

# UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté des Sciences et Techniques  
Ecole Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Limoges  
Laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement

Ecole Doctorale Science Santé Technologie

N° d'ordre : 36-2004

## THESE

Pour l'obtention du grade de

### **DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES**

*Discipline* : Chimie & Microbiologie de l'eau

Présentée et soutenue publiquement par

Jérôme LABANOWSKI

le 25 novembre 2004

Matière organique naturelle et anthropique : vers une meilleure  
compréhension de sa réactivité et de sa caractérisation

Directrice de Thèse : Geneviève FEUILLADE

### **Jury**

*Président*

Pierre KRAUSZ

Professeur - LCSN - Université de Limoges

*Rapporteurs*

Jean-Philippe CROUE

Professeur - LCEE - Université de Poitiers

Pierre MOSZKOWICZ

Professeur - LAEPSI - INSA de Lyon

*Examineurs*

André AMBLES

Professeur - LSRSN - Université de Poitiers

Claire RICHARD

Professeur - LPMM - Université de Clermont -Ferrand

Michel BAUDU

Professeur - LSEE - Université de Limoges

Geneviève FEUILLADE

Maître de Conférences HDR - LSEE - Université de Limoges

## Remerciements

Cette étude a été réalisée à l'Ecole Nationale Supérieure d'Ingénieurs de Limoges au Laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement. J'exprime ma reconnaissance au Professeur Michel Baudu pour la confiance qu'il m'a témoignée en m'accueillant au sein de son laboratoire et pendant ces années de recherche.

Mes remerciements s'adressent également à ma directrice de thèse, Madame Geneviève Feuillade Cathalifaud, Maître de conférence HDR pour ces 3 années de collaboration. Merci de m'avoir laissé « m'éclater » dans la recherche.

Je suis sensible à l'honneur que m'ont fait le Professeur Jean Philippe Croué (Université de Poitiers) et le Professeur Pierre Moszkowicz (INSA de Lyon) en étant les rapporteurs de ce travail. Qu'ils veuillent bien trouver ici le témoignage de ma profonde gratitude pour les précieux commentaires qu'ils m'ont apportés.

Je suis également très honoré que les Professeurs André Ambles (Université de Poitiers), Claire Richard (Université de Clermont Ferrand) et Pierre Krausz (Université de Limoges) aient bien voulu examiner ce travail. Je leur suis particulièrement reconnaissant pour les nombreuses et pertinentes remarques qu'ils m'ont faites. J'en profite aussi pour leur exprimer toute ma gratitude pour m'avoir très gentiment accueilli au sein de leur laboratoire ainsi que pour remercier les membres de leur équipe Laurent Lemee (Ingénieur de recherches, Université de Poitiers), Jean-Pierre Aguer (Maître de conférence, Université de Clermont Ferrand) et Robert Granet (Ingénieur de recherches, Université de Limoges) qui m'ont énormément aidé.

J'adresse également mes sincères remerciements aux visages familiers (membres, secrétaires, agents, techniciens...) du LSEE et de l'ENSIL. Un grand MERCI à Christiane Savary, Martine Casteignau, Gislaine Monier, Michel Redon, Dominique et Pouf. De même je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à Gilles Rochette et à Pierre des ateliers de la faculté de Sciences pour leur gentillesse et leur incomparable savoir-faire.

Au cours de ces 4 années, je n'oublierai jamais ma deuxième famille celle du « labo » avec laquelle j'ai partagé les bons comme les mauvais moments : Francky, Eric, Nico et Sophie. Grâce à vous je garderai des souvenirs inoubliables de cette époque : aussi bien des éclats de rires que des discussions enflammées et surtout une amitié sincère. Vous êtes les meilleurs amis dont on puisse rêver ! Toute mon amitié aussi à la fine équipe de l'ENSIL Marie-Line, Audrey, David et Sébastien.

Je ne saurais également jamais assez exprimer tout mon amour à celle qui fut d'abord ma complice de labo et qui est maintenant ma compagne de tous les instants. Véro, toi qui m'as toujours soutenu et épaulé dans les galères mais aussi toi avec qui j'ai vécu et avec qui je partage les plus beaux moments de mon existence, j'aimerais te dire tout simplement : merci d'être entrée dans ma vie.

Enfin, à mon petit papa et ma petite maman, merci de tout votre amour et de toujours croire en moi. J'espère toujours rester fidèle aux valeurs morales que vous m'avez apprises et je vous dédicace cette thèse ainsi qu'à mes grands-parents trop tôt disparus.

## **Sommaire**

---

# Sommaire

<b>Introduction Générale</b> .....	1
<b>Première Partie</b> .....	5
<b>FRACTIONNEMENT DE LA MATIÈRE ORGANIQUE D'UN LIXIVIAT ET DE MILIEUX NATURELS</b> .....	6
I. Humification.....	7
I.1. Les théories.....	7
I.2. La formation des Substances Humiques.....	10
II. Lixiviats.....	10
II.1. L'humification au sein des « lixiviats » issus de décharges d'ordures ménagères...	10
II.2. Le lixiviat étudié.....	12
III. Milieux naturels de comparaison.....	13
III.1. Milieux terrestres.....	14
III.2. Eaux naturelles.....	15
IV. Mise en place d'un protocole de fractionnement.....	15
IV.1. Méthodes d'analyses.....	16
IV.1.1 Analyseur de Carbone Organique.....	17
IV.1.2 Analyse de l'Azote Organique.....	18
IV.1.3 Analyse de la Demande Chimique en Oxygène (DCO).....	18
IV.1.4 Mesure Spectrophotométrique UV-Visible.....	18
IV.2. Principe de l'adsorption sur résines.....	19
IV.3. Détermination des résines.....	21
IV.3.1 Efficacité des résines lors de la rétention.....	22
IV.3.2 Efficacité des résines lors de l'extraction.....	23
IV.4. Détermination d'un $k'$ unique applicable à des milieux anthropogènes et naturels	24
IV.4.1 Application aux lixiviats.....	25
IV.4.2 Application aux milieux terrestres.....	27
IV.4.3 Application aux eaux naturelles.....	29
IV.4.4 Conclusion.....	33
IV.5. Influence de la force ionique sur la répartition de la MO.....	33
IV.5.1 Influence de la dilution.....	33
IV.5.2 Influence de la concentration.....	34
V. Fractionnement.....	35
V.1. Protocoles de fractionnement appliqués.....	36
V.1.1 Protocole de Thurman & Malcolm (1981).....	36
V.1.2 Protocole de Malcolm & Mac Carty (1992).....	37
V.2. Fractionnement de la matière organique carbonée.....	36
V.2.1 Fractionnement Acide Humique (AH)/Acide Fulvique (AF)/Composés hydrophiles (HyI).....	37
V.2.2 Fractionnement Hydrophobe (HPO)/Transphile (TPH)/Hydrophile (HPI).....	40
V.3. Fractionnement de la matière organique azotée.....	42
V.4. Fractionnement de l'oxydabilité de la matière organique.....	44
VI. Conclusion.....	46

# Sommaire

<b>Deuxième partie :</b> .....	48
<b>CARACTÉRISATION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE</b> .....	
<b>APPLICATION AU LIXIVIAT STABILISÉ DE CRÉZIN</b> .....	49
I. Caractérisation de la Matière organique .....	49
I.1. Méthodes de caractérisation .....	50
I.2. Pyrolyse CG/SM de la Matière Organique .....	51
II. Extraction de la Matière Organique.....	52
II.1. La matière organique extractible et lyophilisable.....	52
II.2. La matière organique hydrophile.....	53
II.2.1 Développement d'un outil pour l'analyse de la MO hydrophile.....	54
III. Caractérisation par application de la pyrolyse CG/SM avec TMAH .....	62
III.1. Fragments d'origine naturelle.....	63
III.1.1 Acides carboxyliques.....	63
III.1.2 Composés ligno-cellulosiques .....	66
III.1.3 Stéroïdes et dérivés.....	69
III.1.4 Composés d'origine indigène .....	71
III.1.5 Composés azotés.....	72
III.1.6 Composés carbonés .....	74
III.2. Fragments d'origine anthropique.....	74
III.2.1 Composés associés aux matières plastiques .....	75
III.2.2 Autres xénobiotiques organiques.....	79
III.2.3 Distribution des composés anthropiques .....	80
III.3. Autres composés.....	81
IV. Conclusion.....	82
<b>Annexes de la Deuxième Partie</b> .....	84
Annexe A .....	85
Annexe B .....	88
Fraction AH* .....	88
Fraction AF* .....	89
Fraction TPH* .....	90
Fraction HPI*.....	91
Echantillon Bactéries.....	92

# Sommaire

<b>Troisième Partie</b> .....	93
<b>RÉACTIVITÉ MICROBIOLOGIQUE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE</b> .....	
<b>APPLICATION À DES FRACTIONS EXTRAITES</b> .....	94
I. Biodégradabilité.....	95
I.1. Méthodes permettant d'évaluer la biodégradabilité d'une espèce organique.....	95
I.2. Paramètres utilisés pour mesurer la biodégradabilité .....	98
I.3. Type de MO biodégradable .....	99
II. Identification et isolement de souches bactériennes présentes dans des déchets et/ou des lixiviats .....	100
II.1. Principales souches bactériennes retrouvées dans les lixiviats et les déchets .....	100
II.1.1 dans les lixiviats.....	100
II.1.2 dans les déchets.....	101
II.1.3 dans le lixiviat de Crézin .....	102
II.2. Identification des bactéries .....	102
II.2.1 Moyens d'identification des bactéries .....	102
II.2.2 Identification des microorganismes du lixiviat de Crézin .....	103
II.3. Sélection de souches .....	106
II.3.1 Souches du lixiviat.....	106
II.3.2 Souches du milieu naturel.....	107
III. Estimation de la biodégradabilité .....	108
III.1. Détermination du Carbone Organique Dissous Biodégradable.....	108
III.1.1 CODB des fraction extraites selon Thurman & Malcolm (1981).....	109
III.1.2 CODB des fraction extraites selon Malcolm & Mac Carthy (1992) .....	111
III.1.3 Comparaison lixiviat de Crézin / eau de la rivière la Glane .....	113
III.2. Détermination du Carbone Organique Assimilable.....	114
III.2.1 Détermination du Carbone Organique Assimilable des fractions extraites....	116
III.2.2 Comparaison lixiviat de Crézin / eau de la rivière la Glane .....	118
III.2.3 Comparaison entre COA et CODB.....	119
III.3. Détermination de la biodégradabilité par la consommation en oxygène.....	120
III.3.1 Mise en place du test.....	120
III.3.2 Mesure de la DBO sur des fractions extraites .....	122
IV. Conclusion .....	123

# Sommaire

<b>Quatrième Partie</b> .....	125
<b>RÉACTIVITÉ DE LA MATIÈRE ORGANIQUE</b> .....	
<b>DANS DES PROCÉDÉS PHYSICO-CHIMIQUES</b> .....	126
I. Les différents procédés de traitements étudiés.....	127
I.1. Coagulation-floculation.....	127
I.2. Electrocoagulation.....	127
I.2.1 Réactions aux électrodes.....	127
I.2.2 Principale loi régissant l'électrocoagulation : la seconde loi de Faraday.....	128
II. Réactivité de la MO dans les procédés de traitements.....	130
II.1. Mécanismes de la coagulation vis à vis de molécules ou de particules.....	130
II.1.1 Coagulation des colloïdes organiques (>0,45µm).....	130
II.1.2 Coagulation des composés organiques dissous (<0,45µm).....	131
II.2. Mécanisme de l'électrocoagulation vis à vis de composés organiques.....	133
II.2.1 Phénomène chimique.....	133
II.2.2 Process électrolytique.....	133
II.2.3 Impact sur la MO.....	137
III. Mise en œuvre des procédés.....	137
III.1. Matériels et méthodes.....	137
III.1.1 Coagulation-floculation.....	137
III.1.2 Electrocoagulation.....	137
IV. Réactivité de la MO contenue dans le lixiviat de Crézin lors de son traitement.....	139
IV.1. Elimination de la MO du lixiviat par coagulation et électrocoagulation.....	139
IV.1.1 Coagulation-floculation.....	139
IV.1.2 Electrocoagulation.....	143
IV.2. Détermination de la matière organique résiduelle aux traitements.....	151
IV.2.1 Coagulation-floculation.....	151
IV.2.2 Evolution de la Taille Coagulation-floculation.....	155
IV.2.3 Evolution de la bioréactivité après traitement.....	158
IV.2.4 Pyrolyse CG/SM.....	160
IV.3. Conclusion.....	164
<b>Conclusion</b> .....	165
<b>Références Bibliographiques</b> .....	167
<b>Liste des figures &amp; des tableaux</b> .....	193

## **Liste des abréviations**

**ADN** : Acide Désoxyribonucléique  
**AF** : Acide Fulvique  
**AF\*** : Acide de type Fulvique  
**AH** : Acide Humique  
**AH\*** : Acide de type Humique  
**AO** : Azote organique  
**AOD** : Azote Organique Dissous  
**ARN** : Acide Ribonucléique  
**ATP** : Adénosine Triphosphate  
**CG/SM** : Chromatographie Gazeuse à détection par Spectrométrie de Masse  
**CO** : Carbone Organique  
**COA** : Carbone Organique assimilable  
**COD** : Carbone Organique Dissous  
**CODB** : Carbone Organique Dissous Biodégradable  
**COT** : Carbone Organique Total  
**DBC** : Demande Biochimique en Carbone  
**DBC<sub>5</sub>** : Demande Biochimique en Carbone à 5 jours  
**DBO** : Demande Biochimique en Oxygène  
**DBO<sub>5</sub>** : Demande Biochimique en Oxygène à 5 jours  
**DCO** : Demande Chimique en Oxygène  
**DI** : Déchets Industriels  
**DOM** : Déchets d'Ordures Ménagères  
**DP** : Déchets Plastiques  
**HAP** : Hydrocarbures Aromatique Polycyclique  
**HPI** : fraction Hydrophile  
**HPI\*** : fraction de type Hydrophile  
**HPO** : fraction Hydrophobe  
**HPO\*** : fraction de type Hydrophobe  
**MO** : Matière Organique  
**MOB** : Matière Organique Biodégradable  
**MOD** : Matière Organique Dissoute  
**NTK** : Azote Total Kjeldahl  
**PCA** : Plate Count Agar  
**PMA** : Poids Moléculaire Apparent  
**SH** : Substances Humiques  
**SH\*** : Substances de type Humique  
**SUVA** : Absorbance UV spécifique  
**TAC** : Titre Alcalimétrique Complet  
**TMAH** : Hydroxyde de Tétra Méthyl Ammonium  
**TPH** : fraction Transphilique  
**TPH\*** : fraction de type Transphilique  
**UFC** : Unité Formant Colonie

Des sciences, Pasteur disait :

*« Je ne sais pas ce qu'est la science appliquée mais je connais  
les applications de la science ».*

*A mon papa et à ma maman.*

---

# ***Introduction Générale***

---

---

## Introduction Générale

La Matière Organique (MO) est une composante ubiquiste des milieux naturels (terrestres, aquatiques) mais aussi des milieux anthropiques (stations d'épuration, décharges) qui peut se définir à la fois comme l'élément et le produit majeur des processus biogéochimiques contrôlant ces milieux. En effet, elle possède un rôle essentiel dans la disponibilité et la mobilité de nombreux constituants. De plus, elle tient un rôle primordial dans l'activité micro et macro biologique d'un milieu puisque les composés organiques dissous et/ou particuliers se décomposent sous l'action de microorganismes et constituent alors, pour l'ensemble du monde vivant, la matière première nécessaire à l'élaboration de nouveaux éléments biologiques qui seront par la suite à leur tour décomposés.

Cependant, toute matière organique possède une origine et une composition propres à son environnement. Les processus inhérents à un milieu donnent à sa MO, par des apports et des mécanismes spécifiques, des caractéristiques particulières responsables de sa réactivité unique. Ainsi une contribution des populations microbiennes induit un apport « indigène ou autochtone » alors que des matières d'origine terrestre conduisent à un apport « allochtone » et que la présence de composés synthétiques peut être associée à un apport « anthropique ». Chaque environnement se compose alors de ces divers apports mais sous des proportions et des qualités variables. De même les processus de « décomposition » et « d'humification » qui contrôlent l'état et l'évolution de la MO suivant des réactions aéro/anaérobies biologiques, physiques ou chimiques, induisent des transformations, des dégradations ou des agglomérations différentes suivant les milieux.

Aussi chaque matière organique nécessite une caractérisation précise en vue de comprendre ses origines, les mécanismes de sa genèse et de déterminer ses différents rôles environnementaux au sein d'écosystèmes naturels ou artificiels. Cependant, l'étude et l'identification des divers constituants d'une matrice organique constituent une tâche bien délicate de par leur nombre et leur hétérogénéité, c'est pourquoi de nombreuses techniques analytiques et procédures opératoires ont été développées. Mais alors que cette approche a largement contribué à l'étude de la MO des milieux naturels et a permis de proposer des structures modèles et divers mécanismes d'humification, la connaissance de la MO des décharges s'est essentiellement axée sur ses processus de dégradation et sa composition plus que sur ses caractéristiques et sa genèse. Devant cet état de fait nous avons cherché au travers de ce travail à approfondir les connaissances sur la MO contenue dans les lixiviats d'ordures ménagères notamment en terme de caractérisation et de réactivité.

Dans les décharges, la décomposition des déchets par les microorganismes génère des composés solubles qui sous l'action du lessivage et de l'infiltration des eaux météorites se mélangent pour former le « jus de déchets » dénommé « lixiviat ». Comme l'étude des déchets a toujours présenté des difficultés de par leur confinement dans la décharge, le lixiviat est apparu le moyen le plus simple pour obtenir des informations sur les processus biogéochimiques en décharges, puisqu'il reflète essentiellement la phase décomposée du déchet. Au fil de leur dégradation les déchets évoluent et la composition du lixiviat change, c'est pourquoi trois catégories de lixiviats ont été définies : les lixiviats jeunes, les lixiviats intermédiaires et les lixiviats stabilisés. Les lixiviats jeunes et intermédiaires résultent principalement des différentes phases de la décomposition anaérobie des MO alors que les lixiviats stabilisés sont plus représentatifs de processus d'humification qui conduisent, comme dans les milieux naturels, à des structures de plus en plus complexes.

---

Cependant même si toutes les MO (lixiviats, échantillons naturels) sont constituées aussi bien de composés simples que de substances complexes (les « Substances Humiques » et les « Substances non Humiques »), les différences de proportions peuvent être interprétées comme les conséquences des phénomènes internes aux systèmes dans lesquels elles sont générées. Ainsi l'ensemble des constituants doit être pris en compte pour caractériser une MO.

De par le rôle majeur des processus d'humification dans le contrôle des polluants au sein d'une décharge et leur prédominance d'autant plus marquée que la décharge est âgée et le lixiviat considéré comme stabilisé (ou en cours de stabilisation), nous avons donc fait le choix de travailler à partir de lixiviat dits « stabilisés », répondant à des états d'humification avancés. L'orientation donnée à cette étude répondait à une nécessité de mieux appréhender à la fois les caractéristiques propres à la MO en terme de composition, de répartition, de connaissance de son origine mais aussi à une nécessité d'évaluer sa réactivité. L'étude a été systématiquement menée en comparaison à des données scientifiques établies par la littérature pour des milieux naturels terrestres et aquatiques mais aussi, dans la mesure du possible, en comparaison à des essais réalisés au cours de ce travail sur divers milieux naturels (sol, tourbe, eaux naturelles).

Ce mémoire se décompose en quatre parties dans lesquelles seront principalement développées la caractérisation de la MO, l'identification de ses constituants et la détermination de ses réactivités microbiologiques et chimiques.

La *première partie* présente la répartition de la MO d'un lixiviat et de divers milieux naturels permettant de caractériser cette matière, d'établir des hypothèses sur ses origines et de définir son état d'humification. Les différentes théories de l'humification, élaborées pour les milieux naturels, ont été reprises et leur application dans les processus propres à la décharge a été discutée à partir des données de la littérature scientifique. L'étude expérimentale a été basée sur le fractionnement de la MO en groupes de composés « humiques » et « non humiques » selon les protocoles de Thurman & Malcolm (1981) et de Malcolm & Mac Carthy (1992) utilisant la filtration sur résine XAD. Les principaux paramètres du fractionnement (type de résine, volume à filtrer) ont été réfléchis afin de permettre la comparaison entre une extraction sur un lixiviat de décharge à fort COD et une extraction sur un milieu naturel à faible COD. Les protocoles ont été appliqués en plus du lixiviat sur des solutions de sol, de tourbe, des eaux de surface et des eaux souterraines. Le fractionnement de la MO des divers milieux a été réalisé à la fois en terme (i) de Carbone Organique Dissous pour essayer de comprendre la distribution de ses fractions mais aussi en terme (ii) d'Azote Organique Dissous (AOD) pour déterminer, à travers sa répartition, les indices d'une contribution autochtone et (iii) de Demande Chimique en Oxygène (DCO) pour définir les fractions récalcitrantes à l'oxydation.

La *deuxième partie* répond à une caractérisation plus précise de la MO du lixiviat à partir de l'identification de plusieurs de ses constituants. Cette caractérisation permet de compléter et de valider les principaux résultats issus du fractionnement. La technique de pyrolyse associée à une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (pyrolyse CG/SM) après pré-dérivation à l'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) a été choisie pour analyser les différentes fractions de MO extraites du lixiviat en raison de son niveau d'information d'ordre moléculaire. En préambule de ces analyses, un protocole de conditionnement de la MO hydrophile employant la fixation sur argile minéralogique catalytique a été développé pour simplifier son analyse par Py/CG/SM. Pour chaque fraction, les différents fragments identifiés ont été rapportés à divers classes de composés naturels ou

---

anthropiques permettant de retrouver la composition de la matière d'origine et de comprendre leur présence au sein de la MO du lixiviat. En parallèle de l'analyse des fractions du lixiviat, un échantillon de lyse cellulaire bactérienne a été analysé pour tenter de mettre en évidence une contribution indigène dans la MO du lixiviat, contribution pouvant résulter de la présence de certaines populations microbiennes contenues dans le lixiviat et/ou de la mort de cette biomasse lors du passage de l'état d'anaérobie de la décharge aux conditions aérées de l'analyse en laboratoire.

La *troisième partie* présente une étude de la bioréactivité de la matière organique permettant de caractériser cette MO en fonction de sa capacité à interagir avec le monde microbien. Cette partie tente de comprendre l'influence qu'a pu avoir l'intense activité bactérienne de la décharge sur la MO. L'état de la MO dépendant notamment des processus de dégradation microbiologiques, une approche de la biodégradabilité a été menée sur les fractions extraites d'un lixiviat stabilisé mais aussi d'une eau naturelle de surface pour permettre un comparatif avec une matrice organique générée sous des conditions différentes. Après une synthèse des données bibliographiques relatives à la biodégradabilité, différents tests issus du milieu naturel (Carbone Organique Dissous Biodégradable CODB, Carbone Organique Assimilable COA, Demande Biochimique en Oxygène DBO) ont été adaptés et transposés à l'étude de fractions extraites. Les inoculums nécessaires à ces tests ont été sélectionnés parmi les souches bactériennes identifiées dans un lixiviat stabilisé et une eau naturelle afin de disposer de populations microbiennes indigènes et étrangères aux matrices étudiées. Les trois protocoles mis en place (CODB, COA, DBO) permettent d'aborder selon des approches différentes la notion de biodégradabilité (types de MO biodégradable, utilisation). Les résultats obtenus ont servi à interpréter les mécanismes d'utilisation de la MO par la biomasse et à comprendre les effets d'accumulation de certaines fractions réfractaires.

La *quatrième partie* s'est intéressée à la réactivité chimique de la matière organique du lixiviat notamment vis à vis de traitements par coagulation-floculation avec des sels d'aluminium, par électrolyse et par électrocoagulation avec des plaques d'aluminium. Ces traitements sont à ce jour appliqués sur des lixiviats d'OM considérés comme stabilisés sans que la connaissance et la compréhension de la réactivité et des caractéristiques des fractions organiques éliminées ou non, soient toujours parfaitement maîtrisées. La mise en place de ces traitements chimiques et électrochimiques a permis de suivre le comportement de la MO lors de phénomènes de coagulation et de phénomènes oxydatifs et de déterminer les fractions réactives ou à l'opposé réfractaires aux traitements. Une synthèse bibliographique présente les réactions et les principes théoriques régissant l'élimination de la matière organique par ces différents traitements. Les doses et les conditions optimales d'élimination ont été recherchées pour chacun des procédés et les mécanismes d'élimination ont été discutés. La fraction de MO non éliminée, supposée réfractaire aux traitements, a fait l'objet d'une étude plus approfondie : caractérisation structurale par Pyrolyse/GC/MS selon le protocole développé et appliqué à la deuxième partie, caractérisation par taille (Ultrafiltration) et mesure de la bioréactivité de la matière organique résiduelle selon les protocoles de biodégradabilité définis à la troisième partie. L'ensemble de ces résultats a permis d'émettre des hypothèses quant à la compréhension de la réactivité de la MO lors de son traitement.

---

## **Première Partie**

---

## **Première partie :**

# FRACTIONNEMENT DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

## D'UN LIXIVIAT ET DE MILIEUX NATURELS

La Matière Organique (MO) est une composante ubiquiste des milieux terrestres (sols, sédiments (Mac Carty, 2001)), aquatiques (eaux de surface (Violleau, 1999) et eaux souterraines (Artinger *et al.*, 2000)) et anthropiques (stations d'épuration (Imai *et al.*, 2002), décharges (Kang *et al.*, 2002)), mais dont l'origine et la composition restent propres à chaque environnement. La richesse de cette répartition souligne les multiples possibilités de cette matrice organique à réagir ainsi que les nombreux mécanismes la régissant. Cependant, toute matière organique est basée sur une architecture de carbone, d'hydrogène, d'oxygène, d'azote, de soufre et de phosphore issus essentiellement de résidus végétaux et animaux et de l'activité métabolique des microorganismes. Les mêmes processus majeurs contrôlent son évolution suivant des réactions aéro/anaérobies biologiques, physiques ou chimiques qui induisent des transformations, des dégradations ou des agglomérations.

Mais alors que l'environnement naturel perdure et se renouvelle depuis des millions d'années, les décharges sont en revanche des milieux récents dont les mécanismes à long terme, bien que partiellement connus, restent à approfondir. En effet, la législation fixe une limite arbitraire au suivi post exploitation de 30 ans, mais les difficultés à évaluer le devenir d'une décharge après cet âge et au delà sont évidentes, puisque la conception des mécanismes à long terme repose principalement sur la spéculation et l'extrapolation. Très peu d'analyses ou de données concrètes de sites d'âge très avancé sont actuellement disponibles. Aussi l'interprétation de phénomènes très longs (comme l'humification ou le devenir des polluants piégés dans la décharge) ne peut pas être réellement appréhendée. Le développement de méthodes et de modèles permettant d'estimer les risques de pollution organique ou minérale à long terme (Bozkurt *et al.*, 2000 ; Moszkowicz *et al.*, 1998) nécessite de systématiser, de comprendre et de mesurer les processus. Cependant, il est difficile d'entreprendre des expériences dans l'échelle de temps et dans les conditions représentatives de décharges. C'est pourquoi afin de matérialiser le futur des décharges, certains auteurs ont cherché dans la nature, des cas d'étude concrets semblables à l'enfouissement des déchets organiques en décharge.

Ainsi en considérant certains points de similitude, des systèmes naturels ayant évolué sur un long terme, et pour lesquels il est possible d'étudier leur caractéristiques, deviennent un outil intéressant dans la compréhension des processus se produisant en décharge. Par exemple, Bozkurt *et al.* (2001) ont cherché dans le système des tourbières, un analogue naturel au processus se produisant à long terme en décharge de déchets industriels et municipaux. L'idée fondamentale était d'examiner des tourbières afin d'évaluer si elles pouvaient fournir des informations comparables avec les dépôts d'ordures ménagères pour aider à prédire le comportement de la matière organique. L'analogie entre les déchets et les tourbes reposant principalement sur la similitude des processus liés à la matière organique et des conditions limitées d'exposition à l'oxygène. De même Agren (2002) a cherché les principes régissant la matière organique des eaux de « forêts » (eaux contenues dans les sols, lacs, ruisseaux et eaux souterraines) transposables aux lixiviats de décharges. Quatre similitudes possibles se sont alors dégagées :

- i) les éléments organiques de base (acides aminés, sucres, acides gras..) diffèrent moins entre eux que les structures finales qu'ils composent.
- ii) la solubilisation tend à concerner des fractions organiques avec des propriétés communes.

iii) la dégradation préférentielle induite par les micro-organismes élimine non seulement les substances non persistantes mais accumule aussi une fraction réfractaire dotée de structures moins variées et plus élémentaires.

iiii) enfin, les processus d'humification au cours de la dégradation ou de la condensation conduisent en la formation de substances à caractères réfractaires.

D'autres études comme Weis *et al.* (1989), Lagier (2000) et Kang *et al.* (2002) ont plutôt cherché à appliquer différentes techniques de caractérisation afin de comparer les substances humiques extraites de lixiviats à celles d'autres milieux.

De manière générale, l'ensemble de ces démarches traduit l'intérêt certain de considérer un pont entre la recherche sur les substances organiques naturelles et les substances organiques de décharges afin de transposer les connaissances déjà acquises sur le milieu naturel à ces milieux anthropiques.

L'étude du devenir à long terme de la matière organique spécifique aux décharges permet d'évaluer les risques potentiels de remobilisation de polluants piégés au sein des déchets mais aussi d'évaluer l'état de stabilité dans lequel le système se trouve. Par conséquent, il y a un réel besoin de comprendre les mécanismes de l'humification en décharge et leurs conséquences sur la réactivité de la matière organique. De ce fait la répartition de la matière organique en différentes fractions plus ou moins humifiées apparaît comme une première approche pour aborder ce problème. Aussi, dans le cadre de notre étude nous avons comparé un lixiviat stabilisé à divers milieux naturels terrestres (tourbe et sol) et aquatiques (eaux naturelles de surface et souterraines) afin d'essayer de définir son état d'humification et de tenter de comprendre la distribution de sa matière organique. Les comparaisons restent purement conceptuelles, en aucun cas une décharge, un déchet ou un lixiviat ne sont identiques en terme de composition qualitative et quantitative aux milieux naturels. Cette recherche de similarité permet au contraire de dégager les facteurs uniques et caractéristiques du lixiviat.

La comparaison de milieux aussi variés a cependant nécessité la mise en place de conditions particulières aux protocoles traditionnels de fractionnement de la matière organique afin de pouvoir fractionner aussi bien des échantillons riches ou pauvres en matière organique.

## I. Humification

Ce processus permet à la matière organique faiblement biodégradable de subir une lente métabolisation la conduisant à la formation de molécules complexes de type Substances Humiques (SH\*) représentant alors une part importante de la DCO du lixiviat (Christensen *et al.*, 2001). Dans l'environnement, les substances humiques sont constituées par des réactions secondaires de synthèse (condensation) lors de processus de dégradation et de transformation des matières organiques sous l'action microbienne (Senesi & Loffredo, 1999). Elles peuvent se scinder en humines insolubles à tous pH, en Acides Fulviques (AF) solubles à tous pH et en Acides Humiques (AH) insolubles uniquement à pH acide (Thurman, 1985). Aussi en appliquant un protocole similaire, il est également possible de classer les substances de type humique issues des décharges également en composés de type humines\*, en acides de type fuvique\* (AF\*) et en acides de type humique\* (AH\*). Cependant les avis s'avèrent partagés tant sur les processus les générant que sur leur formation à proprement dite.

### I.1. Les théories

Il existe peu de données sur les processus de l'humification en décharge et dans les lixiviats. En revanche, la compréhension de ces mécanismes a été beaucoup étudiée dans les milieux terrestres et les principales théories s'y réfèrent. Ainsi, dans le sol, la formation des substances humiques à partir de débris animaux et végétaux repose sur plusieurs voies décrites par Stevenson (1982) et présentées à la figure I-1. La voie 1 représente la théorie classique,

popularisée par Waksman (1936), selon laquelle les substances humiques représentent des lignines modifiées. La voie 2 correspond à la théorie d'une transformation de la lignine en polyphénols puis en quinones. La voie 3 considère la production de polyphénols bactériens transformés en quinones et la voie 4 la condensation des sucre-aminés.

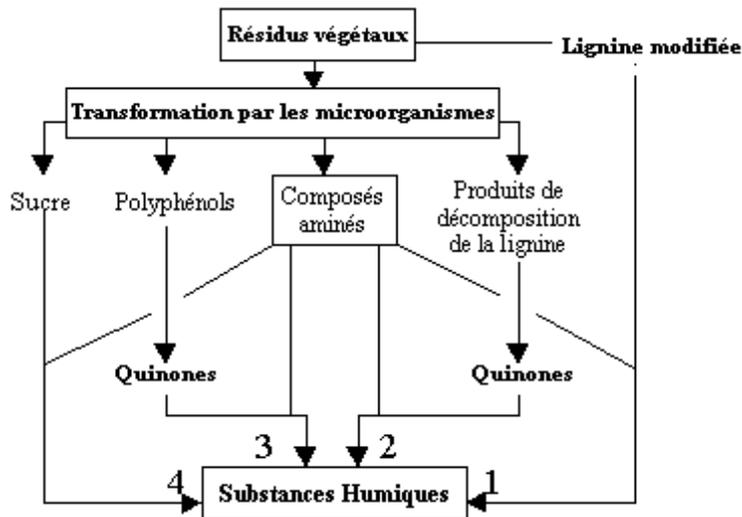


Figure I-1 : Mécanismes de formation des substances humiques de sol (Stevenson, 1982).

### 1 Théorie de la lignine

Selon cette théorie, les substances humiques sont des fragments de lignine partiellement utilisés par les microorganismes et quelque peu modifiés. Les principales modifications étant la perte de groupes méthoxyl (OCH<sub>3</sub>) avec génération de *o*-hydroxyphénols et l'oxydation des chaînes latérales aliphatiques. La lignine modifiée est alors sujette à d'autres changements conduisant à la formation des acides humiques puis des acides fulviques. Selon la théorie de Waksman la lignine modifiée s'associe entre autre avec des composants azotés de type protéique (Stevenson, 1994).

### 2 & 3 Théorie des polyphénols

Selon la théorie des polyphénols (Stevenson, 1982), les substances humiques peuvent être considérées comme une combinaison de biopolymères issus de la biodégradation des végétaux et d'autres constituants organiques. Dans la voie 3 la lignine joue toujours un rôle important dans la synthèse des substances humiques, mais d'une manière différente. Lors de sa dégradation, elle est décomposée en ses unités structurales primaires (unités phényl propène) qui sont alors déméthylées et oxydées en polyphénols. Puis, les polyphénols sont convertis en quinones, par des enzymes polyphénoloxydase, qui réagissent spontanément avec d'autres constituants de la matière organique comme les acides aminés pour former des macromolécules humiques. La voie 2 répond à un principe similaire à la voie 3 si ce n'est que les polyphénols sont synthétisés par des microorganismes à partir de sources de carbone non ligneuses (par exemple la cellulose, mais aussi des sources non végétales). Ces polyphénols bactériens conduisent également à la formation de substances humiques.

### 4 Condensation sucre aminé

Selon ce concept, les sucres et les acides aminés issus du métabolisme bactérien et de la dégradation des matières organiques se polymérisent par condensation abiotique. La voie sucre-aminé consiste en l'addition d'une amine au groupe aldéhyde d'un sucre pour former une glycosylamine N substituée (Cheshire *et al.*, 1992). La glycosylamine se réorganise alors suivant le réarrangement d'Amadori pour former une cétosamine N-substituée. Puis selon les conditions du milieu, un furfural (forte déshydratation) ou une réductone (déshydratation

modérée) sont synthétisés. La cétosamine N-substituée peut être également sujette à la décomposition en aldéhydes et cétones (acetol et diacetyl). Tous ces composés sont fortement réactifs et polymérisent aisément en présence de composés aminés pour former des substances humiques.

Dans la pratique chacune des quatre voies doit être considérée comme le mécanisme probable dans la synthèse des acides humiques et fulviques. Dans les sols, ces quatre voies interviennent mais à des degrés divers. La voie de la lignine prédomine dans les sols humides et les marais, alors que la synthèse des polyphénols est facilitée dans les sols forestiers aérés. Au contraire, les fluctuations fréquentes de température et d'humidité facilitent la condensation des sucre-aminés. Cependant, aucune théorie n'est complètement satisfaisante et la synthèse des substances humiques résulte très probablement de l'action de plusieurs voies en même temps. En outre, l'humification reste un concept en permanente évolution qui a vu l'émergence d'autres théories que celles de Stevenson.

### **5 Théorie de la part anthropique**

L'environnement naturel étant fréquemment soumis à la pollution de contaminants organiques, l'idée d'une intervention de ces composés dans la genèse des substances humiques a émergé. Selon Weber & Huang (2003), les oxydations enzymatiques initiées dans les voies polyphénoliques de l'humification s'accompagneraient de l'incorporation de xénobiotiques organiques. L'inclusion de HAP dans la matière organique a été évoquée par Burgos *et al.* (1999) et lors de la dégradation de contaminants dans les sols (Xu *et al.*, 2003). Mais de manière générale, il semble que l'humification des composés anthropogéniques soit plus le fait d'interactions entre éléments anthropogènes et composés organiques naturels que d'un réel processus biophysico-chimique. En effet, le bisphénol A et le phénanthrène sont connus pour s'adsorber sur les acides humiques de sol par l'intermédiaire d'interactions faibles de type liaisons hydrogène, forces de Van der Waals et interactions hydrophobes (Loffredo *et al.*, 2000) ou bien encore par des mécanismes de transfert de charge entre structures aromatiques (Kukkonen *et al.*, 1990). De plus, cette association limite la biodisponibilité des polluants (Sanin *et al.*, 2000) et favorise leur accumulation.

### **6 Théorie des supramolécules**

Cette théorie récente (Piccolo *et al.*, 1996 ; Conte & Piccolo, 1999 ; Piccolo, 2002 ; Piccolo *et al.*, 2002a) suggère que les substances humiques de sol, au lieu d'être des structures macropolymériques, relèvent d'une nature supramoléculaire dans laquelle, à pH neutre, de petites molécules hétérogènes (<1000Da) s'assemblent par des interactions faibles (forces de Van der Waals, liaisons  $\pi$ - $\pi$ , liaisons CH- $\pi$ ) en larges conformations de haut poids moléculaire apparent. Ces superstructures pouvant facilement se désintégrer en plus petites associations sous l'action d'acides organiques.

La théorie repose aussi sur le principe que les supramolécules peuvent s'associer en véritables structures polymériques par liaisons covalentes lors de réactions d'oxydation enzymatique pour donner des substances humiques (Piccolo *et al.*, 2000). Cette approche innovatrice de la chimie « humique » a été employée pour essayer de comprendre les mécanismes de stabilisation du carbone organique dans les sols par protection hydrophobe (Spaccini *et al.*, 2002) et par polymérisation in situ (Piccolo *et al.*, 2002b).

### **7 Théorie des substances humiques végétales**

Selon cette théorie, l'humification résulte de la modification et de la préservation des tissus végétaux (Hatcher & Spiker, 1988 ; Kögel-Knabner *et al.*, 1992) notamment des biopolymères tels que la lignine, la cutine et la subérine (Kononova & Alexandrova, 1973 ; Zech *et al.*, 1992 ; Haider, 1994 ; Lichtfouse *et al.*, 1998). Cependant, contrairement à l'approche de Waksman

(1936), la plante serait la première étape du processus d'humification. En effet, la présence de substances de type humique a déjà été rapportée au sein même de plantes terrestres (Kononova & Alexandrova, 1973 ; Davies *et al.*, 1997) et marines (Radwan *et al.*, 1997a et b). Fengel & Wegener (1989) et Showalter (1993) concluent qu'une partie des tissus végétaux est constituée de noyaux de type humique, dans lesquels des composés aromatiques (lignine) et aliphatiques (cutine), des hydrates de carbone (hémicellulose) et des protéines s'agencent pour former une structure chimique stable. En effet, bien que la lignine et ses dérivés soient considérés comme les principaux précurseurs des substances humiques (Johansson *et al.*, 1994), les polymères aliphatiques interviennent également (Almendros *et al.*, 2000). Tegelaar *et al.* (1989) indiquent que des polyesters naturels (cutines et subérines) peu décomposés et d'autres molécules aliphatiques non hydrolysables et insolubles servent de précurseurs aux acides humiques de sols.

En conclusion, les phénomènes conduisant à la formation des substances humiques en décharge restent bien difficiles à déterminer même dans les milieux naturels. Aussi, la transposition de ces théories aux décharges et à leurs lixiviats s'avère délicate.

## **I.2. La formation des Substances Humiques**

Quelque soit la théorie impliquée, la formation des Substances Humiques résulte de processus d'humification. Cependant, leur ordre de formation n'est pas toujours clairement défini en raison de la simplicité des protocoles employés. En effet, les substances humiques (AH et AF) ne constituent pas des composés bien spécifiques, mais correspondent à l'ensemble des composés d'un milieu possédant certaines propriétés chimiques identiques. Par conséquent, il est très difficile de distinguer les véritables SH, résultant des processus d'humification, des composés ayant les mêmes propriétés qu'elles. Ainsi, Hedges (1988) rapporte que des composés répondant aux définitions des AH et AF sont formés à deux stades différents du turnover de la matière organique naturelle : en phase de dégradation et en phase d'humification. En effet, la dégradation des biopolymères organiques peut conduire à la formation de composés de type AH qui en se décomposant donnent des composés de type AF qui se décomposent à leur tour en plus petites molécules organiques. Cette dernière fraction organique, définie fréquemment comme de la MO labile (Stevenson, 1982), est alors directement minéralisée ou bien impliquée dans les processus d'humification. Dès lors des réactions de condensations biotiques ou abiotiques interviennent sur ces petites molécules pour donner en premier lieu des AF puis des AH et finalement de la matière organique kérogène.

Par conséquent la dégradation tout comme l'humification conduisent à la formation de molécules répondant aux critères de définition des AH et des AF, mais les composés formés sont théoriquement différents. De plus, Weber & Huang (2003) introduisent également l'idée que la dégradation des composés anthropogènes, tout comme les composés naturels, peut également engendrer des composés apparaissant comme des SH. Aussi, il est probable d'observer simultanément des SH de décomposition et des SH d'humification mais difficile de les distinguer.

## **II. Lixiviats**

### **II.1. L'humification au sein des « lixiviats » issus de décharges d'ordures ménagères**

A notre connaissance, la transposition aux lixiviats et à la décharge des théories de l'humification des sols n'est pas documentée. Aussi, nous avons essayé de discuter l'éventualité des différentes théories en considérant que les conditions de la décharge prédéterminent et favorisent certainement des voies d'humification.

La théorie classique de Waksman, considérée comme désuète dans les sols, trouve un certain intérêt dans l'anaérobiose et l'humidité d'une décharge. Sous ces conditions, la lignine est encore plus difficilement biodégradable et peut ainsi se retrouver en partie préservée (Blanchette, 1995). Des fragments ligneux légèrement modifiés pourraient alors exister et conduire à des substances de type humique\* (SH\*). Parallèlement, la présence de cellulose et d'hémicellulose soumises à l'intense activité bactérienne d'un massif de déchets pourrait conduire à la synthèse de polyphénols bactériens précurseurs de SH\*. En revanche, la biodégradation de ces composés au cours du temps (Barlaz *et al.*, 1990) limiterait cette voie d'humification. Dans le cas de manque de substrat, les microorganismes pourraient aussi réutiliser des SH précédemment synthétisées (Coates *et al.*, 2002) pour en produire d'autres. En revanche, la faible décomposition de la lignine en anaérobie modérerait la théorie des polyphénols ligneux qui nécessite la rupture du polyéther en ses unités fondamentales. De même la théorie des sucres-aminés nécessite des variations de température et d'humidité que le confinement de la décharge ne favorise pas.

A très longue échéance, certains auteurs supposent une réintroduction de l'air dans la décharge (Kjeldsen *et al.*, 2002). Après son intrusion, la priorité des voies d'humification sera probablement modifiée. Ainsi, bien que l'humification se poursuive vraisemblablement, les substances de type humique générées à partir de cet instant devraient différer des précédentes. En effet, les substances humiques issues de la condensation anaérobie de la matière organique sont différentes de celles générées dans les environnements aérobies ou partiellement aérobies (podzol) (Aulin *et al.*, 1997). De manière générale, les substances de type humique de lixiviats montrent de plus grandes teneurs en carbone, hydrogène et soufre, moins de groupements phénoliques et de plus petites masses moléculaires que les substances humiques extraites de sols (Weis *et al.*, 1989 ; Lagier, 2000). De plus, Aulin *et al.* (1997) indiquent que les SH\* formées dans une décharge anaérobie sont moins oxydées que celles formées dans un sol aérobie. Aussi lors de la pénétration d'air, les gaz atmosphériques en imprégnant la décharge pourraient alors permettre la lente dégradation des déchets et des matériaux récalcitrants de l'anaérobie. La lignine, préservée jusque là, pourrait alors être décomposée et favoriser ainsi la voie des polyphénols ligneux. Certains fragments à peine modifiés pourraient également peut être permettre la voie de la lignine modifiée. De même, l'activité biologique aérobie pourrait permettre la synthèse de polyphénols bactériens à partir de sources de carbone jusque là réfractaires. En effet, le rôle des microorganismes comme sources des polyphénols a été souligné par Kononova & Alexandrova (1973) qui concluent que des substances humiques sont constituées par des myxobactéries aérobies dégradant la cellulose avant la décomposition de la lignine. Certains microorganismes sont également capables de dégrader les matières humiques (Kästner & Hofrichter, 2001) et une partie des SH\* générées en anaérobiose, faiblement dégradées, pourrait être alors utilisée pour redonner des SH\* mais aérobies. La condensation abiotique des sucre-aminés pourrait aussi être favorisée par la libération d'un grand nombre de composés simples lors de la mort de microorganismes. En effet, selon Schnitzer et Khan (1972) les polysaccharides, issus d'excrétion ou de lyses bactériennes pourraient s'incorporer aux substances humiques. Cependant, l'ensemble des hypothèses émises demeure à vérifier car l'humification est un processus extrêmement complexe et encore bien méconnu (Senesi *et al.*, 1996).

Les quatre principales théories émises par Stevenson (1982) s'appliquent essentiellement à des environnements naturels exempts de pollution ou faiblement pollués. Or dans le cas des décharges, il est nécessaire d'intégrer l'aspect anthropogénique de la matière organique dans la genèse des substances de type humique (SH\*). Les xénobiotiques organiques pourraient ainsi s'incorporer ou s'associer aux SH\*. En outre, la dégradation de composés anthropogènes par la biomasse pourrait également conduire à la synthèse de polyphénols « anthropogéniques » donnant alors, selon les réactions classiques, des SH\*.

Le concept de la théorie de Piccolo *et al.* (1996) est également envisageable dans une décharge car l'hydrolyse anaérobie de la matière organique conduit à la formation de très nombreuses petites molécules qui pourraient peut être représenter les bases de supramolécules à l'origine des SH\*. La théorie des substances humiques végétales transposée à la décharge supposerait que les substances humiques soient en partie apportées par les déchets végétaux et libérées progressivement lors de la dégradation de ces derniers. Les noyaux humiques à base de complexe lignocellulosique (Sjöström, 1993) et lignohémicellulosique (Newman, 1992) resteraient préservés par le caractère réfractaire de la lignine. Mais, bien que cette théorie explique la présence de substances de type humique dès la mise en place des premiers déchets, l'apport limité des végétaux et le lessivage dans le lixiviat devraient conduire à l'épuisement de ces composés et non pas à leur enrichissement. Cependant il reste possible que cette théorie participe essentiellement dans les premiers stades de la dégradation.

En conclusion, dans les décharges comme dans les milieux naturels plusieurs de ces théories interviennent probablement dès lors que les conditions du milieu le leur permettent.

## II.2. Le lixiviat étudié

Le **lixiviat de « Crézin »** (87) a servi de référence pour l'ensemble de cette étude. La décharge de Crézin, Centre d'Enfouissement Technique de classe 2 de type « compacté », a été construite sur une ancienne carrière de gneiss et de micro-granite de la commune de Feytiat au Sud-Est de la ville de Limoges (Haute-Vienne). Cette zone est soumise à un climat océanique, caractérisé par des pluies moyennes (environ 860mm/an) et une évaporation potentielle de 680 mm. Le site, exploité par la société SVE-Onyx, a recueilli 1 100 000 m<sup>3</sup> de déchets, essentiellement des ordures ménagères et des déchets assimilés de 1974 à 1989, puis des déchets industriels banals jusqu'à sa fermeture en 1998. Le site s'étend sur une superficie de 3,5 hectares et la hauteur des déchets varie entre 25 et 47 mètres.

Le lixiviat est pompé à travers le massif de déchets et injecté depuis 1988 dans le collecteur d'eaux usées de Feytiat qui rejoint la station d'épuration de Limoges. Le lixiviat utilisé dans ce travail est prélevé directement en sortie de pompe juste avant les cuves de pré-traitement.

Le site de Crézin demeure atypique depuis quelques années car la couverture réalisée lors de la réhabilitation du site est totalement imperméable. Par conséquent le « jus de déchets » obtenu en sortie ne peut donc pas provenir des eaux météorites. Des études hydrologiques ont montré que le massif de déchet était alimenté en eau par une ou plusieurs sources. Comme souvent en terrain cristallin, il n'existe pas de nappe phréatique permanente à l'exception de nappes locales. Les sources sont nombreuses, mais d'assez faible débit. Elles résultent de l'émergence de petites nappes d'eau infiltrée emmagasinées dans la tranche altérée au dessus du substratum sain. Cet apport d'eau au site de Crézin permet la dégradation et la transformation de sa matière organique.

Le tableau I-1 recense les principaux paramètres physico-chimiques relatifs à ce lixiviat.

Tableau I-1 : Principaux paramètres physico-chimiques relatifs au lixiviat de Crézin.

pH	Conductivité	NTK	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>	Cl <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
Norme	WTW	Norme	Norme NFT 90-042						
NFT 90-008	LF 538	NFT 90-110	Chromatographie ionique Dionex DX 100						
	(mS.cm <sup>-1</sup> )	(mg O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	(mg d'ion.L <sup>-1</sup> )						
(+/-0,1)	(+/-0,02)	(+/-0,2)	(+/-5)						
7,2	3,2	269	315	628	87	25	169	460	39

DCO	COT	COD	Absorbance UV 254nm	Azote Organique
Norme	Analyseur de carbone		Spectro	NTK-NH <sub>4</sub> <sup>+</sup>
NFT 90-101	Dohrmann Phoenix 8000		Agilent	
(mg O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	(mg C.L <sup>-1</sup> )		8453	(mg N.L <sup>-1</sup> )
(+/-0,2)	(+/-0,2)		(+/-0,02)	(+/-5)
380	110	104	2,527	100

### III. Milieux naturels de comparaison

#### III.1. Milieux terrestres

Deux milieux terrestres ont été retenus, la tourbe, par analogie à l'hypothèse de Bozkurt *et al.* (2001) et le sol, afin de disposer d'un milieu avec un degré d'humification moins avancé que la tourbe (Kalbitz *et al.*, 2003).

##### Tourbe (origine commerciale)

Les tourbières sont des zones humides aux eaux généralement acides et stagnantes dans lesquelles, en raison de l'anaérobiose régnant quelques centimètres à dizaines de centimètres sous la surface, les résidus organiques s'accroissent progressivement en formant un dépôt appelé « la tourbe » (Gorham, 1991). Différents types de tourbières sont recensés selon les conditions hydrodynamiques et le type de végétation (Quinty & Rochefort, 2003). En France, l'épaisseur des tourbières généralement observées est comprise entre 50 cm et plus de 10 mètres (Julve, 1996).

Le limousin possède plusieurs tourbières mais ces milieux étant protégés partout en France, des Substances Humiques commerciales (humates de sodium H1 675-2, Aldrich) extraites de tourbières ont été employées en guise de matière organique de tourbe. En revanche, aucune information quant à l'origine de la tourbe n'a pu être obtenue auprès du distributeur qui n'a pu que confirmer que selon les lots cette matière n'avait pas toujours la même origine.

##### Sol de Crézin (87)

Le sol provient d'un champs abandonné et non pâturé, situé à 800m de la décharge de Crézin (87) entre le ruisseau de la Valoine et un bois de feuillus âgés de plusieurs dizaines d'années. Il s'agit d'un sol brun acide, fréquemment répandu dans la région Limousin, avec des limites diffuses entre chaque strate. Ses différents horizons ont été estimés et dénommés grâce à leur couleur et leur structure (INRA, 1995) : l'horizon supérieur, riche en matière organique, était brun très foncé alors que les horizons plus profonds allaient en s'éclaircissant. Seul l'horizon supérieur A, situé immédiatement sous la couche d'humus à une profondeur comprise entre 5 et 10 cm, a été étudié puisque cet horizon possède généralement la plus grande teneur en Matière Organique (INRA, 1995). La matière organique (MO) des sols provient principalement de l'altération des matières végétales en humus et de l'infiltration dans les horizons superficiels de composés issus de la décomposition de cet humus (Lozet & Mathieu, 1997) mais aussi des microorganismes mêmes.

Le sol a été tamisé une première fois de manière à éliminer le maximum de MO fraîche (racines, brindilles), séché à l'air, puis tamisé à 2mm. Aucune analyse granulométrique n'a été effectuée, mais la couche prélevée était de structure limoneuse et de fine granulométrie. Ses caractéristiques déterminées d'après les méthodes normalisées pour la qualité des sols sont présentées au tableau I-2.

Tableau I-2 : Caractéristiques de l'horizon A du sol de Crézin.

	pH eau AFNOR NF X 31-103 (+/-0,1)	% Carbone Organique AFNOR NF X 31-109 (+/-0,3%)	% Azote total NF ISO 11261 (+/-0,3%)
Horizon A Sol de Crézin	4,9	14,1	0,7

##### Préparation des échantillons

Le lixiviat étant un échantillon liquide se chargeant de matière organique au contact de déchets solides, nous avons essayé d'étudier les échantillons terrestres avec la même démarche. Cette approche diffère néanmoins des procédures traditionnelles d'isolation des Substances Humiques de sol référencées par Hayes & Malcolm (2001), mais se révèle nécessaire pour établir des comparaisons dans notre étude. Ainsi, il a été mis en contact une masse d'échantillon solide avec un certain volume d'eau ultra pure de manière à lessiver et

solubiliser la matière organique tout en essayant d'obtenir des solutions suffisamment concentrées pour pouvoir être ultérieurement fractionnées.

Le sol de Crézin a été soumis à une lixiviation en réacteur discontinu (batch) pendant 48H sous un rapport liquide/solide de 5 en laissant le pH libre. Les Substances Humiques commerciales de tourbe étant en partie solubles, une solution à 20g.L<sup>-1</sup> a été préparée.

### **III.2. Eaux naturelles**

Deux types d'eaux naturelles ont servi de référence à l'hypothèse d'Agren (2002) concernant la similitude entre les eaux de « forêts » et les lixiviats. Les eaux de surface d'une rivière (la Glane) et d'un ruisseau (la Valoine) ont été prélevées en hiver 2002. Les prélèvements hivernaux ont été préférés afin de s'affranchir de la contribution algale, inexistante en décharge de par l'obscurité du confinement. Une eau souterraine, provenant d'un forage artésien, a également été prélevée en automne 2003.

#### **Rivière La Glane (87)**

La Glane est une petite rivière d'eaux vives, longue de 26 km, prenant sa source non loin de Compreignac (87). Sa largeur varie de 3 à 15 mètres pour une profondeur moyenne de 0,60 à 3 mètres. Son bassin versant est situé dans une zone granitique caractérisée par un réseau hydrographique dense où le ruissellement est abondant et les sources nombreuses. La Valette, la Mothe et la Vergogne sont ses principaux ruisseaux affluant. La glane sillonne essentiellement des plaines vallonnées jusqu'à Saint-Junien (87) où elle traverse une petite vallée encaissée dans des chaos granitiques jusqu'à sa confluence avec la Vienne. Le point de prélèvement se situe à 4 km en amont de cette confluence.

L'ensemble de son bassin versant baigne dans un climat océanique. La végétation est principalement constituée de prairies semi-naturelles et de forêts caducifoliées (chênes, châtaignais,...). Les forêts artificielles en monocultures (sylviculture) et les zones de cultures céréalières extensives sont très rares, préservant ainsi une grande diversité végétale. La rivière est elle même très encombrée par de nombreux végétaux formant de petits îlots de verdure tout au long de son parcours.

#### **Rivière La Valoine (87)**

La Valoine est un ruisseau d'une dizaine de kilomètres, issu des environs de Saint Léonard de Noblat (87), et affluent de la Vienne à Limoges (87). Il s'écoule sur un socle granitique caractéristique de la bordure occidentale du Massif Central. Sa faible largeur (1 à 3 mètres) et sa pente modérée lui confère un faible débit.

De morphologie très allongée, la Valoine traverse quelques prairies à pâturage mais essentiellement des zones fortement urbanisées et industrialisées. Elle passe également en contre bas de la décharge municipale de Crézin, point de son prélèvement.

#### **Eau souterraine de Villepanet (16)**

L'eau de Villepanet (16) est une eau souterraine extraite par forage artésien à une dizaine de mètre de profondeur pour un particulier. Cette eau provient de terrains granitiques à la limite Charente / Haute-Vienne. Son périmètre de captage s'étend essentiellement sous des prairies à pâturage ovins et bovins ainsi que de petits taillis de feuillus. Généralement, les eaux souterraines sont naturellement pauvres en carbone organique en raison d'un temps de résidence élevé dans les sols. En Limousin, la plupart des eaux souterraines répondent à ce constat ce qui permet leur utilisation comme eau potable avec un minimum de traitements. Néanmoins, l'activité bactérienne sur la matière organique fossile (kérogène) apporte de la matière organique dissoute à certains captages d'eaux souterraines.

Le tableau I-3 recense les principaux paramètres physico-chimiques relatifs à ces trois eaux : pH, Titre Alcalimétrie Complet, Carbone Organique Total et Dissous, principaux ions.

Tableau I-3 : Principaux paramètres physico-chimiques relatifs aux eaux de la Glane, de la Valoine et de Villepanet.

	pH	TAC	COT	COD	K <sup>+</sup>	Na <sup>+</sup>	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>2+</sup>	Cl <sup>-</sup>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup>
	Norme NFT 90-008 (+/-0,1)	Norme ISO 9963-1 (°F) (+/-0,2)	Analyseur de carbone Dohrmann Phoenix 8000 (mg C.L <sup>-1</sup> ) (+/-0,2)		Norme NFT 90-042 Chromatographie ionique Dionex DX 100 (mg d'ion.L <sup>-1</sup> ) (+/-0,3)						
La Glane	6,9	1,4	8,8	8,5	2,1	7,3	5,4	2	9	8	5,6
La Valoine	6,5	1,6	5,5	5,4	2,3	9,1	5,9	1,9	10	7.1	4
Eau Villepanet	5,8	1,2	1	1	0,9	6,5	4,5	1,7	5,9	22,3	2,5

### Préparation des échantillons

Les eaux naturelles présentant toutes de faibles teneurs en COD, le fractionnement de leur matière organique a nécessité une étape de préconcentration, réalisée à l'aide d'un pilote d'osmose inverse OI2,5m<sup>2</sup> (Techniques Industrielles Appliquées, Bollene). Le pilote était constitué d'une membrane organique en spirale (SW 30-2540, Filmtec) d'une surface totale de 2,5m<sup>2</sup> et présentant un taux de rétention de Cl<sup>-</sup> de 99,4% à un débit de 20L.H<sup>-1</sup>. Une membrane de polyamide a été choisie puisque Clair *et al.* (1991) ont mis en évidence que les membranes en acétate de cellulose sont moins bien adaptées à la concentration des matières organiques naturelles que les membranes en TFC (Thin Film Composite : polysulfones-polyamides). En effet, la composition de la membrane influence grandement les interactions matière organique/membrane.

