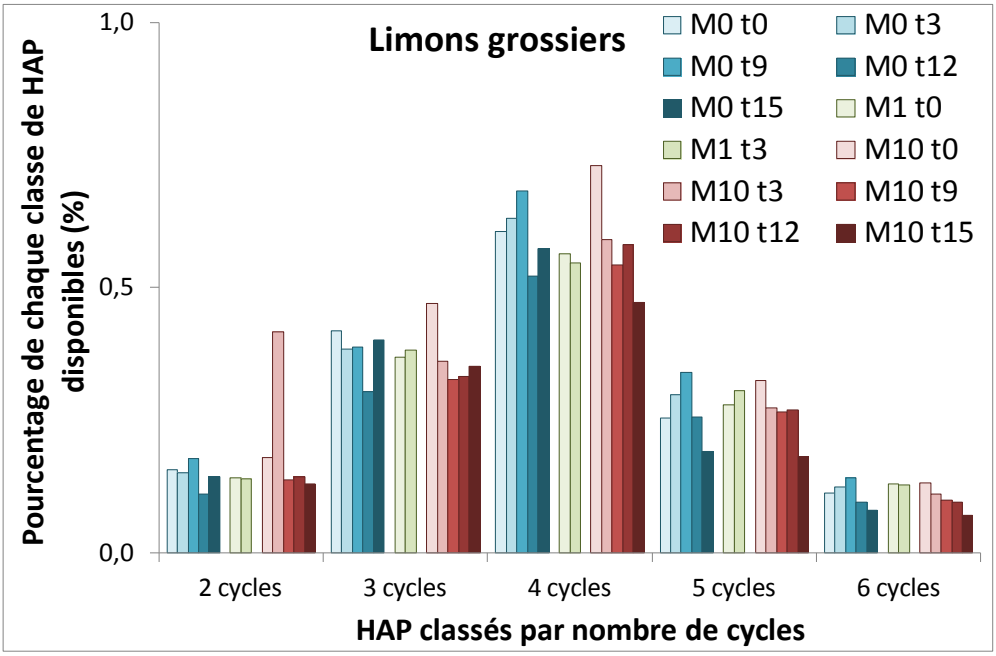

Figure 70 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les limons grossiers des modalités M0, M1 et M10

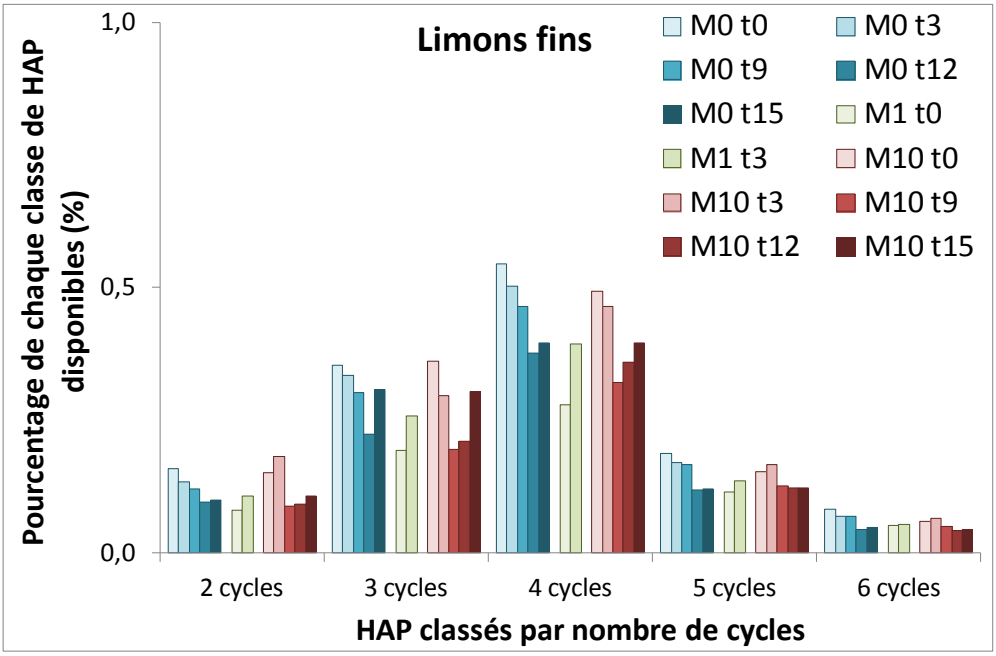

Figure 71 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les limons fins des modalités M0, M1 et M10

2. Étude à l'échelle lysimétrique

L'objectif de cette étude à l'échelle lysimétrique est de confronter les résultats obtenus en laboratoire en conditions contrôlées avec une expérimentation *in situ* en conditions climatiques réelles. Cette confrontation doit notamment permettre de déterminer l'impact d'une culture, et non plus seulement du carbone apporté par les parties aériennes de la plante, sur la structure de la terre et sur la pollution en termes de concentration, répartition et disponibilité. Pour cela, les dispositifs lysimétriques installés sur la plateforme expérimentale du GISFI à Homécourt (Meurthe et Moselle, France) ont été utilisés. Ces dispositifs sont décrits dans le paragraphe suivant. Le protocole de fractionnement granulodensimétrique (chapitre II, § 2.2.1) a été appliqué sur les échantillons prélevés sur les parcelles lysimétriques. L'activité du carbone 14 (chapitre II, § 2.5.3) a été mesurée dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques afin de suivre le carbone récent, de le distinguer du carbone fossile présent dans la terre et de déterminer dans quelles fractions granulodensimétriques il s'est incorporé. La MOE a été extraite (chapitre II, § 2.6.1) et les HAP totaux et disponibles ont été quantifiés (chapitre II, § 2.8.1 et § 2.7). Les résultats obtenus sur les échantillons des parcelles lysimétriques sont comparés à ceux obtenus avec l'expérimentation d'incubation de résidus végétaux (chapitre V-1). La Figure 72 résume les différentes méthodes et analyses utilisées au cours de cette seconde partie.

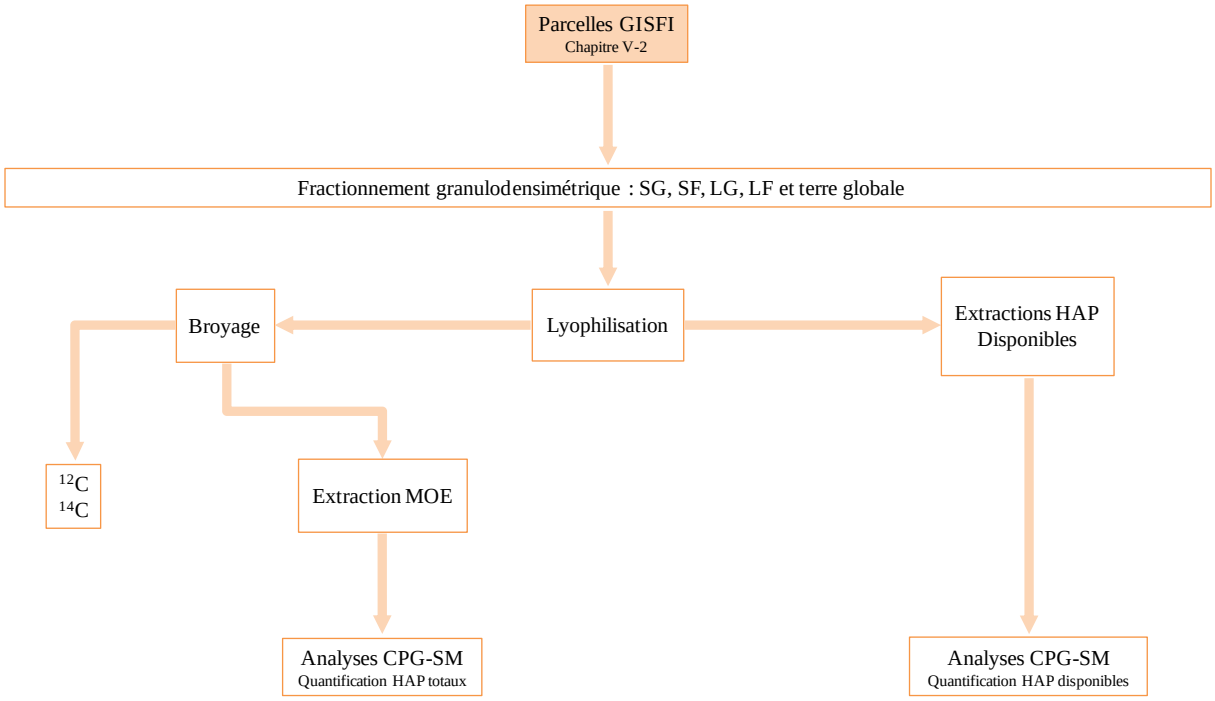

Figure 72 : Organigramme des méthodes et analyses utilisées tout au long de la partie 2 du chapitre V

2.1. Parcelles lysimétriques du site expérimental du GISFI

Dans le cadre du GISFI (Groupement d'Intérêt Scientifique sur les Friches Industrielles), un dispositif de parcelles lysimétriques a été mis en place en juin 2005 sur le site de l'ancienne cokerie d'Homécourt (Figure 73).

Figure 73 : Installation des parcelles lysimétriques sur le site expérimental du GISFI

Ce dispositif est constitué de 24 parcelles en inox de 6 m² et de 70 cm de profondeur. Chaque parcelle est remplie avec de la terre NM. Six traitements correspondant à six pratiques de gestion de la terre ont été répartis de façon aléatoire sur les parcelles (Figure 74) :

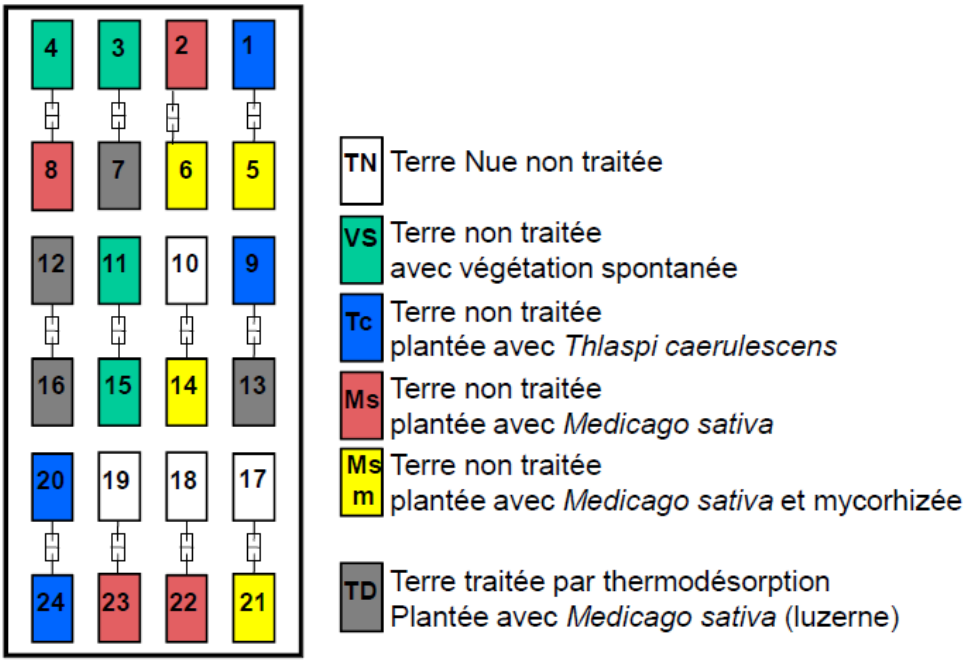

Figure 74 : Plan du dispositif expérimental des parcelles lysimétriques

Seules deux des six modalités sont retenues dans le cadre de ce travail pour la comparaison avec les résultats d'incubation de maïs en laboratoire : terre nue (TN) et terre plantée avec de la luzerne (*Medicago sativa*) et mycorhizée (MSm) (Figure 75).

Figure 75 : Photographie de 2 parcelles lysimétriques : a) modalité terre nue et b) modalité terre plantée avec Medicago sativa mycorhizée

Ces parcelles ont fait l'objet d'un suivi régulier dans le cadre d'un projet EC2CO (ECODYN – 2005-2007) et d'un projet de l'agence nationale de la recherche (MULTIPOLSITE – 2008-2012) : prélèvements de terre tous les six mois, à l'automne et au printemps, pendant 6 ans. Le prélèvement à l'automne 2005 correspond à la mise en place des parcelles lysimétriques et est noté T0, celui de l'automne 2011 correspond à la fin de l'expérimentation, soit à 6 ans d'expérimentation et est noté T12. Les temps de prélèvements intermédiaires sont notés de T1 à T11 et correspondent à des intervalles de temps de 6 mois. La correspondance entre la numérotation des temps de prélèvements et les dates est donnée en Annexe 6-1 Tableau 39 page 285. Seul le prélèvement à T12 a été effectué dans le cadre de cette thèse. Les autres données ont été obtenues par Stéphanie OUVRARD et Pierre FAURE et réutilisées dans ce mémoire afin de réaliser une comparaison avec l'expérimentation en laboratoire.

Afin de tenir compte des cinétiques différentes entre les deux types de dispositifs et de comparer des résultats obtenus pour des durées équivalentes analogues, la cinétique de dégradation de la MO dans les conditions de terrain a été modélisée avec RothC. Ce modèle permet d'estimer la vitesse de dégradation de la MO du sol et de déterminer sous quel état la MO dégradée se retrouve à un temps donné après son entrée dans le sol. Cinq états sont distingués : MO végétale dégradable, MO végétale récalcitrante, biomasse microbienne, MO

humifiée et MO inerte. Les paramètres à renseigner dans le modèle sont les conditions de température, d'humidité et la teneur en argile. Une augmentation de température conduit à une accélération des processus de décomposition de la MO, ainsi le modèle indique que 15 mois d'incubation à 20°C correspondent à 6 ans de culture *in situ*, à une température moyenne de 10°C. En conséquence, la modalité TN prélevée à l'automne 2011 sera comparée avec la modalité M0 t_{15} de l'expérimentation d'incubation et la modalité MSm prélevée à l'automne 2011 sera comparée avec la modalité M10 t_{15} de l'expérimentation d'incubation. De plus, le suivi de la structure des modalités *in situ* ainsi que l'évolution de la pollution au cours des 6 années d'expérimentation seront comparées aux 15 mois d'incubation.

2.2. ^{14}C

Les résultats des mesures de l'activité du ^{14}C sont exprimés en pourcentage de carbone moderne (pMC) et sont présentés Tableau 17.

Le pMC de l'échantillon de terre globale de la modalité TN, 6 ans après la mise en place des parcelles lysimétriques à la station expérimentale du GISFI (Tableau 17), est similaire à celui de la terre globale n'ayant pas vieilli 6 ans en parcelles (chapitre III). Le vieillissement en conditions naturelles de la terre NM n'a donc pas modifié le pourcentage de carbone récent de la terre. Le pMC des sables grossiers est proche de celui de l'échantillon de terre globale : il est seulement plus important d'1,2 points. Le pMC des autres fractions granulodensimétriques, SF, LG et LF est plus important : il augmente respectivement de 7,1 points, 5,6 points et 11,9 points.

Le pMC de l'échantillon de terre globale de la modalité MSm après 6 ans de culture de luzerne est deux fois plus important que le pMC de l'échantillon de terre globale de la modalité TN (Tableau 17). Cette augmentation du pourcentage de carbone moderne témoigne de la présence d'une culture, apportant du carbone frais par les racines et les parties aériennes. A nouveau, le pMC des sables grossiers est proche de celui de l'échantillon de terre globale avec seulement un point d'augmentation. Le pMC des SF et des LG est également proche de celui de l'échantillon de terre globale avec 1,7 points d'augmentation pour les SF et 0,9 point de diminution pour les LG. Ces pMC sont également très proches de ceux de la modalité TN : pour les SF, le pMC de la modalité MSm est plus élevé d'1 point et pour les LG, les deux

modalités présentent un pMC identique. Le pMC des limons fins est le plus important. Il est supérieur de 21 points par rapport à celui de l'échantillon de terre globale.

Tableau 17 : Pourcentage de carbone moderne (%) dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN et MSm après 6 ans de culture

	pMC (%)	
Fractions	**TN**	**MSm**
200-2000 µm (SG)	6,87	13,11
50-200 µm (SF)	12,74	13,82
20-50 µm (LG)	11,28	11,24
2-20 µm (LF)	17,53	33,44
Terre globale	5,66	12,14

2.3. Évolution de la structure

Les structures des modalités TN et MSm des parcelles lysimétriques et leurs évolutions au cours du temps sont présentées Figure 76. Ces mêmes données sont représentées sous forme de tableau en Annexe 6-2 page 286 (Tableau 40 – les résultats des tests statistiques sont donnés avec le tableau).

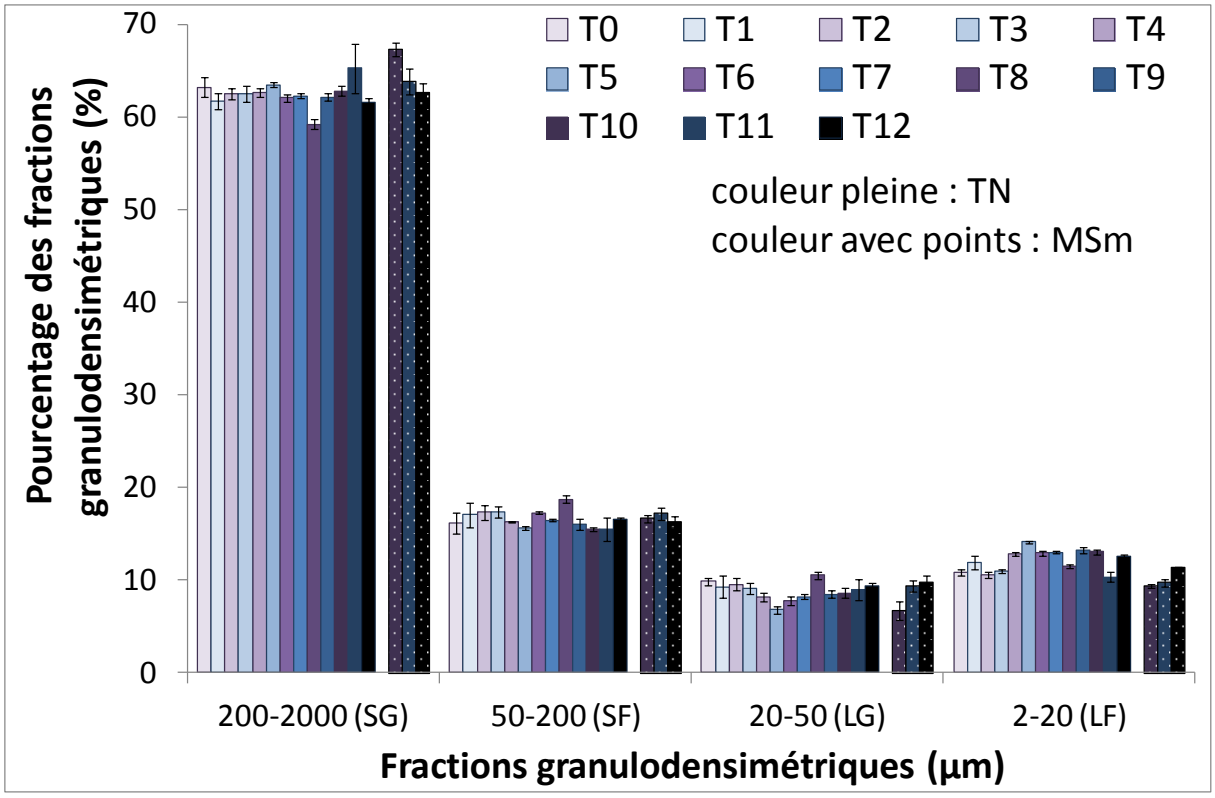

Figure 76 : Évolution des proportions des fractions granulodensimétriques des modalités TN et MSm des parcelles lysimétriques de l'automne 2005 à l'automne 2011 (n = 6)

Seule l'évolution au cours du temps de la modalité TN peut être étudiée. En effet, l'absence d'analyses sur la modalité MSm de l'automne 2005 (T0) au printemps 2010 (T10) ne permet pas de mettre en évidence une quelconque évolution au cours des 6 années d'expérimentation.

A la mise en place des parcelles lysimétriques à l'automne 2005 (T0), la structure de la modalité TN est dominée par les sables grossiers qui représentent 63,2 %. Les autres fractions représentent seulement 16,1 %, 9,9 % et 10,8 % respectivement pour les sables fins, limons grossiers et limons fins.

D'une manière générale, la structure de la modalité TN présente peu d'évolution. La proportion des sables grossiers reste stable autour de la valeur initiale puis diminue de 4 points (59,2 %) à l'automne 2009 (T8) et augmente à nouveau jusqu'à la valeur initiale et y reste stable jusqu'à la fin de l'expérimentation. La proportion des sables fins suit la même évolution : elle est constante autour de la valeur initiale jusqu'à l'automne 2009 (T8), où inversement, elle augmente de 2,7 points (18,8 %) puis diminue à nouveau jusqu'à la valeur initiale et reste constante. Dans les limons (grossiers et fins), les évolutions sont plus marquées et sont visibles plus longtemps. En effet, les proportions des limons grossiers et fins sont stables autour de la valeur initiale jusqu'à l'automne 2007 (T4) puis, la proportion des limons grossiers diminue jusqu'au printemps 2009 (T7) avec un minimum au printemps 2008 (T5) (diminution de 3,1 points – 6,8 %) et à l'inverse, la proportion des limons fins augmente jusqu'à l'automne 2009 (T8) avec un maximum au printemps 2008 (T5) (augmentation de 3,3 points – 14,1 %). Les limons grossiers restent ensuite stables autour de la valeur initiale jusqu'à la fin de l'expérimentation alors que la proportion des limons fins augmente à nouveau au printemps 2010 (T9), à l'automne 2010 (T10) et à l'automne 2011 (T12).

Le suivi de la structure de la modalité MSm de l'automne 2010 (T10) à l'automne 2011 (T12) met en évidence une diminution de la proportion des sables grossiers de 4,6 points, une stabilité de la proportion des sables fins et une augmentation de la proportion des limons respectivement de 3,1 points et 1,9 points pour les limons grossiers et les limons fins.

L'évolution des structures des modalités TN et MSm des parcelles lysimétriques est respectivement comparée avec les modalités M0 et M10 issues des expériences d'incubation de résidus de maïs dans la terre présentées dans la première partie de ce chapitre (respectivement Figures 77 et 58 - § 3.1.2). A la mise en place des parcelles lysimétriques, la structure de la modalité TN est similaire à celles des modalités M0 et M10. En effet, les proportions de chaque fraction granulodensimétrique de chacune de ces modalités sont du

même ordre de grandeur. Les écarts observés entre la structure des modalités des parcelles lysimétriques et les modalités de l'expérimentation d'incubation au niveau des limons peuvent être dus à la différence de lot de terre utilisé. L'évolution de la structure de la modalité TN est également en accord avec celle de la modalité M0 : les deux restent quasiment stables tout au long de leur expérimentation respective. L'absence de données entre 2005 et 2010 pour la modalité MSm ne permet pas de comparer son évolution avec celle de la modalité M10.

2.4. Impact de la culture sur la pollution

2.4.1. Matière organique extractible

La teneur en MOE des échantillons de terre globale des modalités TN et MSm de l'automne 2005 (T0) à l'automne 2011 (T12) sont présentées Figure 77 et sous forme de tableau en Annexe 6-3 page 287 (Tableau 41).

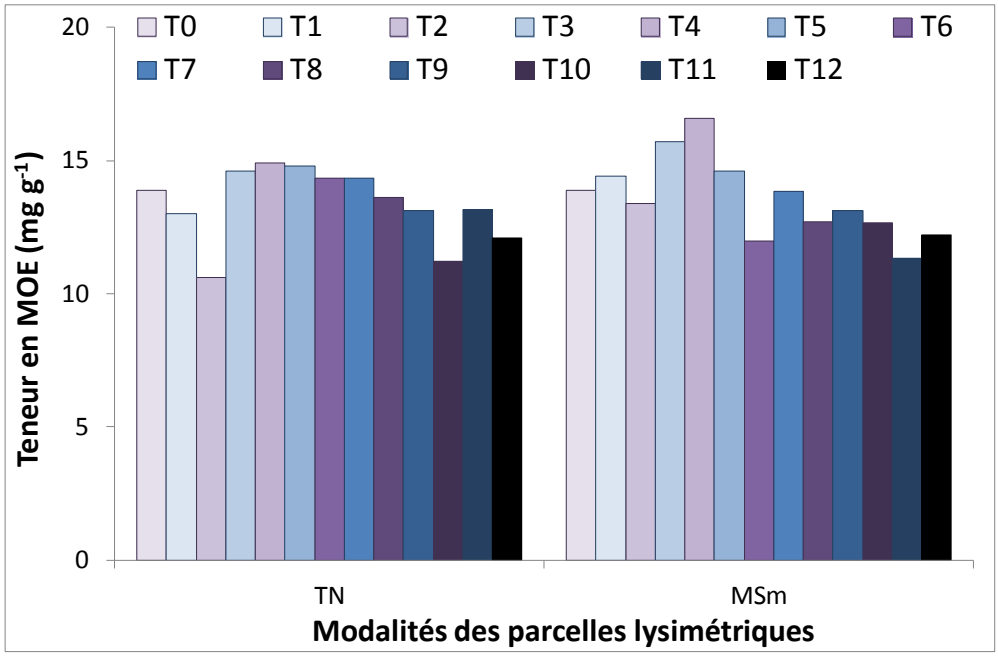

Figure 77 : Concentration en matière organique extractible des échantillons de terre globale des modalités TN et MSm au cours des 6 ans de suivi du projet Multipolsite

A la mise en place des parcelles lysimétriques à l'automne 2005 (T0), la teneur en MOE des échantillons de terre globale des modalités TN et MSm est de 13,9 mg g^{-1}. D'une manière générale, la teneur en MOE de ces deux modalités suit la même évolution au cours du temps.

Dans la modalité TN, la teneur en MOE diminue jusqu'à l'automne 2006 (T2) (10,6 mg g^{-1}) puis retrouve la valeur initiale jusqu'au printemps 2009 (T7) (14,3 mg g^{-1}) et diminue progressivement jusqu'à la fin de l'expérimentation à l'automne 2011 (T12) (12,1 mg g^{-1}). Dans la modalité MSm, la décroissance de la première année est moins marquée, la teneur en MOE diminue seulement de 0,5 mg g^{-1} à l'automne 2006 (T2). Puis, elle reste autour de la valeur initiale avec une augmentation à l'automne 2007 (T4) (16,5 mg g^{-1}) et enfin diminue progressivement jusqu'à la fin de l'expérimentation à l'automne 2011 (T12) (12,2 mg g^{-1}).

Seules les teneurs en MOE des fractions granulodensimétriques des modalités de la fin du suivi des parcelles lysimétriques à l'automne 2011 (T12), correspondant à la fin de l'expérimentation d'incubation de résidus végétaux en conditions contrôlées ont été mesurées (Tableau 18). Globalement, la teneur en MOE dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques est plus élevée pour les modalités TN et MSm par rapport aux modalités M0 et M10. Cependant, elles sont toutes du même ordre de grandeur et par conséquent les différences observées semblent être uniquement dues à la différence de lot de terre utilisé.

Tableau 18 : Comparaison des teneurs en MOE dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives

Fractions	TN T12	M0 t_{15}	MSm T12	M10 t_{15}
200-2000 µm (SG)	7,5 (± 0,6)	6,4 (± 0,6)	9,7 (± 0,4)	7,6 (± 0,2)
50-200 µm (SF)	11,4 (± 0,5)	8,7 (± 0,8)	12,0 (± 0,4)	8,6 (± 0,8)
20-50 µm (LG)	10,4 (± 0,1)	5,7 (± 0,9)	10,6 (± 0,1)	8,1 (± 0,7)
2-20 µm (LF)	27,6 (± 0,2)	26,3 (± 0,9)	29,5 (± 0,4)	26,9 (± 0,2)
Terre globale	12,1	9,0 (± 0,5)	12,2	8,9 (± 0,1)

L'évolution des teneurs en MOE de ces deux modalités, TN et MSm, sont respectivement comparées avec les évolutions des teneurs en MOE des modalités M0 et M10 de l'expérimentation d'incubation (respectivement Figures 78 et 79). Globalement, pour les deux comparaisons (TN avec M0 et MSm avec M10), les teneurs en MOE des modalités TN et MSm sont plus élevées que celles des modalités M0 et M10. Ces différences peuvent une nouvelle fois être dues à la différence de lot de terre utilisé. Néanmoins, la tendance à la diminution de la teneur en MOE dans les modalités TN et MSm sur les deux dernières années du suivi (automne 2009 - T8 à automne 2011 - T12) est en accord avec la diminution de la teneur en MOE des modalités M0 et M10 au cours des 15 mois d'incubation.

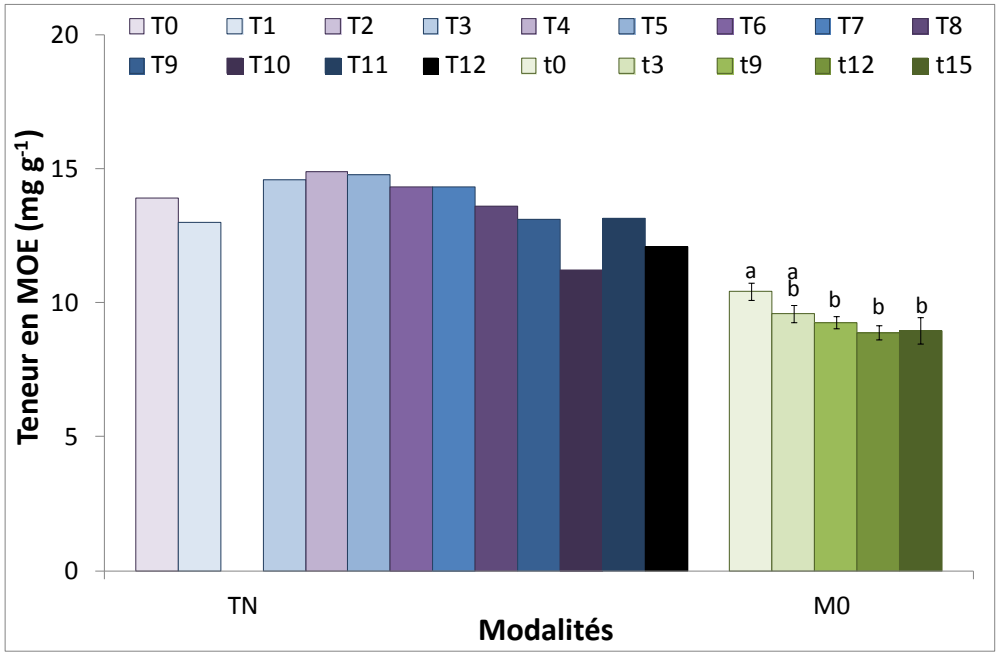

Figure 78 : Comparaison de l'évolution de la teneur en MOE entre les modalités TN et M0 au cours du temps

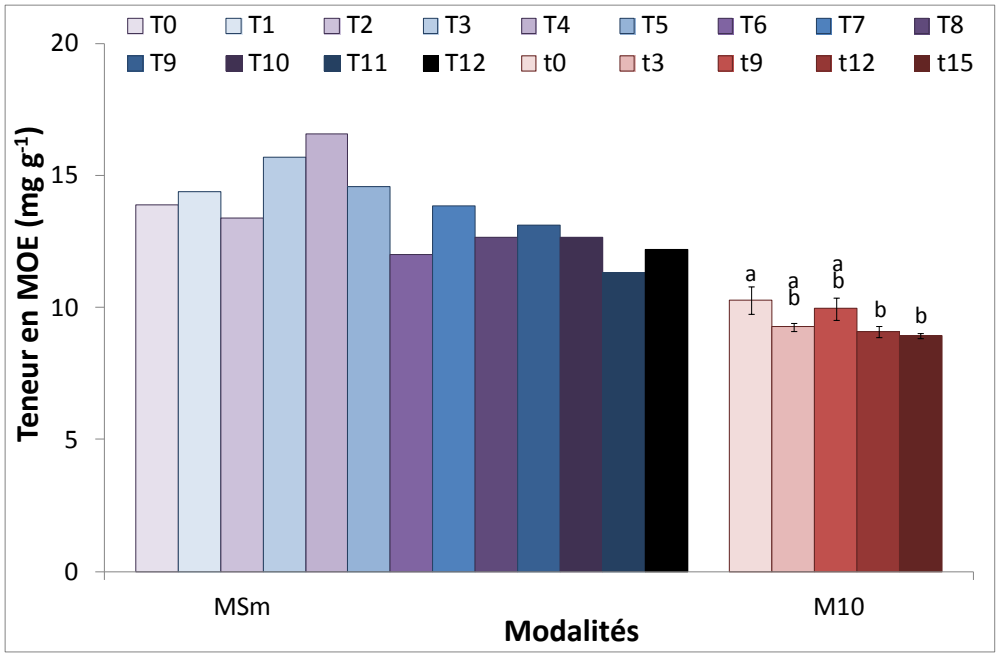

Figure 79 : Comparaison de l'évolution de la teneur en MOE entre les modalités MSm et M10 au cours du temps

2.4.2. Concentration des HAP totaux

La concentration des 16 HAP des échantillons de terre globale des modalités TN et MSm de l'automne 2005 (T0) à l'automne 2011 (T12) sont présentées Figure 80 et sous forme de tableau en Annexe 6-4 page 288 (Tableau 42).

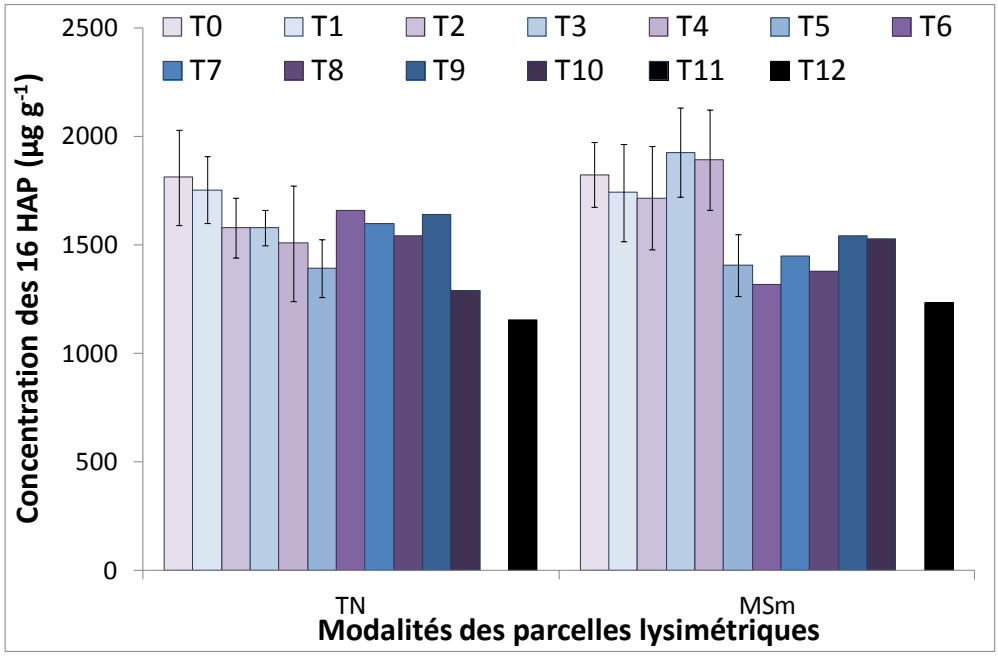

Figure 80 : Concentration des 16 HAP des échantillons de terre globale des modalités TN et MSm au cours des 6 ans de suivi du projet Multipolsite (le prélèvement à T11 n'a pas été analysé)

A la mise en place des parcelles lysimétriques à l'automne 2005 (T0), les concentrations en HAP totaux sont similaires dans les échantillons de terre globale des modalités TN et MSm, avec respectivement 1814 et 1827 µg g^{-1}. Au cours du temps, la concentration en HAP totaux de ces deux modalités présente la même évolution. Pour la modalité TN, elle diminue de 420 µg g^{-1} jusqu'au printemps 2008 (T5) puis augmente à nouveau et se stabilise autour de 1650 µg g^{-1} et enfin diminue jusqu'à 1155 µg g^{-1} à la fin de l'expérimentation à l'automne 2011 (T12). Pour la modalité MSm, elle reste stable autour de la valeur initiale jusqu'à l'automne 2007 (T4) puis diminue de 400 µg g^{-1} et reste stable jusqu'à l'automne 2010 (T10) et enfin diminue à nouveau jusque 1236 µg g^{-1} à la fin de l'expérimentation à l'automne 2011 (T12). Ainsi, en 6 années de suivi, la teneur en HAP totaux a diminué respectivement de 36 et 32 % dans les modalités TN et MSm.

De même que pour les teneurs en MOE, seules les concentrations en HAP totaux des modalités de la fin du suivi des parcelles lysimétriques à l'automne 2011 (T12), correspondant à la fin de l'expérimentation d'incubation de résidus végétaux en conditions contrôlées ont été mesurées (Tableau 19). Globalement, la concentration en HAP totaux dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques est plus élevée pour les modalités TN et MSm par rapport aux modalités M0 et M10, en accord avec les teneurs en MOE. Cependant, elles sont toutes du même ordre de grandeur et par conséquent les différences observées semblent être à nouveau uniquement dues à la différence de lot de terre utilisé.

Tableau 19 : Comparaison des concentrations en HAP totaux (liste US-EPA) dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives

Fractions	TN Aut-2011	M0 t_{15}	MSm Aut 2011	M10 t_{15}
200-2000 µm (SG)	868	824	1245	923
50-200 µm (SF)	1187	1248	1377	1130
20-50 µm (LG)	1037	714	932	791
2-20 µm (LF)	3538	2654	3669	2521
Terre globale	1155	1055	1236	1068

L'évolution de la concentration des HAP totaux observée *in situ* pour les modalités TN et MSm est respectivement comparée avec l'évolution de la concentration des HAP dans les modalités M0 et M10 de l'expérimentation en conditions contrôlées (respectivement Figures 81 et 82).

Globalement, de même que pour les teneurs en MOE, les concentrations en HAP totaux des modalités TN et MSm sont plus élevées que celles des modalités M0 et M10, probablement du fait de lots de terre différents utilisés dans ces deux expérimentations. La tendance à la diminution de la concentration en HAP totaux dès le deuxième temps de suivi, c'est-à-dire au printemps 2006 (T1), dans la modalité TN est analogue à la diminution de la concentration des HAP totaux observée dans les trois premiers mois d'incubation de la modalité M0. De même, la tendance à la stabilisation puis à la diminution de la concentration des HAP totaux pour la modalité MSm au printemps 2008 (T5), soit 2 ans et demi après le début de l'expérimentation est similaire à la diminution de la concentration des HAP observée seulement après 9 mois d'incubation pour la modalité M10. Cependant, dans les modalités M0 et M10, le pourcentage d'abattement des HAP est inférieur à celui observé *in situ*, il est seulement d'environ 10 %.

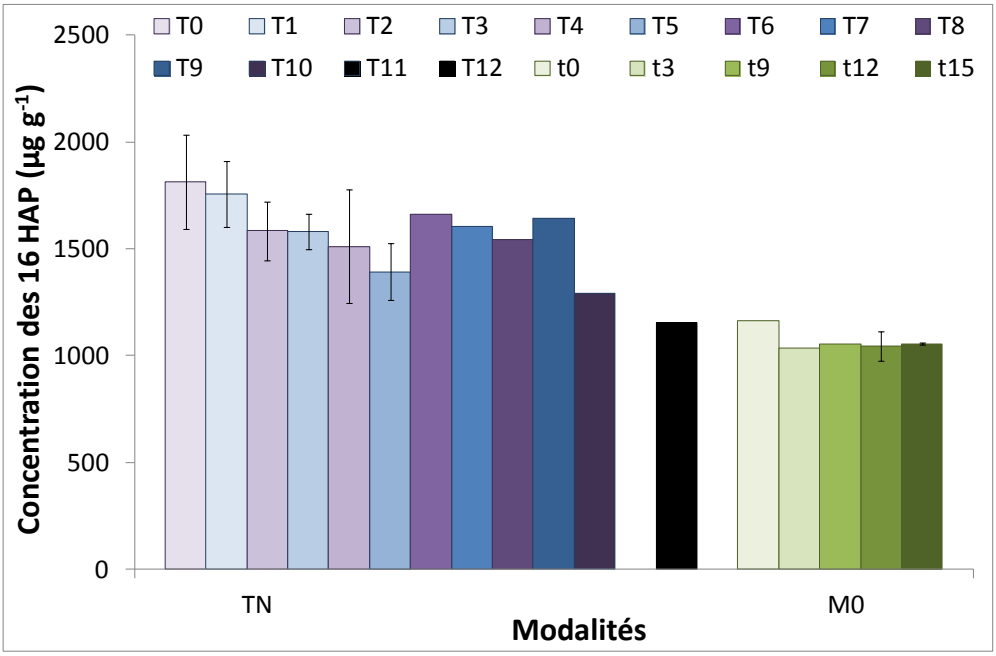

Figure 81 : Comparaison de l'évolution de la concentration des HAP totaux (liste US-EPA) entre les modalités TN et M0 au cours du temps

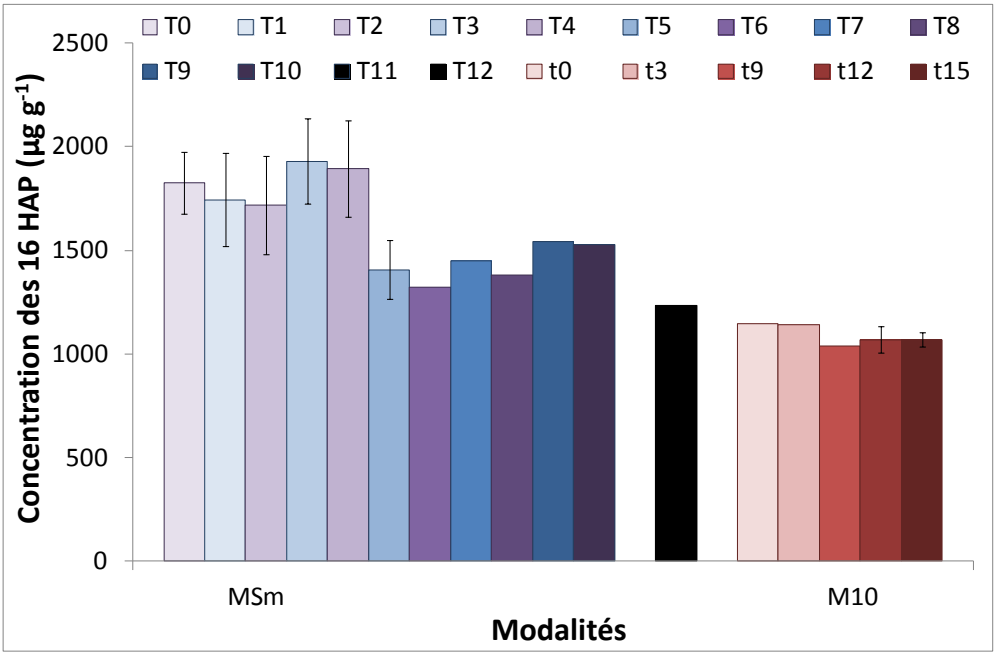

Figure 82 : Comparaison de l'évolution de la concentration des HAP totaux (liste US-EPA) entre les modalités MSm et M10 au cours du temps

2.4.3. Distribution des HAP

La distribution des 16 HAP (liste US-EPA) classés en fonction du nombre de cycles qui les composent pour les échantillons de terre globale des modalités TN et MSm est présentée Figures 83 et 84.

Pour ces deux modalités, à la mise en place des parcelles lysimétriques (automne 2005 – T0), la distribution des HAP est centrée sur les HAP composés de 4 cycles aromatiques qui représentent 40 % de la totalité des HAP. Les autres classes (2-, 3-, 5- et 6 cycles) de HAP représentent respectivement 10 %, 30 %, 15 % et 5 %. Au printemps 2008 (T5), une diminution de la proportion des HAP composés de 3 cycles est observée. Parallèlement, une augmentation de la proportion des HAP composés de 4 et 5 cycles est observée.

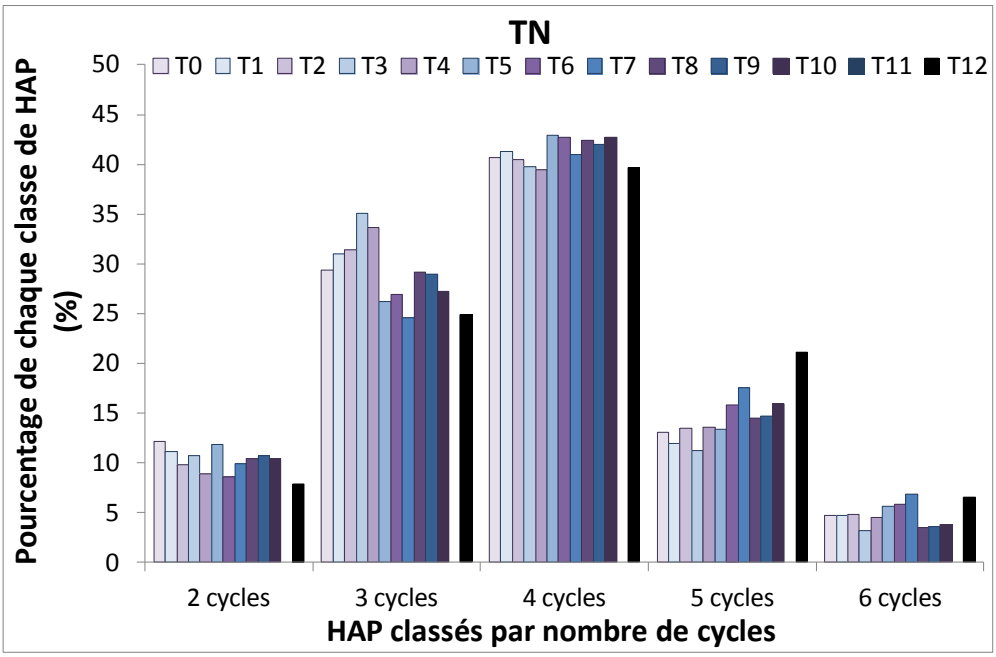

Figure 83 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les échantillons de terre globale de la modalité TN de l'automne 2005 à l'automne 2011

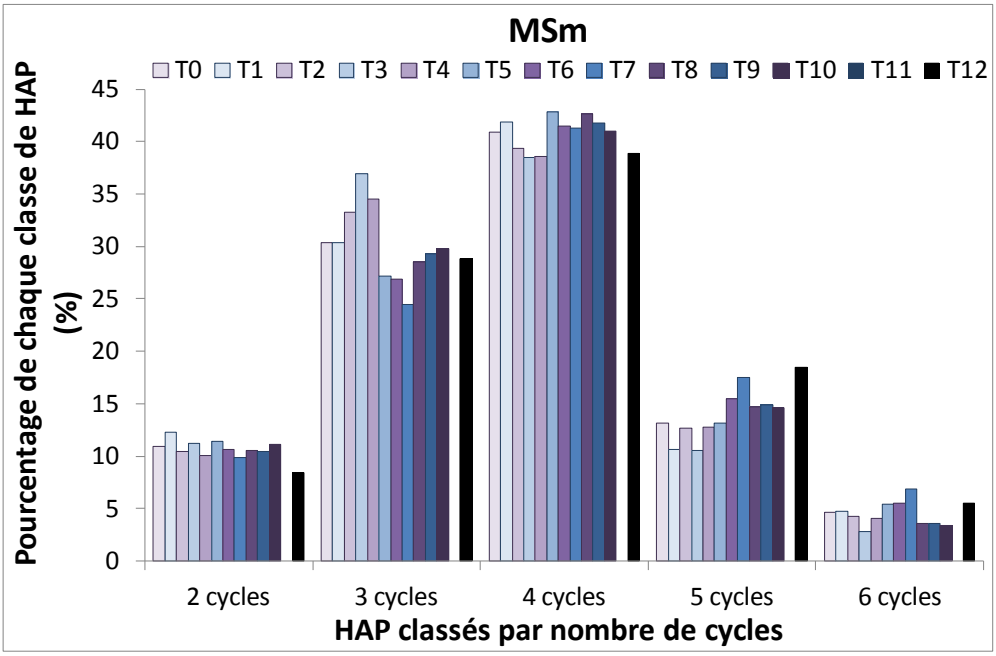

Figure 84 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les échantillons de terre globale de la modalité MSm de l'automne 2005 à l'automne 2011

La distribution des HAP dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN et MSm à la fin de l'expérimentation, soit à l'automne 2011 (T12) est comparée respectivement avec les modalités M0 et M10 après les 15 mois d'incubation (Tableau 20). Ces distributions sont représentées sous forme d'histogrammes en Annexe 6-5 (Figures 108 à 112 pages 289 à 291). Globalement, quelle que soit la fraction granulodensimétrique considérée, les quatre modalités présentent la même distribution : les HAP à 2-, 3-, 4-, 5- et 6 cycles représentent environ 10 %, 20 à 25 %, 40 %, 20 à 25 % et 5 %.

Tableau 20 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles benzéniques dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives

		2 cycles	3 cycles	4 cycles	5 cycles	6 cycles
200-2000 µm (SG)	**TN T12**	9,2	26,1	41,2	18,1	5,4
	M0 t_{15}	10,4	27,0	40,2	16,4	6,0
	MSm T12	8,4	33,9	37,9	15,4	4,5
	M10 t_{15}	9,0	25,6	43,6	16,1	5,8
50-200 µm (SF)	**TN T12**	8,2	24,4	40,7	20,3	6,5
	M0 t_{15}	10,5	24,0	41,5	17,6	6,3
	MSm T12	8,8	29,6	37,1	18,7	5,7
	M10 t_{15}	10,4	23,3	42,5	17,4	6,4
20-50 µm (LG)	**TN T12**	7,8	21,6	39,6	23,2	7,8
	M0 t_{15}	8,5	21,4	42,0	19,9	8,3
	MSm T12	8,5	21,6	40,9	21,7	7,3
	M10 t_{15}	9,6	19,8	41,6	20,4	8,5
2-20 µm (LF)	**TN T12**	7,0	16,6	41,0	25,0	10,3
	M0 t_{15}	8,8	18,7	42,2	21,9	8,4
	MSm T12	7,9	19,2	39,8	23,5	9,6
	M10 t_{15}	8,0	18,6	42,8	21,8	8,7
Terre globale	**TN T12**	7,8	24,9	39,6	21,1	6,5
	M0 t_{15}	9,3	22,0	42,2	18,9	7,6
	MSm T12	8,4	28,8	38,9	18,4	5,5
	M10 t_{15}	9,1	24,3	41,8	18,0	6,9

Les évolutions des distributions de HAP classés en fonction du nombre de cycles aromatiques des modalités TN et MSm sont respectivement comparées avec les évolutions des distributions de HAP des modalités M0 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (Figures 85 et 86). Des évolutions similaires sont observées entre les modalités de l'expérimentation *in situ* et celles de l'expérimentation d'incubation : dans les deux cas, une diminution de la proportion des HAP composés de 3 cycles en parallèle d'une augmentation de la proportion des HAP à 4- et 5 cycles est observée au cours du temps. Pour les modalités de l'expérimentation *in situ*, cette évolution a lieu au printemps 2008 (T5), soit 2 ans et demi après le début de l'expérimentation et pour l'expérimentation d'incubation, elle a lieu 9 mois après le début de l'incubation.

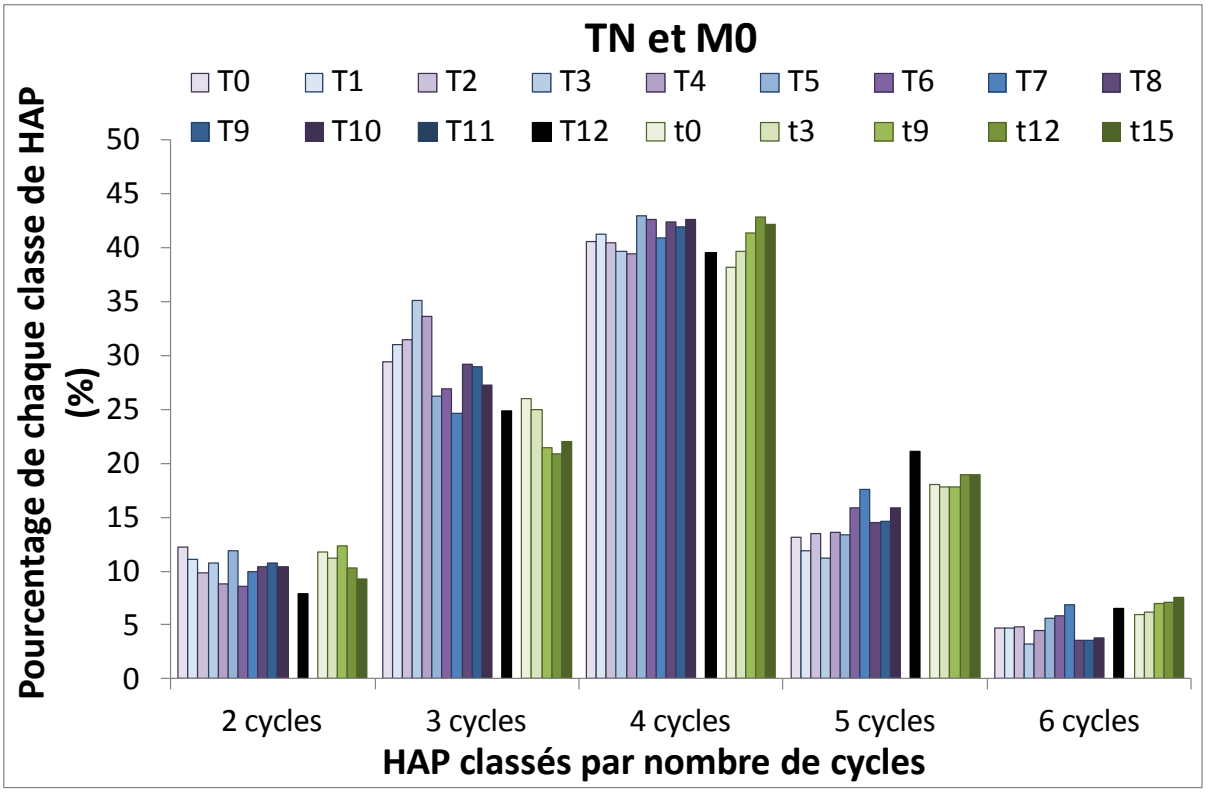

Figure 85 : Comparaison des évolutions des distributions de HAP classés selon le nombre de cycles aromatiques entre les modalités TN et M0

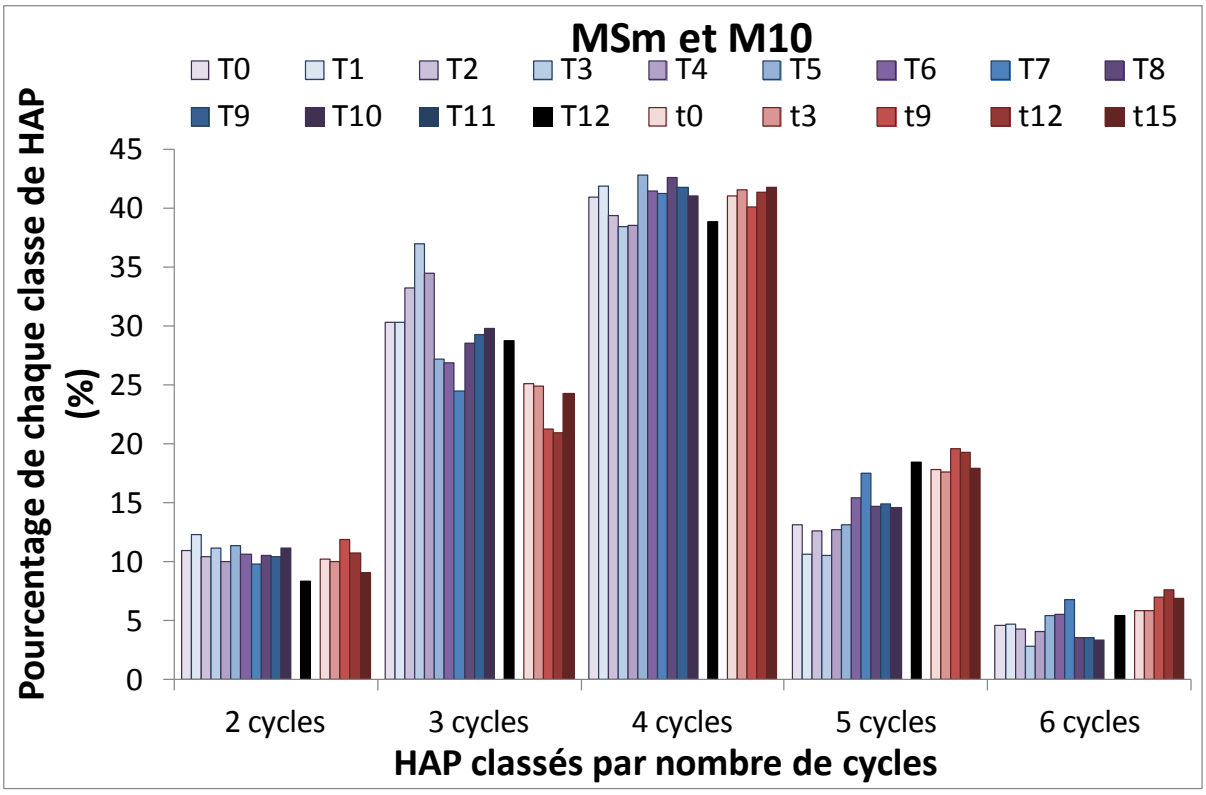

Figure 86 : Comparaison des évolutions des distributions de HAP classés selon le nombre de cycles aromatiques entre les modalités MSm et M10

2.4.4. HAP disponibles

La disponibilité des HAP, exprimée en pourcentage de HAP totaux pour les échantillons de terre globale des modalités TN et MSm est présentée Figure 87 et sous forme de tableau en Annexe 6-6 page 292 (Tableau 43).

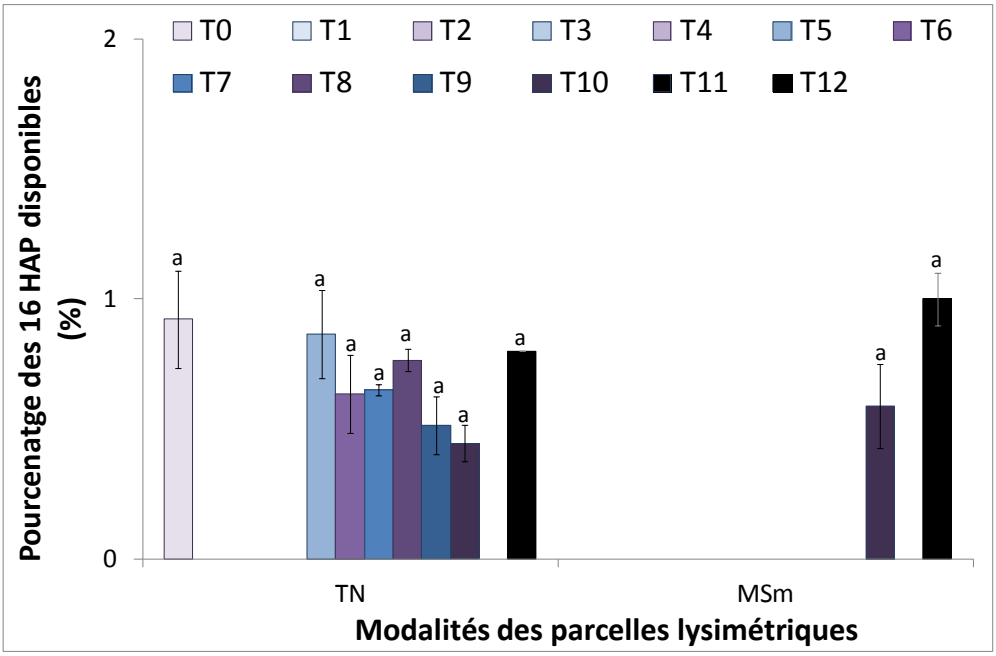

Figure 87 : Pourcentage de HAP disponibles dans les échantillons de terre globale des modalités TN et MSm de l'automne 2005 à l'automne 2011 (n = 3)

La disponibilité des HAP des échantillons de terre globale des deux modalités TN et MSm est très faible : au maximum, 1 % des HAP est disponible. Au cours du temps, aucune évolution significative n'est observée. Seule une tendance à la diminution (0,5 point) de la disponibilité est notée pour TN entre l'automne 2005 (T0) et l'automne 2010 (T10).

Seuls les pourcentages en HAP disponibles des fractions granulodensimétriques des modalités de la fin du suivi des parcelles lysimétriques à l'automne 2011 (T12), correspondant à la fin de l'expérimentation d'incubation de résidus végétaux en conditions contrôlées ont été mesurés (Tableau 21). Globalement, le pourcentage de HAP disponibles dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques a tendance à être plus élevé pour les modalités M0 et M10 par rapport aux modalités TN et MSm. Cependant, ils sont tous du même ordre de grandeur et présentent la même répartition au sein des fractions granulodensimétriques avec les limons fins présentant la plus faible disponibilité. Par

conséquent, les différences observées semblent être à nouveau attribuables à la différence de lot de terre utilisé.

Tableau 21 : Comparaison des pourcentages de HAP disponibles dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives

Fractions	TN T12	M0 t_{15}	MSm T12	M10 t_{15}
200-2000 µm (SG)	1,0 (± 0,1)	1,0 (± 0,3)	0,9 (± 0,1)	1,1 (± 0,1)
50-200 µm (SF)	1,2 (± 0,1)	1,3 (± 0,0)	1,1 (± 0,1)	1,1 (± 0,1)
20-50 µm (LG)	0,8 (± 0,1)	1,4 (± 0,1)	0,9 (± 0,1)	1,2 (± 0,0)
2-20 µm (LF)	0,5 (± 0,0)	0,9 (± 0,0)	0,5 (± 0,0)	1,0 (± 0,0)
Terre globale	0,8 (± 0,0)	1,3 (± 0,1)	1,0 (± 0,1)	1,3 (± 0,1)

Les pourcentages de HAP disponibles des modalités TN et MSm au cours du temps sont respectivement comparés avec ceux des modalités M0 et M10 (Figures 88 et 89). Cependant, le manque de données pour la modalité MSm ne permet pas de comparer une évolution dans le temps, seules les valeurs obtenues pour les prélèvements T10 et T12 sont comparées. Globalement, le pourcentage de HAP disponibles de l'échantillon de terre globale des modalités M0 et M10 présente une tendance à être plus élevé que celui des modalités TN et MSm, mais il reste dans le même ordre de grandeur. De même, que pour la modalité TN, le pourcentage de HAP disponibles de la modalité M0 est stable au cours du temps, il présente seulement une diminution de 0,2 point après 15 mois d'incubation.

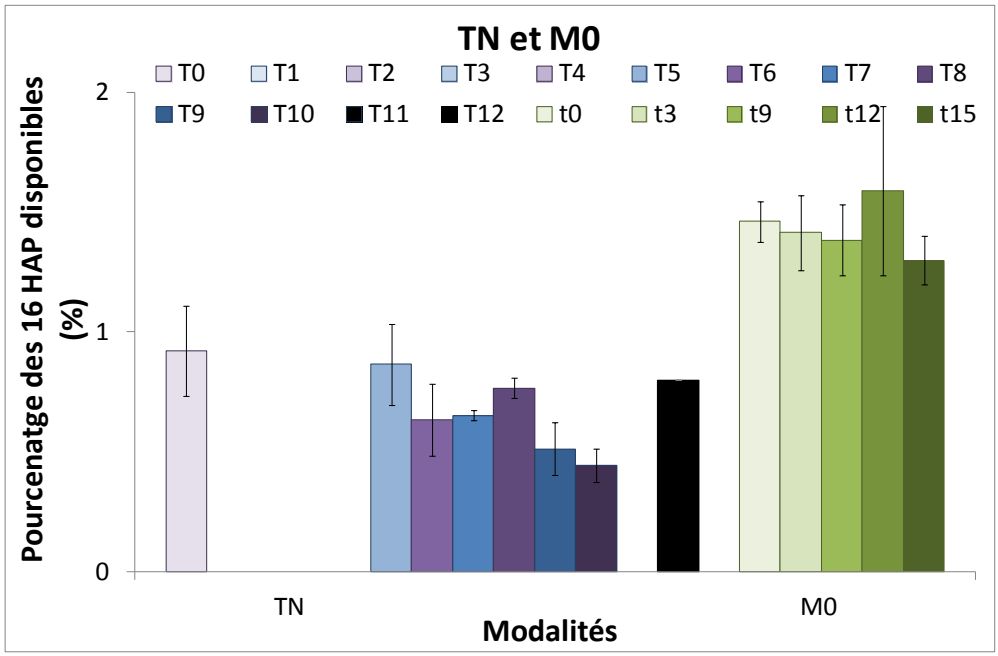

Figure 88 : Comparaison de l'évolution du pourcentage de HAP disponibles entre les modalités TN et M0 au cours du temps

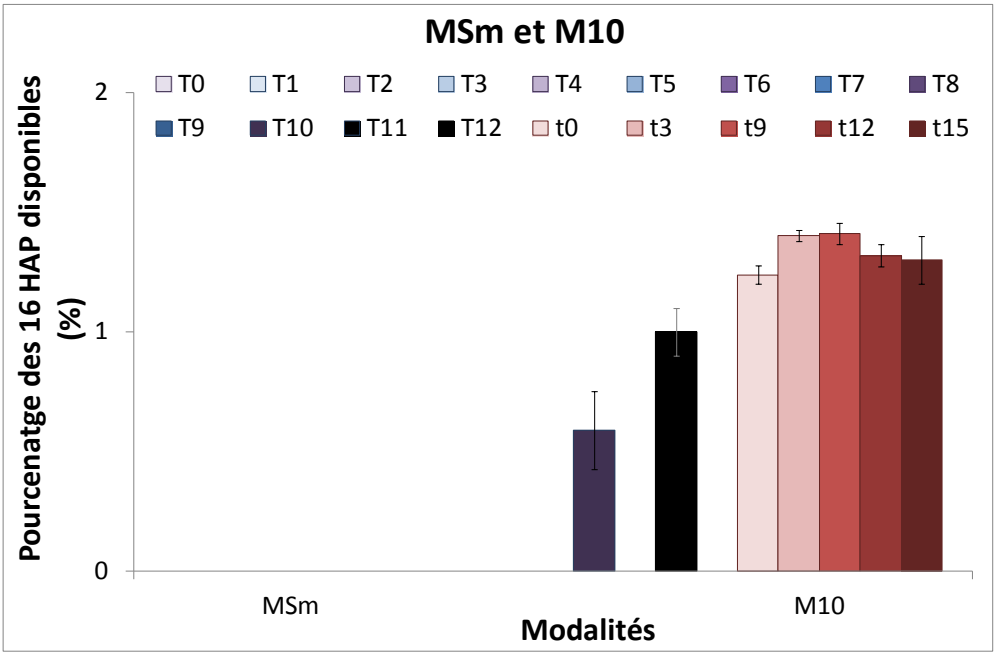

Figure 89 : Comparaison de l'évolution du pourcentage de HAP disponibles entre les modalités MSm et M10 au cours du temps

3. Discussion : confrontation des expérimentations *in situ* et en conditions contrôlées

3.1. Incorporation de matière organique fraîche en conditions contrôlées

Le comportement de la matière organique fraîche incorporée dans la terre NM sous forme de résidus de maïs a été suivi afin de cibler deux facteurs principaux : (i) l'impact sur la structure de la terre et la distribution des agrégats et (ii) l'impact sur la distribution et le stockage de carbone au sein de ces fractions.

L'addition de résidus de maïs dans la terre NM (modalités M1 et M10) a conduit à une augmentation de la proportion des sables grossiers et une diminution de la proportion des sables fins et des limons grossiers. Cependant, l'hétérogénéité de la terre utilisée ne permet pas de montrer si l'évolution observée pour ces deux modalités est statistiquement significative. Cette hétérogénéité avait déjà été mise en évidence par Monserie et al. (2009) et Ouvrard et al. (2011) qui ont travaillé sur la même terre. Toutefois, une telle agrégation après ajout de MO fraîche est en accord avec des études réalisées sur des sols naturels (Denef et al.,

2002; Bravo-Garza et al., 2009). Ces travaux étudient l'influence de facteurs physiques tel que les cycles humectation-dessiccation et de facteurs biologiques tel que l'ajout de résidus organiques dans le sol sur la formation d'agrégats. Ils mettent en évidence que l'ajout de résidus organiques frais (blé et maïs) conduit à une augmentation de la quantité des agrégats grossiers stables à l'eau, c'est-à-dire des sables. Ils expliquent cette agrégation par l'augmentation de l'activité microbienne, favorisée par les apports de MO, conduisant à la formation de biofilms et/ou à la sécrétion d'exopolymères et favorisant ainsi la formation d'associations organo-minérales (Six et al., 2004). Ce processus peut également expliquer nos résultats compte-tenu de la forte augmentation de la biomasse microbienne observée après trois mois d'incubation dans la modalité M10 et concomitante du processus d'agrégation également observée après trois mois d'incubation. Toutefois, cette hypothèse seule ne permet pas d'expliquer l'agrégation observée dans la modalité M1. En effet, pour cette modalité, la biomasse microbienne augmente également après trois mois d'incubation mais cette augmentation est similaire à celle observée dans la modalité M0. Or, le suivi de la structure de ces deux modalités montre deux évolutions différentes : la structure de M0 montre une tendance à la désagrégation alors que M1 montre une tendance à l'agrégation. La comparaison des résultats entre les modalités M0 et M1 (biomasse microbienne identique mais évolution de la structure différente) suggère donc que l'augmentation de l'activité microbienne seule n'explique pas complètement l'agrégation.

La matière organique naturelle est connue pour jouer un rôle de ciment entre les particules (Bronick and Lal, 2005; Six et al., 2004). Ainsi, l'agrégation observée dans les deux modalités ayant été amendées par des résidus de MO fraîche (M1 et M10) suggère que la MO apportée peut également expliquer les tendances d'agrégation observées. Cette hypothèse est en accord avec la suggestion de Bravo-Garza et al. (2009) : la fraction labile de la MO, dans notre cas le maïs fraîchement apporté, est un facteur plus important dans le développement de la structure d'un sol par rapport au carbone organique total c'est-à-dire au carbone déjà présent dans le sol. Cette hypothèse est en accord avec les premiers résultats présentés dans les chapitres précédents : les observations au microscope électronique à balayage ont montré des particules organiques individuelles (chapitre III) et le protocole de déstructuration de la terre par extraction sélective d'une partie de sa MO (chapitre IV) a montré que la MO anthropique présente dans la terre NM n'a pas un rôle de liant entre les particules. Ces résultats confirment donc que le carbone organique total initialement présent dans la terre a moins d'influence sur la structure de la terre que le carbone frais apporté. En contraste avec les modalités amendées,

la modalité M0 présente une tendance à la désagrégation. Cette désagrégation pourrait être due à l'homogénéisation hebdomadaire avec une tige en verre. Cette homogénéisation étant appliquée sur chaque modalité (amendée ou non), l'agrégation observée pour M1 et M10 est probablement sous-estimée.

L'évolution de la matière organique fraîche dans la modalité M10 déduite des analyses isotopiques montre une répartition homogène dans toutes les fractions granulodensimétriques au début de l'expérimentation. Mais au cours du temps, deux évolutions contrastées sont observées : une diminution progressive de la proportion de carbone dérivant du maïs dans les sables alors qu'elle reste constante dans les limons. Une telle évolution est en accord avec d'autres études menées sur des sols naturels (Angers et al., 1997; Puget et al., 1995). Ces différentes études sont basées sur des mesures de $\delta^{13}C$ et ont pour but de suivre l'incorporation de carbone frais dérivé de plantes en C_4 ou de plantes marquées au ^{13}C dans les agrégats du sol. Les résultats de ces études montrent que (i) le $\delta^{13}C$ augmente avec l'augmentation de la taille des particules et (ii) que le carbone total du sol augmente dans les macroagrégats. Les auteurs expliquent que l'augmentation du carbone total dans les fractions grossières est due à l'incorporation préférentielle des résidus fraîchement ajoutés dans ces fractions. Les auteurs montrent également que l'enrichissement en ^{13}C dans les fractions grossières (> 250 µm) décroit après trois mois alors que dans les fractions fines (< 50 µm), il reste stable.

Les résultats obtenus au cours de notre expérimentation d'incubation de résidus végétaux sont également en accord avec les temps de séjour de la matière organique dans un sol donnés par Puget et al. (2000). Ils montrent que le temps de vie du carbone organique dans les agrégats grossiers (> 500 µm) est de quelques années alors que dans les agrégats fins (< 500 µm) il est de l'ordre de la centaine d'années. Enfin, les résultats de cette expérimentation renforcent ceux obtenus dans le chapitre III. En effet, nous avons montré une préservation de la pollution dans les limons fins illustrée par une forte teneur en carbone total, les plus fortes concentrations en matière organique extractible et en HAP totaux et la plus faible teneur en HAP disponibles. Ainsi, la combinaison de ces deux études, préservation de la pollution et du carbone frais dans les limons fins, confirme que les limons fins jouent le rôle de puits protecteur de la matière organique quelle que soit son origine, anthropique ou naturelle.

3.2. Impact des résidus végétaux sur la pollution

L'impact de l'apport de résidus végétaux sur la pollution de la terre NM a été estimé en suivant au cours du temps (i) la teneur en carbone total, (ii) la teneur en matière organique extractible au solvant et (iii) les concentrations en HAP totaux et disponibles.

Au début de l'expérimentation, la teneur en carbone total dans les échantillons de terre globale est plus élevée dans les modalités M1 et M10 que dans la modalité M0, due à l'addition de carbone frais. Cependant, au cours de l'incubation, la teneur en carbone total des modalités amendées diminue pour atteindre celle de M0. De plus, le modèle de mélange des signatures isotopiques montre que dans l'échantillon de terre globale de la modalité M10, la proportion de carbone dérivant du maïs reste stable. Cette stabilité implique que la diminution du carbone total est associée à une dégradation concomitante du carbone anthropique et du carbone frais. La dégradation du carbone anthropique est confirmée par l'évolution de la teneur en matière organique extractible au solvant qui décroit progressivement tout au long de la période d'incubation. La dégradation de carbone anthropique est également visible avec la concentration totale en HAP qui décroit d'environ 10 % pendant les 15 mois d'incubation réalisées en conditions contrôlées à 20°C. Cette dégradation de HAP est du même ordre de grandeur que celle observée par Ouvrard et al. (2011) sur des expérimentations *in situ* avec la même terre pendant 4 ans. Environ 5 % des HAP sont dégradés annuellement avec des températures moyennes de 10°C et pour les deux modalités, avec ou sans croissance de plantes. De telles valeurs de dégradation sont similaires aux taux de décomposition annuelle de la matière organique naturelle dans les systèmes tempérés évalués à 1 à 5 % du stock total par Schmidt et al. (2011). Cependant, des taux de minéralisations plus élevés des HAP pourraient être attendus en raison des conditions d'incubation favorables aux microorganismes en comparaison avec les conditions *in situ*. De plus, des études précédentes réalisées sur la terre NM ont montré que les communautés bactériennes (Cébron et al., 2009) et fongiques (Thion et al., 2012) sont principalement constituées de genres connus pour leur capacité à dégrader les HAP (Bamforth and Singleton, 2005; Peng et al., 2008). Deux hypothèses peuvent expliquer les taux de minéralisations observés. (i) Les communautés microbiennes, capables de dégrader les HAP, ont préférentiellement dégradé le maïs apporté se détournant ainsi des polluants et entraînant un ralentissement de leur dégradation. Cette dégradation préférentielle du carbone facilement dégradable a déjà été mis en évidence par Hultgren et al. (2009) dans une étude montrant la dégradation préférentielle de résidus de blé

fraîchement apportés (5 g pour 100 g de sol) par rapport à la dégradation des HAP présents dans un sol historiquement contaminé par de la créosote et ce, malgré l'augmentation de l'activité microbienne. Cependant, une dégradation non négligeable de la MO anthropique (MOE et HAP) a quand même été observée suggérant que le détournement des communautés microbiennes n'est pas le seul facteur explicatif. (ii) La seconde hypothèse est la trop faible disponibilité des HAP. D'autres études, effectuées sur la même terre, avaient déjà avancé que la faible disponibilité des HAP empêchait la remédiation de la terre (Usman et al., 2012a et b).