## IV. Mise en place d'un protocole de fractionnement

Le terme « Matière Organique » regroupant un vaste ensemble de composés, il n'existe pas de méthode analytique unique permettant de le définir. Par conséquent la MO est simplement définie par des critères opératoires permettant de la scinder en plusieurs fractions. Ces procédures de fractionnement reposent essentiellement sur des propriétés de solubilité (Schnitzer & Khan, 1972), sur des techniques de sorption en colonne de résines ioniques (Leenheer, 1981) et/ou non ioniques (Thurman & Malcolm, 1981), sur des techniques de séparation de tailles (Newcombe *et al.*, 1997) ou sur des techniques mixtes couplant sorption et taille (Newcombe *et al.*, 1997). Cependant, l'emploi des résines non ioniques Amberlite XAD (Supelco) demeure l'une des techniques les plus prisées car ces polymères synthétiques macroporeux (ester acrylique ou polystyrène) permettent à la fois de séparer, d'extraire et de concentrer des fractions de matière organique. Aussi, afin de déterminer et de comparer le niveau d'humification de la matière organique de lixiviats, de solutions de sols et d'eaux naturelles, nous avons choisi d'appliquer deux fractionnements faisant appel aux résines XAD :

- le fractionnement de Thurman & Malcolm (1981) permettant d'obtenir les fractions Acides Humiques, Acides Fulviques et composés Hydrophiles. Il utilise une seule résine, généralement la résine XAD 8.

- le fractionnement de Malcolm & Mac Carty (1992) et Croué *et al.* (1993) permettant d'obtenir les fractions Acides Humiques, composés Hydrophobes, composés Transphiliques et composés Hydrophiles. Il nécessite deux résines montées en série, généralement les résines XAD 8 et XAD 4.

Cependant, de par l'hétérogénéité des échantillons et la vocation initiale de ces techniques à l'étude des milieux naturels, nous nous sommes interrogés quant à leurs limites d'application à l'étude des MO de lixiviats : « **Etait il possible de comparer des milieux anthropiques**

**très riches en matières organiques et espèces minérales à des milieux naturels plutôt pauvres en matières organiques et espèces minérales ? ».**

La réponse semble positive puisque le fractionnement par résines XAD suivant les mêmes protocoles que les milieux naturels a déjà été employé avec succès sur des milieux anthropiques (Weis *et al.*, 1989 ; Mejbri *et al.*, 1995, Lagier *et al.*, 2002 ; Huizhong *et al.*, 2001 ; Imai *et al.*, 2002 ; Kang *et al.*, 2002) et sur des milieux naturels contaminés par des sources anthropiques (Leenheer *et al.*, 2001) sans qu'aucune contre indication ne soit rapportée. Néanmoins, avant d'utiliser cette technique nous avons cherché à vérifier qu'il était possible de comparer, dans la gamme d'étude considérée, des lixiviats riches en MO à des eaux naturelles concentrées ou non par osmose inverse et à des solutions de sol.

Aussi, après avoir repris les principes fondamentaux de l'adsorption sur résines, des conditions opératoires permettant cette comparaison ont été déterminées.

#### **IV.1. Méthodes d'analyses**

La détermination du fractionnement de la matière organique nécessite de mesurer et quantifier chaque fraction. Généralement, la matrice organique est répartie en terme de carbone organique puisque cet élément en représente près de 50% (Thurman & Malcolm, 1981). Néanmoins, d'autres éléments comme l'azote organique joue également des rôles très importants dans sa biogéochimie (Kalbitz & Geyer, 2002) notamment au niveau de l'activité microbiologique (Zhu & Carreiro, 2004) et des processus de complexation métallique (Croué *et al.*, 2003). Or la littérature fait état de moins d'informations concernant ses formes et sa répartition (Badr *et al.*, 2003). De ce fait nous avons essayé de fractionner la matière organique des milieux étudiés suivant le carbone organique et l'azote organique afin de comparer la répartition de ces deux éléments. En effet, selon Kalbitz & Geyer (2002) le Carbone Organique Dissous (COD) et l'Azote Organique Dissous (AOD) auraient un comportement similaire dans les sols et les milieux aquatiques.

Parallèlement au fractionnement de la matière carbonée et azotée, le fractionnement de l'oxydabilité chimique de la matière organique a également été appliqué. Le suivi de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) au cours du fractionnement a été réalisé afin de déterminer les fractions de matière organique les plus réactives et les plus réfractaires à une oxydation chimique. Une hypothèse de travail a alors été formulée selon laquelle : si des composés organiques peuvent être oxydés chimiquement ils peuvent éventuellement être oxydés par des enzymes bactériennes. Réciproquement, si des composés s'avèrent réfractaires à l'oxydation chimique ils peuvent être aussi réfractaires à l'oxydation par des enzymes bactériennes et par conséquent peu biodégradables. La **3<sup>ème</sup> Partie** apportera des éléments de validation à cette hypothèse.

Les différentes méthodes de dosage permettant de suivre le carbone organique, l'azote organique et la DCO ont été choisies et validées de manière à limiter au maximum les interférences de dosage dues à la disparité des milieux étudiés et à la mise en place du fractionnement de la matière organique. En effet, les techniques employées devaient permettre de doser aussi bien dans des milieux riches (lixiviats) que dans des milieux pauvres en matière organique. De plus, au cours du fractionnement, l'expérimentation nécessite une acidification à l'aide d'acide chlorhydrique (HCl 37% Normapur, Prolabo) et par conséquent une introduction d'ions chlorure. L'interférence induite par ces ions a été prise en compte pour ne pas fausser les résultats.

##### **IV.1.1 Analyseur de Carbone Organique**

La détermination précise du Carbone Organique Total (COT) et du Carbone Organique Dissous (COD) revêt une grande importance dans la compréhension des rôles géochimiques, environnementaux et écologiques de la matière organique en milieu aqueux (Aiken *et al.*,

2002). De nombreuses possibilités de dosage existent mais les principales techniques, référencées par Urbansky (2001), font appel à l'oxydation de la matière organique en CO<sub>2</sub> telles que la combustion à haute température, l'oxydation par persulfate et la photo oxydation ultraviolette. L'efficacité de chacune d'elles dépend considérablement de la composition de l'échantillon (Aiken, 1992) puisque les milieux riches en sels (eaux de mer, saumure) provoquent des interférences sur l'oxydation de la MO notamment par la présence de chlorures (Wallace, 2002). Selon la littérature scientifique, la technique de combustion est efficace dans l'analyse des composés difficiles à oxyder (protéines, substances particulières) et des échantillons riches en chlorures (Hedges, 1993) alors que l'oxydation par voie chimique est préconisée pour les applications nécessitant une grande sensibilité (eaux de consommation et eaux naturelles). De ce fait, l'analyse du COT et du COD dans les lixiviats dont la matrice minérale s'avère riche en chlorures semble plus judicieuse avec un analyseur de carbone catalytique. Cependant de par la non disponibilité d'un tel matériel au début de la thèse, la totalité de ce travail a été réalisée avec l'analyseur chimique **Phoenix 8000**.

Le Phoenix 8000 de Dohrmann Instrument, utilise un système d'oxydation chimique par voie humide. L'échantillon est simultanément exposé aux ions persulfate et aux radiations UV. Le CO<sub>2</sub> produit est balayé par un courant de gaz inerte (azote 5.0) vers le détecteur à infrarouge non dispersif (IRND) qui en mesure les niveaux. Le signal en sortie du détecteur est linéarisé, intégré et comparé aux données de calibration stockées. La concentration en carbone de l'échantillon est alors déterminée et exprimée en milligramme de carbone organique total par litre d'échantillon (mg C.L<sup>-1</sup>). Conscient du biais que pouvait induire la présence de chlorures, nous avons amélioré l'oxydation chimique du Phoenix 8000 en ajoutant à la solution d'oxydant, 0,01M de nitrate d'argent (AgNO<sub>3</sub>, Prolabo) afin de catalyser l'oxydation. Cette concentration d'AgNO<sub>3</sub> a été choisie comme un compromis entre une bonne oxydation de la matière organique sans que le précipité AgCl<sub>2</sub> n'altère le bon fonctionnement de l'appareil.

#### IV.1.2 Analyse de l'Azote Organique

L'azote organique étant un nutriment clé des milieux naturels, sa quantification a vu le développement de plusieurs méthodes de dosage pour différents milieux d'étude : eaux naturelles (Arheimer *et al.*, 1996), eaux salines (Sharp *et al.*, 2002), solutions de sol (Badr *et al.*, 2003). Certains auteurs comme Sharp *et al.* (2004) et Sharp *et al.* (2002) ont proposé une comparaison des trois grandes familles de méthode : oxydation sous UV, oxydation par persulfate et combustion à haute température pour le dosage des eaux de mer. L'essentiel de ces méthodes reposant sur la mesure de l'Azote Total (AT) et le calcul de l'Azote Organique Dissous (AOD) par soustraction des espèces inorganiques (ions nitrate, nitrite et ammonium). Cependant, malgré les avantages certains de ces techniques (rapidité, automatisation), les concentrations en azote organique mesurées dans les échantillons naturels sont très faibles en comparaison de celles observées dans les lixiviats. En effet, Badr *et al.* (2003) rapportent des concentrations moyennes en azote organique d'environ 0,12mg N.L<sup>-1</sup> pour les océans, 0,3mg N.L<sup>-1</sup> pour les estuaires et 0,5mg N.L<sup>-1</sup> pour les rivières alors que Kjeldsen *et al.* (2002) estiment la teneur en azote organique des lixiviats entre 14 et 2500mg N.L<sup>-1</sup>.

Aussi, une méthode de dosage permettant de mesurer de fortes teneurs en AOD et peu sensible aux chlorures a été retenue pour étudier le lixiviat : **le dosage de l'Azote Kjeldahl** selon la norme NFT 90-110. La méthode, issue du traitement des eaux usées, consiste à doser l'azote Kjeldahl (NTK) défini comme la somme de l'azote organique (AO) et de l'azote ammoniacal (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>). La teneur en AO est obtenue par soustraction de la valeur d'azote ammoniacal (mesuré par chromatographie ionique Dionex DX 100, Norme NFT 90-042) à la valeur d'azote Kjeldahl obtenue.

Pour le dosage de l'azote organique dans les milieux naturels, la technique de l'azote Kjeldahl nécessite malheureusement de trop gros volume d'échantillon (250mL pour des teneurs

inférieures à 10mg N.L<sup>-1</sup>) pour multiplier les répétas. Aussi, une technique moins consommatrice en échantillon (10mL) a été préférée : **l'oxydation par le persulfate de potassium** (K<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>8</sub>, Prolabo) en milieu alcalin par digestion à l'autoclave (45min à 121°C) (Arheimer *et al.*, 1996). Cette technique repose sur l'oxydation de l'azote organique et minérale en nitrate qui sont alors mesurés par chromatographie ionique afin d'accéder à la concentration en azote total. La teneur en azote organique est alors obtenue par différence des espèces minérales présentes dans l'échantillon avant oxydation. La gamme de mesure s'étend de 0,5 à 25mg N.L<sup>-1</sup> (+/-0,2mgN.L<sup>-1</sup>) à condition de respecter les prescriptions de Hagedorn & Schleppe (2000) pour minimiser l'interférence de l'azote atmosphérique. La concordance entre le dosage de l'azote Kjeldahl et l'oxydation par persulfate a été vérifiée avec des solutions de glycine (H<sub>2</sub>NCH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>H, Aldrich) de 1 à 20mg N.L<sup>-1</sup>, de même que la non interférence des ions chlorure.

#### IV.1.3 Analyse de la Demande Chimique en Oxygène (DCO)

La Demande Chimique en Oxygène (DCO) exprime la quantité d'oxygène nécessaire pour oxyder la matière organique (biodégradable ou non) d'un échantillon à l'aide d'un oxydant, le bichromate de potassium (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>, Prolabo). Ce paramètre offre une représentation plus ou moins complète des matières oxydables présentes puisque certains hydrocarbures ne sont pas oxydés sous ces conditions. De plus la méthode est sensible à certaines interférences, notamment celles des chlorures et des agents réducteurs inorganiques qui contribuent à accroître le résultat. En effet, Kylefors *et al.* (1999) ont mis en évidence que le fer (II), le manganèse (II) et les sulfures contribuaient à un tiers de la DCO de leur lixiviat.

Dans les lixiviats et les échantillons naturels, la mesure de la DCO a été essentiellement effectuée suivant la **norme AFNOR NFT 90-101**. Cependant, pour des mesures relatives à une DCO inférieure à 50mg/L, des kits de dosage **Lange LCK 414** (15-60mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>) ont été employés. Une concordance des deux méthodes réalisée par plusieurs mesures d'une solution d'hydrogénophthalate de potassium (HPP) de DCO égale à 60mg.L<sup>-1</sup> a permis de mettre en évidence que la méthode par kit donnait en moyenne une valeur d'environ 5% supérieure à celle de la norme AFNOR. L'interférence liée à la présence d'ions chlorure a été estimée comme minime par mesure de la DCO de solutions de HPP à 10 et 100ppm C contenant des concentrations de 0 à 2g.L<sup>-1</sup> en chlorures à l'aide des deux méthodes.

#### IV.1.4 Mesure Spectrophotométrique UV-Visible

La matière organique peut également s'estimer par mesure de l'absorbance à différentes longueurs d'onde (254, 280, 465 et 665nm). Cependant, les absorbances aux longueurs d'onde de 254nm et 280nm sont usuellement choisies pour le dosage de la MO, parce qu'elles représentent les longueurs d'onde d'absorption des systèmes conjugués (noyaux aromatiques) (Chin *et al.*, 1994). Ainsi par la mesure d'absorbance il est possible de traduire l'aromaticité de la matière organique de l'échantillon. Néanmoins, il faut faire attention à certaines espèces minérales comme les ions nitrates qui peuvent également absorber en UV (200-300nm).

Les mesures ont été faites à l'aide d'un spectrophotomètre **UV-Visible Safas mc<sup>2</sup>** à double faisceau, dans des cuves en quartz de trajet optique égale à 1cm.

Hormis l'estimation de la matière organique, l'absorbance UV à 254nm, permet aussi d'estimer l'absorbance UV relative ou absorbance UV spécifique (Specific UV Absorbance, SUVA) qui traduit l'absorbance d'une solution rapportée à l'unité de carbone organique dissous :

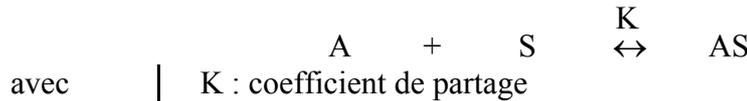
$$\text{indice SUVA} = \text{absorbance à 254nm} / \text{COD}$$

avec	absorbance à 254nm : absorbance UV à 254nm pour un trajet optique de 1cm (en cm <sup>-1</sup> )
	COD : concentration en Carbone Organique Dissous (en mg C.L <sup>-1</sup> )

Le SUVA peut s'exprimer en  $\text{cm}^{-1}/\text{g C.L}^{-1}$  ou en  $\text{m}^{-1}/\text{mg C.L}^{-1}$ .

#### IV.2. Principe de l'adsorption sur résines

L'adsorption de molécules repose sur un équilibre soluté/résine, contrôlé par les propriétés physico-chimiques de la surface. Le phénomène est essentiellement de type physique (forces de Van der Waals) plutôt que chimique car les résines sont dépourvues de sites fonctionnels. Cependant la fixation d'un composé (soluté, S) à l'intérieur des pores d'un matériau solide (adsorbant, A) peut être schématisée de la manière suivante :



La rétention de la matière organique sur des résines adsorbantes repose sur ce principe d'affinité. L'affinité d'un composé pour tout support adsorbant peut être définie par la relation suivante (Croué, 2001) :

$$\text{avec} \quad \left| \quad \begin{array}{l} C_{\text{ads}} = K \times C_{\text{influent}} \quad (1) \\ C_{\text{ads}} : \text{concentration de Matière Organique adsorbée par litre d'adsorbant} \\ C_{\text{influent}} : \text{concentration de Matière Organique en mg/L} \end{array} \right.$$

L'adsorption étant considérée comme un phénomène de surface, elle est directement liée à la surface spécifique du support. La présence d'une porosité chez l'adsorbant nécessite alors de corriger la relation (1) :

$$\begin{array}{l} C'_{\text{ads}} = C_{\text{ads}} \times \varepsilon = K \times \varepsilon \times C_{\text{influent}} = k' \times C_{\text{influent}} \\ k' = K \times \varepsilon \end{array}$$

avec  $\left| \begin{array}{l} C'_{\text{ads}} : \text{concentration de Matière Organique adsorbée par litre d'adsorbant} \\ \text{en tenant compte de la porosité} \\ \varepsilon : \text{porosité du support adsorbant} \\ k' : \text{facteur de capacité} \end{array} \right.$

Les phénomènes de sorption sont généralement étudiés en système dynamique, notamment en colonne, pour permettre de suivre la rétention et la fuite du composé. La figure I-2 représente la courbe de percée idéale d'une eau naturelle de  $\text{COD} = 10\text{mg C.L}^{-1}$  percolant à travers un support adsorbant de type résine XAD 8 (Malcolm & Mac Carthy, 1992).

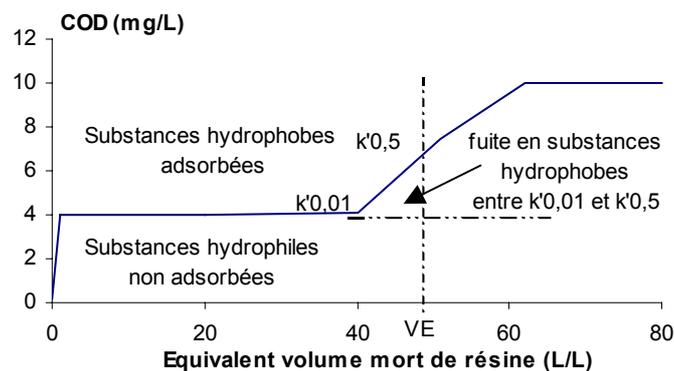


Figure I-2 : Courbe de percée idéale sur une résine XAD 8 d'une eau naturelle de  $\text{COD} = 10\text{mg C.L}^{-1}$  (Malcolm & Mac Carthy, 1992).

La quantité de molécules présentes dans la colonne correspond à la quantité de molécules restantes en solution (dans la porosité de la résine) additionnée de la quantité de molécules adsorbées sur l'adsorbant soit :

$$(\varepsilon \times V_{\text{ads}} \times C_{\text{influent}}) + (V_{\text{ads}} \times k' \times C_{\text{influent}}) = (\varepsilon + k') \times V_{\text{ads}} \times C_{\text{influent}}$$

avec  $V_{\text{ads}}$  : volume d'échantillon dans la porosité de la résine

Au point d'apparition de la fuite et en considérant que tous les composés rentrants restent dans la colonne, on a pour ce point particulier :

$$V_{\text{influent}} \times C_{\text{influent}} = (\varepsilon + k') \times V_{\text{ads}} \times C_{\text{influent}}$$

$$(\varepsilon + k') = V_{\text{influent}} / V_{\text{ads}}$$

avec  $V_{\text{influent}}$  : volume d'échantillon envoyé dans la colonne de résine  
 $V_{\text{influent}} / V_{\text{ads}}$  : nombre de volumes de lit avant apparition de la fuite

Généralement, le facteur de capacité  $k'$  étant très grand devant le coefficient  $\varepsilon$ , il détermine directement le nombre de volumes de lit de résine ( $k' = V_{\text{influent}} / V_{\text{ads}}$ ) qui peut être utilisé avant apparition d'une fuite de matière.

La transposition de ces principes théoriques au fractionnement expérimental de la matière organique a conduit à l'optimisation du rapport  $V_{\text{influent}} / V_{\text{ads}}$  afin d'améliorer les rendements d'extraction. Malcolm (1991) et Malcolm & Mac Carty (1992) ont alors proposé la formule suivante :

$$V_E = V_O \times (1 + k'_{0,5})$$

avec  $V_E$  : volume d'eau à filtrer (L), pour lequel un composé présentant un  $k'$  égal à 50 est retenu à 50%  
 $V_O$  : volume mort de la colonne de résines (L),  $V_O = 0,6 \times V_R$   
(avec  $V_R$  le volume de résine)  
 $k'_{0,5}$  : facteur de capacité définissant une fuite en COD égale à 50% :  
valeur définie à 50 pour les eaux de surface moyennement chargées ( $\text{COD} < 15\text{mg C.L}^{-1}$ )

Cette formule qui permet de déterminer facilement le volume d'échantillon à filtrer à partir du volume de résine utilisé est aussi employée avec d'autre facteur de capacité  $k'$  en fonction des protocoles.

En effet, à l'appui de ces principes, des protocoles de fractionnement basés sur l'utilisation de résines XAD se sont développés. Leur généralisation et une certaine standardisation ont contribué au cours du temps à poser les bases de la terminologie sur la MO. Néanmoins, l'adaptation personnelle de ces protocoles aux besoins et aux contraintes de chaque étude a finalement conduit à plusieurs possibilités pour un même protocole.

Par exemple, malgré l'utilisation générale de la résine XAD 8, l'application de différentes procédures expérimentales a fait apparaître plusieurs définitions d'une même fraction. Ainsi, le terme « Substances Humiques », désignant une partie majeure de la MO, défini au travers de cette notion de facteur de capacité  $k'$  vis à vis de la résine XAD 8 et pour des conditions expérimentales parfaitement établies, connaît pourtant plusieurs variantes. Les Substances Humiques correspondent selon Thurman & Malcolm (1981) à la fraction de COD adsorbée sur une résine XAD 8 à pH 2 (et désorbée par la soude 0,1M) dans des conditions vérifiant la rétention à 50% d'un composé présentant un  $k'$  de 100. Par contre pour Leenheer (1981) les Substances Humiques se définissent par la rétention à 50% d'un composé présentant un  $k'$  de 50 sur résine XAD 8. Dans certaines études, la résine XAD 8 est remplacée par d'autres résines. Ainsi, Mejbri (1997) considère que la résine XAD 7 est mieux adaptée pour définir les substances de type humique de lixiviats alors que Weis *et al.* (1989) préconisent plutôt la résine XAD 2. Hiraide & Uchitomi (1999) emploient quant à eux la résine XAD 2 pour séparer les substances humiques aquatiques. Certaines études proposent également de remplacer la résine XAD 8 par une résine Polyclar (De Nobili *et al.*, 1990 ; Watanabe & Kuwatsuka, 1991).

Parallèlement à cette divergence de conditions et de résines, les « substances hydrophiles » définies initialement, par opposition aux substances humiques, comme la fraction organique non retenue sur résine XAD 8 connaissent également plusieurs définitions. Une procédure consistant à faire percoler la matière organique non adsorbée sur résine XAD 8 au travers d'une colonne de résine XAD 4 en appliquant un  $k'$  de 50 (Aiken *et al.*, 1992 ; Malcolm & Mac Carty, 1992 ; Croué *et al.*, 1993) ou de 100 (Labouyrie-Rouillier, 1997) permet de les redéfinir ainsi : la fraction retenue sur résine XAD 4 est dénommée « transphile » alors que le résiduel non adsorbé sur les résines XAD 8 et 4 garde la terminologie « d'hydrophile ». En revanche, un protocole similaire, appliqué au fractionnement de la matière organique des lixiviats, utilise successivement les résines XAD 7 et XAD 4 en arrêtant la filtration juste après l'apparition de la fuite par un  $k'$  de 0,5 (Mejbri, 1997) et dénomme la fraction retenue sur XAD 4 comme « hydrophile ».

L'application d'un même protocole en fractionnement ou en extraction, peut également présenter des différences. Ainsi, lors de la mise en œuvre de procédures couplant les résines XAD 8 et XAD 4 à l'extraction des matières organiques à pH 2, Malcolm & Mc Carthy (1992) précisent d'arrêter la filtration à l'apparition de la fuite en substances hydrophobes, donc à un  $k'$  voisin de 0. Avec ce même protocole, Leenheer *et al.* (2001) fixent le pH au voisinage de zéro afin d'augmenter la rétention des acides sulfoniques par la résine XAD 4. Par conséquent, même si l'International Humic Substances Society (IHSS) propose des protocoles d'étude de la matière organique (IHSS, 2004), le choix reste délicat puisque en l'absence de normes et de recommandations officielles, une certaine liberté est admise.

Aussi, nous avons cherché à justifier nos choix tant en terme de résines que de valeur de  $k'$  afin d'appliquer un protocole permettant de fractionner et d'extraire simultanément dans les différents milieux étudiés. Une série de colonnes manufacturées en acier inoxydable (diamètre : 1,35 cm et longueur : 4,65 cm) a été utilisée pour étudier l'adsorption de la matière organique. Les échantillons ont tout d'abord été filtrés et acidifiés à pH 2 avec de l'acide chlorhydrique (Normapur, 35%), puis centrifugés à 10 000 tours/min. Le surnageant a été injecté à l'aide d'une pompe péristaltique (Symantec) à travers les colonnes remplies de résine (XAD 4, XAD 7, XAD 8 et DAX 8) à un débit de deux Volumes d'échantillon par Volume de résine et par Heure (2V/V/H). Thurman *et al.* (1978) précisent que les facteurs de capacité chutent au delà d'un débit de 20V/V/H. Les échantillons ont été ensuite collectés manuellement par petits volumes (2mL) en sortie de colonne puis analysés afin de tracer les courbes de percée. Les fuites en matière organique ont été estimées par la mesure du Carbone Organique Dissous et de l'absorbance UV à 254nm. Les pourcentages de matière organique adsorbée ont été estimés par intégration des courbes de fuite.

### IV.3. Détermination des résines

La bibliographie concernant les deux protocoles de fractionnement envisagés (Thurman & Malcolm, 1981 ; Malcolm & Mac Carty, 1992) rapporte essentiellement l'emploi des résines XAD 2 ou XAD 7 ou XAD 8 ou DAX 8 pour les protocoles de type Thurman & Malcolm (1981) et les résines XAD 7 ou XAD 8 ou DAX 8 associées à la résine XAD 4 pour les protocoles de type Malcolm & Mac Carty (1992). Aussi, nous avons décidé de choisir la résine présentant la meilleure adsorption et la meilleure désorption vis à vis de la matière organique du lixiviat étudié (lixiviat de Crézin) et de l'appliquer aux deux protocoles. De ce fait, nous avons comparé l'efficacité des résines XAD 7, XAD 8 et DAX 8 vis à vis de la rétention et de la désorption.

### IV.3.1 Efficacité des résines lors de la rétention

La rétention sur les résines XAD étant considérablement réduite lorsque les composés sont sous forme ionisés, les échantillons ont été acidifiés à pH 2 comme préconisé par les deux protocoles originaux.

La figure I-3 présente les courbes de fuite de la MO du lixiviat de Crézin obtenues pour les résines XAD 7, XAD 8 et DAX 8 en fonction du Volume percolé ( $V_p$ ) par Volume de résine ( $V_r$ ). Les courbes de fuite déterminées par mesure de l'absorbance UV à 254nm étant d'allure identique à celles obtenues par mesure du COD, seules les courbes relatives à absorbance UV sont présentées.

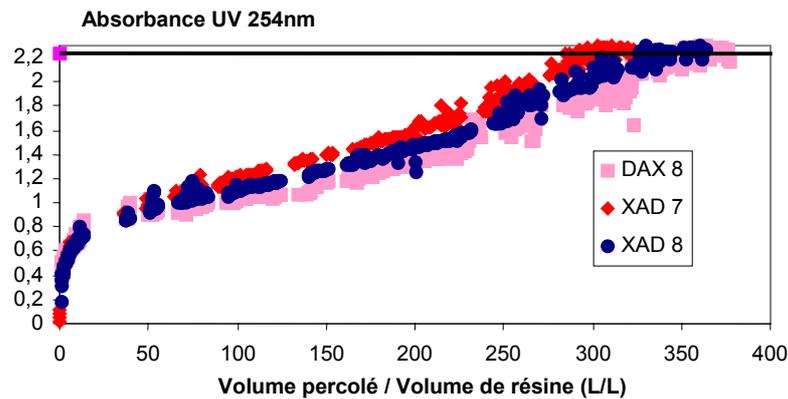


Figure I-3 : Courbe de fuite de la matière organique du lixiviat de Crézin sur différentes résines XAD.

L'allure des courbes de fuite des résines XAD 7, XAD 8 et DAX 8 est sensiblement la même. Elles peuvent être décomposées en deux parties : une augmentation très rapide de la concentration en MO non retenue dès les premiers volumes percolés, puis une évolution progressive de la fuite en MO jusqu'à retrouver la concentration initiale. Les courbes de percée obtenues pour des eaux naturelles présentent un aspect proche mais n'atteignent pas la saturation (Martin, 1995).

La première partie des courbes de fuite ne montre pas de différences très significatives entre les résines. Ce n'est que pour une valeur de  $V_p/V_r > 50$  que les courbes ne sont plus confondues mettant en évidence une différence d'efficacité. Si l'on cherche toutefois à établir un classement d'affinité des résines vis à vis de la MO, il semblerait, qu'entre 0 et 50 L/L, l'efficacité de rétention de la matière organique du lixiviat respecte l'ordre suivant XAD 7 > XAD 8 > DAX 8. Pour des rapports  $V_p/V_r > 50$  cet ordre s'inverse indiquant une meilleure affinité de la MO pour les résines XAD 8 et DAX 8. Généralement, l'efficacité d'adsorption d'une résine dépend de plusieurs facteurs dont sa surface, la taille de ses pores, sa structure chimique et sa polarité. Les trois résines ayant une polarité similaire, seuls les phénomènes de taille interviennent. Ainsi sur l'ensemble de la courbe, la résine XAD 7 présente une plus faible rétention, probablement en raison du diamètre de ses pores qui limite l'adsorption des plus grosses molécules que l'on sait assez nombreuses dans le lixiviat (Lagier, 2000). La résine DAX 8 isole  $5 \pm 3\%$  de MO supplémentaire par rapport à la résine XAD 8. Cette différence a déjà été mis en avant par Farnworth (1995) qui rapporte que la résine DAX 8 adsorbe pratiquement trois fois plus de substances humiques des sols que la résine XAD 8. De même Peuravuori *et al.* (2001) observent une augmentation de  $19 \pm 6\%$  de la rétention des Substances Humiques des eaux naturelles. D'après les caractéristiques techniques, la résine DAX 8 est légèrement plus efficace que la résine XAD 8 de par sa surface spécifique un peu plus importante, 160 contre  $140 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$ .

Cette différence de comportement entre résine XAD 8 et DAX 8 semble avoir des répercussions sur la composition des extraits. En effet, des comparaisons d'extraits de substances humiques aquatiques issus des deux résines ont mis en évidence des structures très similaires en spectroscopie de fluorescence (Peuravuori *et al.*, 2002b) alors que des différences ont été observées par résonance magnétique nucléaire du carbone (Peuravuori *et al.*, 2001) et par pyrolyse en couplage avec de la chromatographie en phase gazeuse (Peuravuori *et al.*, 2002a). De manière générale, les extraits de résine XAD 8 semblent avoir un caractère un peu plus aliphatique. Néanmoins, sans faire appel à des techniques si complexes à mettre en œuvre, le calcul d'un paramètre simple (indice SUVA) permet d'observer des différences. Des valeurs d'indice SUVA déterminées à deux niveaux des courbes de percée (figure I-3) sont rapportées dans le tableau I-4.

Tableau I-4 : Indices SUVA relatifs aux courbes de percée de la MO du lixiviat sur différentes résines.

	Indice SUVA ( $\text{cm}^{-1}/\text{g C.L}^{-1}$ ) à Vp/Vr = 100 L/L ( $\pm 0,2 \text{cm}^{-1}/\text{g C.L}^{-1}$ )	Indice SUVA ( $\text{cm}^{-1}/\text{g C.L}^{-1}$ ) à Vp/Vr = 250 L/L ( $\pm 0,2 \text{cm}^{-1}/\text{g C.L}^{-1}$ )
XAD 7	12,3	19,2
XAD 8	11,7	17,7
DAX 8	10,4	16,1

L'indice SUVA traduit l'aromaticité des molécules d'une solution. Plus l'indice SUVA en sortie de résine est grand, plus il y a de composés à caractère aromatique non retenus. D'après les résultats, la résine DAX 8 retient un peu plus de composés aromatiques que les résines XAD 8 et XAD 7. Généralement, le caractère aromatique est associé à des composés également hydrophobes (Violleau, 1999). Par conséquent, la meilleure efficacité de la résine DAX 8 vis à vis des composés hydrophobes du lixiviat pourrait ainsi permettre un meilleur fractionnement des Substances Humiques. En outre, depuis quelques années, la fabrication de la résine XAD 8 a cessé pour être remplacée par la DAX 8.

#### IV.3.2 Efficacité des résines lors de l'extraction

L'un des principaux avantages du fractionnement par résine est de pouvoir extraire la matière organique retenue sur la résine par une simple élution, notamment à la soude ou à d'autres solvants (Thurman & Malcolm, 1981).

Dans le cadre de ce travail, après adsorption de la MO sur résine et conformément aux protocoles choisis, la MO retenue a été récupérée par désorption suite à une élution à la soude 0,1M ou à l'acétonitrile (75%  $\text{CH}_3\text{CN}$  / 25%  $\text{H}_2\text{O}$ ) au débit de 1V/V/H. Les taux de récupération ont été ensuite calculés par mesure des éluats sodiques et des résidus organiques après évaporation du solvant organique sous vide réduit (Rotavap). Les taux de récupération obtenus pour les trois résines sont donnés dans le tableau I-5.

Tableau I-5 : Rendements d'extraction de la MO du lixiviat de Crézin par élution à NaOH 0,1M et à un mélange acétonitrile /eau (75%  $\text{CH}_3\text{CN}$  / 25%  $\text{H}_2\text{O}$ ).

	XAD 7	XAD 8	DAX 8
Rendement d'extraction à NaOH 0,1M (%) ( $\pm 2\%$ )	81	81	85
Rendement d'extraction à Acétonitrile/Eau (%) ( $\pm 2\%$ )	100	99	100

Les taux de récupération à la soude sont faibles en comparaison à ceux de Martin (1995) pour qui la quasi totalité du carbone était éluee. Cette particularité vient vraisemblablement de la présence dans le lixiviat de composés « trop hydrophobes » pour être lessivés à la soude (Peuravuori *et al.*, 2001). Néanmoins l'utilisation de certains solvants organiques (méthanol, acétonitrile) permet de les ré-extraire (Martin, 1995). En effet une élution à l'acétonitrile permet une extraction totale. Globalement la désorption des trois résines est assez comparable

mais la résine DAX 8 semble un peu plus réactive à l'extraction par la soude que les résines XAD 8 et XAD 7 et permettrait ainsi de récupérer plus de SH retenues.

En conclusion, la résine DAX 8 semble bien convenir à l'étude de la MO du lixiviat car elle présente les meilleures capacités de fixation et de désorption en comparaison aux résines XAD 7, XAD 8. Aussi tout au long de l'étude, le protocole de Thurman & Malcolm (1981) sera appliqué avec la résine DAX 8 et le protocole de Malcolm & Mac Carty (1992) par association des résines DAX 8 et XAD 4.

Le choix des résines étant validé, le domaine d'application des deux protocoles à différents milieux a pu être défini.

#### **IV.4. Détermination d'un k' unique applicable à des milieux anthropogènes et naturels**

Les effluents d'origine anthropogène (lixiviats, eaux résiduaires urbaines) s'analysent par les mêmes techniques de fractionnement et d'extraction que les effluents naturels (Huizhong *et al.*, 2001 ; Kang *et al.*, 2002 ; Imai *et al.*, 2002) bien qu'ils soient généralement beaucoup plus riches en matières organiques. Or fondamentalement, l'adsorption sur un support est liée à la disponibilité de ses sites de surface. Dès lors que le milieu est concentré, il y a une plus forte probabilité d'occupation des sites et la saturation est plus vite atteinte. Aussi il n'est pas envisageable de saturer une colonne de résine avec le même volume de lixiviat que d'eau naturelle, hormis bien sûr si l'eau a été pré-concentrée. Il faut donc théoriquement adapter le volume à percoler à la teneur en MO du milieu afin de n'injecter que la masse de MO requise. Dès lors, la notion de facteur de capacité k' se révèle d'une grande importance puisque ce paramètre contrôle le rapport du volume d'échantillon envoyé sur le volume de résine.

Aussi, afin de disposer d'un protocole permettant de comparer des échantillons de concentrations différentes sans qu'un phénomène de saturation de site ou de résine ne vienne biaiser le fractionnement ou l'extraction, nous avons essayé de trouver la meilleure valeur du coefficient k' permettant de comparer des échantillons dans la gamme de concentration la plus large possible pour cette étude.

##### **IV.4.1 Application aux lixiviats**

###### **IV.4.1.1 Détermination d'un k' pour la résine DAX 8**

La première étape a consisté à vérifier l'influence du couple Volume/Concentration d'un échantillon lors de la rétention sur résine. Un même lixiviat a été injecté brut ou dilué (pour faire varier sa concentration) sur la résine DAX 8. Trois essais ont été réalisés :

- le lixiviat brut (COD = 104mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 2,407)
- le lixiviat dilué deux fois et demi (COD = 42mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 0,984)
- le lixiviat dilué dix fois (COD = 10mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 0,201)

Les courbes de percée sur résine DAX 8 relatives à ces trois concentrations sont présentées figure I-4. L'allure des courbes de fuite déterminées par mesure de l'absorbance UV ou du COD étant sensiblement la même, seules les courbes relatives à l'absorbance UV sont présentées.

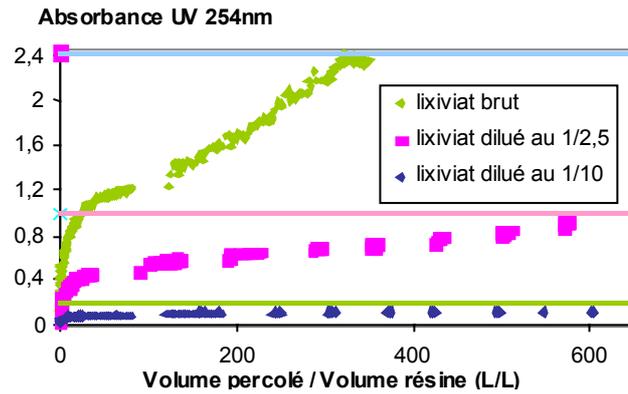


Figure I-4 : Influence de la concentration en MO sur le fractionnement par résine DAX 8.

Les courbes obtenues montrent des profils typiques d'évolution de la teneur en COD et de l'absorbance UV en sortie de résine DAX 8. Cependant, plus le lixiviat est concentré plus la résine se sature rapidement. A faible concentration (COD = 10mg C.L<sup>-1</sup>), la saturation n'est cependant pas visible sur la courbe car l'évolution est très lente. Ainsi les résultats mettent en évidence, comme on pouvait s'y attendre, qu'à de fortes teneurs en MO, un plus petit volume d'échantillon est suffisant pour saturer la résine. Or le principe même des protocoles de fractionnement est de ne pas dépasser la saturation. Cependant, le volume à percoler se définit par des équations empiriques (Malcolm, 1991 ; Malcolm & Mac Carty, 1992) basées sur l'étude d'eaux naturelles et ne considérant pas la concentration initiale de l'eau mais seulement le volume de résine et le coefficient de partition. Par conséquent la quantité de MO introduite n'est jamais prise en compte.

Aussi afin de déterminer l'effet ou non de la concentration sur le fractionnement, nous avons comparé les taux de rétention obtenus à partir des courbes de percée précédentes. En effet les trois échantillons étant en fait un seul et même lixiviat brut ou dilué, ils doivent contenir le même type de molécules. Par conséquent, la répartition de la MO (le pourcentage retenu sur résine) devrait être la même. La figure I-5 rapporte les pourcentages de rétention d'absorbance UV et de COD déterminés à partir de la figure I-4.

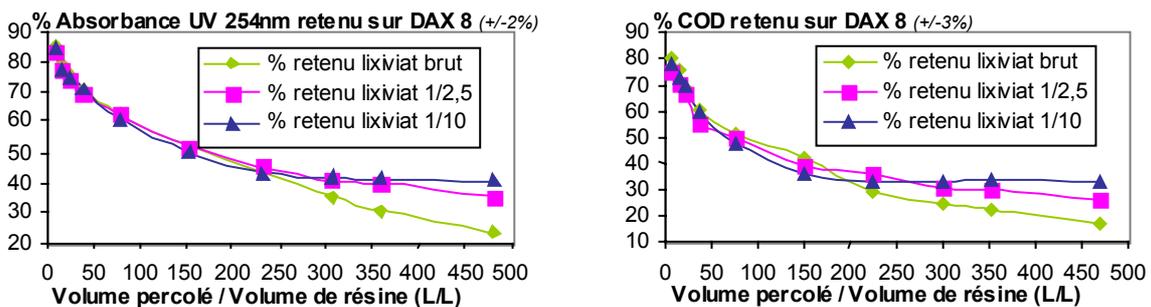


Figure I-5 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine DAX 8 pour trois concentrations d'un même lixiviat.

Les résultats montrent que la sorption sur résine DAX 8 est indépendante de la concentration en matière organique jusqu'à un Vp/Vr d'environ 250 L/L. Au delà de cette valeur, la répartition du lixiviat brut est différente de celle des lixiviats dilués, probablement en raison de la proximité de la saturation. Les deux lixiviats dilués conservent des pourcentages de rétention quasi identiques jusqu'à un Vp/Vr d'environ 410 L/L où l'approche de la saturation semble également perturber le plus concentré des deux. La teneur en MO apparaît par conséquent comme un critère non négligeable lors de l'adsorption sur résines XAD de solutions chargées. Il semble possible de comparer des lixiviats entre 0 et 100mg C.L<sup>-1</sup> de

COD, dans une plage de 0 à 250 L/L de volume percolé par volume de résine, alors que pour des lixiviats de 0 à 40mg C.L<sup>-1</sup> la comparaison demeure possible dans une gamme de 0 à 410 L/L.

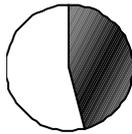
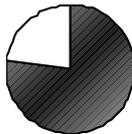
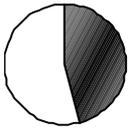
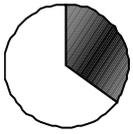
La transcription de ces plages de volumes de travail en plage de coefficients de partition par la formule suivante (Malcolm & Mac Carthy, 1992) :

$$k' = (Vp / (0,6 \times Vr)) - 1$$

met en évidence la possibilité d'appliquer une multitude de k' et par conséquent de protocoles de fractionnement différents. En effet, les gammes 0-250 L/L et 0-410 L/L autorisent des valeurs de k' jusqu'à respectivement 415 et 682.

Afin de constater dans quelle mesure la variation de volume et réciproquement la variation de k' influence la répartition de la matière organique, nous avons calculé la répartition entre composés hydrophobes (retenus sur DAX 8) et hydrophiles (non retenus sur DAX 8) du lixiviat pour diverses valeurs de Vp/Vr et de k'. L'évolution du fractionnement hydrophobe/hydrophile en fonction du volume percolé par volume de résine et du coefficient de partition k' est présentée au tableau I-6.

Tableau I-6 : Evolution de la répartition hydrophobe / hydrophile en absorbance UV à 254nm et COD en fonction du volume d'échantillon percolé et du facteur de capacité k'.

	Répartition en absorbance UV 254nm (%)			Répartition en COD (%)		
Pourcentages de composés :						
■ Hydrophobes □ Hydrophiles.						
Vp / Vr (L/L)	10	100	200	10	100	200
Facteur de capacité k'	15	165	332	15	165	332

Les graphiques du tableau I-6 mettent en évidence que la répartition hydrophobe/hydrophile (en absorbance UV ou en COD) varie très fortement avec un changement de volume percolé par volume de résine et par conséquent de k'. Une augmentation du volume se traduit par une augmentation du pourcentage en composés hydrophiles allant pratiquement jusqu'à inversion des tendances. Ainsi, l'application de différents k' peut totalement changer l'interprétation du fractionnement d'un échantillon. Le volume d'échantillon à passer sur résine est donc primordial, car il détermine la répartition de la MO. De ce fait, il faut toujours appliquer le même k' et s'y tenir quelque soit l'échantillon. Cependant le choix d'un coefficient k' est délicat et doit être très probablement motivé par le désir d'extraire plus ou moins une certaine fraction de MO.

Dans le cadre de l'étude des milieux naturels plusieurs k' sont utilisés. Ainsi Thurman & Malcolm (1981) définissent les Substances Humiques avec un k' de 100 et Leenheer (1981) avec un k' de 50. L'application de ces deux k' au lixiviat de Crézin conduit un écart de répartition de 7% en absorbance UV et 9% en COD. L'utilisation d'un k' de 50 conduit à faire percoler l'échantillon juste au début de la zone linéaire des courbes de percée alors que l'utilisation d'un k' de 100 permet de s'arrêter plus tard dans cette zone (figure I-4). De ce fait le choix d'un k' de 100 paraît plus judicieux pour minimiser les erreurs tout gardant un volume d'échantillon raisonnable à analyser. De plus, il permet de retenir un peu plus de la moitié de la matière organique du lixiviat, laissant ainsi une fraction non retenue sur DAX 8 assez concentrée pour pouvoir être à son tour fractionnée sur résine XAD 4.

#### IV.4.1.2 Détermination d'un $k'$ pour la résine XAD 4

La détermination d'un coefficient  $k'$  relatif à la résine XAD 4, employée dans le protocole de Malcolm & Mac Carty (1992), a été effectuée en appliquant une démarche expérimentale similaire. Un lixiviat brut obtenu après filtration sur résine DAX 8 avec un  $k'$  de 100 et possédant un  $\text{COD}_{\text{sortie DAX 8}} = 35 \text{ mg C.L}^{-1}$  a été percolé sur une colonne de résine XAD 4 identique à la précédente. Afin d'estimer l'influence de la concentration en matière organique sur le fractionnement, la rétention de ce même lixiviat mais dilué au  $\frac{1}{2}$  a également été étudiée. Les pourcentages de rétention d'absorbance UV et de COD sont présentés figure I-6.

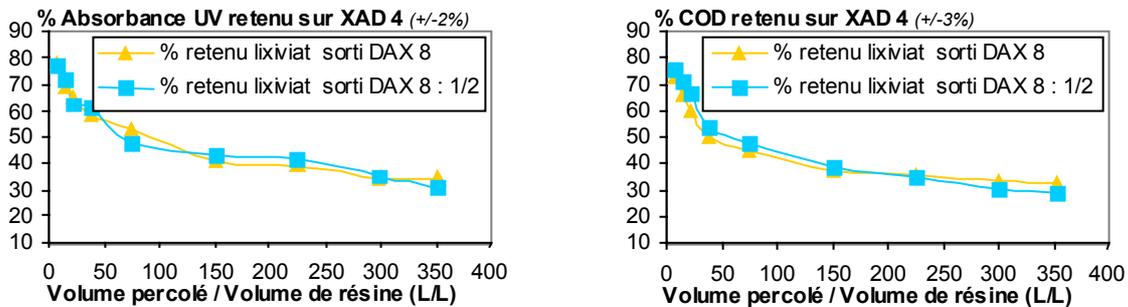


Figure I-6 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine XAD 4 pour le lixiviat brut et dilué au  $\frac{1}{2}$  en sortie de résine DAX 8.

Les résultats mettent évidence qu'un lixiviat ayant percolé sur résine DAX 8 peut être fractionner sur résine XAD 4 sans que sa concentration, dans la gamme 0-35mg C.L<sup>-1</sup>, n'interfère sur le fractionnement entre 0 et 350 L/L et jusqu'à un  $k'$  de 582. Les protocoles de type Malcolm & Mac Carty (1992) employant essentiellement des  $k'$  de 50 ou de 100 sur la résine XAD 4, pour les mêmes raisons que pour la résine DAX 8 le choix d'un  $k'$  de 100 paraît alors le plus judicieux.

En conclusion, la répartition de la MO de lixiviats de différentes concentrations peut être effectuée en appliquant les protocoles de Thurman & Malcolm (1981) et Malcolm & Mac Carty (1992) avec des coefficients de partition  $k'$  de 100 pour les résines DAX 8 et XAD 4 et des lixiviats présentant un COD après acidification à pH 2 compris entre 0 et 100mg C.L<sup>-1</sup>.

### IV.4.2 Application aux milieux terrestres

#### IV.4.2.1 Détermination d'un $k'$ pour la résine DAX 8

Afin d'évaluer si les conditions déterminées préalablement pour les lixiviats ( $k'=100$ ) sont applicables à des solutions de milieux terrestres et pourront ainsi permettre la comparaison des répartitions entre lixiviats de décharges et solutions de sols, nous avons étudié la rétention sur résine DAX 8 d'une même solution de sol percolée à deux concentrations différentes :

- la solution de sol brute (COD = 32mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 1,112)
- la solution de sol diluée quatre fois et demi (COD = 7mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 0,310)

ainsi qu'une même solution de tourbe percolée sur résine DAX 8 à deux concentrations différentes :

- la solution de tourbe brute (COD = 60mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 1,248)
- la solution de tourbe diluée cinq fois (COD = 11,9mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 0,245)

Les courbes de percée relatives aux solutions de sol et de tourbe étant d'allure identique, seules les courbes de percée des solutions de sol sont présentées figure I-7.

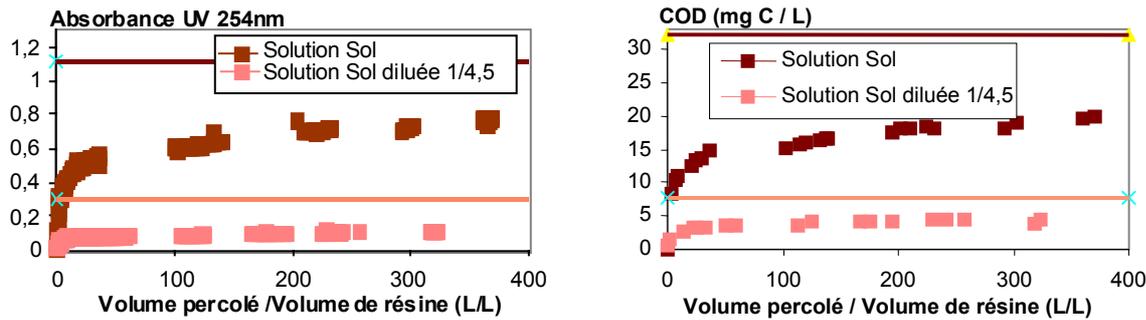


Figure I-7 : Courbes de percée sur résine DAX 8 de solutions de sol suivies par absorbance UV à 254nm et par COD.

Les courbes de percée obtenues pour les solutions de milieux terrestres (sol et tourbe) sont d'allures similaires à celles de lixiviats, par conséquent l'origine de la Matière Organique ne semble pas influencer le processus de rétention.

Les figures I-8 et I-9 rapportent les pourcentages de rétention en absorbance UV à 254nm et en COD déterminés respectivement à partir des courbes de percée des solutions de sol et des solutions de tourbe.

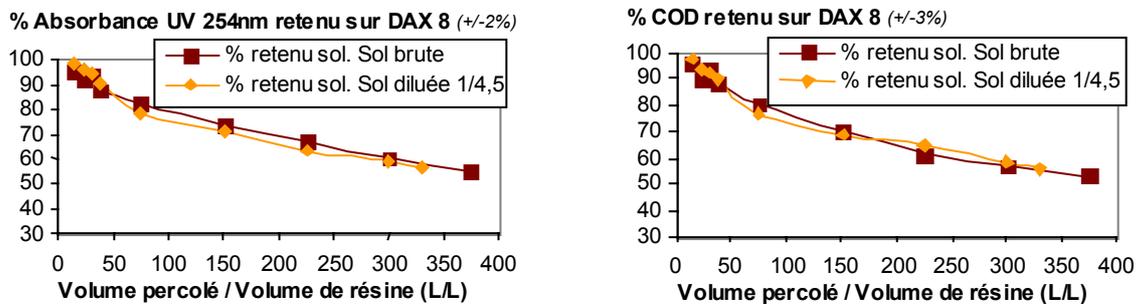


Figure I-8 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine DAX 8 pour la solution de sol brute et diluée au 1/4,5.

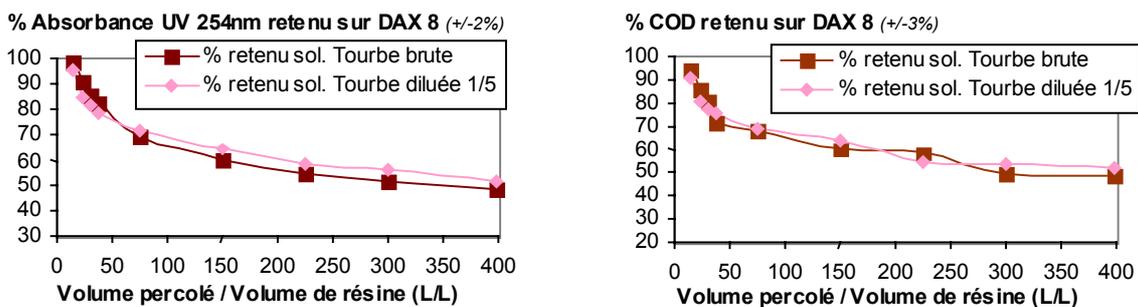


Figure I-9 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine DAX 8 pour la solution de Tourbe brute et diluée au 1/5.

Les résultats montrent que pour des solutions de sol entre 0 et 32mg C.L<sup>-1</sup>, la rétention sur résine DAX 8 est indépendante de la concentration en matière organique au moins jusqu'à un Vp/Vr d'environ 340 L/L (k<sup>2</sup>=565). De même, pour des solutions de Tourbe entre 0 et 60mg C.L<sup>-1</sup>, le fractionnement est indépendant de la concentration en matière organique du moins jusqu'à un Vp/Vr de 400 L/L (k<sup>2</sup>=665). Par conséquent le fractionnement par résine DAX 8 suivant les conditions définies pour les lixiviats (k<sup>2</sup>=100 donc Vp/Vr = 60 L/L) est tout à fait applicable pour des solutions d'échantillons terrestres.

#### IV.4.2.2 Détermination d'un $k'$ pour la résine XAD 4

La validation du coefficient  $k'$  pour la résine XAD 4 a été effectuée en appliquant une démarche expérimentale similaire à celle employée pour le lixiviat, mais n'a été conduit que sur la solution de Tourbe. Nous avons récupéré de la solution de tourbe après filtration sur résine DAX 8 avec un  $k'$  de 100 ( $\text{COD}_{\text{sortie DAX 8}} = 16\text{mg C.L}^{-1}$ ), puis nous l'avons fait percoler sur une colonne de résine XAD 4. Afin de regarder l'influence de la concentration en matière organique sur le fractionnement, la rétention de cette même solution mais diluée au  $\frac{1}{2}$  ( $\text{COD} = 8\text{mg C.L}^{-1}$ ) a également été étudiée dans les mêmes conditions. Les pourcentages de rétention en absorbance UV à 254nm et en COD sont présentés figure I-10.

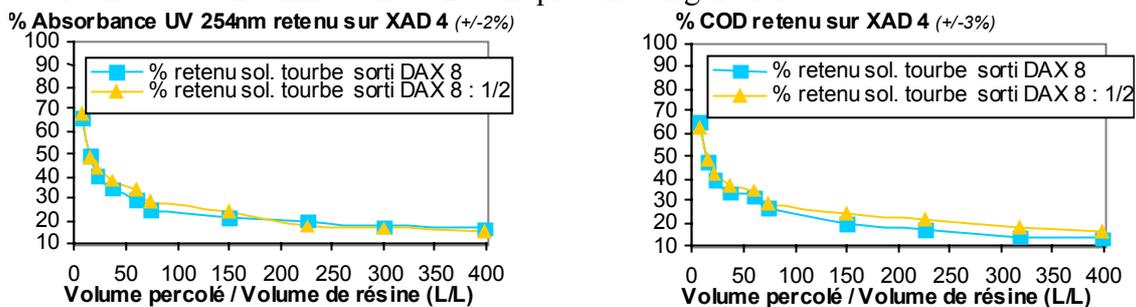


Figure I-10 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine XAD 4 pour une solution de tourbe brute et diluée au  $\frac{1}{2}$  en sortie de résine DAX 8.

Les résultats mettent évidence qu'une solution de tourbe ayant percolée sur résine DAX 8 peut être fractionnée sur résine XAD 4 sans que sa concentration, dans la gamme 0-16mg C.L<sup>-1</sup>, n'interfère sur le fractionnement entre 0 et 400 L/L. De plus, en considérant pour les deux milieux terrestres (sol et tourbe) que la similitude de rétention sur résine DAX 8 se répercute également sur résine XAD 4, l'utilisation d'un  $k'$  de 100 sur résine XAD 4, identique au lixiviat, semble tout à fait possible pour le fractionnement des milieux terrestres.

En conclusion, les conditions définies pour le fractionnement de la matière organique des lixiviats suivant les protocoles de Thurman & Malcolm (1981) et Malcolm & Mac Carty (1992), peuvent être appliquées à la détermination du fractionnement de la MO de solutions de milieux terrestres présentant un COD après acidification à pH 2 compris entre 0 et 32mg C.L<sup>-1</sup> pour les solutions de sol et entre 0 et 60mg C.L<sup>-1</sup> pour les solutions de tourbe.

#### IV.4.3 Application aux eaux naturelles

Une démarche et des objectifs similaires à l'étude des lixiviats et des milieux terrestres ont été appliqués à des eaux naturelles afin de déterminer si les conditions préalablement établies sont aussi réalisables avec ces milieux. L'étude de ces eaux, assez pauvres en MO, nécessite souvent une pré-concentration de l'échantillon permettant de travailler avec des volumes raisonnables et de réaliser des fractionnements plus poussés. Aussi, l'impact de la pré-concentration sur la répartition de la matière organique a été préalablement étudié.

##### IV.4.3.1 Pré-concentration par osmose inverse

Les procédés à membrane, comme l'osmose inverse et la nanofiltration, permettent de concentrer facilement une solution. Généralement les rendements de concentration par osmose inverse sont les meilleurs. Ils s'échelonnent en moyenne de 65 à 91% pour l'osmose inverse contre 60 à 79% pour la nanofiltration (Labouyrie-Rouillier, 1997). Aussi pour obtenir des eaux naturelles suffisamment riches en MO, nous avons choisi de concentrer les échantillons par osmose inverse. Les taux de récupération du concentrat et du perméat sont donnés dans le tableau I-7, et comparés à des valeurs obtenues par Labouyrie-Rouillier (1997). L'indice SUVA des eaux brutes est également indiqué dans ce tableau.

Tableau I-7 : Taux de récupération de la MO lors d'une concentration par osmose inverse et valeurs de l'indice SUVA des eaux brutes.

	Taux de récupération du COD (en %)			SUVA (m <sup>-1</sup> /g C.L <sup>-1</sup> ) (+/-0,2)
	concentrat (+/-4%)	perméat (+/-4%)	total (+/-4%)	
Glane hiver	80	6	86	3,4
Valoine hiver	70	4	74	3,7
Villepanet	72	3	75	3,9
Vienne*	65	7	72	3,6
Blavet hiver*	91	2	93	5,1

(\* valeur obtenues dans l'étude de Labouyrie-Rouillier (1997))

Les pourcentages trouvés dans le concentrat évoluent entre 72 et 80% de la MO introduite, ce qui correspond aux rendements relatés par la littérature. Certains composés des plus hydrophiles ont en effet tendance à s'adsorber sur les membranes d'osmose (Labouyrie-Rouillier, 1997) de même que certains composés de haut poids moléculaire (Odegaard & Koottatep, 1982) générant des pertes au sein de la solution. Bien que le taux de récupération obtenu après concentration de l'eau de la Glane par osmose inverse se trouve dans la gamme des valeurs de la littérature, il reste assez élevé si l'on se réfère à l'indice SUVA de l'eau brute. En effet, les eaux à caractère plutôt hydrophile (faible SUVA) montrent généralement des taux de récupération du COD plus faibles (eau Vienne). Les taux de concentration des eaux de la Valoine et de Villepanet semblent plus en adéquation avec leur valeur d'indice SUVA.

#### IV.4.3.2 Détermination d'un k' pour la résine DAX 8

Après cette étape de concentration, la rétention sur résine DAX 8 de l'eau de la Glane brute (COD = 8,5mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 0,293) et concentrée par osmose inverse (COD = 80mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 3,097) a été étudiée afin de déterminer la validité d'un coefficient k' de 100 pour des eaux naturelles. Les courbes de percée de la MO (absorbance UV à 254nm et COD) relatives à l'eau de la rivière Glane sont présentées figure I-11 pour l'eau brute et figure I-12 pour l'eau concentrée par osmose inverse.

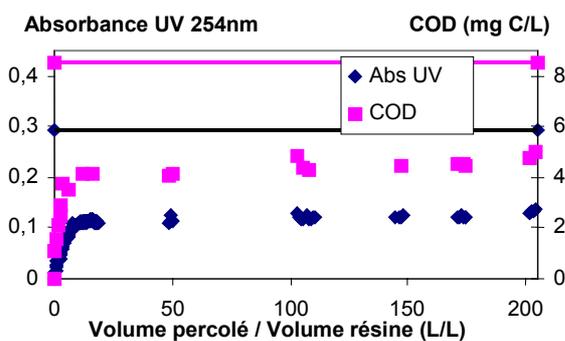


Figure I-11 : Courbes de percée de l'eau brute (rivière Glane) suivies par absorbance UV à 254nm et par COD.

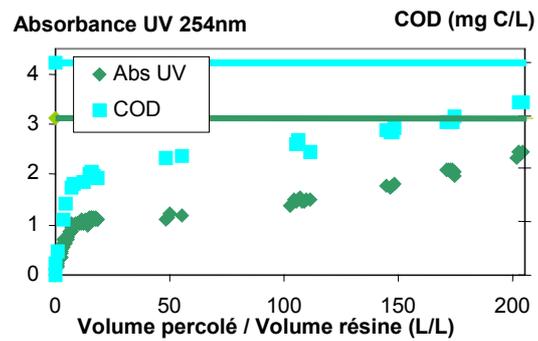


Figure I-12 : Courbes de percée de l'eau concentrée par osmose inverse (rivière Glane) suivies par absorbance UV à 254nm et COD.

Les courbes de percée obtenues sur l'eau brute de la Glane sont typiques de courbes de percée d'eaux de surface (Martin, 1995), avec dès le début une fuite rapide de la MO puis l'atteinte d'un pallier. Par contre, les courbes relatives au concentrat d'osmose ressemblent plus aux courbes obtenues pour des lixiviats concentrés. La résine semblant en effet tendre vers sa saturation plus rapidement. La figure I-13 rapporte les pourcentages de rétention en absorbance UV et en COD déterminés à partir des courbes de percée de l'eau brute et de l'eau concentrée par osmose.

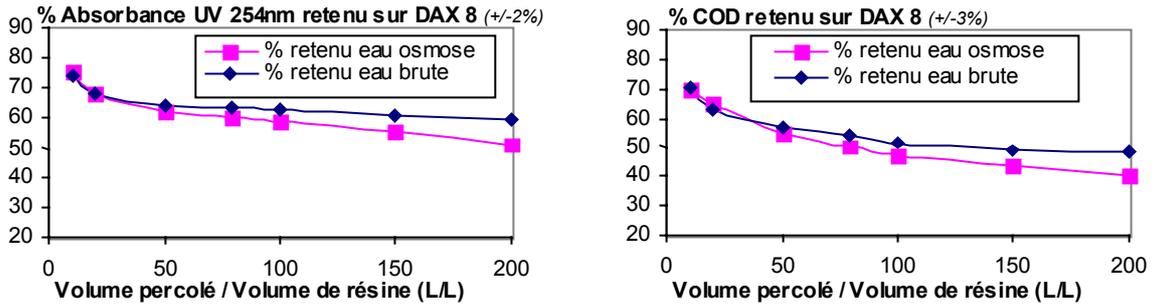


Figure I-13 : Pourcentages d’Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine DAX 8 pour l’eau de la Glane brute et concentrée par osmose inverse.

Les résultats montrent que pour l’eau de surface de la Glane, l’adsorption sur résine DAX 8 est indépendante de la concentration en matière organique jusqu’à un  $V_p/V_r$  d’environ 100 L/L en absorbance UV et en COD. En revanche, au delà de ces valeurs les courbes de rétention de l’eau brute et de son concentrat diffèrent de plus en plus, bien que la saturation de la résine DAX 8 par l’eau concentrée soit encore assez lointaine. Par conséquent, la pré-concentration de l’échantillon tendrait à montrer un effet de la teneur en matière organique sur la rétention des eaux naturelles.

Aussi, pour déterminer si l’étape d’osmose inverse interfère systématiquement lors de l’étude d’eaux naturelles, nous avons suivi la rétention d’une autre eau de surface, l’eau de la Valoine (COD = 5,4mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 0,199) et de son concentrat (COD = 48mg C.L<sup>-1</sup> ; absorbance UV 254nm = 1,684). Les courbes de percée de l’eau de la Valoine ayant des allures similaires à celles de la Glane, seuls les pourcentages de rétention d’absorbance UV et de COD sont présentés figure I-14.

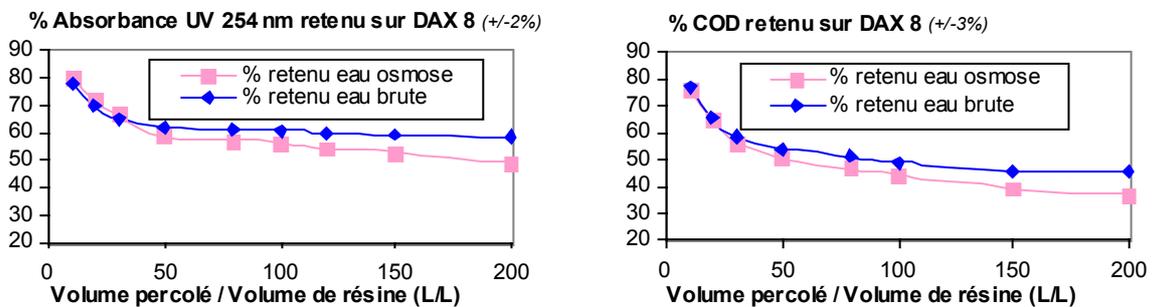


Figure I-14 : Pourcentages d’Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine DAX 8 pour l’eau de la Valoine brute et concentrée par osmose inverse.

L’allure des courbes de rétention relatives à l’eau de la Valoine apparaît proche de celles de la Glane. Néanmoins les taux de rétention sont quelque peu différents ce qui traduit une composition voisine mais distincte. Les résultats montrent que l’eau brute et l’eau concentrée par osmose ont une répartition similaire jusqu’à un volume percolé par volume de résine d’environ 100 L/L (soit  $k'=165$ ) en UV ou en COD et pour des teneurs en Matières Organiques comprises entre 0 et 48mg C.L<sup>-1</sup>. La pré-concentration par osmose inverse semble également générer un décalage de rétention, comme observé sur l’eau de la Glane, mais qui n’est pas significatif au  $V_p/V_r$  de 60 L/L définissant un  $k'$  de 100. Il est donc possible et avantageux d’appliquer le coefficient  $k'$  de 100 à la résine DAX 8 afin de pouvoir analyser des eaux pré-concentrées ou non sans introduire de biais et de comparer leur fractionnement à des lixiviats et des milieux terrestres.

Cependant, la présence récurrente d'un décalage des pourcentages d'absorbance UV et de COD retenus, entre l'eau brute et l'eau pré-concentrée, au delà d'un  $V_p/V_r$  de 100, laisse supposer qu'un effet lié à l'augmentation de la teneur en COD ou qu'une modification de la MO interfère sur le fractionnement. Selon de nombreux auteurs l'osmose inverse n'altère pas la MO (De Schamphelaere *et al.*, 2004) même si quelques composés de haut poids moléculaire sont perdus par adsorption sur la membrane (Kitis *et al.*, 2001). Tout comme dans cette étude, Kilduff *et al.* (2004) ne mettent en évidence aucune différence de fractionnement lors de l'adsorption sur résine XAD 8 d'une eau brute et concentrée pour des  $k'$  de 30 à 100. Néanmoins, on peut penser que la probabilité d'interactions intermoléculaires augmente avec une augmentation de la concentration et conduise à des changements structuraux qui pourraient expliquer des différences de réactivité notamment lorsqu'une partie des sites de la résine est déjà occupée (à des  $k' > 165$ ).

#### IV.4.3.3 Détermination d'un $k'$ pour la résine XAD 4

La validation d'un  $k'$  pour la résine XAD 4 a également été effectuée. Ces essais ont été faits sur des eaux déjà filtrées sur résine DAX 8 avec un  $k'$  de 100 :

- l'eau de la Glane brute ( $COD_{\text{sortie DAX 8}} = 4\text{mg C.L}^{-1}$ )
- l'eau de la Glane pré-concentrée par osmose ( $COD_{\text{sortie DAX 8}} = 39,9\text{mg C.L}^{-1}$ ).

Les pourcentages de rétention d'absorbance UV et de COD sont présentés figure I-15.

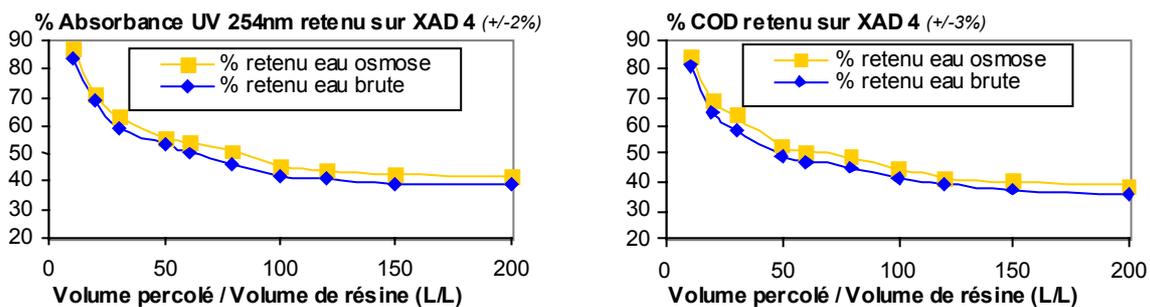


Figure I-15 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine XAD 4 pour l'eau de la Glane brute et préconcentrée.

Les résultats laissent apparaître une grande similitude entre les courbes de rétention de l'eau brute et de l'eau concentrée par osmose que ce soit en COD et en absorbance UV. Les courbes de rétention sont assez proches pour considérer que le fractionnement par résine XAD 4 n'est pas influencé par la teneur en MO (entre 0 et 40mg C.L<sup>-1</sup>) pour un  $V_p/V_r$  compris entre 0 et 200 L/L. De ce fait, l'application d'un  $k'$  de 100 (soit  $V_p/V_r = 61$  L/L), comme pour les autres milieux, est envisageable. De plus, la concentration ne semble, dans cette gamme de COD, pas avoir d'effets sur le fractionnement.

En conclusion, les conditions définies pour le fractionnement de la matière organique des lixiviats et des milieux terrestres suivant les protocoles de Thurman & Malcolm (1981) et Malcolm & Mac Carty (1992), peuvent être appliquées à la détermination du fractionnement de la MO d'eaux naturelles concentrées ou non par osmose inverse présentant un COD après acidification à pH 2 compris entre 0 et 80 mg C.L<sup>-1</sup>.

Bien évidemment, il aurait été intéressant de réaliser une étude similaire sur une eau souterraine, mais ces eaux contiennent de trop faibles teneurs en MO pour pouvoir être fractionnées sans pré-concentration.

#### IV.4.4 Conclusion

L'ensemble de ces expérimentations a permis de déterminer les conditions limites applicables au fractionnement par résine XAD en vue de la comparaison de milieux d'origines et de concentrations différentes. Le tableau I-8 récapitule, pour les gammes de concentrations en MO étudiées, les valeurs de volume à percoler par volume de résine (Vp/Vr) et de k' au delà desquelles la comparaison du fractionnement ne semble plus correcte ou n'a pas été démontrée.

Tableau I-8 : Récapitulatif des gammes de COD et des valeurs limites de Vp/Vr et de k' à ne pas dépasser lors du fractionnement par résine DAX 8 ou bien par couplage DAX 8 / XAD 4.

		Résine	Gamme de COD étudiée (mg C.L <sup>-1</sup> )	Vp/Vr <sub>limite</sub> (L/L)	k' <sub>limite</sub>	
<b>LIXIVIATS</b>	{	Lixiviat	DAX 8	0-104	250	415
			XAD 4	0-35	350	582
<b>MILIEUX TERRESTRES</b>	{	Solution de sol	DAX 8	0-32	340	565
			XAD 4	ND	ND	ND
<b>EAUX NATURELLES</b>	{	Solution de tourbe	DAX 8	0-60	400	665
			XAD 4	0-16	400	665
<b>EAUX NATURELLES</b>	{	Eau de surface	DAX 8	0-80	100	165
			XAD 4	0-40	200	333

Ainsi, l'application d'un k' et donc d'un Vp/Vr inférieurs aux valeurs limites, permet de comparer objectivement les répartitions de la MO de divers milieux (dans les gammes de COD données) obtenues lors de fractionnement par résine XAD. Cependant, dans la suite de l'étude, nous appliquerons le protocole de Thurman & Malcolm (1981) en utilisant la résine DAX 8 avec un k' de 100 et le protocole de Malcolm & Mac Carty (1992) en utilisant successivement les résines DAX 8 et XAD 4 avec également des k' de 100.

Le cas particulier de solutions très chargées telles que des lixiviats nous a amené à réfléchir sur l'impact des espèces présentes sur la rétention des molécules organiques sur résine. Aussi l'impact de la force ionique a fait l'objet d'une étude.

#### IV.5. Influence de la force ionique sur la répartition de la MO

La dilution ou la concentration d'un échantillon atteint aussi bien la matière organique que les ions. Or, la force ionique (I) d'un milieu est fixée par la concentration en ions, et toutes modifications de cette force ionique affectent la conformation et la réactivité de la matière organique (Schnitzer, 1991). De ce fait, nous avons essayé de vérifier que les dilutions appliquées au lixiviat, aux solutions de milieux terrestres et la pré-concentration des eaux de surface n'avaient pas influencé la répartition de la matière organique en changeant la force ionique.

##### IV.5.1 Influence de la dilution

Pour déterminer si la modification de force ionique a influencé la rétention de la MO sur résine DAX 8, des essais ont été menés sur le lixiviat de Crézin dilué au 1/10 mais dont la force ionique a été maintenue égale à celle du lixiviat brut (par ajout de NaCl) avant l'acidification. Cette force ionique a été estimée à 0,04 M à l'aide de la formule de Marion-Babcock (Sposito, 1989) déjà appliquée à des lixiviats (Lagier, 2000) :

$$\log I = 1,159 + 1,009 \times \log X$$

avec

I : force ionique (mmol.L <sup>-1</sup> )
X : conductivité (dS.m <sup>-1</sup> )

Un suivi de la rétention sur résine XAD 4 du lixiviat de Crézin dilué au 1/10 a également été réalisé avec et sans correction de force ionique après filtration sur résine DAX 8 sous un  $k'$  de 100. Les pourcentages de rétention du lixiviat de Crézin dilué au 1/10 avec et sans correction de force ionique sont présentés à la figure I-16 pour la résine DAX 8 et à la figure I-17 pour la résine XAD 4.

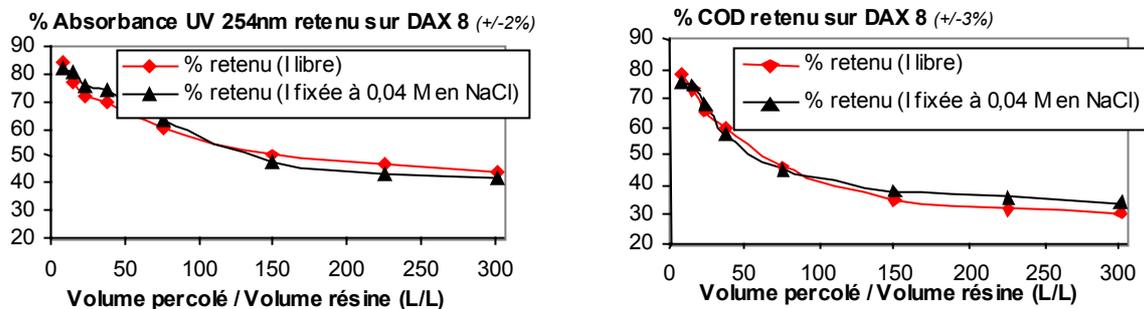


Figure I-16 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine DAX 8 pour le lixiviat de Crézin dilué au 1/10 avec correction ou non de la force ionique avant acidification.

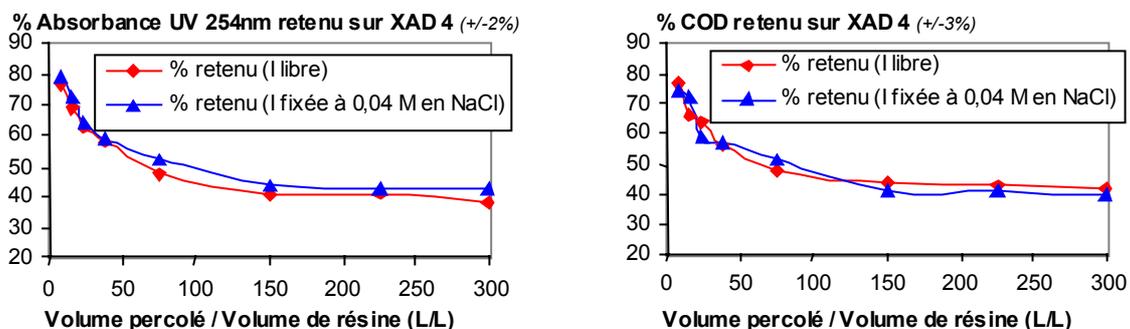


Figure I-17 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine XAD 4, après percolation sur résine DAX 8 sous un  $k'$  de 100, pour le lixiviat de Crézin dilué au 1/10 avec correction ou non de la force ionique avant acidification.

Les résines XAD étant définies comme non ioniques, les changements de la teneur en sels n'interfèrent en rien sur leurs propriétés de rétention. Par conséquent toute modification de la rétention est uniquement due à la matrice organique en elle même. Les figures I-16 et I-17 montrent que la variation de force ionique induite par la dilution ne modifie en rien la rétention de la matière organique. On peut supposer que la forte acidification préalable à la percolation sur résine fixe d'elle même la force ionique du milieu à des valeurs si élevées que l'influence de la force ionique initiale de l'échantillon est minime. Cependant, rien n'indique que cette acidification ne modifie pas la réactivité de la MO.

#### IV.5.2 Influence de la concentration

Pour vérifier l'influence ou non de la force ionique dans le cas des pré-concentrations, nous avons suivi la rétention sur résine DAX 8 de l'eau de la Glane brute et de l'eau de la Glane mise à la force ionique de son concentrat d'osmose ( $I = 0,015$  M, par application de la formule de Marion-Babcock). Un suivi de la rétention sur résine XAD 4 de l'eau de la Glane avec et sans correction de force ionique après filtration sur résine DAX 8 sous un  $k'$  de 100 a complété l'étude. Les pourcentages de rétention de l'eau brute avec et sans modification de force ionique sont présentés figure I-18 pour la résine DAX 8 et figure I-19 pour la résine XAD 4. Les courbes relatives à l'eau brute sont issues des figures I-13 et I-15.

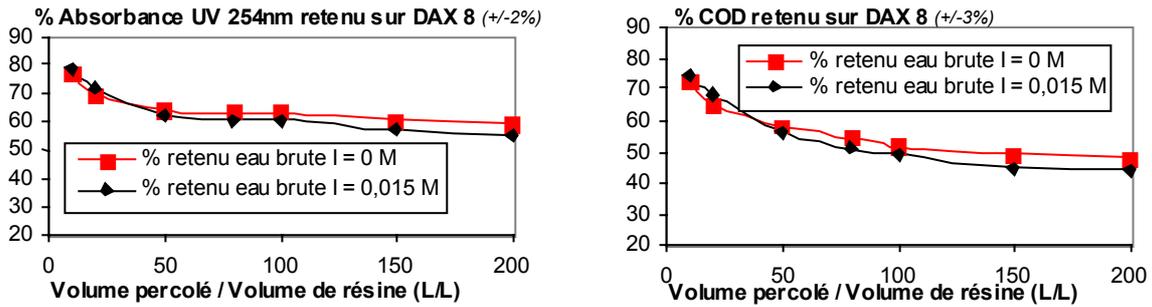


Figure I-18 : Pourcentages d’Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine DAX 8 pour l’eau de la Glane brute avec modification ou non de la force ionique avant acidification.

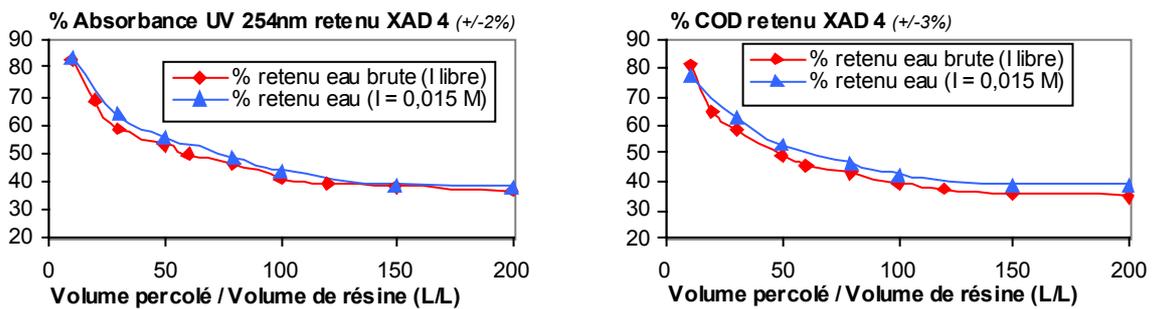


Figure I-19 : Pourcentages d’Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine XAD 4, après percolation sur résine DAX 8 sous un  $k'$  de 100, pour l’eau de la Glane avec modification ou non de la force ionique avant acidification.

Une modification de la force ionique initiale de l’eau de surface n’engendre aucune modification de la rétention sur résine DAX 8 et XAD 4. L’acidification à pH 2 masquant très certainement l’effet potentiel de la modification de force ionique. En revanche, ces résultats soulignent que la différence entre l’eau brute et l’eau concentrée par osmose inverse (figures I-13 et I-14) n’est pas attribuable à une modification de force ionique. Il est donc fort probable que la différence observée soit bien liée au procédé même d’osmose inverse : pertes de certaines espèces organiques par précipitation ou adsorption sur la membrane.

En conclusion, les conditions déterminées pour les protocoles de Thurman & Malcolm (1981) et Malcolm & Mac Carty (1992) ne semblent pas mettre en évidence un effet direct de la force ionique.

## V. Fractionnement

La matière organique se définissant comme un ensemble complexe et hétérogène, l’approche la plus commune et la plus simple pour l’étudier consiste en la scinder en plusieurs fractions de propriétés différentes afin d’essayer de comprendre sa genèse et les processus mis en jeu, puis de comparer des échantillons entre eux pour relier les fractions aux propriétés chimiques et aux rôles environnementaux de la matrice organique globale.

Généralement, l’étude de l’humification considère essentiellement les Substances Humiques ou de type Humique (Sanchez-Monedero *et al.*, 2002), cependant pour comprendre les phénomènes biogéochimiques intervenant dans un milieu, la totalité de la matière organique doit être prise en compte pour n’exclure aucune source d’information. Aussi, nous avons choisi d’appliquer des protocoles permettant d’accéder à la répartition à la fois des Substances Humiques mais aussi des Substances non Humiques.

## V.1. Protocoles de fractionnement appliqués

La détermination du niveau d'humification du lixiviat et la compréhension de la répartition de sa MO ont été réalisées grâce à deux protocoles de fractionnement. En premier lieu, le protocole de Thurman & Malcolm (1981) a permis d'obtenir la répartition au sens strict des Substances Humiques, puis le protocole de Malcolm & Mac Carty (1992) a permis de scinder la matière organique soluble en un plus grand nombre de fractions pour la relier à ses origines. Le choix de ne pas fractionner davantage la MO a été délibérément fait car il est alors délicat de discuter de la distribution et de l'origine des fractions. En effet, bien que de nombreuses fractions puissent être alors obtenues, elles représentent toujours un mélange non identifié de composés. De plus, l'ajout d'étapes aux protocoles de fractionnement s'accompagne de nombreuses pertes en MO.

De manière générale, la préparation des échantillons est la même pour les deux protocoles. L'échantillon liquide est filtré puis directement acidifié à pH 2 (Thurman, 1985). Cependant, nous avons introduit une étape de basification à pH 12 sous atmosphère azotée afin d'éliminer les humines correspondant à des composés insolubles à tous pH. Les protocoles traditionnels d'étude de la matière organique des sols (Schnitzer & Khan, 1972) isolent généralement cette fraction avant de mesurer les Substances Humiques. Aussi, afin de fractionner correctement les solutions de milieux terrestres tout en gardant des conditions comparables avec les autres milieux, nous avons appliqué cette étape supplémentaire à l'ensemble des échantillons. Un essai de fractionnement sur le lixiviat de Crézin avec et sans étape de basification pour les deux protocoles n'a montré aucune différence significative.

### V.1.1 Protocole de Thurman & Malcolm (1981)

Le protocole de Thurman & Malcolm (1981) est fréquemment rencontré dans l'étude des milieux naturels aquatiques (Thurman, 1985 ; Leenheer & Croué, 2003) lors de la détermination des teneurs en Substances Humiques. Sa procédure opératoire est présentée figure I-20 :

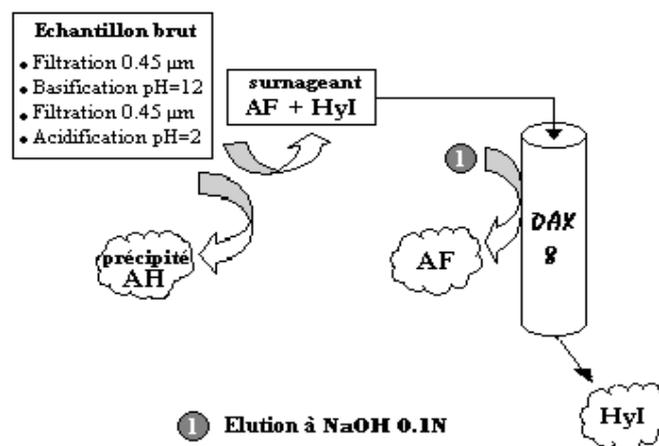


Figure I-20 : Procédure de fractionnement de la MO selon Thurman & Malcolm (1981).

Ce protocole permet d'extraire les Acides Humiques (AH) par précipitation à pH acide et les Acides Fulviques (AF) par rétention sur résine DAX 8. La matière organique non précipitée et non adsorbée correspond aux Acides Hydrophiles (HyI). Enfin, la matière organique non désorbée de la résine DAX 8 par l'élution à la soude 0,1 N se définit comme une perte (paragraphe IV.3.2). Le pourcentage d'AH est calculé par différence entre la teneur en MO de l'échantillon filtré à pH=12 et de l'échantillon filtré à pH=2 alors que le pourcentage d'AF est obtenu par mesure de la quantité de matière organique désorbée dans la soude 0,1 N. Enfin, le

pourcentage d'HyI s'obtient par mesure de la teneur en matière organique de l'échantillon après sa percolation sur la résine DAX 8.

Lors du fractionnement du lixiviat, les fractions sont notées AH\*, AF\* et HyI\* pour indiquer qu'il s'agit de fractions de type AH, AF et HyI différentes de celles classiquement définies dans les milieux naturels.

### V.1.2 Protocole de Malcolm & Mac Carty (1992)

Le protocole de Malcolm & Mac Carty (1992) est fréquemment employé dans l'étude des milieux naturels aquatiques (Martin-Mousset *et al.*, 1997) pour essayer d'estimer l'origine allochtone (terrestre) ou indigène (aquatique) de la matière organique dissoute. En outre ce protocole permet de considérer l'ensemble de la MO retenue sur les résines puisque les fractions traditionnellement non désorbées à la soude sont prises en compte.

Sa procédure d'utilisation est présentée à la figure I-21 :

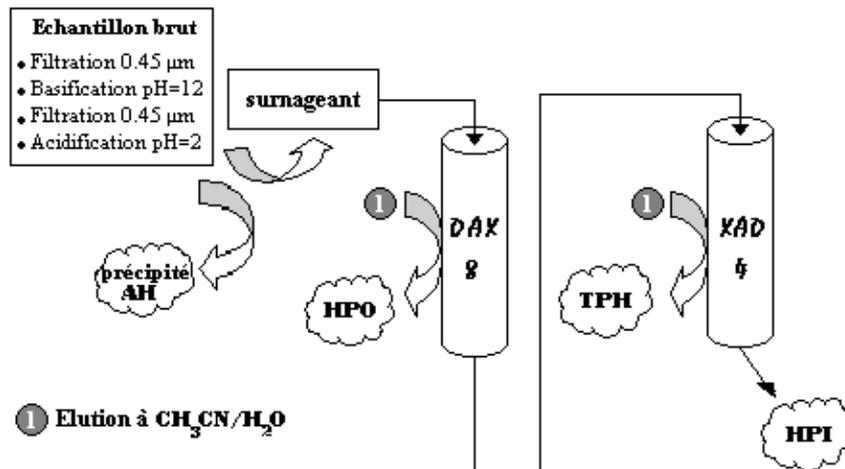


Figure I-21 : Procédure de fractionnement de la MO selon Malcolm & Mac Carthy (1992).

Ce protocole permet de retenir les composés Hydrophobes (HPO) sur résine DAX 8 et les composés Transphiliques (TPH) sur résine XAD 4. La matière organique non précipitée et adsorbée sur aucune résine correspond aux composés Hydrophiles (HPI). Les pourcentages des fractions HPO et TPH sont déterminés par mesure de la différence de teneurs en matière organique entre l'entrée et la sortie des colonnes, respectivement DAX 8 et XAD 4. Le pourcentage en composés HPI est obtenu par mesure de la teneur en matière organique de l'échantillon en sortie de résine XAD 4.

Lors du fractionnement du lixiviat, les fractions sont notées HPO\*, TPH\* et HPI\* pour indiquer qu'il s'agit de fractions de type HPO, TPH et HPI différentes de celles classiquement définies dans les milieux naturels.

## V.2. Fractionnement de la matière organique carbonée

### V.2.1 Fractionnement Acide Humique (AH)/Acide Fulvique (AF)/Composés hydrophiles (HyI)

La répartition des Substances Humiques formées lors des processus d'humification a principalement été étudiée dans les milieux naturels. Néanmoins, l'étude de la distribution des Substances de type Humique (SH\*) et d'autres composés organiques au sein de lixiviats de décharges a aussi fait l'objet de plusieurs travaux.

Ainsi, des Substances de type Humique (SH\*) sont répertoriées dans l'ensemble des lixiviats à des teneurs très variables. Blakey *et al.* (1992) rapportent que les Acides de type Fulvique\* (AF\*) sont majoritaires dans les lixiviats méthanogènes où leur faible dégradation conduit à

leur accumulation. La proportion des Acides de type Humique\* (AH\*) tend à augmenter avec l'âge de la décharge et peut représenter jusqu'à plus de 30 à 40% du COD (Artiola-Fortuny & Fuller, 1982). Lagier (2000) présente un lixiviat en début de stabilisation dont 25% du COD est sous la forme d'AH\*. Selon Blakey *et al.* (1992), les jeunes lixiviats sont aussi constitués d'AH\* mais en faible quantité, de 0,5% à 5% du COT. Castagnoli *et al.* (1990) de même que Christensen *et al.* (1998j) indiquent, par comparaison de plusieurs lixiviats de sites et d'âges différents, que les teneurs en AH\* et AF\* varient respectivement de 4 à 44% et de 7 à 72% du COD.

Les substances de type non humique et les composés simples prédominent dans les lixiviats acidogènes (Blakey *et al.*, 1992) où ils représentent plus de 90% du COD, sous la forme d'acides gras volatils, d'amines volatiles et d'alcools (Harmsen, 1983).

Bien que les protocoles employés par ces études diffèrent, les ordres de grandeur semblent rester voisins pour un type de lixiviat donné (lixiviat acidogène, méthanogène, en début de stabilisation ou en phase avancée de stabilisation). De ce fait, malgré l'hétérogénéité des sites et des conditions, les processus d'humification semblent suivre une évolution similaire conduisant à la formation d'AF\* puis d'AH\* comme dans le milieu naturel. Aussi, la proportion en composés humiques et non humiques est vraisemblablement un indicateur de l'état d'humification.

L'application du fractionnement de Thurman & Malcom (1981) au lixiviat de Crézin et aux milieux naturels de comparaison est présentée à la figure I-22.

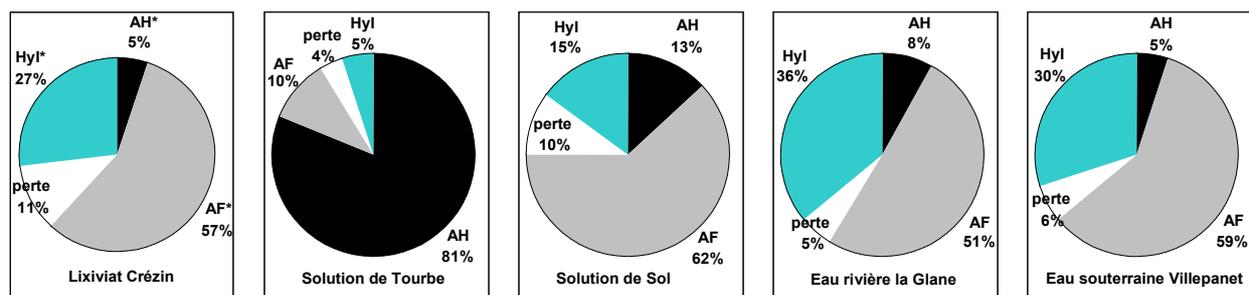


Figure I-22 : Répartition de la matière organique du lixiviat de Crézin, de la solution de Tourbe, de la solution de sol de Crézin, de l'eau de surface La Glane et de l'eau souterraine Villepanet par le protocole de Thurman & Malcolm (1981). (L'incertitude sur les pourcentages est de +/- 2%).

Les résultats montrent que le lixiviat de Crézin est principalement constitué d'AF\* plutôt que d'AH\*. Les SH\* représentent 62% du COD de ce lixiviat ce qui le situe dans la gamme de valeurs de Lagier (2000) et d'Artiola-Fortuny & Fuller (1982) qui trouvent respectivement 80% et 60% du COD d'un lixiviat stabilisé.

La distribution des AF\* et AH\* est supposée changer à chaque phase de la vie de la décharge tout en restant directement corrélée à l'âge des déchets (Castagnoli *et al.*, 1990). Selon Artiola-Fortuny & Fuller (1982) de même que Castagnoli *et al.* (1990), le rapport AH\* sur AF\* passe d'inférieur à 1 à plus grand que 1 au fur et à mesure que le lixiviat vieillit et perd en concentration. En revanche pour Chian & DeWalle (1976), l'évolution inverse s'observe. Lagier (2000) en synthétisant de nombreuses analyses réalisées sur le lixiviat de Crézin depuis 1993 met en évidence que ce rapport se rapproche progressivement de 1 et définit un état d'humification avancé. Cependant, le calcul actuel du rapport AH\*/AF\* du lixiviat de Crézin indique une valeur d'environ 0,09 qui laisse plutôt supposer un début de phase d'humification. Cette disparité d'avec les résultats de Lagier (2000) repose essentiellement sur une chute de la teneur en AH\*, passant de 25% en 1999 à 5% à l'heure actuelle. Les différences observées entre les protocoles de fractionnement peuvent difficilement expliquer un tel écart. Selon Artiola-Fortuny & Fuller (1982), les fortes diminutions de la concentration

en COD observées sur certains lixiviats s'accompagnent d'une sorte de « dilution » de la teneur en AH\*. Or le lixiviat de Crézin a vu sa teneur en COD diminuer de deux tiers depuis l'étude de Lagier (2000), vraisemblablement en raison de la mise en place d'une couverture imperméable sur la décharge, réduisant l'humidité et par la même la dégradation et le lessivage homogène des déchets. Néanmoins, des modifications de la hauteur d'immersion de la tête de pompe assurant la collecte du lixiviat pourraient aussi avoir bouleversées les caractéristiques du lixiviat puisque selon Yuen (1999) la qualité du lixiviat fluctue avec la hauteur du prélèvement.

La comparaison des fractionnements du lixiviat et des milieux terrestres indique qu'il y a moins d'AH\* dans le lixiviat que dans les solutions de sol et de tourbe. Ce résultat peut trouver une explication dans la lenteur des processus d'humification. En effet, l'humification dans les sols, et plus encore dans les tourbes, résulte de l'action de phénomènes sur des échelles de temps considérablement plus longues (de l'ordre de centaines à des milliers d'années) que l'âge d'une décharge (24 ans pour Crézin) (Senesi *et al.*, 1996). Aussi, en dépit d'un matériel organique abondant, la genèse des SH\* ne peut pas être aussi avancée dans une décharge et dans son lixiviat que dans un milieu terrestre. De plus, le lessivage permanent des déchets par le lixiviat ( $4 \text{ à } 11 \text{ m}^3 \cdot \text{H}^{-1}$ ) limite très certainement l'accumulation des SH\* et conduit plutôt à leur dilution, contrairement à des sols ou des tourbières (Bozkurt *et al.*, 2001). En effet, les conditions hydrodynamiques d'une décharge sont différentes d'un sol ou d'un aquifère où le matériau de base, plus compacté, ralentit la progression de l'eau interstitielle et augmente le temps de contact entre l'eau et la MO.

La comparaison du fractionnement du lixiviat avec celui des eaux naturelles montre, aux incertitudes près, la même teneur en AH\* et AH. Dans ces milieux, les AH sont issus d'une contribution allochtone de la litière et des sols transportée par ruissellement et infiltration. Il est probable qu'il y ait dans une décharge un transfert similaire des déchets au lixiviat mais que les déchets en étant beaucoup moins humifiés qu'un sol et constitués d'éléments autres que terrestres (sol et végétaux) n'aient que peu d'AH\* à apporter.

Les Acides Fulviques se révèlent être la fraction majoritaire de l'ensemble des milieux étudiés exceptée pour la tourbe. Ces composés prédominent notamment dans la solution de sol et l'eau souterraine. Aussi il est pensable qu'ils découlent d'une origine terrestre (sol ou aquifère) liée à la dégradation de résidus des végétaux ou animaux (Mac Carthy, 2001). Dans les eaux de surface, les AF sont également connus pour avoir une origine allochtone (Thurman, 1985) mais leur plus faible contribution peut s'expliquer par l'apport diffus d'éléments terrestres aux rivières et par la dilution engendrée dans ces milieux. Au sein du lixiviat, le pourcentage intermédiaire d'AF\* tendrait à signifier que l'apport de résidus végétaux et animaux est presque aussi important que dans un sol, mais la présence de certains composés anthropogéniques hydrophobes pourrait amplifier cette fraction. Néanmoins, la valeur trouvée est dans la gamme de valeurs définie par Castagnoli *et al.* (1990) ou Christensen *et al.* (1998) et s'avère proche de la valeur trouvée par Lagier (2000) soit environ 55%. En outre, le fractionnement de la solution de tourbe mettant en évidence que dans un milieu très humifié les AF sont présents en faibles proportions, on peut supposer que la teneur en AF\* du lixiviat de Crézin va diminuer au cours du temps.

Le lixiviat contient moins de composés de type hydrophile (HyI\*) que les milieux aquatiques mais plus que les milieux terrestres. Les eaux de surface sont souvent très riches en fraction HyI plus particulièrement au cours des saisons à forte activité photosynthétique. Néanmoins, de grandes quantités de composés HyI sont observées toute l'année, même dans les eaux souterraines bien qu'il n'y ait pas d'activité végétale. Cette fraction, représentative d'une contribution indigène, souligne une activité microbiologique d'algues, de bactéries et de protozoaires. Mais dans les conditions d'anaérobiose d'un milieu saturé d'eau, seules les

bactéries et les archaéobactéries peuvent être sous une forme active. De ce fait, la fraction HyI\* du lixiviat est vraisemblablement due à ces organismes, mais le lessivage constant dilue probablement les marques de leur activité. Néanmoins, cette fraction est toujours considérée comme une part importante du COD des lixiviats (Christensen *et al.*, 1998).

Globalement, la comparaison des divers fractionnements apporte de nombreuses informations. Afin de synthétiser les données relatives à l'humification, le calcul du rapport AH sur AF est apparu un outil intéressant. Les résultats sont présentés au tableau I-9.

Tableau I-9 : Valeurs du rapport AH/AF pour le lixiviat de Crézin, la solution de Tourbe, la solution de sol, l'eau de la Glane et l'eau de Villepanet.

	Lixiviat Crézin	Solution Tourbe	Solution Sol	Eau Glane	Eau Villepanet
Rapport AH/AF (+/-0,04)	0,09	8,10	0,21	0,16	0,08

En considérant que ce rapport traduise le niveau d'humification d'un milieu, il apparaît que le lixiviat est moins humifié que des solutions de milieux terrestres et qu'une eau de surface. En revanche, le lixiviat serait très proche de l'eau souterraine en terme d'humification. Cette similitude peut s'expliquer puisque les conditions (potentiel redox négatif, inhibition de l'activité photosynthétique) d'un lixiviat dans les déchets rappellent l'environnement de l'eau au sein d'un aquifère. En outre, le lixiviat de Crézin est généré par l'émergence d'une nappe souterraine dans le massif de déchet. Néanmoins, ces répartitions voisines de matière organique, ne signifient en rien que les MO sont de constitutions proches, simplement les processus sont probablement similaires. De plus, il est possible de trouver des eaux souterraines avec des fractionnements différents (Gron *et al.*, 1996). Ainsi, la profondeur et un temps de séjour prolongé peuvent engendrer des zones d'accumulation de SH et notamment des AH (Artinger *et al.*, 2000).

En conclusion, le lixiviat de Crézin semble se trouver au début de sa phase d'humification et la répartition de sa matière organique devraient évoluer progressivement vers celles de milieux plus humifiés (solutions de sol puis de tourbe). Cependant, les différences observées par rapport à l'étude de Lagier (2000), peuvent aussi laisser croire que certains artéfacts (mise en place de la couverture, changement de la hauteur de prélèvement) pourraient biaiser les résultats et leur interprétation.

### V.2.2 Fractionnement Hydrophobe (HPO)/Transphilique (TPH)/Hydrophile (HPI)

L'origine de la matière organique permet souvent de poser des hypothèses sur les processus et les mécanismes mis en jeu dans un milieu. La détermination de l'origine apparaissant difficile dans une matrice organique complexe, l'approche par le fractionnement HPO, TPH & HPI constitue une alternative simple pour se faire une idée des principales contributions à la matière organique. Ce type de fractionnement est pourtant essentiellement appliqué aux lixiviats pour extraire des fractions puis les caractériser par diverses techniques analytiques (Mejbri, 1997 ; Leenheer *et al.*, 2001). De ce fait peu de données comparatives sont disponibles. Néanmoins, en reprenant les travaux de Mejbri (1997), même si les protocoles diffèrent, il est possible de considérer que le lixiviat de Crézin était constitué en 1997 d'environ 77% d'HPO, 10% de TPH et 13% d'HPI.

L'application du fractionnement de Malcom & Mac Carthy (1992) au lixiviat de Crézin et aux milieux naturels de comparaison est présentée figure I-23.

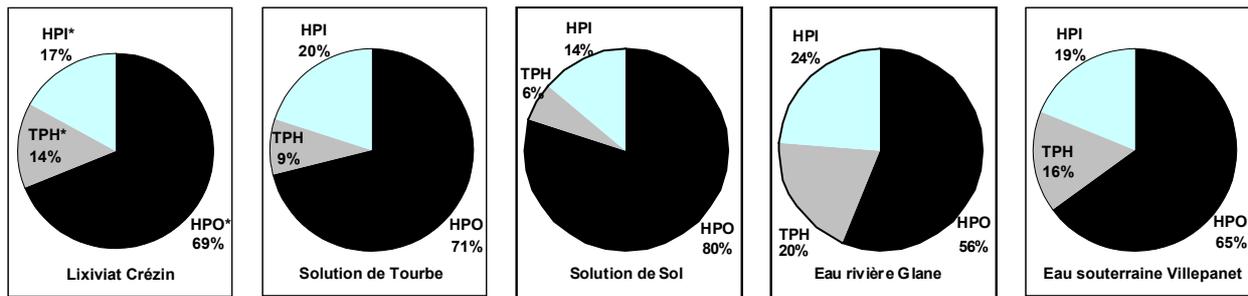


Figure I-23 : Répartition de la matière organique du lixiviat de Crézin, de la solution de Tourbe, de la solution de sol de Crézin, de l'eau de surface de la Glane et de l'eau souterraine de Villepanet par le protocole de Malcom & Mac Carthy (1992). (L'incertitude sur les pourcentages est de +/- 2%).

Le pourcentage de composés de type hydrophobe (HPO\*) au sein du lixiviat semble compris entre celui des milieux terrestres et celui des milieux aquatiques. Dans les milieux naturels, la fraction HPO est principalement due à une contribution allochtone des sols et de l'humus. Elle consiste en des macromolécules aromatiques dérivées de la cellulose et de la lignine (Labouyrie-Rouillier, 1997). Le rapport entre la décomposition des déchets et la composition des lixiviats étant bien établi (Barlaz *et al.*, 1990), on peut supposer que dans le lixiviat stabilisé cette fraction découle des débris organiques de type bois, papiers, cartons et journaux restants. Cependant, bien que la cellulose et les hémicelluloses correspondent à 45-60 % d'un déchet sec, ces constituants sont assez bien biodégradables (Barlaz *et al.*, 2002). Aussi il est probable à cet âge du lixiviat, que les composés ligneux soient principalement à l'origine de cette fraction. En outre, la présence d'une géomembrane empêche toute contribution éventuelle de la matière organique du sol de la couverture de réhabilitation. En revanche, il n'est pas à exclure que certains xénobiotiques dotés d'une forte lipophilie composent également la fraction HPO\*.

L'importance de la fraction HPO dans le sol et la tourbe s'explique très probablement par un apport conséquent des végétaux à ces milieux. De même, l'eau souterraine séjournant dans le sol, peut se charger de ces composés par l'infiltration des matières organiques de la litière vers la nappe souterraine. En revanche, l'eau de surface, en contact moins direct avec le milieu terrestre, semble moins riche en composés HPO. Aussi, le pourcentage intermédiaire de HPO\* dans le lixiviat semblerait venir d'un apport allochtone des déchets mais somme toute limité.

Le pourcentage de composés de type transphilique (TPH\*) du lixiviat est compris entre celui des eaux naturelles et celui des milieux terrestres. Cette fraction apparaît plus importante dans les milieux aquatiques et semble donc reliée à ce type d'environnement. En général, les milieux aquatiques se distinguent par une forte contribution de matière organique autochtone, engendrée par une activité biologique au sein du milieu. Cette contribution est souvent rapportée aux fractions les plus hydrophiles comme la fraction HPI. Dans l'eau de surface, cet apport est vraisemblablement imputable aux microorganismes de type bactéries et algues (Sommerville & Preston, 2001) alors que dans l'eau souterraine et le lixiviat cet apport ne peut être dû qu'à des bactéries et des archaebactéries. Néanmoins, une plus faible contribution des composés HPI ne signifie pas nécessairement une faible activité microbiologique. En effet dans le sol, pourtant connu pour être un haut lieu d'activité microbiologique, la prépondérance de la part allochtone masque probablement la contribution des fractions indigènes alors même que le séchage du sol augmente les fractions hydrophiles (Christ & David, 1996). Aussi, afin de vérifier l'origine autochtone des fractions TPH\* et HPI\* d'un lixiviat, nous avons fractionné un échantillon du lixiviat de Crézin mais ayant séjourné 8 jours dans une cuve à l'air. Les pourcentages de ce fractionnement sont donnés au tableau I-10.

Tableau I-10 : Répartition du carbone organique dissous dans les fractions HPO\*, TPH\* et HPI\* du lixiviat de Crézin ayant séjourné 8 jours dans une cuve à l'air.

	HPO*	TPH*	HPI*
Lixiviat de Crézin séjourné 8 jours dans une cuve à l'air	59%	19%	22%
Lixiviat de Crézin	69%	14%	17%

*(Incertitude sur les pourcentages de +/- 2%)*

Le passage en conditions aérées provoque un changement de la biomasse du lixiviat puisque les microorganismes anaérobies stricts meurent et les microorganismes aérophiles et aérotolestants se multiplient. Même si le changement de conditions pendant une semaine a très certainement modifié les paramètres du lixiviat, il constitue surtout un bouleversement de l'activité indigène qui semble se traduire par un changement de la répartition du lixiviat. Ainsi, le tableau I-10 indique une diminution de la fraction HPO\* au profit des fractions TPH\* et HPI\*. De ce fait, on peut supposer que les fractions TPH\* et HPI\* sont bien en partie produites par l'activité des microorganismes dans le milieu. Cependant, il ne semble pas possible de savoir si leur augmentation est due à la multiplication ou à la disparition de microorganismes.

En conclusion, la matière organique du lixiviat pourrait être considérée comme une combinaison d'un apport allochtone issu des déchets et d'un apport indigène issu des microorganismes, auxquels s'intègre probablement un apport anthropique issu également des déchets.

### V.3. Fractionnement de la matière organique azotée

Dans l'environnement, l'azote organique constitue un nutriment essentiel pour de multiples organismes (microorganismes, végétaux) (Streeter *et al.*, 2000 ; Zhu & Carreiro, 2004). Son évolution est souvent comparée à celle du carbone. Ainsi Qualls & Haines (1992) considèrent que le Carbone Organique Dissous (COD) et l'Azote Organique Dissous (AOD) évoluent proportionnellement alors que Wiegner & Seitzinger (2001) et Caraco & Cole (2003) observent plutôt des comportements différents. En fait, le cycle biogéochimique de l'azote interagit avec le cycle du carbone mais il possède des caractéristiques propres. Les entrées d'AOD dans un milieu sont en grande partie le résultat de processus biologiques autochtones, comprenant la fixation de N<sub>2</sub>, la respiration bactérienne, la lyse cellulaire de microorganismes, et l'apport fécal par le micro/macro zooplancton et les macroorganismes. Néanmoins, une contribution allochtone via l'humus et les sédiments intervient également par la décomposition de débris organiques, le ruissellement et l'infiltration. Enfin, une partie de l'azote est aussi le fruit de sources externes anthropogènes comme les eaux d'égouts, les effluents industriels, les xénobiotiques et les dépôts atmosphériques (Cornell *et al.*, 1995 ; Badr *et al.*, 2003).

Généralement les composés azotés sont classifiés en plusieurs groupes selon les caractéristiques chimiques de leurs monomères. Le premier groupe rassemble les protéines et les acides aminés, le second groupe correspond aux ADN, ARN, nucléotides et aux acides nucléiques, enfin un groupe spécial distingue les substances humiques car ces biopolymères se caractérisent par une structure irrégulière et une grande diversité de leurs monomères constitutifs. En effet, l'azote humique est représenté par trois formes majeures (Kuzyakov, 1996) : (1) l'azote des acides aminés et des sucres aminés, (2) l'azote directement lié aux noyaux aromatiques et (3) l'azote contenu dans des hétérocycles. Cette abondance et cette variété de composés confèrent à l'azote un rôle biogéochimique tout aussi important que le carbone. Aussi, nous avons cherché à connaître sa distribution au sein du lixiviat et de milieux naturels afin de déterminer si son fractionnement est susceptible d'apporter des informations

complémentaires au fractionnement de la matière organique carbonée. La figure I-24 présente les fractionnements de l'azote organique dissous du lixiviat de Crézin et de milieux naturels de comparaison.

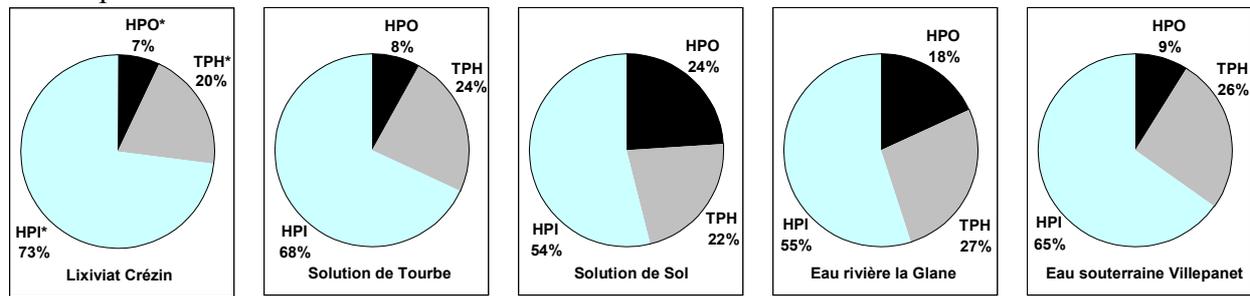


Figure I-24 : Répartition de l'azote organique du lixiviat de Crézin, de la solution de Tourbe, de la solution de sol de Crézin, de l'eau de surface de la Glane et de l'eau souterraine de Villepanet par le protocole de Malcom & Mac Carthy (1992). (L'incertitude sur les pourcentages est de +/- 3%).

La répartition de la matière organique azotée du lixiviat montre que l'azote organique dissous est presque essentiellement réparti dans la fraction hydrophile (HPI\*) (73%). Quel que soit le milieu, cette fraction contient plus de 50% de l'azote organique et la fraction transphilique (TPH) autour de 25%. La fraction hydrophobe, inversement au carbone organique, ne contient en revanche pratiquement pas d'azote organique. De tels observations ont déjà été rapportées par Wiegner & Seitzinger (2001) et Kaushal & Lewis (2003) pour qui 80% de l'AOD des eaux de ruisseaux de montagne était non retenu sur une résine DAX 8 à pH 2 alors que le carbone était principalement retenu. Par conséquent, il semble bien que l'AOD et le COD ne se répartissent pas de la même façon.

Les fractionnements (figure I-24) mettent en évidence deux types de distribution de l'azote. Une distribution dans laquelle la fraction HPI est très importante avec une fraction HPO très faible, comme dans le cas de la solution de tourbe et de l'eau souterraine, et une distribution où la fraction HPI est un peu moins importante avec une fraction HPO un peu moins faible, comme dans le cas du lixiviat, de la solution de sol et de l'eau de surface. Ainsi, la nature du milieu (terrestre ou aquatique) ne semble pas contrôler la distribution de l'azote, par conséquent on peut supposer que sa répartition dépend plutôt des processus régissant les milieux. Néanmoins, l'azote étant très majoritairement présent dans les fractions dites non humiques, on peut supposer que sa distribution est plus influencée par les processus de minéralisation que d'humification.

La similitude de fractionnement entre la solution de sol et l'eau de surface peut s'expliquer par l'interaction entre ces deux écosystèmes. Dans les sols, l'azote organique (95% de l'azote) est en partie constitué d'une fraction soluble (Murphy *et al.*, 2000) contrôlant la disponibilité de l'azote dans les horizons profonds (Zhu & Carreiro, 2004). Généralement, les horizons superficiels comme l'horizon A représentent les plus grands réservoirs d'azote organique soluble. Les microorganismes entretiennent cette réserve par décomposition enzymatique de composés organiques en constituants simples (acides aminés, sucre aminés) mais ils prélèvent toutefois de l'azote pour leurs besoins cellulaires (Paul & Clark, 1996). Lors du ruissellement et de l'infiltration d'eau, des quantités variables d'azote organique soluble sont exportées des environnements terrestres vers les eaux naturelles (Wiegner & Seitzinger, 2001). Seulement une petite partie de l'AOD naturel est composée de monomères comme des acides aminés et de l'urée, l'autre partie est dominée par des polymères de haut poids moléculaire, notamment des peptides (Stepanauskas *et al.*, 1999) mais aussi des composés à hétérocycles (Knicker *et al.*, 2002). Aussi, on peut considérer que la fraction HPI se compose des monomères et de petits peptides alors que la fraction HPO regrouperait les structures macromoléculaires hétérocycliques moins hydrophiles.

La similitude de fractionnement entre le lixiviat, la solution de tourbe et l'eau souterraine est en revanche difficilement attribuable à un échange entre ces environnements. Par conséquent on peut supposer que des conditions communes à ces milieux favorisent cette forme de distribution de l'azote organique dissous :

- d'une part ces milieux ont en commun une matière organique moins fraîche et moins renouvelée que l'humus des sols. Leurs constituants sont probablement beaucoup plus décomposés et de plus petites tailles, donc potentiellement plus hydrophiles ce qui pourrait expliquer la plus grande teneur en composés HPI dans ces milieux. En outre la présence d'un atome d'azote confère par l'intermédiaire de son doublet non liant une polarité et donc un caractère plus hydrophile à une structure organique.