Bien que la disponibilité des HAP soit initialement très faible pour les deux modalités (M0 et M10), son suivi a mis en évidence une diminution à des temps différents entre les modalités et entre les fractions. La disponibilité des HAP diminue plus tôt dans les sables pour M0 alors qu'elle diminue plus tôt dans les limons pour M10. Ces différences temporelles suggèrent qu'en présence de matière organique fraîche, les limons stabilisent plus rapidement la matière organique anthropique que les sables. Cette hypothèse est confortée par (i) les résultats du modèle de mélange obtenus d'après les analyses isotopiques qui ne montrent pas d'évolution de la proportion du carbone frais dans les limons et (ii) avec les résultats du chapitre III qui montrent que la matière organique anthropique est très stable dans les limons fins. Ainsi, dans un contexte de culture de végétaux sur cette terre (e.g. phytoremédiation), on peut s'attendre à ce que le carbone apporté par les plantes se comporte plutôt comme un stabilisant que comme un agent mobilisant la pollution.

3.3. Comparaison des expérimentations en conditions contrôlées et *in situ*

Une étude *in situ*, en parcelles lysimétriques remplies avec la terre industrielle NM selon deux modalités, terre nue et plantée avec de la luzerne, a permis de confronter nos résultats obtenus suite à une incubation de carbone végétal provenant des parties aériennes de maïs en conditions contrôlées.

Les parties aériennes de la luzerne, feuilles et tiges, sont composées d'environ 410 à 440 mg de carbone par g de matière sèche (Muhammad et al., 2006; Rovira and Vallejo, 2000). En un an, 35 % du carbone des parties aériennes retournent au sol par retombées des litières et pertes lors de la récolte. Ainsi, en un an, 70 g de carbone par m² retournent au sol. De plus, 20,5 g et 14 g de carbone sont apportés dans le sol respectivement par les racines et par les rhizodépôts.

Au total, pour 1 m², 104,5 g de carbone retournent au sol après un an de culture de luzerne. Cette quantité de carbone est trois fois inférieure à la quantité de carbone qui retourne au sol après un an de culture de maïs (§ 1 - Balesdent et al., 1998). Les parcelles lysimétriques ont été cultivées avec de la luzerne pendant 6 ans, la quantité de carbone retournée au sol est donc de l'ordre de 620 g par m² soit 5 fois moins importante que la quantité de carbone apportée par les résidus de maïs dans la modalité M10 de l'expérimentation d'incubation. Malgré les différences de quantité de carbone entre les deux expérimentations, les modalités terre nue et luzerne mycorhizée *in situ* sont comparées respectivement avec les modalités M0 et M10 en conditions contrôlées.

Tous les paramètres mesurés mettent en évidence l'hétérogénéité de la terre utilisée. D'un point de vue de la structure, l'hétérogénéité a déjà été mise en évidence dans la première partie de ce chapitre entre M0 et M10 et confirme les études précédentes utilisant la même terre (Monserie et al., 2009; Ouvrard et al., 2011). De plus, l'hétérogénéité de la terre NM est également mise en évidence d'un point de vue pollution. En effet, les teneurs en matière organique extractible et en HAP totaux des modalités *in situ* sont toujours supérieures aux modalités M0 et M10 de l'expérimentation d'incubation. De même que pour la structure de la terre, des études précédentes ont déjà montré cette hétérogénéité (Biache et al., 2008; Laurent et al., 2012).

Le suivi de la structure de la terre des parcelles lysimétriques pendant les 6 années d'expérimentation, n'a pas montré d'évolution particulière pour la modalité terre nue. L'absence de données pour la modalité plantée avec de la luzerne ne permet pas de confirmer ou d'infirmer la tendance d'agrégation observée avec la modalité M10 amendée en maïs ou par d'autres auteurs lors de l'ajout de résidus organiques (Bravo-Garza et al., 2009; Denef et al., 2002).

Le suivi du pourcentage en carbone moderne (pMC), déduit des mesures de l'activité du ^{14}C, a montré qu'il était stable au cours des 6 ans d'expérimentation pour l'échantillon de terre globale de la modalité terre nue. En revanche, l'augmentation du pMC d'un facteur 2 dans la modalité plantée est en accord avec la présence d'un couvert végétal. Les mesures de pMC dans les fractions granulodensimétriques montrent que dans les sables grossiers, le pMC augmente légèrement entre les modalités TN et MSm. De plus, il reste proche de celui des échantillons de terre globale, quelle que soit la modalité, plantée ou non, suggérant que le carbone récent dérivant du végétal ne s'accumule que très peu dans cette fraction. Les sables

fins et les limons grossiers présentent un pMC supérieur d'un facteur 2 à celui de l'échantillon de terre globale pour la modalité TN, semblant indiquer la présence de carbone récent. Toutefois, pour la modalité MSm, ces pMC sont similaires à celui de l'échantillon de terre globale et sont identiques à ceux de la modalité TN, indiquant plutôt une absence d'accumulation de carbone frais dérivant du végétal. Les limons fins présentent les plus importants pMC quelle que soit la modalité, suggérant que le carbone récent s'accumule dans cette fraction, y compris lorsqu'il y en a très peu (modalité TN). Cette accumulation préférentielle de carbone récent dans cette fraction confirme (i) les résultats obtenus en conditions contrôlées déduits des analyses de $\delta^{13}C$: le carbone dérivant du maïs est stocké et stabilisé dans les limons fins et (ii) les résultats obtenus par d'autres auteurs décrit dans la première partie de ce paragraphe (Angers et al., 1997; Puget et al., 2000, 1995).

L'impact de la culture de luzerne sur la pollution de la terre NM a été suivi selon trois paramètres : (i) la teneur en matière organique extractible, (ii) la concentration en HAP totaux et (iii) le pourcentage de HAP disponibles. Dans les échantillons de terre globale des deux modalités, TN et MSm, la teneur en matière organique extractible tend à diminuer au cours des deux années et demie après la mise en place des parcelles lysimétriques. Cette diminution est un premier témoin de la dégradation de la matière organique anthropique. Le second témoin de cette dégradation est la diminution de la concentration en HAP totaux qui présente un taux d'abattement d'environ 30 % en six ans. Ce taux d'abattement est en accord avec (i) le taux de dégradation de 5 % par an mis en évidence par Ouvrard et al, (2011) pendant les quatre premières années de suivi des parcelles lysimétriques et (ii) le taux de décomposition de la matière organique naturelle (Schmidt et al., 2011). La distribution des HAP par nombre de cycles aromatiques qui les composent révèle une diminution des HAP composés de trois cycles suggérant qu'ils sont préférentiellement dégradés. Cette tendance à la diminution de la concentration en HAP totaux couplée à une diminution préférentielle des HAP composés de trois cycles aromatiques est également observée dans le cadre de l'expérimentation d'incubation de résidus végétaux. Néanmoins, le pourcentage d'abattement des HAP est moindre avec seulement 10 %. Cette différence de taux de dégradation entre les deux études peut s'expliquer par la présence des racines des végétaux dans le cas de l'expérimentation *in situ*, qui produisent en continu des exsudats racinaires permettant d'entretenir l'activité microbienne. De plus, dans le cas de l'expérimentation en conditions contrôlées, les résidus de maïs sont apportés en une seule fois au début de l'expérimentation stimulant la biomasse microbienne uniquement à la mise en place de l'expérimentation.

Toutefois, la combinaison de ces deux études, *in situ* et en conditions contrôlées, est en accord avec l'étude de Hultgren et al. (2009) qui comparent les effets de la croissance de végétaux (saule) ou d'apport de résidus de blés (5 g pour 100 g de sol) sur la dégradation des HAP dans un sol contaminé par de la créosote. Les auteurs montrent que la présence de saule a un effet positif sur la dégradation des HAP avec 100 % de dégradation pour le phénanthrène et le fluorène, 80 % de dégradation pour le pyrène, 90 % de dégradation pour l'acénaphtène et 84 % de dégradation pour le fluoranthène contre respectivement seulement 68 %, 81 %, 63 %, 79 % et 75 % de dégradation des HAP pour la modalité de contrôle non plantée. En revanche, ils montrent que la présence de résidus de blés n'a pas d'effet significatif sur la dégradation des HAP, les taux de dégradation sont identiques à ceux de la modalité de contrôle. Les auteurs expliquent cette absence d'effet significatif en présence de résidus végétaux par un détournement des communautés microbiennes (partie 1, § 4.2). Les auteurs expliquent également, qu'à l'inverse, la présence des plantes vivantes apporte d'autres sources de carbone tels que les rhizodépôts qui permettent de stimuler la croissance de bactéries présentes dans la rhizosphère du genre *Pseudomonas* et *Sphingomonas* qui ont la capacité de dégrader les HAP (Bamforth and Singleton, 2005). Ces bactéries étant également présentes dans la terre NM (Cébron et al., 2011, 2009), leur stimulation par la présence de luzerne peut expliquer la dégradation des HAP observée. Cependant, le même taux de dégradation des HAP est également observé pour la modalité non plantée, suggérant que la dégradation des HAP serait plutôt due à l'atténuation naturelle de la terre au cours de laquelle des processus de biodégradation bactérienne et d'oxydation abiotique se mettent en place (Biache et al., 2011) et que l'effet de la présence de végétaux sur la dégradation serait plus limité. Une différence reste notable au niveau des taux de dégradation des HAP entre l'étude de Hultgren et al. (2009) et l'étude de la terre NM. En effet, Hultgren et al. (2009) mettent en évidence des taux de dégradation supérieurs à 80 % alors qu'un suivi de la concentration des HAP de la terre NM de 6 années a seulement montré une tendance à la diminution avec un taux de dégradation de 30 %. Cette faible dégradation dans le cas de la terre NM est due à la très faible disponibilité des contaminants (chapitre III, § 2.4.3). Aucune mesure de disponibilité de la contamination n'est donnée dans l'étude de Hultgren et al. (2009), ce qui ne permet pas la comparaison avec la terre NM. Le suivi de la disponibilité des HAP pendant 6 ans dans les parcelles TN (aucune donnée au cours du temps pour la modalité MSm) a montré une tendance à la diminution de la disponibilité : pour TN de 0,9 % à l'automne 2005 à 0,4 % à l'automne 2010. Cette modalité étant laissée nue, la diminution de la disponibilité des HAP ne peut pas être due à la présence de végétaux. Il s'agit plutôt d'un effet du vieillissement de la

terre, phénomène connu pour diminuer la disponibilité (Oleszczuk, 2009). Après six ans d'expérimentation, la fraction limon fin présente le pourcentage de HAP disponibles le plus faible quelle que soit la modalité, plantée ou non, confirmant la stabilisation de la pollution dans cette fraction. En plus des processus de préservation présentés dans le chapitre III, la stabilisation de la matière organique anthropique dans les limons fins peut également s'expliquer par une dégradation biologique moins importante que dans les autres fractions. Il est admis que les bactéries n'ont pas accès aux pores de petite taille (inférieure à 0,8 µm - Kirchmann and Gerzabek, 1999), limitant ainsi la dégradation des HAP présents dans les LF. L'étude de Chang et al. (2013) confirme cette hypothèse. Ces auteurs montrent que la porosité plus importante dans les macroagrégats permet une meilleure dégradation d'hydrocarbures pétroliers.

Pour chacun de ces paramètres (incorporation de la MO fraîche et impact sur la pollution), les tendances observées avec l'expérimentation d'incubations de résidus végétaux en conditions contrôlées sont confirmées par les tendances observées pour l'expérimentation *in situ* : stockage du carbone frais dans les limons fins, diminution de la teneur en matière organique extractible, dégradation des HAP avec plus particulièrement dégradation des HAP composés de trois cycles et tendance à la diminution de la disponibilité des HAP, même si cette dernière était initialement très faible. Ces résultats similaires permettent donc de valider l'expérimentation d'incubation de résidus végétaux dans la terre NM : le comportement observé est le même que celui observé après une mise en culture de la terre en conditions réelles. L'expérimentation *in situ* confirme qu'une culture ne mobilise pas la pollution de la terre NM.

4. Conclusion

L'incorporation de carbone frais en conditions contrôlées sous forme de résidus de maïs dans la terre NM fortement contaminée en HAP et contenant presque exclusivement de la MO anthropique a été suivie pendant 15 mois afin d'évaluer les conséquences de cet apport sur la structure de la terre et sur la pollution en termes de concentration et de répartition. Le fractionnement granulodensimétrique de la terre met en évidence une tendance à l'agrégation des particules fines vers les sables grossiers probablement due (i) à l'augmentation de l'activité de la biomasse microbienne *via* la production d'exopolymères et (ii) à l'apport de

matière organique fraîche et à ses produits de dégradation qui cimentent les particules entre elles. Les différentes analyses réalisées sur les échantillons de terre globale et sur les fractions granulodensimétriques montrent que la matière organique fraîche additionnée est (i) préférentiellement dégradée dans les sables et (ii) accumulée dans les limons fins. Cette accumulation suggère que les limons fins protègent la matière organique, qu'elle soit d'origine naturelle ou anthropique. En terme de pollution, le faible taux de dégradation des HAP malgré les conditions d'incubation optimales et l'augmentation de l'activité microbienne suggère que les microorganismes, bien qu'adaptés à la dégradation des HAP, ne peuvent dégrader de plus grandes quantités de HAP en raison de leur trop faible disponibilité. Enfin, la tendance à la diminution de la disponibilité des HAP au cours du temps plus marquée dans les limons fins suggèrent que cette fraction granulodensimétrique stabilise la matière organique anthropique et que l'incorporation de la matière organique naturelle accélère cette stabilisation.

Un dispositif de parcelles lysimétriques remplies avec la terre NM selon deux modalités, terre nue et plantée avec de la luzerne et mycorhizée, a été utilisé afin de confronter les résultats obtenus en conditions contrôlées et de mettre en évidence l'impact d'une culture et non pas uniquement du carbone provenant des parties aériennes sur (i) la structure de la terre, (ii) le stockage de carbone et (iii) l'évolution de la pollution. Le fractionnement granulodensimétrique n'a pas montré d'évolution particulière lorsque la terre est laissée nue et l'absence de données lorsque la terre est cultivée avec de la luzerne n'a pas permis de confirmer la tendance à l'agrégation observée après l'ajout résidus de maïs. Les mesures de l'activité du ^{14}C ont montré que le carbone frais dérivant du végétal s'accumule dans les limons fins, en accord avec l'expérimentation en conditions contrôlées. Les différentes analyses réalisées sur la terre NM afin de suivre l'évolution de la pollution montrent une diminution de la teneur en matière organique extractible concomitante à une dégradation des HAP d'environ 30 %. Ces dégradations sont également mises en évidence avec l'expérimentation en conditions contrôlées mais avec des taux de dégradations inférieurs qui peuvent s'expliquer par le fait que le carbone frais, stimulant les microorganismes, est apporté en une seule fois au début de l'expérimentation, alors que dans le cas de l'expérimentation *in situ,* la production d'exsudats racinaires stimule en continu les microorganismes. Enfin, une tendance à la diminution de la disponibilité des HAP au cours du temps est observée mettant en évidence le vieillissement de la contamination. De plus, le plus faible pourcentage de

disponibilité dans les limons fins confirme la stabilisation de la pollution dans cette fraction mise en évidence avec l'expérimentation en conditions contrôlées.

Tous les paramètres étudiés présentent les mêmes tendances pour les deux expérimentations. Ainsi, l'expérimentation *in situ* permet de confirmer les conclusions de l'expérimentation en conditions contrôlées : le carbone frais apporté par une culture ne mobilise pas la pollution de la terre NM.

CONCLUSION GENERALE

UN MODELE D'ÉVOLUTION DE LA MO ANTHROPIQUE

Comprendre l'évolution des contaminants dans une terre de friche industrielle est nécessaire pour l'évaluation des risques et la bonne gestion des sites contaminés. Plusieurs questions se révèlent majeures pour comprendre cette évolution. Il est notamment essentiel (i) de déterminer la **localisation de la pollution** au sein des fractions granulodensimétriques de la terre, (ii) d'évaluer le **comportement des contaminants** en lien avec les autres particules organiques et minérales présentes dans la terre, (iii) de déterminer les facteurs qui contrôlent la **disponibilité de la pollution** et (iv) d'évaluer dans un **contexte de croissance de végétation**, son impact sur les processus d'agrégation et sur les polluants présents. En répondant à toutes ces questions, ce travail de thèse vise à contribuer à la compréhension de l'évolution à long terme de la dynamique des contaminants, particulièrement des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), dans une terre de friche industrielle historiquement contaminée.

En premier lieu, une **caractérisation la plus exhaustive possible de la terre** provenant de l'ancienne cokerie de Neuves-Maisons (NM) a été réalisée en faisant appel aux outils complémentaires de sciences du sol et de géochimie organique. Ces outils ont permis de caractériser d'une part (i) les constituants de la terre et (ii) de mettre en évidence les associations existantes entre ces différentes particules et (iii) de caractériser la pollution de la terre NM en termes de concentration, répartition et disponibilité. Les résultats ont montré que la terre NM est constituée de matériaux presque exclusivement d'origine anthropique que ce soit les matériaux minéraux avec des morceaux de briques, des ferrocyanures ou des billes de métal ou les matériaux organiques incluant du coke et du goudron. L'étude de la structure de la terre a mis en évidence une prédominance des sables grossiers qui portent, même si la concentration en pollution est limitée, une part importante de la charge globale en pollution de la terre. En parallèle, la fraction limon fin, nettement moins abondante que les sables, est la deuxième fraction porteuse de la pollution de la terre NM du fait de sa forte teneur en contaminant organique. Les limons fins semblent jouer un rôle de protection de la matière organique anthropique, révélé par la forte concentration en carbone organique total, en matière organique extractible et en HAP ainsi que par la faible disponibilité de ces derniers. Cette protection préférentielle de la matière organique anthropique dans cette fraction granulodensimétrique spécifique entraîne sa préservation. Elle semble à la fois concerner la matière organique extractible au solvant (incluant les HAP) mais également la matière organique particulaire (tel que le coke) contenant du goudron de houille occlus. Cette protection de la matière organique anthropique semble associée à la présence de phases

minérales réactives telles que les minéraux argileux et les oxydes de fer présents en plus grande proportion dans la fraction limon fin.

Suite à cette caractérisation, la terre NM a été « déstabilisée » (i) en éliminant de façon sélective une partie de la matière organique anthropique et (ii) en ajoutant de la matière organique naturelle fraîche afin de déterminer le rôle respectif de chacun de ces deux pools de matière organique dans la structure de la terre NM et dans l'évolution et la répartition de la pollution.

L'élimination d'une partie de la matière organique anthropique de la terre NM par trois solvants de polarité différente (dichlorométhane, *n*-hexane et eau chaude) a bien éliminé trois types de MO différents. Le DCM a éliminé la quasi-totalité de la matière organique extractible, l'eau chaude a éliminé très peu de matière organique extractible correspondant au carbone organique dissous et le *n*-hexane a conservé la fraction macromoléculaire polaire et n'a éliminé qu'une partie des maltènes. D'un point de vue de la structure de la terre, des résultats identiques dans le cas des extractions au DCM et à l'eau chaude et des résultats contradictoires dans le cas de l'extraction au *n*-hexane, en fonction des deux techniques d'extraction utilisées (ASE ou Soxhlet) ont été observés. Dans le cas de l'extraction au *n*-hexane, une désagrégation a été observée après extraction à l'ASE (forte pression appliquée) et inversement, une agrégation a été observée après extraction au Soxhlet. Ces différences d'évolution de structure peuvent s'expliquer par une quantité de maltènes extraits différente suivant la technique d'extraction utilisée : le système Soxhlet mobilisant quatre fois moins de matière organique extractible que l'ASE. Dans le cas des extractions au DCM et à l'eau chaude, une agrégation a été observée avec une augmentation de la proportion des sables grossiers et une diminution de la proportion des sables fins et des limons grossiers. Ainsi, excepté dans le cas de l'extraction au *n*-hexane par ASE, la matière organique anthropique ne semble pas avoir un rôle de liant entre les particules. De plus, les observations au MEB des différentes particules organiques ont montré qu'elles sont individuelles, sans autres particules agglomérées à leur surface, confirmant que la matière organique anthropique n'a pas un rôle de liant dans la structure de la terre NM.

L'incorporation de matière organique naturelle fraîche dans la terre NM a été réalisée de deux manières différentes : (i) en conditions contrôlées par ajout de résidus végétaux provenant uniquement des parties aériennes d'une plante (maïs) et (ii) en conditions réelles *in situ* à l'échelle de parcelles lysimétriques en cultivant de la luzerne. Ces deux types

d'expérimentations ont montré les mêmes tendances au cours du temps d'un point de vue agronomique et d'un point de vue évolution de la pollution. Dans un premier temps, l'incorporation de la matière organique naturelle fraîche a induit (i) une agrégation avec une augmentation de la proportion des sables grossiers et une diminution de la proportion des sables fins et des limons grossiers, cependant, cette agrégation n'a pas pu être confirmée par manque de données pour l'expérimentation *in situ* et (ii) une accumulation et une stabilisation du carbone frais dans les limons fins. Dans un second temps, l'incorporation de matière organique fraîche a induit une dégradation de la matière organique extractible et des HAP totaux d'environ 10 % dans le cas de l'expérimentation en conditions contrôlées et d'environ 30 % dans le cas de l'expérimentation *in situ*. La différence entre ces deux taux de dégradation peut s'expliquer par la stimulation des microorganismes qui a lieu uniquement au début de l'expérimentation dans le premier cas et tout au long de l'expérimentation par la production d'exsudats racinaires dans le second cas. Une diminution de la disponibilité des HAP a également été observée mettant en avant le vieillissement de la contamination. Cette diminution est particulièrement visible dans les limons fins, confirmant la stabilisation de la matière organique anthropique dans cette fraction. De plus, cette stabilisation se met en place plus tôt dans le temps en présence de matière organique fraîche suggérant que cette dernière accélère la stabilisation de la matière organique anthropique entraînant une surprotection des HAP. Ces résultats suggèrent donc que dans un contexte de croissance de plantes (e.g. phytoremédiation ou production de biomasse), le carbone apporté par la culture ne mobilisera pas la pollution de la terre NM. Ainsi, dans un contexte de phytoremédiation, cette non-mobilisation peut être un frein au traitement. En revanche, lorsque les risques sanitaires sont limités (absence ou faible transfert des polluants vers les biomasses ou les nappes) la valorisation de cette terre pour la production de biomasse végétale à vocation énergétique ou fibres pourrait être envisagée.

L'ensemble de ces informations permet de proposer un **modèle de fonctionnement et d'évolution de la pollution** de la terre NM (Figure 90). Dans la terre NM, la pollution n'est pas répartie de façon homogène au sein des différentes fractions granulodensimétriques. En effet, les limons fins contiennent plus de deux fois plus de HAP que les autres fractions. De plus, les limons fins, déjà fortement enrichis en HAP, renferment également de fortes quantités de goudrons de houille frais occlus (Figure 90-B). La prédominance de ces deux pools de HAP (extractibles au solvant et occlus) dans la fraction LF est liée aux processus de préservation qui semblent se mettre en place spécifiquement dans cette fraction. Lorsque la

terre est cultivée, deux processus sont observés : (i) une incorporation de la litière dans la terre se traduisant par une légère accumulation de matière organique fraîche dans les particules grossières (Figure 92-C). Aucun phénomène particulier n'est observé dans les limons fins au début de l'incorporation de la litière (Figure 92-D). (ii) Un second processus plus lent, est observé au cours du temps, lorsque la matière organique fraîche est dégradée. Les fragments incorporés dans les sables se dégradent (Figure 92-E) et s'accumulent dans les limons fins (Figure 92-F).

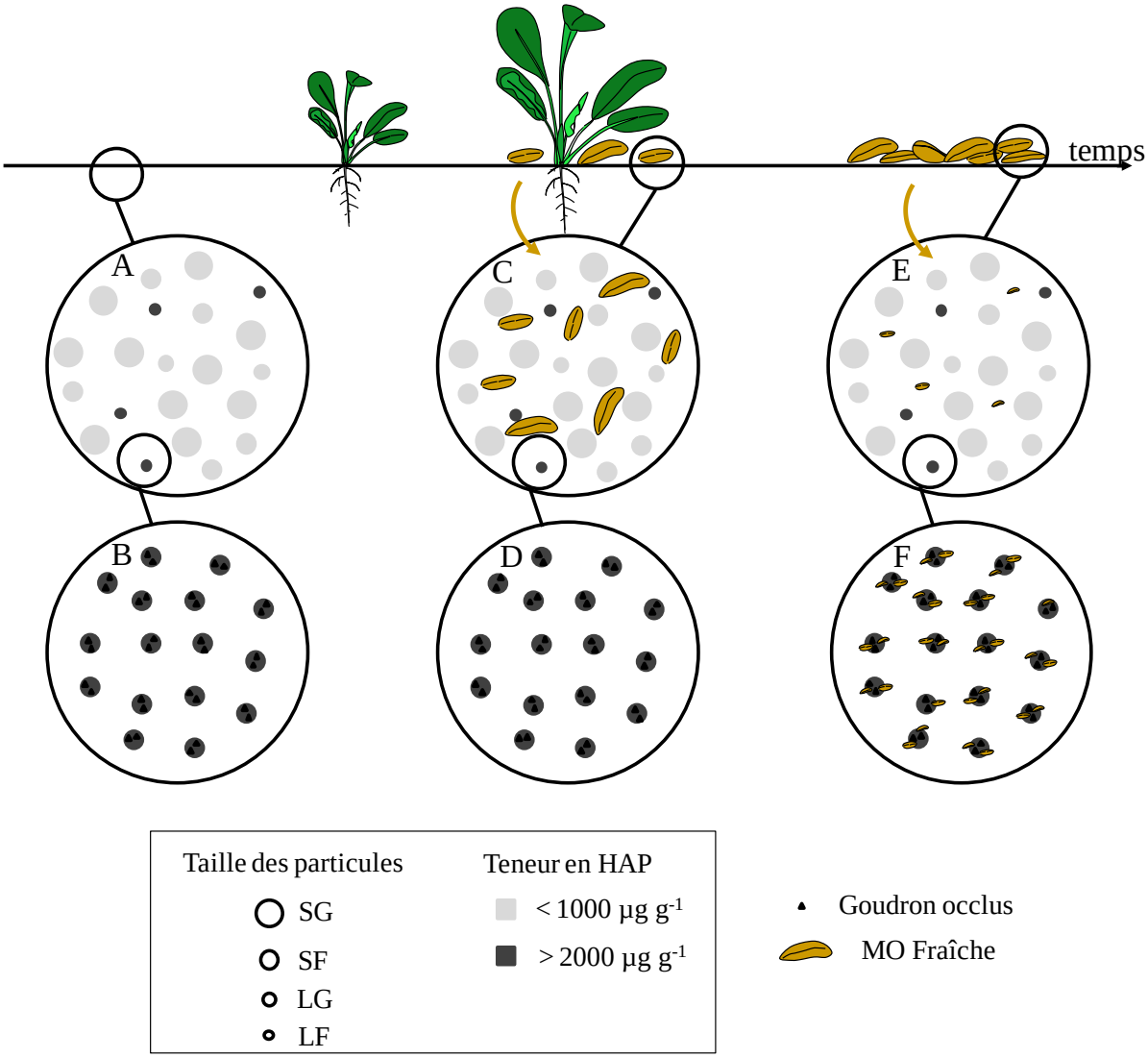

Figure 90 : Schéma représentant l'évolution de la pollution de la terre NM en présence de matière organique naturelle fraîche

Même si de nombreux points abordés au cours de ce travail de thèse ont permis de mieux appréhender le comportement d'une pollution dans un milieu complexe fortement anthropisé, il est évident que nombreuses questions doivent être encore abordées, et notamment :

1. Limons fins : une fraction à étudier de façon privilégiée

Nous avons mis en évidence que la fraction limon fin est la fraction la plus réactive de la terre NM. Il est nécessaire d'étudier cette fraction spécifiquement afin de mieux comprendre les processus de préservation qui se mettent en place au sein de cette fraction. En particulier, il s'agirait de déterminer si la stabilité de la pollution dans cette fraction est uniquement due à une trop faible disponibilité résultant d'une forte réactivité chimique des phases minérales et organiques présentes ou si elle est attribuable à une limitation d'accessibilité, la faible taille des pores des particules les rendant peu accessibles aux microorganismes. Des expérimentations d'augmentation artificielle de la disponibilité par préchauffage de la terre ou par extraction au solvant de la pollution et réintroduction dans la terre (Usman et al., 2012b Cébron et al., 2013) permettraient de répondre à cette question. De plus, des incubations sur les limons fins avec incorporation de résidus végétaux ou une culture permettraient également de vérifier l'hypothèse de la surprotection de la MO anthropique en présence de MO fraîche.

2. Goudrons occlus : quel risque sur le long terme ?

Nos travaux ont mis en évidence la présence de goudron de houille frais occlus dans la terre NM et particulièrement dans les limons fins. Ces goudrons occlus ne doivent pas être négligés et doivent être pris en compte dans l'estimation de la contamination potentielle de la terre et des risques associés. Pour cela, une quantification précise est indispensable. Cette quantification pourrait être réalisée par une pyrolyse « double shot » off line sous atmosphère inerte afin de collecter les produits et pouvoir les analyser et les quantifier précisément par CPG-SM. De plus, il serait nécessaire de déterminer l'énergie d'activation minimum permettant la libération de la pollution occluse. Il sera alors possible d'évaluer le potentiel de mobilisation des contaminants (par exemple, température atteinte à la surface d'un sol au soleil pendant de longue période) et de déterminer si ces composés représentent un risque pour la faune du sol et la végétation ou de transfert vers les eaux de surface ou souterraines. Des expérimentations de pyrolyse à températures croissantes couplées à des mesures de masse précises (ATG) permettraient de déterminer cette énergie d'activation minimum.

3. Le carbone organique dissous : une fraction mal connue dans les terres de cokerie

Nous avons mis en évidence que des extractions à l'eau de la terre NM mobilisent une partie du carbone organique. Une meilleure connaissance de la nature de cette fraction organique mobilisable par l'eau est indispensable si l'on souhaite déterminer les risques liés à la contamination de la terre et notamment les transferts vers les eaux de surfaces et/ou de nappe. En effet, les composés solubilisés lors des extractions à l'eau sont susceptibles d'être mobilisés par les eaux météoriques et d'être transférés, conduisant à une dissémination de la pollution. Une analyse de ce carbone organique par la combinaison de plusieurs techniques analytiques, notamment (i) par HPLC-SEC pour déterminer la taille des molécules extraites, (ii) par fluorescence 3D pour déterminer leurs empreintes spectroscopiques et les suivre dans l'environnement et (iii) par CPG-SM après isolation par extraction SPE (solid phase extraction) pour identifier et quantifier les composés. Il serait alors possible d'identifier l'origine de ces composés (anthropique *vs.* naturelle) et d'évaluer leur nocivité pour l'environnement (faune du sol, végétation, milieu aquatique) par le biais de tests d'écotoxicité. Ces tests compléteraient les premiers travaux réalisés par Manar et al. (2011) mettant en évidence la toxicité des cyanures.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Accardi-Dey, A., Gschwend, P.M., 2002. Assessing the combined roles of natural organic matter and black carbon as sorbents in sediments. Environmental Science and Technology 36, 21–29.

Achten, C., Hofmann, T., 2009. Native polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) in coals - A hardly recognized source of environmental contamination. Science of the Total Environment 407, 2461–2473.

AFNOR, 2004. Évaluation de la qualité des sols, Association Française de Normalisation, La Plaine Saint-Denis Cedex. ed.

Agarwal, T., Bucheli, T.D., 2011. Is black carbon a better predictor of polycyclic aromatic hydrocarbon distribution in soils than total organic carbon? Environmental Pollution 159, 64–70.

Ahn, S., Werner, D., Luthy, R.G., 2005. Physicochemical characterization of coke-plant soil for the assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon availability and the feasibility of phytoremediation. Environmental Toxicology and Chemistry 24, 2185–2195.

Alexander, M., 2000. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. Environmental Science and Technology 34, 4259–4265.

Allard, A.-S., Remberger, M., Neilson, A.H., 2000. The negative impact of aging on the loss of PAH components in a creosote-contaminated soil. International Biodeteriorioration and Biodegradation 46, 43–49.

Angers, D.A., Recous, S., Aita, C., 1997. Fate of carbon and nitrogen in water-stable aggregates during decomposition of (CN)-C-13-N-15-labelled wheat straw in situ. European Journal of Soil Science 48, 295–300.

Appert-Collin, J.C., Dridi-Dhaouadi, S., Simonnot, M.O., Sardin, M., 1999. Nonlinear sorption of naphtalene and phenanthrene during saturated transport in natural porous media. Phys. Chem. Earth Part B Hydrol. Oceans Atmosphere 24, 543–548.

Balesdent, J., Besnard, E., Arrouays, D., Chenu, C., 1998. The dynamics of carbon in particle-size fractions of soil in a forest-cultivation sequence. Plant and Soil 201, 49–57.

Bamforth, S.M., Singleton, I., 2005. Bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons: current knowledge and future directions. Journal of Chemical Technology and Biotechnology 80, 723–736.

Barnier, C., 2009. Disponibilité des HAP dans les sols de friches industrielles et influence des conditions rhizosphériques (Thèse de doctorat). Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy (France), 215 pages.

Barthe, M., Pelletier, É., Breedveld, G.D., Cornelissen, G., 2008. Passive samplers versus surfactant extraction for the evaluation of PAH availability in sediments with variable levels of contamination. Chemosphere 71, 1486–1493.

Bayard, R., Barna, L., Mahjoub, B., Gourdon, R., 2000. Influence of the presence of PAHs and coal tar on naphthalene sorption in soils. Journal of Contaminant Hydrology 46, 61–80.

Biache, C., 2010. Evolution des composants organiques d'un sol de cokerie en contexte d'atténuation naturelle (Thèse de doctorat). Université Henri Poincaré, Nancy (France), 414 pages.

Biache, C., Ghislain, T., Faure, P., Mansuy-Huault, L., 2011. Low temperature oxidation of a coking plant soil organic matter and its major constituents: An experimental approach to simulate a long term evolution. Journal of Hazardous Materials 188, 221–230.

Biache, C., Mansuy-Huault, L., Faure, P., Munier-Lamy, C., Leyval, C., 2008. Effects of thermal desorption on the composition of two coking plant soils: Impact on solvent extractable organic compounds and metal bioavailability. Environmental Pollution 156, 671–677.

Bogan, B.W., Sullivan, W.R., 2003. Physicochemical soil parameters affecting sequestration and mycobacterial biodegradation of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Chemosphere 52, 1717–1726–.

Bol, R., Eriksen, J., Smith, P., Garnett, M.H., Coleman, K., Christensen, B.T., 2005. The natural abundance of 13C, 15N, 34S and 14C in archived (1923–2000) plant and soil samples from the Askov long-term experiments on animal manure and mineral fertilizer. Rapid Communications in Mass Spectrometry 19, 3216–3226.

Bonneau, M., Souchier, B., 1994. Pédologie, Masson. ed.

Boutton, T.W., Archer, S.R., Midwood, A.J., Zitzer, S.F., Bol, R., 1998. δ13C values of soil organic carbon and their use in documenting vegetation change in a subtropical savanna ecosystem. Geoderma 82, 5–41.

Bravo-Garza, M.R., Bryan, R.B., Voroney, P., 2009. Influence of wetting and drying cycles and maize residue addition on the formation of water stable aggregates in Vertisols. Geoderma 151, 150–156.

Bravo-Garza, M.R., Voroney, P., Bryan, R.B., 2010. Particulate organic matter in water stable aggregates formed after the addition of C-14-labeled maize residues and wetting and drying cycles in vertisols. Soil Biology and Biochemistry 42, 953–959.

Bronick, C.J., Lal, R., 2005. Soil structure and management: a review. Geoderma 124, 3–22.

Budzinski, H., Jones, I., Bellocq, J., Piérard, C., Garrigues, P., 1997. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. Marine Chemistry 58, 85–97.

Callot, G., Chamayou H., Maertens C, Salsac L., 1982. Mieux comprendre les intéractions sol-racine : incidence sur la nutrition minérale.

Calvet, R., 2003. Le sol: propriétés et fonctions, France Agricole. ed. DUNOD.

Cébron, A., Beguiristain, T., Faure, P., Norini, M.-P., Masfaraud, J.-F., Leyval, C., 2009. Influence of vegetation on the in situ bacterial community and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degraders in aged PAH-contaminated or thermal-desorption-treated soil. Applied and Environmental Microbiology 75, 6322–6330.

Cébron, A., Faure, P., Lorgeoux, C., Ouvrard, S., Leyval, C., 2013. Experimental increase in availability of a PAH complex organic contamination from an aged contaminated soil: Consequences on biodegradation. Environmental Pollution 177, 98–105.

Cébron, A., Louvel, B., Faure, P., France-Lanord, C., Chen, Y., Murrell, J.C., Leyval, C., 2011. Root exudates modify bacterial diversity of phenanthrene degraders in PAH-polluted soil but not phenanthrene degradation rates. Environmental Microbiology. 13, 722–736.

Chang, W., Akbari, A., Snelgrove, J., Frigon, D., Ghoshal, S., 2013. Biodegradation of petroleum hydrocarbons in contaminated clayey soils from a sub-arctic site: The role of aggregate size and microstructure. Chemosphere 91, 1620–1626.