- d'autre part, l'azote organique est souvent rapporté à la dynamique des microorganismes (Leenheer *et al.*, 2000) puisqu'il est un constituant important de leur structure membranaire (peptidoglycane) et de leur matériel génétique (acides nucléiques). Par conséquent, la prépondérance des fractions HPI et TPH, reliées vraisemblablement aussi à cette dynamique (paragraphe V.2), traduirait une intense activité bactérienne au sein de ces milieux notamment grâce à une forte teneur en eau et à la présence d'un support (déchets ou sol) à la biomasse.

Afin de déterminer l'impact sur la distribution de l'azote organique d'une activité bactérienne, le fractionnement du lixiviat de Crézin ayant séjourné 8 jours dans une cuve à l'air a été réalisé. Les résultats sont présentés au tableau I-11.

Tableau I-11 : Répartition de l'azote organique dissous dans les fractions HPO\*, TPH\* et HPI\* du lixiviat de Crézin ayant séjourné 8 jours dans une cuve à l'air.

	HPO*	TPH*	HPI*
Lixiviat de Crézin séjourné 8 jours dans une cuve à l'air	6%	25%	69%
Lixiviat de Crézin	7%	20%	73%

*(Incertitude sur les pourcentages à +/- 2%)*

Les résultats montrent une légère diminution de la fraction HPI\* suite à l'activité bactérienne. Néanmoins, la variation n'est pas aussi significative que dans le cas du carbone (tableau I-10) ce qui est en adéquation avec une utilisation directe moins importante de l'azote par la biomasse (Pelmont, 1993). En revanche, on peut aussi supposer que des microorganismes utilisent cette réserve d'azote hydrophile pour leur survie et/ou leur multiplication et que la mort et/ou la dégradation d'autres microorganismes la régénère ou encore que l'azote des fractions hydrophiles est réfractaire pour la biomasse. En effet, Kaushal & Lewis (2003) supposent que la différence de distribution du carbone et de l'azote au sein des fractions de MO pourrait être trouver un explication dans une différence de réactivité.

#### V.4. Fractionnement de l'oxydabilité de la matière organique

Pour tenter de comprendre cette différence entre le carbone et l'azote, nous avons cherché une réponse dans la réactivité des fractions. Le fractionnement de l'oxydabilité chimique de la MO a été réalisé par la mesure de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) de chacune des fractions.

La figure I-25 rapporte les fractionnements de la DCO du lixiviat de Crézin et des milieux naturels de comparaison.

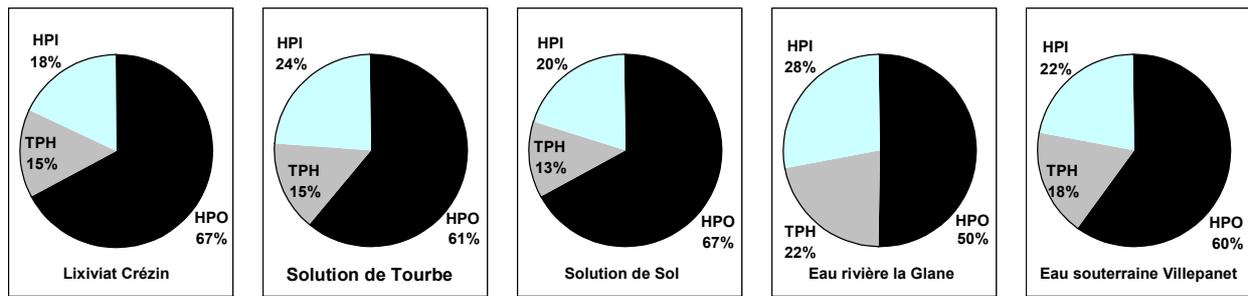


Figure I-25 : Répartition de la Demande Chimique en Oxygène du lixiviat de Crézin, de la solution de tourbe, de la solution de sol de Crézin, de l'eau de surface la Glane et de l'eau souterraine de Villepanet par le protocole de Malcom & Mac Carthy (1992) (L'incertitude sur les pourcentages est de +/- 3%).

Les résultats du fractionnement de la DCO mettent en évidence des similitudes avec les fractionnements du COD plutôt qu'avec ceux de l'AOD. La fraction HPO ou HPO\*, la plus riche en carbone et la moins riche en azote, apparaît la plus réactive à une oxydation chimique alors que la fraction HPI ou HPI\*, pauvre en carbone mais riche en azote, répond moins bien à cette oxydation. Aussi, on peut supposer que l'oxydabilité chimique de la matière organique est directement reliée à la présence de carbone organique, le carbone se situant alors dans des structures oxydables. Néanmoins, la mesure du COD étant elle même basée sur une oxydation, cette remarque est à modérer puisque rien n'indique que tout le carbone est oxydable et donc entièrement dosé.

L'oxydabilité chimique ne semble en revanche pas du tout corrélée avec la présence d'azote organique. Pour l'ensemble des milieux naturels, la faible proportion d'azote organique par rapport au carbone organique explique probablement cette faible influence de l'azote sur la DCO. En effet, la solution de sol présente un  $C_{organique} / N_{organique}$  de 20, la solution de tourbe de 35, l'eau de la Glane de 14 et l'eau souterraine de 10. En revanche, dans le lixiviat de Crézin la composante azotée est d'une importance majeure puisque le  $C_{organique} / N_{organique}$  est de 1,1. On peut alors supposer que l'azote organique de ce milieu est localisé dans des structures relativement réfractaires ou inertes à l'oxydation, à savoir des structures complexes à oxyder ou déjà oxydées.

De tous les fractionnements celui du lixiviat semble montrer la plus grande similarité entre la répartition de son COD et de sa DCO alors que les fractionnements relatifs aux milieux naturels présentent des différences. Ainsi, la fraction HPO est systématiquement moins importante en DCO qu'en COD et inversement pour les fractions TPH et HPI. En moyenne, les milieux terrestres montrent un écart de 10% entre les répartitions en DCO et COD de leur fraction HPO alors que les eaux naturelles présentent une différence de 5%. Cette variation peut se traduire soit comme une moins bonne oxydabilité de la fraction HPO soit comme une meilleure oxydabilité des fractions TPH et HPI.

Dans l'environnement, l'oxydation est un processus clé de la minéralisation des matières organiques par les micro-organismes. Aussi, nous avons posé comme hypothèse de travail que si des composés organiques peuvent être oxydés chimiquement ils peuvent éventuellement être oxydés par des enzymes bactériennes et réciproquement. Par opposition, si des composés s'avèrent réfractaires à l'oxydation chimique ils peuvent être aussi réfractaires à l'oxydation par des enzymes bactériennes, donc peu biodégradables, et réciproquement.

Les fractions HPO, supposées d'origine allochtone, sont censées regrouper des composés simples et des composés lignocellulosiques plus difficilement biodégradables. Généralement, la décomposition des structures complexes par oxydation (Tuomela, 2002) est une réaction limitante mais réalisable. De ce fait, on peut supposer que les composés lignocellulosiques sont en partie pris en compte lors de l'oxydation par les mesures de DCO et de COD. En revanche, l'oxydation chimique des composés carbonés simples est assez difficile mais il n'y

a pas de raison pour que l'un ou l'autre des dosages les détecte mieux. Aussi, la différence de répartition entre les milieux terrestres et les milieux aquatiques pourrait être plus le fait d'une différence de réactivité des fractions HPI et TPH.

Les fractions TPH et HPI correspondent à une MO autochtone d'origine bactérienne riche en azote. Or selon Ogawa *et al.* (2001), les microorganismes engendrent de la MO difficilement réutilisable par une biomasse, vraisemblablement à cause de matières azotées réfractaires. En effet de l'azote réfractaire peut être un produit final de la minéralisation ou d'oxydation de la MO (Burdige & Gardner, 1998) mais aussi un produit de la condensation abiotique lors de l'humification (Hedges, 1988). Par conséquent, la faible oxydabilité des fractions HPI et TPH pourrait être attribuée à la présence d'azote réfractaire qui serait plus présent dans les milieux à forte contribution indigène comme les milieux aquatiques. Dans les milieux naturels, une proportion variable de l'azote organique est biologiquement labile (Wiegner & Seitzinger, 2001). Ainsi Seitzinger *et al.* (2002) observent que 0 à 73% de l'AOD des lessivats de sols forestiers est biodisponible et Stepanauskas *et al.* (2000) que 20 à 55% de l'AOD de ruisseaux est utilisable par la faune hétérotrophe. Généralement les composés lessivés de l'humus des sols sont en cours de dégradation et donc encore potentiellement dégradables alors que la MO aquagénique très dégradée est plus récalcitrante (Buffle *et al.*, 1998). De ce fait, l'écart de 10% entre les fractionnements en DCO et COD des milieux terrestres serait dû à des fractions HPI et TPH moins dégradées et par conséquent encore oxydables et biodégradables alors que l'écart plus faible (5%) pour les milieux aquatiques traduirait une MO plus dégradée, constituée soit de structures simples déjà oxydées ou difficiles à dégrader soit de résidus organiques complexes à oxyder.

Dans les décharges en post-exploitation, la MO n'étant pas renouvelée par l'apport de déchets, les composés retrouvés dans un lixiviat âgé et stabilisé sont par conséquent issus de plusieurs années de décomposition. La matière organique labile disparaissant au cours du temps, la biomasse se trouve alors confrontée à des composés de plus en plus récalcitrants. Or la quasi similitude de répartition de la DCO et du COD du lixiviat traduit une bonne oxydabilité de la matière carbonée et au contraire une matière azotée très réfractaire. Le bilan global de l'azote d'un site permet difficilement d'imaginer que l'azote lessivé encore après plusieurs décennies provient exclusivement de composés réfractaires présents initialement dans les déchets ménagers. On peut supposer que l'absence de renouvellement de matière organique fraîche et l'intense activité bactérienne ont conduit à une réutilisation des matières disponibles. Ainsi, il y aurait un cycle de l'azote interne à la décharge et associé à la biomasse bactérienne qui conduirait à la genèse d'azote réfractaire suite à des phénomènes de lyses et recroissances successives au sein des dépôts. Mais même si l'existence d'azote réfractaire est reconnue, assez peu d'informations expliquent sa composition et les mécanismes responsables de cette résistance. Ogawa *et al.*, 2001 suggèrent que les processus microbiens modifient la structure moléculaire des composés et les rendent résistants à la dégradation. Certains travaux expliquent que des fragments de protéines peuvent se préserver des microorganismes par des mécanismes d'encapsulation au sein de matrices aliphatiques (Zang *et al.*, 2000 ; Riboulleau *et al.*, 2002).

## VI. Conclusion

En conclusion, la mise en place du fractionnement de la matière organique a permis de mettre en évidence que le lixiviat de Crézin se trouvait au tout début de sa phase d'humification puisque le rapport de ses Substances de type Humique (AH\*/AF\*) tend vers de faibles valeurs. La comparaison avec divers milieux naturels terrestres et aquatiques a montré de fortes similitudes entre la répartition de la MO du lixiviat et d'une eau souterraine. Une

composition probablement différente entre ces deux matrices organiques laisse penser que les similitudes découlent des processus intrinsèques à ces milieux : milieux aquatiques anaérobies sans apport de MO fraîche.

Selon le protocole de Malcolm & Mac Carthy (1992), la MO carbonée du lixiviat apparaît dominée par la fraction HPO\* attribuable à un apport allochtone (résidus végétaux et déchets anthropiques à base végétale) associée à une contribution d'origine indigène (activité bactérienne) par les fractions HPI\* et TPH\*.

Le fractionnement de la MO azotée met en évidence une distribution différente entre l'azote organique et le carbone organique. La MO azotée se distribue principalement dans la fraction HPI\* associée à la dynamique bactérienne de la décharge, néanmoins il n'est pas possible de savoir si la contribution bactérienne à cette fraction est le résultat d'une activité métabolique ou de la mort de certaines populations.

La mise en place du fractionnement de l'oxydabilité (DCO) de la MO met en évidence des similitudes avec les fractionnements du COD plutôt qu'avec ceux de l'AOD. La fraction HPO ou HPO\*, la plus riche en carbone et la moins riche en azote, apparaît la plus réactive à une oxydation chimique alors que la fraction HPI ou HPI\*, pauvre en carbone mais riche en azote, répond moins bien à cette oxydation. Aussi, on peut supposer que l'oxydabilité chimique de la matière organique est directement liée à la distribution du carbone organique, le carbone se situant alors vraisemblablement dans des structures oxydables d'origine allochtone alors que l'azote organique serait localisé dans des structures relativement réfractaires ou inertes à l'oxydation, à savoir des structures complexes à oxyder ou déjà oxydées d'origine bactérienne.

Ainsi les caractéristiques actuelles de la MO du lixiviat de Crézin trouverait une explication dans une matière organique moins fraîche et moins renouvelée que l'humus des sols et présentant des constituants probablement très altérés, de petites tailles (potentiellement plus hydrophiles). L'intense activité bactérienne induirait aussi un cycle de l'azote interne à la décharge conduisant à la genèse d'azote réfractaire suite à des phénomènes de lyses et recroissances successives au sein d'une décharge confinée.

Néanmoins, de part les différences observées avec la distributions des SH\* lors de précédentes études sur le site de Crézin, il est pensable que certains artefacts (mise en place de la couverture, modification du prélèvement) biaisent l'interprétation.

---

## ***Deuxième Partie***

---

## **Deuxième partie :**

# **CARACTÉRISATION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE**

## **APPLICATION AU LIXIVIAT STABILISÉ DE CRÉZIN**

La Matière Organique (MO) constitue une matrice particulièrement délicate à étudier mais surtout à identifier. Les procédures de caractérisation par fractionnement chimique (selon la polarité) et physique (selon la taille) montrent des limites tant son hétérogénéité et sa complexité sont importantes. Pourtant, une caractérisation précise est nécessaire pour essayer de comprendre ses origines, les mécanismes de sa genèse ainsi que pour déterminer ses différents rôles environnementaux au sein d'écosystèmes naturels ou artificiels. Plus précisément, une meilleure connaissance de sa structure et de ses fonctions chimiques contribue à améliorer les connaissances des processus de minéralisation, d'humification ainsi que de la biodisponibilité et de la capacité de mobilisation ou d'immobilisation des polluants organiques et des métaux par cette matrice. C'est pourquoi, afin d'obtenir une caractérisation élémentaire, structurale et fonctionnelle la plus complète possible, la caractérisation de la matière organique repose sur la combinaison de plusieurs techniques analytiques permettant d'identifier les composés simples et les Substances Humiques. Cependant, l'hétérogénéité et la diversité des constituants rendent très difficiles et très chères l'utilisation d'une d'approche par des analyses multiples.

Aussi, dans l'objectif d'accéder à la composition de la matière organique du lixiviat, nous avons choisi d'utiliser une technique apportant directement une identification de niveau structural : la pyrolyse associée à une chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse (Py/CG/SM). Cependant pour essayer de caractériser au mieux l'ensemble de la matrice organique, la MO a été préalablement fractionnée selon les protocoles décrits à la **1<sup>ère</sup> Partie** (paragraphe V.1). Différentes fractions ont alors été séparées et extraites par précipitation à pH acide et par rétention sur résines XAD puis lyophilisées et analysées individuellement. Les éléments les plus hydrophiles (non retenus sur les résines) s'avérant difficiles à extraire et à préparer pour une analyse par Py/CG/SM, une procédure simple de fixation sur argile hydrophile a été développée lors de cette étude. Cette procédure permettant de récupérer les composés hydrophiles tout en les conditionnant pour l'analyse. L'étude des fractions facilement extractibles et de la MO hydrophile fixée sur argile conduisant alors à une caractérisation quasi intégrale de la matrice organique.

### **I. Caractérisation de la Matière organique**

De manière générale, l'ensemble des composés formant la matière organique se caractérise par les mêmes outils analytiques qu'une molécule organique unique. En revanche, si la caractérisation d'un composé organique permet de déterminer avec succès sa structure, pour la MO les outils d'analyse permettent essentiellement d'accéder à des informations globales sur la structure mais sans la définir réellement. La diversité des constituants de la matrice organique demeure systématiquement un obstacle à l'obtention d'informations claires et précises. Néanmoins, l'utilisation de plusieurs techniques et par conséquent de plusieurs informations permet tout de même d'élaborer des modèles structuraux. Bien que leur représentativité de la structure originale soit difficilement estimable, ces modèles offrent une vision concrète des différentes fonctions chimiques et de leurs agencements.

L'objectif de ce travail n'étant pas de proposer une structure de la MO contenue dans le lixiviat mais d'obtenir des informations sur les origines et la formation de cette MO, la Py/CG/SM a été employée pour définir et identifier un maximum de fragments de la matrice caractéristiques d'une origine. Les essais ont été uniquement menés sur la MO issue du lixiviat de Crézin puis interprétés à partir des données concernant les milieux naturels.

La Py/CG/SM n'étant pas la seule technique à pouvoir apporter des informations pertinentes sur la structure des molécules, les principales techniques couramment employées dans la caractérisation de la MO, bien qu'elles n'aient pas fait l'objet de cette étude, seront présentées succinctement.

### I.1. Méthodes de caractérisation

La caractérisation avancée de la MO consiste en la détermination d'informations sur la structure, les fonctions, la taille des éléments qui la composent. Pour ce faire, de nombreuses techniques de caractérisation sont disponibles et peuvent être regroupées en quatre catégories :

- Les techniques spectrophotométriques globales qui apportent des informations sur des éléments de structures mais qui ne permettent pas une caractérisation moléculaire précise des différents constituants. Les plus couramment utilisées sont l'absorbance UV-Visible qui permet de mesurer les chromophores aromatiques (Leenheer & Croué, 2003) et les techniques de fluorescence (spectrophotométrie d'émission, d'excitation et matrices d'Emission-Excitation Synchrones, EES) (Parlanti *et al.*, 2002) qui permettent de mettre en évidence des fluorophores de type humique et de type protéinique (Coble, 1996). D'autres techniques moins usuelles comme la phosphorescence (Lamotte *et al.*, 2000) et la photo induction chimique (Aguer & Richard, 2001) permettent également d'étudier des sites fonctionnels photosensibles. Enfin, l'électrophorèse capillaire permet d'obtenir une sorte « d'empreinte digitale » de la matière organique (Schmitt-Koplin *et al.*, 1999) et l'analyse de la composition isotopique naturelle renseigne sur l'origine (allochtone ou indigène) de la matière organique présente (Hiradate *et al.*, 2004).
- Les techniques de taille qui permettent de déterminer les poids moléculaires moyens et les profils de distribution des masses moléculaires de la MO. On distingue celles basées sur l'utilisation de membranes de différents seuils de coupures comme la dialyse, l'Ultra Filtration (UF) (Lagier, 2000) et celles utilisant l'exclusion stérique comme la chromatographie d'exclusion de taille (Size Exclusion Chromatographie, SEC) (Hesse & Frimmel, 1999). D'autres emploient des principes différents comme le Fractionnement par couplage Flux-Force (Field-Flow Fractionation, FFF) qui utilise un champ de force (Martin, 1998 ; Gimbert *et al.*, 2003) et la dispersion des rayons X aux petits angles (Small Angle X-ray Scattering, SAXS) qui se sert des propriétés des rayonnements (Thurman, 1985). Ces méthodes de caractérisation par la taille sont cependant très dépendantes de l'état d'agrégation de la MO et de ses interactions avec le milieu utilisé pour la séparation (Leenheer & Croué, 2003).
- Les techniques qui renseignent précisément sur les fonctions organiques présentes comme la spectroscopie Infra Rouge à Transformée de Fourier (IRTF) qui indique les différents groupements structuraux ( $\text{CH}_3$  et  $\text{CH}_2$ ) et fonctionnels (O-H, C=O, COOH, NH...) ainsi que la présence d'espèces minérales, la spectroscopie photo-électronique à rayons X (X-ray Photoelectron Spectroscopy, XPS) qui permet de déterminer la nature des liaisons chimiques (Mercier *et al.*, 2002) et les différentes techniques de spectrométrie de Résonance Magnétique Nucléaire qui donne la distribution des groupes fonctionnels carbonés (RMN  $^{13}\text{C}$ ) (C-C, C-H, C-O...), mais aussi d'autres éléments (RMN  $^{15}\text{N}$ ). A ces analyses viennent s'ajouter l'étude potentiométrique qui permet le dosage spécifique des fonctions chimiques carboxyliques (-

COOH) et phénoliques (-OH), et l'analyse élémentaire qui indique les teneurs atomiques en divers éléments (C,H,O,N,S).

- Les techniques d'analyses spécifiques qui permettent d'identifier des composés simples naturels ou non comme les différents procédés de Chromatographie en phase Gazeuse (CG) et de Chromatographie en phase Liquide (CL) pour lesquelles des étapes préalables d'hydrolyse et/ou l'ajout d'un dérivant à l'échantillon sont parfois nécessaires. Généralement ces analyses sont optimisées pour la détection d'une seule famille de composés à la fois et doivent être multipliées pour une analyse complète d'un échantillon. Parmi divers détecteurs employés, la détection par UV peut servir au dosage des composés à caractère aromatique, celle par fluorimétrie au dosage des acides aminés mais aussi d'Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques alors que la détection par ampérométrie pulsée sert au dosage des sucres. Plusieurs procédures sont parfois disponibles pour des mêmes composés, ainsi les Acides Gras Volatils peuvent être dosés avec un détecteur à ionisation de flamme en CG et par un détecteur conductimétrique en CL. Certains détecteurs permettent même une identification précise des composés comme la détection UV à barrette de diode qui reconnaît le spectre d'absorbance des composés et la détection par Spectrométrie de Masse où chaque pic chromatographique donne lieu à un spectre de masse caractéristique de la structure d'un composé. Ces techniques bien adaptées au dosage des composés simples sont en revanche trop précises pour la caractérisation des substances humiques. Néanmoins, afin de bénéficier des informations qu'elles peuvent apporter, des techniques dérivées ont été mises en place. Par exemple, le seul couplage CG-SM ne permettant pas d'analyser des molécules trop complexes, une fragmentation en molécules plus simples par pyrolyse a été alors proposée afin de pouvoir identifier les fragments structuraux des substances humiques (chaînes aliphatiques, dérivés ligno-cellulosiques, noyaux aromatiques, composés oxygénés, soufrés, azotés).

Ainsi par application et recoupement de plusieurs de ces techniques, il est possible d'accéder à de nombreuses informations. Mais, même si la connaissance rigoureuse de ce qui compose la matière organique est l'idéale, l'obtention d'une telle information est pratiquement impossible. Les moyens à mettre en œuvre apparaissant démesurés pour un seul échantillon alors que la diversité du milieu naturel impose de multiplier les analyses pour une meilleure représentativité. De plus, Leenheer & Croué (2003) mettent en évidence que l'acquisition d'informations de plus en plus précises se fait au détriment du pourcentage de caractérisation et nécessite un temps considérable en parallèle d'un coût financier de plus en plus élevé. Aussi, le choix des méthodes à employer devant être motivé par le type, le niveau d'information souhaité et les possibilités, nous avons choisi pour identifier la MO et comprendre sa genèse, de définir les fragments la composant par pyrolyse couplée à un système CG/SM (Py/CG/SM). En outre, Lagier (2000) ayant déjà réalisé plusieurs des autres techniques de caractérisation (absorbance UV-visible, spectrofluorescence, UF, IRTF, RMN <sup>13</sup>C, dosage des fonctions -COOH et -OH, analyse élémentaire) sur des Acides de type Humique (AH\*) et des Acides de type Fulvique (AF\*) extraits du lixiviat de Crézin, de nombreuses données sont déjà disponibles et peuvent être utilisées en complément aux informations apportées par ce travail.

## **I.2. Pyrolyse CG/SM de la Matière Organique**

La pyrolyse CG/SM est un outil analytique puissant donnant des informations structurales d'un niveau moléculaire. Son application à l'étude de la Matière Organique naturelle a d'ailleurs servi à l'élaboration de nombreux modèles structuraux de substances humiques (Schulten, 1995 ; Schulten & Leinweber, 1996). Mais la technique permet avant tout d'obtenir des composés et des fragments dont l'origine aide à comprendre la genèse de la matière

organique. Cependant comme de nombreuses techniques analytiques, la pyrolyse CG/SM est sujette à des interférences. Aussi la pyrolyse CG/SM avec Tétra Méthyles Ammonium Hydroxyde (TMAH) a été développée pour pallier à ces problèmes et élargir le nombre de composés identifiables. La prédérivation de l'échantillon au TMAH permet d'hydrolyser et de méthyler les liaisons esters et certaines liaisons éthers tout en dépolymérisant. De plus, la méthylation forme des produits moins polaires, plus volatils facilitant l'analyse chromatographique en phase gazeuse. Saiz-Jimenez (1994) a ainsi mis en évidence que l'abondance relative des produits libérés lors de la pyrolyse avec TMAH peut être jusqu'à 15 fois plus importante pour des substances humiques. En effet lors de la pyrolyse conventionnelle, des phénomènes de décarboxylation peuvent limiter la détection des acides gras et d'autres composés de la MO (del Rio *et al.*, 1998). Par conséquent, l'utilisation du TMAH a connu un réel essor pour la caractérisation de la lignine (Hatcher & Minard, 1996), des substances humiques (Martin *et al.*, 1994 ; Martin *et al.*, 1995; Chefetz *et al.*, 2002), des hydrates de carbone (Fabbri & Helleur, 1999) et des lipides (Challinor, 1996 ; Ishida *et al.*, 1999).

Aussi, la pyrolyse CG/SM avec TMAH a été choisie pour caractériser la matière organique extraite du lixiviat de Crézin. Les analyses ont fait l'objet d'une collaboration avec le laboratoire de Synthèse et Réactivité des Substances Naturelles (UMR 6514) de l'université de Poitiers.

## **II. Extraction de la Matière Organique**

De manière générale, la plupart des techniques de caractérisation demande des opérations préalables avant l'analyse de la MO. Elles requièrent souvent de travailler sur des échantillons suffisamment concentrés et purifiés. L'extraction trouve alors un intérêt indéniable pour ces travaux à caractère plus fondamental nécessitant un contrôle rigoureux des conditions expérimentales. L'extraction, qui sous entend la séparation de la phase organique de la phase aqueuse contenant les espèces minérales, s'avère même indispensable à de nombreux outils de caractérisation pour limiter les interférences lors de l'étude structurale des MO. En Pyrolyse, les interférences minérales sont peu importantes (Leenheer & Croué, 2003), en revanche la multiplicité des composés engendre une interférence de matrice. L'extraction doit par conséquent séparer les différents composés organiques pour simplifier la matrice de travail et éventuellement limiter les espèces minérales. Les procédures de fractionnement par les résines non ioniques XAD (développées à la **1<sup>ère</sup> Partie** paragraphe V), ont présenté à ce stade l'avantage d'extraire et de concentrer tout en scindant la MO. Néanmoins leur utilisation en préambule d'une caractérisation par pyrolyse a conduit à distinguer deux catégories de matière organique :

- les fractions extractibles pouvant être ensuite lyophilisées afin d'obtenir des poudres directement analysables en pyrolyse,
- la fraction non extractible sur résine demeurant toujours dans la phase aqueuse et pour laquelle une autre extraction est à réaliser avant sa pyrolyse.

### **II.1. La matière organique extractible et lyophilisable**

La matière organique extractible, constituée des fractions précipitées à pH acide et/ou basique et des fractions retenues sur résines XAD, ne pose généralement pas de problème de conditionnement pour être analysée. Lors de cette étude, sa récupération a été réalisée par application des protocoles de fractionnement (Thurman & Malcolm, 1981 ; Malcolm & Mac Carthy, 1992) via des colonnes manufacturées en acier inoxydable (diamètre : 2,5cm et longueur : 14cm). Une purification des MO retenues sur résines a été effectuée par rinçages successifs des résines avec des solutions d'acide formique à pH 2 jusqu'à l'absence d'ions

chlorure par un test à  $\text{AgNO}_3$  afin de valider l'élimination de tous résidus d'échantillon. L'acide formique a été préféré à l'eau ultra pure pour sa force éluante plus faible (Violleau, 1999). Les fractions ont ensuite été extraites avec le mélange acétonitrile/eau (75%/25%), puis évaporées sous vide réduit à l'aide d'un évaporateur rotatif Rotavap (Heidolph, Allemagne) pour enlever les résidus d'acide formique et l'acétonitrile. Enfin, le résiduel a été lyophilisé à l'aide d'un lyophilisateur Heto Drywinner 6-85-1 (Heto-Holten, Danemark). La matière organique précipitée à pH acide avant passage sur résines (AH\*) a été également purifiée par lavage dans l'acide formique et évaporation sous vide réduit, puis lyophilisée de la même façon.

## II.2. La matière organique hydrophile

La MO hydrophile est en revanche beaucoup plus problématique à conditionner, et le manque de connaissances à son sujet provient très certainement des difficultés rencontrées pour la séparer de la phase minérale. En effet, bien que la multiplication d'adsorbants ait permis d'extraire de plus en plus de composés, une ultime fraction de MO reste toujours soluble dans la matrice aqueuse au sein des sels initiaux et de tous les sels introduits au cours des étapes préalables d'extraction. La présence de tous ces sels pouvant générer des interférences pour de nombreuses techniques de caractérisation, de nombreuses études ont par conséquent ignoré la MO hydrophile ou se sont seulement intéressées à ses fractions extractibles. En fait, peu d'études ont développé et mis en place des protocoles permettant d'extraire et/ou de purifier cette fraction.

Wershaw *et al.* (1996) proposent un protocole de dessalement des composés non retenus sur une résine XAD. L'échantillon est préalablement concentré par évaporation rotative sous vide réduit jusqu'à précipitation des sels par sursaturation. Après neutralisation de l'excès d'HCl par NaOH, de l'acide acétique cristallisable pur est ajouté à l'échantillon restant volume pour volume puis évaporé sous vide réduit (Aiken & Leenheer, 1993). Cette étape dite de «distillation zéotropique» est basée sur la plus grande solubilité des acides organiques dans l'acide acétique au contraire des sels. Les sels précipités sont éliminés par centrifugation et le surnageant est évaporé à sec. Le produit sec est redissous dans un mélange d'eau et d'acétonitrile à pH acide et les sulfates sont alors précipités par addition d'une solution saturée de  $\text{BaCl}_2$ . Le surnageant est ensuite percolé sur une résine cationique pour éliminer les ions  $\text{Ba}^{2+}$  résiduels et évaporé à sec. Le nouveau résidu est alors repris dans un mélange eau/acétonitrile et filtré pour éliminer la silice. Enfin l'acétonitrile est évaporé et la solution lyophilisée.

Leenheer propose également une procédure similaire mais associant l'extraction et le fractionnement à la purification des matières organiques les plus hydrophiles afin de permettre leur caractérisation (Labouyrie-Rouillier, 1997). Suivant ce protocole, la matière organique non retenue après passage sur résines XAD 8 et XAD 4 montées en série est tout d'abord concentrée par évaporation rotative, acidifiée à pH 1 et percolée sur une autre colonne de résine XAD 4 avec un facteur de capacité réduit à  $k'=5$ . La fraction précipitant à pH 1 est dénommée «acides humiques ultrahydrophiles». La MO adsorbée sur la résine XAD 4 est désorbée classiquement par un mélange acétonitrile/eau puis fractionnée et purifiée à l'aide de plusieurs résines cationiques et anioniques (Leenheer, 1981) en fractions «hydrophiles acide, neutre et basique». La MO hydrophile non adsorbée sur XAD 4, définie «d'ultrahydrophile», est à son tour fractionnée et purifiée par distillation zéotropique (Aiken & Leenheer, 1993).

Au vue de la complexité de ces protocoles et sans remettre en cause leur efficacité, nous avons cherché à nous en affranchir. En outre, l'un des avantages majeurs à l'utilisation de la pyrolyse CG/SM étant de ne pas être interférée par les espèces minérales, les procédures de conditionnement se contentent de concentrer l'échantillon soit par évaporation soit par

osmose inverse, puis de le lyophiliser (Leenheer & Croué, 2003). Néanmoins, ces procédures s'appliquent surtout sur des échantillons naturels comme des eaux de surface, 40 fois moins concentrées en sels qu'un lixiviat stabilisé comme celui de Crézin. Par conséquent on peut supposer que la concentration/lyophilisation d'un échantillon de lixiviat conduise à un résidu de très faible teneur en MO mais très riche en sels. Ces sels pouvant alors éventuellement altérer la matrice organique par modification de son environnement (force ionique, pH). De plus, l'étape de concentration nécessite de grands volumes d'échantillon et ne garantit pas l'absence de pertes de composés organiques puisque Labouyrie-Rouillier (1997) estime que des composés hydrophiles sont piégés sur les membranes d'osmose inverse.

Aussi, nous avons cherché une procédure permettant d'extraire simplement la matrice organique des sels tout en la déposant sur un support solide pour l'analyse par pyrolyse. C'est pourquoi, nous avons essayé de développer un outil permettant d'analyser la MO hydrophile de milieux très riches en sel par Py/CG/SM.

### II.2.1 Développement d'un outil pour l'analyse de la MO hydrophile

Afin de développer une telle procédure, nous avons tout d'abord défini un cahier des charges. Les différentes contraintes requises par ce cahier des charges sont rassemblées tableau II-1.

Tableau II-1 : Contraintes requises au développement d'une procédure pour analyser la MO hydrophile par pyrolyse/CG/SM.

CONTRAINTES			
Scientifiques	Analytiques	Opératoires	Financières
*Analyser toute la MO hydrophile si possible sans l'altérer	*Extraire de la phase aqueuse *Obtenir un échantillon solide	*Efficace *Simple *Rapide	*Peu chère

L'idéal est de satisfaire l'ensemble des points mais les contraintes scientifiques et analytiques demeurent primordiales puisqu'elles définissent respectivement l'objectif final et les moyens imposés par la pyrolyse. Aussi, afin de répondre à ces contraintes tout en intégrant au mieux des critères opératoires et financiers, nous avons décidé d'essayer de déposer la MO sur un support solide directement analysable en pyrolyse. Les supports organiques allant vraisemblablement donner une réponse en pyrolyse, nous nous sommes naturellement orientés vers des supports minéraux et plus particulièrement les argiles minéralogiques.

#### II.2.1.1 Les argiles minéralogiques

Les argiles minéralogiques ou phyllosilicates dominent la fraction argileuse des sols (Sposito, 1989). Ce sont des composés à structure cristalline qui sont formés à partir d'une superposition de couches élémentaires : les couches tétraédriques et octaédriques. Les couches tétraédriques sont constituées par l'agencement dans un plan de tétraèdres de  $\text{SiO}_4^{4-}$  dont l'atome de Si est au centre. Les couches octaédriques sont composées d'octaèdres centrés sur des atomes d'Al (couche di-octaédrique) ou sur des atomes de Mg (couche tri-octaédrique).

Les couches tétraédriques et octaédriques peuvent s'associer de deux façons pour former des feuillets. Dans les minéraux de type 1:1 (kaolinite, halloysite), un feuillet est composé d'une couche tétraédrique superposée à une couche octaédrique. Pour les minéraux de type 2:1 (smectite (montmorillonite), vermiculite, illite), le feuillet est composé d'une couche octaédrique placée entre deux couches tétraédriques.

La composition chimique de base des phyllosilicates est la suivante (Bouras, 2003) :

pour les minéraux 1:1 :  $[\text{Si}_4]\text{Al}_4\text{O}_{10}(\text{OH})_8$

pour les minéraux 2:1 (dioctaédrique):  $[\text{Si}_8]\text{Al}_4\text{O}_{20}(\text{OH})_4$

pour les minéraux 2:1 (trioctaédrique):  $[\text{Si}_8]\text{Mg}_6\text{O}_{20}(\text{OH})_4$

Les structures minéralogiques définies ci-dessus sont électriquement neutres car la charge des ions  $\text{Si}^{4+}$  ou  $\text{Al}^{3+}$  est compensée soit par des atomes d'oxygène, soit par des ions hydroxyle. En réalité chez les phyllosilicates cette neutralité n'existe que pour des minéraux 1:1 de type kaolinite car il existe de nombreux mécanismes pouvant créer des charges au sein de la structure :

- Substitution isomorphique : ce phénomène résulte d'échanges entre les atomes des couches. Les atomes d'Al(III) peuvent remplacer les atomes de Si(IV) dans les tétraèdres et les atomes de Mg(II) et de Fe(II) peuvent remplacer l'Al(III) dans les octaèdres. Chaque substitution engendre une charge négative à la surface des feuillets. La charge créée par substitution isomorphique est alors compensée par des cations situés entre les feuillets ou dans les cavités hexagonales. La valeur de cette charge et sa répartition entre les couches tétraédriques et octaédriques permettent de différencier les phyllosilicates de type 2:1. De plus, selon que la substitution se fait dans la couche octaédrique ou tétraédrique des minéraux 2:1, il en résultera une répartition différente de la charge à la surface des feuillets, ce qui influencera la stabilité des tactoïdes (propriétés de gonflement) et les propriétés d'adsorption. La charge créée par substitution isomorphique est permanente et n'est pas influencée par les propriétés du milieu (pH, force ionique). La substitution isomorphique est très fréquente pour les minéraux 2:1 comme la montmorillonite, en revanche elle est très peu marquée chez la kaolinite (1:1).
- Rupture de liaisons : Les feuillets des phyllosilicates sont continus en deux directions. Au bord des feuillets, la charge portée par l'oxygène (ou les hydroxyles) et le silicium (ou l'Al) n'est pas entièrement compensée. Ces liaisons cassées attirent plus les ions du milieu ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}^+$ , cations...). Contrairement aux charges développées par les substitutions isomorphiques, les charges dues aux liaisons rompues dépendent du pH du milieu. La charge spécifique (charge par unité de poids) due aux liaisons rompues augmente également lorsque la taille des particules diminue.

Les argiles minéralogiques sont constituées de feuillets positionnés côte à côte se repoussant par les charges négatives des faces basales, comme le montre la figure II-1a. Les charges des faces externes sont généralement neutralisées par les contre-ions de la solution. Un excès de sels peut cependant permettre l'insertion dans l'espace interfoliaire de contre-ions et ainsi provoquer une neutralisation des charges négatives internes (figure II-1b). Ce phénomène diminuant la répulsion des feuillets entre eux tend à stabiliser l'ensemble en le rendant plus compact.

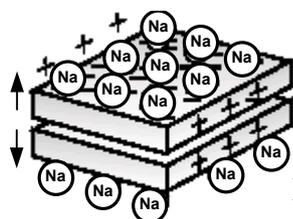


Figure II-1a

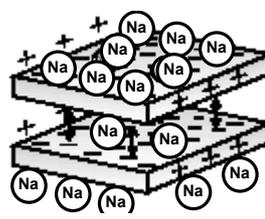


Figure II-1b

Figure II-1 : Structure en feuillet des argiles.

Parmi les divers minéraux existants, le choix des argiles pour fixer la matière organique a été motivé par plusieurs de leurs propriétés : capacités d'adsorption, d'hydratation et de catalyse.

### II.2.1.2 Intérêt des argiles

L'intérêt de l'utilisation des argiles dans l'analyse de la matière organique par pyrolyse résulte d'une part de leur aptitude à adsorber la MO et d'autre part de leur propriétés d'hydratation et de catalyse.

#### Adsorption

Dans la nature, les surfaces des particules minérales sont souvent recouvertes de MO et notamment de SH (Ait Akbour *et al.*, 2002). Selon Golchin *et al.* (1994), la MO associée est généralement à dominante aliphatique. Les composés fixés sur ces surfaces ont tendance à s'associer et à capter d'autres composés organiques ou minéraux pour former des agrégats (Maurice & Namjesnik-Dejanovic, 1999). Le complexe argilo-humique des sols illustre cette forme de stockage où les composés organiques sont adsorbés dessus et entre les feuillets d'argiles (Schulten *et al.*, 1996). En effet, la matière organique peut se lier aux argiles par l'intermédiaire de liaisons hydrogène ou forces de Van Der Waals. D'autre part, les anions silicates des argiles peuvent aussi se lier aux anions carboxylate de l'humus par l'intermédiaire d'espèces métalliques ( $Al^{3+}$ ,  $Ca^{2+}$ ,  $K^+$ ,  $Mg^{2+}$ ,  $Na^+$ ,  $Fe^{3+}$ ) (Morel, 1996). Dans les rivières, des interactions similaires existent également au niveau des sédiments en suspension qui favorisent l'adsorption et/ou la complexation des matières humiques principalement hydrophobes (Martin-Mousset *et al.*, 1997). Parallèlement, les argiles piègent aussi de nombreux polluants organiques, ce qui a conduit au développement de nouveaux adsorbants comme les argiles pontées, permettant une adsorption plus efficace des composés organiques comme les pesticides, les phénols et les chlorophénols (Pal & Vanjara, 2001 ; Bouras, 2003). Néanmoins, même sans modification, les argiles offrent une option attractive et peu chère pour fixer des composés et des contaminants organiques et/ou inorganiques (Lenoble, 2003). De ce fait, nous avons décidé d'extraire la MO de notre phase aqueuse par adsorption sur argile.

#### Hydratation

Généralement, l'intérêt porté aux argiles est lié à leur abondance dans la nature, l'importance des surfaces qu'elles développent, la présence des charges électriques sur leur surface mais surtout l'échangeabilité de leurs cations interfoliaires. Ces derniers, appelés aussi cations compensateurs, sont les principaux éléments responsables de l'hydratation, du gonflement, de la plasticité et de la thixotropie, et ils confèrent aux argiles des propriétés hydrophiles (Bouras, 2003). La MO se comportant comme un mélange de composés dotés de différentes capacités d'adsorption (Jekel, 1986), il est fort probable que certains composés soient peu ou pas adsorbés. Ce point dérogeant à la contrainte scientifique du cahier des charges, nous avons essayé de pallier à cette déficience par la capacité d'hydratation des argiles. En effet, l'argile humide contenant encore de l'échantillon et par conséquent les composés le constituant, nous avons décidé de sécher l'argile et donc par évaporation de l'eau de déposer dans et à sa surface l'ensemble des composés en solution en supposant que la grande sensibilité de la pyrolyse suffise à permettre leur détection.

#### Catalyse

Une autre propriété des argiles réside en leur pouvoir catalytique. Les applications catalytiques les plus communes, relatives à des argiles naturelles et/ou modifiées, se retrouvent dans le domaine de la chimie organique où ces composés montrent certaines dispositions comme l'utilisation en faible quantité (à la différence d' $AlCl_3$ ), la réutilisation simple, la facilité d'utilisation, des conditions expérimentales douces et des gains de rendement et/ou de sélectivité (Vaccari, 1999). La pyrolyse ayant pour but de fragmenter les molécules, l'aspect catalytique des argiles est également apparu intéressant puisque certaines servent de catalyseur lors de réactions d'élimination ou de rupture de structures (Fási *et al.*, 2004). Certains travaux rapportent même que l'hydrolyse de certains pesticides est favorisée

par catalyse hétérogène avec des montmorillonites (Wei *et al.*, 2001). De plus, les argiles peuvent également fixer (adsorption ou échange d'ion) des cations catalytiques de la phase aqueuse, dont certains sont présents dans les lixiviats ( $Zn^{2+}$ ,  $Cu^{2+}$ ,  $Fe^{3+}$ ... (Kjeldsen *et al.*, 2002)). Enfin, les argiles semblent intéressantes dans l'optique de techniques plus propres et donc plus respectueuses de l'environnement, utilisant un minimum de produits polluants.

Ces trois aspects majeurs apportés par les argiles ont principalement motivé leur choix. De plus, diverses études présentent la pyrolyse CG/MS de sédiments naturels (Page, 2003) ou de sols (White *et al.*, 2004) en tant qu'échantillon. Schulten *et al.* (1996) ont même réalisé la pyrolyse de MO présente à la surface et au sein de feuillets d'argiles extraites de sols. Par conséquent, l'application de cette technique sur nos argiles nous a semblé tout à fait réalisable. Cependant, comme aucune argile n'était naturellement présente dans notre échantillon, nous avons dû en choisir une et l'y introduire.

### II.2.1.3 Choix des argiles

Même si le milieu naturel abonde en différentes argiles, nous avons préféré nous limiter à celles le plus communément rencontrées dans la littérature scientifique et illustrant les trois grandes classes d'argile : l'illite, la kaolinite et la montmorillonite.

- La kaolinite ( $Si_4O_{10}[Al(OH)_2]_4$ ) est formée de l'empilement d'ions en couches tétratédrriques puis en couches octaédriques. Sa capacité d'échange d'ions est très faible de part une occupation totale des sites octaédriques ce qui limite également les possibilités de substitutions d'ions. Néanmoins, il reste une possibilité d'échange en sites tétraédriques entre  $Si^{4+}$  et  $Al^{3+}$ . Cette substitution provoque l'apparition d'un défaut de charge qui est rééquilibré par le logement d'un cation compensateur très fortement retenu.

- L'illite ( $KAl_2(AlSi_3O_{10})(OH)_2$ ) est constituée de trois couches : une couche tétraédrique, puis une couche octaédrique et une autre couche tétraédrique. Des substitutions sont possibles avec le remplacement d'ion  $Si^{4+}$  par  $Al^{3+}$ . Des cations  $K^+$  sont adsorbés dans l'espace interfoliaire afin de compenser le déséquilibre des charges.

- La montmorillonite ( $Si_4O_{10}(Al_{5/3}Mg_{1/3})Na_{1/3}(OH)_2$ ) est basée sur le même modèle que celui des illites, mais avec une moindre organisation dans l'empilement des feuillets : chaque feuillet étant tourné dans son plan par rapport au précédent. Ce désordre et la faible charge des feuillets facilitent leur écartement. Dans cet espace peuvent se loger des cations, de l'eau et des molécules organiques de diverses tailles, d'où une équidistance réticulaire variant de 10 à 17 Å. De plus cette structure confère à la montmorillonite une forte capacité d'échange par des substitutions en sites octaédriques où les ions  $Al^{3+}$  ou  $Mg^{2+}$  peuvent être échangés.

Le tableau II-2 rapporte la Capacité d'Echange Cationique (CEC), la Capacité d'Echange Anionique (CEA), la surface spécifique et la taille de l'espace interfoliaire relatifs à ces trois sortes d'argiles.

Tableau II-2 : Caractéristiques de l'illite, de la kaolinite et de la montmorillonite (Morel, 1996).

Argile	CEC (méq/100g)	CEA (méq/100g)	Surface spécifique (m <sup>2</sup> /g)	Espace interfoliaire (Å)
Kaolinite	3-15	1-3	15	7
Illite	10-40		175	10
Montmorillonite	30-150	10	800	10-17

Il apparaît que la montmorillonite possède à la fois une CEC importante, une grande capacité d'adsorption et d'hydratation alors que la kaolinite possède une petite surface spécifique et une faible capacité d'échange. L'illite constitue un intermédiaire entre ces deux types argiles. De ce fait nous avons choisi de travailler avec une montmorillonite en raison de ses meilleurs

potentiels d'adsorption et d'échange. La montmorillonite K10 (Fluka) a été choisie pour ses aptitudes à piéger naturellement ou après modification la MO (Jiang & Cooper, 2003 ; Jiang & Zeng, 2003) ainsi que pour ses multiples applications en catalyse (Fási *et al.*, 2004 ; Shrigadi *et al.*, 2003). Il s'agit d'une argile activée par traitement à l'acide chlorhydrique, mais sans imprégnation de cations catalyseurs ( $Zn^{2+}$ ,  $Al^{3+}$ ,  $Ti^{4+}$ ) (Vaccari, 1999). L'intérêt d'utiliser une argile acide ( $pH = 3,2$ ) réside dans le fait que l'échantillon contenant la matière organique hydrophile se trouve lui aussi à  $pH$  acide ( $pH = 2$ ) et que par conséquent leur mise en contact ne modifie pas leur conditionnement. En revanche, le traitement acide préalable à la fabrication de la K10 a très certainement modifié sa structure puisque selon le fabricant, la K10 possède une surface spécifique de  $240m^2/g$  et une CEC de  $30m\acute{e}q/100g$  alors qu'une montmorillonite naturelle présente une surface spécifique beaucoup plus élevée (tableau II-2).

#### II.2.1.4 Essais de fixation de la MO sur Montmorillonite – Validation des choix

La mise en place du protocole s'est effectué en essayant de privilégier la fixation de la matière organique sur l'argile plutôt que la fixation d'ions catalytiques. Aussi, le protocole a été découpé en trois phases : une phase d'adsorption, une phase de rétention et une phase de séchage.

##### Phase d'adsorption : suivi de l'adsorption sur l'argile

L'objectif de cette phase était d'adsorber la MO hydrophile sur l'argile K10 ce qui a nécessité d'optimiser le phénomène en déterminant les conditions les plus favorables (temps de contact,  $pH$ ). La mise en place de cinétiques d'adsorption a permis l'optimisation alors que des isothermes d'adsorption et des mesures de potentiel zéta ont permis d'appréhender le phénomène de sorption. L'ensemble des expériences a été réalisé à  $20^{\circ}C$  en réacteur discontinu sous un rapport argile/échantillon fixé à  $1g.L^{-1}$  et une agitation magnétique. Ce rapport a été choisi de manière à pouvoir récupérer suffisamment d'argile à pyrolyser même avec de faibles volumes d'échantillon.

- La cinétique d'adsorption a consisté à suivre la fixation de la matière organique au cours du temps. Des solutions de 100mL de matière organique hydrophile (fraction HPI\* issue du fractionnement du lixiviat de Crézin suivant le protocole de Malcolm & Mac Carthy, 1992 ;  $COD=20,9mg.L^{-1}$ ) ont été mises en contact avec des masses de 100mg d'argile puis prélevées à intervalle de temps défini. Les solutions ont ensuite été centrifugées et mesurées avec un analyseur de carbone organique dissous jusqu'à l'obtention de l'équilibre. La figure II-2 rapporte les pourcentages de matière organique hydrophile adsorbée au cours du temps pour différents  $pH$ .

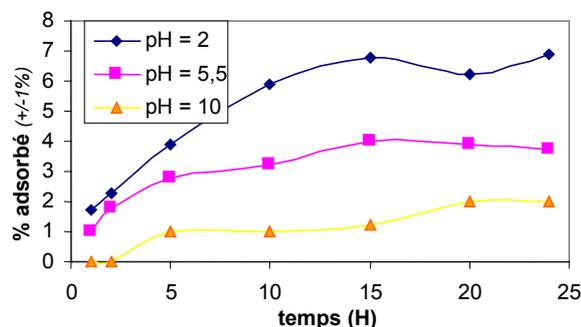


Figure II-2 : Cinétique d'adsorption de la matière organique hydrophile sur argile K10 à différents  $pH$ .

Ces cinétiques montrent que l'équilibre d'adsorption est atteint après 15 heures de temps de contact pour des solutions de matière organique hydrophile à  $pH$  2 ou 5,5 et après 20 heures lorsque la solution est à  $pH$  10. L'adsorption de la MO sur l'argile K10 semble par conséquent

un phénomène assez lent quel que soit le pH. De plus, les pourcentages d'adsorption s'avèrent faibles en raison du caractère très hydrophile de ces composés. Il semble cependant qu'un pH acide soit le plus propice à l'adsorption et permette jusqu'à 7% de rétention (à pH 2). Par conséquent, nous avons retenu un temps de contact de 17 heures et un pH de 2 comme paramètres à respecter pour permettre la meilleure adsorption.

Afin de tenter de comprendre les mécanismes d'adsorption de la matière organique hydrophile sur l'argile K10, des isothermes d'adsorption ont été également réalisées.

- Une isotherme d'adsorption a consisté à suivre la fixation de la matière organique à différentes concentrations initiales pour un même temps de contact. Des masses de 100mg d'argile ont été mises en contact 17 heures avec des solutions de 100mL de matière organique hydrophile à des concentrations en COD comprises entre 0 et 20,9mg C.L<sup>-1</sup>. Après élimination de l'argile par centrifugation, la concentration en matière organique hydrophile résiduelle (Cr) a été estimée afin de déduire la concentration en matière organique hydrophile adsorbée (Cad).

La figure II-3 représente la concentration en matière organique hydrophile adsorbée par gramme d'argile (Cad/m) en fonction de la concentration en matière organique hydrophile résiduelle (Cr). Ce type de tracé constitue la représentation « directe » d'une isotherme.

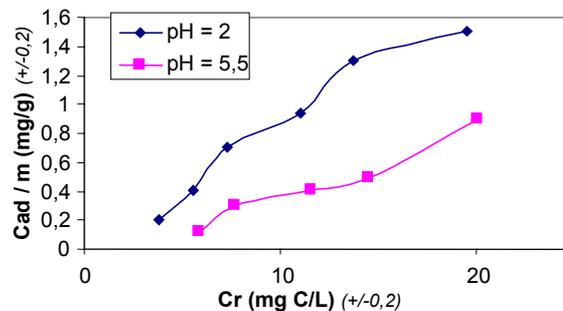


Figure II-3 : Isotherme d'adsorption de la matière organique hydrophile sur argile K10 en représentation directe.

L'allure des courbes d'adsorption met en évidence la nature très complexe des interactions entre argile et matière organique hydrophile. Aussi, de par la complexité d'un système présentant un adsorbant à plusieurs sites et de multiples solutés, aucune modélisation n'a été effectuée. Elfarissi & Pefferkorn (2000) considèrent que l'adsorption de matière organique sur une argile met en jeu différents sites réactionnels dont principalement les groupes aluminium ( $\delta^+$ ) des faces latérales pour de faibles concentrations et les groupes oxygènes (interaction hydrophobe) des faces basales pour de plus fortes concentrations en MO. Dans la gamme de concentrations étudiées, les faces latérales sont vraisemblablement impliquées tout comme les sites de l'espace interfoliaire en raison du choix d'une montmorillonite. En revanche, la quantité adsorbée apparaît très faible quelque soit la concentration introduite, est résulte très certainement du type de composés. Jiang & Zeng (2003) observent également une très faible adsorption du phénol sur de la K10. En fait, la MO hydrophile est théoriquement constituée de composés aux groupements essentiellement polaires qui limitent entre autre l'adsorption multi-couche par des interactions hydrophobes (Wershaw *et al.*, 1996). Ces mêmes auteurs rapportent que l'adsorption de la MO hydrophile sur de l'alumine est maximale aux plus faibles concentrations (4mg C.L<sup>-1</sup>). Au contraire, la figure II-3 montre une augmentation de la quantité retenue avec la concentration initiale bien qu'au delà de 15mg.L<sup>-1</sup> le phénomène semble progresser moins rapidement.

Les isothermes d'adsorption mettent également en évidence une meilleure adsorption à pH 2 qu'à pH 5,5 vraisemblablement imputable à un changement des charges de l'argile et de la

MO en fonction du pH. En effet, des mesures de potentiel zéta ( $\xi$ ) ont permis de constater la modification de cette charge en fonction du pH et de la force ionique.

• Les potentiels zéta ( $\xi$ ) ont été déterminés par un zétaphorémètre (Zéphy) à partir de mesures des mobilités électrophorétiques. La force ionique a été fixée par ajout de chlorure de sodium (NaCl, Prolabo). Les expérimentations ont été menées à 25°C sur des suspensions d'argile à 1g.L<sup>-1</sup> obtenues après 17H de contact avec la MO. La figure II-4 montre l'évolution du potentiel zéta de l'argile K10 en fonction du pH pour différentes forces ioniques.

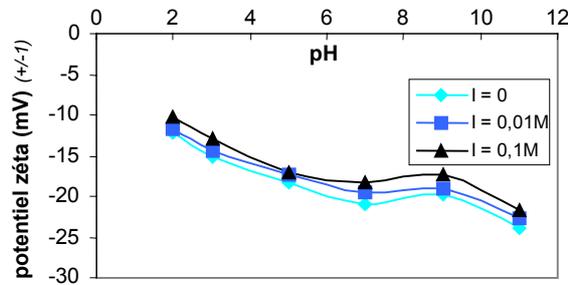


Figure II-4 : Evolution du potentiel zéta ( $\xi$ ) de l'argile K10 en fonction du pH pour différentes forces ioniques.

Il apparaît que l'argile acquiert une charge plus négative lorsque le pH augmente, hormis à un pH de 9 où le potentiel zéta ré-augmente légèrement. Cette évolution peut être reliée aux seules charges dépendantes du pH : les charges des faces latérales. Aux pH acides, les argiles possèdent des fonctions de surface protonées qui masquent une partie de la charge globale et augmentent très fortement la densité surfacique de charges positives de leurs faces latérales (Balard *et al.*, 1997). En revanche lorsque le pH augmente, il y a déprotonation des fonctions au profit d'une plus grande contribution des charges négatives.

Une augmentation de force ionique conduit à diminuer le potentiel zéta vraisemblablement par des phénomènes de compression de la double couche et de neutralisation des charges des faces basales par des contre-ions.

En conclusion, la meilleure efficacité de l'argile à pH 2 pourrait s'expliquer par la diminution de la charge négative globale qui atténue les répulsions électrostatiques entre argile et matière organique alors qu'en parallèle les sites fortement électropositifs de l'argile attireraient les zones électronégatives des composés. De plus, à pH 2 certains groupements fonctionnels de la MO se trouvent protonés et peuvent être interagir plus facilement avec les faces négatives de l'argile. Cependant, les capacités d'adsorption de la montmorillonite pour la MO hydrophile du lixiviat restent faibles.

### Phase de rétention : Détermination du taux d'humidité au sein de l'argile

L'objectif de cette phase était de déterminer la quantité de matière organique hydrophile restant imprégnée dans l'argile K10 par humidité, après séparation de l'argile et de l'échantillon par centrifugation. Plusieurs solutions de matière organique hydrophile (COD=21mg C.L<sup>-1</sup>) ont été mises à agiter avec de l'argile K10 (1g.L<sup>-1</sup>) à pH 2 pendant 17H puis centrifugées (ALC 4239R, OSI) à 3200 tours.min<sup>-1</sup> pendant 10 minutes. Des masses variables d'argile humide ont ensuite été pesées et leur pourcentage d'humidité a été déterminé à partir de la mesure de la siccité suivant la norme NFT 90-105-1. D'autres solutions d'argile K10 à 1g.L<sup>-1</sup> dans l'eau ultra pure à force ionique nulle ou fixée à 0,1M (NaCl) et à pH 2 ont également été soumises à la même procédure. La figure II-5 rapporte le pourcentage d'humidité pour diverses masses d'argile humide pesées après centrifugation.

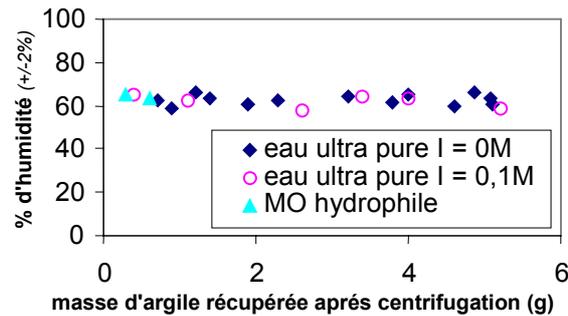


Figure II-5 : Pourcentage d’humidité restant dans l’argile après centrifugation.

La valeur moyenne d’humidité de l’argile K10 est d’environ 62% quelque soit la force ionique et la quantité de MO hydrophile. Par conséquent, pour une masse pesée d’argile humide de 1g on a en réalité 0,38g d’argile sèche soit environ 0,62mL d’échantillon (en supposant une densité proche de l’eau). De ce fait, à partir d’une concentration moyenne de 21mg C.L<sup>-1</sup>, on peut estimer la quantité de carbone restant piégée dans l’eau et retenue par l’argile comme :

$$V_A \times [\text{COD}] = 0,013\text{mg de COD}$$

avec  $V_A$  : Volume d’échantillon piégée dans l’argile (0,62mL)  
 COD : Concentration en carbone organique dissous de l’échantillon (21mg C.L<sup>-1</sup>)

La masse de MO retenue apparaît par conséquent très faible.

### Phase de conditionnement : Séchage de l’argile

La pyrolyse nécessitant un échantillon sec, les argiles humides ont été séchées dans une étuve à 50°C pendant 36H après adsorption de la MO. Cette température a été volontairement choisi pour accélérer le temps de séchage bien que pour des échantillons naturels (sol et sédiment) la température de séchage avoisine plutôt les 40°C. En revanche rien n’indique qu’aucune transformation de la matrice organique n’intervient au cours de cette étape.

En conclusion la procédure complète qui a été employée se définit comme suit :

- Mise en contact d’un volume d’échantillon (COD entre 0 et 21mg C.L<sup>-1</sup>) avec une masse d’argile K10 pour former une solution à 1g.L<sup>-1</sup> en argile**
- Agitation magnétique pendant 17 heures**
- Centrifugation 10 minutes à 3200 tours.min<sup>-1</sup>**
- Séchage de l’argile en étuve 36 heures à 50°C.**

#### II.2.1.5 Validation des contraintes et limites à considérer

Avant l’application de cette procédure, le tableau présentant les contraintes a été repris et l’état de satisfaction de chacune d’elles a été vérifié (tableau II-3).

Tableau II-3 : Contraintes requises au développement d’une procédure pour analyser la MO hydrophile par pyrolyse/CG/SM.

CONTRAINTES			
Scientifiques	Analytiques	Opératoires	Financières
*Analyser toute la MO hydrophile si possible sans l’altérer : <b>???</b>	*Extraire de la phase aqueuse : <b>oui</b> *Obtenir un échantillon solide : <b>oui</b>	* efficace : <b>?</b> *simple : <b>oui</b> *rapide : <b>2,5 jours</b>	*Peu chère : (0,5 g d’argile suffise) soit <b>0,02euros</b> d’argile

Hormis l'efficacité qui reste à valider, le protocole proposé répond dans l'ensemble aux contraintes de départ. Mais, même si la contrainte scientifique n'a pas été encore validée, on peut émettre des réserves

- l'adsorption ne garantit en rien que tous les composés s'adsorbent sur l'argile et l'on peut craindre d'omettre une partie de la matrice organique. De plus le pourcentage d'adsorption est faible, ce qui ramené à un très grand nombre de composés conduit à une très faible quantité adsorbée rendant difficile la détection. En outre, des composés dotés d'une forte affinité pour l'argile pourraient éventuellement limiter les possibilités d'adsorption et de détection de composés faiblement présents.
- la rétention conduit à une fixation théoriquement totale de la MO mais également en très faible quantité et rien n'indique que la limite de détection de la pyrolyse sera suffisante.
- même si la pyrolyse s'applique sur des échantillons naturels (sol et sédiment), un problème pourrait résider dans l'apport catalytique des argiles. Bien que cet effet soit recherché, il est dans le cas d'échantillons environnementaux difficilement maîtrisable. Ainsi la pyrolyse d'échantillons de sols révèlent que des alcools linéaires présents dans la MO sont détectés sous la forme de n-alcènes (Nierop *et al.*, 2001). Les acides gras sont moins affectés que les alcools néanmoins des alcènes, des alcanes et des cétones sont produits en présence d'argiles (Nierop & van Bergen, 2002). De plus un certain nombre d'alkylnitriles sont retrouvés avec une distribution semblable aux acides gras identifiés. Ces alkylnitriles peuvent résulter d'une réaction entre des acides carboxyliques et des groupes amino de structures organiques, ou bien, selon Evans *et al.* (1985), d'une réaction entre des acides carboxyliques et de l'ammoniaque libéré par des minéraux. Les ions ammonium, très présents dans le lixiviat ( $164\text{mg NH}_4^+ \cdot \text{L}^{-1}$ ), pouvant se fixer sur l'argile K10, la pyrolyse de nos échantillons pourrait être affectée par cet artefact. De manière générale, plusieurs études consacrées à la matière organique sédimentaire ont montré que les argiles minéralogiques affectent les résultats de la pyrolyse (Jovancicevic *et al.*, 1993 ; Lu *et al.*, 1989). Schnitzer *et al.* (1994) ont mis en évidence que les minéraux en modifiant l'évolution thermique affectent légèrement la distribution des différents groupes de composés d'un acide fulvique. En revanche, en utilisant l'hydroxyde de tétraméthylammonium (TMAH) sur des échantillons de sols, Nierop *et al.* (2001) rapportent la présence de méthoxyalcanes et d'esters méthyliques, analogues méthylés des alcools et des acides gras mais aucun alcène ou alkylnitrile n'a été produit. L'emploi de TMAH trouve alors un autre intérêt : éviter l'apparition de faux fragments.

En conclusion, l'emploi des argiles en pyrolyse pourrait avoir un effet significatif sur les résultats et l'interprétation des données pourrait en être biaisée si de tels effets sont négligés. En revanche, la seule autre voie possible et aussi simple : la concentration/lyophilisation de l'échantillon, n'étant pas non plus exempte de toutes critiques, il a été choisi d'appliquer la procédure développée à base d'argile en gardant à l'esprit ses déficiences.

### **III. Caractérisation par application de la pyrolyse CG/SM avec TMAH**

La pyrolyse GC/MS avec TMAH a été ainsi appliquée à différentes fractions extraites du lixiviat de Crézin : les fractions lyophilisées Acides de type Humique (AH\*), Acides de type Fulvique (AF\*) et composés de type Transphiliques (TPH\*) ainsi que la fraction des composés de type Hydrophile (HPI\*) déposée sur argile K10. Un autre échantillon dénommé «Bactéries», correspondant à la matière organique dissoute libérée lors d'une destruction de cellules bactériennes a été analysé par dépôt sur argile suivant le même protocole que la fraction HPI\*. L'échantillon « bactérie » a été obtenu par culture de microorganismes (48H à 30°C) dans l'eau peptonnée (Merck) après inoculation de 1mL de lixiviat de Crézin,

centrifugation (5min à 7000tours.min<sup>-1</sup>) puis reprise dans 50mL d'eau ultra pure du culot, sonication (Sonde Bandelin GM 70, 60W pendant 90s) et filtration sur 0,45µm.

Pour tous les échantillons, la pré-dérivation au TMAH a consisté en l'ajout d'une solution de TMAH à 50% dans le méthanol et d'une solution de chloroforme à l'échantillon solide, puis évaporation de ces solvants. Chaque échantillon est alors imbibé dans de la laine de quartz, puis la laine est placée dans un petit tube à pyrolyse.

Le système de pyrolyse CG/SM employé se compose d'un pyrolyseur Pyroprobe 1000 (CDS) et d'un Chromatographe en phase Gazeuse couplé à un spectromètre de masse Trace GC – Automass (ThermoFinnigan). La colonne utilisée est une colonne capillaire DB5 MS de JW Scientific (30m x 0,25mm) soumise à un programme de température : 1 minute à 60°C puis 5°C par minute jusqu'à 300°C. L'ionisation se fait par impact électronique avec une énergie d'ionisation  $E_i = 70\text{eV}$ , puis la séparation des différents ions est réalisée avec un analyseur quadripolaire. Le logiciel Xcalibur pilote l'ensemble et permet de retraiter les pyrochromatogrammes et les spectres de masse. La matière organique constituant une matrice complexe, les fragments identifiés ont été décomposés en deux catégories : les fragments d'origine naturelle et les fragments d'origine anthropique. Les pyrochromatogrammes relatifs aux différents échantillons sont présentés en annexe de ce chapitre (Annexe A). De même les histogrammes d'analyses semi quantitatives (représentant l'abondance de chaque fragment au sein des échantillons) sont donnés à l'Annexe B de ce chapitre. Il sera noté ici que l'échantillon AF\* ayant saturé le détecteur, très peu de ses composés ont pu être malheureusement identifiés.

### **III.1. Fragments d'origine naturelle**

Bien que tous les organismes vivants soient essentiellement composés de protéines, lipides et glucides, il existe une dichotomie très nette entre la matière organique végétale, animale et bactérienne. Chaque compartiment possède une distribution et des composés caractéristiques qui permettent de l'identifier.

#### **III.1.1 Acides carboxyliques**

Les acides gras sont d'importants constituants du monde animal et végétal. Ils se répartissent en grandes familles selon le nombre de doubles liaisons éthyléniques qu'ils possèdent : les acides gras saturés (aucune double liaison) ramifiés ou non, monoinsaturés (une seule double liaison) et polyinsaturés (au moins deux doubles liaisons). Lors de la pyrolyse avec TMAH, ces composés apparaissent sous la forme d'esters méthyliques, mais rien ne les distingue des esters méthyliques originellement présents. Néanmoins, dans le cadre d'échantillons naturels les esters méthyliques sont généralement rapportés à des acides gras et cette même considération a été appliquée lors de cette étude.

De ce fait, différents esters méthyliques/acides gras ont été retrouvés dans les fractions extraites du lixiviat de Crézin et de l'échantillon Bactéries. L'ensemble de ces composés sont présentés au tableau II-4 pour les monoesters/monoacides et au tableau II-5 pour les diesters/diacides.

Afin de simplifier leur citation, la codification traditionnellement appliquée a été reprise :

- la lettre **C** suivie d'un numéro défini le nombre d'atome de carbone dans la molécule.
- le chiffre : **1** signifie la présence d'une insaturation et s'il est précédé de la lettre **α**, l'insaturation se trouve sur le premier atome de carbone portant la fonction -COOMe.
- la lettre **r** indique une structure avec des ramifications.

Tableau II-4 : Identité et temps de rétention des monoesters méthyliques retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin et dans l'échantillon Bactéries.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*	Bactéries
C8	-	-	-	9,28	-
C10 $\alpha$ : 1	-	-	-	-	14,55
C10 : 1	-	-	-	-	14,72
C10	-	-	-	14,51	15,99
C12 :1	-	-	-	-	19,15
C12	19,50	19,15	-	19,47	19,65
C13 $\alpha$ : 1	-	-	-	-	20,8
C14 r	-	-	-	23,48	24,1
C14	23,21	23,5	23,93	23,83	-
C15 r	25,37	-	-	-	-
C15	-	26,92	-	-	-
C16 : 1	27,74	-	-	-	27,85
C16	28,20	28,25	28,16	28,12	28,40
C17 : 1	-	-	-	-	29,88
C18 r	29,32	-	-	-	-
C18 : 1	31,44	-	31,36	-	31,66
C18	31,81	31,82	31,86	31,85	31,99
C20	35,9	-	-	-	35,11
C22	38,53	-	-	-	-

Tableau II-5 : Identité et temps de rétention des diesters méthyliques retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin et dans l'échantillon Bactéries.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*	Bactéries
C16	34,14	-	-	9,28	-

#### Acides gras linéaires saturés CX (ou X = nombre d'atomes de carbone)

Les acides gras linéaires saturés sont des composés généralement très abondants chez les organismes vivants. Néanmoins leur distribution peut être significative de leur origine. Les microorganismes montrent une répartition monomodale centrée en C16 ou C18, avec une faible proportion d'acides supérieurs à C20. Au contraire, les végétaux supérieurs présentent une distribution bimodale, centrée en C16 et en C22 ou C24, avec une grande quantité d'acides supérieurs à C26 (Grasset & Ambles, 1998). En effet, des acides lourds sont présents en grandes quantités au niveau des cires cuticulaires des feuilles et des subérines des racines (Mc Kinney *et al.*, 1996). Dans les sédiments récents, les acides à nombre pair d'atomes de carbone (C12-C32) prédominent alors que dans les sédiments anciens le rapport s'équilibre avec les acides à nombre impair d'atomes de carbone (Kvenvolden, 1966). De nombreuses études ont montré que les biopolymères de type cutan, en partie constitués de ce type d'acides gras, ne sont pas hydrolysables et subissent un minimum d'altération dans leur environnement (Nip *et al.*, 1986 ; Hatcher *et al.*, 1983).

#### Acides linéaires saturés ramifiés CX r

Les acides linéaires saturés ramifiés apportent également de précieuses informations sur l'origine de la matière organique puisque leur présence est indicatrice de contributions microbiennes ou algales (Cranwell, 1976 ; Goossens *et al.*, 1989). Selon Volkman *et al.* (1980), ils sont fréquemment retrouvés dans des sédiments et chez certains microorganismes. De manière générale, il s'agit d'acides à nombre impair d'atomes de carbone : acides iso- / antéiso- pentadécanoïque (C15r) et iso- / antéiso- heptadécanoïque (C17r) dont la présence est essentiellement attribuée à une source bactérienne (Schmitter *et al.*, 1978 ; Perry *et al.*, 1979).

#### Acides linéaires insaturés CX : n (ou n = nombre d'insaturation)

Les acides insaturés sont également des indicateurs de l'origine d'un l'échantillon de par la position et le nombre de leurs insaturations ainsi que leur isomérisation (Mermoud *et al.*, 1981).

Généralement, ils sont d'origine végétale (cutine et cutan : C20:n) mais aussi animale (notamment les poissons : C20:n, C22:n). Certains d'entre eux jouent un rôle structurel important au niveau des phospholipides de membranes car leur présence permet d'assurer la fluidité membranaire et de maintenir l'équilibre entre les échanges externes et internes d'une cellule. Cependant leur dégradation rapide sous certaines conditions (dans les sédiments) enlève quelque fois toute indication quant à leur origine (Kawamura *et al.*, 1986).

### **Acides dicarboxyliques CX**

Les acides dicarboxyliques longs et pairs (C16-C32) sont généralement apportés par les végétaux supérieurs dont ils composent les cutines, assurant l'imperméabilisation des tissus (Kolattukudy, 2001), mais aussi les subérines. On attribue leur présence des  $\omega$ -oxydations d'acides gras ou des oxydations d'acides gras insaturés (notamment les courts). Cependant, Albertsson *et al.* (1995) rapportent que des diacides de C4 à C10 peuvent aussi découler de la dégradation d'éléments anthropiques comme des polyéthylènes modifiés.

La matière organique du lixiviat rapporte divers profils d'acides gras saturés, insaturés et ramifiés, de longueur variable (de C8 à C22). Ces lipides peuvent provenir d'une grande variété de précurseurs biologiques dont les végétaux (Colombo *et al.*, 1997), les microorganismes et les animaux. La présence d'acides gras à longue chaîne découle généralement de biopolymères aliphatiques tels que la cutine (McKinney *et al.*, 1996) et la subérine (Nierop, 1998). Néanmoins, l'absence d'acides gras « lourds » (C24 et plus) et d'indicateurs comme le 1,3,5 triméthoxybenzène (caractéristique du cutan), tend à minimiser l'apport de ces biopolymères aux lipides du lixiviat. De même, la faible représentation des diacides carboxyliques suggèrent également une faible contribution des cires des plantes supérieures (Meyers, 2003). Selon Almendros *et al.* (1996), il arrive que les biopolymères aliphatiques soient sélectivement préservés et s'accumulent dans la matière organique solide lors de l'humification (Zech *et al.*, 1997) mais des fragments sont généralement retrouvés. Par conséquent, la MO du lixiviat de Crézin semble issue de déchets exempts de feuilles et de racines en décomposition ce qui au vu de l'âge de la décharge paraît cohérent. Néanmoins, ces biopolymères ne semblent même pas avoir marqués la matière organique de leur passage.

La distribution en acides carboxyliques, centrée en C16, rappelle celle d'organismes inférieurs comme les algues et les bactéries. Cependant, l'absence de luminosité et d'oxygène rendant impossible la présence d'algues dans une décharge, la contribution est vraisemblablement essentiellement bactérienne. En effet la présence d'acides ramifiés C14r, C15r, C18r et d'acides gras C16:1 et C18:1 insaturés indique une forte contribution bactérienne (Budge & Parrish, 1998) d'autant que les acides iso- et antéiso- en C15 sont considérés comme de très bons indicateurs de la biomasse microbienne (Goossens *et al.*, 1989). De plus, la similitude entre les lipides de Crézin et ceux retrouvés dans les résidus bactériens (Bactéries) laisse également supposer que les acides gras du lixiviat sont issus de la part indigène de la MO et découlent de la lyse de cellules bactériennes ou de la production in situ de lipides secondaires à partir de la matière organique primaire. Aussi, l'importance des résidus bactériens par rapport aux résidus végétaux tendrait à souligner une inversion dans la biogenèse de la matière organique. Au cours du vieillissement du site et de l'épuisement des sources de matière végétale, la matière organique résulterait de plus en plus d'une activité bactérienne que d'une dégradation végétale. Néanmoins, les bio-marqueurs lipidiques restent des indicateurs à modérer puisque la dégradation de la matière organique peut significativement altérer leur signature (Canuel & Martens, 1993). D'ailleurs selon Meyers & Eadie (1993), en raison de leur tendance à la dégradation, les acides gras sont de meilleurs indicateurs de la quantité de matière organique réutilisée que de bons bio-marqueurs des sources organiques. En outre, l'identification par pyrolyse peut également avoir ignoré certains lipides comme par

exemple les acides gras polyinsaturés dont l'absence est attribuée à une dégradation et une isomérisation par le TMAH (Pulchan *et al.*, 2003 ; Jun-Kai *et al.*, 1997).

Au niveau de leur répartition, les acides gras se répartissent dans toutes les fractions du lixiviat. La fraction AH\* semble constituée de plus longs lipides que la fraction AF\* alors que la fraction HPI\* contient les lipides aux plus courtes chaînes. Cependant, les lipides identifiés dans la fraction AH\* apparaissent de taille inférieure à ceux d'un sol ou d'une tourbe (Grasset *et al.*, 2002) mais ressemblent d'avantage à ceux de sédiments lacustres (Kölsch *et al.*, 2003) en raison probablement d'une origine microbiologique plutôt que végétale. L'abondance des acides gras (C16 et autres) dans la fraction de type acide humique s'explique généralement par l'existence de liaisons esters avec les macromolécules humiques (del Rio *et al.*, 1994 ; Hatcher & Clifford, 1994). Les acides de type fulvique engendrent probablement les mêmes interactions, cependant ils semblent moins riches en lipides. Lors de l'extraction des AF\* à la soude, une fraction de matière organique n'est pas désorbée de la résine XAD 8 : la fraction de type Hydrophobe neutre (HPOn\*). Dans leur analyse de la composante organique d'un estuaire, Kölsch *et al.* (2003) observent 48,8% d'acides aliphatiques dans cette fraction contre 23,8% dans l'AF et 6,2% dans l'AH. On peut donc supposer qu'une partie des lipides du lixiviat se situerait dans la fraction HPOn\* non analysée. Les autres lipides se localisant en partie dans les fractions TPH\* et HPI\* avec préférentiellement les plus petits acides, moins lipophiles, dans la fraction HPI\*.

### III.1.2 Composés ligno-cellulosiques

Les composés ligno-cellulosiques (cellulose, hémicelluloses et lignine) retrouvés en décharge sont principalement dus aux 12 % de déchets verts (bois, herbe, feuilles) et aux 25% de papiers-cartons-journeaux entreposés (ADEME, 2000). Leur présence est un très bon indicateur du règne végétal d'autant que leur distribution n'est pas uniforme. En effet, les résineux possèdent plus de lignine et moins d'hémicellulose que les feuillus alors que les plantes graminées ont des constitutions très diverses. Mais de manière générale, les cellules végétales s'organisent autour de parois cellulaires contenant de la cellulose cristalline entourée par un mélange de cellulose amorphe, d'hémicellulose et de lignine.

- La cellulose est un homopolymère linéaire constitué par la répétition d'unités de cellobiose résultant d'une liaison béta-1,4-glycosidique entre deux molécules de D-glucopyranose (Heller *et al.*, 2000). Les nombreuses possibilités de liaisons hydrogène entre polymères rendent la molécule hydro-insoluble et même partiellement cristalline lorsque les molécules s'associent pour former des microfibrilles. La forme cristallisée s'avère également beaucoup plus résistante à la biodégradation que les formes amorphes. La cellulose est synthétisée au niveau de la membrane plasmique à partir d'un donneur d'unité glucose, puis se répartit essentiellement au niveau des parois primaires et secondaires de la cellule végétale.
- Les hémicelluloses constituent la matrice des parois qui assure la liaison des microfibrilles de cellulose entre elles par des liaisons hydrogène. Ces composés forment un groupe mixte d'hétéropolymères linéaires et ramifiés comportant principalement cinq sucres monomériques : D-glucose, D-mannose, D-galactose, D-xylose, et L-arabinose (Fengel & Wegener, 1989 ; Kuhad *et al.*, 1997). De manière générale, les hémicelluloses s'associent entre elles par liaison béta-1,4-glycosidique, mais d'autres types d'associations rapportés par Eriksson *et al.* (1990) sont également possibles. En revanche, la présence de chaînes latérales empêche les hémicelluloses de se constituer en fibrilles et favorise les liaisons covalentes avec la lignine (Kögel-Knabner, 2002). Les principales hémicelluloses des bois tendres (aulne, saule et peuplier) sont les galactoglucomannanes, les arabinoglucuronoxylanes et les arabinogalactanes alors que celles des bois durs (chêne, frêne et orme) et des plantes graminées sont les glucuronoxylanes et les glucomannanes. D'autres hémicelluloses comme

les arabinoxyanes, glucuronoarabinoxyanes et même galactoglucomannanes sont également présentes chez diverses graminées (Hatfield, 1989 ; Eriksson *et al.*, 1990). De part leur nature amorphe et un faible degré de polymérisation, les hémicelluloses se dégradent beaucoup plus facilement que la cellulose.

- La lignine est un polyéther provenant de la polymérisation oxydative de trois composés phénoliques : les alcools coniférylique, sinapylique et *p*-coumarilique (ou *p*-hydroxyphényl) (Monties & Lapierre, 1981). La biosynthèse de ces phénols élémentaires s'effectue à partir d'un aminoacide aromatique unique : la phénylalanine. Sous l'action successive d'enzymes, la phénylalanine est transformée en acide cinnamique puis hydroxylée et méthylée. Trois principaux acides sont alors formés, puis estérifiés et réduits en aldéhydes ou en alcools. Enfin, la polymérisation de ces trois alcools sous l'action de peroxydases (polyphénol oxydases) et de laccases (Argyropoulos & Menachem, 1997) conduit à la formation de la lignine constituée alors de différentes unités : guaiacyl (G), syringyl (S) ou *p*-hydroxyphényl (P) correspondant respectivement aux alcools coniférylique, sinapylique et *p*-coumarilique ou à leurs dérivés (acides, aldéhydes...). Ces unités sont reliées entre elles par des enchaînements sans répétitions régulières, mettant en jeu des liaisons covalentes (Brunow, 2001). La lignine se dépose au niveau des parois primaires et secondaires des cellules végétales, renforçant les microfibrilles de cellulose. Sa structure forme un polymère tridimensionnelle insoluble, dense et résistant qui cimente les fibres entre elles, assure le transport de l'eau et confère au bois toute sa rigidité. Peu sensible à la dégradation biologique, elle crée une barrière morphologique à la pénétration et à la progression des agents pathogènes (Fengel & Wegener, 1989).

Parmi les fragments ligno-cellulosiques retrouvés dans le lixiviat, la totalité correspondent à des dérivés de la lignine puisqu'aucun composé relatif aux hydrates de carbone (cellulose et hémicellulose) n'a été identifié. Les travaux de Nanny & Ratazuk (2002) sur plusieurs lixiviats présentent également cette même caractéristique. Le tableau II-6 rapporte les dérivés de structures *p*-hydroxyphényl, guaiacyl, syringyl ainsi que des fragments rapportés à la lignine et identifiés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin. Afin de simplifier leur citation, la codification mise en place par Chefetz *et al.* (2000) a été reprise.

Tableau II-6 : Identité et temps de rétention des dérivés de structures *p*-hydroxyphényl, guaiacyl et syringyl ainsi que des fragments rapportés à la lignine retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*	code
<b>Dérivés de structure <i>p</i>-hydroxyphényl</b>					
(4-méthoxyphényl)-éthène	-	-	14,50	14,43	P3
Acide 4-méthoxybenzoïque méthyle ester	16,02	-	-	16,02	P6
Acide 3-(4-méthoxyphényl)-2-propanoïque méthyle ester	19,76	-	-	-	P12
Acide 3-(4-méthoxyphényl)-2-propénoïque méthyle ester	23,14	-	-	-	P18
<b>Dérivés de structure guaiacyl</b>					
3,4-diméthoxyacétophénone	20,69	-	-	-	G5
Acide 3,4-diméthoxybenzoïque méthyle ester	21,33	-	-	21,19	G6
<b>Dérivés de structure syringyl</b>					
Acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque méthyle ester	24,08	-	-	24,05	S6
<b>Fragments rapportés à la lignine</b>					
Acide cinnamique méthyle ester	16,24	-	-	-	L1

### Dérivés d'unités phénylpropène (*p*-hydroxyphenyl, guaiacyl, syringyl)

La distribution des dérivés d'unités phénylpropène (*p*-hydroxyphenyl, guaiacyl, syringyl) varie selon les grandes divisions du règne végétal. En fait, la composition de la lignine en unités monomères varie selon l'espèce végétale considérée, selon l'âge, la nature (saine ou infectée) de ses tissus végétaux. Ainsi, les plantes vasculaires relativement primitives, telles que les ptéridophytes (comme les fougères) et les gymnospermes (comme les conifères), possèdent une lignine essentiellement constituée d'alcools coniféryliques (Jolivet *et al.*, 2001). Par contre chez les angiospermes monocotylédones (comme les céréales, les plantes à bulbe) et dicotylédones (comme les feuillus) on observe des concentrations presque équivalentes en alcools coniféryliques et sinapyliques avec de faibles quantités d'alcools *p*-coumaryliques (Challinor, 1995 ; Clifford *et al.*, 1995), généralement encore moins importante chez les dicotylédones que chez les monocotylédones.

Le lixiviat de Crézin met en avant des fragments relatifs aux trois unités de la lignine alors que dans trois lixiviats de sites d'âges différents (4ans, 40ans et 75ans), Nanny & Ratasuk (2002) ont seulement identifié deux unités guaiacyl et concluent par conséquent que la lignine participe très peu à la matière organique des lixiviats. Au contraire, le lixiviat stabilisé de Crézin semble se définir par une lignocellulose purement constituée de dérivés ligneux. L'abondance des fragments syringyl (S6) et guaiacyl (G6) révèle une contribution prépondérante des végétaux à bois, difficilement identifiables, alors que la présence du dérivé méthylés cinnamyl (P18) suggère une contribution des herbes. Cependant, l'apport dû aux herbes est probablement infime puisque la présence de ce type de plantes s'accompagne généralement d'une prédominance des pics P3 et G3 (Clifford *et al.*, 1995). Ainsi les herbes seraient presque totalement éliminées du site de Crézin. D'autre part, l'absence des principaux fragments caractéristiques des celluloses (1,4-diméthoxybenzène et 1,2,4-triméthoxybenzène (Fabbri & Helleur, 1999)) et des hémicelluloses (xylane (Kuhad *et al.*, 1997)) laisse aussi supposer une forte dégradation de l'ensemble des structures végétales. En effet, les hydrates de carbone servent généralement de source de carbone et d'énergie pour de nombreux microorganismes, pourtant tous ne sont pas facilement biodégradables. En décharge, Barlaz *et al.* (1990) estiment la demi vie de la cellulose et des hémicelluloses à environ 15 ans. Pareek *et al.* (1998) supposent que la connexion de ces polysaccharides avec la lignine les rend moins biodégradables et même réfractaires dans les décharges. Au contraire Gendebien *et al.*, (1992) pensent que la cellulose et les hémicelluloses sont essentiellement dégradées en méthanogenèse bien que leur bioconversion en méthane ne s'achève que lentement en phase de stabilisation. La faible production de biogaz et la qualité du lixiviat définissant le site de Crézin comme en phase de stabilisation, tout laisse ainsi indiquer que la majeure partie de la cellulose a été dégradée et que les déchets végétaux sont donc pratiquement stabilisés. Cependant, la matière végétale du déchet continue d'apporter des éléments, notamment des dérivés ligneux. La dégradation des hydrates de carbone ayant probablement conduit à la destruction des structures pariétales, il ne reste alors du végétal que la lignine située dans les lamelles moyennes et les parois secondaires. En anaérobiose, même si sa minéralisation est très faible, certains microorganismes parviennent à rompre des liaisons béta-O-4 de la lignine et à solubiliser quelques fragments (Tuomela, 2002). La lignine peut alors se lier aux Substances Humiques puisque la dépolymérisation et l'humification se produisent simultanément. La présence de dérivés ligneux résultent alors de cette condensation qui n'altère en rien leur structure. En effet, la lignine n'est modifiée que lors de son utilisation directe par la biomasse comme matière première. Par contre, ce processus modifie la distribution des différentes unités phénylpropène. Ainsi dans les sols, l'intensité relative des pics dus aux unités syringyl

diminue avec la profondeur alors que celle des pics dus aux unités *p*-hydroxyphenyl et guaicyl demeure pratiquement constante (Chefetz *et al.*, 2000). En effet, les unités guaicyl sont souvent considérées comme plus résistantes à la biodégradation que les unités syringyl, plus riches en groupements méthoxy (Kogel-Knabner, 1997). L'évolution des rapports S/G (Syringyl sur Guaicyl) et de C/G (Phénol Cinnamyl sur Guaicyl) permet alors de traduire ces changements structuraux. Les fragments Phénol Cinnamyl correspondant à des structures phénylpropène complètes (P18). Chefetz *et al.* (2000) observent ainsi une diminution du rapport S/G avec la profondeur alors que le rapport C/G reste pratiquement constant dans tout le profil de sol (environ 0,2). Les rapports S/G et C/G du lixiviat (respectivement 0,81 et 0,16) traduisent un comportement d'horizon supérieur de sol et par conséquent une matrice ligneuse relativement préservée. Ainsi, l'humification des déchets ne semble qu'au début des transformations qui conduisent à la genèse des Substances de type Humique (SH\*), en accord avec les résultats de la **1<sup>re</sup> Partie** sur la répartition. La présence d'acide cinnamique résulte probablement de ces premiers processus, puisque les SH\* pourraient être formées par destruction de la lignine et perte des groupes phénoliques et méthoxy (Inbar *et al.*, 1992 ; Shevchenko & Bailey, 1996). Néanmoins, les conditions particulières d'une décharge (anaérobie, confinement) ralentissent probablement les phénomènes d'humification en comparaison de sols ou de milieux aqueux. Aussi même si l'apport de déchets d'âges différents masque très certainement l'état réel d'humification, ce processus ne semble pas prédominer dans l'ensemble de la décharge.

D'un point de vue de leur répartition, les composés ligno-cellulosiques apparaissent essentiellement dans les fractions AH\* et HPI\*. Leur absence au sein de la fraction AF\* résulte vraisemblablement de l'analyse car généralement toutes les fractions de la MO sont directement constituées de lignine (Yanze-Kontechou & Blondeau, 1990). En revanche, selon certains auteurs, humines, Acide Humique et Acide Fulvique pourraient être composées de lignine différente (Almendros & Sanz, 1991). Néanmoins dans le lixiviat, il semble que les fractions AH\* et HPI\* soient composées des mêmes fragments, mais distribuées différemment. La prépondérance des dérivés ligneux dans la fraction AH\* viendrait probablement de leur condensation aux Substances de type Humique (SH\*) par l'intermédiaire de liaisons covalentes. Ces interactions préservent les fragments de lignine (Shevchenko & Bailey, 1996) mais n'empêchent pas le complexe ligno-humique d'être lessivé. Par conséquent la détection de composés ligneux devrait s'accompagner de celle de structures humiques. Cependant il est difficile d'attribuer qu'elles sont les fractions relatives à ce type de structures au sein des pyrochromatogrammes. L'acide cinnamique pourrait éventuellement résulter de la transformation de la lignine en SH\* par condensation quinonique (Stevenson, 1982) puisque la condensation de fragments de lignine constitue également une des voies d'humification. De ce fait, les différents fragments ligneux identifiés pourraient être issus de macrostructures de type humique. En revanche, la présence d'un si grand nombre de dérivés ligneux dans la fraction HPI\*, normalement dépourvue de substances dites « humiques », est assez surprenante, d'autant que la fraction TPH\* également d'origine indigène n'en présente pratiquement pas. Par conséquent on pourrait supposer que de petits fragments ligneux ont été libérés dans le milieu sous formes libres ou se sont associés à des composés plutôt hydrophiles. Il est également pensable qu'ils constituent alors les éléments de « substances de type humique naissantes » non encore macromoléculaires.

### III.1.3 Stéroïdes et dérivés

Les stéroïdes naturels sont des substances essentielles de la croissance et du développement des organismes vivants. Ces composés se divisent en plusieurs familles parmi lesquelles celle des stérols. Les stérols définissent un groupe de lipides abondamment présents dans le monde

vivant notamment chez les espèces eucaryotes (animales et végétales), seuls les organismes procaryotes comme les bactéries en sont dépourvus (Nes & McKean, 1976).

Les stérols sont principalement localisés dans la couche extérieure des membranes plasmiques, en association aux phospholipides (De Leeuw & Largeau, 1993). Ils régulent la fluidité membranaire lors d'écart de température et assurent ainsi le maintien de l'intégrité cellulaire (Zawistowski & Kitts, 2002). Le cholestérol pour le règne animal et les brassinostéroïdes pour le règne végétal participent aussi grandement aux cycles hormonaux régulant la croissance des organismes (Clouse & Sasse, 1998).

Parmi les fractions extraites du lixiviat de Crézin, plusieurs stérols et un dérivé du cholestérol ont été mis en évidence et sont présentés au tableau II-7.

Tableau II-7 : Identité et temps de rétention des composés de type stéroïdes retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*	Bactéries
Campestérol	41,88	-	-	41,87	-
$\beta$ -Sitostérol	43,65	-	-	43,64	-
3,5 Cholestadiène	48,15	48,19	-	48,15	-

### Stérols

Le campestérol et le  $\beta$ -sitostérol correspondent à des stérols végétaux ou phytostérols. Ils possèdent une structure de base identique au cholestérol mais différent par leurs chaînes latérales respectives. Les phytostérols sont des composés naturels, présents dans les huiles végétales, les graines et les arbres conifères (Law, 2000). Plus de 40 stérols végétaux sont répertoriés parmi lesquels le  $\beta$ -sitostérol, le stigmastérol et le campestérol sont les plus abondants (Adam *et al.*, 1996 ; Fujioka & Sakurai, 1997). Le  $\beta$ -sitostérol et le campestérol diffèrent d'une structure de type cholestérol par la présence respectivement d'un groupe éthylique et méthylique au 24<sup>ème</sup> carbone de la chaîne latérale. Le stigmastérol possède quant à lui une structure proche du  $\beta$ -sitostérol mais avec une insaturation supplémentaire au 22<sup>ème</sup> carbone. L'ensemble du règne végétal possède ces différents phytostérols et par conséquent on les retrouve en abondance dans les aliments végétaux. La dose journalière moyenne de phytostérols ingérés est d'environ 100 à 300mg pour un individu non végétarien (Hendriks *et al.*, 1999). Le phytostérol le plus abondant est le  $\beta$ -sitostérol (50%) puis viennent le campestérol (33%) et le stigmastérol (2 à 5%) (Ling & Jones, 1995).

### 3,5 Cholestadiène

Le cholestadiène n'est pas un stérol mais un dérivé du cholestérol dont la structure correspond au cholestérol privé d'une molécule d'eau. La déshydratation du cholestérol en cholestadiène pourrait peut être venir d'un phénomène naturel dans le milieu plutôt qu'un biais lié à la pyrolyse d'argile. Le TMAH étant censé limiter ce type de réactions parasites, si la déshydratation a bien eu lieu, c'est probablement au cœur de la décharge puisque sinon on retrouverait aussi les produits déshydratés des phytostérols. Aussi l'identification du cholestadiène pourrait révéler la présence de cholestérol dans le lixiviat. Le cholestérol est la substance lipidique la plus abondante du monde animal et la plus importante d'un point de vue métabolique. Il rentre dans l'élaboration des membranes cellulaires mais sert également à fabriquer diverses hormones, les sels biliaires et la vitamine D. Sa présence de même que celle du cholestadiène est rapportée à des résidus animaux mais aussi à une pollution par des déchets domestiques (Espadaler *et al.*, 1997). En effet, les aliments sont connus pour leur richesse en matières grasses et notamment en cholestérol. Les nombreux détritiques alimentaires rejetés chaque jour participent à sa dissémination à travers l'environnement. C'est pourquoi, le cholestérol et le cholestadiène peuvent se retrouver dans des sédiments et des eaux naturelles, hors d'un organisme animal (Ricking *et al.*, 2003).

Les différents stéroïdes identifiés indiquent une opposition d'origine. La présence de stérols végétaux tend à montrer que le lixiviat découle d'une matière organique végétale. En effet, de par l'âge de la décharge, les phytostérols actuellement mesurés proviennent vraisemblablement de résidus végétaux plutôt que d'aliments à base végétale. Les matières putrescibles alimentaires se dégradent généralement très rapidement. L'identification de phytostérols de structure plutôt que de brassinostéroïdes de croissance soulignerait même une forte dégradation des membranes cellulaires végétales. Au contraire, la présence de stéroïdes comme le cholestadiène/cholestérol indiquerait une contribution du monde animal au lixiviat. Le cholestérol étant un constituant membranaire pratiquement exclusif aux eucaryotes, sa présence serait davantage le reflet d'une « pollution » que d'une biosynthèse (Killops & Killops, 1993). La microfaune des décharges est en effet dominée par les procaryotes qui assurent la plupart des fonctions biochimiques (Barry & Kim, 2000), néanmoins 13% de l'ARN retrouvé est d'origine eucaryotique (Kim, 2003). Même si ce matériel génétique n'est pas dû à des organismes actifs, la contribution de résidus animaux à la matière organique semble importante.

Les stérols se répartissent dans presque la totalité des fractions du lixiviat malgré leur hydrophobie due à leur caractère lipidique. Cette dispersion découle vraisemblablement d'interactions avec d'autres substances facilitant leur solubilisation et leur conférant une protection vis à vis des microorganismes. Ainsi le cholestérol semble s'associer avec différents composés de type humique (AH\*, AF\*) ou pas (HPI\*). Grasset (1997) rapporte également sa présence dans plusieurs fractions de sol comme les humines et les acides humiques. On peut supposer que sa rémanence en décharges, malgré une origine de déchets putrescibles, est liée à sa grande dissémination et à des interactions le protégeant des microorganismes.

### III.1.4 Composés d'origine indigène

La dégradation des déchets organiques résultant principalement de transformations biochimiques, les microorganismes apparaissent comme les éléments primordiaux des décharges. Par leur activité, ils participent à la décomposition et à la création des matières organiques mais engendrent parallèlement leur propre matériel organique résultant du métabolisme (biopolymères) et de la dynamique des populations (résidus cellulaires). Cette composante organique dite « indigène » s'intègre alors à la matière organique déjà présente dans le milieu. Par conséquent, il semble possible de retrouver des composés se rapportant aux microorganismes ou à leur cycle de vie dans les lixiviats. En effet, certains travaux rapportent la présence de résidus relatifs aux peptidoglycanes de parois bactériennes dans la matière organique de milieux naturels (Jørgensen *et al.*, 2003). Néanmoins, l'identification et la mise en avant de composés bactériens imposant de connaître les fragments pyrolytiques du biota bactérien, nous avons procédé par comparaison entre les fractions extraites du lixiviat et l'échantillon Bactéries. Trois composés ont été alors identifiés dans les différentes fractions extraites du lixiviat tout comme dans l'échantillon Bactéries. Ils sont présentés au tableau II-8.

Tableau II-8 : Identité et temps de rétention des composés d'origine bactérienne retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin et dans l'échantillon Bactéries.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*	Bactéries
1-méthyl 2,5-Pyrrolidinedione	9,26	-	-	8,93	9,06
1,3,5-triméthyl 2,4-dioxo 1,2,3,4-tétrahydropyrimidine	16,31	-	-	16,55	16,92
2,3,5-triméthoxy phénol	-	-	-	25,02	25,13

### **1-méthyl 2,5-Pyrrolidinedione**

La 1-méthyl 2,5-Pyrrolidinedione proviendrait de composés azotés solubles comme des petites protéines, de l'ATP ou du matériel génétique. L'hypothèse d'une origine protéique se recouperait avec sa présence dans la fraction AH\* puisque les protéines précipitent à pH acide, mais sa structure ne rappelle aucun acide aminé connu. En revanche, une modification de la structure pourrait être due à l'analyse puisque Hendricker & Voorhees (1998) rapportent que des phénomènes de condensations intramoléculaires et de cyclisations peuvent intervenir au cours de la pyrolyse d'acides aminés et de petits peptides.

### **1,3,5-triméthyl 2,4-dioxy 1,2,3,4-tetrahydropyrimidine**

Cette molécule semble provenir d'un fragment de thymidine, un nucléoside constitutif d'un nucléotide formant l'acide désoxyribonucléique (ADN). La molécule d'ADN, qui compose les chromosomes, est caractéristique du monde du vivant mais sa présence peut être attribuée à n'importe quel organisme vivant ou mort. Les déchets domestiques étant en partie constitués de matières putrescibles de diverses origines, ce fragment peut provenir de différents règnes (animale, végétale). Néanmoins, au vu de l'importante dynamique bactérienne au sein d'une décharge, il est probablement plutôt issu de ce type d'organismes d'autant que 86 à 87% de l'ARNr d'un déchet est d'origine bactérienne (Kim, 2003). De plus, l'échantillon Bactéries, représentant en partie le contenu cytoplasmique bactérien, possède également ce fragment.

### **2,3,5-triméthoxy phénol**

Le 2,3,5 tri méthoxy phénol semble également provenir de microorganismes. Dans la matière organique, la présence de polyphénols est généralement évoquée pour définir l'une des théories de formation des Substances Humiques. Selon Stevenson (1982), des polyphénols sont synthétisés par les microorganismes lors de la décomposition de substrats organiques, puis ils sont oxydés en quinones par des polyphénoloxydases. Les quinones s'associent alors avec des composés azotés pour former les Substances Humiques.

Plusieurs composés attribuables à la présence de bactéries ont été retrouvés dans la matière organique du lixiviat, mais leurs origines physiologiques et/ou métaboliques précises apparaissent difficiles à déterminer. De par le protocole d'analyse de l'échantillon Bactéries, leur présence semble néanmoins plutôt due au contenu cytoplasmique qu'à des structures membranaires. Ainsi la 1,3,5-triméthyl 2,4-dioxy 1,2,3,4-tetrahydropyrimidine indique la présence de molécules de type ADN issues de la biomasse bactérienne. Sa présence dans la fraction AH\* laisse supposer qu'elle a été intégrée dans des macromolécules selon certains concepts de formation des SH. Par conséquent, une partie de l'ADN libéré suite à la destruction cellulaire serait alors décomposée et transformée en substances de type humique (SH\*) soit avec des dérivés ligneux soit avec des polyphénols bactériens. Dans tous les cas, la présence de fragments d'origine indigène dans la matrice organique traduit une genèse moins végétale des SH\* et la marque d'une empreinte laissée par la forte activité bactérienne du milieu.

La distribution des fragments bactériens semble mettre en avant leur caractère hydrophile lorsqu'ils ne sont pas dans des structures macromoléculaires. La fraction TPH\* précédemment associée à une contribution indigène ne présente en revanche pas de fragments similaires à l'échantillon Bactéries, aussi il se pourrait qu'elle soit plus le fait de constituants membranaires que cytoplasmiques.

## **III.1.5 Composés azotés**

Dans les décharges comme dans l'environnement, l'origine des formes organiques de l'azote reste encore assez mal connue. En effet, près de 30% de l'azote organique des sols est défini comme « azote inconnu » (Schnitzer *et al.*, 1983) alors qu'il participe au cycle global de l'azote. L'hydrolyse de cet azote ne libérant pas d'acides aminés, il est supposé s'intégrer

dans des structures macromoléculaires réfractaires assez complexes (Schulten *et al.*, 1997). Au contraire, l'autre partie de l'azote est employée par les organismes vivants pour engendrer des structures biologiques et satisfaire à leurs besoins énergétiques.

La pyrolyse CG/SM avec TMAH permet de mettre en évidence de nombreux composés azotés simples ou hétérocycliques (Zang *et al.*, 2001). Cependant, contrairement à d'autres classes de composés organiques leur origine est beaucoup plus disparate. Dans les fractions extraites du lixiviat de Crézin, un seul composé azoté d'origine biogénique a été identifié. Il est présenté au tableau II-9.

Tableau II-9 : Identité et temps de rétention du composé azoté retrouvé dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*	Bactéries
1-méthyl 2-pyrrolidone 5-méthyl ester	15,35	-	-	15,22	-

### 1-méthyl 2-pyrrolidone 5-méthyl ester ou bien 5-oxo L/D proline

En considérant que le produit ait été méthylé par le TMAH, cette molécule azotée semble correspondre à un acide aminé commun de la peau des mammifères : la 5 oxo L/D proline (Wolfersberger *et al.*, 1973). Ce composé, dérivé du glutamate, sert d'agent naturel d'hydratation de la peau et notamment de la couche superficielle de l'épiderme. En effet, lorsque les cellules épidermiques meurent, les protéines de ces cellules sont dégradées en acides aminés qui sont alors transportés à la surface (Barrett & Scott, 1983). La 5 oxo L/D proline se retrouve également dans divers fluides (urine, sang (He *et al.*, 1999)) et notamment en position N-terminal de nombreux polypeptides (Shirovani *et al.*, 2002). De plus, ce composé est aussi naturellement présent sous forme de sels métalliques (pyroglutamate) dans les aliments comme les légumes, les fruits, les produits laitiers et la viande (Oh *et al.*, 1995) mais encore les plats préparés (Park *et al.*, 2001). De même, depuis quelques années l'industrie cosmétique développe de nombreuses lignes de produits à base d'acides aminés. Ainsi les propriétés hydratantes du pyroglutamate sont entre autre utilisées pour des shampoings, des soins hydratants et des savons (Dallet *et al.*, 2000) dont les emballages peuvent finir en décharge.

Néanmoins, la 5 oxo L/D proline peut être également un artefact de culture ou du métabolisme bactérien (Melis *et al.*, 2001) par cyclisation de la glutamine. Cette réaction intervient à température ambiante dans des solutions aqueuses contenant de la glutamine ou à températures physiologiques dans des milieux de culture cellulaire (Willker *et al.*, 1995).

Les composés azotés identifiés dans le lixiviat sont assez simples et ne correspondent pas aux structures azotées hétérocycliques généralement retrouvées dans les sols (Leinweber & Schulten, 1999). Cependant, il est possible que des structures aussi complexes soient parmi les fragments non identifiés. L'information apportée par la 5 oxo L/D proline est peu précise puisqu'il est difficile de savoir si elle est réellement présente sous cette forme ou s'il s'agit d'un artefact de la pyrolyse d'acides aminés ou de petits peptides.

La majeure partie de l'azote organique du lixiviat se retrouve dans la fraction hydrophile (1<sup>ère</sup> Partie paragraphe V.3), mais la pyrolyse met en avant des composés azotés dans les fractions AH\* et HPI\*. La présence des composés azotés dans la fraction AH\* pourrait s'expliquer par la précipitation des protéines à pH acide. Ainsi, la 5 oxo L/D proline correspondrait à un fragment de protéine. De même dans la fraction HPI\*, ce composé pourrait résulter de la présence de petits peptides beaucoup plus solubles, car de manière générale les acides aminés sont rarement libres dans le milieu naturel. Une autre explication de l'existence de composés azotés dans la fraction AH\* viendrait aussi du fait qu'à des pH inférieurs au pKa des groupes azotés ionisables, des forces électrostatiques peuvent intervenir avec les fonctions carboxyles des matières humiques (Thorn *et al.*, 1999).

### III.1.6 Composés carbonés

Parallèlement aux grandes familles de composés organiques, des molécules caractéristiques de domaines ou d'organismes du vivant peuvent être déterminées par pyrolyse CG-SM. Au sein des fractions extraites du lixiviat de Crézin une seule molécule de ce type a été identifiée. Elle est présentée au tableau II-10.

Tableau II-10 : Identité et temps de rétention du composé carboné retrouvé dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*	Bactéries
Acide abiétique	35,58	-	-	-	-

#### Acide abiétique

L'acide abiétique (ou sylvique) est un acide naturel libre très présent dans les résineux (pin) mais absent dans les feuillus hormis le bouleau (Lafever *et al.*, 1994). C'est aussi le composant majeur de la colophane (résine de pin) utilisée dans de nombreux papiers adhésifs. Il possède des propriétés « collantes » utilisées entre autres pour l'encollage des papiers, ainsi que pour la préparation de vernis. Généralement, l'acide abiétique est typiquement associé à l'industrie du bois, des pâtes et papiers (Mattsson *et al.*, 2003), cependant on le retrouve aussi dans les peintures et dans l'encre d'imprimerie, notamment au niveau des résines. Les résines agissant sur les liaisons entre les pigments et le support ainsi que sur le comportement rhéologique de l'encre. En raison de leur faible coût de revient, les résines à base de colophane ont longtemps été utilisées par l'imprimerie et il est tout à fait possible d'en retrouver dans des déchets. Ainsi, Nanny & Ratasuk (2002) ont identifié l'acide abiétique dans des lixiviats de déchets âgés et l'ont attribué aux résines.

La présence d'acide abiétique au sein de lixiviat peut donc être attribuée à différents apports comme le bois des résineux jetés en décharges (palettes,...), les encres d'écritures et les colles. De par l'âge de la décharge de Crézin et l'absence d'indicateurs celluloseux on peut supposer la disparition des papiers/cartons/journaux susceptibles de supporter les encres mais aussi de modérer la source naturelle. La préservation de l'acide abiétique, à un âge de dégradation avancé, pourrait alors résulter de mécanismes de protection au sein de composés réfractaires comme la lignine des résineux ou d'association avec des SH\* ou d'autres composés. Néanmoins il existe peu d'informations permettant réellement de s'affranchir de l'apport anthropique des colles ou des encres. En outre, l'analyse des fragments de pyrolyse CG/SM a pu omettre certains dérivés de la cellulose dans une matrice aussi complexe. Ainsi, même pour des molécules bien connues et préservées, la multiplicité des apports ne facilite pas l'interprétation.

Plusieurs composés d'origine naturelle (cellulose, acide abiétique...) laissant paraître une dualité d'origine avec des possibles apports anthropiques (papiers/journaux, colles), il est apparu important de chercher au sein des fractions les composés plus spécifiques d'éléments anthropogènes.

### III.2. Fragments d'origine anthropique

Les déchets constituant un ensemble hétérogène d'éléments naturels et anthropogènes, de nombreux composés engendrés par l'activité humaine soit par synthèses soit par modifications volontaires ou non peuvent ensuite se retrouver dans les lixiviats de décharges. Tout comme dans le milieu naturel, chaque compartiment (correspondant aux secteurs

d'activités) conduit à des produits et à des composés caractéristiques dont l'identification dans les lixiviats permet de remonter à leur origine.

### III.2.1 Composés associés aux matières plastiques

Les matières plastiques se définissent comme le mélange d'un polymère (ou résine) et de divers additifs, donnant un produit fini. Selon l'ADEME (2000), les déchets ménagers se composent d'environ 11% (poids humide) de matières plastiques particulièrement réfractaires à la dégradation en décharge. Cependant, l'appauvrissement en substrats et le lessivage permanent des déchets permettent tout de même la libération de certains constituants de ces matières.

Les plastifiants et les stabilisants sont les principaux composés ajoutés aux résines pour leur conférer diverses propriétés chimiques, physiques et mécaniques. Néanmoins le simple greffage de ces additifs sur la structure du polymère, les rend potentiellement mobilisables et fait d'eux des polluants. Aussi leur présence dans les eaux naturelles et les sols définit généralement une contamination par des matières plastiques. De la même manière, les lixiviats de décharges peuvent capter ces composés en lessivant les déchets. Dans les fractions extraites du lixiviat de Crézin, six composés issus des matières plastiques ont été identifiés et sont présentés au tableau II-11.

Tableau II-11 : Identité et temps de rétention des composés, associés aux matières plastiques, identifiés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*
<b>Plastifiants</b>				
Méthyl, éthyl Phtalate	-	-	-	20,01
N-butylbenzene sulfonamide	-	-	-	25,54
Dibutyl Phtalate	-	-	-	28,78
Di (2-EthylHexyle) Phtalate	-	-	-	38,60
<b>Stabilisant</b>				
Bisphénol A diméthyl éther	30,94	-	30,87	-
<b>Fragment de polymère</b>				
Acide téréphtalique diméthyl ester	-	19,68	-	19,03

Ces composés correspondent essentiellement à des additifs, notamment des plastifiants et un stabilisant de type antioxydant. Une seule molécule entrant dans la composition d'un polymère de base a été identifiée.

#### III.2.1.1 Plastifiants

Les plastifiants correspondent à des substances ajoutées aux formulations plastiques en vue de faciliter la mise en forme et de réduire la fragilité des produits finis. Parmi les plus connus, on distingue le groupe des phtalates, polluants récurrents de l'environnement, mais de nombreux autres plastifiants sont aussi régulièrement utilisés.

##### III.2.1.1.1 Phtalates

Les phtalates retrouvés dans des échantillons environnementaux ont longtemps été attribués à des sources naturelles, mais sans qu'aucune confirmation n'étaye cette hypothèse (Mathur, 1974). Toutefois, l'apport naturel de phtalates est probablement négligeable par rapport à l'apport anthropique. En effet la principale source de phtalates dans l'environnement est due à la fabrication et à la combustion des matières plastiques (emballages alimentaires, cosmétiques, matériel médical, jouets, vêtements...). De nombreux produits plastiques

finissant en décharge, les phtalates peuvent être relargués dans le lixiviat (Bauer *et al.*, 1998) puis dégradés par les microorganismes. Ejlertsson *et al.* (1996b) ont étudié la dégradation de diesters d'acides phtaliques en mono esters puis en acide phtalique sous des conditions méthanogènes.

Dans les décharges, la présence de phtalates a été observée dans de nombreux sites européens et internationaux (Bauer & Herrmann, 1997 ; Yasuhara *et al.*, 1997 ; Jonsson *et al.*, 2003a). Les gammes de concentration retrouvées dans des lixiviats de décharge pour divers phtalates sont présentées au tableau II-12.

Tableau II-12 : Concentrations de certains phtalates dans des lixiviats de Déchets d'Ordures Ménagères (DOM), de Déchets Industriels (DI) et de Déchets Plastiques (DP).

	Andreottola & Cannas, 1992 ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) DOM	Christensen <i>et al.</i> , 2001 ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) DOM	Urase, 2003 ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ )		Yasuhara <i>et al.</i> , 1997 ( $\mu\text{g.L}^{-1}$ ) DI
			DP	DI	
<b>DiEthyle Phtalate (DEP)</b>	12-230	10-660	0,3	0,2-1,3	0,11-2,8
<b>DiButhyle Phtalate (DBP)</b>	-	5-15	7,7	3,6	0,8-1,1
<b>ButylBenzyle Phtalate (BBP)</b>	10-64,1	-	-	-	-
<b>Di(2-EthylHexyle) Phtalate (DEHP)</b>	91-7900	-	260	-	2,51

La composition des déchets, notamment des matières plastiques, conditionne probablement le type de phtalates susceptibles d'être retrouvés dans les lixiviats. Néanmoins des phtalates sont observés un peu partout dans les décharges et les lixiviats, mais aussi dans le milieu naturel. En effet en raison de leur lessivage et de rejets importants dans l'atmosphère, ces composés sont devenus ubiquistes (Fromme *et al.*, 2002) si bien qu'actuellement des phtalates ont été identifiés dans différents types d'échantillon comme les composts de déchets d'ordures municipales (Gonzalez-Vila *et al.*, 1982), les boues et les eaux résiduaires urbaines (Boutrup *et al.*, 1998), les sédiments de fleuve (Möder *et al.*, 1998), les sols (Vikelsøe *et al.*, 1999 ; Vikelsøe *et al.*, 2002) et les eaux naturelles (Cai *et al.*, 2003).

Dans les fractions extraites du lixiviat de Crézin, seulement deux phtalates (DBP et DEHP) et un de leurs dérivés (Méthyl, ethyl phtalate) ont pu être identifiés.

### Méthyl, éthyl phtalate

Ce phtalate, peu usuel, est probablement un phtalate plus commun partiellement dégradé. Avec une masse moléculaire de  $208\text{g.mol}^{-1}$ , il s'agit probablement du monoester correspondant au DEP mais dont la fonction acide aurait été méthylée par le TMAH. En effet, les monoesters d'acides phtaliques sont souvent observés dans les lixiviats et confirment en général une dégradation des diesters correspondants. Néanmoins leur présence, à des fortes teneurs dans les lixiviats peut aussi bien s'attribuer à une difficulté de conversion des monoesters en acide phtalique qu'à leur caractère un peu plus hydrophile (Jonsson *et al.*, 2003b). Dans les diverses fractions du lixiviat, aucun fragment correspondant au DEP n'a été identifié soit en raison de son absence soit parce qu'il a été presque totalement transformé en monoester ou bien parce qu'il est coélué avec d'autres composés.

Le DEP est utilisé comme plastifiant dans de nombreux produits de consommation, comme des films plastiques, des formulations cosmétiques et certains articles de toilette. Mais en comparaison aux autres phtalates, il parvient beaucoup moins facilement à se lier aux sédiments. Ainsi CICAD (2003) estime qu'entre 70% et 90% de la quantité de DEP se retrouve dans la colonne d'eau.

### **Dibutylphtalate (DBP)**

Le phtalate de dibutyle est surtout utilisé comme plastifiant dans les émulsions de polyvinyle (Bizzari *et al.*, 1996). En 1991, environ 54% du DBP était utilisé dans la fabrication d'adhésifs, 15% dans la fabrication de revêtements et le reste dans diverses applications (Environnement Canada, 1994a). Ce composé est également utilisé dans les cosmétiques comme fixateur pour les parfums ou comme plastifiant des vernis à ongles, laques et autres aérosols (CIR, 1985).

### **Diéthylhexylphtalate (DEHP)**

Le DEHP est l'un des plastifiants les plus employés. En 1991, environ 51% du DEHP été utilisé dans les produits en vinyle (faux plafonds,...), 35% dans les pellicules de chloroéthylène polymérisé, 6% dans les revêtements de plancher, 2,6% dans le caoutchouc et le reste dans divers produits (Environnement Canada, 1994b). Chimiquement, le DEHP présente un moindre risque de contamination en raison de son caractère hydrophobe, de sa solubilité et la façon dont il est incorporé aux produits commerciaux (Environnement Canada, 1994b), toutefois sa forte utilisation en fait un polluant récurrent.

#### III.2.1.1.2 Autres plastifiants

Les phtalates sont les principaux plastifiants utilisés dans la fabrication des matières plastiques, mais d'autres types de plastifiants sont aussi employés. Il s'agit essentiellement des composés synthétisés chimiquement comme des adipates, des glycolates, des sébacates, des sulfonamides et d'autres. Ils assurent également la protection des résines plastiques, mais leur utilisation est plus spécifique à un besoin ou une exigence.