Colombano, S., Saada, A., Guerin, V., Bataillard, P., Bellenfant, G., Beranger, S., Hube, D., Blanc, C., Zornig, C., Girardeau, I., 2010. Quelles techniques pour quels traitements - Analyse coûts-bénéfices (No. BRGM/RP - 58609 - FR).

Corgié, S.C., Joner, E.J., Leyval, C., 2003. Rhizospheric degradation of phenanthrene is a function of proximity to roots. Plant and Soil 257, 143–150–.

Cornelissen, G., Rigterink, H., Ferdinandy, M.M.A., van Noort, P.C.M., 1998. Rapidly desorbing fractions of PAHs in contaminated sediments as a predictor of the extent of bioremediation. Environmental Science and Technology 32, 966–970.

Cornelissen, G., van Noort, P.C.M., Govers, H.A.J., 1997. Desorption kinetics of chlorobenzenes, polycyclic aromatic hydrocarbons, and polychlorinated biphenyls: Sediment extraction with Tenax® and effects of contact time and solute hydrophobicity. Environmental Toxicology and Chemistry 16, 1351–1357.

Cusack, D.F., Chadwick, O.A., Hockaday, W.C., Vitousek, P.M., 2012. Mineralogical controls on soil black carbon preservation. Global Biogeochemical Cycles 26.

Dawson, T.E., Mambelli, S., Plamboeck, A.H., Templer, P.H., Tu, K.P., 2002. Stable isotopes in plant ecology. Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics 33, 507–559.

Denef, K., Six, J., Merckx, R., Paustian, K., 2002. Short-term effects of biological and physical forces on aggregate formation in soils with different clay mineralogy. Plant and Soil 246, 185–200.

Doick, K.J., Burauel, P., Jones, K.C., Semple, K.T., 2005. Distribution of aged 14C−PCB and 14C−PAH residues in particle-size and humic fractions of an agricultural soil. Environmental Science and Technology 39, 6575–6583.

Duchaufour, P., 2001. Introduction à la science du sol. Dunod, Paris.

Duchêne, J.M., Isler, D., Yax, E., 1991. Elaboration du métal primaire Coke métallurgique. Techniques de l'ingénieur

Eijsackers, C. A. M. Van Gestel, S. De Jonge, B. Muijs, D. Slijkerman, 2001. Polycyclic aromatic hydrocarbon-polluted dredged peat sediments and earthworms: A Mutual Interference. Ecotoxicology 10, 35–50.

Farquhar, G.D., Ehleringer, J.R., Hubick, K.T., 1989. Carbon isotope discrimination and photosynthesis. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 40, 503–537.

Gaboriau, H., Saada, A., 2001. Influence of heavy organic pollutants of anthropic origin on PAH retention by kaolinite. Chemosphere 44, 1633–1639.

Gan, S., Lau, E.V., Ng, H.K., 2009. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Journal of Hazardous Materials 172, 532–549.

Glaser, B., 2005. Compound-specific stable-isotope (δ13C) analysis in soil science. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 168, 633–648.

Gobat, J.M., Aragno, M., Matthey, W., 1998. Le sol vivant, Lausanne. ed, Presses polytechniques et universitaires romandes.

Gomez-Eyles, J.L., Jonker, M.T.O., Hodson, M.E., Collins, C.D., 2012. Passive samplers provide a better prediction of PAH bioaccumulation in earthworms and plant roots than exhaustive, mild Solvent, and cyclodextrin extractions. Environmental Science and Technology 46, 962–969.

Haeseler, F., Blanchet, D., Druelle, V., Werner, P., Vandecasteele, J.-P., 1999. Analytical characterization of contaminated soils from former manufactured gas plants. Environmental Science and Technology 33, 825–830.

Haritash, A.K., Kaushik, C.P., 2009. Biodegradation aspects of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs): A review. Journal of Hazardous Materials 169, 1–15.

Hatzinger, P.B., Alexander, M., 1995. Effect of aging of chemicals in soil on their biodegradability and extractability. Environmental Science of Technology 29, 537–545.

Hawthorne, S.B., Poppendieck, D.G., Grabanski, C.B., Loehr, R.C., 2002. Comparing PAH availability from manufactured gas plant soils and sediments with chemical and biological tests. 1. PAH release during water desorption and supercritical carbon dioxide extraction. Environmental Science and Technology 36, 4795–4803.

Heim, A., Schmidt, M.W.I., 2007. Lignin is preserved in the fine silt fraction of an arable Luvisol. Organic Geochemistry 38, 2001–2011.

Hinsinger, P., Gobran, G.R., Gregory, P.J., Wenzel, W.W., 2005. Rhizosphere geometry and heterogeneity arising from root-mediated physical and chemical processes. New Phytologist 168, 293–303.

Honeyman, B.D., Santschi, P.H., 1988. Metals in aquatic systems. Environmental Science and Technology 22, 862–871.

Hong, L., Luthy, R.G., 2008. Uptake of PAHs into polyoxymethylene and application to oil-soot (lampblack)-impacted soil samples. Chemosphere 72, 272–281.

Hultgren, J., Pizzul, L., Castillo, M. del P., Granhall, U., 2009. Degradation of PAH in a creosote-contaminated soil. A comparison between the effects of willows (Salix Viminalis), wheat straw and a nonionic surfactant. International Journal of Phytoremediation 12, 54–66.

Jeanneau, L., 2007. Approche moléculaire quantitative appliquée à l'étude du transfert de microplluants organiques à la confluence entre la Fensch et la Moselle (France). Thèse de doctorat. Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy (France), 367 pages.

Jeanneau, L., Faure, P., 2010. Quantification of fossil organic matter in contaminated sediments from an industrial watershed: Validation of the quantitative multimolecular approach by radiocarbon analysis. Science of Total Environment 408, 4251–4256.

Jeanneau, L., Faure, P., Montarges-Pelletier, E., Ramelli, M., 2006. Impact of a highly contaminated river on a more important hydrologic system: Changes in organic markers. Science of Total Environment 372, 183–192.

Jenkinson, D.S., 1966. Studied on the decomposition of plant material in soil II. Partial sterilization of soil and the soil biomass. Journal of Soil Science 280–302.

Joergensen, 1996. The fumigation-extraction method to estimate soil microbial biomass: Calibration of the kEC value. Soil Biology and Biochemistry 28, 25–31.

Johnson, D.L., Maguire, K.L., Anderson, D.R., McGrath, S.P., 2004. Enhanced dissipation of chrysene in planted soil: the impact of a rhizobial inoculum. Soil Biology Biochemistry 36, 33–38.

Kélomé, N.C., Faure, P., Mathieu, O., Lévêque, J., Oyédé, L.M., 2012. Evidence of organic contamination in urban soils of Cotonou town (Benin). Bristish Journal of Environment and Climate Change 99–112.

Kelsey, J.W., Kottler, B.D., Alexander, M., 1997. Selective chemical extractants to predict bioavailability of soil-aged organic chemicals. Environment Science and Technology 31, 214–217.

Khan, F.I., Husain, T., Hejazi, R., 2004. An overview and analysis of site remediation technologies. Journal Environmental. Management 71, 95–122.

Killops, S., Killops, V., 2005. Introduction to organic geochemistry, 2nd ed. Oxford.

Kirchmann, H., Gerzabek, M.H., 1999. Relationship between soil organic matter and micropores in a long-term experiment at Ultuna, Sweden. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 162, 493–498.

Kononova, M.M., 1966. Soil Organic Matter, its nature, its role in soil formation and in soil fertility, Pergamon Press. ed.

Kristiansen, S.M., Hansen, E.M., Jensen, L.S., Christensen, B.T., 2005. Natural 13C abundance and carbon storage in Danish soils under continuous silage maize. European Journal of Agronomy 22, 107–117.

Kuzyakov, Y., Gavrichkova, O., 2010. REVIEW: Time lag between photosynthesis and carbon dioxide efflux from soil: a review of mechanisms and controls. Global Change Biology 16, 3386–3406.

Laurent, F., Cébron, A., Schwartz, C., Leyval, C., 2012. Oxidation of a PAH polluted soil using modified Fenton reaction in unsaturated condition affects biological and physico-chemical properties. Chemosphere 86, 659–664.

Leyval, C., Binet, P., 1998. Effect of polyaromatic hydrocarbons in soil on arbuscular mycorrhizal plants. Journal Environmental Quality 27, 402–407.

Li, H., Chen, J., Wu, W., Piao, X., 2010. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in different size fractions of soil from a coke oven plant and its relationship to organic carbon content. Journal of Hazardous Materials 176, 729–734.

Liao, X., Ma, D., Yan, X., Yang, L., 2013. Distribution pattern of polycyclic aromatic hydrocarbons in particle-size fractions of coking plant soils from different depth. Environmental Geochemistry and Health 35, 271–282.

Liao, Y., Geng, A., Huang, H., 2009. The influence of biodegradation on resins and asphaltenes in the Liaohe Basin. Organic Geochemistry 40, 312–320.

Ling, W., Zeng, Y., Gao, Y., Dang, H., Zhu, X., 2010. Availability of polycyclic aromatic hydrocarbons in aging soils. Journal of Soils and Sediments 10, 799–807.

Liste, H.-H., Alexander, M., 2002. Butanol extraction to predict bioavailability of PAHs in soil. Chemosphere 46, 1011–1017.

Lorenzi, D., Cave, M., Dean, J.R., 2010. An investigation into the occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in two soil size fractions at a former industrial site in NE England, UK using in situ PFE-GC-MS. Environmental Geochemistry and Health. 32, 553–565.

Louvel, B., 2010. Etude en microcosmes de l’effet du ray-grass et de ses exsudats racinaires sur la dissipation des HAP et les communautés bactériennes dégradantes (Thèse de doctorat). Université Henri Poincaré, Nancy (France), 207 pages.

Lu, X.-Y., Zhang, T., Fang, H.H.-P., 2011. Bacteria-mediated PAH degradation in soil and sediment. Applied Microbiology and Biotechnology 89, 1357–1371.

Lu, Z., Zeng, F., Xue, N., Li, F., 2012. Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in organo-mineral particles of alluvial sandy soil profiles at a petroleum-contaminated site. Science of Total Environment 433, 50–57.

Luthy, R.G., Dzombak, D.A., Peters, C.A., Roy, S.B., Ramaswami, A., Nakles, D.V., Nott, B.R., 1994. Remediating tar-contaminated soils at manufactured gas plant sites. Environmental Science and Technology 28, 266A–276A.

Luthy, R.G., Ramaswami, A., Ghoshal, S., Merkel, W., 1993. Interfacial films in coal tar nonaqueous-phase liquid-water systems. Environmental Science and Technology 27, 2914–2918.

Lützow, M. v., kögel-Knaber, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions. European Journal of Soil Science 57 426–445.

Macek, T., Macková, M., Kás, J., 2000. Exploitation of plants for the removal of organics in environmental remediation. Biotechnology Advances 18, 23–34.

MacRae, J.D., Hall, K.J., 1998. Comparison of methods used to determine the availability of polycyclic aromatic hydrocarbons in marine sediment. Environmental Science and Technology 32, 3809–3815.

Manar, R., Bonnard, M., Rast, C., Veber, A.-M., Vasseur, P., 2011. Ecotoxicity of cyanide complexes in industrially contaminated soils. Journal of Hazardous Materials 197, 369–377.

Mandalakis, M., Gustafsson, Ö., Alsberg, T., Egebäck, A.-L., Reddy, C.M., Xu, L., Klanova, J., Holoubek, I., Stephanou, E.G., 2005. Contribution of biomass burning to atmospheric polycyclic aromatic hydrocarbons at three european background sites. Environmental Science and Technology 39, 2976–2982.

Marschner, B., Brodowski, S., Dreves, A., Gleixner, G., Gude, A., Grootes, P.M., Hamer, U., Heim, A., Jandl, G., Ji, R., Kaiser, K., Kalbitz, K., Kramer, C., Leinweber, P., Rethemeyer, J., Schaeffer, A., Schmidt, M.W.I., Schwark, L., Wiesenberg, G.L.B., 2008. How relevant is recalcitrance for the stabilization of organic matter in soils? Journal of Plant Nutrition and Soil Science 171, 91–110.

Mazeas, L., Budzinski, H., 2002. Improved accuracy of GC-MS quantification of aliphatic and aromatic hydrocarbons in marine sediments and petroleums. Validation on reference matrices and application to the Erika oil spill. International Journal of Environmental Analytical Chemistry 82, 157–173.

Menzie, C.A., Potocki, B.B., Santodonato, J., 1992. Exposure to carcinogenic PAHs in the environment. Environmental Science and Technology 26, 1278–1284.

Micic, V., Kruge, M.A., Köster, J., Hofmann, T., 2011. Natural, anthropogenic and fossil organic matter in river sediments and suspended particulate matter: A multi-molecular marker approach. Science of Total Environment 409, 905–919.

Monserie, M.F., 2009. Processus d'agrégation dans un technosol : contribution des constituants anthropiques (oxydes de fer, laitier, HAP, ETM) à la formation des associations organo-minérales (Thèse de doctorat). Institut National Polytechnique de Lorraine, Nancy (France), 185 pages.

Monserie, M.F., Watteau, F., Villemin, G., Ouvrard, S., Morel, J.L., 2009. Technosol genesis : Identification of organo-mineral associations in a young Technosol derived from coking plant waste materials. Journal of Soils and Sediments 537–546.

Moore, D.M., Reynolds, R.C., 1997. X-ray diffraction and the identification and analysis of clays minerals, Oxford, second edition. ed.

Muhammad, S., Müller, T., Mayer, J., Joergensen, R.G., 2006. Impact of growing maize (Zea mays) on the decomposition of incorporated fresh alfalfa residues. Biology and Fertility of Soils 43, 399–407.

Murphy, E.M., Zachara, J.M., Smith, S.C., 1990. Influence of mineral-bound humic substances on the sorption of hydrophobic organic compounds. Environmental Science and Technology 24, 1507–1516.

Ockenden, W.A., Breivik, K., Meijer, S.N., Steinnes, E., Sweetman, A.J., Jones, K.C., 2003. The global re-cycling of persistent organic pollutants is strongly retarded by soils. Environmental Pollution 121, 75–80.

Oleszczuk, P., 2009. Application of three methods used for the evaluation of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) bioaccessibility for sewage sludge composting. Bioresources and Technology 100, 413–420.

Ouvrard, S., Barnier, C., Bauda, P., Beguiristain, T., Biache, C., Bonnard, M., Caupert, C., Cébron, A., Cortet, J., Cotelle, S., Dazy, M., Faure, P., Masfaraud, J.F., Nahmani, J., Palais, F., Poupin, P., Raoult, N., Vasseur, P., Morel, J.L., Leyval, C., 2011. In situ assessment of phytotechnologies for multicontaminated soil management. International Journal of Phytoremediation 13, 245–263.

Ouvrard, S., Leglize, P., Morel, J.L., 2014. PAH phytoremediation: rhizodegradation or rhizoattenuation? International Journal of Phytoremediation 16, 46–61.

Pan, B., Xing, B., Tao, S., Liu, W., Lin, X., Xiao, Y., Dai, H., Zhang, X., Zhang, Y., Yuan, H., 2007. Effect of physical forms of soil organic matter on phenanthrene sorption. Chemosphere 68, 1262–1269.

Pan, B., Xing, B.S., Liu, W.X., Tao, S., Lin, X.M., Zhang, X.M., Zhang, Y.X., Xiao, Y., Dai, H.C., Yuan, H.S., 2006. Distribution of sorbed phenanthrene and pyrene in different humic fractions of soils and importance of humin. Environmental Pollution 143, 24–33.

Peng, R.-H., Xiong, A.-S., Xue, Y., Fu, X.-Y., Gao, F., Zhao, W., Tian, Y.-S., Yao, Q.-H., 2008. Microbial biodegradation of polyaromatic hydrocarbons. FEMS Microbiology Review 32, 927–955.

Pernot, A., Ouvrard, S., Leglize, P., Faure, P., 2013. Protective role of fine silts for PAH in a former industrial soil. Environmental Pollution 179, 81–87.

Pignatello, J.J., Xing, B., 1996. Mechanisms of Slow Sorption of Organic Chemicals to Natural Particles. Environmental Science and Technology 30, 1–11.

Potthoff, M., Dyckmans, J., Flessa, H., Muhs, A., Beese, F., Joergensen, R.G., 2005. Dynamics of maize (Zea mays L.) leaf straw mineralization as affected by the presence of soil and the availability of nitrogen. Soil Biology and Biochemistry 37, 1259–1266.

Puget, P., Chenu, C., Balesdent, J., 1995. Total and young organic matter distributions in aggregates of silty cultivated soils. European Journal Soil Science 46, 449–459.

Puget, P., Chenu, C., Balesdent, J., 2000. Dynamics of soil organic matter associated with particle-size fractions of water-stable aggregates. European Journal of Soil Science 51, 595–605.

Reichenberg, F., Karlson, U.G., Gustafsson, O., Long, S.M., Pritchard, P.H., Mayer, P., 2010. Low accessibility and chemical activity of PAHs restrict bioremediation and risk of exposure in a manufactured gas plant soil. Environmental Pollution 158, 1214–1220.

Reid, B.J., Jones, K.C., Semple, K.T., 2000. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments--a perspective on mechanisms, consequences and assessment. Environmental Pollution 108, 103–112.

Reid, B.J., Stokes, J.D., Jones, K.C., Semple, K.T., 2000. Nonexhaustive cyclodextrin-based extraction technique for the evaluation of PAH bioavailability. Environmental Science and Technology 34, 3174–3179.

Ressler, B.P., Kneifel, H., Winter, J., 1999. Bioavailability of polycyclic aromatic hydrocarbons and formation of humic acid-like residues during bacterial PAH degradation. Applied Microbiology and Biotechnology 53, 85–91.

Rethemeyer, J., Grootes, P., Bruhn, F., Andersen, N., Nadeau, M.., Kramer, C., Gleixner, G., 2004. Age heterogeneity of soil organic matter. Nuclear Instruments Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms 223–224, 521–527.

Rethemeyer, J., Kramer, C., Gleixner, G., John, B., Yamashita, T., Flessa, H., Andersen, N., Nadeau, M.-J., Grootes, P.M., 2005. Transformation of organic matter in agricultural soils: radiocarbon concentration versus soil depth. Geoderma 128, 94–105.

Roskam, G.D., Comans, R.N.J., 2009. Availability and leaching of polycyclic aromatic hydrocarbons: Controlling processes and comparison of testing methods. Waste Management 29, 136–142.

Rovira, P., Vallejo, V.R., 2000. Decomposition of Medicago sativa debris incubated at different depths under mediterranean climate. Arid Soil Research and Rehabilitation 14, 265–280.

Schmidt, M.W.I., Torn, M.S., Abiven, S., Dittmar, T., Guggenberger, G., Janssens, I.A., Kleber, M., Kögel-Knabner, I., Lehmann, J., Manning, D.A.C., Nannipieri, P., Rasse, D.P., Weiner, S., Trumbore, S.E., 2011. Persistence of soil organic matter as an ecosystem property. Nature 478, 49–56.

Schwitzguebel, J.-P., Comino, E., Plata, N., Khalvati, M., 2011. Is phytoremediation a sustainable and reliable approach to clean-up contaminated water and soil in Alpine areas? Environmental Science and Pollution Research 18, 842–856.

Semple, K.T., Doick, K.J., Jones, K.C., Burauel, P., Craven, A., Harms, H., 2004. Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediment is complicated. Environmental Science and Technology 38, 228A–231A.

Semple, K.T., Morriss, A.W.J., Paton, G.I., 2003. Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis. European Journal of Soil Science 54, 809–818–.

Séré, G., 2007. Fonctionnement et évolution pédogénétique de Technosols issus d'un procédé de construction de sol (Thèse de doctorat). Institut National Polytechnique de Lorraine, 228 pages.

Silliman, J.E., Meyers, P.A., Eadie, B.J., 1998. Perylene: an indicator of alteration processes or precursor materials? Organic Geochemistry 29, 1737–1744.

Six, J., Bossuyt, H., Degryze, S., Denef, K., 2004. A history of research on the link between (micro)aggregates, soil biota, and soil organic matter dynamics. Soil Tillage Research 79, 7–31.

Soltner, D., 1979. Les bases de la production végétale, 8e édition. ed, Sciences et techniques agricoles. Le clos Lorelle.

Sterckeman, T., Ouvrard, S., Leglize, P., 2011. Phytoremédiation des sols. Techniques de l' Ingénieur.

Stokes, J.D., Wilkinson, A., Reid, B.J., Jones, K.C., Semple, K.T., 2005. Prediction of polycyclic aromatic hydrocarbon biodegradation in contaminated soils using an aqueous hydroxypropyl-β-cyclodextrin extraction technique. Environmental Toxicology and Chemistry 24, 1325–1330.

Susarla, S., Medina, V.F., McCutcheon, S.C., 2002. Phytoremediation: An ecological solution to organic chemical contamination. Ecological Engineering. 18, 647–658.

Tang, J., Liste, H.-H., Alexander, M., 2002. Chemical assays of availability to earthworms of polycyclic aromatic hydrocarbons in soil. Chemosphere 48, 35–42.

Tang, X., Ellert, B.H., Hao, X., Ma, Y., Nakonechny, E., Li, J., 2012. Temporal changes in soil organic carbon contents and δ13C values under long-term maize–wheat rotation systems with various soil and climate conditions. Geoderma 183–184, 67–73.

Ten Hulscher, T.E.M., Postma, J., den Besten, P.J., Stroomberg, G.J., Belfroid, A., Wegener, J.W., Faber, J.H., van der Pol, J.J.C., Hendriks, A.J., van Noort, P.C.M., 2003. Tenax extraction mimics benthic and terrestrial bioavailability of organic compounds. Environmental Toxicology and Chemistry 22, 2258–2265.

Thion, C., Cébron, A., Beguiristain, T., Leyval, C., 2012. Long-term in situ dynamics of the fungal communities in a multi-contaminated soil are mainly driven by plants. FEMS Microbiology and Ecology 82, 169–181.

Trapp, S., Karlson, U., 2001. Aspects of phytoremediation of organic pollutants. Journal of Soils and Sediments 1, 7 pages.

Usman, M., Faure, P., Hanna, K., Abdelmoula, M., Ruby, C., 2012a. Application of magnetite catalyzed chemical oxidation (Fenton-like and persulfate) for the remediation of oil hydrocarbon contamination. Fuel 96, 270–276.

Usman, M., Faure, P., Ruby, C., Hanna, K., 2012b. Remediation of PAH-contaminated soils by magnetite catalyzed Fenton-like oxidation. Applied Catalysis B: Environmental 117–118, 10–17.

Uyttebroek, M., Breugelmans, P., Janssen, M., Wattiau, P., Joffe, B., Karlson, U., Ortega-Calvo, J.J., Bastiaens, L., Ryngaert, A., Hausner, M., Springael, D., 2006. Distribution of the Mycobacterium community and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) among different size fractions of a long-term PAH-contaminated soil. Environmental Microbiology 8, 836–847.

Vance, E.D., Brookes, P.C., Jenkinson, D.S., 1987. An extraction method for measuring soil microbial biomass C. Soil Biology and Biochemistry 703–707.

Wang, F., Bu, Q., Xia, X., Shen, M., 2011. Contrasting effects of black carbon amendments on PAH bioaccumulation by Chironomus plumosus larvae in two distinct sediments: Role of water absorption and particle ingestion. Environmental Pollution 159, 1905–1913.

Watteau, F., Villemin, G., Burtin, G., Jocteur-Monrozier, L., 2006. Root impact on the stability and types of micro- aggregates in silty soil under maize. European Journal of Soil Science 57, 247–257.

White, J.C., Kelsey, J.W., Hatzinger, P.B., Alexander, M., 1997. Factors affecting sequestration and bioavailability of phenanthrene in soils. Environmental Toxicology and Chemistry 16, 2040–2045.

Wilcke, W., 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil - a review. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 163, 229–248.

Yang, W., Lampert, D., Zhao, N., Reible, D., Chen, W., 2012. Link between black carbon and resistant desorption of PAHs on soil and sediment. Journal of Soils and Sediments 12, 713–723.

Yang, Y., Ligouis, B., Pies, C., Grathwohl, P., Hofmann, T., 2008. Occurrence of coal and coal-derived particle-bound polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a river floodplain soil. Environmental Pollution 151, 121–129.

Yang, Y., Zhang, N., Xue, M., Tao, S., 2010. Impact of soil organic matter on the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils. Environmental Pollution 158, 2170–2174.

Zhang, W., Wei, C., Feng, C., Yu, Z., Ren, M., Yan, B., Peng, P., Fu, J., 2011. Distribution and health-risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils at a coking plant. Journal of Environmental Monitoring 13, 3429–3436.

Zhou, H., Peng, X., Perfect, E., Xiao, T., Peng, G., 2013. Effects of organic and inorganic fertilization on soil aggregation in an Ultisol as characterized by synchrotron based X-ray micro-computed tomography. Geoderma 195–196, 23–30.

LISTE DES FIGURES

Introduction

Figure 1 : Photographies des terres et sols retrouvés sur le site de l'ancienne cokerie d'Homécourt (Meurthe et Moselle, France) 1

Chapitre 1

Figure 2 : Fractionnement de la matière organique 9
Figure 3 : Composition en hydrocarbures aliphatiques, hydrocarbures aromatiques, composés polaires et asphaltènes d'un goudron de houille, de deux terres de cokerie, d'un pétrole et d'une terre de raffinerie (Biache, 2010) 10
Figure 4 : Exemples d'hydrocarbures aliphatiques 12
Figure 5 : Formule développée, nom et masse moléculaire des 16 HAP de la liste prioritaire de l'agence pour la protection de l'environnement des Etats-Unis (US-EPA) (Jeanneau, 2007) 13
Figure 6 : Mécanismes d'adsorption et de diffusion entre un polluant et les particules de sol (Semple et al, 2003) 16
Figure 7 : Schéma général définissant la disponibilité 17
Figure 8 : Les différentes techniques de phytoremédiation (adapté de Sterckeman et al., 2011) 26
Figure 9 : Classes granulométriques des constituants inorganiques d'un sol 28
Figure 10 : Diagramme de Van Krevelen de quelques molécules héritées du vivant, de quelques MO fossiles, des macromolécules humifiées ainsi que de deux goudrons de houille (Haeseler et al., 1999; Killops and Killops, 2005) 29

Chapitre II

Figure 11 : Protocole de fractionnement granulodensimétrique (« %SG » signifie que l'étape permet de déterminer la proportion de la fraction considérée et « SG » signifie que l'étape permet de récupérer la fraction) 40
Figure 12 : Tamisage des sables 41
Figure 13 : Siphonage des limons fins 43
Figure 14 : Schéma du remplissage des cellules de l'ASE 51
Figure 15 : Principe de l'extraction Soxhlet 52
Figure 16 : Schéma du déroulement du fractionnement sur alumine 54
Figure 17 : Schéma du déroulement du fractionnement sur silice 55
Figure 18 : Interface et canne chauffante du pyrolyseur 60
Figure 19 : Plan des expérimentations et analyses 63

Chapitre III

Figure 20 : Organigramme des méthodes et analyses utilisées tout au long du chapitre III .. 68
Figure 21 : Comparaison entre la texture et la structure de la terre NM (n = 8 pour la structure et n = 20 pour la texture) 69
Figure 22 : Distribution volumique des particules composant la terre globale NM 70
Figure 23 : Photos des principales particules constituant les sables de la terre NM : a) sables grossiers, b) sables fins, c) particule de goudron, d) particule vitreuse, e) particule de brique, f) particule de ferrocyanure, g) agglomérats de particules grises et h) billes métalliques 72
Figure 24 : Photographies des types de particules minérales observées dans la terre NM : a) bille d'oxyde de fer, b) gypse, c) billes de silicates sur une particule de carbone, d) oxyde de fer dans une matrice d'apatite et e) pyrite 73
Figure 25 : Photographies de particules minérales anthropiques observées en pétrographie organique : a) spinel, b) sphère de verre et c) spinel et mullite 74
Figure 26: Diffractogrammes de poudre de la terre globale des limons grossiers et des limons fins montrant la présence de minéraux argileux (chlorite, illite, kaolinite), quartz, oxydes de fer (magnétite, hématite, wuestite, goethite), magnésiochromite, feldspaths (orthose, albite), sulfates (gypse, bassanite) et calcite 75
Figure 27 : Observations au MEB des particules organiques de la terre NM : a) coke, b) charbon ou goudron et c) particule présentant un aspect "sale" 76
Figure 28 : Photographies des particules organiques de la terre NM observées en pétrographie organique : a) coke, b) charbon, c) anthracite et d) goudron 77
Figure 29 : Concentration en matière organique extractible dans les fractions granulodensimétriques et dans la terre globale (n = 3) 79
Figure 30 : Répartition de la MOE dans les fractions granulodensimétriques 80
Figure 31 : Chromatogrammes de la matière organique extractible totale de la terre globale et des fractions granulodensimétriques (cf Tableau 5 pour identification) 81
Figure 32 : Répartition de chaque famille de composés dans les fractions granulodensimétriques et dans la terre globale 83
Figure 33 : Chromatogrammes des hydrocarbures aliphatiques (ALI), des hydrocarbures aromatiques (ARO) et des composés polaires (POL) constituant la MOE de la terre globale (cf Tableau 5 pour identification) 84
Figure 34 : Distribution des 16 HAP US-EPA classés par nombre de cycles aromatiques dans les fractions granulodensimétriques et dans la terre globale 86
Figure 35 : Concentration en phénanthrène en fonction de la concentration en anthracène dans les fractions granulodensimétriques et la terre globale 86
Figure 36 : Pourcentage de HAP disponibles par rapport aux HAP totaux dans les fractions granulodensimétriques et la terre globale (n =3) 87
Figure 37 : Pyrogramme obtenu après pyrolyse à 620°C du résidu d'extraction de la terre globale (cf Tableau 7 pour identification) 89
Figure 38 : Pyrogramme obtenu après pyrolyse à 620°C de la terre globale avant extraction de la MO au solvant (cf Tableau 7 pour identification) 89
Figure 39 : Pyrogramme obtenu après pyrolyse à 400°C du résidu d'extraction de la terre globale 91

Figure 40 : Identification des composés détectés après la pyrolyse "double shot" sur le résidu d'extraction de la terre globale (cf Tableau 7 pour identification) 91
Figure 41 : Pyrogrammes obtenus après pyrolyse à 620°C des résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques (cf Tableau 7 pour identification) 93
Figure 42 : Pyrogrammes obtenus après pyrolyse à 400°C des résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques (cf Tableau 7 pour identification) 95
Figure 43 : Pyrogrammes obtenus après pyrolyse "double-shot" des résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques 97

Chapitre IV

Figure 44 : Quantité de MOE après 12 extractions successives au DCM ou au n-hexane ou de COD après 12 extractions successives à l'eau chaude permettant de déterminer un nombre optimal d'extractions 109
Figure 45 : Pourcentage cumulé de MOE après 12 extractions successives au DCM ou au n-hexane et de COD après 12 extractions successives à l'eau chaude 109
Figure 46 : Organigramme des méthodes et analyses utilisées tout au long du chapitre IV 112
Figure 47 : Distribution des agrégats et/ou particules stables à l'eau des modalités Témoin et pré-extraites au solvant (Eau chaude, Hexane et DCM) (n = 8) 113
Figure 48 : Comparaison des structures obtenues sur les modalités DCM, Hexane et eau chaude après une pré-extraction réalisée à l'ASE ou au Soxhlet (n =8). Le test statistique (ANOVA p = 0,05) a été réalisé séparément pour chaque modalité afin de comparer l'extraction à l'ASE avec l'extraction au Soxhlet. 115
Figure 49 : Distribution en masse des molécules composant l'extrait organique de la pré-extraction au n-hexane et de la MOE de la terre globale Témoin 117
Figure 50 : Chromatogrammes des hydrocarbures aliphatiques (ALI), des hydrocarbures aromatiques (ARO) et des composés polaires (POL) de l'extrait organique obtenu pendant la pré-extraction au n-hexane (cf Tableau 13 pour identification) 118
Figure 51 : Quantité de MOE éliminée au cours de la pré-extraction et quantité de MOE résiduelle pour les modalités DCM, Hexane et Témoin 120
Figure 52 : Concentration en MOE résiduelle dans les fractions granulodensimétriques et dans l'échantillon global des modalités pré-extraites au solvant et de la modalité Témoin (n = 3) 121
Figure 53 : Concentration en HAP dans les fractions granulodensimétriques et dans l'échantillon global des modalités pré-extraites au solvant et de la modalité Témoin 122

Chapitre V

Figure 54 : Organigramme des méthodes et analyses utilisées tout au long de la partie 1 du chapitre V 132
Figure 55 : Parcelles de la ferme expérimentale de l'ENSAIA "La Bouzule" plantées avec du maïs 133

Figure 56 : Estimation de la biomasse microbienne dans les modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 4) 136
Figure 57 : Évolution de la structure des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 4) 138
Figure 58 : Évolution du carbone dérivant du maïs au sein des fractions granulodensimétriques et de l'échantillon de terre globale de la modalité M10 (n = 3) 142
Figure 59 : Concentration en matière organique extractible dans les trois modalités de terre globale ainsi que dans leurs fractions granulodensimétriques au cours des 15 mois d'incubation (n = 3) 144
Figure 60 : Évolution des concentrations en HAP totaux des échantillons de terre globale et des fractions granulodensimétriques des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation 145
Figure 61 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les trois modalités globales au cours des 15 mois d'incubation 146
Figure 62 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les sables grossiers des trois modalités au cours des 15 mois d'incubation 147
Figure 63 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les sables fins des trois modalités au cours des 15 mois d'incubation 147
Figure 64 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les limons grossiers des trois modalités au cours des 15 mois d'incubation 148
Figure 65 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les limons fins des trois modalités au cours des 15 mois d'incubation 148
Figure 66 : Évolution du pourcentage de HAP disponibles dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques au cours des 15 mois d'incubations pour les modalités M0, M1 et M10 (n = 3) 149
Figure 67 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les échantillons de terre globale des modalités M0, M1 et M10 151
Figure 68 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les sables grossiers des modalités M0, M1 et M10 152
Figure 69 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les sables fins des modalités M0, M1 et M10 152
Figure 70 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les limons grossiers des modalités M0, M1 et M10 153
Figure 71 : Évolution des HAP disponibles classés en fonction du nombre de cycles aromatiques au cours des 15 mois d'incubation pour les limons fins des modalités M0, M1 et M10 153
Figure 72 : Organigramme des méthodes et analyses utilisées tout au long de la partie 2 du chapitre V 154
Figure 73 : Installation des parcelles lysimétriques sur le site expérimental du GISFI 155
Figure 74 : Plan du dispositif expérimental des parcelles lysimétriques 155

Figure 75 : Photographie de 2 parcelles lysimétriques : a) modalité terre nue et b) modalité terre plantée avec Medicago sativa mycorhizée 156
Figure 76 : Évolution des proportions des fractions granulodensimétriques des modalités TN et MSm des parcelles lysimétriques de l'automne 2005 à l'automne 2011 (n = 6) 158
Figure 77 : Concentration en matière organique extractible des échantillons de terre globale des modalités TN et MSm au cours des 6 ans de suivi du projet Multipolsite 160
Figure 78 : Comparaison de l'évolution de la teneur en MOE entre les modalités TN et M0 au cours du temps 162
Figure 79 : Comparaison de l'évolution de la teneur en MOE entre les modalités MSm et M10 au cours du temps 162
Figure 80 : Concentration des 16 HAP des échantillons de terre globale des modalités TN et MSm au cours des 6 ans de suivi du projet Multipolsite (le prélèvement à T11 n'a pas été analysé) 163
Figure 81 : Comparaison de l'évolution de la concentration des HAP totaux (liste US-EPA) entre les modalités TN et M0 au cours du temps 165
Figure 82 : Comparaison de l'évolution de la concentration des HAP totaux (liste US-EPA) entre les modalités MSm et M10 au cours du temps 165
Figure 83 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les échantillons de terre globale de la modalité TN de l'automne 2005 à l'automne 2011 166
Figure 84 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les échantillons de terre globale de la modalité MSm de l'automne 2005 à l'automne 2011 167
Figure 85 : Comparaison des évolutions des distributions de HAP classés selon le nombre de cycles aromatiques entre les modalités TN et M0 169
Figure 86 : Comparaison des évolutions des distributions de HAP classés selon le nombre de cycles aromatiques entre les modalités MSm et M10 169
Figure 87 : Pourcentage de HAP disponibles dans les échantillons de terre globale des modalités TN et MSm de l'automne 2005 à l'automne 2011 (n = 3) 170
Figure 88 : Comparaison de l'évolution du pourcentage de HAP disponibles entre les modalités TN et M0 au cours du temps 171
Figure 89 : Comparaison de l'évolution du pourcentage de HAP disponibles entre les modalités MSm et M10 au cours du temps 172

Conclusion

Figure 90 : Schéma représentant l'évolution de la pollution de la terre NM en présence de matière organique naturelle fraîche 188

Annexes

Figure 91 : X-ray diffractograms of the bulk material, the coarse silts and the fine silts showing the presence of clay minerals (chlorite, illite, kaolinite), quartz, Fe oxide (magnetite, hematite, wuestite, goethite, magnesiochromite), feldspars ((anorthose, albite), sulfate (gypsum, bassanite, jarosite) and calcite 230

Figure 92 : SEM observations of bulk material of coke particles (a), coal and tar clean particles (b) and coal and tar particles with others mineral particles aggregate at the surface (c) 231
Figure 93 : Distribution of PAH in each granulodensimetric fractions (Na: Naphthalene, Acy: Acenaphthylene, Ace: Acenaphtene, Fl: Fluorene, Phe: Phenanthrene, Ant: Anthracene, Flu: Fluoranthene, Pyr: Pyrene, BaA: Benzo(a)anthracene, Chr: Chrysene, BbF: Benzo(b) Fluoranthene, BaP: Benzo(a)Pyrene, IP: Indeno(1,2,3-cd)Pyrene, DBA: 1,2:5,6-Dibenzanthracene, BP: Benzo(ghi)Perylene) 233
Figure 94 : Concentration of phenanthrene as a function of the concentration of anthracene for the different granulodensimetric fractions 234
Figure 95 : Chromatogrammes des familles aliphatiques (ALI), aromatiques (ARO) et polaire (POL) constituant la MOE des sables grossiers 245
Figure 96 : Chromatogrammes des familles aliphatiques (ALI), aromatiques (ARO) et polaire (POL) constituant la MOE des sables fins 246
Figure 97 : Chromatogrammes des familles aliphatiques (ALI), aromatiques (ARO) et polaire (POL) constituant la MOE des limons grossiers 247
Figure 98 : Chromatogrammes des familles aliphatiques (ALI), aromatiques (ARO) et polaire (POL) constituant la MOE des limons fins 248
Figure 99 : Photographie des 10 premières extractions au DCM 256
Figure 100 : Variabilité de la quantité de MOE extraite au DCM après 4 extractions successives 257
Figure 101 : Photographies des 12 extractions successives au n-hexane 258
Figure 102 : Variabilité de la quantité de MOE extraite au n-hexane après 5 extractions successives 259
Figure 103 : Photographies des 12 extractions successives à l'eau chaude 260
Figure 104 : Variabilité de la quantité de carbone extraite au à l'eau chaude après 7 extractions successives 261
Figure 105 : Évolution de la concentration des HAP disponibles dans les échantillons globaux et les fractions granulodensimétriques des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 3) 275
Figure 106 : Évolution du pourcentage de HAP disponibles classés par nombre de cycles aromatiques entre t_0 et t_{15} pour l'échantillon global et les fractions granulodensimétriques de la modalité M0 276
Figure 107 : Évolution du pourcentage de HAP disponibles classés par nombre de cycles aromatiques entre t_0 et t_{15} pour l'échantillon global et les fractions granulodensimétriques de la modalité 276
Figure 108 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les échantillons de la terre globale des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives 283
Figure 109 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les sables grossiers des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives 284
Figure 110 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les sables fins des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives 284

Figure 111 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les limons grossiers des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives 285
Figure 112 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les limons fins des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives 285

LISTE DES TABLEAUX

Chapitre I

Tableau 1 : Caractéristiques chimiques d'HAP possédant un nombre de cycles benzéniques croissant (données issues des fiches toxicologiques de l'INERIS) 14

Chapitre II

Tableau 2 : Propriétés agronomiques de la terre NM 38
Tableau 3 : Distance d des phases majeures cristallisées identifiées par DRX dans la terre NM et dans les fractions granulodensimétriques 46

Chapitre III

Tableau 4 : Carbone total, carbone organique total, azote total et rapport C/N des fractions granulodensimétriques et de la terre globale (les nombres entre parenthèses représentent les écarts type obtenus sur trois répétitions – un problème analytique survenu lors de l'analyse du COT des SG explique l'absence d'écart type) 78
Tableau 5 : Identification des composés représentés sur les Figures 31 et 33 82
Tableau 6 : Concentration des 16 HAP totaux (liste US-EPA) dans la terre globale et dans les fractions granulodensimétriques 85
Tableau 7 : Identification des composés présents dans les pyrogrammes 88
Tableau 8 : Aires relatives des sept HAP dans le résidu d'extraction de la terre globale et dans la terre globale non extraite ainsi que la proportion que représentent les HAP dans le résidu par rapport aux HAP totaux 90
Tableau 9 : Proportion des HAP piégés dans la terre globale 92
Tableau 10 : Proportion des HAP restés dans les résidus d'extraction des fractions granulodensimétriques 94
Tableau 11 : Proportion des HAP piégés dans les résidus d'extractions des fractions granulodensimétriques détectés après pyrolyse "double-shot" 96

Chapitre IV

Tableau 12 : Comparaison des quantités de MO et de carbone extraites au DCM, au n-hexane et à l'eau chaude par Soxhlet 110
Tableau 13 : Identification des composés présents sur les chromatogrammes de la Figure 50 119
Tableau 14 : Concentration en MOE dans les modalités globales pré-extraites au solvant ainsi que le pourcentage de MOE éliminée au cours de la pré-extraction 120

Chapitre V

Tableau 15 : Teneur en carbone total (mg g^{-1}) dans chaque fraction granulodensimétrique et dans l'échantillon global des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 3) 140
Tableau 16 : Valeurs de $\delta^{13}C$ (‰) des fractions granulodensimétriques et de la terre globale pour M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 3 – les nombres entre parenthèses correspondent aux écarts types) 141
Tableau 17 : Pourcentage de carbone moderne (%) dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN et MSm après 6 ans de culture 158
Tableau 18 : Comparaison des teneurs en MOE dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives 161
Tableau 19 : Comparaison des concentrations en HAP totaux (liste US-EPA) dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives 164
Tableau 20 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles benzéniques dans les échantillons de terre globale et dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives 168
Tableau 21 : Comparaison des pourcentages de HAP disponibles dans les fractions granulodensimétriques des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives 171

Annexes

Tableau 22 : Main properties of the industrial material 225
Tableau 23 : Chemical characterization of the granulodensimetric fractions (values in parenthesis ( ) represent standard deviations for triplicates , values in brackets [ ] are the corresponding contribution of the family in % of the EOM) 232
Tableau 24 : Concentrations des 16 HAP dans la terre globale et dans les fractions granulodensimétriques 251
Tableau 25 : Distribution des 16 HAP dans la terre globale et dans les fractions granulodensimétriques 252
Tableau 26 : Quantité de MOE extraite cumulée et pourcentage de MOE extraite cumulé au cours des 12 extractions successives au DCM 255
Tableau 27 : Quantité de MOE extraite cumulée et pourcentage de MOE extraite cumulé au cours des 12 extractions successives au n-hexane 257
Tableau 28 : Quantité de carbone extrait cumulé et pourcentage de carbone extrait cumulé au cours des 12 extractions successives à l'eau chaude 259
Tableau 29 : Pourcentage pondéral de chaque fraction granulodensimétrique (%) des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 4) 265
Tableau 30 : Évolution du pourcentage de carbone dérivant du maïs dans les fractions granulodensimétriques et dans la terre globale au cours des 15 mois d'incubation pour la modalité M10 (n = 3) 266

Tableau 31 : Concentration en matière organique extractible (mg g^{-1}) dans la terre globale des trois modalités ainsi que dans leurs fractions granulodensimétriques au cours des 15 mois d'incubation (n = 3) 267
Tableau 32 : Concentration des 16 HAP réglementaires (µg g^{-1}) dans la terre globale des trois modalités ainsi que dans leurs fractions granulodensimétriques au cours des 15 mois d'incubation 268
Tableau 33 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour les échantillons de terre globale des trois modalités M0, M1 et M10 269
Tableau 34 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour des sables grossiers des trois modalités M0, M1 et M10 270
Tableau 35 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour des sables fins des trois modalités M0, M1 et M10 271
Tableau 36 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour des limons grossiers des trois modalités M0, M1 et M10 272
Tableau 37 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour des limons fins des trois modalités M0, M1 et M10 273
Tableau 38 : Évolution du pourcentage de HAP disponible (% de HAP totaux) dans les échantillons globaux et les fractions granulodensimétriques des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 3) 274
Tableau 39 : Correspondance entre les temps de prélèvements et les numérotations du projet Multipolsite 279
Tableau 40 : Évolution des fractions granulodensimétriques des modalités TN et MSm des parcelles lysimétriques de l'automne 2005 (T0) à l'automne 2011 (T12) (n = 6) 280
Tableau 41 : Évolution des concentrations en matière organique extractible (mg g^{-1}) des échantillons globaux des modalités TN et MSm de l'automne 2005 à l'automne 2011 281
Tableau 42 : Évolution des concentrations en HAP totaux (liste US-EPA) dans les échantillons de terre globale des modalités TN et MSm de l'automne 2005 à l'automne 2011 282
Tableau 43 : Évolution du pourcentage de HAP disponibles dans les échantillons de terre globale des modalités TN et MSm au cours du temps 286

ANNEXES

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : « Protective role of fine silts for PAH in a former industrial soil » 219

Annexe 2 : Fractionnement de l'extrait organiques des fractions granulodensimétriques 243

Annexe 2-1 ..... **245**

Annexe 2-2 ..... **246**

Annexe 2-3 ..... **247**

Annexe 2-4 ..... **248**

Annexe 3 : Concentration et distribution des 16 HAP 249

Annexe 3-1 251

Annexe 3-2 252

Annexe 4 : Choix du nombre optimal d'extractions lors de la mise en place du protocole d'extractions sélectives (Chapitre IV) 261

Annexe 5 : Données du chapitre V-1 : impact de l'incorporation de résidus végétaux sur la structure du sol et ses conséquences sur la pollution 263

Annexe 5-1 265

Annexe 5-2 266

Annexe 5-3 267

Annexe 5-4 268

Annexe 5-5 269

Annexe 5-6 274

Annexe 5-7 275

Annexe 5-8 ..... **276**

Annexe 6 : Données projet « MULTIPOLSITE » 285

Annexe 6-1 279

Annexe 6-2 280

Annexe 6-3 281

Annexe 6-4 282

Annexe 6-5 283

Annexe 6-6 286

ANNEXE 1

« PROTECTIVE ROLE OF FINE SILTS FOR PAH IN A FORMER INDUSTRIAL SOIL »

ENVIRONMENTAL POLLUTION

179 (2013) 81-87

Environmental Pollution 179 (2013) 81-87

Protective role of fine silts for PAH in a former industrial soil

Audrey Pernot[1,2,3,4], Stéphanie Ouvrard[1,2,†], Pierre Leglize[1,2], Pierre Faure[3,4]

[1]Université de Lorraine, LSE, UMR1120, Vandœuvre-lès-Nancy, F-54505, France.
[2]INRA, LSE, UMR1120, Vandœuvre-lès-Nancy, F-54505, France.
[3]Université de Lorraine, LIEC, UMR7360, Vandœuvre-lès-Nancy, F-54505, France.
[4]CNRS, LIEC, UMR7360, Vandœuvre-lès-Nancy, F-54505, France.

Abstract

An original combined organic geochemistry and soil science approach was used to elucidate PAH availability controlling factors in a multi-contaminated industrial soil. Water granulodensimetric fractionation was applied to obtain five water-stable material fractions. These were characterized by elemental, molecular and mineral analysis, and microscopic observations. Among the different fractions, fine silts distinguished themselves by higher carbon and nitrogen contents, lower C/N ratio, an enrichment in total PAH and especially high molecular weight compounds, a coal tar signature and the lowest PAH availability. This fine silt fraction seemed to play a protective role for PAH that might be explained by its size and/or its specific reactivity. The mineral phases present in this fraction were proposed to explain the protection of organic matter. This led to a specific molecular signature of OM, having higher sorption properties both processes (sorption and mineral-bound protection) resulting in a lower PAH availability.

Capsule

Simultaneous highest concentrations and smallest availability of PAH are found in fine silts. They play a protective role for PAH in a former industrial soil.

Keys-words

industrial soil, PAH, availability, soil structure, granulodensimetric fractions

1. Introduction

Past industrial activities associated to coal exploitation such as coking plants or steel industries have left huge areas of wastelands, especially contaminated by persistent organic pollutants including polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH). Depending of the contamination level and nature, the type of site, the financial and societal pressure, several scenarios of remediation can be applied such as thermal desorption, *in situ* chemical oxidation (ISCO) and bioremediation. Natural attenuation associated or not with vegetation is another alternative way. However, the more the scenario is efficient to limit the pollution effect, the more the consequences on soil properties are important. As example, thermal desorption considered as very efficient remains one of the most expensive option generally requiring soil excavation and strongly affecting soil characteristics especially the biological compartment (Colombano et al., 2010 ; Gan et al., 2009; Khan et al., 2004). ISCO allows avoiding soil excavation but drastically modifies pH, affecting the organic matter (OM) including micro-organisms. On the contrary, biologic treatments (e.g., biopile) or natural attenuation are less detrimental to the environment, but their efficiency is limited due to the PAH properties (toxicity and low solubility). Whatever the remediation scenarios (physical, chemical or biological treatments or natural attenuation), the low contaminants bioavailability encountered, especially in ancient site, restricts their efficiency (Reid et al., 2000; Usman et al., 2012).

As defined by Semple et al. (2003) the “bioavailability refers to the fraction of a chemical in a soil that can be taken up or transformed by living organisms”. The availability concept refers

to the processes occurring before the uptake across the biological membrane (cf. processes A to C in Semple et al., 2004). The availability is the combination of two processes in series: the mobilization and the transportation. These two processes allow the contaminants passing from the soil solid phase to the fluid phase in order to reach the target organisms (roots, microorganisms) (Calvet, 2003 ; Semple et al., 2004).

In the case of PAH, the major process governing their behavior in the soil is their sorption on the OM (Ockenden et al., 2003; Wilcke, 2000). Even though there is a broad quantitative rule linking OM content to sorption capacity, the nature and composition of organic matter is a critical parameter (Pan et al., 2006; Yang et al., 2010). Indeed, the different organic matter fractions (i.e., humic or fulvic acids, humin) usually display different affinity for PAH (Doick et al., 2005; Pan et al., 2007). Moreover in the recent years, the importance of more recalcitrant fractions, such as black carbon (BC), has been put forward to explain the high sorption capacity of some soils (Agarwal and Bucheli, 2011). In fact, BC because of its condensed aromatic structures is recognized to strongly sorb PAH which become stuck and inaccessible (Reichenberg et al., 2010).

In former coking plant soil, important PAH concentrations with low availability are found in the interior of soil aggregates, which are due to the diffusion of PAH into the aggregates (Ahn et al., 2005; Yang et al., 2010). Moreover, this PAH diffusion increases with the contact time with soil particles. Consequently, the availability decreases with the pollution aging (Alexander, 2000; B. J. Reid et al., 2000). A study with four soils artificially contaminated with phenanthrene conducted by Ling et al. (2010) showed that after 16 weeks of aging, only 6 to 28% of initial phenanthrene remain available. Another recent study has shown that the diffusion raise with the decrease in the particles size in the soil (Luo et al., 2012). That’s why, to better understand the factors limiting the PAH availability, the study of the particle size in the soil structure is important. A few studies have focused on the PAH distribution in organo-mineral particles (Li et al., 2010; Lu et al., 2012b; Uyttebroek et al., 2006; Yang et al., 2008). However, these studies showed contradictory results. Yang et al. (2008) and Li et al. (2010) found that the highest PAH concentrations were measured in the coarse particles whereas Uyttebroek et al. (2006) and Lu et al. (2012) found their highest PAH values in the fine particles. Despite these different results, in these four studies, the high PAH concentrations are explained with the high organic carbon and BC content in the soil fractions. But these studies are incomplete: only the carbon content was studied.

Our study, focus on a real industrial soil contaminated by former coking and metallurgical activities. Previous results have shown that though highly contaminated with PAH, this soil is difficult to treat by chemical as well as biological means due to low availability. Different ISCO treatments (Fenton like and persulfate) carried out on this soil by (Usman et al., 2012a, 2012b) are not effective without previous availability increase by solvent pre-extraction. Moreover, even if this soil contains PAH-degrading bacteria, no PAH degradation are observed on long term experiment on the field associated or not with plant cover (Cébron et al., 2009; Ouvrard et al., 2011).

The objectives of the present study were to better identify the factors limiting the PAH availability. We focused on two major factors controlling availability: organic contaminant repartition in the soil structure and their association to organic matter. Therefore we proposed to identify the diversity in nature, composition and pollutant content of the organic matter as a function of the soil aggregate size. We applied a water granulodensimetric fractionation protocol to obtain water stable aggregates. Those were then fully characterized using both soil science and organic geochemistry tools in order to link agronomical and geochemical properties with PAH repartition and availability.

2. Materials and methods

2.1. Contaminated soil

The studied material was collected from a former industrial site (Neuves-Maisons), in the northeast of France. This site was impacted by steel industry and coking activities resulting in a multicontamination in trace elements and organic pollutants (Ouvrard et al., 2011). The material was sieved at 2 mm then freeze-dried and stored to -20°C in glass bottles. This material, called the bulk material, can be considered as a Technosol (Monserie et al., 2009). It was characterized for its agronomic properties by the Laboratoire d'Analyse des Sols (Arras, France) (Table 22). The texture, that is the relative proportion of particles after the carbonates (HCl attack) and organic matter (H_2O_2 attack) removal, was determined according the NF X31-107 method (AFNOR, 2004). This should be distinguished from the structure distribution obtained by non destructive water granulodensimetric fractionation (cf. §2.2).

Tableau 22 : Main properties of the industrial material

pH	7.67
Total $CaCO_3$ (g kg^{-1})	19.4
C org (%)	6.6
Total nitrogen (%)	0.29
C/N	22.8
P_2O_5 (mg kg^{-1})	116
CEC (cmol kg^{-1})	12.4
Coarse sand (200-2000 µm) (%)	57
Fine sand (50-200 µm) (%)	8
Coarse silts (20-50 µm) (%)	8
Fine silts (2-20 µm) (%)	15
Clays (< 2 µm) (%)	12

2.2. Water granulodensimetric fractionation

A water granulodensimetric fractionation was applied on the soil to obtain five undisturbed size-class fractions (neither carbonates nor organic matter destruction). These fractions consisted of mineral primary particles, organic matter and organo-mineral associations. The five fractions sizes correspond to coarse sand (200 – 2000 µm), fine sand (50 – 200 µm), coarse silt (20 – 50 µm), fine silt (2 – 20 µm) and clays (0 – 2 µm). In the Neuves-Maisons material, the clay's quantity was too small and this fraction was not further characterized in this study. The protocol used was adapted from the one described by Watteau et al. (2006) and it was carried out on 8 replicates. Briefly, 30 grams of the material and 200 mL of distilled water were introduced in a glass bottle. The suspension was shaken at 20°C on a rotation shaker at 15 rpm for 1 hour. In a first step, coarse and fine sands were isolated by wet sieving, then freeze-dried during 48 hours. In a second step, the remaining fraction suspension was shaken for 16 hours then placed in a sedimentation column where the suspension volume was adjusted to 1 liter. The fraction distribution was quantified by sequential sedimentation and sampling of 25 mL aliquots at pre-defined time intervals following Stokes's law. Samples were dried at 70°C and weighed (NF X31-107). The sum of weight percentage of the five fractions was adjusted to 100%. In order to recover enough material for further characterization, the fraction collection was performed by siphoning of the complete suspension volume after pre-defined sedimentation periods as defined by Stokes's law. Excess water was removed by centrifugation and fractions were freeze-dried. The 8 replicates were mixed and stored at -20°C in glasses bottles. For further analysis, except for PAH

availability measurement, the coarser fractions (i.e., coarse and fine sands) were crushed and sieved at 500 µm.

2.3. Chemical characterization

Elemental analysis: The elemental composition in total nitrogen, total carbon and total organic carbon was performed on the bulk material and on the four granulodensimetric fractions with an elementar analyzer CNS Micro Varian. Measurements were carried out on triplicates of approximately 15 mg weight accurately of finely grounded material. For the total organic carbon, 100 µL of hydrochloric acid at 1 M were first added to remove carbonates before analysis.

In order to determine the proportion of the recent from the fossil organic carbon in the bulk soil, the activity of the $\Delta^{14}C$ was measured (Jeanneau and Faure, 2010) on the bulk soil previously treated by hydrochloric acid at 1M in order to remove mineral carbon (carbonate). This analysis was performed by Poznan radiocarbon laboratory (Poland).

Extractable organic matter: Solvent extractions were performed with an automated solvent extractor Dionex® ASE 350. Activated copper powder (1 g) and Na_2SO_4 (1 g) were added to 1 g of material in the extraction cells before the extractions in order to remove respectively the molecular sulfur and the residual water. Extractions were performed twice at 100°C and 100 bars with HPLC grade dichloromethane (DCM) using a static time of 5 minutes. Organic extracts were diluted with DCM to reach 20 mL. A 3 mL aliquot was sampled and left to dry in a fume hood for 36 hours to quantify the mass of the extractable organic matter (EOM) (Biache et al., 2008). The remaining extract volume was stored in glass vial at 4°C before further analysis.

Molecular analysis: A fractionation of EOM in aliphatic, aromatic and polar families was performed on an alumina and silica column (Mazeas and Budzinski, 2002) as described by Jeanneau et al. (2006). Briefly, the aliphatic and aromatic compounds and the low molecular weight polar compounds were isolated from high molecular weight polar compounds on an alumina column, eluted successively with DCM and a mixture of DCM/methanol (1/1). The DCM fraction was then eluted on a silica column successively with cyclohexane, a mixture cyclohexane/DCM (2/1) and a mixture DCM/methanol (1/1) to obtain respectively aliphatic

hydrocarbons, aromatic hydrocarbons and polar compounds. Each organic family was diluted to reach 5 mL and a 2 mL aliquot was sampled and left to dry in a fume hood for 36 hours to quantify the mass of each fraction. The EOM and the aliphatic, aromatic and polar fractions were analyzed at molecular scale using a gas chromatography-mass spectrometer (GC-MS) with a GC-2010 plus (Shimadzu) instrument equipped with a DB 5-MS column (60*0.25 mm) coupled to a QP2012 Ultra (Shimadzu) mass spectrometer operated in full scan mode for each fraction (EOM, aliphatic, aromatic and polar fractions) and in SIM (single ion monitoring) mode for the aliphatic and polar fractions. The GC oven temperature was programmed from 70°C (held 2 min) to 130°C at 15°C min^{-1}, then from 130°C to 315°C (held 2 min) at 4°C min^{-1}. For 16 PAH of the US-EPA list quantification, an internal PAH standard mix (naphthalene-d_8, acenaphtene-d_{10}, phenanthrene-d_{10}, chrysene-d_{12} and perylene-d_{12}) was added to the EOM and to the aromatic fraction.

2.4. PAH availability

PAH availability was estimated by the Tenax® resin extraction method using a protocol adapted from Cornelissen et al. (1997) by Barnier (2009). Two grams of freeze dried, non crushed material were agitated with two grams of Tenax and 300 mL of a 0.01 M $CaCl_2$ and 200 mg L^{-1} NaN_3 solution for 30 h. The Tenax grains were removed, cleaned with water and air-dried. PAH recovery was then performed by sonication with a 1:1 mix of acetone hexane repeated twice. The extracts were completed to 5 mL and analyzed by GC-MS using the same analytical procedure as for total 16 PAH (cf. §2.3).

2.5. Solid characterization

XRD: The identification of major crystallized minerals in the materials was carried out with X-ray diffraction analysis. The X-ray diffractograms from powder samples were recorded with a Bruker D8 Advance diffractometer using a Co $K_{\alpha 1}$ radiation at λ = 1.7889 Å. All scans were recorded for Bragg angles of 3° to 63° 2θ with a step size of 0.035° 2θ and a dwell time of 3 s. The diffraction peaks were identified according to Moore and Reynolds (1997).

Organic Petrography: An analysis of organic petrography was realized on the bulk material (Weatherford laboratories, Texas, USA). The identification and the relative abundance of organic and mineral particles were evaluated under a microscope.

Observations at photonic scale: The coarse and fine sand fractions (200 – 2000 µm and 50 – 200 µm) were observed at a photonic scale using a stereomicroscope (LEICA MZFLIII). The particles were sorted according to their size and colour.

Observations at electronic scale: All granulodensimetric fractions were observed using a scanning electron microscope (SEM HITACHI S-4800).

2.6. Statistical analysis

Statistical analyses were performed using R software (R Development Core Team, 2011). Comparisons between size fractions were made using a one-way ANOVA. Tukey's (HSD) test was used for multiple comparisons among means after checking that the data met the assumption of normality and homogeneity of variance. Whenever one of these criteria could not be established data were compared using the non-parametric Kruskal-Wallis test.

3. Results

3.1. Origin of the organic matter

The ^{14}C activity measurement gave a percentage of modern carbon (pMC) of 5.87% in the bulk material. Fresh plant residue displayed a pMC close to 100% corresponding to actual atmospheric ^{14}C signature, whereas sub-recent OM of previous years and old refractory OM presented depleted ^{14}C values. pMC values tending towards 0 correspond to an OM of fossil origin (Rethemeyer et al., 2005). The ^{14}C activity measurement revealed a predominance of a fossil organic carbon in the Neuves-Maisons material compatible with an industrial origin of the organic matter (coal, coke and coal tar dominated materials).

In complement, the agronomic characterization of the bulk material showed a high C/N ratio and a lightly alkaline pH which is in agreement with the industrial origin of the organic

matter. Indeed, in natural systems such high C/N ratio values are otherwise mostly found in acidic natural soils (Soltner, 1979) not compatible with the Neuves-Maisons environment.

The organic petrography analyses confirmed the fossil origin of the organic particles inherited from coal or coal by-products. The counting of particles revealed 9.6% of organic particles all of which of anthropogenic origin, distributed into coke (6.6%), char (2%), anthracite (0.8%) and tar (0.2%). In the 90.4% mineral particles, 61.2% were anthropogenic (spinel, magnetite, mullite and ash) and 29.2% were natural (clays, quartz and carbonate). No natural organic particle was observed, confirming ^{14}C analysis.

3.2. Texture and structure

The granulodensimetric fractionation revealed a structure composed of 56% (±3) coarse sands, 23% (±3) fine sands, 8% (±1) coarse silts, 12% (±0.2) fine silts and 1% (±0.1) clays. In comparison with the particle size distribution (Table 22), the water stable coarser associations, and especially fine sands, encompassed an additional 14% of the material, and on the other hand, the clays showed a decrease of 11% of the material. This showed that the aggregation took place mostly in the coarser fractions and that the clays were mainly distributed in coarser aggregates. The amount of silt fractions (coarse and fine) did not differ much between structure (water stable aggregates) and texture distributions.

3.3. Solid characterization

The main crystallized phases identified by XRD analysis in the bulk material were quartz; calcite; sulfates with gypsum and bassanite; iron oxide with magnetite, hematite, and wuestite and magnesiochromite; feldspars with anorthose; clay minerals with illite and kaolinite (Figure 93). The sand fractions displayed the same mineral phases as the bulk material as would be expected from their overall weight contribution to the material (80%). The calcite appeared as the binding agent (cement) in these fractions otherwise poor in natural organic matter. The less abundant silt fractions showed some differences. The coarse silts presented only quartz; feldspars with anorthose; and iron oxides with magnetite, hematite and wuestite; and the fine silts presented clay minerals with chlorite, illite and kaolinite; quartz; feldspars with albite and anorthose; and iron oxides with magnetite, hematite, goethite and wuestite

(Figure 91). In addition, the diffraction peaks of these iron oxides were more numerous and more intensive, illustrating better crystallized compounds.

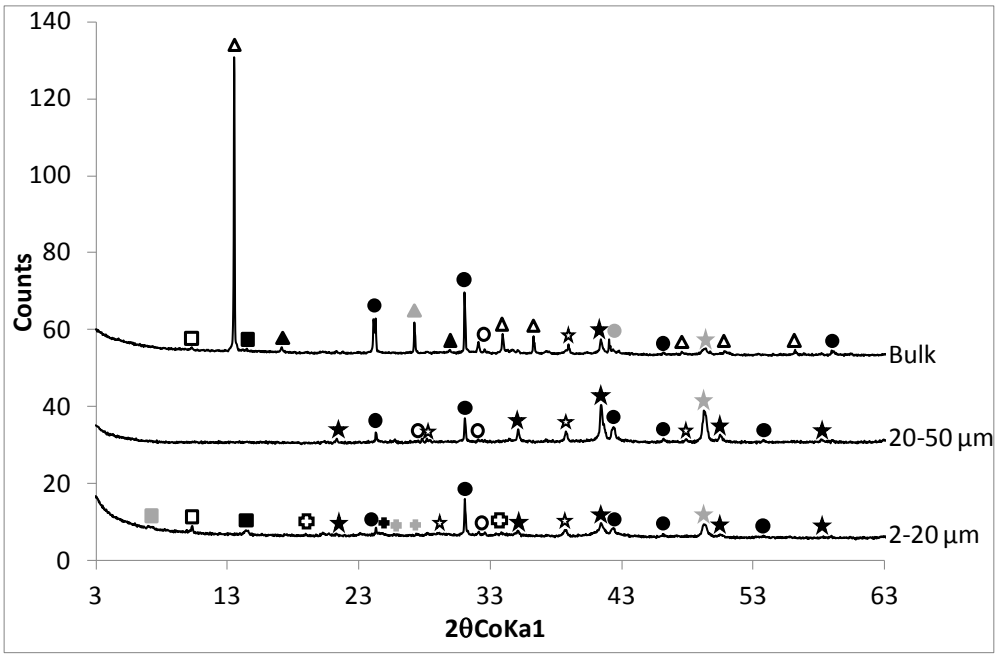

Figure 91 : X-ray diffractograms of the bulk material, the coarse silts and the fine silts showing the presence of clay minerals (chlorite (■), illite (□), kaolinite (■)), quartz (●), Fe oxide (magnetite (★), hematite (☆), wuestite (★), goethite (✚), magnesiochromite (●)), feldspars ((anorthose (○), albite (✚)), sulfate (gypsum (△), bassanite (▲), jarosite (✚)) and calcite (▲)

In all fractions, two main types of carbon particles were identified by SEM observations: porous particles, identified as coke, and non-porous particles, identified as coal and tar (Figure 92a and 92b). Most of these particles were individuals with no other particles attached to them (Figure 92b). Fewer had smaller particle aggregates attached to their surface (Figure 92c).

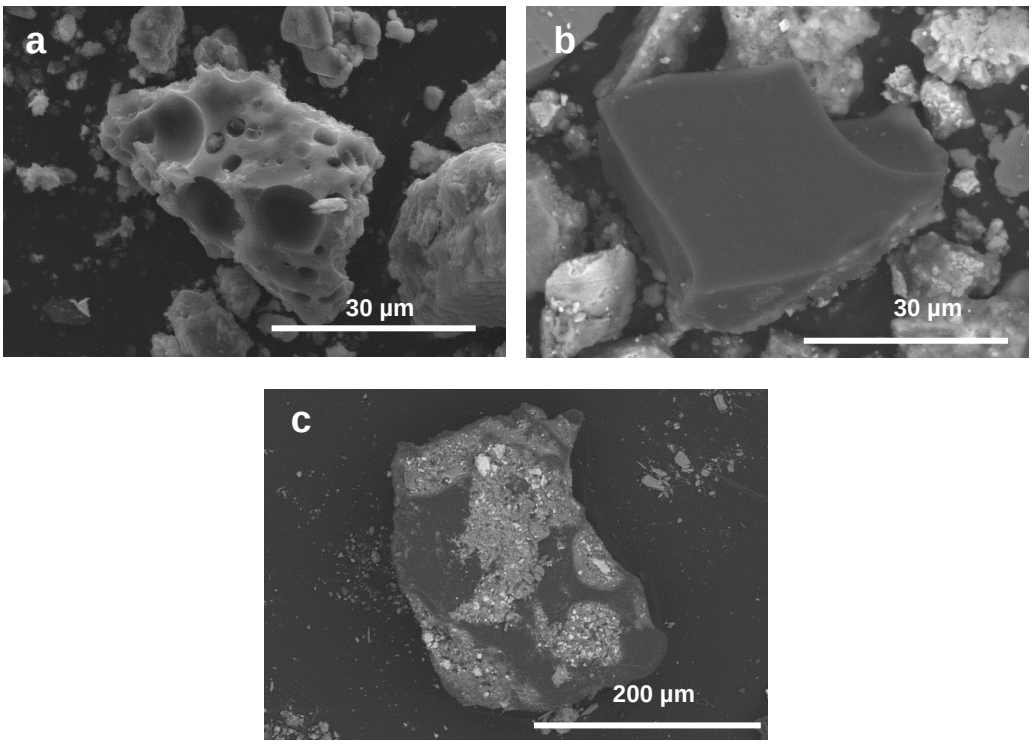

Figure 92 : SEM observations of bulk material of coke particles (a), coal and tar clean particles (b) and coal and tar particles with others mineral particles aggregate at the surface (c)

3.4. Global chemical characterization

Comparison between total carbon and total organic carbon contents revealed that carbon was mainly organic (Table 23). The fine sands and the fine silts contained the highest contents of total organic carbon (TOC) whereas the coarse sands and the coarse silts had lower TOC content. The total nitrogen measurements showed a slight depletion in the coarse sands and in the coarse silts compared to the bulk material and similar values in the fine sands. However an important enrichment (more than three times) in the fine silts was quantified. The resulting C/N values were still high for the biggest fractions with 33.5, 34.7 (±0.1) and 23.6 (±6.2) for the coarse sands, the fine sands and the coarse silts respectively. The fine silts fraction presented a much lower C/N value of 12.3 (±0.3) possibly an indicator of a different organic matter composition in this specific fraction.

In each granulodensimetric fractions, the EOM concentration was high (Table 23) compared to natural soils (Kélomé et al., 2012) and in the same value range as other coking plant soils (Biache et al., 2011; Usman et al., 2012). All values were in the same range except for the fine silts which presented a significant enrichment with an EOM concentration 3 times higher.

The EOM concentration of each granulodensimetric fraction was normalized by the relative mass abundance of each granulodensimetric fraction to quantify the specific contribution of each fraction to the overall EOM. EOM was mainly found in the coarse sands (43%) and in the fine silts (31%). These two carbon carriers can be explained (i) by the abundance of the coarse sands in mass, they represent 56% of the soil and (ii) by the high EOM concentration in the fine silts whereas they represent only 12% in mass in the soil.

The fine sands and the coarse silts were intermediate carriers with respectively only 20% and 6%.

The fractionation of the EOM into aliphatic, aromatic and polar families did not strongly differ between fractions (Table 23). However, the fine silts fraction appeared as the one with smaller percentages of aliphatic and polar families and higher percentage of aromatic family.

Tableau 23 : Chemical characterization of the granulodensimetric fractions (values in parenthesis ( ) represent standard deviations for triplicates , values in brackets [ ] are the corresponding contribution of the family in % of the EOM)

	200-2000 µm	**50-200 µm**	**20-50 µm**	**2-20 µm**	**bulk**
Total Carbon (%)	5.6 (0.1)	11.5 (0.1)	6.1 (0.2)	8.8 (0.1)	7.2 (0.1)
Total Organic Carbon (%)	6.1	10.3 (0.03)	6.0 (1.4)	8.9 (0.2)	6.6 (0.7)
Total Nitrogen (%)	0.19 (0.004)	0.29 (0.002)	0.26 (0.008)	0.73 (0.008)	0.29 (0.007)
C/N	33.5	34.7 (0.1)	23.6 (6.2)	12.3 (0.3)	22.8 (2.9)
Extractible organic matter (mg g^{-1})	8.6 (0.3)	9.6 (0.5)	8.0 (0.1)	28.2 (0.7)	9.2 (0.7)
Aliphatic compounds (mg g^{-1})	1.9 [22.0%]	1.6 [17.2%]	1.7 [20.9%]	4.7 [16.9%]	1.9 [20.4%]
Aromatic compounds (mg g^{-1})	3.5 [40.8%]	3.9 [40.5%]	3.0 [37.4%]	13.3 [47.1%]	3.9 [42.6%]
Polar compounds (mg g^{-1})	3.2 [37.2%]	4.1 [42.3%]	3.3 [41.7%]	10.2 [36.1%]	3.4 [37.0%]
Sum of 16 PAH (µg g^{-1})	854.6	1013.8	725.2	2506.1	1024.9
Available PAH (% of total PAH)	1.8 (0.1)	2.1 (0.2)	1.8 (0.05)	1.3 (0.1)	1.7 (0.2)

3.5. PAH repartition and availability

As for the EOM and the aromatic fractions, the PAH concentrations deduced by GC-MS analysis were high in all granulodensimetric fractions (Table 23) compared to the background levels of PAH for a soil without the influence of anthropogenic activities (Zhang et al., 2011).The coarse sands, fine sands and coarse silts showed a small depletion compared to the concentration in the bulk material. These concentrations were similar to those obtained by previous studies on the same material(Biache et al., 2008; Laurent et al., 2012; Usman et al.,

2012). The fine silts presented a significantly higher level with a concentration twice higher than the concentration in the bulk material, which was in agreement with its higher EOM content.

The global PAH distribution was quite similar for all fractions (Figure 93). It presented a predominance of the 3- and 4-rings compounds with the highest concentration for the fluoranthene. But in details, the distribution of each PAH showed, in the fine particles a depletion in lower and intermediate molecular weight PAH (2-4 rings), except for acenaphthylene and benzo(a)anthracene, and an enrichment of higher molecular weight PAH (Figure 94). Moreover, among the 16 PAH US-EPA, two isomers (phenanthrene and anthracene) showed differences in term of granulodensimetric repartition. The sands were enriched in phenanthrene whereas the silts were enriched in anthracene (Figure 94).

The bulk material presented a low PAH availability estimated to 1.7% of the total PAH compatible with by the old age of the contamination. All PAH availability values were in the same range except for the fine silts which presented the lowest PAH availability with 1.3% of the total PAH (Table 23).