Dans le lixiviat de Crézin, seul le N-butylbenzène sulfonamide a été identifié parmi ces autres types de plastifiants.

### **N-butylbenzène sulfonamide**

Le N-butylbenzène sulfonamide (BBSA) est un plastifiant fréquemment rencontré dans les résines de polyamide pour augmenter leur flexibilité à basse température. Il contribue également au meilleur usinage des résines et leur donne une bonne stabilité à la chaleur (80°C). On le retrouve dans de nombreuses pièces moulées de polyamide, des tuyaux souples, dans plusieurs types de nylons et d'adhésifs. Le BBSA est principalement identifié dans les lixiviats de certains déchets industriels (87-3100µg.L<sup>-1</sup>) et de déchets très riches en matières plastiques (270µg.L<sup>-1</sup>) (Urase, 2003). Comme il rentre également dans la composition de certains types de fibres textiles (Larsen *et al.*, 2000), son apport au lixiviat pourrait être également dû aux matières textiles (2,6% d'un déchet, ADEME, 2000). Sa présence est moins souvent rapportée que les phtalates en raison probablement d'une utilisation moins intensive ou d'un usage dans des produits peu rejetés en décharge. Néanmoins il commence à être observé à l'état de trace (36-465ng.L<sup>-1</sup>) dans certains estuaires (Oros, 2002).

#### III.2.1.2 Stabilisants

Les stabilisants correspondent à d'autres additifs qui sont introduits dans les matières plastiques. Ils assurent une protection contre l'altération des matériaux provoquée par la chaleur, l'oxydation ou les rayonnements solaires. Lors de la mise en forme, de l'entreposage ou du vieillissement, la plupart des polymères subissent en effet une certaine dégradation que les antioxydants peuvent empêcher ou retarder. Parmi les fractions extraites de la MO du lixiviat de Crézin, le seul stabilisant identifié correspondrait au Bisphénol A.

### **Bisphénol A diméthyl éther**

Le bisphénol A diméthyl éther pourrait correspondre au bisphénol A sous sa forme méthylée par le TMAH. Le bisphénol A ou 4,4-(1-méthyléthylidène)bisphénol rentre dans la fabrication

de plusieurs résines en polycarbonate, époxy ou phénoxy, mais il semble surtout utilisé comme antioxydant pour certains plastiques (Ash & Ash, 1995). Selon Safe & Gaido (1998), il est parfois employé comme fongicide. Le bisphénol A est abondamment présent dans les lixiviats de décharges de produits dangereux mais son origine serait essentiellement due aux matières plastiques (Yamamoto *et al.*, 2001 ; Nascimento Filho *et al.*, 2003). Il est aussi fréquemment retrouvé dans les lixiviats d'ordures ménagères (Urase, 2003) et dans l'environnement. Staples *et al.* (1998) rapportent sa toxicité et dressent son devenir dans les eaux naturelles et les sédiments. Le tableau II-13 rassemble les concentrations en bisphénol A dans divers lixiviats de déchets.

Tableau II-13 : Concentrations du bisphénol A dans des lixiviats de Déchets d'Ordures Ménagères (DOM), de Déchets Industriels (DI) et de Déchets Plastiques (DP).

	Yasuhara <i>et al.</i> , 1997 µg.L <sup>-1</sup> DI	Yamamoto & Yasuhara, 1999 µg.L <sup>-1</sup> DP	Yamamoto <i>et al.</i> , 2001 µg.L <sup>-1</sup> DI	Urase, 2003 µg.L <sup>-1</sup> DOM	DI
<b>Bisphénol A</b>	0,1-12,3	0-139	1,3-17200	3400	15-3000

### III.2.1.3 Fragments de polymères

Les polymères constituant la structure de base des matières plastiques sont formés par la répétition d'un même motif. La nature chimique de ce motif détermine leur nom. Les plastiques les plus communs aux déchets sont le polyéthylène (PE) pour les flacons et les sacs, le polypropylène (PP) pour les films et godets, le polystyrène (PS) pour les barquettes, le polychlorure de vinyle (PVC) et le polyéthylène téréphtalate (PET) pour les bouteilles contenant des boissons. De par leur structure, ces composés sont généralement très stables et peu biodégradables. Néanmoins, sans certains additifs, ils s'avèrent plus sensibles aux agressions chimiques et physiques du milieu extérieur (Colin, 2000). Par conséquent, leur vieillissement et un lessivage permanent en décharge peuvent conduire à leur altération.

Un seul composé susceptible d'être un fragment de polymères a été retrouvé dans les fractions issues du lixiviat de Crézin : l'acide téréphtalique diméthyl ester.

#### **Acide téréphtalique diméthyl ester**

Ce composé correspondrait à l'acide téréphtalique méthylé par le TMAH. L'acide téréphtalique est largement employé dans la production de fibres de polyester, de résines, d'adhésifs et de films de polyester (films photo, bandes audio/vidéo) mais il rentre principalement dans la synthèse du polyéthylène téréphtalate (PET) par réaction avec le diéthylène glycol. Le PET est un polymère essentiellement destiné aux bouteilles d'eau et de boissons gazeuses. Selon les travaux de Launay (1997) et Launay *et al.* (1999) sur le vieillissement des polymères en milieux humides, l'hydrolyse du PET conduirait à de petites molécules dont l'acide téréphtalique et l'éthylène glycol. Une décomposition du PET dans la décharge expliquerait alors la présence d'acide téréphtalique dans les lixiviats comme observée par Schwarzbauer *et al.* (2002).

### III.2.1.4 Discussion

L'identification de plusieurs fragments relatifs aux matières plastiques met en évidence leur forte contribution à la MO du lixiviat. Ainsi la présence d'acide téréphtalique semblerait indiquer l'hydrolyse du PET des bouteilles issues de la consommation des ménages. De même, l'absence d'autres fragments de polymères mais la présence d'adjuvants de fabrication comme les plastifiants (phtalates et autres) et les anti-oxydants (bisphénol A) souligneraient également l'altération et le lessivage des déchets plastiques dans la décharge. Le site de

Crézin, en activité de 1974 à 1998, est considéré comme en fin de phase méthanogène et début de phase de stabilisation, aussi les composés les plus biodégradables ont probablement été éliminés par la biomasse qui doit utiliser désormais des composés plus réfractaires. Des déchets d'ordures ménagères de 20 et 30 ans contiennent en moyenne entre 10 et 15% de plastiques (François, 2004). On peut donc supposer que les déchets du site de Crézin présentent encore des matières plastiques qui sous l'action combinée de la biomasse bactérienne et du lessivage s'altèrent en libérant leurs composés les moins fortement liés. Néanmoins, le sulfonamide identifié, bien qu'étant considéré comme un plastifiant, peut également signaler l'existence de fibres textiles relativement préservées. Aussi la présence de plastifiants intacts dans un lixiviat relatif à un site âgé, traduit au delà de leur faible biodégradabilité, leur contribution, au sein de la matrice organique, et à cet instant, d'éléments issus des composés les plus réfractaires (matières plastiques, textiles,...).

De nombreux microorganismes relatifs aux décharges sont pourtant capables de dégrader les composés anthropogènes présents dans le lixiviat et les déchets (Ejlertsson *et al.* 1996b), mais les conditions physico-chimiques du milieu influencent grandement leur activité. Ainsi, lors de la méthanogénèse, les bactéries pourraient hydrolyser des polymères organiques auparavant délaissés puisque les composés organiques facilement métabolisables sont épuisés. Par conséquent le méthyl, éthyl phtalate illustrerait cette dégradation d'éléments anthropiques (entre autre le DEP) par les bactéries du milieu et la contribution de leurs résidus de dégradation à la MO du lixiviat.

### III.2.2 Autres xénobiotiques organiques

Les xénobiotiques organiques correspondent à des composés chimiques bien connus, constituant individuellement des polluants pour l'environnement. Avec l'intensification des activités industrielles de nombreux xénobiotiques sont apparus, mais l'essor des techniques d'analyse a largement amélioré leur identification. Selon Christensen *et al.* (2001) plus de milles composés organiques peuvent être identifiés dans des eaux souterraines contaminés par des lixiviats de décharges. Ces composés proviennent principalement des produits industriels, des pesticides, des dérivés aromatiques, des substances pharmaceutiques ou cosmétiques et de manière générale de nombreux produits synthétisés par l'homme. Les composés associés aux matières plastiques définis au paragraphe précédent rentrent également dans cette catégorie.

L'analyse des différents fragments du lixiviat de Crézin a permis de reconnaître un seul micro polluant organique autre que ceux liés aux matières plastiques. Il est présenté au tableau II-14.

Tableau II-14 : Identité et temps de rétention du composé organique xénobiotique retrouvé dans une des fractions du lixiviat de Crézin.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*
Phénanthrène	37.32	-	-	-

#### Phénanthrène

Les hydrocarbures aromatiques polycycliques sont des composés pétrogéniques, d'origine naturelle, qui se caractérisent par une forte proportion d'hydrocarbures aromatiques ramifiés (possédant des groupements alkyles comme substituant). La combustion incomplète de ces matières organiques fossiles par l'industrie chimique, la sidérurgie, les incendies, les moteurs à combustion et les incinérateurs de déchets urbains (Ruokojarvi *et al.*, 1995 ; Johansson & van Bavel, 2003) produit des Hydrocarbures Aromatiques Polycycliques dit pyrogéniques (HAP) comme le phénanthrène. Ces hydrocarbures anthropiques sont ceux qui prédominent dans l'environnement. Leur présence dans les écosystèmes est principalement attribuée au déversement d'huiles, aux déchets industriels mais aussi à des redépôts suite au transport atmosphérique (Bayona *et al.*, 1993). Généralement, les HAP de plus faibles poids

moléculaires, comme le phénanthrène, dominant à l'état dissous alors que les HAP identifiés dans les matières en suspension et les sédiments se caractérisent par des structures de plus hauts poids moléculaires, beaucoup moins solubles dans l'eau (Sicre *et al.*, 1993 ; Karapanagioti *et al.*, 1999). Yasuhara *et al.* (1997) ont mis en évidence de faibles concentrations (11ng.L<sup>-1</sup>) en phénanthrène dans des lixiviats de décharges d'OM.

La présence de composés xénobiotiques, autres que ceux liés aux matières plastiques, semblerait aussi indiquer leur implication dans l'élaboration de la MO du lixiviat, puisqu'au moins l'un d'entre eux a été retrouvé. Les déchets industriels banals, déposés de 1975 à la fermeture (soit 25% des déchets), peuvent en partie expliquer la présence de xénobiotiques comme le phénanthrène. Cependant son origine est probablement plutôt due aux cendres d'incinération de déchets ménagers. En effet, les HAP, créés lors d'une combustion incomplète de composés organiques, se répartissent dans les fumées (Yang *et al.*, 2002) et dans les cendres (Dugeneat *et al.*, 1999) d'incinération. A partir de 1988, le site de Crézin a accueilli les résidus de l'incinérateur de la ville de Limoges pendant presque 10 ans. Selon Johansson & van Bavel (2003), le phénanthrène et le naphthalène dominant dans les cendres issues d'incinération d'ordures municipales. Par conséquent la présence du phénanthrène dans les lixiviats n'est pas surprenante d'autant que la matière organique facilite sa solubilisation (Lassen & Carlsen, 1997) et le rend plus facilement lessivable (Johansson *et al.*, 2000).

### III.2.3 Distribution des composés anthropiques

La plupart des composés anthropiques identifiés dans le lixiviat (plastifiants ou xénobiotiques) révèlent une faible solubilité dans l'eau et une grande hydrophobie (Hansch *et al.*, 1995). De ce fait, ils ne sont pas fondamentalement censés se retrouver préférentiellement dans la fraction dissoute. Cependant, des agents tensioactifs comme les alkylbenzènes linéaires et la matière organique peuvent augmenter la lixiviation des polluants organiques des déchets (Sakai *et al.*, 2000). De plus, la composition du milieu liquide (dans notre cas, le lixiviat) a un impact significatif sur la solubilité des contaminants organiques, notamment dans les systèmes mixtes (liquide/solide) comme les sols et les déchets où les eaux de percolation sont invariablement un mélange d'eau et d'un ou plusieurs composés non aqueux (Christensen *et al.*, 2001). Ces matrices liquides très complexes accroissent la solubilité des composés hydrophobes. L'augmentation de la solubilité est néanmoins fonction de la quantité et de la nature de la fraction non aqueuse qui agit en tant que co-solvant (Grundl & Cherkauer, 2003). Dans les lixiviats de décharges, la présence de nombreux composés organiques semble ainsi diminuer la capacité de sorption de certaines molécules organiques aux interfaces solides (Grundl & Cherkauer, 2003). Ainsi, les HAP peuvent être lessivés de cendres contenant encore des composés organiques notamment des SH\* susceptibles de les transporter (Pavasars, 1999) et de les disperser au sein de la matière organique. Le tableau II-15 synthétise la répartition des différents types de composés anthropiques identifiés dans les fractions extraites du lixiviat.

Tableau II-15 : Répartition des différents types de composés anthropiques identifiés au sein des fractions extraites du lixiviat.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*
<b>Plastifiants</b>	-	-	-	X
<b>Antioxydants</b>	X	-	X	-
<b>Fragments de polymères</b>	-	X	-	X
<b>Xénobiotiques</b>	X	-	-	-

Les plastifiants (phtalates et autres) ne sont pas identifiés dans les fractions AH\*, AF\* et TPH\*, mais seulement dans la fraction de type hydrophile (HPI\*). Ils montrent ainsi un caractère plutôt hydrophile alors que leurs propriétés chimiques évoquent le contraire. On peut donc supposer qu'ils seraient éventuellement liés à des composés organiques hydrophiles favorisant leur solubilité ou bien encore que le nombre et la diversité des composants organiques du lixiviat engendrent à leur détriment des compétitions lors de la rétention sur résines. En effet, ces composés de par leur hydrophobie devraient se trouver piégés sur les résines d'autant que certains protocoles analytiques utilisent justement des résines type XAD 4 pour les extraire (Nascimento Filho *et al.*, 2003).

La présence de l'acide téréphtalique à la fois dans la fraction AF\* et dans la fraction HPI\* pourrait indiquer qu'une partie du composé connaisse les mêmes types de phénomènes que les phtalates alors que le reste s'adsorbe sur les résines hydrophobes.

Par contre, la distribution du xénobiotique, essentiellement dans la fraction AH\*, soulignerait uniquement une interaction avec la MO. En effet, ce type de composés s'adsorbe généralement assez bien sur les acides humiques (AH) de sols par interactions faibles (liaisons hydrogène, force de Van der Waals), par interactions hydrophobes (Loffredo *et al.*, 2000) ou bien encore par mécanismes de transfert de charges entre structures aromatiques (Kukkonen *et al.*, 1990). Par conséquent, les xénobiotiques se rencontrent en phases aqueuses, associés à des fractions de matière organique soluble ou des colloïdes organiques ou minéraux (Dizer *et al.*, 2002). Aussi, la présence de phénanthrène dans la fraction AH\* du lixiviat pourrait s'expliquer soit par son adsorption sur les composés de type AH\* précipités, soit par précipitation de son association avec d'autres composés.

L'antioxydant, présent à la fois dans les fractions AH\* et TPH\*, pourrait aussi avoir engendré le même type d'interactions que le xénobiotique, mais s'être également associé à des composés plus solubles.

### III.3. Autres composés

Les lixiviats d'OM recèlent d'innombrables composés de par la diversité des constituants du déchet. Cette multiplicité des sources et le grand nombre de processus biologiques et chimiques en décharge complexifient la détermination des origines de nombreux composés. Aussi, l'identification de certaines structures n'apporte guère d'indications sur la matière naturelle ou non formant la matière organique du lixiviat.

Le tableau II-16 rapporte les composés carbonés, azotés et soufrés identifiés mais dont l'origine n'a su être déterminée.

Tableau II-16 : Identité et temps de rétention des composés carbonés, azotés et soufrés retrouvés dans les fractions du lixiviat de Crézin mais non attribués à une source.

	AH*	AF*	TPH*	HPI*
<b>Composés carbonés</b>				
Acide benzoïque méthyl ester	8,63	-	-	8,64
3-Phénoxytoluène	25,14	-	-	-
<b>Composés azotés</b>				
méthyl 4-(méthylamino)benzoate	-	-	-	13,15
N-(méthyl)phtalimide	-	-	-	17,24
<b>Composés soufrés</b>				
N-chloropropyl N-méthyl benzène sulfonamide	-	-	24,99	-

Le stockage en décharge, en mélangeant diverses sortes de déchets, favorise ainsi la coexistence de nombreux composés au sein du lixiviat. Les différents composés retrouvés dans le lixiviat de Crézin et d'autres (Schwarzbauer *et al.*, 2002), témoignent de cette diversité de substances. Cependant, pour bon nombre d'entre eux, l'origine précise de leur présence dans le lixiviat demeure assez confuse d'autant qu'ils peuvent avoir été altérés. La biodégradation anaérobie des déchets passe en effet par une transformation des polymères complexes (cellulose, structures anthropogéniques...) en méthane et CO<sub>2</sub>. La décomposition causée par les processus biologiques et chimiques altère les composés mères et engendre de nombreux sous-produits pas nécessairement tous identifiés. De même, certains types de déchets comme les cendres peuvent apporter des composés préalablement altérés. En effet, la combustion idéale des déchets résulte en un transfert complet du carbone solide en CO<sub>2</sub>, malheureusement cette réaction est rarement achevée. Ainsi les cendres d'incinérateurs renferment encore de la matière organique incombustible et des composés partiellement incinérés (Ferrari *et al.*, 2002). Cependant ces structures ont pu subir de nombreuses modifications sous l'action de phénomènes thermiques. Les produits les plus connus résultant de combustions incomplètes sont les HAP, mais d'autres composés sont probablement aussi créés.

Il existe également une autre voie de dégradation de la matière organique brute, mais ne conduisant pas nécessairement à une décomposition, il s'agit de « l'humification ». Ce phénomène conduit au contraire à la biosynthèse d'un nouveau matériel organique : les substances de type humique (SH\*). Les substances humiques naturelles sont des composés macromoléculaires de nature polymérique, poly-fonctionnelles et à caractère acide (Thurman, 1985 ; Ziechmann & Huebner, 2000). Ces composés constituent la fraction encore méconnue de la matière organique, tant leur structure est complexe et sans modèle universel. Ainsi, la présence d'éléments carbonés, azotés et soufrés non identifiables pourrait être attribuée à la genèse de matériel de type humique dans la décharge. Les fragments retrouvés pourraient correspondre à des éléments de macromolécules ou de supramolécules constitutives des SH\*. En effet, un nouveau concept a récemment émergé concernant la nature des SH. Ces composés seraient des supramolécules constituées de petites molécules liées par des liaisons de faible énergie (hydrophobes ou liaisons hydrogène) (Piccolo, 2001).

La distribution des composés « sans origine » s'avère assez disparate au sein des fractions du lixiviat. Aussi, il est difficile de conclure quant à leur distribution. Les composés carbonés pourraient découler de structures humifiées en raison de leur présence dans la fraction AH\*, toutefois des phénomènes d'adsorption de composés dégradés (naturels ou anthropogènes) ne sont pas à exclure lors de la précipitation de cette fraction. De même, la présence de plusieurs fragments dans la fraction HPI\* tendrait plutôt à montrer des molécules hydrophiles de plus petites tailles et probablement partiellement dégradées. Les formes azotées, essentiellement retrouvées dans la fraction HPI\*, sembleraient également peu impliquées dans des structures complexes. Leur présence majoritaire dans la fraction hydrophile se recouperait avec la répartition de l'azote organique définie à la **1<sup>ère</sup> Partie** paragraphe V.3. De même, la mise en évidence de composés soufrés corroborerait les fortes teneurs en soufre fréquemment observées dans la MO des lixiviats (Weis *et al.*, 1989 ; Lagier, 2000).

#### **IV. Conclusion**

De par les données de l'analyse structurale, la matière organique du lixiviat peut être présentée comme un ensemble de trois origines distinctes : une origine allochtone, une origine anthropogène et une origine autochtone. La figure II-6 schématise ces trois origines.

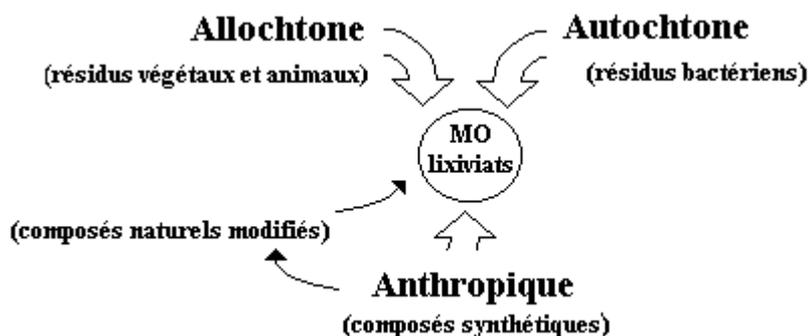


Figure II-6 : Schématisation des apports à la matière organique des lixiviats de décharge.

- La présence de nombreux fragments relatifs au monde végétal (acides carboxyliques, dérivés ligneux et phytostérols) met en évidence la forte contribution de structures végétales à la matière organique d'un lixiviat même stabilisé. En revanche, les fragments identifiés étant relativement réduits par rapport à des milieux naturels terrestres (sols et tourbes) (Grasset, 1997), cette contribution semble issue d'une matière fortement dégradée. En effet, l'absence d'acides gras lourds minimise l'apport des biopolymères végétaux au lixiviat, de même que la seule présence de dérivés ligneux comme fragments de structures ligno-cellulosiques traduit un apport essentiellement de lignine.
- La présence de composés anthropogènes rattachables aux matières plastiques et aux xénobiotiques montre que l'association de résidus naturels et de résidus anthropiques se transmet de la décharge à la matière organique dissoute du lixiviat. En revanche, contrairement aux milieux naturels où le nombre restreint de composés anthropogènes identifiés traduit une pollution, leur diversité dans le lixiviat indique leur part intégrante dans la genèse de la MO. L'utilisation industrielle de certains composés comme l'acide abiétique (colle) et la cellulose (papier), empruntés aux milieux naturels, tend même à masquer la frontière entre les deux domaines. Cependant, tout comme les dérivés végétaux, les éléments anthropiques (phtalate, PET) sont également dégradés par les microorganismes et contribuent alors aussi sous forme de fragments altérés.
- La présence de composés d'origine « supposée bactérienne » indique la contribution d'une matière organique autochtone puisque l'identification d'indicateurs bactériens (acide C15r) et de composés identifiés dans le résidu bactérien (Bactéries) montre une contribution liée au cycle de vie de ces microorganismes et non plus au résultat de leur activité (dégradation).

De plus, la distribution de ces trois apports dans diverses fractions du lixiviat semble indiquer que leur combinaison ne s'arrête pas à une association, mais va jusqu'à une interconnexion. De multiples interactions étant possibles entre les différents composés, la MO des lixiviats serait alors constituée de molécules associant des fragments des trois origines. Les processus d'humification intégrant probablement aussi ce mélange d'apports au cours de la genèse des SH\*, les macromolécules organiques des lixiviats s'en trouvent atypiques. De même, la matière organique hydrophile n'apparaît pas individuellement constituée de substances hydrophiles mais d'associations de molécules présentant diverses affinités.

En conclusion, l'apport de l'analyse structurale sur des fractions extraites s'est avéré très intéressant, mais la richesse des composés et leur altération demeurent encore une limite à la connaissance du matériel organique. L'application des argiles en conditionnement d'une pyrolyse a permis de mettre en avant de nombreux fragments, et bien que la procédure ne soit pas irréprochable elle apparaît envisageable pour analyser simplement des échantillons très riches en sels. Néanmoins, il aurait été nécessaire de la valider par comparaison avec un échantillon conditionné suivant le protocole concentration/lyophilisation.

## ***Annexes de la Deuxième Partie***

---

## Annexe A

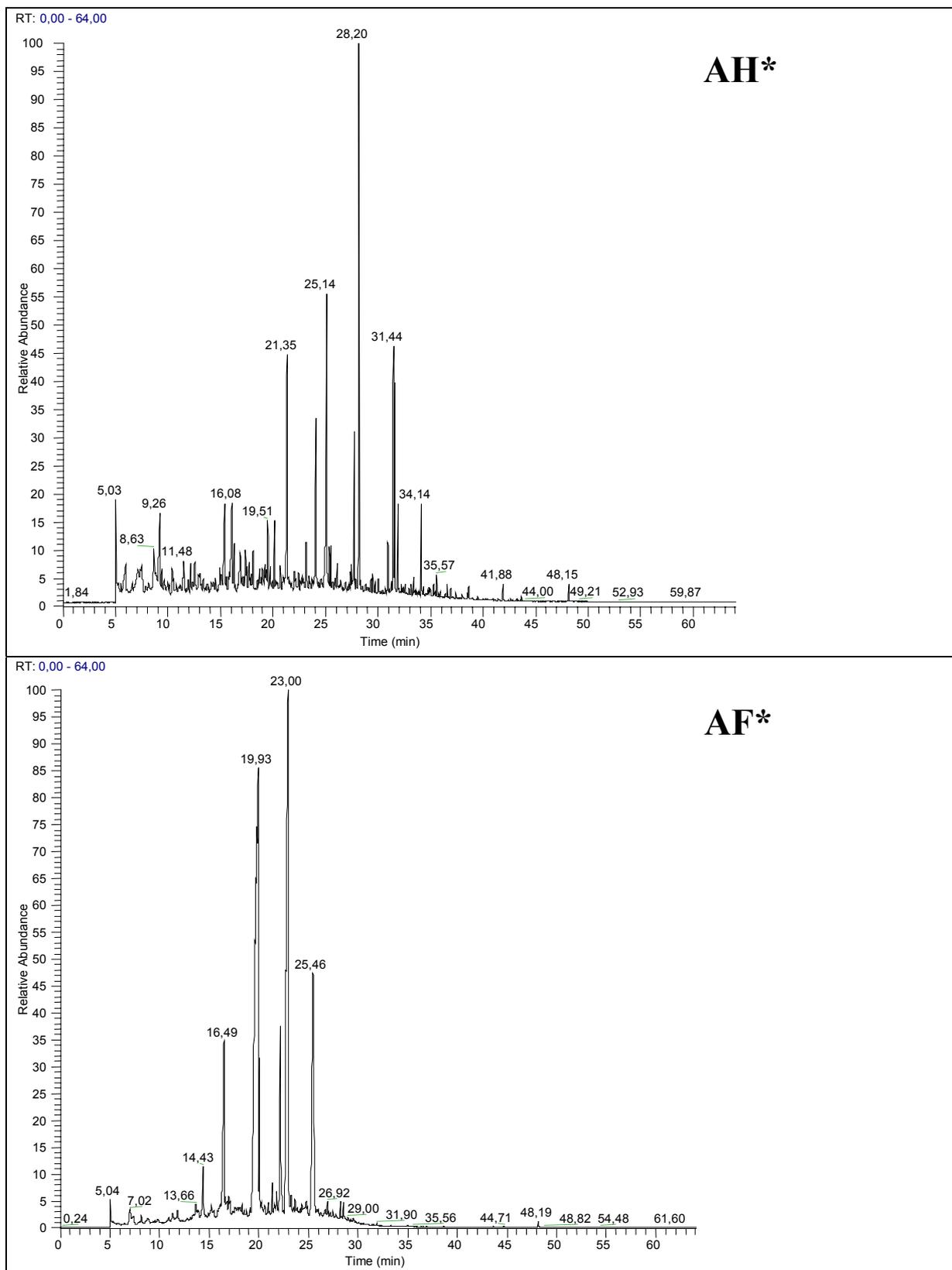


Figure II-7 : Pyrochromatogrammes des fractions AH\* et AF\* extraites du lixiviat de Crézin.

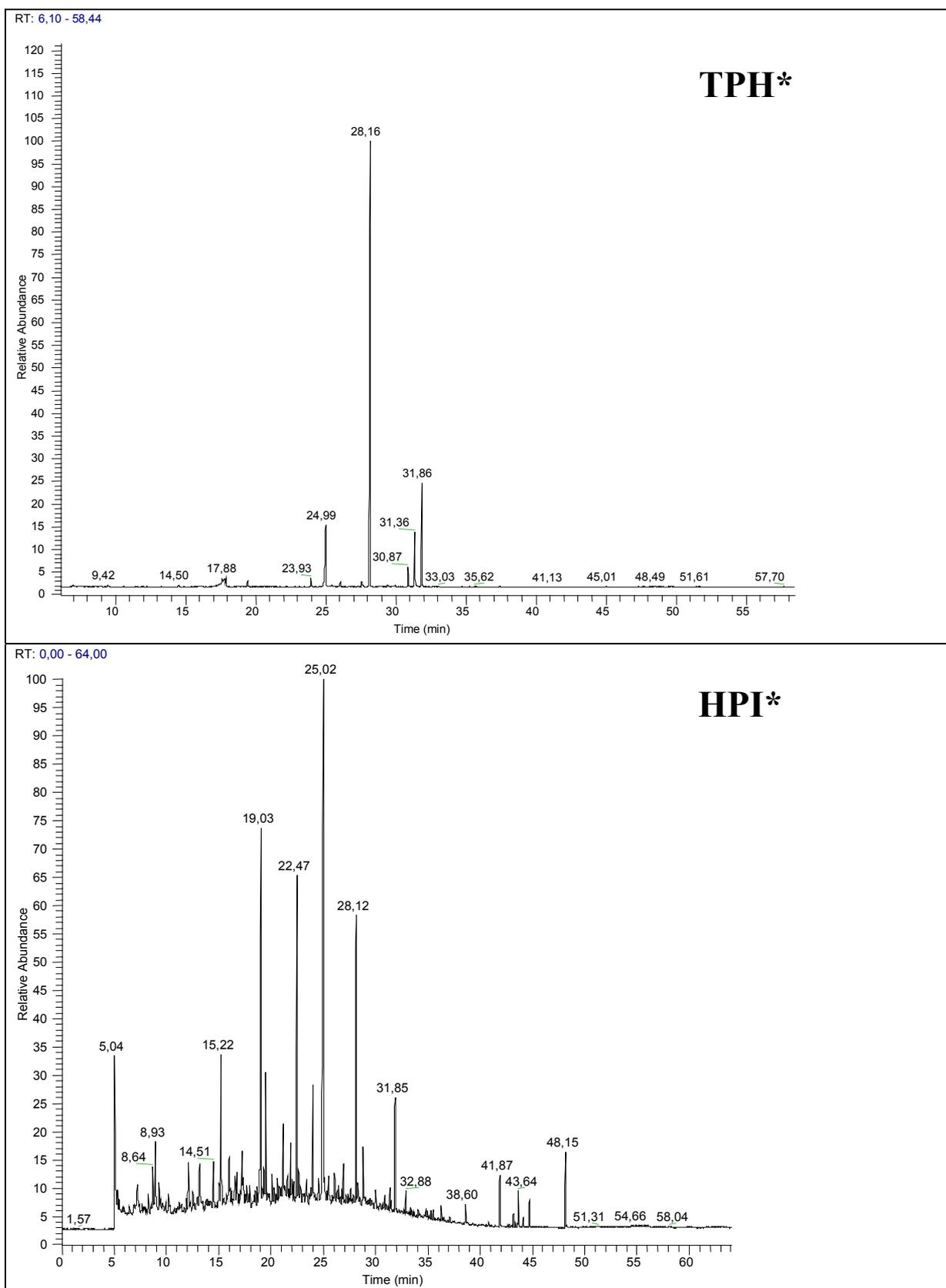


Figure II-8 : Pyrochromatogrammes des fractions TPH\* et HPI\* extraites du lixiviat de Crézin

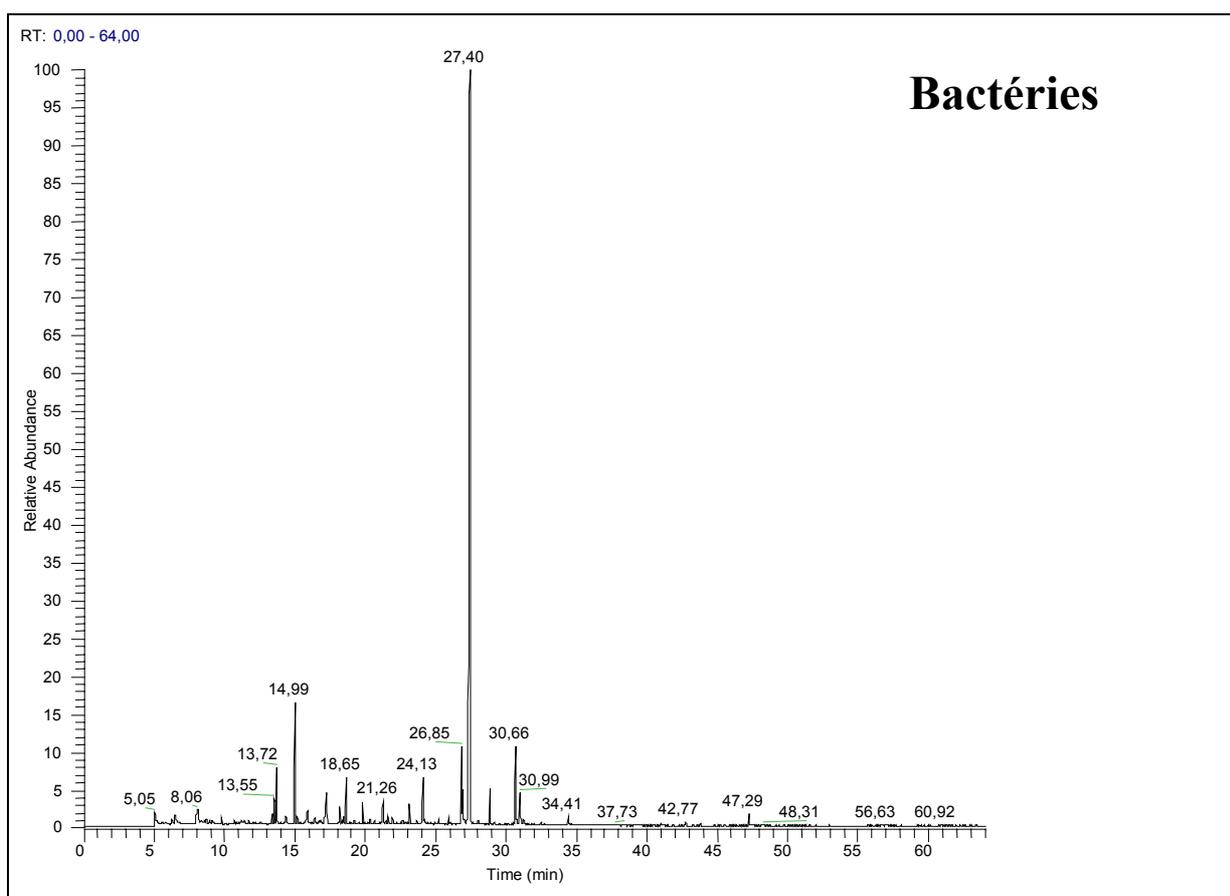


Figure II-9 : Pyrochromatogramme de l'échantillon Bactéries.

(NB : les temps de rétention de l'échantillon Bactéries sont retardés d'une minute)

## Annexe B

## Fraction AH\*

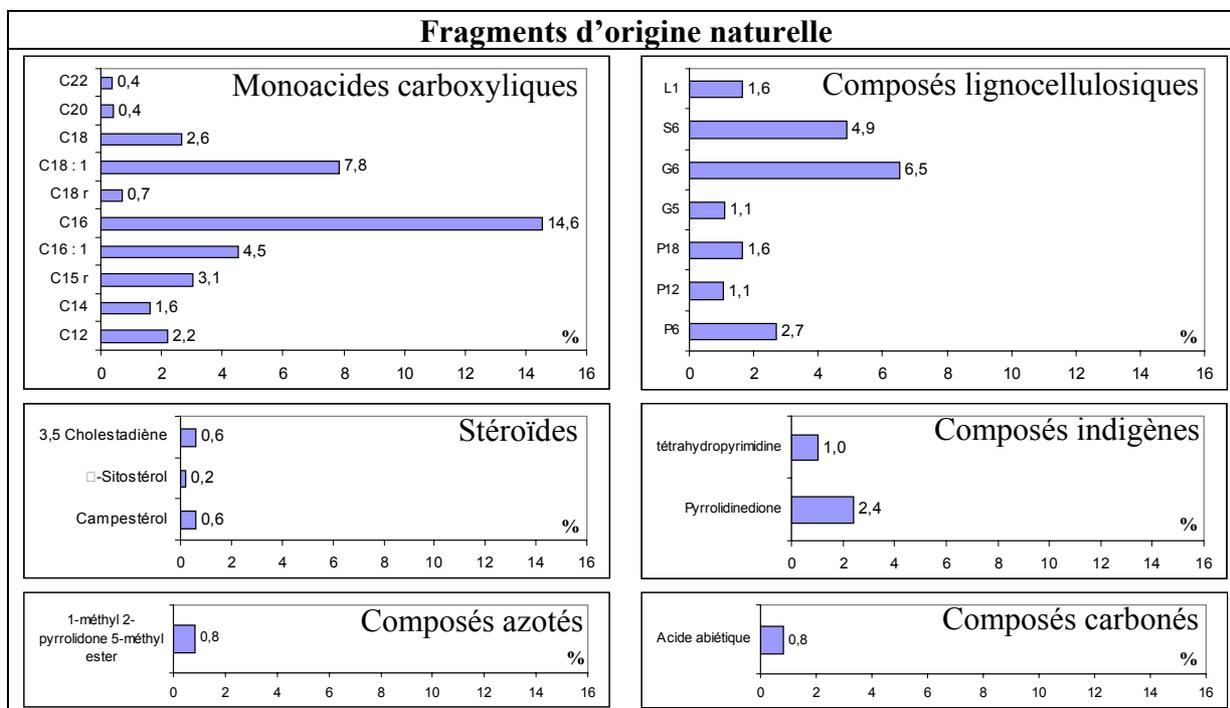


Figure II-10 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon AH\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

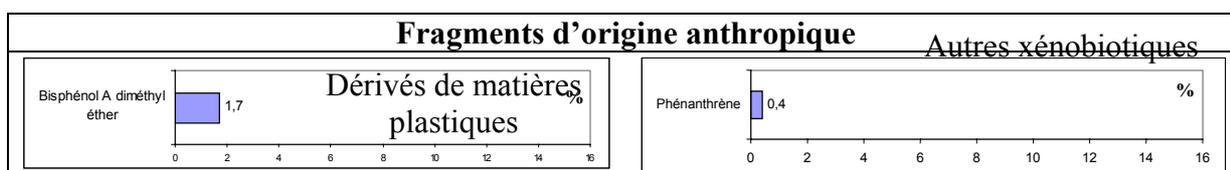


Figure II-11 : Pourcentages des fragments d'origine anthropique retrouvés dans l'échantillon AH\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

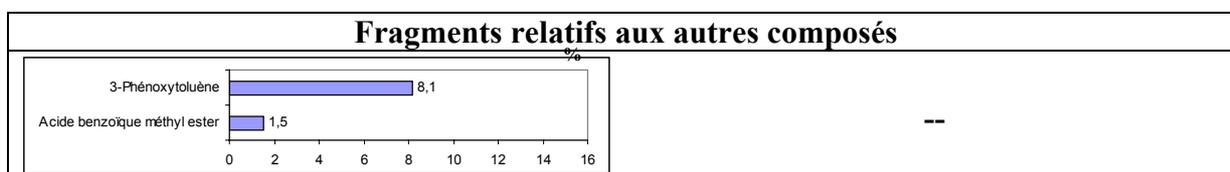


Figure II-12 : Pourcentages des fragments d'autres composés retrouvés dans l'échantillon AH\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

(NB : L'échelle d'intensité des histogrammes est exprimée en pourcentage de la surface totale)

## Fraction AF\*

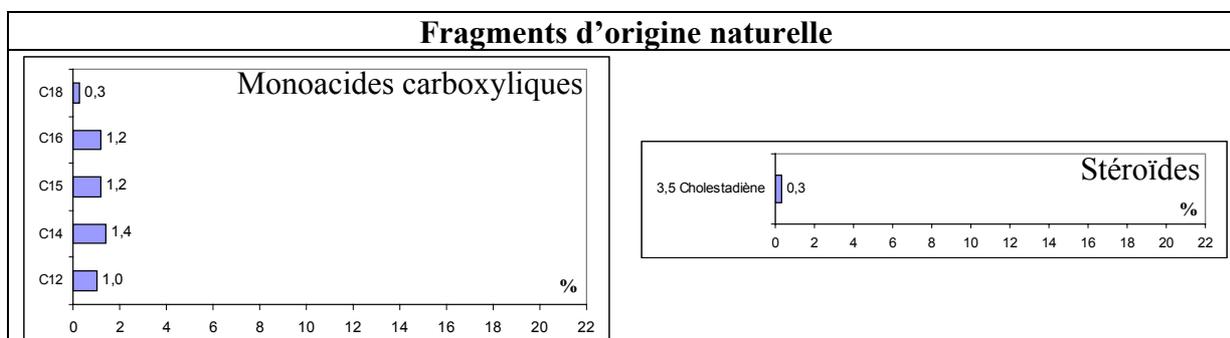


Figure II-13 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon AF\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

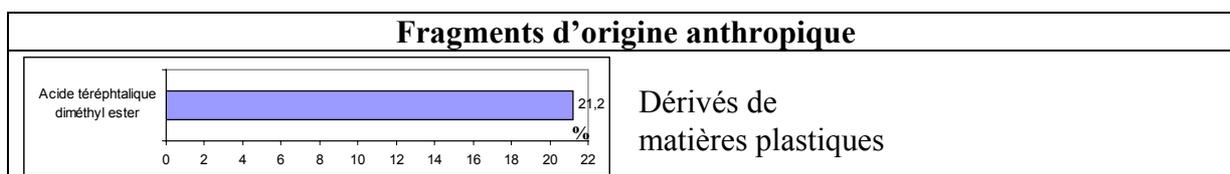


Figure II-14 : Pourcentages des fragments d'origine anthropique retrouvés dans l'échantillon AF\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

(NB : L'échelle d'intensité des histogrammes est exprimée en pourcentage de la surface totale)

## Fraction TPH\*

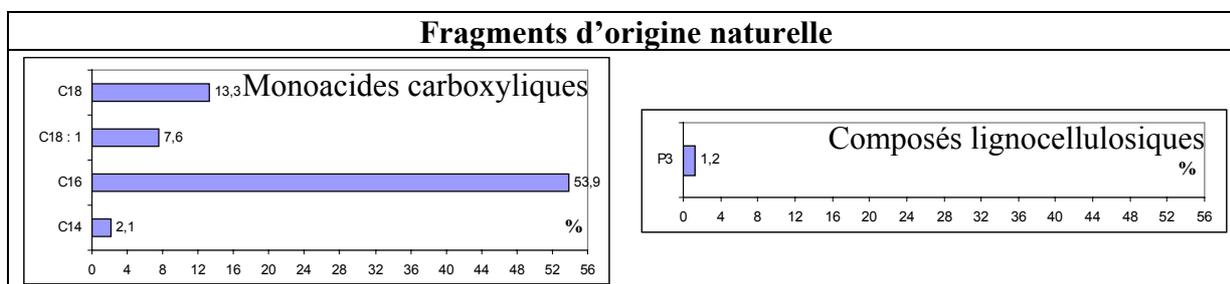


Figure II-15 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon TPH\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

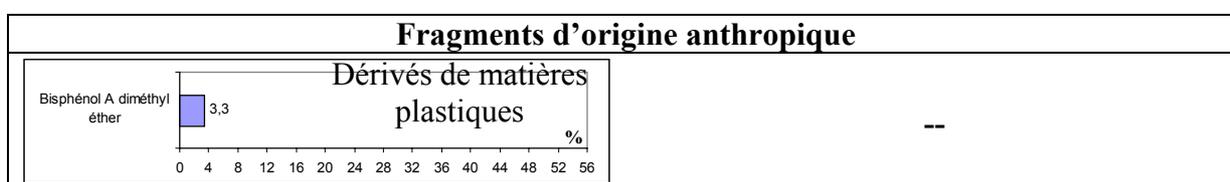


Figure II-16 : Pourcentages des fragments d'origine anthropique retrouvés dans l'échantillon TPH\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

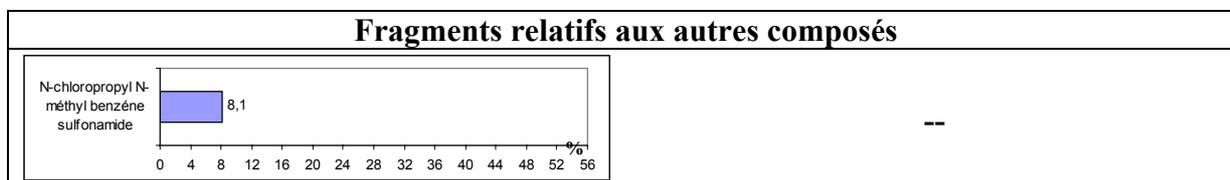


Figure II-17 : Pourcentages des fragments d'autres composés retrouvés dans l'échantillon TPH\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

(NB : L'échelle d'intensité des histogrammes est exprimée en pourcentage de la surface totale)

## Fraction HPI\*

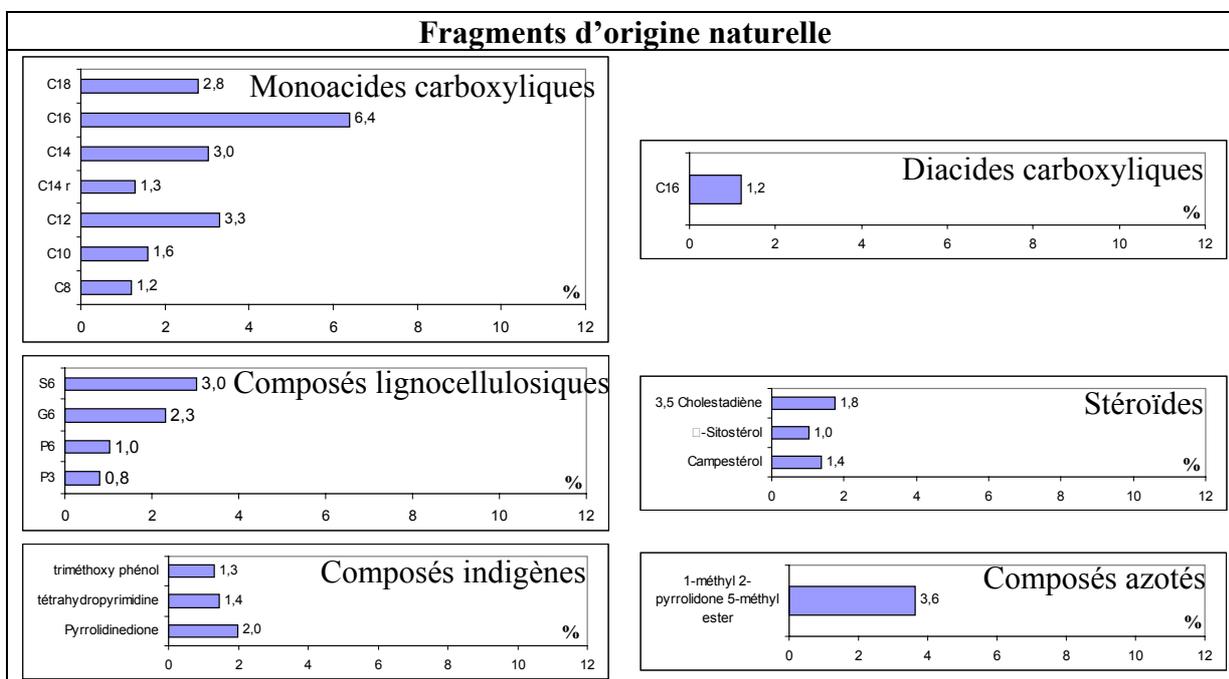


Figure II-18 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon HPI\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

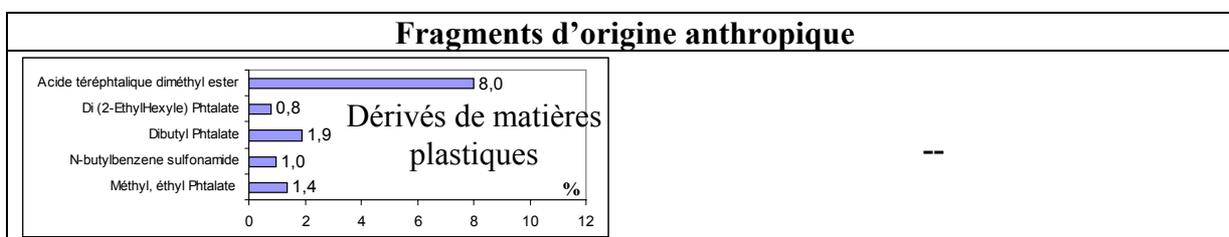


Figure II-19 : Pourcentages des fragments d'origine anthropique retrouvés dans l'échantillon HPI\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

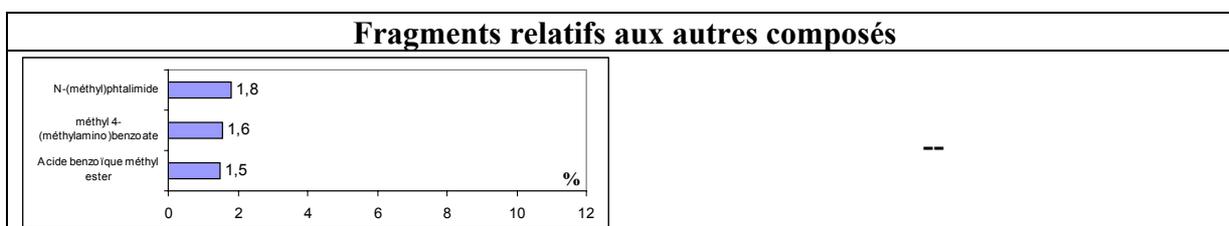


Figure II-20 : Pourcentages des fragments d'autres composés retrouvés dans l'échantillon HPI\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

(NB : L'échelle d'intensité des histogrammes est exprimée en pourcentage de la surface totale)

## Echantillon Bactéries

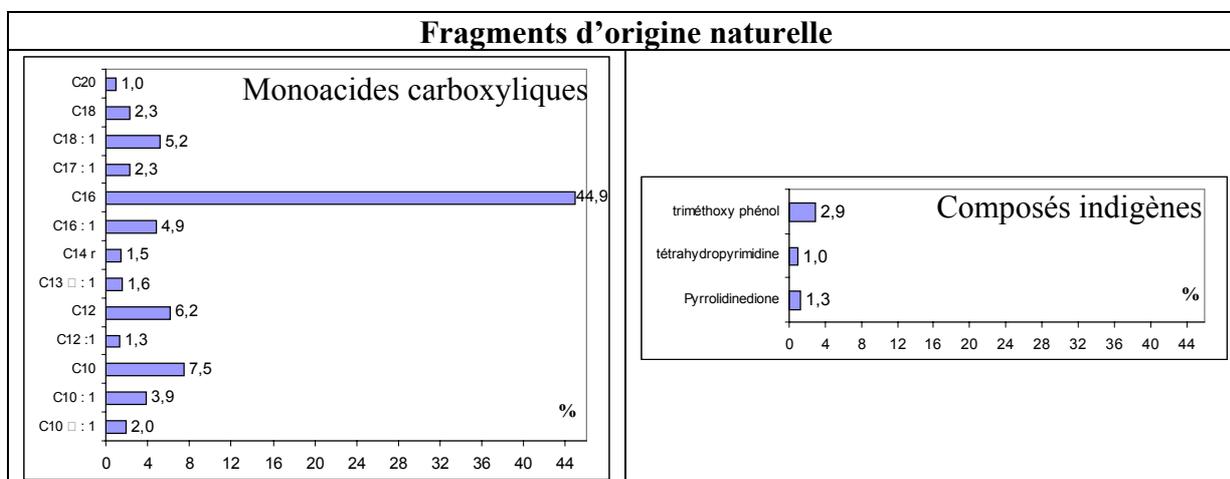


Figure II-21 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon TPH\* par analyse semi quantitative du pyrogramme.

(NB : L'échelle d'intensité des histogrammes est exprimée en pourcentage de la surface totale)

---

## **Troisième Partie**

---

## **Troisième partie :**

# RÉACTIVITÉ MICROBIOLOGIQUE DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

## APPLICATION À DES FRACTIONS EXTRAITES

La Matière Organique (MO) tient un rôle primordial dans l'activité microbiologique d'un milieu. Quelles que soient les origines : indigène, allochtone ou anthropogène, les composés organiques dissous et/ou particuliers servent de source d'énergie aux microorganismes et constituent également la matière première nécessaire à la multiplication des populations. Cependant certains composés ou certaines fractions organiques se révèlent plus réfractaires à la biodégradation que d'autres et peuvent alors s'accumuler dans les milieux.

Dans les décharges, la décomposition des déchets par les microorganismes génère la MO du lixiviat. Cette Matière Organique, notamment Dissoute (MOD), devient alors après sa biogenèse un élément primordial entretenant l'activité microbiologique. En effet, l'état dissous est présumé être un pré requis pour la diffusion de substrats à travers les membranes cellulaires si bien que la dégradation de matières organiques solides ou de grosses molécules n'intervient qu'après dissolution et hydrolyse par des exoenzymes (Marschner & Kalbitz, 2003). Une réactivité microbiologique ou « bioréactivité », traduisant les possibilités d'utilisation de la matrice organique par une population microbienne, peut être alors définie par deux principaux termes :

La **biodisponibilité**, qui exprime le potentiel d'interaction entre la MO et les microorganismes. Cette notion considère que l'utilisation de composés organiques ne doit pas nécessairement résulter de leur fragmentation en plus petites entités ou même jusqu'à minéralisation mais intègre aussi la dégradation extracellulaire des composés par les exoenzymes microbiens.

La **biodégradabilité**, qui représente l'utilisation effective de la MO par les microorganismes et traduit l'expression mesurable du potentiel d'interaction. Au sens strict, la biodégradabilité englobe deux processus, d'une part l'utilisation microbienne directe ou après décomposition de composés pour la biosynthèse de nouveau matériel cellulaire et d'autre part la minéralisation pour obtenir de l'énergie et des nutriments inorganiques.

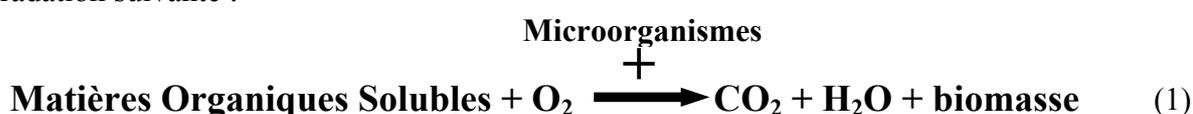
Une connaissance de cette bioréactivité est essentielle pour évaluer la persistance de la MO dans un milieu et extrapoler son devenir. Mais même si la biodisponibilité permet de déterminer l'ensemble de la part bioréactive, elle reste difficile à appréhender. Aussi la bioréactivité est surtout quantifiée par des mesures de biodégradabilité bien que ces mesures ne représentent parfois qu'une infime part du potentiel total. En outre la bioréactivité doit être systématiquement rattachée à des conditions expérimentales comme l'aérobiose, l'anoxie ou l'anaérobiose. En effet, l'évaluation de la biodégradabilité « anaérobie » d'un lixiviat apporte des informations pertinentes dans le cadre de traitements par digestion anaérobie (Lin, 1991) mais aussi pour déterminer sa capacité d'auto épuration au sein de la décharge ou lors de procédés de recirculation (Huang *et al.*, 2002). L'évaluation de la biodégradabilité « aérobie » est en revanche plus adaptée pour estimer les possibilités de traitement par le procédé des boues activées et surtout pour déterminer l'évolution immédiate de MO suite au pompage du lixiviat hors de la décharge. De même, les mesures de biodégradabilité « aérobie » effectuées sur des eaux naturelles rendues potables permettent de bien évaluer la capacité de revivification microbienne au sein des réseaux d'eaux (Volk, 2002) alors que le potentiel de biorémédiation d'un aquifère est vraisemblablement plus accessible par l'étude de la biodégradabilité en anoxie.

Cette étude se propose d'évaluer la biodégradabilité aérobie de la MO présente dans le lixiviat de Crézin et dans la rivière la Glane afin de déterminer et de comprendre comment cette matière peut être utilisée par des microorganismes. Cependant plutôt que de rester dans une approche globale de la biodégradabilité, il a été cherché à définir les fractions plus ou moins bioréactives de la MO en mesurant la biodégradabilité des fractions extraites sur résines XAD. Différents tests de biodégradabilité ont été utilisés et réadaptés avec des souches indigènes et étrangères aux lixiviat et à l'eau naturelle afin d'essayer d'observer la biodégradabilité intrinsèque à ces milieux.

## I. Biodégradabilité

### I.1. Méthodes permettant d'évaluer la biodégradabilité d'une espèce organique

La biodégradation de la matière organique se définissant comme l'utilisation de composés organiques par des microorganismes, le phénomène peut se ramener à l'équation de dégradation suivante :



Selon les principes chimiques, le suivi de l'un des termes de l'équation permet de connaître à tout moment l'état d'avancement de la réaction. Par conséquent il est possible d'estimer la biodégradation en quantifiant soit la disparition des matières organiques dissoutes ou de l'oxygène soit la production de CO<sub>2</sub> ou de biomasse.

La littérature rapporte une très grande variété de procédures basées sur la mesure de l'un ou l'autre des termes de l'équation 1. Néanmoins, suivant le terme et les outils analytiques utilisés pour suivre cette dégradation, la biodégradabilité en tant qu'assimilation et/ou minéralisation est considérée à des degrés divers. Ainsi, si la biodégradation est déterminée par l'augmentation de la biomasse, seul le Carbone Organique Assimilable (COA) est considéré (Escobar *et al.*, 2001) et la matière organique minéralisée est négligée. Par contre, si la disparition en Carbone Organique Dissous Biodégradable (CODB) est suivie, il n'est pas possible de différencier la part liée à l'incorporation microbienne de celle liée à la minéralisation. De même lorsque l'évolution des gaz O<sub>2</sub> ou CO<sub>2</sub> est mesurée, la biodégradabilité traduit l'ensemble de l'activité microbienne en tenant compte aussi bien de la multiplication des populations que de la minéralisation de la MO.

En fait, il existe peu de méthodes standardisées unanimement acceptées, et peu d'indications précises concernant le paramètre le plus approprié pour mesurer la biodégradabilité de matières organiques naturelles. L'Organisation for Economic Cooperation and Development (OECD, 1993) de même que l'International Organisation for Standardisation (ISO) proposent des méthodes standardisées de mesure de la biodégradabilité mais essentiellement pour des substances chimiques. Seul le domaine du traitement des eaux semble globalement appliquer deux procédures normalisées pour estimer la biodégradabilité dans ses échantillons. Le rapport de la Demande Chimique en Oxygène (DCO) sur la Demande Biochimique en Oxygène à 5 jours (DBO<sub>5</sub>) (respectivement NFT 90-101 et NFT 90-103) pour des eaux usées. La mesure du CODB (NFT 90-318) pour des eaux naturelles ou potabilisées.