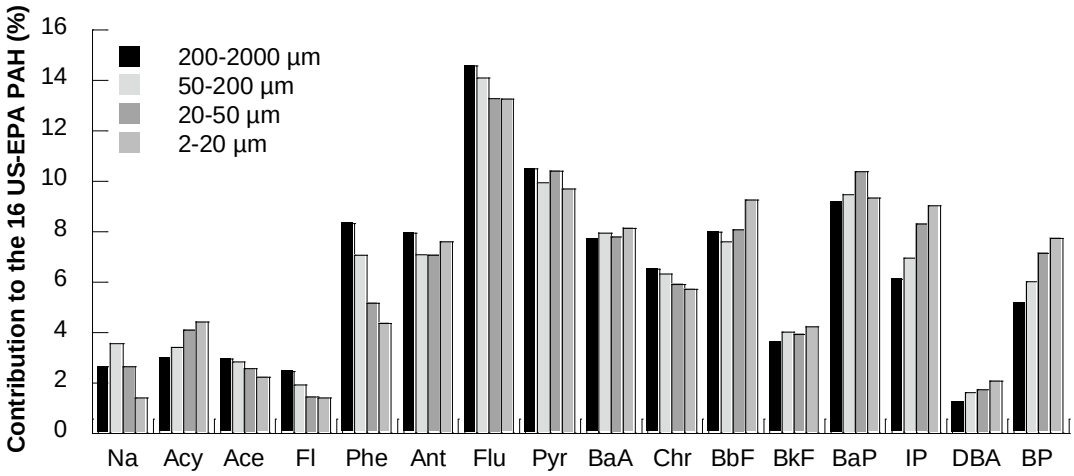

Figure 93 : Distribution of PAH in each granulodensimetric fractions (Na: Naphthalene, Acy: Acenaphthylene, Ace: Acenaphtene, Fl: Fluorene, Phe: Phenanthrene, Ant: Anthracene, Flu: Fluoranthene, Pyr: Pyrene, BaA: Benzo(a)anthracene, Chr: Chrysene, BbF: Benzo(b) Fluoranthene, BaP: Benzo(a)Pyrene, IP: Indeno(1,2,3-cd)Pyrene, DBA: 1,2:5,6-Dibenzanthracene, BP: Benzo(ghi)Perylene)

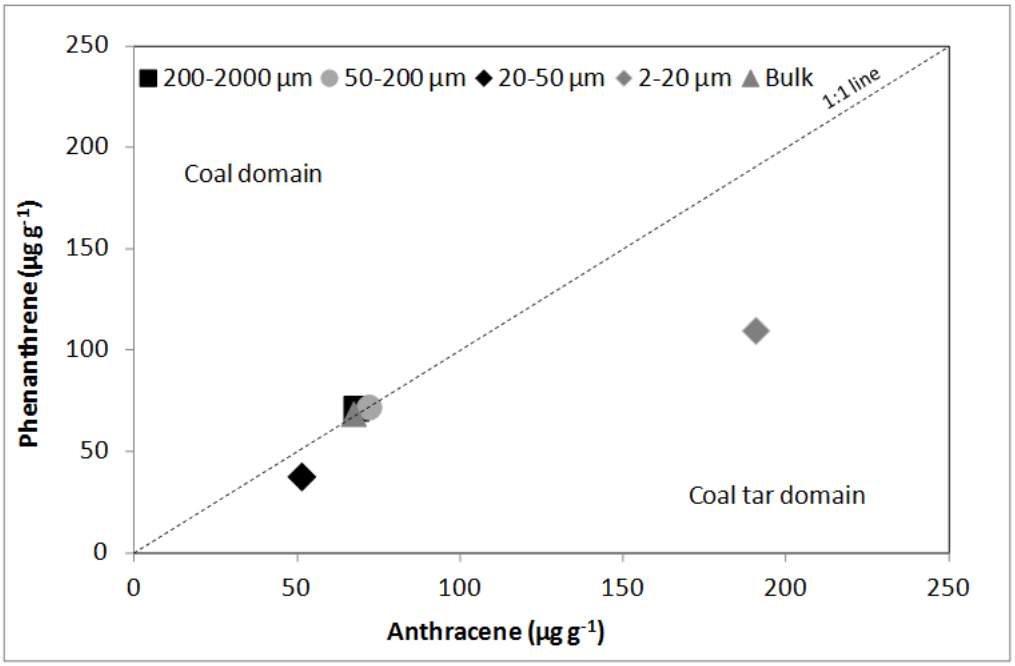

Figure 94 : Concentration of phenanthrene as a function of the concentration of anthracene for the different granulodensimetric fractions

4. Discussion

4.1. The bulk soil

Previous analysis of the bulk soil had shown the marked anthropogenic impact on this material as illustrated by high PAH content (Monserie et al., 2009). The combination of radiocarbon measurements and microscopic observations (organic petrography, photonic and electronic microscopy) enabled of more detailed characterization of the entire OM pool. It pointed out the absence of any recent carbon contribution to this system. A similar anthropogenic signature was also observed for the mineral fraction underlining the specificity of this soil compared to more natural soils.

Moreover, this soil was characterized by a high TOC content, an elevated EOM and 16 PAH concentration (Table 33) even if it derived from an ancient coking plant site in activities during 85 years until 80s. This remarkable preservation, especially EOM and PAH implied specific preservation processes which can be associated to a particular repartition in soils compartment justifying a granulodensimetric fractionation approach.

4.2. The fine silt specificity

In a quantitative point of view, the OM was not homogeneously distributed. The fine silts exhibited specific characteristics compared to the other fractions. It displayed the highest EOM and PAH content and an elevated TOC content. In a qualitative point of view, the fine silts presented again particular characteristics with an enrichment in nitrogen (low C/N ratio), a specific 16 PAH profile with especially an enrichment in anthracene compared to its isomer, phenanthrene. These differences could be explained by *i)* the specificity of the OM origin (detailed below) of this particular fraction and/or *ii)* be the result of OM preservation processes (described below) controlled by the fraction size and leading to a differentiated evolution between fractions. The elevated nitrogen content of the fine silt fraction was compatible with a coal tar contribution characterized by the occurrence of N-heterocyclic polycyclic aromatic compounds. This nitrogen content was in accordance with previously published value of nitrogen contents of others coal tars (Haeseler et al., 1999).

This coal tar signature was confirmed by the two isomers phenanthrene and anthracene ratios. These two PAH are frequently used to determine OM sources. Phenanthrene is considered as a kinetic compound, preferentially produced at low temperature during geologic time, suggesting a fossil origin, such as coal. On the contrary, anthracene, a thermodynamic compound, is preferentially produced at elevated temperature, and reveals an industrial origin such as coal tar (Budzinski et al., 1997). The quantification of these two isomers revealed that the fine silts and to a less extent the coarse silts were enriched in anthracene (phenanthrene/anthracene < 1) compared to the other fractions. It suggested that the organic matter of the coarse fractions (sands) was more of coal type signature whereas the fine fractions (silts) were more of coal tar signature. However, whatever the fraction, distribution of EOM into aliphatic, aromatic and polar compounds was very similar, with a predominance of aromatic compounds such as coal tar. A coal signature would have induced the predominance of polar compounds (Biache et al., 2011). Organic matter origin could not fully explain either qualitative or quantitative differences of OM repartition. Those might result from a differentiated evolution between fractions.

4.3. PAH preservation processes

The main mechanisms proposed to explain C sequestration and OM preservation in temperate soils are: *i)* selective preservation due to biological recalcitrance of OM; *ii)* spatial inaccessibility of OM against decomposer organisms due to occlusion, intercalation, hydrophobicity and encapsulation; and *iii)* stabilization by interaction with mineral surfaces (Fe-, Al-, Mn-oxides, phyllosilicates) and metal ions (Lützow et al., 2006). However, there is increasing evidence that biological recalcitrance alone cannot account for low OM turn-over rates usually found in natural soils (Marschner et al., 2008). Therefore persistent soil OM is generally mineral-associated. Even BC and fossil C low turnover rates are most likely not due to selective preservation of primary biogenic compounds or of BC but due to other stabilization mechanisms. Indeed, physical protection may play a strong role in BC retention. BC cycling in soils may be more similar to OC cycling than is generally thought (Cusack et al., 2012). Mineralogical characterization of our material fully supported such hypothesis. The silt fractions appeared as the main iron carrier with respectively 44.4% in the coarse silts and 29.0% in the fine silts (Monserie et al., 2009). Moreover XRD analysis also confirmed the presence of reactive mineral phases in the fine silt fraction with clay minerals and iron oxides. The fine silts have already been put forward to explain such preservation mechanism due to their highly reactive mineral matter (Heim and Schmidt, 2007).

Those preservation processes were also confirmed by PAH characterization in different soil size fractions on natural (Lu et al., 2012) and industrial soils (Lorenzi et al., 2010). In this latter work, PAH analysis in two size fraction classes (<250 µm and >250 µm -<2 mm) of 16 industrial sites with tar activities showed that PAH tended to accumulate in the smaller size fraction (<250 µm). Here again, there was a predominance of higher molecular weight compounds suggesting a pyrogenic origin of the compounds. The finer fraction was also characterized by an increase in benzo[b]fluoranthene, benzo[a]pyrene and indeno[1,2,3-cd]pyrene compared to the bigger fraction, whereas phenanthrene and fluoranthene were more abundant in the coarser fraction. This resulted in a similar Phenanthrene/Anthracene ratio evolution. So the preservation of PAH in the fine silt fraction would fully explain the high concentration and low availability.

The first deposits of coking activity by-products started in 1953 (Monserie et al., 2009). Thus, the material was submitted to an aging period of 60 years. This aging has caused a degradation of the most available compounds contained in the sands and a preservation of the

less available compounds contained in the silts. This differentiated evolution would support the coal tar signature observed in the silts corresponding to a signature close to the original pollution.

5. Conclusions

The comparison between soil texture and soil structure showed that aggregation took place in the coarse particles and that it was probably due to the occurrence of carbonates with only minor influence of anthropogenic organic matter. The different analyses performed on the studied soil confirmed the industrial origin of the material with an exclusive anthropogenic origin of the OM and the absence of a natural recent carbon input. The fractionation of the material into size classes has shown that the coarse sands and the fine silts were the main carbon carriers but the fine silts appeared to act as a preserving agent for anthropogenic organic matter. This was illustrated by PAH lower availability and higher abundance. As a result OM in fine silts displayed a coal tar molecular signature close to that of the original contamination. Specific reactive mineral phases seemed to act, like in natural soils, as a protective agent for anthropogenic organic matter. Further research on the behavior of this specific fraction under the influence pedogenic processes (i.e., aggregation and desegregation) might give fruitful information on the evolution of contaminant availability during soil evolution.

Acknowledgements

This work was conducted within the framework of the GISFI program and was financially supported by ICEEL and EC2CO program.

The authors acknowledge the technical help of Adeline Bouchard and Romain Goudon from LSE and Lucas Charrois from GISFI for their technical help, and Catherine Lorgeoux (G2R) for her advices on PAH analysis.

References

AFNOR, 2004. Évaluation de la qualité des sols, Association Française de Normalisation, La Plaine Saint-Denis Cedex. ed.

Ahn, S., Werner, D., Luthy, R.G., 2005. Physicochemical characterization of coke-plant soil for the assessment of polycyclic aromatic hydrocarbon availability and the feasibility of phytoremediation. Environmental Toxicology Chemistry 24, 2185–2195.

Alexander, M., 2000. Aging, bioavailability, and overestimation of risk from environmental pollutants. Environmental Science & Technology 34, 4259–4265.

Barnier, C., 2009. Disponibilité des HAP dans les sols de friches industrielles et influence des conditions rhizosphériques. PhD dissertation. Nancy (France), Institut National Polytechnique de Lorraine. 212 p.

Biache, C., Ghislain, T., Faure, P., Mansuy-Huault, L., 2011. Low temperature oxidation of a coking plant soil organic matter and its major constituents: An experimental approach to simulate a long term evolution. Journal of Hazardous Materials 188, 221–230.

Biache, C., Mansuy-Huault, L., Faure, P., Munier-Lamy, C., Leyval, C., 2008. Effects of thermal desorption on the composition of two coking plant soils: Impact on solvent extractable organic compounds and metal bioavailability. Environmental Pollution 156, 671–677.

Budzinski, H., Jones, I., Bellocq, J., Piérard, C., Garrigues, P., 1997. Evaluation of sediment contamination by polycyclic aromatic hydrocarbons in the Gironde estuary. Marine Chemistry 58, 85–97.

Calvet, R., 2003. Le sol: propriétés et fonctions, France Agricole. ed. DUNOD.

Cébron, A., Beguiristain, T., Faure, P., Norini, M.-P., Masfaraud, J.-F., Leyval, C., 2009. Influence of vegetation on the in situ bacterial community and polycyclic aromatic hydrocarbon (PAH) degraders in aged PAH-contaminated or thermal-desorption-treated soil. Applied and Environmental Microbiology 75, 6322–6330.

Colombano, S., Saada, A., Guerin, V., Bataillard, P., Bellenfant, G., Beranger, S., Hube, D., Blanc, C., Zornig, C., Girardeau, I., 2010. Quelles techniques pour quels traitements - Analyse coûts-bénéfices (No. BRGM/RP - 58609 - FR).

Cornelissen, G., Van Noort, P.C.M., Govers, H.A.J., 1997. Desorption kinetics of chlorobenzenes, polycyclic aromatic hydrocarbons, and polychlorinated biphenyls: Sediment extraction with Tenax® and effects of contact time and solute hydrophobicity. Environmental Toxicology and Chemistry 16, 1351–1357.

Cusack, D.F., Chadwick, O.A., Hockaday, W.C., Vitousek, P.M., 2012. Mineralogical controls on soil black carbon preservation. Global Biogeochemical Cycles 26.

Doick, K.J., Burauel, P., Jones, K.C., Semple, K.T., 2005. Distribution of aged 14C−PCB and 14C−PAH residues in particle-size and humic fractions of an agricultural soil. Environmental Science & Technology 39, 6575–6583.

Gan, S., Lau, E.V., Ng, H.K., 2009. Remediation of soils contaminated with polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs). Journal of Hazardous Materials 172, 532–549.

Haeseler, F., Blanchet, D., Druelle, V., Werner, P., Vandecasteele, J.-P., 1999. Analytical characterization of contaminated soils from former manufactured gas plants. Environmental Science & Technology 33, 825–830.

Heim, A., Schmidt, M.W.I., 2007. Lignin is preserved in the fine silt fraction of an arable Luvisol. Organic Geochemistry 38, 2001–2011.

Jeanneau, L., Faure, P., 2010. Quantification of fossil organic matter in contaminated sediments from an industrial watershed: Validation of the quantitative multimolecular approach by radiocarbon analysis. Science of The Total Environment 408, 4251–4256.

Jeanneau, L., Faure, P., Montarges-Pelletier, E., Ramelli, M., 2006. Impact of a highly contaminated river on a more important hydrologic system: Changes in organic markers. Science of The Total Environment 372, 183–192.

Kélomé, N.C., Faure, P., Mathieu, O., Lévêque, J., Oyédé, L.M., 2012. Evidence of organic contamination in urban soils of Cotonou town (Benin). British Journal of Environment & Climate Change 99–112.

Khan, F.I., Husain, T., Hejazi, R., 2004. An overview and analysis of site remediation technologies. Journal of Environmental Management 71, 95–122.

Laurent, F., Cébron, A., Schwartz, C., Leyval, C., 2012. Oxidation of a PAH polluted soil using modified Fenton reaction in unsaturated condition affects biological and physico-chemical properties. Chemosphere 86, 659–664.

Li, H., Chen, J., Wu, W., Piao, X., 2010. Distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in different size fractions of soil from a coke oven plant and its relationship to organic carbon content. Journal of Hazardous Materials 176, 729–734.

Ling, W., Zeng, Y., Gao, Y., Dang, H., Zhu, X., 2010. Availability of polycyclic aromatic hydrocarbons in aging soils. Journal of Soils and Sediments 10, 799–807.

Lorenzi, D., Cave, M., Dean, J.R., 2010. An investigation into the occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in two soil size fractions at a former industrial site in NE England, UK using in situ PFE-GC-MS. Environmental Geochemistry and Health 32, 553–565.

Lu, Z., Zeng, F., Xue, N., Li, F., 2012. Occurrence and distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons in organo-mineral particles of alluvial sandy soil profiles at a petroleum-contaminated site. Science of The Total Environment 433, 50–57.

Lützow, M. v., kögel-Knaber, I., Ekschmitt, K., Matzner, E., Guggenberger, G., Marschner, B., Flessa, H., 2006. Stabilization of organic matter in temperate soils: mechanisms and their relevance under different soil conditions. European Journal of Soil Science 57 426–445.

Marschner, B., Brodowski, S., Dreves, A., Gleixner, G., Gude, A., Grootes, P.M., Hamer, U., Heim, A., Jandl, G., Ji, R., Kaiser, K., Kalbitz, K., Kramer, C., Leinweber, P., Rethemeyer, J., Schaeffer, A., Schmidt, M.W.I., Schwark, L., Wiesenberg, G.L.B., 2008. How relevant is recalcitrance for the stabilization of organic matter in soils? Journal of Plant Nutrition and Soil Science 171, 91–110.

Mazeas, L., Budzinski, H., 2002. Improved accuracy of GC-MS quantification of aliphatic and aromatic hydrocarbons in marine sediments and petroleums. Validation on reference matrices and application to the Erika oil spill. International Journal of Environmental Analytical Chemistry 82, 157–173.

Monserie, M.F., Watteau, F., Villemin, G., Ouvrard, S., Morel, J.L., 2009. Technosol genesis : Identification of organo-mineral associations in a young Technosol derived from coking plant waste materials. Journal of Soils and Sediments 537–546.

Moore, D.M., Reynolds, R.C., 1997. X-ray diffraction and the identification and analysis of clays minerals, Oxford, second edition. ed.

Ockenden, W.A., Breivik, K., Meijer, S.N., Steinnes, E., Sweetman, A.J., Jones, K.C., 2003. The global re-cycling of persistent organic pollutants is strongly retarded by soils. Environmental Pollution 121, 75–80.

Ouvrard, S., Barnier, C., Bauda, P., Beguiristain, T., Biache, C., Bonnard, M., Caupert, C., Cébron, A., Cortet, J., Cotelle, S., Dazy, M., Faure, P., Masfaraud, J.F., Nahmani, J., Palais, F., Poupin, P., Raoult, N., Vasseur, P., Morel, J.L., Leyval, C., 2011. In situ assessment of phytotechnologies for multicontaminated soil management. International Journal of Phytoremediation 13, 245–263.

Pan, B., Xing, B., Tao, S., Liu, W., Lin, X., Xiao, Y., Dai, H., Zhang, X., Zhang, Y., Yuan, H., 2007. Effect of physical forms of soil organic matter on phenanthrene sorption. Chemosphere 68, 1262–1269.

Pan, B., Xing, B.S., Liu, W.X., Tao, S., Lin, X.M., Zhang, X.M., Zhang, Y.X., Xiao, Y., Dai, H.C., Yuan, H.S., 2006. Distribution of sorbed phenanthrene and pyrene in different humic fractions of soils and importance of humin. Environmental Pollution 143, 24–33.

R Development Core Team (2011) R: A Language and Environment for Statistical Computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

Reichenberg, F., Karlson, U.G., Gustafsson, O., Long, S.M., Pritchard, P.H., Mayer, P., 2010. Low accessibility and chemical activity of PAHs restrict bioremediation and risk of exposure in a manufactured gas plant soil. Environmental Pollution 158, 1214–1220.

Reid, B.J., Jones, K.C., Semple, K.T., 2000. Bioavailability of persistent organic pollutants in soils and sediments--a perspective on mechanisms, consequences and assessment. Environmental Pollution 108, 103–112.

Rethemeyer, J., Kramer, C., Gleixner, G., John, B., Yamashita, T., Flessa, H., Andersen, N., Nadeau, M.-J., Grootes, P.M., 2005. Transformation of organic matter in agricultural soils: radiocarbon concentration versus soil depth. Geoderma 128, 94–105.

Semple, K.T., Doick, K.J., Jones, K.C., Burauel, P., Craven, A., Harms, H., 2004. Defining bioavailability and bioaccessibility of contaminated soil and sediment is complicated. Environmental Science & Technology 38, 228A–231A.

Semple, K.T., Morriss, A.W.J., Paton, G.I., 2003. Bioavailability of hydrophobic organic contaminants in soils: fundamental concepts and techniques for analysis. European Journal of Soil Science 54, 809–818–.

Soltner, D., 1979. Les bases de la production végétale, 8e édition. ed, Sciences et techniques agricoles. Le clos Lorelle.

Usman, M., Faure, P., Ruby, C., Hanna, K., 2012c. Remediation of PAH-contaminated soils by magnetite catalyzed Fenton-like oxidation. Applied Catalysis B: Environmental 117–118, 10–17.

Uyttebroek, M., Breugelmans, P., Janssen, M., Wattiau, P., Joffe, B., Karlson, U., Ortega-Calvo, J.J., Bastiaens, L., Ryngaert, A., Hausner, M., Springael, D., 2006. Distribution of the Mycobacterium community and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) among different size fractions of a long-term PAH-contaminated soil. Environmental Microbiology 8, 836–847.

Watteau, F., Villemin, G., Burtin, G., Jocteur-Monrozier, L., 2006. Root impact on the stability and types of micro- aggregates in silty soil under maize. European Journal of Soil Science 57, 247–257.

Wilcke, W., 2000. Polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soil - a review. Journal of Plant Nutrition and Soil Science 163, 229–248.

Yang, Y., Ligouis, B., Pies, C., Grathwohl, P., Hofmann, T., 2008. Occurrence of coal and coal-derived particle-bound polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in a river floodplain soil. Environmental Pollution 151, 121–129.

Yang, Y., Zhang, N., Xue, M., Tao, S., 2010. Impact of soil organic matter on the distribution of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) in soils. Environmental Pollution 158, 2170–2174.

Zhang, W., Wei, C., Feng, C., Yu, Z., Ren, M., Yan, B., Peng, P., Fu, J., 2011. Distribution and health-risk of polycyclic aromatic hydrocarbons in soils at a coking plant. Journal of Environmental Monitoring 13, 3429–3436.

ANNEXE 2

FRACTIONNEMENT DE L'EXTRAIT ORGANIQUE DES FRACTIONS GRANULODENSIMETRIQUES

ANNEXE 2-1

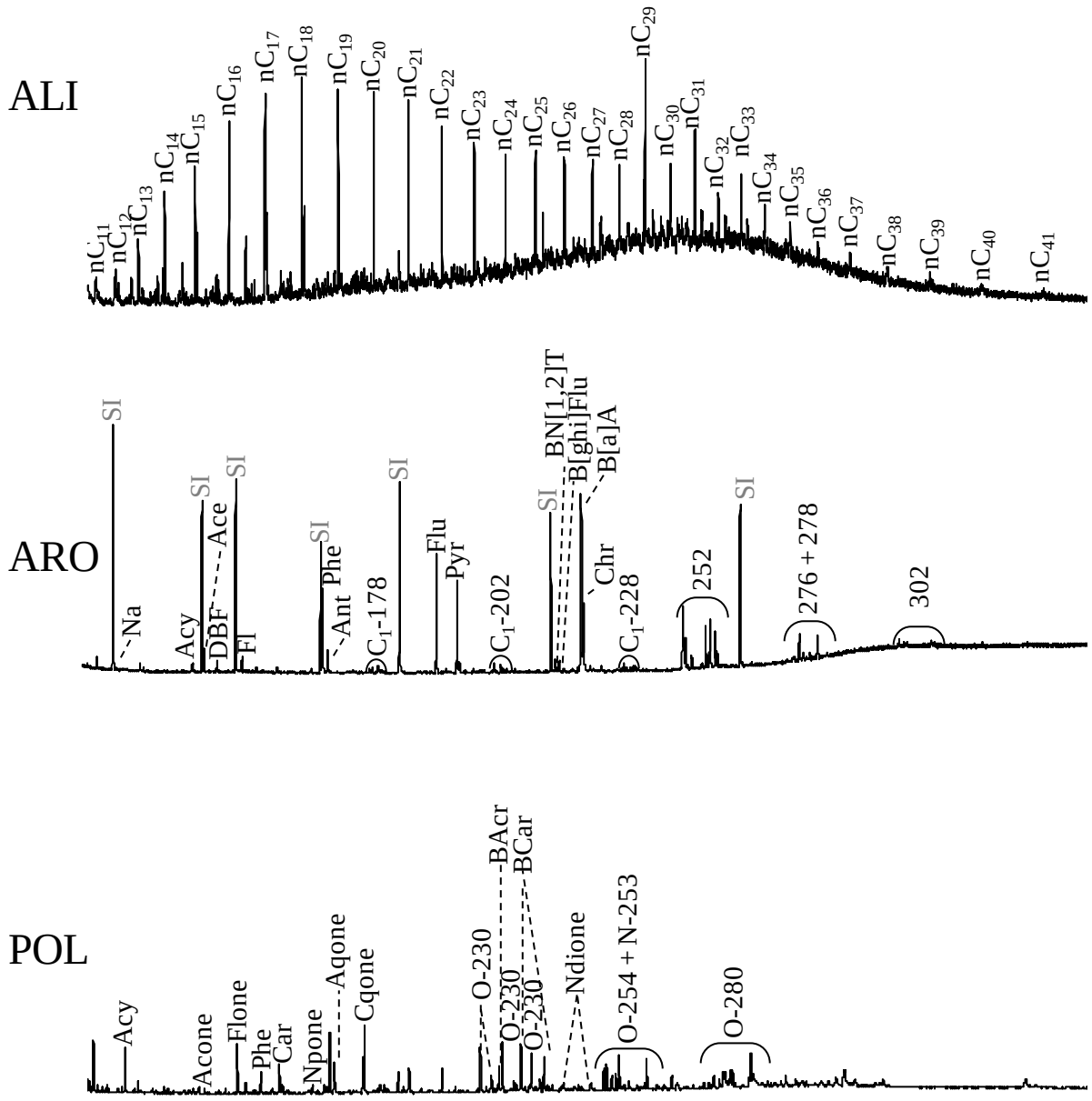

Figure 95 : Chromatogrammes des familles aliphatiques (ALI), aromatiques (ARO) et polaire (POL) constituant la MOE des sables grossiers

ANNEXE 2-2

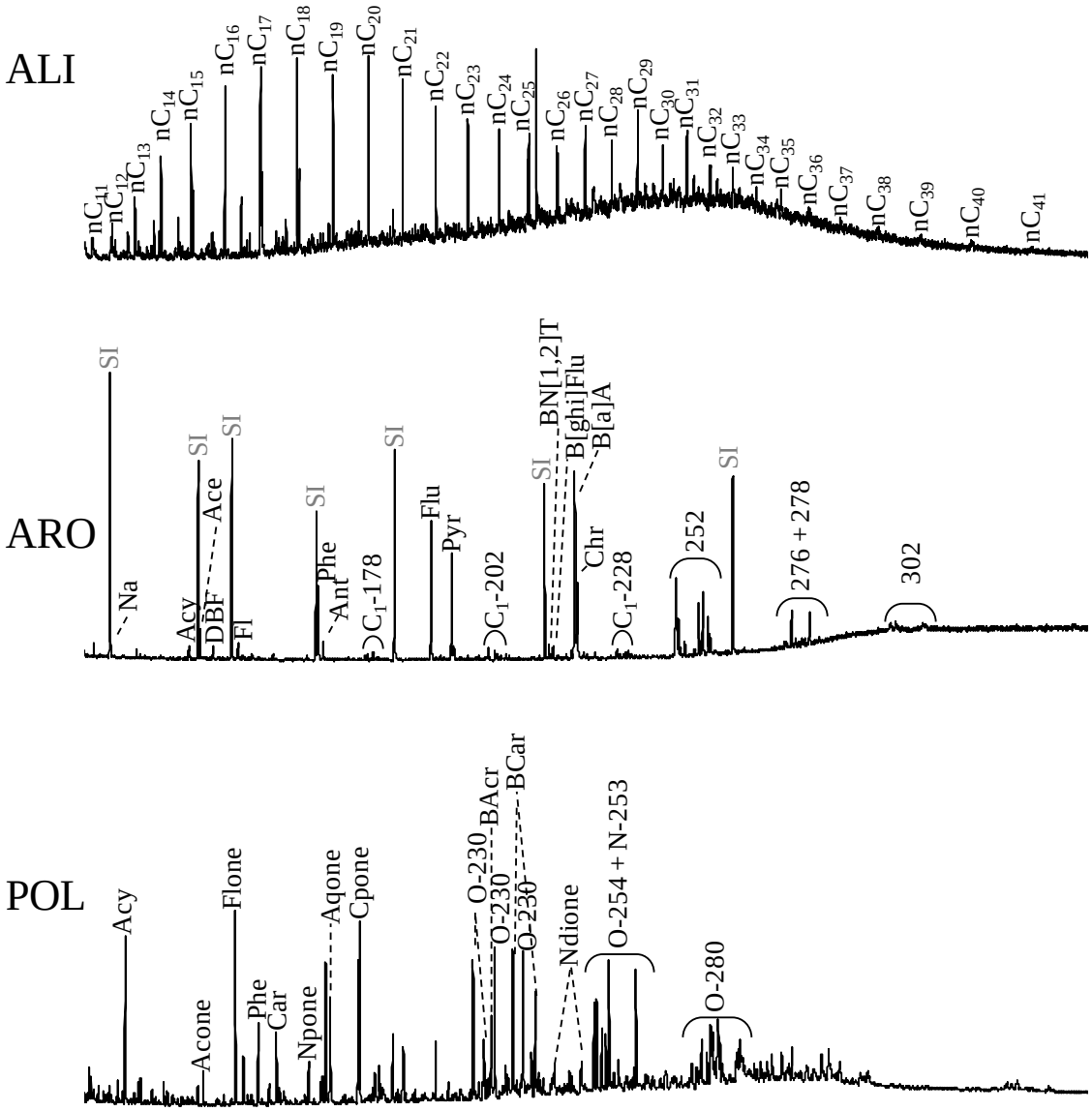

Figure 96 : Chromatogrammes des familles aliphatiques (ALI), aromatiques (ARO) et polaire (POL) constituant la MOE des sables fins

ANNEXE 2-3

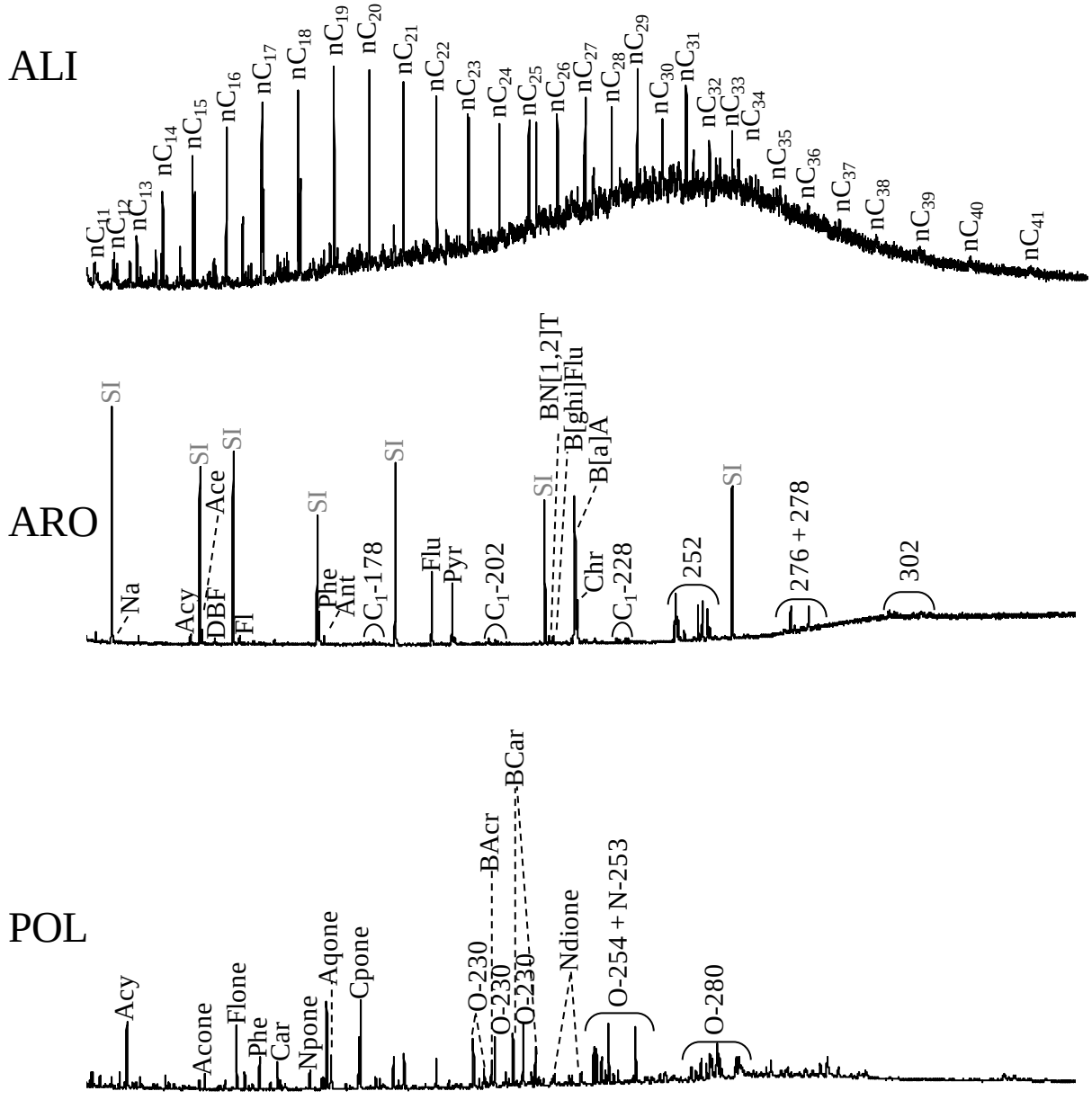

Figure 97 : Chromatogrammes des familles aliphatiques (ALI), aromatiques (ARO) et polaire (POL) constituant la MOE des limons grossiers

ANNEXE 2-4

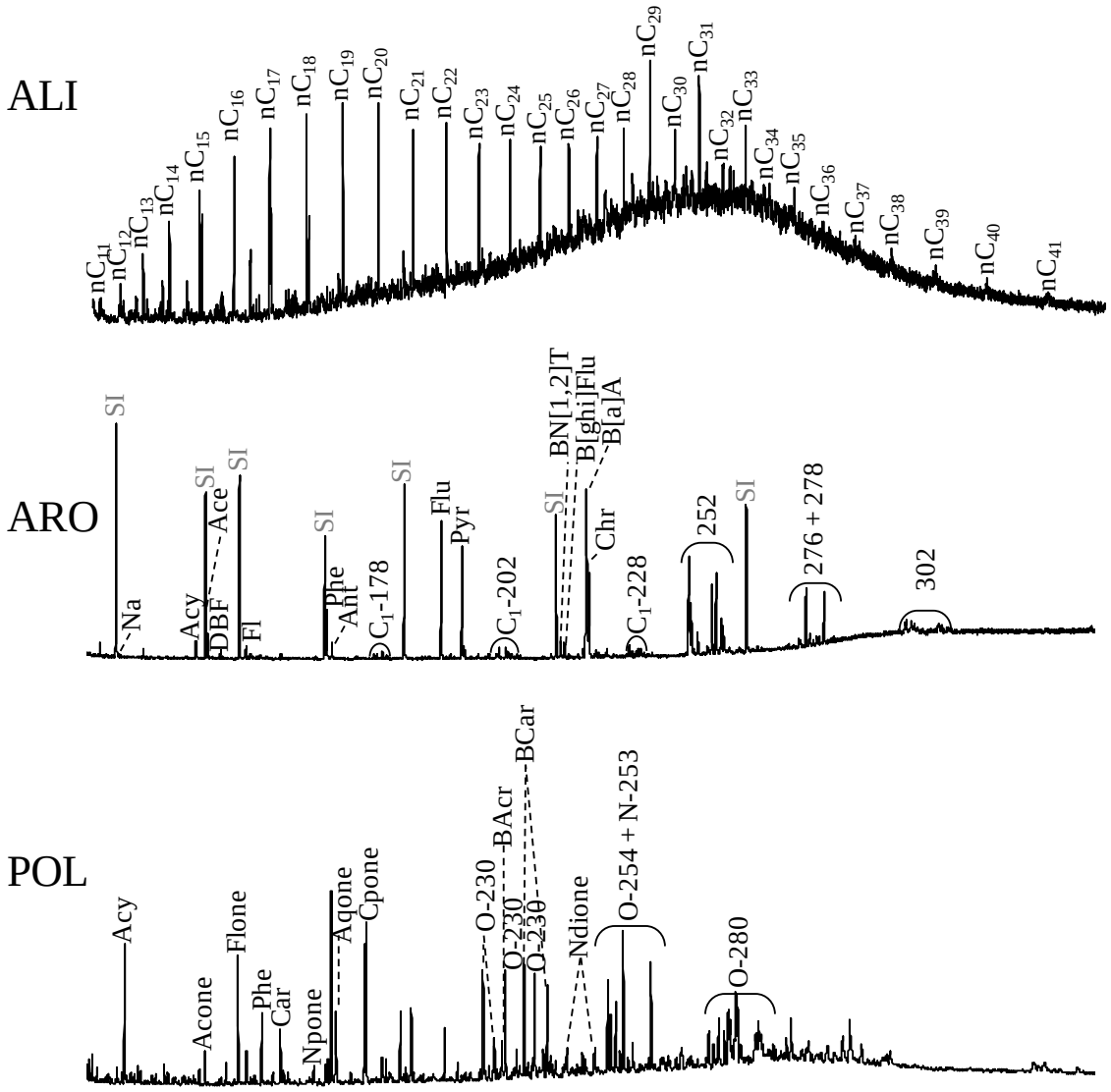

Figure 98 : Chromatogrammes des familles aliphatiques (ALI), aromatiques (ARO) et polaire (POL) constituant la MOE des limons fins

ANNEXE 3

CONCENTRATION ET DISTRIBUTION DES 16 HAP

ANNEXE 3-1

Tableau 24 : Concentrations des 16 HAP dans la terre globale et dans les fractions granulodensimétriques

HAP ($\mu g\ g^{-1}$)	SG (200-2000 µm)	SF (50-200 µm)	LG (50-200 µm)	LF (2-20 µm)	Terre globale
Naphtalène	23	36	19	36	26
Acénaphtylène	26	35	30	111	37
Acénaphtène	25	29	19	56	28
Fluorène	21	20	11	35	20
Phénanthrène	71	72	38	110	69
Anthracène	68	72	51	191	67
Fluoranthène	125	143	96	333	141
Pyrène	90	101	75	243	104
Benz(a)anthracène	66	81	56	204	85
Chrysène	56	64	43	143	61
Benzo(b)fluoranthène	68	77	59	232	96
Benzo(k)fluoranthène	31	41	29	107	41
Benzo(a)pyrène	79	96	75	234	98
Indéno(1,2,3-c,d)pyrène	52	70	60	226	74
1,2:7,8-dibenzophénanthrène	11	16	13	52	16
Benzo(ghi)pérylène	44	61	52	194	65
Somme	**855**	**1014**	**725**	**2506**	**1025**

ANNEXE 3-2

Tableau 25 : Distribution des 16 HAP dans la terre globale et dans les fractions granulodensimétriques

HAP (µg g^{-1})	SG (200-2000 µm)	SF (50-200 µm)	LG (50-200 µm)	LF (2-20 µm)	Terre globale
Naphtalène	2,6	3,6	2,6	1,4	2,5
Acénaphtylène	3,0	3,4	4,1	4,4	3,6
Acénaphtène	3,0	2,8	2,6	2,2	2,7
Fluorène	2,5	1,9	1,5	1,4	1,9
Phénanthrène	8,3	7,1	5,2	4,4	6,7
Anthracène	8,0	7,1	7,1	7,6	6,6
Fluoranthène	14,6	14,1	13,3	13,3	13,8
Pyrène	10,5	10,0	10,4	9,7	10,1
Benz(a)anthracène	7,7	8,0	7,8	8,1	8,3
Chrysène	6,5	6,3	5,9	5,7	6,0
Benzo(b)fluoranthène	8,0	7,6	8,1	9,3	9,4
Benzo(k)fluoranthène	3,6	4,0	3,9	4,3	4,0
Benzo(a)pyrène	9,2	9,5	10,4	9,3	9,5
Indéno(1,2,3-c,d)pyrène	6,1	7,0	8,3	9,0	7,2
1,2:7,8-dibenzophénanthrène	1,3	1,6	1,7	2,1	1,6
Benzo(ghi)pérylène	5,2	6,0	7,1	7,7	6,3

ANNEXE 4

CHOIX DU NOMBRE OPTIMAL D'EXTRACTIONS LORS DE LA MISE EN PLACE DU PROTOCOLE D'EXTRACTIONS SELECTIVES (CHAPITRE IV)

ANNEXE 4

Cette annexe présente les taux d'extraits organiques obtenus après chacune des 12 extractions successives ayant permis de déterminer un nombre optimal d'extractions pour les trois solvants (DCM, Hexane et Eau chaude) pour la mise en place du protocole d'extractions sélectives de MOE (chapitre IV). Le nombre d'extractions a été déterminé selon deux critères : (i) éliminer un maximum de MO et (ii) rester dans des conditions expérimentales réalistes, c'est-à-dire ne pas appliquer une multitude d'extractions gourmandes en temps et en réactifs pour éliminer seulement quelques mg de MOE supplémentaires.

Modalité DCM

Le Tableau 26 présente les quantités de MO extraites cumulées déduites par pesée des extraits organiques secs au cours des 12 extractions au DCM et normalisées par g de terre. Le pourcentage de MO extraite cumulée est également indiqué.

Tableau 26 : Quantité de MOE extraite cumulée et pourcentage de MOE extraite cumulé au cours des 12 extractions successives au DCM

Nombre d'extractions	Masse MO extraite cumulée (mg g^{-1})	Pourcentage cumulé de MO extraite (%)
1	8,5	83,4
2	9,1	89,9
3	9,4	92,5
4	**9,5**	**94,1**
5	9,7	95,3
6	9,8	96,3
7	9,8	97,0
8	9,9	97,8
9	10,0	98,2
10	10,0	98,9
11	10,1	99,7
12	10,1	100,0

Après la quatrième extraction, la quantité de MOE à chaque nouvelle extraction est très faible voire stagne et représente moins de 1 % de la quantité totale extraite. Cette quatrième extraction permettant d'éliminer plus de 94 % de la totalité de la MO extractible, il a été

décidé que cette quantité était suffisante pour mettre en place le protocole et observer des effets sur la structure de la terre. Ainsi la modalité DCM a été préparée avec 4 extractions successives. La Figure 99 représente la photographie des extraits DCM obtenus pour les 10 premières extractions. Le dégradé de couleur observé est cohérent avec la diminution de la quantité de MO extraite au cours des extractions successives.

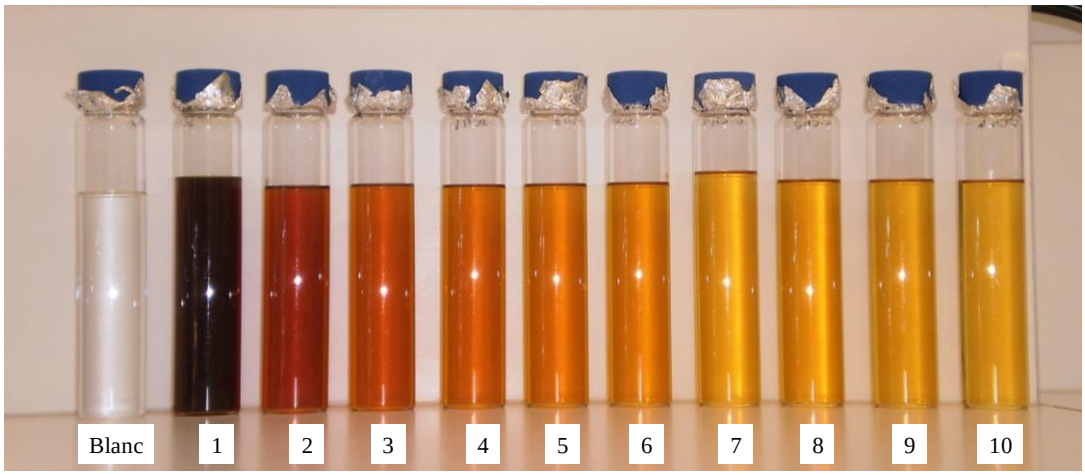

Figure 99 : Photographie des 10 premières extractions au DCM

La variabilité de la quantité de MOE extraite par les quatre extractions successives a été vérifiée sur trois aliquotes de 30 g de terre. La Figure 100 présente les résultats de ce test de variabilité : une très faible variabilité a été observée, la quantité minimum de MOE extraite est de 9,3 mg g^{-1} et la quantité maximum est de 10,9 mg g^{-1}. Cependant dans ces deux cas extrêmes plus de 90 % de la MOE totale a été extrait, c'est pourquoi, la légère variabilité observée n'a pas été prise en compte.

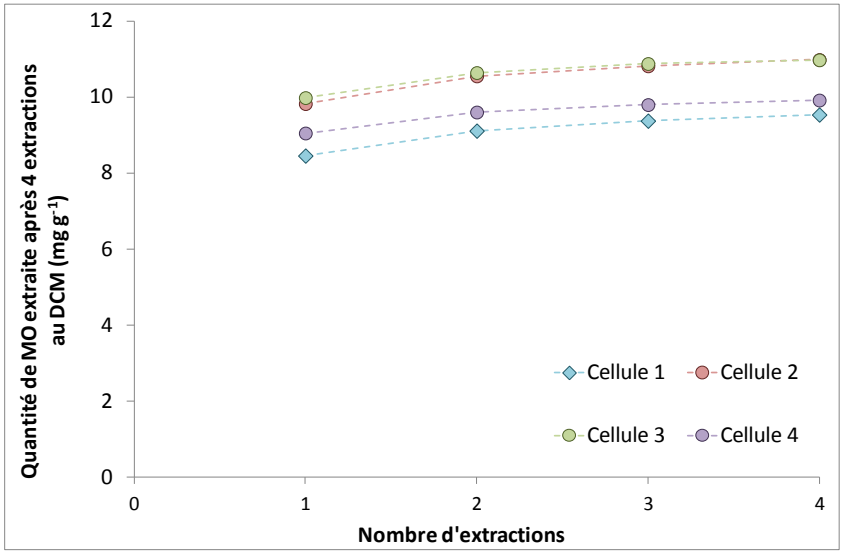

Figure 100 : Variabilité de la quantité de MOE extraite au DCM après 4 extractions successives

Modalité Hexane

Le Tableau 27 présente les quantités de MO extraites cumulées au cours des 12 extractions au *n*-hexane et normalisées par g de terre. Le pourcentage de MO extraite cumulée est également indiqué.

Tableau 27 : Quantité de MOE extraite cumulée et pourcentage de MOE extraite cumulé au cours des 12 extractions successives au n-hexane

Nombre d'extractions	Masse MO extraite cumulée (mg g^{-1})	Pourcentage cumulé de MO extraite (%)
1	2,3	52,6
2	3,1	69,4
3	3,5	78,4
4	3,7	84,1
5	**3,9**	**88,0**
6	4,0	91,1
7	4,2	93,5
8	4,2	95,4
9	4,3	96,9
10	4,4	98,0
11	4,4	99,1
12	4,4	100,0

De même que pour la modalité DCM, le nombre d'extractions pour la modalité Hexane a été arrêté lorsque la quantité de MOE extraite à chaque nouvelle extraction était trop faible. Après

la cinquième extraction, cette quantité de MOE devient très faible voire stagne. Cette cinquième extraction permettant d'éliminer 88 % de la totalité de la MO extractible, il a été décidé que cette quantité était suffisante pour mettre en place le protocole et observer des effets sur la structure de la terre. Ainsi la modalité Hexane a été préparée avec 5 extractions successives. La Figure 101 représente la photographie des extraits DCM obtenus pour les 12 extractions successives. Aucun dégradé de couleur n'est observé.

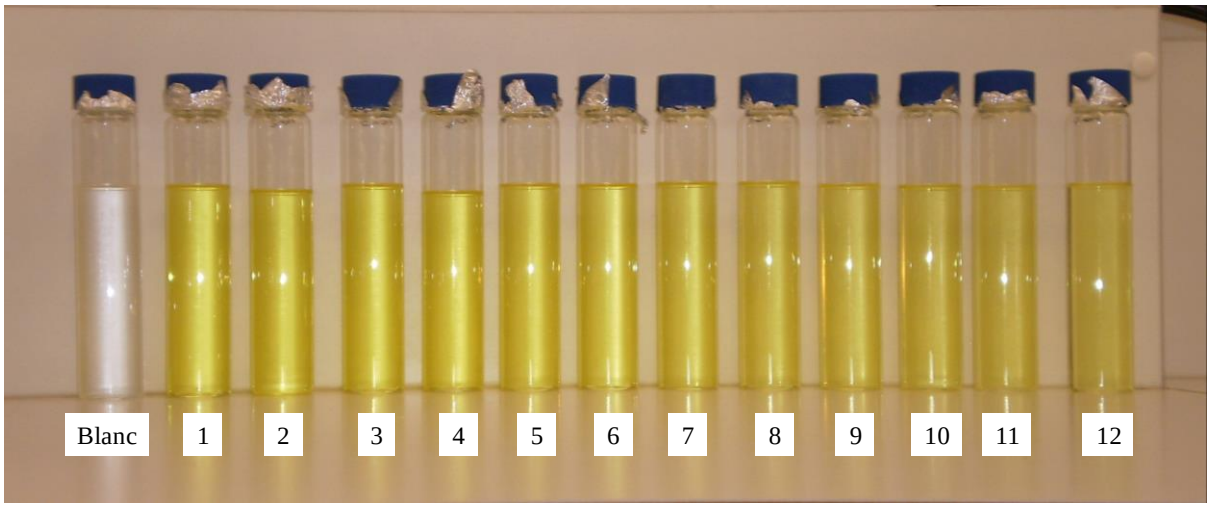

Figure 101 : Photographies des 12 extractions successives au n-hexane

La variabilité de la quantité de MOE extraite par les cinq extractions successives a également été vérifiée sur trois aliquotes de 30 g de terre. La Figure 102 présente les résultats de ce test de variabilité : aucune variabilité n'a été observée, la quantité de MOE extraite après 5 extractions successives pour les 4 cellules varie entre 3,8 et 3,9 mg g^{-1}.

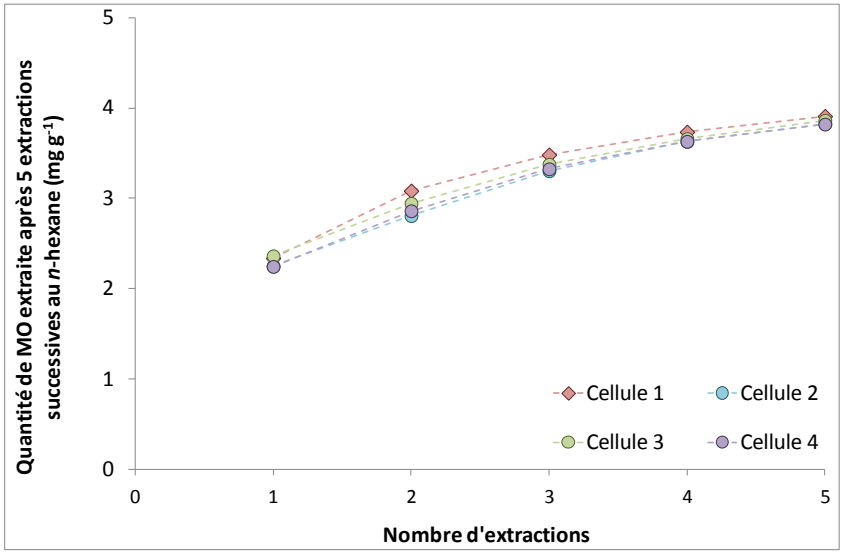

Figure 102 : Variabilité de la quantité de MOE extraite au n-hexane après 5 extractions successives

Modalité Eau chaude

Le Tableau 28 présente les quantités de MO extraites cumulées au cours des 12 extractions à l'eau chaude et normalisées par g de terre. Le pourcentage de MO extraite cumulée est également indiqué.

Tableau 28 : Quantité de carbone extrait cumulé et pourcentage de carbone extrait cumulé au cours des 12 extractions successives à l'eau chaude

Nombre d'extractions	Masse carbone cumulée (mg C g^{-1})	Pourcentage cumulé de C extrait (%)
1	0,23	15,7
2	0,43	29,5
3	0,59	40,4
4	0,72	49,5
5	0,84	57,7
6	0,95	65,3
7	**1,06**	**72,1**
8	1,15	78,4
9	1,24	84,3
10	1,31	89,8
11	1,40	95,1
12	1,47	100,0

A la différence des deux modalités précédentes, la quantité de carbone extraite à chaque extraction à l'eau chaude ne stagne pas, elle diminue très faiblement. Le nombre d'extractions

n'a donc pas pu être déterminé à partir de la quantité de carbone extraite. Le réalisme de l'expérimentation a permis de trancher : 7 extractions successives prennent 2 heures et 30 minutes pour 30 g de terre. De plus, ces sept extractions permettent d'extraite plus de 70 % de la totalité du carbone extractible, correspondant à 1,06 mg C g^{-1}. Ainsi, la modalité Eau chaude a été préparée avec 7 extractions successives. La Figure 103 représente la photographie des extraits Eau chaude obtenus pour les 12 extractions successives. Un léger dégradé de couleur est observé, compatible avec la légère diminution de la quantité de carbone extraite à chaque extraction.

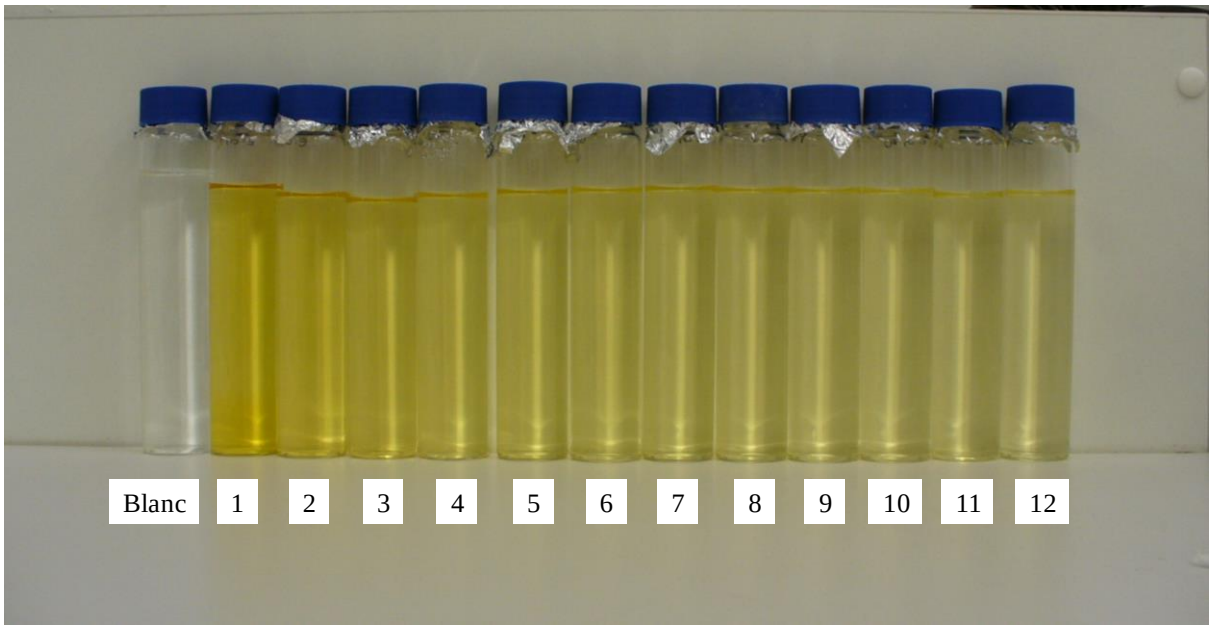

Figure 103 : Photographies des 12 extractions successives à l'eau chaude

De la même manière que pour les deux modalités précédentes, la variabilité de la quantité de carbone extraite par les sept extractions successives a été vérifiée sur trois aliquotes de 30 g de terre. La Figure 104 présente les résultats de ce test de variabilité : aucune variabilité n'a été observée, la quantité de carbone extraite après 7 extractions successives pour les 4 cellules varie entre 1,03 et 1,06 mg C g^{-1}.

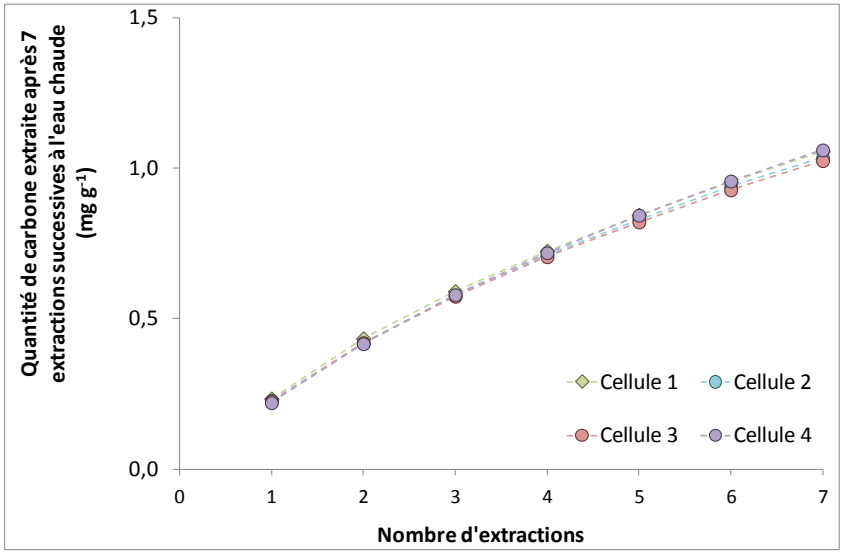

Figure 104 : Variabilité de la quantité de carbone extraite au à l'eau chaude après 7 extractions successives

ANNEXE 5

DONNEES DU CHAPITRE V-1 : IMPACT DE L'INCORPORATION DE RESIDUS VEGETAUX SUR LA STRUCTURE DU SOL ET SES CONSEQUENCES SUR LA POLLUTION

ANNEXE 5-1

Tableau 29 : Pourcentage pondéral de chaque fraction granulodensimétrique (%) des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 4)

Fractions	Mod	t_0	t_3	t_6	t_9	t_{12}	t_{15}
200-2000 (µm) SG	**M0**	62,0 (abc)	59,9 (bcde)	60,8 (abcde)	59,9 (bcde)	59,4 (cde)	60,6 (abcde)
	M1	58,5 (e)	60,6 (abcd)	61,4 (abcd)	60,7 (abcde)	61,2 (abcd)	61,8 (ab)
	M10	59,2 (de)	60,6 (abcde)	61,3 (abcd)	61,6 (abcd)	62,4 (ab)	62,7 (a)
50-200 (µm) SF	**M0**	16,1 (c)	17,3 (abc)	16,9 (bc)	17,3 (abc)	17,2 (abc)	17,4 (abc)
	M1	18,9 (a)	17,1 (abc)	16,7 (c)	16,9 (bc)	16,9 (bc)	16,6 (c)
	M10	18,7 (ab)	17,5 (abc)	17,0 (bc)	17,0 (bc)	16,7 (c)	16,7 (c)
20-50 (µm) LG	**M0**	8,4 (abc)	8,0 (abcde)	7,8 (bcde)	7,0 (e)	7,7 (bcde)	7,1 (de)
	M1	8,7 (ab)	7,2 (de)	7,2 (cde)	6,9 (de)	7,1 (de)	6,9 (de)
	M10	9,1 (a)	8,2 (abcd)	8,0 (abcde)	7,6 (bcde)	7,7 (bcde)	6,8 (e)
2-20 (µm) LF	**M0**	13,5 (fgh)	14,9 (abcd)	14,5 (cdef)	15,8 (a)	15,6 (ab)	14,9 (abcd)
	M1	14,0 (defgh)	14, (defg)	14,7 (bcde)	15,5 (abc)	14,8 (bcde)	14,7 (bcde)
	M10	13,0 (h)	13,8 (efgh)	13,7 (efgh)	13,8 (efgh)	13,3 (gh)	13,7 (efgh)

ANNEXE 5-2

Tableau 30 : Évolution du pourcentage de carbone dérivant du maïs dans les fractions granulodensimétriques et dans la terre globale au cours des 15 mois d'incubation pour la modalité M10 (n = 3)

	t_0	t_3	t_6	t_9	t_{12}	t_{15}
200-2000 (µm) - SG	9,4 (a)	5,3 (b)	1,7 (c)	2,9 (bc)	2,3 (bc)	0,4 (c)
50-200 (µm) – SF	9,2 (a)	3,0 (b)	4,5 (b)	4,5 (b)	2,8 (b)	2,8 (b)
20-50 (µm) – LG	6,5 (a)	6,9 (a)	7,8 (a)	4,4 (a)	7,0 (a)	5,8 (a)
2-20 (µm) - LF	10,4 (a)	12,2 (a)	14,7 (a)	12,7 (a)	13,1 (a)	12,4 (a)
Terre globale	8,9 (a)	7,3 (a)	6,4 (a)	6,8 (a)	6,4 (a)	7,4 (a)

ANNEXE 5-3

Tableau 31 : Concentration en matière organique extractible (mg g^{-1}) dans la terre globale des trois modalités ainsi que dans leurs fractions granulodensimétriques au cours des 15 mois d'incubation (n = 3)

Fractions	Mod	t_0	t_3	t_9	t_{12}	t_{15}
200-2000 (µm) - SG	**M0**	7,4 (abc)	6,9 (abc)	6,7 (abc)	6,3 (abc)	6,4 (bc)
	M1	7,6 (a)	7,0 (abc)	6,4 (abc)	-	-
	M10	6,6 (abc)	6,2 (c)	7,0 (abc)	6,4 (abc)	7,6 (ab)
50-200 (µm) – SF	**M0**	8,9 (a)	8,1 (a)	8,7 (a)	8,1 (a)	8,7 (a)
	M1	9,2 (a)	7,4 (a)	9,5 (a)	-	-
	M10	8,8 (a)	8,2 (a)	9,2 (a)	8,2 (a)	8,6 (a)
20-50 (µm) – LG	**M0**	7,8 (ab)	6,5 (bc)	6,7 (abc)	7,3 (bc)	5,7 (c)
	M1	7,1 (abc)	6,3 (bc)	7,4 (ab)	-	-
	M10	6,9 (abc)	6,8 (abc)	7,8 (ab)	6,5 (bc)	8,1 (a)
2-20 (µm) - LF	**M0**	29,3 (bc)	28,1 (cd)	27,5 (cd)	26,2 (cd)	26,3 (d)
	M1	33,6 (a)	27,7 (cd)	28,0 (cd)	-	-
	M10	34,1 (a)	26,6 (d)	30,5 (b)	27,4 (cd)	26,9 (d)
Terre globale	**M0**	10,4 (a)	9,6 (abc)	9,3 (bc)	8,9 (c)	9,0 (c)
	M1	9,9 (abc)	9,3 (bc)	10,7 (a)	-	-
	M10	10,3 (ab)	9,3 (bc)	10,0 (abc)	9,1 (c)	8,9 (c)

ANNEXE 5-4

Tableau 32 : Concentration des 16 HAP réglementaires (µg g^{-1}) dans la terre globale des trois modalités ainsi que dans leurs fractions granulodensimétriques au cours des 15 mois d'incubation

Fractions	Mod	t_0	t_3	t_9	t_{12}	t_{15}
200-2000 (µm) - SG	**M0**	972	948	829	837	824
	M1	895	931	770	-	-
	M10	849	903	824	773	923
50-200 (µm) – SF	**M0**	985	987	856	1027	1248
	M1	1163	1004	1047	-	-
	M10	1002	952	943	950	1130
20-50 (µm) – LG	**M0**	858	724	674	755	714
	M1	777	639	702	-	-
	M10	720	771	794	658	791
2-20 (µm) - LF	**M0**	2645	2515	2707	2849	2654
	M1	2919	2779	3172	-	-
	M10	2268	2324	2593	2703	2521
Terre globale	**M0**	1163	1033	1056	1046	1055
	M1	1148	1156	1021	-	-
	M10	1144	1142	1038	1070	1068

ANNEXE 5-5

Tableau 33 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour les échantillons de terre globale des trois modalités M0, M1 et M10

		t_0	t_3	t_9	t_{12}	t_{15}
Naphtalène	**M0**	2,7	3,1	2,7	2,4	2,4
	M1	2,7	2,9	2,7	-	-
	M10	2,7	2,8	2,6	2,6	2,6
Acénaphtylène	**M0**	2,6	2,7	3,5	3,4	2,9
	M1	2,5	2,9	3,5	-	-
	M10	2,6	2,4	3,4	3,1	2,5
Acénaphtène	**M0**	3,8	3,2	4,0	2,9	2,4
	M1	3,0	3,6	3,5	-	-
	M10	2,8	3,0	3,9	3,3	2,4
Fluorène	**M0**	2,6	2,1	2,1	1,6	1,6
	M1	2,2	2,3	2,0	-	-
	M10	2,1	1,8	2,0	1,8	1,6
Phénanthrène	**M0**	8,5	7,8	6,1	5,5	5,5
	M1	7,8	7,3	5,5	-	-
	M10	8,4	7,7	6,0	5,5	6,6
Anthracène	**M0**	3,6	2,8	2,7	2,6	2,7
	M1	2,9	2,7	2,7	-	-
	M10	3,2	3,0	2,8	2,8	3,4
Fluoranthène	**M0**	13,9	14,4	12,6	12,7	13,8
	M1	14,9	13,9	11,7	-	-
	M10	13,5	14,3	12,5	12,7	14,3
Pyrène	**M0**	10,2	10,7	9,2	9,3	10,4
	M1	11,3	10,5	8,6	-	-
	M10	10,4	10,8	10,0	9,1	10,4
Benzo[a]anthracène	**M0**	8,0	7,5	11,3	12,3	8,9
	M1	7,4	7,4	11,4	-	-
	M10	7,8	8,0	11,4	11,6	9,4
Chrysène	**M0**	5,4	6,0	8,8	9,3	7,6
	M1	6,6	5,7	8,7	-	-
	M10	6,1	6,2	7,9	8,5	6,9
Benzo[b]fluoranthène	**M0**	9,9	10,7	8,5	8,0	10,3
	M1	11,7	12,4	8,7	-	-
	M10	11,8	11,3	6,9	8,6	10,5
Benzo[k]fluoranthène	**M0**	4,6	4,9	3,5	3,9	5,0
	M1	4,9	4,8	4,1	-	-
	M10	5,0	5,2	4,0	3,6	4,5
Benzo[a]pyrène	**M0**	8,3	8,2	6,0	6,3	8,7
	M1	7,6	8,1	6,6	-	-
	M10	8,6	8,4	6,9	6,8	8,3
Indéno[1,2,3-c,d]pyrène	**M0**	8,3	7,9	9,2	9,7	9,7
	M1	7,3	7,8	9,7	-	-
	M10	7,6	7,5	9,9	9,5	9,2
1,2:7,8-Dibenzophénanthrène	**M0**	1,5	1,7	2,6	2,9	0,5
	M1	1,6	1,7	2,9	-	-
	M10	1,6	1,7	2,8	2,9	0,4
Benzo[ghi]pérylène	**M0**	6,0	6,2	7,0	7,0	7,6
	M1	5,6	6,0	7,7	-	-
	M10	5,9	5,8	7,0	7,7	6,9

Tableau 34 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour des sables grossiers des trois modalités M0, M1 et M10

		t_0	t_3	t_9	t_{12}	t_{15}
Naphtalène	**M0**	2,9	3,1	2,8	2,8	3,3
	M1	3,5	2,9	2,9	-	-
	M10	3,2	3,4	3,0	2,9	2,8
Acénaphtylène	**M0**	2,0	1,9	2,8	2,8	2,2
	M1	2,0	2,4	2,9	-	-
	M10	2,2	2,1	3,0	2,8	1,8
Acénaphtène	**M0**	3,5	3,3	4,2	3,8	2,9
	M1	3,3	3,8	4,3	-	-
	M10	3,6	3,6	4,2	3,9	2,7
Fluorène	**M0**	2,4	2,4	2,0	2,1	2,0
	M1	2,5	2,6	2,5	-	-
	M10	2,8	2,5	2,4	2,3	1,7
Phénanthrène	**M0**	8,9	9,9	6,2	6,6	8,8
	M1	9,1	9,0	5,8	-	-
	M10	9,9	10,7	6,5	6,8	8,1
Anthracène	**M0**	3,4	3,4	2,5	2,9	3,9
	M1	3,3	3,3	2,9	-	-
	M10	3,5	3,5	3,2	3,0	3,3
Fluoranthène	**M0**	15,8	16,2	14,3	14,7	14,2
	M1	15,7	15,1	13,0	-	-
	M10	15,1	15,4	13,5	14,2	14,1
Pyrène	**M0**	11,9	12,1	9,8	10,1	10,2
	M1	11,5	10,2	9,5	-	-
	M10	11,1	10,9	10,2	9,7	10,7
Benzo[a]anthracène	**M0**	7,6	7,5	11,9	12,6	9,8
	M1	8,9	8,5	12,1	-	-
	M10	7,8	8,0	11,9	11,2	8,8
Chrysène	**M0**	5,6	6,3	9,3	9,3	7,4
	M1	6,3	6,4	8,7	-	-
	M10	5,3	6,0	9,4	8,4	6,6
Benzo[b]fluoranthène	**M0**	11,0	10,6	8,4	5,2	8,1
	M1	9,9	11,2	8,3	-	-
	M10	10,7	10,0	6,7	8,3	13,0
Benzo[k]fluoranthène	**M0**	4,6	4,1	3,7	3,8	4,6
	M1	4,3	4,5	3,9	-	-
	M10	4,4	4,5	3,6	3,8	4,5
Benzo[a]pyrène	**M0**	6,8	7,4	5,6	6,1	8,9
	M1	7,5	7,6	5,8	-	-
	M10	7,8	7,7	6,0	6,0	7,9
Indéno[1,2,3-c,d]pyrène	**M0**	6,8	5,8	7,7	8,3	7,4
	M1	6,2	6,3	7,9	-	-
	M10	6,3	5,8	8,3	8,1	7,9
1,2:7,8-Dibenzophénanthrène	**M0**	1,5	1,4	2,9	2,7	0,2
	M1	1,2	1,4	3,0	-	-
	M10	1,4	1,4	2,5	2,7	0,3
Benzo[ghi]pérylène	**M0**	5,4	4,6	6,0	6,1	6,0
	M1	4,8	4,8	6,4	-	-
	M10	4,9	4,6	5,8	6,0	5,8

Tableau 35 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour des sables fins des trois modalités M0, M1 et M10

		t_0	t_3	t_9	t_{12}	t_{15}
Naphtalène	**M0**	4,2	4,1	3,8	3,5	4,2
	M1	3,7	2,9	3,4	-	-
	M10	4,1	4,0	3,3	3,7	4,2
Acénaphtylène	**M0**	2,1	2,5	3,0	2,8	2,2
	M1	2,4	2,4	2,8	-	-
	M10	2,3	2,5	3,3	3,0	2,3
Acénaphtène	**M0**	2,8	3,1	3,7	3,5	2,6
	M1	2,9	3,8	3,4	-	-
	M10	2,8	3,1	3,9	3,6	2,4
Fluorène	**M0**	1,9	1,9	1,8	1,7	1,6
	M1	2,0	2,6	1,7	-	-
	M10	2,0	2,0	1,8	1,7	1,5
Phénanthrène	**M0**	7,4	7,7	5,4	5,1	6,7
	M1	8,3	9,0	5,4	-	-
	M10	7,3	7,6	5,2	5,2	6,2
Anthracène	**M0**	2,9	2,9	2,9	2,6	3,3
	M1	3,2	3,3	2,7	-	-
	M10	2,9	3,2	2,6	2,6	3,5
Fluoranthène	**M0**	14,5	16,5	14,1	13,4	13,9
	M1	14,6	15,1	13,5	-	-
	M10	14,0	14,2	12,9	13,3	13,6
Pyrène	**M0**	11,0	11,3	10,3	10,2	11,4
	M1	10,9	10,2	9,9	-	-
	M10	11,1	10,4	9,8	10,2	10,2
Benzo[a]anthracène	**M0**	7,8	7,6	11,3	12,1	9,5
	M1	7,6	8,5	11,1	-	-
	M10	8,3	7,2	11,5	12,1	9,0
Chrysène	**M0**	5,9	5,4	9,1	9,5	7,5
	M1	6,0	6,4	9,0	-	-
	M10	6,7	5,8	9,1	8,6	7,7
Benzo[b]fluoranthène	**M0**	11,8	10,1	5,9	7,3	8,3
	M1	11,3	11,2	8,6	-	-
	M10	11,2	13,0	8,7	6,2	10,9
Benzo[k]fluoranthène	**M0**	4,8	4,8	3,9	3,7	4,8
	M1	4,6	4,5	3,8	-	-
	M10	5,1	4,7	3,7	3,6	4,7
Benzo[a]pyrène	**M0**	8,0	7,8	6,0	5,7	8,7
	M1	8,0	7,6	6,2	-	-
	M10	8,3	8,0	6,1	6,1	8,2
Indéno[1,2,3-c,d]pyrène	**M0**	7,5	7,1	9,3	9,4	8,4
	M1	7,3	6,3	8,8	-	-
	M10	7,3	6,9	9,1	9,6	8,9
1,2:7,8-Dibenzophénanthrène	**M0**	1,6	1,6	2,9	2,7	0,5
	M1	1,6	1,4	2,7	-	-
	M10	1,5	1,6	2,7	3,1	0,3
Benzo[ghi]pérylène	**M0**	6,0	5,5	6,6	6,9	6,3
	M1	5,5	4,8	7,0	-	-
	M10	5,2	5,8	6,4	7,4	6,4

Tableau 36 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour des limons grossiers des trois modalités M0, M1 et M10

		t_0	t_3	t_9	t_{12}	t_{15}
Naphtalène	**M0**	3,0	3,4	2,8	2,9	2,8
	M1	3,0	3,4	2,6	-	-
	M10	3,1	3,5	2,6	2,7	3,0
Acénaphtylène	**M0**	2,9	2,9	3,5	3,7	2,8
	M1	2,4	3,6	4,0	-	-
	M10	3,1	3,0	4,1	3,7	3,1
Acénaphtène	**M0**	2,7	2,4	3,4	2,9	1,8
	M1	2,6	2,4	3,2	-	-
	M10	2,5	2,3	3,3	2,9	2,2
Fluorène	**M0**	1,6	1,4	1,4	1,6	1,1
	M1	1,5	1,7	1,7	-	-
	M10	1,4	1,3	1,6	1,7	1,3
Phénanthrène	**M0**	6,3	6,1	3,9	4,2	5,5
	M1	5,0	6,2	4,1	-	-
	M10	6,4	6,0	3,9	4,0	4,8
Anthracène	**M0**	2,8	2,7	2,5	2,3	2,7
	M1	2,6	2,9	2,6	-	-
	M10	3,1	2,8	2,2	2,3	3,3
Fluoranthène	**M0**	14,0	13,3	10,7	11,1	13,2
	M1	13,9	13,2	11,6	-	-
	M10	13,2	13,5	10,2	11,7	11,7
Pyrène	**M0**	10,0	10,5	8,9	8,9	10,0
	M1	10,2	10,5	9,4	-	-
	M10	10,0	10,4	9,6	9,3	9,4
Benzo[a]anthracène	**M0**	7,7	7,3	11,2	10,5	8,9
	M1	7,2	8,4	11,5	-	-
	M10	7,4	7,2	11,3	11,6	9,5
Chrysène	**M0**	5,9	5,3	8,2	8,3	5,9
	M1	5,9	5,7	9,4	-	-
	M10	6,3	5,9	8,5	8,6	7,6
Benzo[b]fluoranthène	**M0**	11,7	11,8	8,5	10,1	11,7
	M1	13,6	11,7	6,9	-	-
	M10	12,0	12,1	9,5	7,8	9,8
Benzo[k]fluoranthène	**M0**	5,0	5,7	4,4	4,1	5,6
	M1	5,2	5,3	4,1	-	-
	M10	5,3	5,3	3,8	4,1	5,3
Benzo[a]pyrène	**M0**	8,6	8,6	6,5	6,7	9,5
	M1	8,9	9,2	6,9	-	-
	M10	8,9	8,8	6,7	6,5	9,1
Indéno[1,2,3-c,d]pyrène	**M0**	8,6	9,4	11,5	10,8	10,1
	M1	8,6	8,3	10,7	-	-
	M10	8,4	9,1	11,1	11,4	10,9
1,2:7,8-Dibenzophénanthrène	**M0**	2,0	1,8	3,6	3,4	0,2
	M1	1,9	0,8	3,2	-	-
	M10	1,8	1,8	3,2	3,5	0,4
Benzo[ghi]pérylène	**M0**	7,1	7,4	8,8	8,5	8,3
	M1	7,6	6,8	8,1	-	-
	M10	7,1	6,9	8,4	8,2	8,5