Le tableau III-1 résume les principales méthodes permettant la détermination de la biodégradabilité de matières organiques dissoutes. Certains auteurs considèrent le phénomène comme de l'assimilation bactérienne et de la minéralisation de composés organiques alors que d'autres l'associent uniquement à de l'assimilation bactérienne.

Type d'incubation	Paramètre mesuré	ajout	Durée d'incubation			
			≤ 1jour	1 à 7 jours	1 à 4 semaines	>> 4 semaines
<b>Mesure de la biodégradabilité = assimilation + minéralisation</b>						
Réacteur discontinu	COD ou COT	inoculum			Servais <i>et al.</i> , 1987 Nelson <i>et al.</i> , 1994 Boyer & Groffman, 1996	Zsolnay & Steindl, 1991 Qualls & Haines, 1992 Boissier & Fontvieille, 1993 Servais <i>et al.</i> , 1995 Raymond & Bauer, 2001
		inoculum avec nutriments		Zsolnay, 1996 Marschner & Bredow, 2002	Andersson & Nilsson, 2001 Ogawa <i>et al.</i> , 2001	Hongve, 1999 Hongve <i>et al.</i> , 2000 Søndergaard <i>et al.</i> , 2000 Tusseau-Vuillemin <i>et al.</i> , 2003
		inoculum sur support		Joret & Lévi, 1986 Joret <i>et al.</i> , 1990 Escobar & Randall, 1999 Pinney <i>et al.</i> , 2000	Block <i>et al.</i> , 1992 Escobar <i>et al.</i> , 2001 Volk <i>et al.</i> , 2000	
	CO <sub>2</sub> , O <sub>2</sub>	inoculum	Jones & Edwards, 1998	Gilbert, 1988 Amon & Benner, 1996	Møller <i>et al.</i> , 1999	Kalbitz <i>et al.</i> , 2003
inoculum avec nutriments		Lundquist <i>et al.</i> , 1999		ISO 10707 (1994) Amon <i>et al.</i> , 2001	Jandl & Sletten, 1999 Jandl & Sollins, 1997 Moran <i>et al.</i> , 2000	
Réacteur continu	COD	inoculum	Volk <i>et al.</i> , 1997 Yano <i>et al.</i> , 2000 Søndergaard <i>et al.</i> , 2000 Søndergaard & Worm, 2001	Mogren <i>et al.</i> , 1990		
<b>Mesure de la biodégradabilité = assimilation</b>						
Réacteur discontinu	UFC/mL	inoculum		Van der Kooij <i>et al.</i> , 1982 LeChevalier <i>et al.</i> , 1987 Kaplan & Bott, 1990 Kaplan <i>et al.</i> , 1993 Escobar & Randall, 2001	Charnock & Kjonno, 2000	
		inoculum avec nutriments		Miettinen <i>et al.</i> , 1999		
	ATP	inoculum		Stanfield & Jago, 1987 LeChevalier <i>et al.</i> , 1993		
	turbidité	inoculum		Werner & Hamsch, 1986		

Tableau III-1 : Principales méthodes permettant la détermination de la biodégradabilité de matières organiques dissoutes considérant le phénomène comme de l'assimilation bactérienne et de la minéralisation de composés organiques ou seulement comme de l'assimilation bactérienne.

Ce tableau, complété et établi à partir des travaux de Huck (1990), Volk (2002) et Marschner & Kalbitz (2003), met en évidence un grand nombre de méthodes essentiellement différentes sur le plan du type d'incubation, du paramètre mesuré, de l'ajout de l'inoculum et/ou des nutriments ainsi que de la durée d'incubation. Cependant les auteurs emploient également des réacteurs de taille et de conformation variables, diverses agitations, des concentrations initiales en MO et en nutriments différentes sous des conditions de température, de pH disparates. Or les variations de ces paramètres modulent la réponse des tests de biodégradabilité et conduisent à des écarts de valeurs entre les procédures.

Le mode opératoire constitue en effet un important facteur de distinction. En réacteur continu, la biomasse dispose d'un substrat sans cesse renouvelé puisque l'échantillon vient à son contact alors qu'en réacteur discontinu les conditions d'agitation vont être déterminantes pour assurer un flux de MO suffisant aux microorganismes. Les conditions expérimentales doivent en effet satisfaire aux besoins des microorganismes afin que seuls des critères d'affinité interviennent lors de l'utilisation des matières organiques. Aussi, la concentration en substrat organique doit être suffisante et identique d'un échantillon à l'autre. Ingerslev *et al.* (1998) rapportent que des concentrations différentes conduisent à des cinétiques de croissance différentes et de ce fait à des taux de biodégradation différents. Cependant, contrairement à des essais réalisés sur des milieux reconstitués, la concentration d'échantillons naturels est plus délicatement ajustable.

Les microorganismes ont également des besoins en azote et en phosphore dans un rapport C/N/P qui est de l'ordre de 100/10/1 (Pelmont, 1993). Or, si la biodégradabilité potentielle doit être évaluée, toute autre limite à l'activité microbienne doit être éliminée, c'est à dire que les besoins en macro et micro nutriments doivent être couverts. De ce fait, des apports d'azote, de phosphore et même de potassium sont fréquemment réalisés, mais les effets réels de ces additions sur la biodégradabilité de MOD ne sont pas encore très bien connus (Marschner & Kalbitz, 2003). Les micro nutriments de même que les vitamines ne sont en revanche pratiquement jamais apportés car leur présence dans les échantillons naturels est supposée suffisante.

Hormis des besoins nutritifs, les microorganismes aérobies doivent aussi bénéficier d'une teneur en dioxygène suffisante pour pouvoir assurer leur métabolisme respiratoire. Il doivent également profiter d'une température adéquate car bien qu'ils soient généralement capables de vivre sous différentes conditions, leur activité métabolique varie avec la température. Le pH est aussi un paramètre important car d'une part il joue sur la solubilité et la conformation de la MO (Schnitzer, 1991), et d'autre part les microorganismes s'accommodent mieux de certaines conditions de pH (notamment entre 5 et 9).

En fait, plusieurs paramètres vont être fixés par les besoins et les exigences des microorganismes utilisés. Cependant, comme tous n'ont pas le même métabolisme et les mêmes affinités de substrat, leur choix va être déterminant. Les populations microbiennes autochtones peuvent paraître mieux adaptées à l'utilisation optimale des composés organiques au sein d'un milieu. En effet, Block *et al.* (1992) en examinant l'effet de différents inoculums sur la biodégradation de MOD aquatique ont conclu que les populations bactériennes indigènes devaient être employées. Cependant, Schmerwitz en 2001 (cité par Marschner & Kalbitz, 2003) a observé une meilleure biodégradabilité des MO extraites de sols avec un inoculum de communautés microbiennes non indigènes. Bien que ces données soient contradictoires, ces résultats prouvent clairement que l'évaluation de la biodégradabilité de MOD dépend du type et de l'origine des microorganismes utilisés pour l'essai.

Ainsi, ces différents paramètres vont conditionner la réponse d'un test de biodégradabilité, mais leurs différences mènent seulement à des écarts de valeur. En revanche, deux autres paramètres conduisent à des différences majeures entre les procédures :

- \* La durée d'incubation
- \* Le paramètre choisi pour mesurer la biodégradation

Tous deux définissent le type réel de « matière organique biodégradable » qui sera mesuré. Le paramètre choisi pour mesurer la biodégradation détermine la biodégradabilité considérée (minéralisation et/ou assimilation) et la durée d'incubation détermine le type de matière organique biodégradable mesurée.

Aussi le choix d'une procédure devant être motivé par le type de biodégradabilité recherchée, ces deux paramètres doivent être précautionneusement choisis.

## **I.2. Paramètres utilisés pour mesurer la biodégradabilité**

Un test de biodégradabilité se caractérise essentiellement par son paramètre de mesure. En effet, chacun des termes de l'équation 1 représentant des entités différentes, il exprime et considère différemment la dégradation. Néanmoins, il est possible de distinguer deux grands types de paramètres : ceux donnant une mesure directe et ceux donnant une mesure indirecte de la biodégradabilité par rapport au substrat.

### **Paramètres de mesure directe de la biodégradabilité**

Ces paramètres mesurent directement l'utilisation de la MO par les microorganismes et expriment la notion qu'ils sous-entendent par biodégradabilité. Il s'agit de la mesure du Carbone Organique Dissous et de l'estimation de la production de biomasse bactérienne.

- Le Carbone Organique Dissous

La partie du COD éliminée dans un test de biodégradabilité est définie comme le Carbone Organique Dissous Biodégradable (CODB). Il représente la fraction du COD qui peut être assimilée et minéralisée par des organismes hétérotrophes (Volk, 2002). Généralement, le CODB est obtenu par différence entre le COD initial de l'échantillon et le COD minimal observé après la période d'incubation. La mesure du COD semble préférable à celle du COT qui peut fausser l'estimation des quantités dégradées par la présence de carbone organique particulaire comme des microorganismes.

- La biomasse bactérienne

L'estimation de la biomasse suppose que l'augmentation des populations est uniquement une conséquence de la croissance. Le Carbone Organique Assimilable (COA) réfère alors à la fraction du COD qui peut être utilisée par des chaînes spécifiques ou des mélanges définis de bactéries. L'inoculum d'un bio-essai de COA se compose soit de souches bactériennes pures cultivées en laboratoire, soit d'un mélange de bactéries prélevées dans l'environnement, soit de bactéries utilisant des composés spécifiques (Escobar *et al.*, 2001). La croissance bactérienne est suivie par comptage des colonies sur gélose et rapportée traditionnellement en Unités Formant Colonie par millilitre d'échantillon (UFC.mL<sup>-1</sup>). Puis, la croissance moyenne observée durant l'incubation est convertie en unité de COA (notamment en µg de carbone acétate.L<sup>-1</sup>). Cette conversion s'effectue à partir de courbes de croissance obtenues avec des concentrations standards de composés organiques (acétate ou oxalate de sodium).

### **Paramètres de mesure indirecte de la biodégradabilité**

Ces paramètres ne quantifient pas directement l'utilisation de la matière organique mais ses conséquences. Il s'agit de la consommation en oxygène et de la production de dioxyde de carbone.

- La teneur en dioxygène (O<sub>2</sub>)

La consommation d'oxygène résulte de l'activité des microorganismes aérobies qui emploient l'oxygène comme accepteur terminal d'électron de leur mécanisme respiratoire. Les matières organiques dégradées par respiration bactérienne provoquent par conséquent une consommation d'oxygène qui est suivie par mesure manométrique de dépression ou par mesure de la teneur en oxygène dissous. La biodégradation peut être alors exprimée en terme

de quantité d'oxygène nécessaire pour éliminer la charge organique comme par la Demande Biochimique en Oxygène.

- La teneur en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>)

Le CO<sub>2</sub> est produit lors de la dégradation et de l'utilisation des composés organiques par la biomasse pour ses besoins énergétiques et sa multiplication. Son dosage s'effectue généralement par piégeage dans des solutions de soude ou de potasse, puis titration de ces solutions (Sturm, 1973). Le pourcentage de biodégradation est déterminé par comparaison avec la quantité de CO<sub>2</sub> produit lors de la minéralisation totale de l'échantillon (Boni & Musmeci, 1998). Cependant, les protocoles nécessitent de faire attention aux interférences dues au CO<sub>2</sub> atmosphérique.

### I.3. Type de MO biodégradable

La durée d'incubation a également une réelle incidence sur l'analyse de biodégradabilité puisqu'elle amène à considérer différents groupes de MOD biodégradable (labile, semi-labile, stable, rapide, lent). Ainsi Marschner & Kalbitz (2003) estiment que très peu de travaux sont comparables en raison de la variabilité de ce paramètre. En effet, en fonction du temps la quantité de MO biodégradée augmente puisque certains composés sont plus longs à dégrader que d'autres. De ce fait, l'interprétation doit par conséquent intégrer que les fractions non utilisées ne sont pas nécessairement réfractaires aux microorganismes mais éventuellement plus lentement utilisables. C'est pourquoi, à partir de considérations théoriques, différentes terminologies ont été définies. L'une des plus simples distingue trois fractions de MOD biodégradable :

- la MO labile, principalement constituée de composés simples pouvant être utilisés directement par un grand nombre de microorganismes sans le recours à des enzymes spécifiques. Généralement on considère qu'il s'agit de sucres simples, d'acides organiques courts, d'acides aminés, de sucre-aminés et de petites protéines.
- la MO lentement dégradable et relativement stable contenant des composés qui nécessitent des enzymes spéciales de décomposition, essentiellement produites soit par quelques microorganismes moins intéressés par des substrats labiles soit par des microorganismes en manque de substrats labiles. Des polysaccharides et d'autres composés dérivés de plantes et de microorganismes constituent entre autre cette fraction.
- la MO récalcitrante qui n'est pas complètement non biodégradable, mais qui s'accumule dans le milieu. Cette fraction consiste en des structures qui ne sont pas facilement rompues par des enzymes, comme des dérivés de lignine ou des composés fortement altérés.

Même si des composés sont souvent associés à ces fractions, il reste délicat de proposer une réelle composition chimique. Les matières biodégradables sont généralement considérées comme simples et de petites tailles alors que les molécules complexes comme les substances humiques sont supposées non biodégradables. Cependant, ce concept est à modérer puisque des composés de petites et de grandes tailles apparaissent biodégradables. En effet, les substances humiques peuvent être partiellement dégradées lors de réactions enzymatiques et utilisées par des bactéries. Filip *et al.* (2000) mettent en évidence l'utilisation et la transformation d'acides de type humique extraits de déchets municipaux et de boues d'épuration disposés en décharge par une biomasse issue du sol. Hertkorn *et al.* (2002) rapportent également divers pourcentages d'utilisation de substances humiques aquatiques par des microorganismes autochtones. Volk *et al.* (1997) montrent que 27% des SH d'eaux de surfaces sont utilisées par des biofilms bactériens et que le carbone organique biodégradable se compose de 75% de SH, 30% de sucres, 4% d'acides aminés et qu'environ 39% de ces composés sont d'une masse moléculaire supérieure à 100 000Da. Certains travaux soulignent également que les SH aquatiques sont préférentiellement utilisées comme source d'azote par

les microorganismes autochtones (Filip & Alberts, 1994) mais que leur dégradation nécessite la présence de nutriments facilement utilisables (Claus & Filip, 1998).

De plus, les composés anthropogéniques retrouvés dans la matière organique du lixiviat peuvent être également considérés comme biodégradables puisque certains microorganismes des décharges parviennent à les dégrader et à les utiliser (Ejlertsson *et al.*, 1996a). Jonsson *et al.* (2003) rapportent la biodégradation de phtalates et Yuste *et al.* (2000) mettent en avant l'utilisation de HAP par des bactéries. Leur biodégradation généralement observée en anaérobie est aussi envisageable en aérobie. En effet la plupart des composés organiques sont mieux et plus rapidement dégradés en conditions aérées bien que certains produits chimiques comme des composés polyhalogénés (PCBs, aliphatiques halogénés, chlorophénols) soient déhalogénés plus efficacement ou même exclusivement en anaérobiose (Rorije *et al.*, 1998).

Aussi, cette grande hétérogénéité des constituants aptes à bioréagir rend difficile toute prédiction de la biodégradabilité potentielle. En outre, des associations et/ou des interactions peuvent modifier la bioréactivité intrinsèque d'un composé et changer sa classe de MOD biodégradable. Néanmoins, l'étude de la biodégradabilité demeure plus simple à appréhender en considérant un ensemble de fractions de diverses bioréactivités plutôt que des types de composés bien définis.

## **II. Identification et isolement de souches bactériennes présentes dans des déchets et/ou des lixiviats**

Dans le cadre de cette étude, nous avons choisi d'utiliser la biodégradabilité comme un moyen de caractérisation de la matière organique d'un lixiviat stabilisé. Ainsi, la bioréactivité a été estimée sur des fractions extraites. Cependant, bien que la biodégradabilité anaérobie se présente comme l'outil le plus pertinent pour confirmer ou infirmer le caractère réfractaire imputé à certaines fractions (**1<sup>ère</sup> Partie**) les difficultés opératoires liées à sa mesure nous ont fait opter pour la mesure de la biodégradabilité aérobie. Les fractions utilisées sont celles obtenues par les techniques d'extraction et de fractionnement utilisant les résines XAD. En outre, les mêmes tests de biodégradabilité ont été appliqués sur des fractions extraites de l'eau de surface la Glane afin de disposer d'un milieu de comparaison. De plus, pour obtenir une bioréactivité représentative des phénomènes occurrents dans ces milieux, nous avons choisi de travailler à la fois avec un inoculum indigène et un inoculum non indigène à chacun d'eux. De ce fait, avant même la mise en place des tests de biodégradabilité, il a été nécessaire d'identifier et de sélectionner les espèces constituant nos inoculums.

### **II.1. Principales souches bactériennes retrouvées dans les lixiviats et les déchets**

De par la diversité du monde microbien et la complexité des procédures d'identification, nous avons tenté d'anticiper sur les populations susceptibles d'être rencontrées afin d'employer directement les techniques les plus adaptées. Aussi les grandes familles de bactéries retrouvées dans les lixiviats et dans les déchets ont été répertoriées.

#### **II.1.1 dans les lixiviats**

Les populations aérobies des lixiviats ont été à notre connaissance relativement peu étudiées. En effet, les risques potentiels de pollution bactériologique des eaux souterraines adjacentes aux décharges et les problèmes de colmatage occasionnés dans les systèmes de collecte des lixiviats (Vermeersch & Mlynarek, 1999), ont plutôt permis l'étude des populations anaérobies. En raison des difficultés d'échantillonnage liées aux déchets enfouis, le lixiviat a longtemps constitué une solution simple pour déterminer la biomasse anaérobie d'une décharge. Cependant la présence d'éléments toxiques (métaux lourds, xénobiotiques ...) pouvant inhiber la croissance de certaines populations, cette approche reste entachée de biais

(Muller & Steiner, 1988). Néanmoins, les microorganismes retrouvés dans un lixiviat sont bien autochtones à la décharge puisque les colonies sont vraisemblablement arrachées aux déchets. La percolation du lixiviat à travers l'ensemble du massif de déchets conduit alors à une très grande diversité de bactéries (Daly *et al.*, 2000).

Ainsi, Hale Boothe *et al.* (2001) en présentant une étude sur les microorganismes aérobies de lixiviat afin d'évaluer l'écologie microbienne lors de processus de biorémédiation mettent en évidence différentes populations cultivables. Approximativement 22 espèces à gram négatif et 4 espèces à gram positif ont été identifiées en six mois d'échantillonnage sur 11 prélèvements d'un lixiviat. Parmi les bactéries à gram négatif isolées, les genres *Pseudomonas*, *Pasteurella*, *Actinobacillus* et *Enterobacter* présentent le plus grand nombre d'espèces. Les *Pseudomonas* recensées sont communément rencontrées dans le milieu naturel, et correspondent à des germes pathogènes opportunistes (par exemple, *Pseudomonas cepacia*). Les espèces d'*Enterobacter* proviennent également de sols et d'eaux mais aussi de l'intestin animal. En revanche, les *Pasteurella* sont des parasites obligatoires des muqueuses de mammifères et d'oiseaux très sensibles aux conditions environnantes (Pelmont, 1993). De ces quatre genres, seules les espèces de *Pseudomonas* sont aérobies, les espèces des trois autres genres sont anaérobies facultatives ce qui est vraisemblablement dû au basculement d'un système anaérobie en aérobie. Parmi les bactéries à gram positif identifiées, Hale Boothe *et al.* (2001) rapportent la présence de deux espèces de *Bacillus* (*B. brevis* et *B. megaterium*), une espèce de *Cellulomonas* et une espèce de *Staphylococcus*. Sur l'ensemble des 26 espèces isolées, seulement huit, essentiellement à gram négatif, sont apparues dans plusieurs échantillons de lixiviats (*Acinetobacter lwoffii*, *Alcaligenes sp.*, CDC EF-4, *Enterobacter agglomerans*, *Klebsiella pneumonia*, *Pasteurella multocida*, *Serratia rubidaea*, *Shigella sp.*). Les dix-huit autres isolats ont tous été identifiés une seule fois, ce qui laisse supposer une certaine variabilité des populations susceptibles d'être retrouvées dans un lixiviat.

En anaérobiose, les populations utilisent d'autres éléments que l'oxygène pour les besoins de leur mécanisme respiratoire. Les nitrates, le fer (III), les sulfates et le carbone peuvent par exemple, dans l'ordre, servir d'accepteurs terminaux d'électrons. Ces conditions « redox » (dénitrifiantes, ferro-réductrices, sulfato-réductrices) conditionnent alors les microorganismes susceptibles d'être rencontrés (Cozzarelli *et al.*, 1997). Cependant assez peu de données indiquent les espèces réellement présentes dans les lixiviats sous ces types métaboliques. La plupart des travaux sont en effet relatifs à des aquifères contaminés par des lixiviats (Christensen *et al.*, 2001). Pourtant Daly *et al.* (2000), à partir d'outils d'analyse de biologie moléculaire, ont identifié différents groupes de bactéries sulfatoréductrices retrouvés dans les lixiviats (*Desulfotomaculum*, *Desulfobulbus*, *Desulfobacter*, *Desulfococcus-Desulfonema*, *Desulfosarcina*, *Desulfovibrio-Desulfomicrobium*). La prolifération de ces bactéries interfère sur la stabilisation des déchets puisqu'elles ont les mêmes donneurs d'électrons (acétate et H<sub>2</sub>) que les microorganismes méthanogènes et peuvent donc inhiber la méthanogénèse (Harvey *et al.*, 1997). Néanmoins des *Archaea* méthanogènes sont aussi retrouvées dans les lixiviats recirculés de décharges notamment des *Euryarchaeota* des genres *Methanoculleus*, *Methanosarcina*, *Methanocorpusculum*, *Methanospirillum*, *Methanogenium* (Huang *et al.*, 2002). Van Dyke & McCarthy (2002) mettent également en évidence la présence de plusieurs *Clostridium* notamment cellulolytiques comme *Clostridium thermocellum* et *C. leptum*.

## II.1.2 dans les déchets

La microfaune des déchets est apparue intéressante à considérer car même si les déchets sont amenés à être enfouis, certaines espèces peuvent s'adapter aux changements de conditions. En effet, Bagnara *et al.* (1985) rapportent une espèce de *Cellulomonas* issue de décharges (*C. cellulans*) pouvant se développer aussi bien en conditions aérobies qu'anaérobies.

En conditions aérées, les déchets sont soumis à une dégradation par des microorganismes hydrolytiques qui transforment la matière organique complexe (lipides, cellulose, amidon, protéines...) en composés plus simples. Certaines de ces espèces retrouvées dans des rejets domestiques sont apparentées aux genres *Enterobacter* et *Aeromonas* (Ladapo & Nwosu, 1999). Quatre espèces de bactéries mésophiles qui utilisent le phénol comme seule source de carbone ont été isolées d'un déchet stocké et identifiées comme *Acinetobacter*, *Arthrobacter*, *Micrococcus* et *Nocardia* (Tibbles *et al.*, 1989). Des caractérisations phénotypiques ont également permis de mettre en évidence diverses familles cellulolitiques, notamment les *Pseudomonadaceae* avec le genre *Pseudomonas* (Cook, 1967) ainsi que les *Bacillaceae* avec les genres *Cellulomonas*, *Microbacterium* et *Lactobacillus* (Pourcher *et al.*, 2001). Sur 355 bactéries cellulolytiques isolées de 29 échantillons de déchets, 90% sont des bacilles à gram positif, 9% sont des bacilles à gram négatif et 1% sont des cocci à gram positif (Bichet-Hébé, 1998). La dynamique de ces populations est très fortement liée aux paramètres chimiques comme le pH, la teneur en MO mais également l'état de dégradation du déchet. La présence de levures (*Candida albicans*, *Candida tropicalis* B et *Cryptococcus terreus*) a été également rapportée par Hale Boothe *et al.* (2001).

En anaérobiose, les populations microbiennes sont sensiblement différentes, divers groupes de bactéries ou d'archaébactéries se relayent pour transformer et minéraliser les polymères organiques en des molécules plus simples (CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, CH<sub>4</sub>). La dégradation des déchets suit en effet un processus bien connu (Barlaz, 1997) dans lequel les matières organiques complexes (polysaccharidiques, protéines, cellulose...) sont tout d'abord décomposées sous l'action de microorganismes fermentants (bactéries hydrolytiques, cellulolytiques...). Puis des bactéries acétogènes transforment ensuite les différents sous produits (acides, alcools, CO<sub>2</sub>) en acide acétique, CO<sub>2</sub> et d'autres petits acides. Enfin, les archaées méthanogènes convertissent l'acide acétique et le CO<sub>2</sub> en méthane. Hormis les microorganismes fermentants anaérobies stricts ou facultatifs, la plupart de ces populations sont anaérobies strictes et sont donc peu probables dans un lixiviat aéré, d'autant que le lixiviat contrairement aux déchets ne possède pas de particules pouvant contenir des microniches anoxiques permettant leur survie.

### II.1.3 dans le lixiviat de Crézin

Dans le cadre du lixiviat de Crézin, si la présence des microorganismes aérobies répertoriés dans les lixiviats est envisageable, celle des microorganismes répertoriés en anaérobiose l'est beaucoup moins (du moins en tant que cellule active) puisque la plupart d'entre eux sont strictement anaérobies. De même, la faune aérobie du déchet capable de s'adapter à une anaérobiose prolongée et de repasser en conditions aérées est susceptible d'être retrouvée dans le lixiviat de Crézin.

De ce fait à partir de ces nombreuses données propres aux lixiviats et aux déchets, nous avons tenté de cibler les individus des familles des *Bacillaceae*, des *Enterobacteriaceae* et des *Pseudomonadaceae* au sein du lixiviat de Crézin.

## II.2. Identification des bactéries

### II.2.1 Moyens d'identification des bactéries

Contrairement aux animaux et aux végétaux, la morphologie des microorganismes est en général trop simple pour permettre une identification fiable et pour servir de base à une bonne classification (Amann *et al.*, 1995). Seule une caractérisation rigoureuse par approche phénotypique ou phylogénétique permet de les différencier malgré des apparences très similaires.

L'approche phénotypique résulte en une combinaison des caractères culturels (milieu, températures...), des caractéristiques morphologiques (aspect, coloration de gram...), des

propriétés physiologiques (types respiratoires) et des propriétés biochimiques (activités enzymatiques simples : catalase et oxydase, activités enzymatiques métaboliques ...) comme clé d'identification (Smibert & Krieg, 1994). De manière générale, les protocoles et les milieux standards suffisent à l'étude des populations au sein de lixiviats et de déchets, mais des milieux de culture plus spécifiques ont aussi été développés (Rampersad *et al.*, 1998). En effet l'isolement et la culture sont incontournables à la caractérisation phénotypique puisque la condition initiale est de disposer d'une culture pure de l'espèce à identifier (Etchebehere *et al.*, 2002). Par conséquent cette approche ne peut pas s'appliquer au diagnostic des microorganismes dont la culture est difficile ainsi qu'aux populations non cultivables. En fait seulement 0,1 à 15% des bactéries sont potentiellement identifiables par analyse phénotypique parce que cultivables à l'aide des techniques classiques par boîtes de Pétri (Amann *et al.*, 1995).

Cette contrainte méthodologique a longtemps limité l'étude des communautés bactériennes jusqu'à l'arrivée des techniques de biologie moléculaire (approche phylogénétique). Ces techniques, basées sur la spécificité des acides nucléiques, ont révolutionné la taxonomie en partant du principe qu'il existe des séquences conservées pour un domaine (*Eucarya*, *Eubacteria* et *Archaea*) mais également des régions très variables, typiques de certains groupes bactériens (Woese, 1987). Ainsi le séquençage de régions particulières de l'ADN ribosomal (ADNr) ou de l'ARN ribosomal (ARNr) peut permettre d'identifier et de classer un microorganisme (Wayne *et al.*, 1987 ; Stackebrandt *et al.*, 2002). La région 16S est généralement la plus étudiée car plus facile à analyser que la région 23S et plus riche en information que la région 5S. L'ARNr 16S contient 1500 nucléotides contre 120 et 2900 pour des ARNr respectivement 5S et 23S. Cependant l'identification d'une telle quantité d'information génétique nécessite des techniques d'études appropriées : hybridation par des sondes nucléiques (Daly *et al.*, 2000) ou séquençage de l'ADN (Van Dyke & McCarthy, 2002), techniques qui ne seront pas utilisées dans ce travail.

## II.2.2 Identification des microorganismes du lixiviat de Crézin

Lors de cette étude, l'approche phénotypique a été préférée pour sa facilité d'approche et parce que l'objectif était d'isoler et de disposer de souches cultivables. L'identification de la biomasse cultivable du lixiviat s'est effectuée à l'aide de milieux de cultures classiques et spécifiques (Institut Pasteur, 1981), d'analyses visuelles, de tests biochimiques simples (coloration de gram, catalase/oxydase, types respiratoires...) et de galeries d'identification. Afin d'isoler et de caractériser différentes souches, des milieux de cultures spécifiques et non spécifiques ont été choisis à partir des espèces bactériennes fréquemment référencées par la bibliographie. La coloration de gram, les activités oxydase et catalase, la réduction des nitrates ont été testées comme décrites par Smibert & Krieg (1994).

La nomenclature des souches isolées a été obtenue à l'aide de galeries d'identification : les galeries API (Biomérieux, France). Trois différents types de galerie ont été utilisés :

- la galerie API 20E (20 tests enzymatiques et de fermentation des sucres) permettant l'identification des bacilles à gram négatif de type enterobactéries.
- la galerie API 20NE (20 tests enzymatiques et de fermentation des sucres) permettant l'identification des bacilles à gram négatif non enterobactéries.
- la galerie API 50CH (fermentations de 48 carbohydrates et hydrolyse de l'esculine) permettant l'identification des espèces de *Lactobacillus* et de *Bacillus*.

Une quatrième galerie a été ajoutée suite à l'observation microscopique de levures dans l'échantillon de lixiviat :

- la galerie API Candida (12 tests de enzymatiques et d'acidification des sucres) permettant l'identification des levures.

Les galeries ont été inoculées comme recommandé par le fournisseur et incubées à différentes températures. Chaque identification a été doublée. Les résultats ont été lus après 24H pour la galerie API 20E , API 20NE, API Candida et 96H pour la galerie API 50CH. Le tableau III-2 rassemble les différentes espèces identifiées dans le lixiviat de Crézin et indique si leur présence à été observée dans les études de Hale Boothe *et al.* (2001) et de Pourcher *et al.* (2001).

Tableau III-2 : Recueil des microorganismes identifiés dans le lixiviat de Crézin et indication de leur présence dans les études de Hale Boothe *et al.* (2001) et de Pourcher *et al.* (2001).

	Galeries d'identification	Lixiviat aéré (Hale Boothe <i>et al.</i> , 2001)	Déchets de 0 à 5ans remis à l'air (Pourcher <i>et al.</i> , 2001)
<b>BACTERIES A GRAM POSITIF</b>			
*Bacilles à endospores formant bactéries			
Bacillaceae	<i>Bacillus cereus</i>	API 50 CHB	
	<i>Bacillus megaterium</i>	API 50 CHB	X
	<i>Bacillus mycoides</i>	API 50 CHB	
	<i>Bacillus licheniformis</i>	API 50 CHB	X
	<i>Bacillus subtilis</i>	API 50 CHB	X
	<i>Brevibacillus brevis</i>	API 50 CHB	X
	<i>Paenibacillus polymyxa</i>	API 50 CHB	X
	<i>Paenibacillus macerans</i>	API 50 CHB	X
*Cocci anaérobie facultative			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	X	
<b>BACTERIES A GRAM NEGATIF</b>			
*Bacilles anaérobies facultatifs			
Enterobact- eriaceae	<i>Serratia marcescens</i>	API 20E	X
	<i>Serratia liquefaciens</i>	API 20E	
	<i>Proteus mirabilis</i>	API 20E	
<b>LEVURES</b>			
	<i>Candida albicans</i>	API Candida	X

L'analyse phénotypique a permis d'identifier 13 microorganismes au sein du lixiviat de Crézin, mais trois colonies cultivables sur gélose Plate Count Agar (PCA, Merck) n'ont pu être reconnues (deux bacilles à gram positif et un bacille à gram négatif).

Les principales espèces identifiées appartiennent aux familles des *Bacillaceae* et des *Enterobacteriaceae*, aucune *Pseudomonadaceae* n'a été mise en évidence.

Les *Bacillaceae* sont une famille de bactéries présentes dans les sols, les eaux, les plantes et les animaux. Cependant, cette distribution ubiquiste ne permet pas de leur attribuer une origine précise, et différentes catégories de déchets peuvent être à l'origine de leur présence. Parmi les espèces déterminées, la plupart sont occasionnellement pathogènes opportunistes, seulement deux ne sont pas pathogènes pour l'homme (*Bacillus mycoides* et *Paenibacillus macerans*). Les autres comme *Brevibacillus brevis*, *B. Licheniformis* et *B. subtilis* sont en revanche incriminées dans certaines maladies transmises par les aliments (De Clerck *et al.*, 2004). Néanmoins les espèces retrouvées dans le lixiviat de Crézin sont similaires à celles des travaux de Hale Boothe *et al.* (2001) et de Pourcher *et al.* (2001), seulement deux autres espèces sont apparues : *Bacillus cereus*, *Bacillus mycoides*.

Les *Enterobacteriaceae* sont une famille de bactéries présentes en grande quantité dans l'intestin des animaux mais qui peuvent être excrétées dans le milieu extérieur où elles survivent et prolifèrent. Leur présence est par conséquent le signe d'une contamination fécale qui peut être naturelle par les animaux mais aussi accidentelle par des eaux usées. De ce fait, au sein de l'environnement les entérobactéries se retrouvent dans les eaux résiduaires urbaines, les fumiers, les eaux de surface et la terre. Parmi les espèces retrouvées dans le

lixiviat de Crézin, deux appartiennent au genre *Serratia* et l'autre au genre *Proteus*. Les espèces du genre *Serratia* sont des bactéries de l'environnement présentes sur les plantes, dans l'eau, les sols et chez les animaux. *Serratia liquefaciens* se retrouve chez de petits mammifères sauvages alors que *Serratia marcescens* est en revanche fréquemment isolée chez l'homme. Néanmoins ces deux espèces constituent des pathogènes opportunistes responsables, à l'hôpital, d'infections nosocomiales et urinaires. *Serratia liquefaciens* est occasionnellement impliquée dans des épizooties graves (McIntosh & Austin, 1990). *Proteus mirabilis* est une bactérie entérique de la flore naturelle intestinale de l'homme et d'autres animaux qui peut être retrouvée dans les fèces, les boues. Elle est connue pour être responsable de graves infections nosocomiales chez l'homme. Des trois espèces répertoriées dans le lixiviat de Crézin, seule *Serratia marcescens* a également été trouvée dans l'étude de Hale Boothe *et al.* (2001). Cette espèce est connue pour avoir certaines activités cellulolytiques (Kim, 1995) et même des aptitudes à solubiliser et à minéraliser la lignine (Perestelo *et al.*, 1996).

Une levure, *Candida albicans*, a également été identifiée. Les levures sont des champignons hétérotrophes, aérobies ou anaérobies facultatifs (Tortora *et al.*, 1998) apparentés aux eucaryotes et plus particulièrement au groupe des ascomycètes. Elles sont généralement présentes dans les sols, les excréments animaux, les parties végétatives des plantes. L'espèce *Candida albicans* est une levure pathogène extrêmement commune, transportée sous forme bénigne par de nombreuses personnes. La présence de *Candida albicans* a déjà été observée dans la phase solide d'un casier de déchets traités par aération, mais pas dans le lixiviat correspondant (Hale Boothe *et al.*, 2001). Néanmoins, on peut supposer que cet organisme a survécu au changement de conditions.

Malgré l'utilisation des techniques de cultures ignorant un très grand nombre de microorganismes et l'emploi d'un nombre limité de galerie d'identification, le lixiviat de Crézin présente une faune assez diversifiée. Cependant, les limites de l'identification ne permettent pas de discuter la distribution des populations et il est même très difficile d'expliquer la présence de chaque souche bactérienne. En effet, le milieu lixiviat/décharge est d'une part extrêmement hétérogène et d'autre part l'identification par galeries peut être entachée d'erreurs. Guinebretière *et al.* (2001) rapportent ainsi que des souches relatées comme *B. maroccanus* ou comme *B. sphaericus* peuvent être identifiées en tant que *Brevibacillus brevis* par le système API 50CHB. Néanmoins, à partir des quelques espèces identifiées, on peut essayer de comprendre le mode de peuplement du lixiviat remis à l'air.

Le lixiviat est par définition un milieu anaérobie réducteur où seules les populations capables de se développer en absence d'oxygène mais avec d'autres accepteurs d'électrons parviennent à survivre. Sa mise à l'atmosphère constitue donc un changement radical de conditions, provoquant l'extinction des populations anaérobies strictes (dont notamment les archaébactéries) alors que les populations capables de s'adapter subsistent. De ce fait, l'identification de microorganismes anaérobies facultatifs semble cohérente et indique que certaines espèces parviennent à s'adapter aux changements de conditions. En revanche la présence d'espèces comme *Bacillus subtilis* laisse sous entendre une autre voie de peuplement du lixiviat aérobie. *B. subtilis* est une bactérie aérobie qui peut croître anaérobiquement en présence de nitrates mais pas de nitrites (Marino *et al.*, 2000). Dans le lixiviat stabilisé de Crézin, les nitrates comme d'autres accepteurs d'électrons sont quasi-inexistants, aussi on peut supposer que cette bactérie n'a pas les éléments nécessaires pour survivre. C'est pourquoi, en considérant que cette souche n'est pas liée à une contamination, sa présence doit être autrement explicable. Ainsi, diverses espèces bactériennes ont la faculté de former des cellules spécialisées montrant une résistance accrue à des facteurs environnementaux défavorables, notamment à une température élevée, à l'absence d'éléments nutritifs,

d'oxygène ou à la dessiccation (Nicholson *et al.*, 2000). Ces cellules de résistance nommées « endospores » pour le genre *Bacillus* sont très fréquentes dans l'environnement. Une fois excrétées, les endospores (renommés alors « spores ») ont une longévité potentielle énorme dès que sont réunies certaines conditions comme l'absence d'eau, l'obscurité et une atmosphère privée d'oxygène. Ainsi, plusieurs études rapportent la renaissance de spores au sein d'échantillons environnementaux âgés de 100 000 ans (Kennedy *et al.*, 1994 ; Potts, 1994). Quand des conditions favorables se manifestent de nouveau, la spore redonne une bactérie végétative identique à celle qui lui a donné naissance, c'est la germination, puis un nouveau cycle de croissance est amorcé. Les spores constituent ainsi une forme de résistance qui assure à la fois la conservation et la dispersion de l'espèce.

En outre les spores ont des capacités d'adhésion de par leur surface hydrophobe. C'est le cas notamment des spores de *Bacillus cereus* qui s'attachent très bien aux surfaces en acier inoxydable. Les structures impliquées dans l'adhésion sont encore imparfaitement connues, mais pour *Bacillus cereus* on implique la présence d'un exosporium (Husmark & Rønner, 1990) alors que pour d'autres espèces telles que *Bacillus licheniformis* on fait jouer un rôle à des appendices très fins formant une sorte de feutrage autour de la spore (Rønner *et al.*, 1990). Aussi on peut penser que les spores restent attachées à la surface des déchets et que le pompage du lixiviat via une pompe immergée au cœur de la décharge favorise plus leur récupération que le système de drains.

### II.3. Sélection de souches

#### II.3.1 Souches du lixiviat

Afin de constituer notre inoculum, nous avons regardé parmi les espèces identifiées celles qui pouvaient le mieux convenir à cette étude. Le choix s'orientant vers le besoin d'une souche hétérotrophe à culture facile en solution et sur gélose nutritive, à croissance rapide et si possible non pathogène.

Parmi les différentes souches isolées et identifiées dans le lixiviat, *Bacillus mycoides* et *Paenibacillus macerans* ont tout d'abord attiré notre attention pour leur non pathogénie. Cependant, en raison de ses colonies très étendues pouvant se chevaucher, l'espèce *Paenibacillus macerans* n'a pas été retenue pour éviter des problèmes de dénombrement, par contre *Bacillus mycoides* est apparue intéressante malgré une croissance rhizoïde caractérisée par des structures semblables à des racines. Les *Enterobacteriaceae* de même que les *Bacillaceae* restantes étant potentiellement pathogènes, nous avons préféré les éviter. Néanmoins, nous avons décidé de faire une exception pour l'espèce *Bacillus subtilis* en raison des multiples travaux la concernant. En effet, *Bacillus subtilis* est l'une des espèces à gram positif aérobies la mieux caractérisée à ce jour du fait de sa grande diversité de dégradation des matières organiques (Kunst *et al.*, 1997). Son génome a par ailleurs fait l'objet d'un séquençage complet et ses mécanismes d'adaptation à diverses conditions environnementales ont été étudiés (Steil *et al.*, 2003).

Pour départager les deux espèces retenues, nous avons choisi de comparer leur croissance dans le lixiviat de Crézin et de sélectionner la souche la mieux biodégradable. Nous avonsensemencé des erlenmeyers stériles contenant 100mL de lixiviat stérilisé par filtration sur 0,2µm avec 1mL d'inoculum correspondant à environ 10<sup>4</sup> bactéries de l'une ou de l'autre espèce. Les erlenmeyers ont ensuite été incubés une quinzaine de jours dans une enceinte thermostatée (Thermoshake, Gerhardt) sous agitation. La croissance bactérienne a été suivie au cours du temps par prélèvement de 1mL d'échantillon puis numération sur géloses Plate Count Agar (PCA, Merck Microbiology) incubées 48H à 37°C. La figure III-1 représente les courbes de croissance de *B. mycoides* et de *B. subtilis* obtenues avec un échantillon de lixiviat.

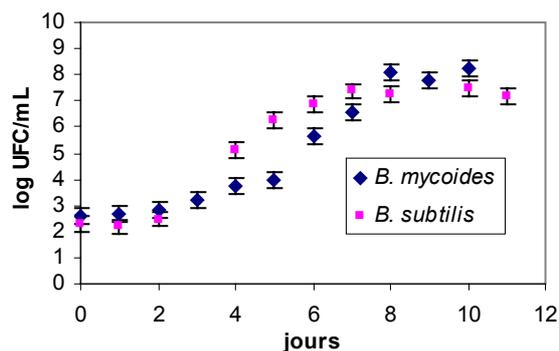


Figure III-1 : Courbes de croissance de *B. mycoïdes* et de *B. subtilis* dans le lixiviat de Crézin.

Les courbes obtenues ont l'allure typique de courbes de croissance bactérienne pour une population se développant dans un système fermé (réacteur discontinu). Au début, les cellules s'adaptent à leur nouveau milieu (phase de latence) jusqu'à ce qu'elles puissent commencer à se diviser régulièrement par fission binaire (phase exponentielle) puis lorsque leur croissance devient limitée (phase stationnaire), les cellules cessent de se diviser ou bien le nombre de division équivaut au nombre de cellules qui meurent. Enfin, dès lors que les conditions ne sont plus suffisantes la population s'éteint (phase de déclin). Il apparaît que *Bacillus subtilis* croît plus vite que *Bacillus mycoïdes* du moins dans le lixiviat de Crézin. En effet, *B. subtilis* atteint une phase stationnaire en 7 jours alors que *B. mycoïdes* l'atteint en 8 jours. Aussi, en supposant que cette croissance plus rapide traduit une meilleure adaptation au lixiviat, nous avons choisi *B. subtilis* pour représenter l'inoculum autochtone au lixiviat.

### II.3.2 Souches du milieu naturel

L'espèce constituant l'inoculum non indigène au lixiviat a été choisie parmi les espèces récurrentes aux tests de biodégradabilité notamment de mesure du carbone organique assimilable. Deux espèces sont en effet généralement employées *Pseudomonas fluorescens* P17 (Van der Kooij *et al.*, 1982) et *Aquaspirillum* NOX (Van der Kooij & Hijnen, 1984) et ont même fait l'objet d'un dépôt à l'American Type Culture Collection (ATCC) sous les codes respectifs de ATCC 49642 et ATCC 49643. *Pseudomonas fluorescens* étant un habitant commun des eaux naturelles (Hertkorn *et al.*, 2002), nous avons supposé qu'elle pouvait aussi se trouver dans l'eau de la rivière la Glane. De ce fait, nous avons opté pour cette espèce puisque son choix permettait de disposer d'un inoculum à la fois indigène à l'eau de surface et non indigène au lixiviat. En outre, la plupart des souches de *Pseudomonas fluorescens* sécrètent une large variété d'enzymes incluant des protéases et des lipases (Palleroni, 1984) et certaines souches présentent même des aptitudes à dégrader les phtalates (Zeng *et al.*, 2003). De ce fait, il a été essayé d'isoler une souche de l'espèce *Pseudomonas fluorescens* directement à partir du milieu naturel. En effet, selon les travaux de Claus *et al.* (1999) et d'Hertkorn *et al.* (2002) cette espèce représente 41% des bactéries isolées d'une eau souterraine et 39% d'eau de lacs. De ce fait elle a été cherchée dans la biomasse bactérienne d'un échantillon de la rivière la Glane. Des géloses PCA ont été ensemencées avec 100 $\mu$ L d'eau et incubées 48H à 25°C, puis les différentes colonies obtenues ont été triées sur des critères d'observation, de coloration de gram, d'oxydase et de présence de pigments sur le milieu de King B (Fischer Labosi) afin de ne garder que les bacilles à gram négatif, catalase négative et producteurs de pyoverdine. L'identification définitive a été réalisée à l'aide d'une galerie API 20NE (Biomérieux, France). Suivant les critères de cette galerie d'identification, une souche répondant à la taxonomie de *Pseudomonas fluorescens/Pseudomonas putida* a pu être ainsi identifiée.

### III. Estimation de la biodégradabilité

De manière à obtenir une image représentative de la biodégradabilité des fractions du lixiviat de Crézin et de la rivière la Glane, plusieurs stratégies de mesures ont été abordées. Ainsi les deux aspects de la biodégradabilité (assimilation bactérienne et/ou minéralisation de matières organiques) ont été considérés par la détermination des pourcentages de Carbone Organique Dissous Biodégradable, des teneurs en Carbone Organique Assimilable et de la Demande Biochimique en Oxygène nécessaire à la biodégradation des fractions.

Pour les deux milieux, les fractions analysées ont été extraites suivant les mêmes protocoles d'extraction définis à la 1<sup>ère</sup> Partie (Thurman & Malcolm, 1981 ; Malcolm & Mac Carthy, 1992). L'eau de la rivière la Glane a cependant subi une pré-étape de concentration par osmose inverse (OI 2,5m<sup>2</sup>, TIA, France) afin de multiplier sa concentration d'environ 12 fois.

#### III.1. Détermination du Carbone Organique Dissous Biodégradable

Le Carbone Organique Dissous Biodégradable (CODB) définissant la part du COD utilisée par les microorganismes, son estimation nous est apparue être un bon reflet de la biodégradabilité.

Ainsi, dans le cadre de cette étude, nous avons essayé de déterminer le CODB contenu au sein de différentes fractions de MO à l'aide de la méthode de Servais *et al.* (1987). Cependant la procédure d'origine a été modifiée pour permettre l'analyse de fractions organiques extraites puisque la méthode initiale s'applique normalement sur des échantillons d'eaux naturelles. Or ces échantillons contiennent aussi bien des composés organiques que minéraux alors que les fractions extraites sont essentiellement constituées de composés organiques même si des espèces minérales sont souvent piégées. De ce fait, nous avons assimilé les fractions extraites à des substances chimiques pures et choisi, tout comme dans les tests OECD (1993), d'ajouter un mélange de nutriments minéraux afin de pas limiter le développement de l'inoculum.

La procédure opératoire a été la suivante. La fraction analysée est tout d'abord diluée à 20mg.L<sup>-1</sup> en COD. 250mL sont ensuite introduits dans un flacon en verre de 1L avec 250mL de solution nutritive puis le pH est fixé à 7. Le mélange est filtré sur 0,2 µm et ensemencé avec 1mL d'une suspension bactérienne à environ 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> UFC/mL. Le flacon est alors incubé à 20°C (*Pseudomonas fluorescens*) ou 30°C (*Bacillus subtilis*) dans l'obscurité pendant 28 jours sous agitation (étuves WTW T5 606/3 et T5 601/3). Le Carbone Organique Dissous Biodégradable est obtenu par différence entre la valeur initiale et la valeur finale de COD mesurées par un analyseur de carbone : le Phoenix 8000 (Tekmar-Dohrman, Germany).

La concentration de l'échantillon au départ du test a volontairement été fixée à 10mg.L<sup>-1</sup> pour éviter une croissance excessive des microorganismes (Hongve *et al.*, 2000). La solution de nutriments employée correspond à celle préconisée par les tests OECD 301, OECD 302 et ISO 14593 (Reuschenbach *et al.*, 2003) soit pour un litre de solution : 170mg de KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 435mg de K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 668mg de Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2H<sub>2</sub>O, 10mg de NH<sub>4</sub>Cl, 55mg de CaCl<sub>2</sub>, 45mg de MgSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O et 50µL d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 3,52g.L<sup>-1</sup>.

##### III.1.1 CODB des fraction extraites selon Thurman & Malcolm (1981)

La figure III-2 rapporte les pourcentages de CODB déterminés pour les fractions AH\*, AF\* et HyI\* du lixiviat et la figure III-3 les pourcentages de CODB obtenus pour les fractions AH, AF et HyI de la rivière la Glane.

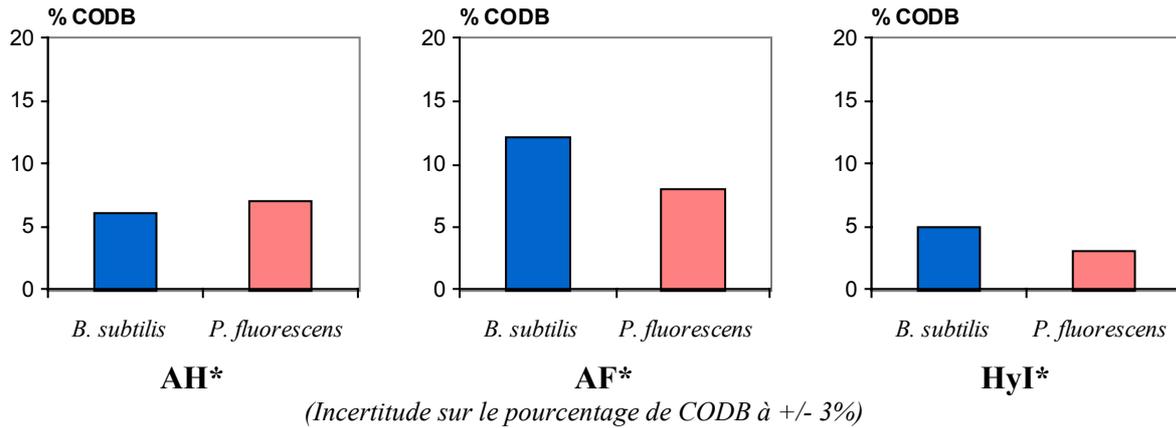


Figure III-2 : Pourcentages de Carbone Organique Dissous Biodégradable déterminés à l'aide de *B. subtilis* et *P. fluorescens* dans les fractions AH\*, AF\* et HyI\* extraites du lixiviat.

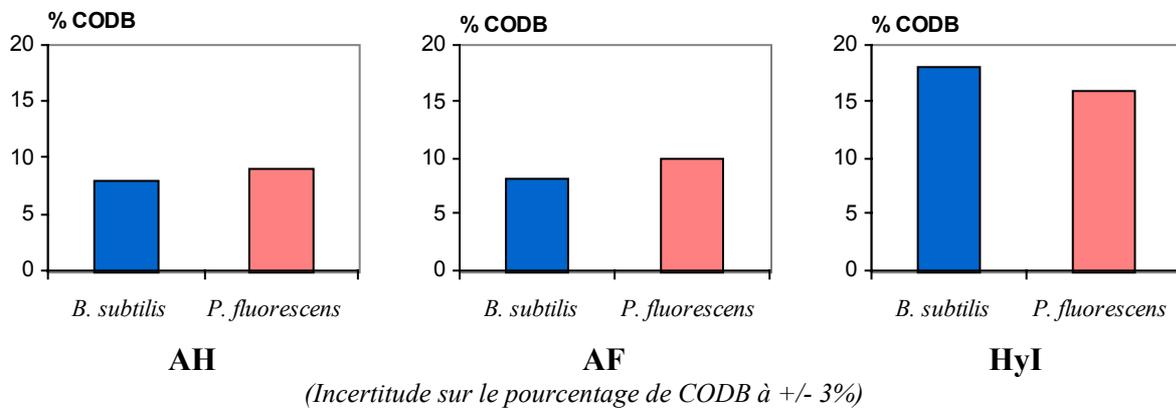


Figure III-3 : Pourcentages de Carbone Organique Dissous Biodégradable déterminés à l'aide de *B. subtilis* et *P. fluorescens* dans les fractions AH, AF et HyI extraites de la rivière la Glane.

Les résultats mettent en évidence que la fraction AF\* constitue la fraction la plus biodégradable du lixiviat puisque les fractions AH\* et HyI\* présentent de plus faibles biodégradabilités. En revanche, la fraction HyI de la rivière la Glane apparaît bien plus biodégradable que les fractions AH et AF. Ainsi, il semble que les fractions extraites par résines XAD bioréagissent différemment en fonction de leur milieu d'origine. Ces différences étant probablement dues aux mécanismes et aux dynamiques inhérentes à chaque milieu.

De manière générale, le processus de biodégradation peut être scindé en deux situations distinctes. Dans le premier cas, la fraction est définie comme un « substrat primaire » et sert de source principale de carbone et/ou d'énergie. Dans le second cas, le microorganisme utilise une autre source primaire pour pouvoir dégrader la fraction. Cette deuxième situation où la fraction est alors considérée comme un « substrat secondaire » correspond à la biodégradation par cométabolisme.

Dans le cas de l'utilisation des fractions en substrat primaire, les pourcentages de CODB traduisent une faible biodégradabilité générale qu'il est possible d'associer à la nature même des fractions. Ainsi, les faibles valeurs observées pour les deux acides humiques (AH et AH\*) peuvent être attribuées à la complexité et à la taille de leur structure. Selon les données obtenues par pyrolyse CG/SM (2<sup>ème</sup> Partie), la fraction AH\* est en effet constituée des plus longs acides carboxyliques et contient également de nombreux fragments ligneux considérés

comme réfractaires. Lagier (2000) estime que 52% des composés de l'Acide Humique\* du lixiviat de Crézin présentent une masse supérieure à  $10^4$ Da. Par ailleurs, les travaux relatifs à des acides humiques extraits du milieu naturel rapportent également la présence de fragments naturels complexes (Schulten, 1999) et de composés de grandes tailles (Brizard, 2001). Les acides fulviques également extraits des milieux naturels possèdent généralement une complexité structurale et une taille moindres que les AH mais les mêmes considérations peuvent aussi expliquer leur faible bioréactivité.

De même, l'obtention d'une meilleure biodégradabilité pour la fraction HyI peut se rattacher à la présence de composés simples de type acides carboxyliques, acides aminés et sucres généralement identifiés au sein de cette fraction pour des eaux naturelles (Thurman, 1985). Cependant, il est difficile de généraliser car dans le lixiviat, la fraction HyI\* apparaît plus récalcitrante que la fraction AF\*. De par les fragments identifiés par pyrolyse CG/SM, la fraction AF\* semble présenter moins de structures ligneuses, de stéroïdes que les autres fractions. Bien que lors de l'analyse de l'échantillon AF\* le détecteur à spectrométrie de masse ait été saturé, on peut penser que cette fraction possède effectivement moins de composés récalcitrants.

L'hypothèse que certaines fractions jouent un rôle de substrat secondaire semble également pouvoir justifier certaines valeurs observées. En effet, le fractionnement par résine XAD pourrait peut-être conduire à l'élimination des substrats primaires de certaines fractions. Or la décomposition de noyaux aromatiques ou de structures aliphatiques exige une grande quantité d'énergie qui nécessite des sources de carbone facilement utilisables par les microorganismes. Ainsi Hertkorn *et al.* (2002) observent une dégradation beaucoup plus significative des Substances Humiques lors de l'ajout de solutions nutritives contenant du glucose. D'autres travaux rapportent aussi une meilleure dégradation des matières organiques dissoutes en présence de cosubstrats tels que le benzoate, l'acide glutamique ou le glucose (Geller, 1986). Par conséquent la meilleure biodégradabilité des fractions AF\* du lixiviat et HyI de l'eau de rivière pourrait être due à la présence en leur sein de composés utilisables en tant que substrats primaires alors que les autres fractions en seraient plus dépourvues. Cependant, l'interprétation est à modérer puisque aucun composé « simple » (sucres, acides aminés) n'a été répertorié dans le pyrochromatogramme de la fraction AF\*. De plus, l'emploi de substrats primaires par des microorganismes favorise non seulement le cométabolisme mais peut aussi conduire à la formation de nouveau matériel humique (Claus *et al.*, 1997). Ainsi, la biodégradation de certaines fractions pourrait être sous estimée par une utilisation de leurs composés pour engendrer de nouvelles SH ou SH\*.

La notion de toxicité peut également permettre d'expliquer certaines bioréactivités. En effet, les tests de biodégradabilité expriment parfois involontairement la toxicité de composés qui portent atteinte à la viabilité de la biomasse. La faible bioréactivité d'un échantillon relevant alors moins de sa qualité intrinsèque que de l'altération de l'activité bactérienne.

Ainsi les métaux lourds constituent des éléments extrêmes toxiques pour de nombreuses populations microbiennes. Ils sont naturellement peu présents dans les eaux surfaces où ils correspondent en majorité à des apports anthropiques (Förstner & Wittmann, 1981). En revanche, Kruempelbeck & Ehrig (1999) indiquent une grande quantité et une grande diversité de métaux lourds dans les lixiviats. Cependant, leur potentiel de toxicité n'est pas déterminé par leur concentration mais essentiellement par leur forme physico-chimique. Ainsi, les métaux sont principalement biodisponibles sous une forme libre et sous forme de complexes labiles (Free-Ion Activity Model, FIAM, Tessier & Turner, 1995). Baun & Christensen (2004), en synthétisant les données de la littérature sur la spéciation des métaux dans les lixiviats à pH 6,5-7,5, rapportent la présence de métaux lourds sous forme libre,

associés à des espèces minérales ou bien piégés avec la matrice organique. Or les protocoles de fractionnement par résines XAD définissent aussi la fraction hydrophile comme la phase aqueuse contenant l'ensemble des minéraux en solution. De ce fait, et bien que plusieurs modifications de pH aient été réalisées avant l'analyse de la biodégradabilité, il est vraisemblable que des métaux lourds soient présents sous des formes toxiques dans la fraction Hyl\*. Dès lors une partie de l'inoculum pourrait être éliminée. Cependant, la résistance potentielle des souches employées est à considérer car certains *Bacillus* (Yilmaz, 2003) comme certaines souches de *Pseudomonas fluorescens* (Hussein *et al.*, 2004) présentent une bonne tolérance aux métaux lourds. De même, les xénobiotiques organiques peuvent aussi induire une certaine toxicité sur les microorganismes. Ainsi, la plus faible bioréactivité de la fraction AH\* par rapport à la fraction AF\*, pourrait être éventuellement rapportée à la toxicité du bisphénol A ou du phénanthrène, identifiés dans son pyrochromatogramme. En outre, la biodégradation résulte parfois dans la production de métabolites dont la toxicité peut être aussi grande, voire plus grande, que la substance initiale (Tixier *et al.*, 2000).