Tableau 37 : Distribution des 16 HAP (%) au cours des 15 mois d'incubation pour des limons fins des trois modalités M0, M1 et M10

		t_0	t_3	t_9	t_{12}	t_{15}
Naphtalène	**M0**	1,5	1,5	1,2	1,1	1,4
	M1	1,5	1,5	1,0	-	-
	M10	1,5	1,6	1,2	1,1	1,4
Acénaphtylène	**M0**	3,6	3,1	3,8	3,7	3,6
	M1	3,5	3,4	4,1	-	-
	M10	4,1	3,4	4,3	4,2	3,4
Acénaphtène	**M0**	2,2	2,3	2,8	2,4	2,3
	M1	2,2	2,5	2,3	-	-
	M10	2,5	2,4	2,5	2,7	2,0
Fluorène	**M0**	1,5	1,5	1,0	1,0	1,5
	M1	1,3	1,4	0,9	-	-
	M10	1,5	1,3	1,0	1,1	1,2
Phénanthrène	**M0**	4,3	4,2	2,9	2,9	4,1
	M1	4,6	4,8	2,6	-	-
	M10	4,7	5,0	3,0	2,9	4,4
Anthracène	**M0**	2,4	2,3	1,8	1,8	3,3
	M1	2,3	2,4	1,6	-	-
	M10	2,5	2,4	1,9	1,9	3,7
Fluoranthène	**M0**	11,2	11,5	13,5	14,5	11,3
	M1	11,0	11,8	15,9	-	-
	M10	11,6	11,6	11,7	12,7	10,6
Pyrène	**M0**	9,1	10,4	8,9	9,0	10,2
	M1	10,7	10,2	8,0	-	-
	M10	9,9	10,1	8,7	8,2	9,4
Benzo[a]anthracène	**M0**	9,4	7,6	10,4	10,8	8,9
	M1	9,2	7,7	9,7	-	-
	M10	8,5	8,3	10,9	11,2	9,1
Chrysène	**M0**	6,6	5,3	7,8	8,1	7,7
	M1	5,9	5,5	7,5	-	-
	M10	5,8	5,5	8,2	8,6	7,3
Benzo[b]fluoranthène	**M0**	12,7	14,3	9,7	10,6	9,8
	M1	12,4	13,7	10,8	-	-
	M10	11,6	10,7	10,2	8,7	11,5
Benzo[k]fluoranthène	**M0**	5,2	5,6	4,1	3,7	5,6
	M1	5,5	5,7	3,8	-	-
	M10	5,4	5,9	3,9	3,8	5,5
Benzo[a]pyrène	**M0**	9,8	10,2	7,6	7,1	10,7
	M1	9,8	9,4	7,3	-	-
	M10	9,9	10,0	7,8	7,7	10,3
Indéno[1,2,3-c,d]pyrène	**M0**	10,2	9,8	12,5	11,7	10,4
	M1	9,9	10,0	12,2	-	-
	M10	10,1	10,8	12,0	12,7	10,6
1,2:7,8-Dibenzophénanthrène	**M0**	2,1	2,1	3,0	2,9	0,8
	M1	2,0	2,0	2,8	-	-
	M10	2,0	2,1	3,0	3,3	0,8
Benzo[ghi]pérylène	**M0**	8,3	8,2	8,9	8,7	8,4
	M1	8,2	8,0	9,4	-	-
	M10	8,2	8,9	9,5	9,4	8,7

ANNEXE 5-6

Tableau 38 : Évolution du pourcentage de HAP disponible (% de HAP totaux) dans les échantillons globaux et les fractions granulodensimétriques des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 3)

Fractions	Mod	t_0	t_3	t_9	t_{12}	t_{15}
200-2000 (µm) - SG	**M0**	1,2 (a)	1,3 (a)	1,3 (a)	1,2 (a)	1,0 (a)
	M1	1,7 (a)	1,2 (a)	-	-	-
	M10	1,4 (a)	1,2 (a)	1,6 (a)	1,5 (a)	1,1 (a)
50-200 (µm) – SF	**M0**	1,6 (abc)	1,8 (a)	1,6 (abc)	1,3 (cd)	1,3 (cd)
	M1	1,4 (bcd)	1,4 (bcd)	-	-	-
	M10	1,5 (abc)	1,5 (abc)	1,6 (abc)	1,7 (ab)	1,1 (d)
20-50 (µm) – LG	**M0**	1,5 (abcde)	1,6 (abcd)	1,7 (abc)	1,3 (de)	1,4 (bcde)
	M1	1,5 (abcde)	1,5 (abcde)	-	-	-
	M10	1,8 (a)	1,8 (ab)	1,4 (cde)	1,4 (bcde)	1,2 (e)
2-20 (µm) - LF	**M0**	1,3 (a)	1,2 (ab)	1,1 (bc)	0,9 (def)	0,9 (de)
	M1	0,7 (f)	0,9 (de)	-	-	-
	M10	1,2 (ab)	1,2 (ab)	0,8 (f)	0,8 (ef)	1,0 (cd)
Terre globale	**M0**	1,5 (a)	1,4 (a)	1,4 (a)	1,6 (a)	1,3 (a)
	M1	1,4 (a)	1,3 (a)	-	-	-
	M10	1,2 (a)	1,4 (a)	1,4 (a)	1,3 (a)	1,3 (a)

ANNEXE 5-7

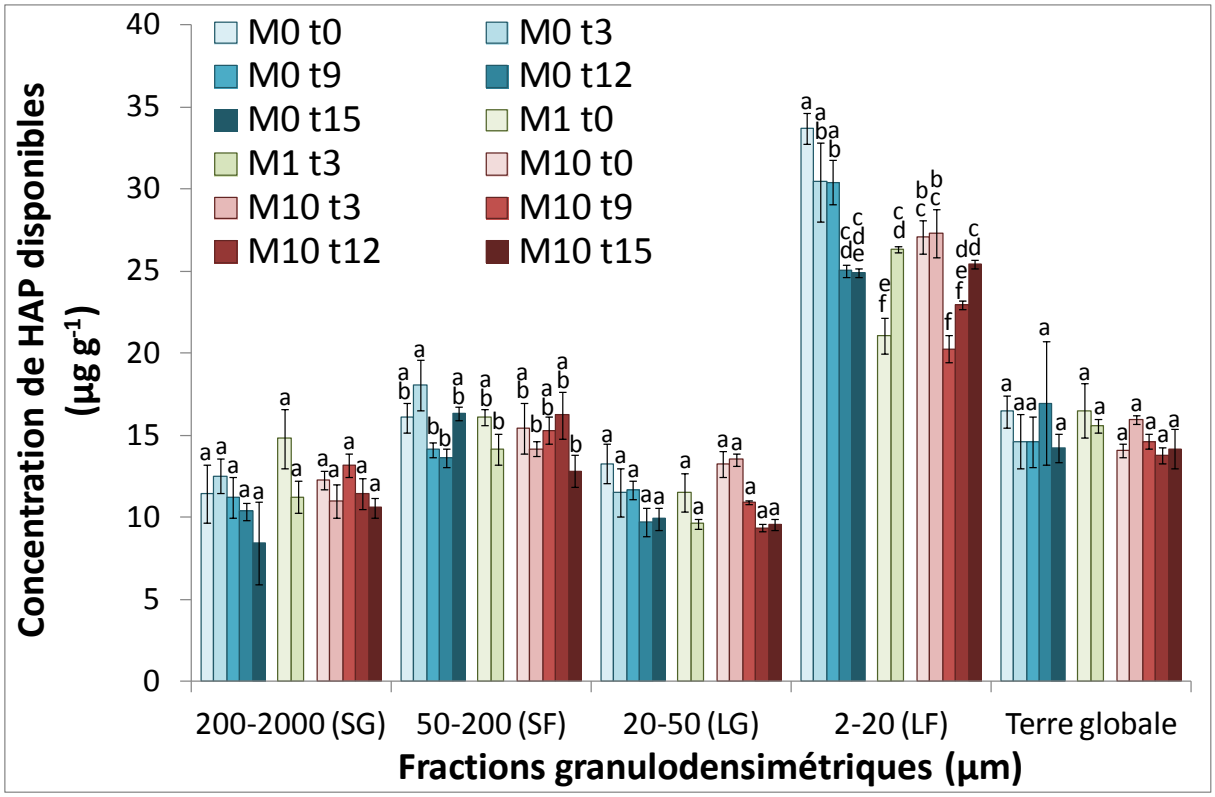

Figure 105 : Évolution de la concentration des HAP disponibles dans les échantillons globaux et les fractions granulodensimétriques des modalités M0, M1 et M10 au cours des 15 mois d'incubation (n = 3)

ANNEXE 5-8

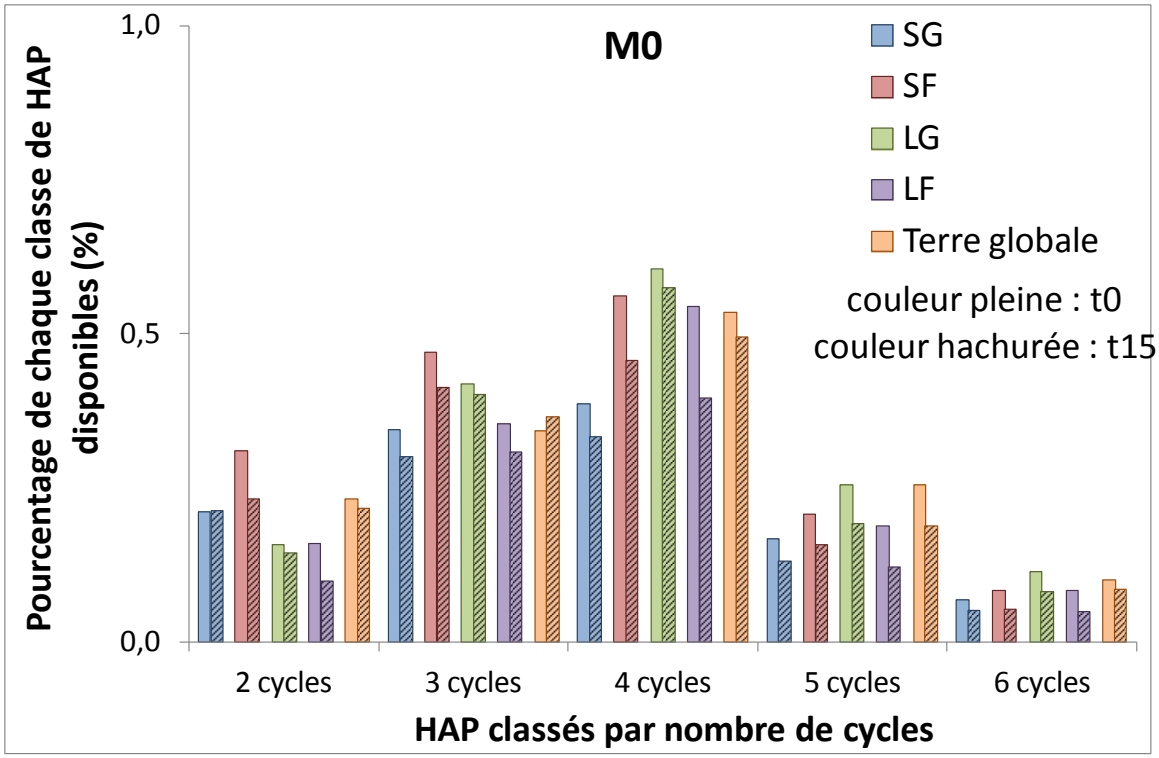

Figure 106 : Évolution du pourcentage de HAP disponibles classés par nombre de cycles aromatiques entre t_0 et t_{15} pour l'échantillon global et les fractions granulodensimétriques de la modalité M0

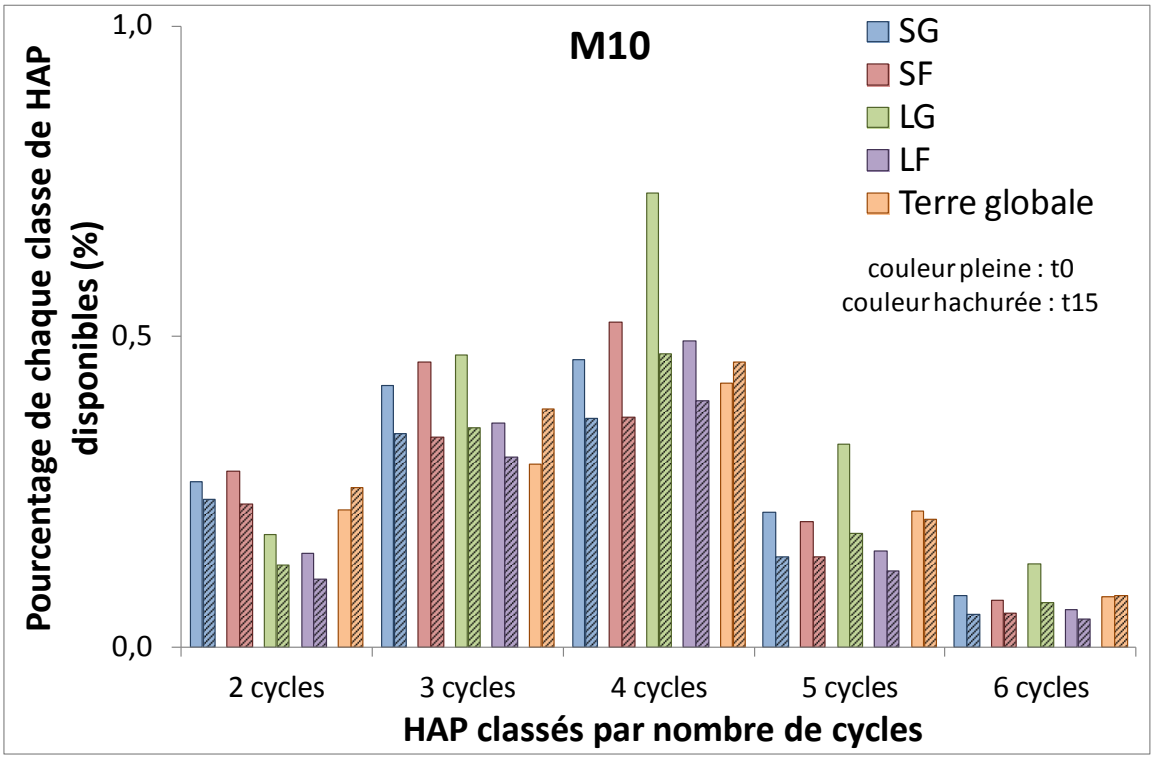

Figure 107 : Évolution du pourcentage de HAP disponibles classés par nombre de cycles aromatiques entre t_0 et t_{15} pour l'échantillon global et les fractions granulodensimétriques de la modalité

ANNEXE 6

DONNEES PROJET « MULTIPOLSITE »

ANNEXE 6-1

Tableau 39 : Correspondance entre les temps de prélèvements et les numérotations du projet Multipolsite

Date de prélèvement	Annotation
Automne 2005	T0
Printemps 2006	T1
Automne 2006	T2
Printemps 2007	T3
Automne 2007	T4
Printemps 2008	T5
Automne 2008	T6
Printemps 2009	T7
Automne 2009	T8
Printemps 2010	T9
Automne 2010	T10
Printemps 2011	T11
Automne 2011	T12

ANNEXE 6-2

Tableau 40 : Évolution des fractions granulodensimétriques des modalités TN et MSm des parcelles lysimétriques de l'automne 2005 (T0) à l'automne 2011 (T12) (n = 6)

Temps	200-2000 µm (SG)		50-200 µm (SF)		20-50 µm (LG)		2-20 µm (LF)	
	TN	MSm	TN	MSm	TN	MSm	TN	MSm
T0	63,2 (bcd)	-	16,1 (bc)	-	9,9 (ab)	-	10,8 (fgh)	-
T1	61,7 (d)	-	17,1 (b)	-	9,3 (abc)	-	11,9 (de)	-
T2	62,6 (cd)	-	17,3 (ab)	-	9,5 (abc)	-	10,6 (gh)	-
T3	62,5 (cd)	-	17,4 (ab)	-	9,1 (abcd)	-	11,0 (fg)	-
T4	62,7 (cd)	-	16,3 (bc)	-	8,2 (cde)	-	12,8 (bc)	-
T5	63,5 (bcd)	-	15,6 (c)		6,8 (ef)	-	14,1 (a)	-
T6	62,1 (cd)	-	17,3 (b)	-	7,8 (def)	-	12,9 (bc)	-
T7	62,3 (cd)	-	16,5 (bc)	-	8,2 (cde)	-	13,0 (bc)	-
T8	59,2 (e)	-	18,8 (a)	-	10,5 (a)	-	11,5 (ef)	-
T9	62,2 (cd)	-	16,1 (bc)	-	8,5 (bcd)	-	13,3 (b)	-
T10	62,8 (cd)	67,3 (a)	15,5 (c)	16,6 (bc)	8,6 (bcd)	6,7 (f)	13,1 (bc)	9,4 (j)
T11	65,2 (ab)	63,8 (bc)	15,5 (c)	17,1 (b)	8,9 (bcd)	9,4 (abc)	10,3 (hi)	9,7 (ij)
T12	61,6 (d)	62,7 (cd)	16,6 (bc)	16,3 (bc)	9,3 (abc)	9,8 (ab)	12,5 (cd)	11,3 (efg)

ANNEXE 6-3

Tableau 41 : Évolution des concentrations en matière organique extractible (mg g^{-1}) des échantillons globaux des modalités TN et MSm de l'automne 2005 à l'automne 2011

	Matière organique extractible (mg g^{-1})	
Temps de prélèvement	**TN**	**MSm**
T0	13,9	13,9
T1	13,0	14,4
T2	10,6	13,4
T3	14,6	15,7
T4	14,9	16,6
T5	14,8	14,6
T6	14,3	12,0
T7	14,3	13,9
T8	13,6	12,7
T9	13,1	13,1
T10	11,2	12,7
T11	13,1	11,3
T12	12,1	12,2

ANNEXE 6-4

Tableau 42 : Évolution des concentrations en HAP totaux (liste US-EPA) dans les échantillons de terre globale des modalités TN et MSm de l'automne 2005 à l'automne 2011

	Concentration en HAP totaux (liste US-EPA) (µg g^{-1})	
Temps de prélèvement	**TN**	**MSm**
T0	1814 (±220)	1827 (± 148)
T1	1755 (± 154)	1743 (± 225)
T2	1584 (± 138)	1718 (± 239)
T3	1582 (± 83)	1930 (± 206)
T4	1510 (± 266)	1894 (± 231)
T5	1393 (± 133)	1408 (± 142)
T6	1662	1322
T7	1602	1451
T8	1545	1382
T9	1644	1543
T10	1290	1529
T11	-	-
T12	1155	1236

ANNEXE 6-5

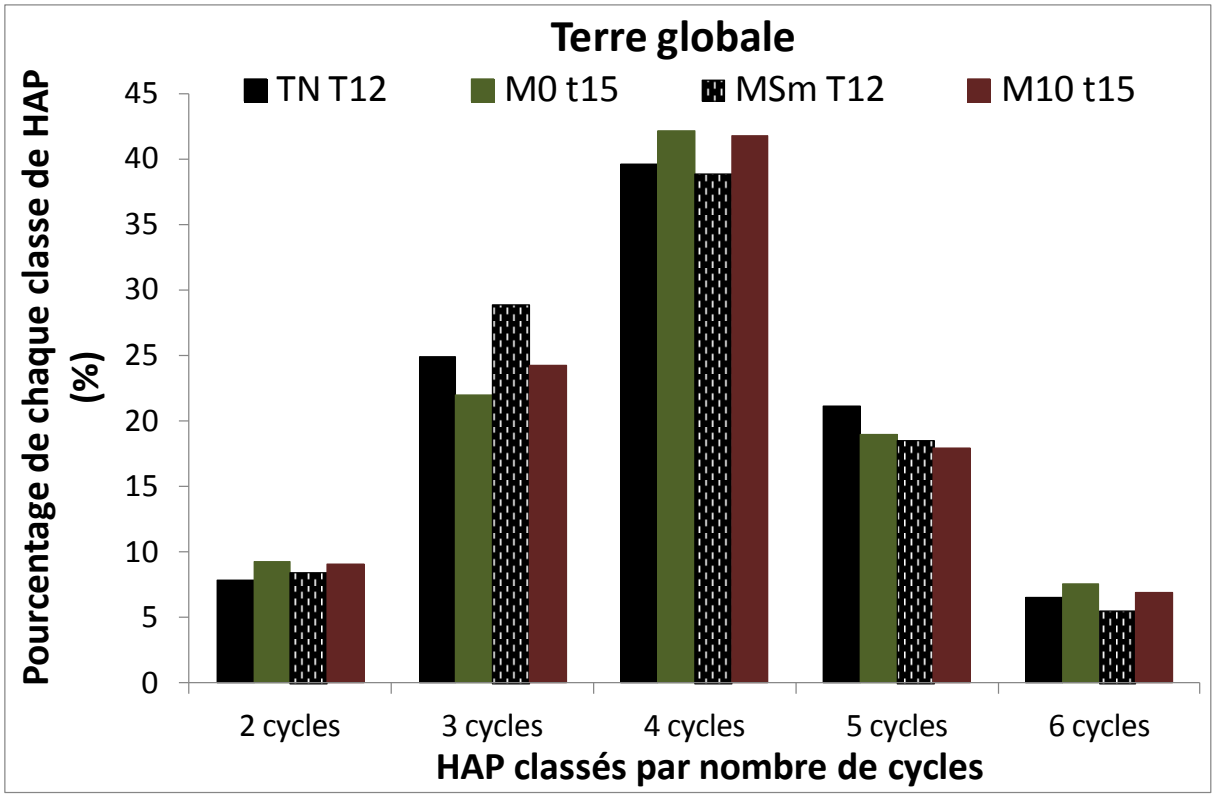

Figure 108 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les échantillons de la terre globale des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives

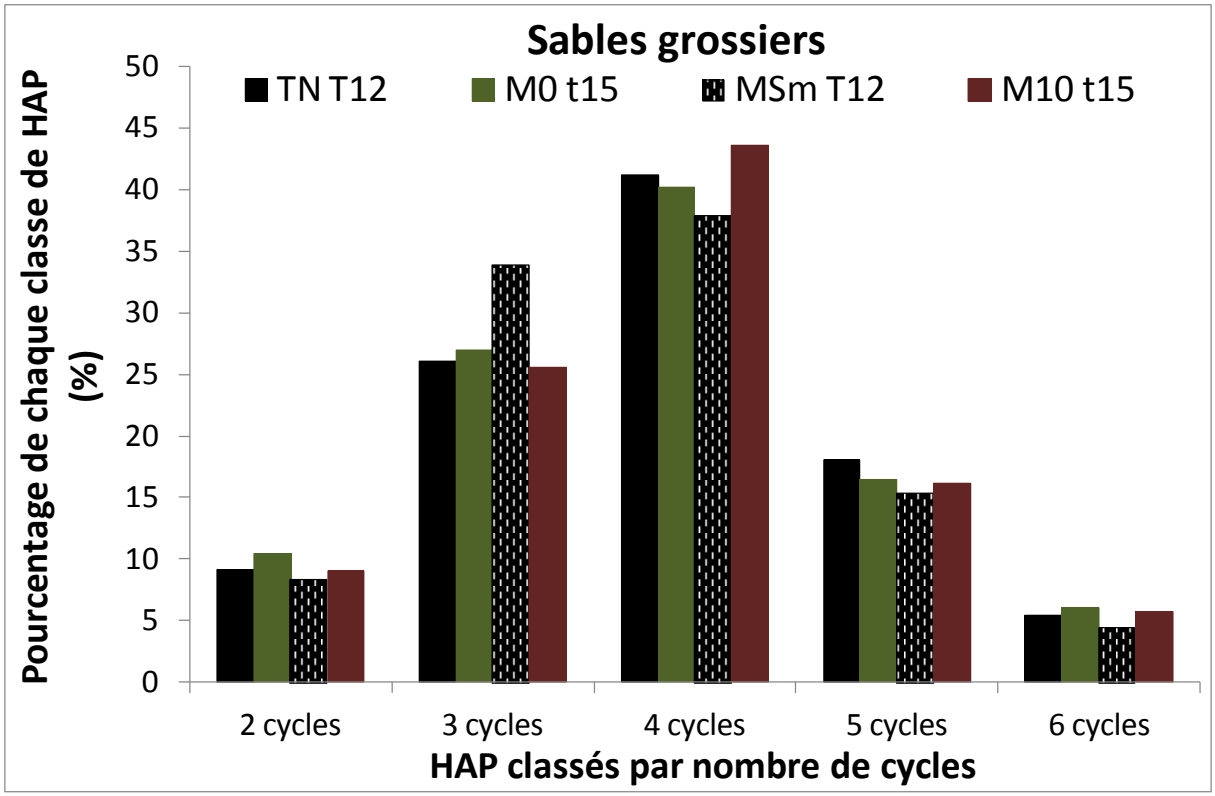

Figure 109 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les sables grossiers des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives

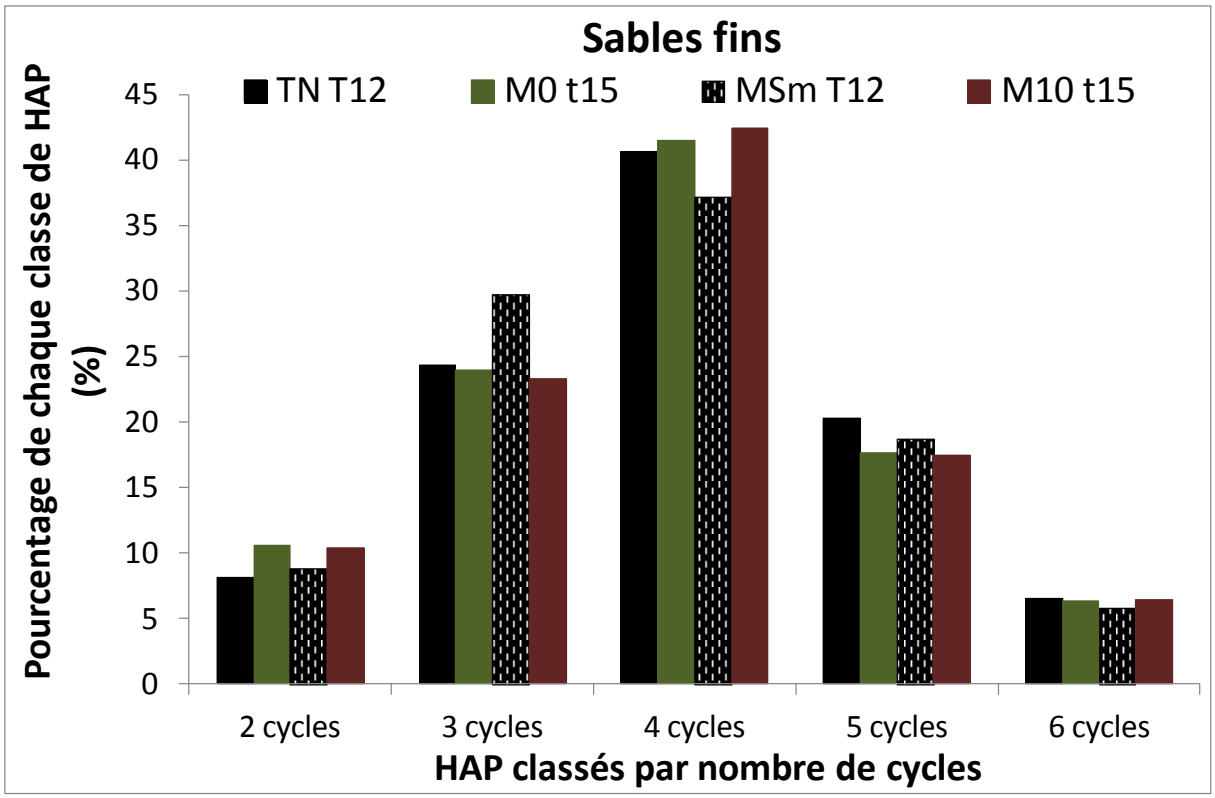

Figure 110 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les sables fins des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives

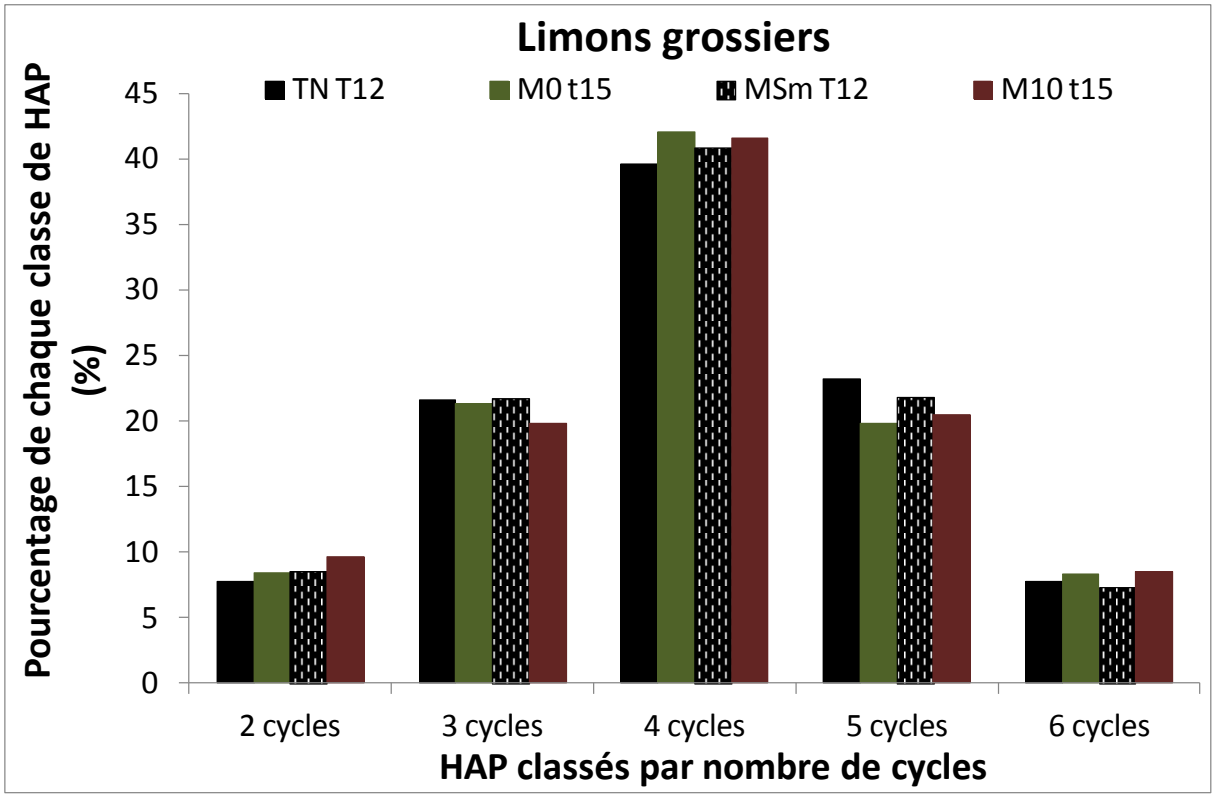

Figure 111 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les limons grossiers des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives

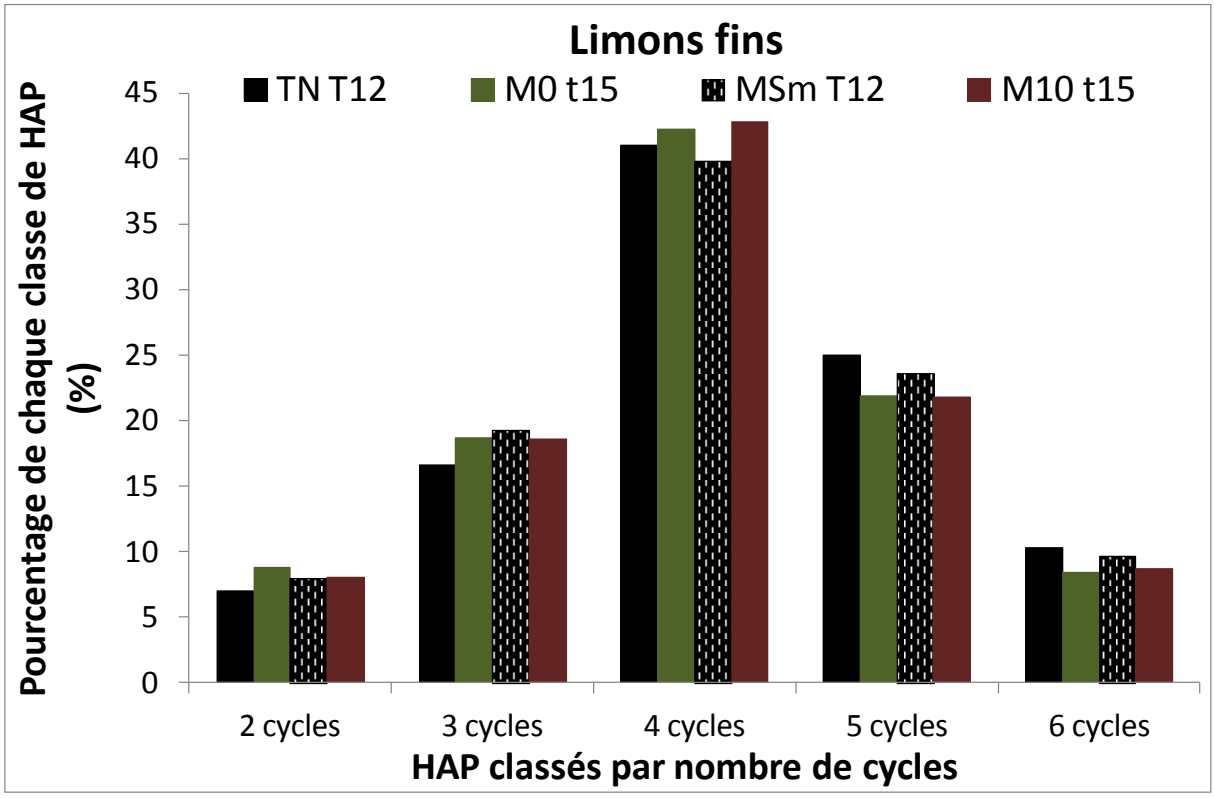

Figure 112 : Distribution des HAP classés par nombre de cycles aromatiques dans les limons fins des modalités TN, MSm, M0 et M10 à la fin de leurs expérimentations respectives

ANNEXE 6-6

Tableau 43 : Évolution du pourcentage de HAP disponibles dans les échantillons de terre globale des modalités TN et MSm au cours du temps

	Pourcentage de HAP disponibles (%)	
Modalité	**TN**	**MSm**
T0	0,9 (a)	-
T1	-	-
T2	-	-
T3	-	-
T4	-	-
T5	0,9 (a)	-
T6	0,6 (a)	-
T7	0,7 (a)	-
T8	0,8 (a)	-
T9	0,5 (a)	-
T10	0,4 (a)	0,6 (a)
T11	-	-
T12	0,8 (a)	1,0 (a)

Résumé : La fin des activités industrielles liées au charbon et à son exploitation a laissé de nombreux sites et sols pollués en France et particulièrement dans le Nord-est de la France. Une terre issue d'une friche industrielle de cokerie (Neuves-Maisons, Lorraine, France) est étudiée en couplant les outils de la science du sol et de la géochimie organique afin de comprendre l'évolution à long terme de la dynamique des contaminants. Une première étape de caractérisation de la terre et de sa pollution montre que la fraction limon fin (2-20 µm) est la fraction la plus réactive avec la plus forte concentration en HAP extractible et occlus et la plus faible disponibilité, mettant en évidence des processus de préservation spécifique au sein de cette fraction. Des extractions sélectives de la MO anthropique au solvant, confirmées par des observations au MEB, montrent que la MO anthropique, contrairement à la MO naturelle, n'a pas un rôle de liant entre les particules de la terre. L'apport de MO naturelle, (i) en conditions contrôlées par incubation de débris végétaux pendant 15 mois ou (ii) *in situ* en parcelles lysimétriques plantées avec de la luzerne pendant 6 ans, conduit à une structuration de la terre, une activité microbienne accrue et à l'incorporation et au stockage de la matière organique fraîche végétale dans les limons fins. En revanche, la pollution n'est pas affectée par l'apport de matière organique fraîche. Ainsi, la concentration et la disponibilité des HAP présentent une tendance à la diminution au cours du temps, que la terre soit cultivée ou non. Ainsi, la matière organique fraîche n'apparaît pas comme un agent de mobilisation de la pollution à long terme pour ce type de terre historiquement contaminée.

Mots clés : terre industrielle, fractions granulodensimétriques, HAP, disponibilité, structure de la terre, apport de matière organique fraîche

Abstract: The end of industrial activities associated to coal exploitation left many huge areas of wastelands especially in the Northeast of France. A former coking plant soil was studied with a combination of soil science and organic geochemistry tools in order to understand the evolution of the contaminants dynamic. In a first step, the soil and its pollution were characterized. The results showed that the fine silt fraction (2-20 µm) was the most reactive with the highest PAH concentration (extractable or occluded) and the lowest PAH availability. This fraction played a protective role toward the pollution. Moreover, solvent extractions of the anthropogenic organic matter showed that the anthropogenic organic matter was not a structuring agent between the particles in the soil. These observations were confirmed by SEM observations. In a vegetation growth context, (i) under controlled conditions with incubation of organic residue during 15 months and (ii) *in situ* in lysimetric plots planted with alfalfa during 6 years, the soil structure and the microbial biomass were promoted and the fresh organic matter was preferentially incorporated and stored in the fine silts. However, the pollution was not affected by the fresh organic matter addition. Both PAH concentration and availability showed a trend to decrease with the time of experiment. Thus, the fresh organic matter did not appear as a mobilizing agent for the pollution and would most probably contribute to pollution stabilization on the long term.

Key-words: industrial soil, granulodensimetric fractions, PAH, availability, soil structure, fresh organic matter addition