Le choix d'inoculum peut aussi être incriminé dans la faiblesse des valeurs observées. Selon Moran & Hodson (1990) seuls les composés simples (sucres, acides aminés) peuvent être directement utilisés par les microorganismes alors que les SH nécessitent au contraire de nombreuses réactions enzymatiques pour une dégradation complète (Schulten, 1996). Par conséquent, il apparaît difficile pour un seul type de microorganismes d'effectuer une dégradation efficace de substrats aussi complexes que les SH. C'est pourquoi la plupart des tests de biodégradabilité emploient des consortiums bactériens sélectionnés (Van der Kooij, 1992) ou bien de véritables inoculums naturels pour disposer d'un vaste panel d'activités métaboliques. De ce fait, il est probable que la simplicité de nos inoculums ne permette pas d'observer de fortes biodégradabilités. Cependant nos deux souches agissent par de multiples enzymes qui semblent par ailleurs relativement similaires puisque *B. subtilis* et *P. fluorescens* ne montrent pas de différence d'affinité vis à vis des diverses fractions.

### III.1.2 CODB des fraction extraites selon Malcolm & Mac Carthy (1992)

La figure III-4 rapporte les pourcentages de CODB déterminés pour les fractions HPO\*, TPH\* et HPI\* du lixiviat et la figure III-5 les pourcentages de CODB obtenus pour les fractions HPO, TPH et HPI de la rivière la Glane.

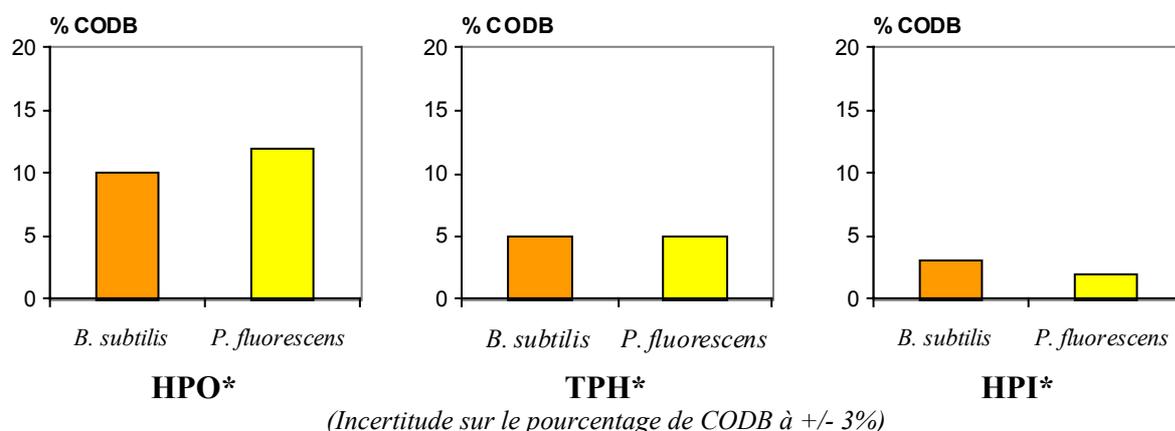


Figure III-4 : Pourcentages de carbone organique dissous biodégradable déterminés à l'aide de *B. subtilis* et *P. fluorescens* dans les fractions HPO\*, TPH\* et HPI\* extraites du lixiviat.

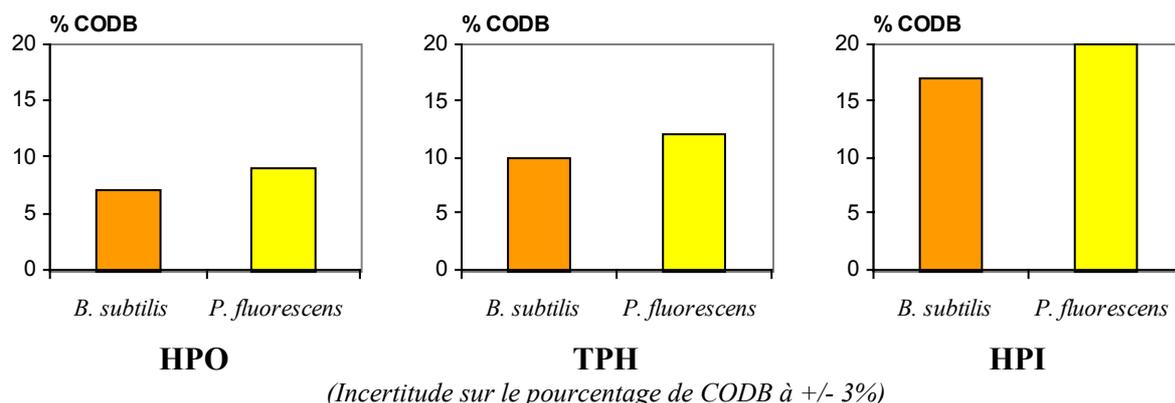


Figure III-5 : Pourcentages de carbone organique dissous biodégradable déterminés à l'aide de *B. subtilis* et *P. fluorescens* dans les fractions HPO, TPH et HPI extraites de la rivière la Glane.

Tout comme pour les résultats précédents, certaines fractions semblent plus bioréactives que d'autres. Ainsi, la fraction HPO\* du lixiviat apparaît plus biodégradable que les deux autres, ce qui corrobore les résultats obtenus pour la fraction AF\*. En effet, de par les protocoles de fractionnement, on peut considérer que la fraction AF\* constitue une part importante de la fraction HPO\*. De même, la fraction HyI\* (ou HyI) peut être techniquement considérée comme le mélange des fractions TPH\* et HPI\* (ou TPH et HPI). Aussi, on constate que la faible réactivité de la fraction HyI\* est autant due à la fraction TPH\* que HPI\*. En revanche, pour l'eau rivière, il apparaît que la biodégradabilité de la fraction hydrophile HyI est plutôt due à la fraction la plus hydrophile HPI.

En considérant également une utilisation des fractions comme substrat primaire ou secondaire, les hypothèses basées sur la nature de leurs constituants demeurent valides. Ainsi, plusieurs études relatives aux milieux naturels rapportent une meilleure biodégradabilité de la fraction la plus hydrophile (Jandl & Sollins, 1997; Jandl & Sletten, 1999) qu'elles attribuent à la présence de composés simples. Aussi on peut supposer retrouver des sucres et des acides aminés dans la fraction HPI de l'eau de la rivière la Glane. Par opposition, la présence de composés polyhydroxyaromatiques retrouvés lors de mesures de pyrolyse CG/SM sur des fractions HPO et TPH extraites de rivière (Labouyrie-Rouillier, 1997) pourrait expliquer la moins bonne utilisation des fractions HPO et TPH de la rivière la Glane.

La faible biodégradabilité de la fraction HPI\* trouve en revanche une explication dans l'origine du lixiviat. Ainsi il est envisageable que l'apport permanent et la décomposition continue de MO fraîche alimentent la fraction hydrophile (HPI) d'un milieu naturel en éléments simples alors que le confinement d'une décharge conduit à l'épuisement de ces composés au cours du temps. De ce fait un lixiviat de site aussi âgé que celui de Crézin ne disposerait plus des composés simples déjà utilisés par les biomasses. En effet, l'analyse par pyrolyse CG/SM montre que la fraction HPI\* contient de nombreux composés anthropiques de types plastifiants, seulement biodégradables par des microorganismes adaptés. En revanche, cette hypothèse ne justifie pas la meilleure biodégradabilité de la fraction hydrophobe du lixiviat (HPO\*). En effet, les fractions hydrophobes généralement définies dans les milieux mixtes (naturels et anthropogènes), comme les eaux usées, apparaissent plus réfractaires à la dégradation (Namour & Müller, 1998). Aussi, il semble que les constituants de la fraction HPO\* soient en partie différents de ceux rencontrés dans les milieux courants. En effet le pyrochromatogramme de la fraction AF\* (*2<sup>ème</sup> Partie*) met en avant des structures ne ressemblant pas à des fragments ligneux. En outre, il est possible de rencontrer des structures

de hauts poids moléculaires plus biodégradables que des composés de petites tailles (<1000Da) (Amon & Benner, 1996).

L'effet de la toxicité peut être également évoqué pour interpréter la réactivité de la fraction hydrophile du lixiviat (HPI\*). Une analyse des métaux lourds présents dans cette fraction (à COD=20mg C.L<sup>-1</sup> et avant mesure de biodégradabilité) par spectrophotométrie d'Absorption Atomique Four (Varian Spectra GTA-100 à effet Zeeman) rapporte : 8µg.L<sup>-1</sup> de Cd, 31µg.L<sup>-1</sup> de Cu, 189µg.L<sup>-1</sup> de Ni, 8µg.L<sup>-1</sup> de Pb et 315µg.L<sup>-1</sup> de Zn. Bien que les seuils de toxicité soient variables d'un microorganismes à l'autre, on peut tout de même attendre un effet lié au nombre de ces toxiques. De plus, malgré la présence de matière organique, il reste systématiquement à pH 7 des formes toxiques libres ou labiles (Baun & Christensen, 2004). De ce fait, la biodégradabilité de la fraction HPI\* pourrait être faussée par leur toxicité. Bien évidemment, il aurait été intéressant de connaître la quantité et les formes des métaux dans l'ensemble des fractions pour vérifier cette hypothèse.

### III.1.3 Comparaison lixiviat de Crézin / eau de la rivière la Glane

La comparaison des deux milieux laisse entrevoir des différences dans la distribution du CODB mais également dans les valeurs observées. De manière générale les pourcentages obtenus pour les fractions de l'eau de surface semblent un peu plus élevés que ceux du lixiviat, ce qui pourrait traduire une moins bonne biodégradabilité de la MO du lixiviat.

En considérant la distribution des fractions au sein de chaque milieu et à partir du CODB de leurs fractions, il est possible d'estimer le CODB globale de ces milieux. Le tableau III-3 présente la valeur de CODB estimée par calcul et la valeur réellement obtenue à partir de l'analyse d'un échantillon non fractionné de lixiviat et d'eau de la Glane. La distribution des fractions au sein de ces deux milieux, employée pour l'estimation, y est également rappelée.

Tableau III-3 : Estimation et détermination du Carbone Organique Dissous Biodégradable du lixiviat de Crézin et de l'eau de surface la Glane par les souches *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas fluorescens*.

Lixiviat de Crézin	Eau de surface la Glane
Valeur estimée : <i>P. fluorescens</i> : 0,9 mg C.L <sup>-1</sup> <i>B. subtilis</i> : 0,8 mg C.L <sup>-1</sup>	Valeur estimée : <i>P. fluorescens</i> : 1,2 mg C.L <sup>-1</sup> <i>B. subtilis</i> : 1 mg C.L <sup>-1</sup>
Valeur mesurée : <i>P. fluorescens</i> : 1,1 mg C.L <sup>-1</sup> <i>B. subtilis</i> : 1,1 mg C.L <sup>-1</sup>	Valeur mesurée : <i>P. fluorescens</i> : 2,8 mg C.L <sup>-1</sup> <i>B. subtilis</i> : 2,5 mg C.L <sup>-1</sup>
Répartition employée : AH 5%, HPO 65,5%, TPH 13,5%, HPI 16%	Répartition employée : AH 8%, HPO 51,5%, TPH 18,5%, HPI 22%

Il apparaît que l'eau de surface présente une plus forte teneur globale en CODB que le lixiviat, ce qui laisse indiquer une moins bonne bioréactivité de la MO du lixiviat. En outre, on constate que l'estimation réalisée à partir des valeurs propres à chaque fraction est systématiquement plus faible que la valeur réelle, mais pas trop éloignée dans le cas du lixiviat alors que de gros écarts apparaissent pour l'eau de surface. De ce fait on peut penser que le cométabolisme est un processus plus important dans la biodégradation des eaux de surface puisque l'association des fractions augmente la biodégradabilité globale. En revanche, les faibles écarts observés pour le lixiviat laissent supposer que les fractions sont essentiellement utilisées comme substrats primaires. Il est également envisageable que les

écarts observés entre valeur estimée et valeur mesurée soient tout simplement dus à la perte de composés biodégradables lors de l'extraction des fractions.

Les deux milieux ne semblent également pas présenter d'utilisation préférentielle par l'un ou l'autre des microorganismes. En effet, *B. subtilis* et *P. fluorescens* ne montrent pas de grandes différences d'affinité vis à vis des diverses fractions. De même, Volk & Le Chevallier (2000) observent des écarts similaires dans la mesure du COA par *Pseudomonas fluorescens* P17 ou par *Spirillum* NOX. En revanche, bien que théoriquement la biodégradabilité dépende non seulement de la structure moléculaire des composés mais également des microorganismes utilisés, il ne semble pas dans notre cas qu'un inoculum indigène soit mieux adapté. Néanmoins, un seul microorganisme de chaque milieu ayant été utilisé ceci ne permet pas de dire que la faune complète d'un milieu aurait les mêmes effets puisque Hertkorn *et al.* (2002) observent des différences d'utilisation des SH extraites d'eaux souterraines et de lacs selon que l'inoculum vient ou non du même milieu.

### III.2. Détermination du Carbone Organique Assimilable

Les microorganismes hétérotrophes utilisent la matière organique assimilable pour croître. Par conséquent, une certaine forme de biodégradation repose sur la conversion en biomasse bactérienne de cette fraction de MOD lors de phases de croissance. Les principaux moyens d'estimation de cette portion de MO sont basés sur la mesure du Carbone Organique Assimilable (COA) puisque sa corrélation avec la croissance des populations hétérotrophes a été établie (LeChevallier *et al.*, 1993).

Dans le cadre de ce travail, nous avons essayé de déterminer le COA contenu au sein de différentes fractions de MO à l'aide de la méthode de Van der Kooij *et al.* (1982). La procédure d'origine a cependant été modifiée pour permettre l'analyse de fractions organiques extraites. En effet, le principe et la méthodologie de mesure du COA ont été initialement développés pour déterminer le potentiel de recroissance bactérienne au sein de systèmes d'adduction d'eau potable et par conséquent, pour des eaux globalement de faibles teneurs en COD mais relativement minéralisées. De ce fait, nous avons adapté la concentration de nos échantillons et également apporté des éléments nutritifs pour permettre la croissance. Miettinen *et al.* (1999) ont en effet mis en avant l'importance des nutriments inorganiques dans les analyses de COA, notamment d'eaux riches en carbone organique. Par contre ces mêmes auteurs soulignent que l'ajout de sels nutritifs amène à considérer le COA potentiel plutôt que le COA réel. Néanmoins, il nous est nécessaire de rajouter des nutriments puisque de par leur extraction il n'est plus possible de considérer les fractions organiques comme des milieux complets.

La procédure opératoire a été la suivante. La fraction analysée est tout d'abord diluée à  $10\text{mg.L}^{-1}$  en COD. 25mL sont ensuite introduits dans un flacon en verre de 125mL avec 25mL de solution nutritive puis le pH est fixé à 7. Le mélange est filtré sur  $0,2\ \mu\text{m}$  etensemencé avec une suspension bactérienne de manière à obtenir environ  $10^3\text{UFC/mL}$  puis le flacon est incubé à  $20^\circ\text{C}$  (*Pseudomonas fluorescens*) ou  $30^\circ\text{C}$  (*Bacillus subtilis*) dans l'obscurité pendant 7 jours (étuves WTW T5 606/3 et T5 601/3) sous agitation. Au bout de la durée d'incubation, une numération des microorganismes présents dans l'échantillon est effectuée sur des géloses de PCA par la technique de dilution étalement. Les géloses sont ensuite incubées 2 jours à  $20^\circ\text{C}$  (*Pseudomonas fluorescens*) ou  $37^\circ\text{C}$  (*Bacillus subtilis*), puis le nombre de colonies est estimé. Seules les boîtes présentant entre 30 et 300 colonies sont considérées. Une numération est également réalisée sur l'inoculum afin de déterminer le nombre exact de colonies initialement introduites et sur un essai à blanc constitué uniquement de l'inoculum dans la solution nutritive.

La concentration de l'échantillon avant inoculation a volontairement été fixée à  $5\ \text{mg.L}^{-1}$  pour rester dans les gammes de valeurs rencontrées dans ce type de test. La solution de nutriments

employée demeure la même que pour les tests de CODB. La préparation de l'inoculum est en revanche beaucoup plus méticuleuse que pour les autres tests et reprend la procédure de Le Chevallier *et al.* (1993). En effet, en raison des faibles valeurs relatives à la détermination du COA, l'ajout de l'inoculum ne doit pas conduire à l'introduction d'une autre source de carbone. De ce fait, plusieurs colonies d'une même espèce sont transférées de gélose PCA dans 50mL d'une solution comprenant 25mL de solution nutritive et 25mL d'une solution d'acétate de sodium ( $\text{CH}_3\text{COONa}$  anhydre, Fluka) à 2 mg de carbone acétate par litre ( $\text{mg C acétate.L}^{-1}$ ). Puis l'ensemble est incubé à 20°C (*Pseudomonas fluorescens*) ou 37°C (*Bacillus subtilis*) jusqu'à ce que la phase stationnaire soit atteinte. La solution bactérienne est alors stockée à 5°C, température pour laquelle sa population ne diminue que très lentement sur plusieurs mois.

Les tests de COA rapportent systématiquement la synthèse de biomasse à une utilisation de matière organique. Cette conversion est réalisée à partir de courbes de croissances obtenues généralement avec de l'acétate de sodium. Ainsi, plusieurs solutions de différentes concentrations en acétate de sodium sont analysées suivant la procédure. La figure III-6 et la figure III-7 rapportent les relations entre la concentration en acétate de sodium (exprimée en  $\text{mg C acétate.L}^{-1}$ ) et le nombre de colonies obtenues après la période d'incubation respectivement pour *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas fluorescens*.

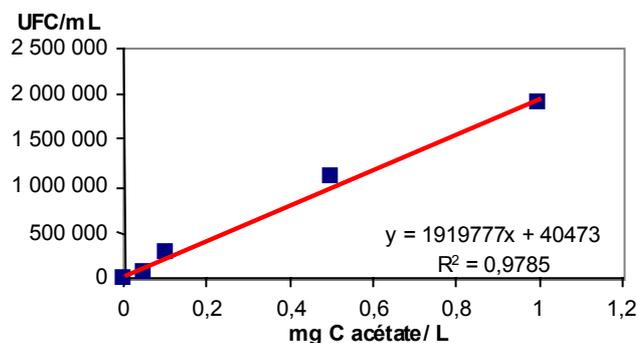


Figure III-6 : Relation entre la concentration en acétate de sodium et le nombre de colonies de *Bacillus subtilis* obtenues au bout de la période d'incubation.

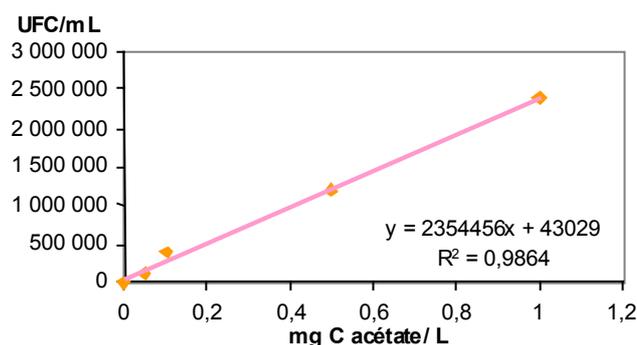


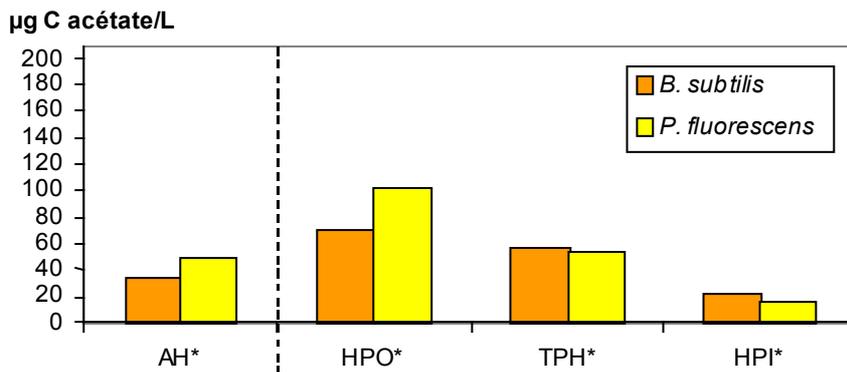
Figure III-7 : Relation entre la concentration en acétate de sodium et le nombre de colonies de *Pseudomonas fluorescens* obtenues au bout de la période d'incubation.

Le nombre de colonies obtenues se corrèle bien avec la concentration en acétate de sodium introduite jusqu'à  $1\text{mg C acétate.L}^{-1}$ . Les rendements de croissance déterminés à partir des pentes des courbes de tendance sont de l'ordre de  $1,9 \times 10^6 \text{ UFC.}\mu\text{g}^{-1} \text{ C acétate}$  pour *Bacillus subtilis* et de  $2,3 \times 10^6 \text{ UFC.}\mu\text{g}^{-1} \text{ C acétate}$  pour *Pseudomonas fluorescens*. Les valeurs observées sont assez proches de celles de Van der Kooij *et al.* (1982) qui rapportent pour leur

*P. fluorescens* P17 un rendement de  $4,1 \times 10^6$  UFC. $^{-1} \mu\text{g C}$  acétate et de Miettinen *et al.* (1999) qui rapportent pour leur *P. fluorescens* MMV90 un rendement de  $2 \times 10^6$  UFC. $^{-1} \mu\text{g C}$  acétate.

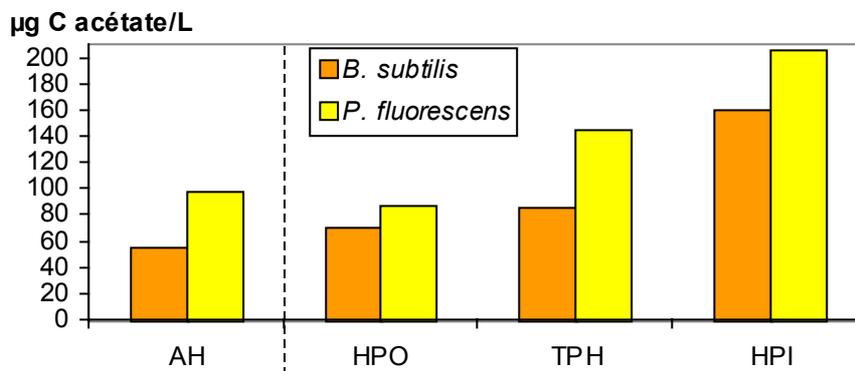
### III.2.1 Détermination du Carbone Organique Assimilable des fractions extraites

La figure III-8 présente les teneurs en Carbone Organique Assimilable déterminées pour *B. subtilis* et *P. fluorescens* sur les fractions extraites du lixiviat. La figure III-9 rapporte les teneurs en Carbone Organique Assimilable déterminées pour *B. subtilis* et *P. fluorescens* sur les fractions extraites de l'eau de la rivière la Glane.



(Incertitude sur la valeur de COA à  $\pm 10 \mu\text{g C acétate.L}^{-1}$ )

Figure III-8 : Teneurs en Carbone Organique Assimilable déterminées à l'aide de *B. subtilis* et *P. fluorescens* sur les fractions AH\*, HPO\*, TPH\* et HPI\* extraites du lixiviat de Crézin.



(Incertitude sur la valeur de COA à  $\pm 10 \mu\text{g C acétate.L}^{-1}$ )

Figure III-9 : Teneurs en Carbone Organique Assimilable déterminées à l'aide de *B. subtilis* et *P. fluorescens* sur les fractions AH, HPO, TPH et HPI extraites de l'eau de la rivière la Glane.

Les résultats montrent des valeurs de COA dans les mêmes gammes de concentration que celles rencontrées pour des eaux de surface avec des tests similaires utilisant les microorganismes de référence (Miettinen *et al.*, 1999 ; Volk, 2002). Globalement, les valeurs obtenues pour l'eau de la Glane sont plus fortes que celles du lixiviat. Des différences significatives apparaissent entre les fractions étudiées, ce qui laisse penser que certaines sont plus propices à la multiplication bactérienne. Ainsi, les fractions HPO\* du lixiviat et HPI de l'eau de rivière présentent les plus grandes quantités de COA alors qu'elles possédaient déjà les plus fortes teneurs en CODB.

Au sein de la Matière Organique Biodégradable, le COA représente l'ensemble des composés facilement utilisables par une biomasse. Selon Volk & Le Chevallier (2000), le COA est principalement composé de petites molécules non humiques. Contrairement à la majorité du

COD, de nature polymérique, qui demande une étape d'hydrolyse extracellulaire avant d'être transporté dans la cellule microbienne (Münster, 1993), les constituants du COA sont utilisables tels quels. De ce fait, de plus fortes teneurs en COA traduisent la présence d'un plus grand nombre de composés simples au sein d'une matrice organique. Cependant, ces composés résultent également de décompositions enzymatiques de structures complexes ayant en revanche déjà eu lieu.

Dans les eaux de surface, l'apport de MO terrigène et d'organismes aquatiques en décomposition alimentent la MOD en monomères aisément assimilables de type acides aminés, sucres et acides gras. Il est par conséquent commun de trouver différents acides aminés (Hureiki *et al.*, 1996) et différents sucres (Larson & Weber, 1994) au sein d'eaux naturelles, cependant les formes libres s'avèrent systématiquement en plus faible quantité que les formes combinées. De même plusieurs types d'acides carboxyliques sont fréquemment répertoriés (Thurman, 1985). Selon Labouyrie-Rouillier (1997), les acides aminés totaux représentent en moyenne 0,5 à 8% du COD d'eaux de rivière contre 0,5% pour les acides aminés libres (Thurman, 1985). Les sucres totaux représentent quant à eux de 0,2 à 8% du COD d'eaux de rivière contre 1 à 2% pour les mono- ou di-saccharides. Les différents acides carboxyliques correspondent à environ 9% du COD (Thurman, 1985). Connolly *et al.* (1994) estiment que les acides aminés libres et combinés constituent les substrats privilégiés de la croissance bactérienne. Par ailleurs les sucres simples favorisent aussi la dynamique des populations (Pelmont, 1993). D'un point de vue théorique, le fractionnement de la MO sur résines XAD suppose que les composés hydrophiles et de petites tailles restent dans la fraction la plus polaire, et que les composés plus hydrophobes et de tailles diverses restent piégés sur les résines d'extraction. La forte valeur de COA observée pour la fraction HPI de l'eau de rivière, pourrait de ce fait s'expliquer par la présence de sucres et d'acides aminés dans cette fraction. Labouyrie-Rouillier (1997) observe effectivement de grandes teneurs en acides aminés totaux dans certaines fractions hydrophiles. Cependant, la distribution des sucres et acides aminés totaux n'est pas spécifique d'une fraction puisque ces éléments apparaissent indifféremment répartis. D'autre part, l'analyse par pyrolyse CG/SM de la fraction HPI de la rivière Glane, n'a permis d'identifier qu'un seul fragment susceptible d'être un acide aminé. Néanmoins, cette hypothèse reste cohérente avec la réactivité observée pour les fractions HPO et TPH. En effet, la fraction TPH des eaux naturelles est fréquemment de nature plus protéique, donc potentiellement plus riche en acides aminés combinés, que la fraction HPO généralement dotée de composés de hautes masses moléculaires. Or la fraction TPH de l'eau de la Glane apparaît effectivement un peu plus réactive. Néanmoins, l'obtention de COA pour les fractions HPO et AH est en adéquation avec les observations de Thurman (1985) qui rapporte la présence de quelques composés simples piégés au sein des fractions humiques.

Pour le lixiviat, les fractions les plus assimilables diffèrent de celles de l'eau de rivière. En effet, la fraction la plus hydrophile (HPI\*) présente au contraire la plus faible réactivité. Comme évoqué dans l'interprétation du CODB, les composés simples ont très certainement déjà été épuisés et non renouvelés en raison du confinement du site. En outre, il est envisageable que certains éléments minéraux accumulés au sein de cette fraction expriment leur toxicité. La croissance étant alors faussée par la mort des microorganismes ou bien par l'inactivation de leur capacité de multiplication. En revanche, la fraction HPO\* demeure d'une réactivité atypique, mais cohérente avec les résultats de CODB puisqu'elle présente aussi le plus fort COA des fractions du lixiviat. Bien que dans certaines eaux naturelles, cette fraction puisse présenter de nombreux sucres et acides aminés totaux (Labouyrie-Rouillier, 1997), il est délicat de l'extrapoler au lixiviat d'autant que son analyse pyrochromatographique ne les met pas évidence. Néanmoins, cette bonne bioréactivité tant en terme de bio assimilation (COA) que de biodégradation (CODB) indique pourtant une

évidente biodisponibilité. Le fractionnement effectué sur un lixiviat s'autobiodégradant une semaine à l'air (1<sup>ère</sup> Partie paragraphe V.2.2) souligne également la disparition de cette fraction au profit des fractions plus hydrophiles. Cependant, on peut se demander pourquoi cette biodégradation n'intervient qu'en conditions aérées alors que la fraction semble bien bioréactive. Les microorganismes anaérobies peuvent être suspectés de n'avoir pas pu décomposer cette fraction, néanmoins le COA indiquant des composés simples, cette hypothèse semble peu valide. La transition de l'anaérobie de la décharge aux conditions aérées de l'analyse peut-être alors incriminée puisqu'elle occasionne la mort de certaines espèces microbiennes dont les cellules et les composants cellulaires enrichissent le lixiviat. Les constituants particuliers comme les membranes cellulaires sont en principe éliminés avant fractionnement lors de l'étape de filtration. En revanche, la part soluble, restant en solution, pourrait ainsi constituer une forme de MO fraîche réutilisable par les autres organismes. Cependant, les pyrochromatogrammes d'une partie de la fraction HPO\* (à savoir AF\*) et de l'échantillon bactérie ne semblent pas présenter de similitudes.

### III.2.2 Comparaison lixiviat de Crézin / eau de la rivière la Glane

La comparaison des deux milieux laisse entrevoir des valeurs de COA un peu plus élevées pour les fractions de l'eau de surface, ce qui pourrait traduire une meilleure assimilation de la MO naturelle.

En considérant la distribution des fractions au sein de chaque milieu et à partir du COA de leurs fractions, il est possible d'estimer le COA global de ces milieux. Le tableau III-4 présente la valeur de COA estimée par calcul et la valeur réellement obtenue à partir de l'analyse d'un échantillon non fractionné de lixiviat et d'eau de la Glane. La distribution des fractions au sein de ces deux milieux y est également rappelée.

Tableau III-4 : Estimation et détermination du Carbone Organique Assimilable du lixiviat de Crézin et de l'eau de surface la Glane par les souches *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas fluorescens*.

Lixiviat de Crézin	Eau de surface la Glane
Valeur estimée : <i>P. fluorescens</i> : 81 µg C.L <sup>-1</sup> <i>B. subtilis</i> : 61 µg C.L <sup>-1</sup>	Valeur estimée : <i>P. fluorescens</i> : 124 µg C.L <sup>-1</sup> <i>B. subtilis</i> : 93 µg C.L <sup>-1</sup>
Valeur mesurée : <i>P. fluorescens</i> : 119 µg C.L <sup>-1</sup> <i>B. subtilis</i> : 107 µg C.L <sup>-1</sup>	Valeur mesurée : <i>P. fluorescens</i> : 183 µg C.L <sup>-1</sup> <i>B. subtilis</i> : 157 µg C.L <sup>-1</sup>
Répartition employée : AH 5%, HPO 65,5%, TPH 13,5%, HPI 16%	Répartition employée : AH 8%, HPO 51,5%, TPH 18,5%, HPI 22%

Le lixiviat présente ainsi de plus faibles teneurs en COA que l'eau de surface, ce qui laisse indiquer une moins bonne réactivité de sa MO. En outre, on constate que l'estimation réalisée à partir des valeurs propres à chaque fraction est toujours plus faible que la valeur réelle pour les deux milieux, et un peu plus éloignée pour l'eau de rivière. De ce fait il semble que l'association des fractions ait un effet synergique sur l'assimilation globale. On peut alors supposer, s'il ne s'agit pas de pertes liées à l'extraction, que des processus de cométabolisme permettent de décomposer les structures complexes de certaines fractions de l'eau naturelle en composés plus simples. Par contre, l'effet beaucoup moins perceptible sur le lixiviat, peut traduire des composés plus difficilement décomposables et/ou le manque de composés simples pour de tels processus.

Les deux milieux présentent également des différences d'utilisation suivant les microorganismes considérés. Ainsi, *B. subtilis* semble moins bien assimiler la MO du lixiviat que *P. fluorescens* et encore moins bien celle de l'eau de rivière. Selon la figure III-9, la moins bonne affinité de *B. subtilis* à l'égard de la MO de l'eau de surface semble concerner l'ensemble des fractions alors que la figure III-8 indiquerait plutôt une affinité moindre à l'égard des fractions AH\* et HPO\* de la MO du lixiviat. Inversement, on peut dire que *P. fluorescens* présente de plus grands attrait vis à vis de certaines fractions de MO. Néanmoins quelque soit l'interprétation, les différences sont vraisemblablement dues au métabolisme inhérent à chacun des deux microorganismes. Ainsi le rendement plus faible de conversion d'acétate de *B. subtilis* pourrait freiner sa multiplication et induire une moindre bio-utilisation.

### III.2.3 Comparaison entre COA et CODB

La figure III-10 rapporte les corrélations entre COA et CODB obtenues sur les différentes fractions pour les deux microorganismes.

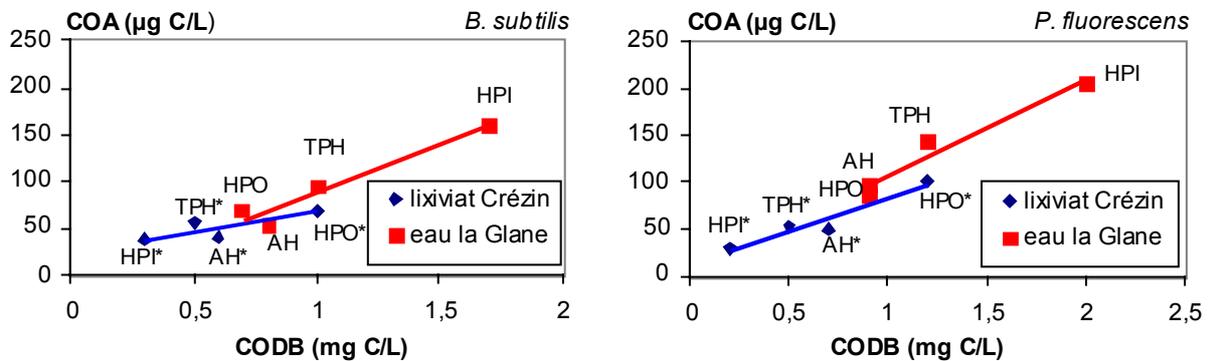


Figure III-10 : Relation entre le carbone organique assimilable et le carbone organique dissous biodégradable pour le lixiviat de Crézin et l'eau de surface la Glane avec *Bacillus subtilis* et *Pseudomonas fluorescens*.

De manière générale, les valeurs de COA sont en adéquation avec les teneurs observées en CODB si bien que ces deux paramètres se corrént assez bien dans les deux milieux et pour les deux microorganismes malgré des répartitions différentes. Volk *et al.* (1992) observent une moins bonne corrélation de ces paramètres pour des mesures relatives à différents types d'eau. De même Kaplan *et al.* (1992) rapportent une très faible corrélation à partir de l'analyse de 79 eaux de consommation. Aussi l'origine et les caractéristiques propres à chaque MO semblent affecter la relation entre COA et CODB. Dans notre étude, les bonnes corrélations pourraient venir du fait que l'on corréle des fractions extraites d'un même milieu plutôt que des MO de différents milieux.

Les corrélations mettent également en évidence une pente et des valeurs plus importantes pour l'eau de surface traduisant ainsi une matière organique plus biodégradable par sa richesse en composés assimilables que le MOB du lixiviat. L'apport de MO fraîche et sa décomposition en étant vraisemblablement la cause.

En outre, pour chaque échantillon la valeur de CODB est toujours plus forte que la valeur de COA correspondant. Néanmoins, le COA est toujours considéré comme étant une part du CODB (Volk, 2002). Pour Charnock & Kjonno (2000), le COA mesure les composés facilement biodégradables alors que le CODB estime les composés facilement et lentement biodégradables. La transition entre des constituants simples et des polymères représentant probablement la différence essentielle. En effet, étant donné la longue période d'incubation d'un test de CODB (proche d'un mois), il est probable que la MO biodégradable mesurée correspondent à des composés microbiologiquement labiles et lentement biodégradables. La

fraction facilement assimilable devant vite s'épuiser, les microorganismes emploient leurs enzymes pour la reconstituer. En revanche la période de 9 jours des mesures de COA est moins propice pour l'acclimatation des microorganismes à la décomposition et l'utilisation des constituants complexes composant la MO lentement biodégradable.

### III.3. Détermination de la biodégradabilité par la consommation en oxygène

La biodégradation des matières organiques repose essentiellement sur l'activité microbienne d'un milieu. En conditions oxiques, l'utilisation et la dégradation de substrats organiques s'accompagnent obligatoirement d'une consommation de l'oxygène par les microorganismes aérobies. Par contre leur activité dépend fortement de la quantité et du type de substrat, si bien que les besoins en oxygène diffèrent suivant les matières organiques rencontrées. Ainsi des différences de biodégradabilité peuvent être déterminées par respirométrie à partir de la mesure et de l'interprétation de la vitesse de consommation de l'oxygène dissous par des microorganismes dans un réacteur (Lebonte, 2003). La Demande Biochimique en Oxygène (DBO) exprimant la quantité de dioxygène nécessaire pour dégrader (oxyder) les composés organiques par voie biochimique aérobie peut être alors prise comme paramètre de quantification de la biodégradabilité.

Les tests OECD 301C, 301D, 301F (OECD guidelines, 1993) et les normes ISO 9408, 10708 et 10707 ont ainsi été développés pour définir la biodégradabilité de substances organiques à partir de la mesure de la DBO. En effet, la DBO présente l'avantage majeur d'être un paramètre biologique direct définissant la biodégradabilité d'un composé par rapport aux microorganismes le dégradant. Ce paramètre permet de considérer la biodégradabilité comme l'aptitude et les besoins d'une biomasse plutôt que la réactivité d'un substrat. La DBO constitue en contrepartie une mesure indirecte de la biodégradabilité d'un composé par opposition à l'évolution de son COD. Mais la simplicité et l'automatisation des systèmes de mesure respirométrique ont contribué à la popularité de ce paramètre (Reuschenbach *et al.*, 2003). Ainsi, la DBO à 5 jours est couramment employée pour estimer la pollution organique biodégradable dans le domaine du traitement des eaux.

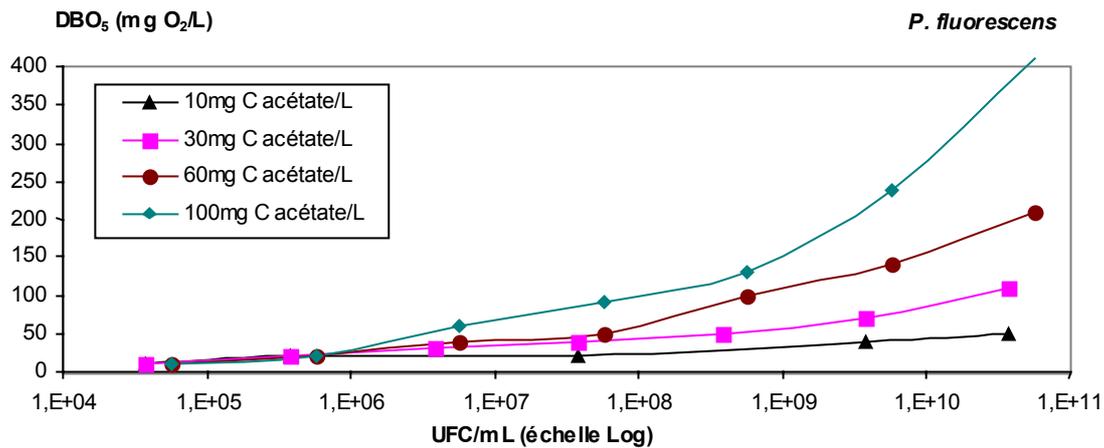
L'objectif de l'étude étant de déterminer la biodégradabilité de fractions de MO à partir de la quantité d'oxygène consommée lors d'essais de biodégradation, nous avons choisi d'estimer la Demande Biochimique en Oxygène (DBO) par la méthode de mesure manométrique de dépression avec le système Oxytop (WTW, Allemagne). La simplicité de ce système ayant été préférée à l'utilisation d'une sonde de mesure en continue de l'oxygène dissous. L'analyse de fractions organiques extraites a cependant nécessité d'adapter la mesure puisque les procédures d'origines concernaient essentiellement des eaux usées ou des substances chimiques. Ainsi, contrairement à l'analyse d'eaux usées, un volume unique de 164mL a été retenu pour travailler dans une gamme de  $DBO_5$  comprise entre 0 et  $400\text{mg O}_2\cdot\text{L}^{-1}$  plutôt que d'adapter le volume à la  $DBO_5$  attendue. L'ajout d'un inoculum et d'une solution nutritive ont été conservés fidèlement aux protocoles de l'OECD, néanmoins les concentrations de l'inoculum et de la fraction analysée ont été réadaptées pour rester dans la gamme de DBO choisie. En effet, les recommandations de l'OECD précisent surtout une masse de substance à dissoudre ( $100\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ ) plutôt qu'une concentration en carbone organique dissous et un inoculum sous forme de milligramme de matières sèches plutôt qu'un nombre de colonies. Aussi, nous avons tout d'abord cherché à définir les modalités les plus adéquates pour ces deux paramètres.

#### III.3.1 Mise en place du test

Afin de pouvoir mesurer et comparer la biodégradabilité de différentes fractions, nous avons tout d'abord essayé d'optimiser la réponse du test sur un substrat simple. L'acétate de sodium

a alors été choisi pour définir la biodégradabilité maximale mesurable par le test en supposant qu'il soit un substrat bien plus biodégradable que les composés à étudier.

Ainsi, la concentration en acétate et la quantité d'inoculum permettant d'obtenir la réponse la plus élevée de la gamme de travail ont été déterminées. Plusieurs solutions d'acétate de sodium de 20 à 200mg C acétate.L<sup>-1</sup> ont alors été préparées, puis 82mL ont été mélangés à 81mL de solution nutritive et mis à pH 7. 163mL ont été ensuite introduits dans un flacon pour DBO avec 1mL de suspension bactérienne à différentes concentrations en *P. fluorescens* (isolée de l'eau de la Glane). Les flacons ont ensuite été mis à incuber 5 jours à 20°C dans l'obscurité (étuve WTW T5 606/3), puis la DBO<sub>5</sub> a été mesurée au bout de cette période. La figure III-11 rapporte les valeurs de DBO<sub>5</sub> obtenues pour différentes concentrations en acétate de sodium et pour différents nombre de bactéries inoculées.

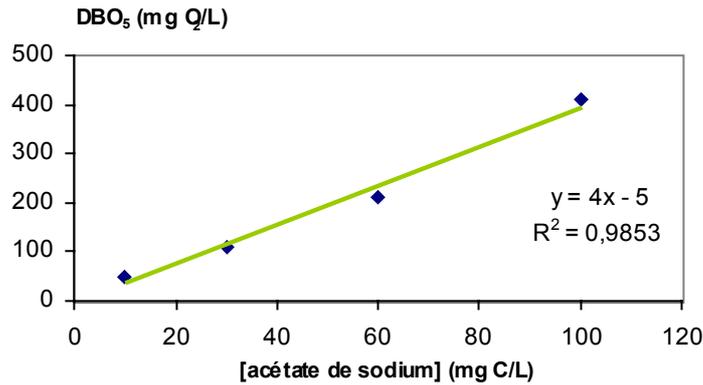


(Incertitude sur la DBO<sub>5</sub> à +/- 20mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup> et incertitude sur le nombre d'UFC/mL à +/- 10%)

Figure III-11 : Evolution de la DBO<sub>5</sub> en fonction du nombre de bactéries inoculées et de la concentration en acétate de sodium introduite.

Les résultats mettent en évidence que l'introduction d'un faible nombre de microorganismes conduit à de très faibles valeurs de DBO ne permettant même pas de distinguer l'effet de la concentration en substrat. Hufschmid *et al.* (2003) ne voient également aucune différence sur les DBO de solutions d'acide glutamique et de glucose pour de faible quantité d'inoculum. En revanche, il apparaît que sous les conditions opératoires utilisées, un inoculum de l'ordre de 10<sup>10</sup> UFC/mL permet d'obtenir de fortes valeurs de DBO pour des concentrations élevées en acétate. Ainsi, le postulat des tests respirométriques posant que « plus le nombre de microorganismes et la quantité de substrat biodégradable sont grands, plus la consommation en oxygène sera importante » se trouve vérifié. De ce fait, il a été décidé d'utiliser une concentration en COD de 100mg C.L<sup>-1</sup> et un inoculum de 10<sup>10</sup>UFC/mL pour réaliser les tests. La procédure finale pour une fraction extraite est alors d'introduire dans un flacon à DBO : 82mL d'une solution à 200mg.L<sup>-1</sup> de la fraction étudiée, 81mL de la solution nutritive et 1mL d'une suspension bactérienne à 10<sup>10</sup>UFC/mL.

Cependant, la DBO représentant une mesure directe de la biodégradabilité vis à vis des microorganismes, elle a été retranscrite en mesure directe par rapport au composé en associant, pour un inoculum de 10<sup>10</sup>UFC/mL, la valeur de DBO<sub>5</sub> obtenue à une concentration d'acétate donnée. La figure III-12 présente la corrélation obtenue entre la concentration en acétate de sodium et la DBO mesurée.



(Incertitude sur la DBO<sub>5</sub> à +/- 20mg O<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>)

Figure III-12 : Relation entre la concentration en acétate de sodium et la DBO<sub>5</sub> mesurée.

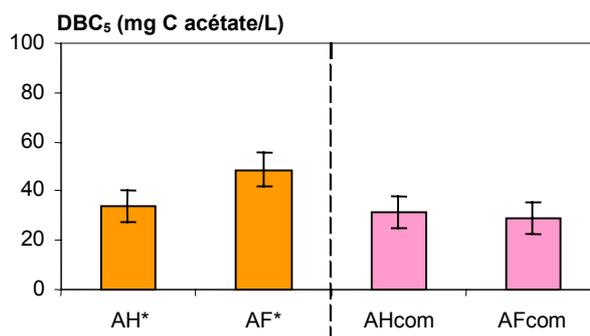
A partir de l'équation de la droite  $y = 4x - 5$  qui peut être exprimée sous la forme :

$$[\text{acétate de sodium}] = (\text{DBO}_5 + 5) / 4$$

il est possible de transcrire la valeur de DBO obtenue pour une fraction en unité de matière organique, c'est à dire en milligramme de carbone acétate par litre (mg C acétate.L<sup>-1</sup>) et par conséquent de définir une « sorte » de « Demande Biochimique en Carbone (DBC) ».

### III.3.2 Mesure de la DBO sur des fractions extraites

En reprenant les conditions établies lors de la mise en place du test, des mesures de biodégradabilité ont été effectuées sur différentes fractions de matières organiques. Cependant, de par l'importance des quantités de MO nécessaires à la réalisation d'une mesure, le test n'a pas pu être effectué sur l'ensemble des fractions du lixiviat et seules les fractions AH\* et AF\* ont été analysées. En revanche, aucune des fractions relatives à l'eau de surface la Glane n'a été testée par cette méthode, seules les fractions Acide Humique (AHcom) et Acide Fulvique (AFcom) extraites (Thurman & Malcolm, 1981) d'une solution de matière organique commerciale issue de tourbe (Aldrich) ont été comparées aux résultats obtenus sur les fractions du lixiviat. La figure III-13 rapporte les valeurs de DBO, transcrites en DBC, obtenues lors des tests de biodégradabilité.



(Incertitude sur la DBC<sub>5</sub> à +/- 7mg C acétate.L<sup>-1</sup>)

Figure III-13 : Demande Biochimique en Carbone déterminée pour *P. fluorescens* avec les fractions AH\*, AF\* extraites du lixiviat de Crézin et les fractions AHcom, AFcom extraites de matières organiques commerciales.

Les résultats mettent en évidence une meilleure biodégradabilité de la fraction AF\* du lixiviat, alors que les fractions AH\*, AHcom et AFcom présentent des biodégradabilités voisines mais plus faibles.

La meilleure biodégradabilité de la fraction AF\* est en accord avec les données obtenues par les mesures de CODB. Ainsi, une plus grande complexité de la fraction AH\* semble pouvoir expliquer sa moins bonne utilisation par des microorganismes que la fraction AF\*. De même, les substances humiques commerciales extraites de tourbières présentent généralement de nombreuses structures aromatiques et des éléments de fortes masses moléculaires (Kang *et al.*, 2002) qui peuvent justifier leur moins bonne biodégradabilité.

La réactivité des fractions AH\*, AHcom ne semble pas différentiable alors que la répartition des Substances Humiques au sein de ces deux milieux met en évidence une moindre quantité de composés de type AH dans le lixiviat et par conséquent un plus faible degré d'humification. De ce fait, on peut penser que les fractions AH\* et AH présentent des caractéristiques similaires à moins que les conditions du test ne permettent pas de bien différencier la réactivité de fractions récalcitrantes. L'écart entre la DBC<sub>5</sub> des fractions AF\* et AFcom indiquerait par contre des différences entre ces fractions probablement aussi imputables à leurs caractéristiques. L'hypothèse d'une analogie entre les décharges et les tourbières posée par Bozkurt *et al.* (2001) est par conséquent à modérer puisque les SH et SH\* générées semblent en partie différentes.

Le faible écart entre les différentes fractions peut être attribué à la courte période d'incubation du test (5 jours). En effet Reuschenbach *et al.* (2003) rapportent de forts taux de biodégradation permettant de distinguer des substances chimiques au delà de 10 jours lors de tests réalisés avec des Oxytops. Les transformations biochimiques des matières organiques sont également connues pour débiter instantanément après l'inoculation et ne se révèlent faibles qu'au bout de 20 jours environ (à 20°C) (Eckenfelder, 1982). Aussi, au bout de seulement 5 jours, la biodégradation ne peut pas être complète surtout sur les fractions les plus récalcitrantes à la biodégradation. Néanmoins, une mesure sur un temps aussi court permet de considérer la matière aisément biodégradable. De ce fait, les résultats tendent à montrer que la fraction AF\* semble constituée de composés simples d'utilisation pour des microorganismes.

En outre, les valeurs de DBO<sub>5</sub> ramenées en unité de carbone acétate se révèlent relativement élevées ce qui conduit à des pourcentages de biodégradabilité également élevés : 34% et 49% du COD pour AH\* et AF\* et 31% et 29% du COD pour AHcom et AFcom. Ces pourcentages beaucoup plus élevés que ceux du CODB, découlent en réalité de deux artefacts opératoires. La quantité de l'inoculum étant 10 fois plus importante dans le test de DBO, elle induit une plus grande consommation de substrat et par conséquent d'oxygène. D'autre part l'oxydation des composés carbonés n'étant pas complète à 5 jours, les quantités d'acétate de sodium mises en corrélation avec la DBO<sub>5</sub> (figure III-12) ne correspondent pas aux concentrations réellement consommées. De ce fait, la transcription en unité carbone des valeurs de DBO<sub>5</sub> est surestimée. En effet, pour des eaux usées, on estime que la biodégradation est d'environ 70% au bout de 5 jours (Eckenfelder, 1982).

#### IV. Conclusion

Les trois paramètres de mesure de la biodégradabilité (CODB, COA et DBO<sub>5</sub>) apportent des informations concordantes sur la bioréactivité des matières organiques. Ainsi, des différences significatives peuvent être observées entre les fractions issues d'un fractionnement sur résine XAD et d'un milieu à l'autre. Il semble alors que les mécanismes et la dynamique interne des milieux ne conduisent pas aux mêmes fractions bioréactives.

La fraction hydrophobe (HPO\*/AF\*) du lixiviat et hydrophile (HPI) de l'eau de rivière présentent ainsi les plus grandes biodégradabilités avec les trois paramètres. Cette forte bioréactivité demeure tout de même étonnante chez les fractions HPO\* et AF\*. En revanche, pour la fraction HPI cela pourrait s'expliquer par l'apport permanent de MO fraîche en décomposition.

Réciproquement la fraction hydrophile (HPI\*) du lixiviat et hydrophobe (HPO/AF) de l'eau de rivière apparaissent très peu biodégradables tout comme les deux fractions acide humique (AH et AH\*). La faible biodégradabilité de la fraction HPI\* trouve une explication dans le confinement d'une décharge qui conduit à l'épuisement des composés simples au cours du temps ou bien encore dans un biais de la toxicité. La réactivité des fractions hydrophobes et humiques de l'eau naturelle provient probablement de leur composition mais aussi de la présence probable de dérivés ligno-cellulosiques récalcitrants.

De ce fait, deux ordres de biodégradabilité peuvent être proposés :

pour le lixiviat : HPO\*/AF\*>AH\*>TPH\*>HPI\*

pour l'eau de la Glane : HPI>TPH>AH-HPO/AF

En comparaison des travaux de Jandl & Sletten (1999) et de Kalbitz *et al.* (2003), il apparaît que la biodégradabilité du lixiviat est distribuée de manière atypique. En effet, ces auteurs observent dans les milieux terrestres les mêmes fractions biodégradables que celles déterminées dans l'eau de la Glane. On peut par conséquent supposer que la genèse de la MO sous les conditions particulières d'une décharge conduit à un assemblage différent des composés organiques et donc à une humification qui lui est propre et qui est différente de celle des milieux naturels. Ces ordres valident en partie l'hypothèse formulée à la **1<sup>re</sup> Partie** définissant que « si des composés organiques peuvent être oxydés chimiquement ils peuvent éventuellement être oxydés par des enzymes bactériennes. Réciproquement, si des composés s'avèrent réfractaires à l'oxydation chimique ils peuvent être aussi réfractaires à l'oxydation par des enzymes bactériennes et par conséquent peu biodégradables ». En effet, la répartition de la DCO du lixiviat de Crézin met en évidence un fort pourcentage d'oxydabilité de la fraction HPO\* en comparaison de la fraction HPO relative à l'eau de la Glane et de même un fort pourcentage d'oxydabilité de la fraction HPI en comparaison de la fraction HPI\* du lixiviat. Or ces deux fractions (HPO\* et HPI) sont également les plus biodégradables de leur milieu respectif.

En conclusion, une schématisation de la biodégradabilité de la MO du lixiviat et des milieux naturels peut être proposée (figure III-14). Elle illustre que la matière organique du lixiviat est plus réfractaire que celle des milieux naturels car moins riche en CODB, lui-même moins riche en COA.

La figure III-14 présente les parts de Carbone Organique Dissous Biodégradable, Carbone Organique Assimilable et Carbone Organique Dissous Réfractaire au sein du Carbone Organique Dissous du lixiviat et des milieux naturels.

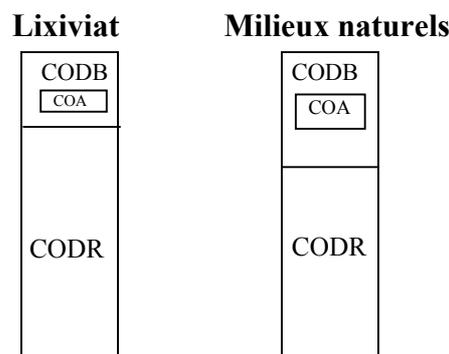


Figure III-14 : Schématisation des parts de Carbone Organique Dissous Biodégradable, Carbone Organique Assimilable et Carbone Organique Dissous Réfractaire au sein du Carbone Organique Dissous du lixiviat et des milieux naturels.

---

## **Quatrième Partie**

---

## Quatrième partie :

# RÉACTIVITÉ DE LA MATIÈRE ORGANIQUE

## DANS DES PROCÉDÉS PHYSICO-CHIMIQUES

La Matière Organique (MO) peut chimiquement réagir par complexation, par précipitation ou par adsorption selon la composition du milieu (paramètres physico-chimiques et autres constituants) mais aussi selon ses caractéristiques intrinsèques. Les processus de genèse inhérents à un milieu lui donnent en effet des caractéristiques et des origines (indigène, allochtone ou anthropogène) particulières qui lui confère une réactivité chimique propre. Aussi, l'étude de la réactivité chimique peut constituer une aide à la caractérisation d'une MO.

Les nombreux composés (solubles ou non) aptes à réagir avec la MO sont à l'origine d'un nombre considérable d'études scientifiques portant sur sa réactivité. Cependant, l'intérêt porté à la réactivité des matières organiques révèle, sous une même approche de compréhension des interactions possibles d'une matrice organique avec les autres constituants d'un milieu, deux objectifs distincts :

- essayer de comprendre les effets
- en utiliser les conséquences

La recherche des interactions matière organique / espèces métalliques a par exemple permis de montrer les capacités d'immobilisation des métaux par une matrice organique, et d'estimer ainsi les risques de pollutions métalliques au sein d'un milieu (aquifères contaminés par des lixiviats) (Baun & Christensen, 2004). En outre, en permettant la connaissance des phénomènes qui régulent la forme et les flux de la MO, l'étude de la réactivité a aussi trouvé un intérêt tout particulier dans la mise en place de procédés d'élimination des MO, comme les procédés du traitement des eaux.

Cette quatrième partie a pour objectif d'étudier la réactivité chimique de la MO du lixiviat par l'intermédiaire de procédés de traitement faisant appel à la **coagulation-floculation**. Dans le traitement des eaux, les principaux réactifs utilisés en coagulation sont des cations métalliques ( $\text{Al}^{3+}$  et  $\text{Fe}^{3+}$ ) que l'on introduit généralement sous forme de sels. Néanmoins, des procédés électrochimiques comme l'**électrocoagulation** permettent aussi d'incorporer ces cations métalliques par dissolution d'anodes en aluminium ou en fer (Chen, 2004).

De par leur bonne efficacité, les ions  $\text{Al}^{3+}$  et  $\text{Fe}^{3+}$  peuvent être tous deux utilisés en tant que coagulant sur des lixiviats de décharges. Mais même si les ions  $\text{Fe}^{3+}$  apparaissent souvent d'une meilleure efficacité (Amokrane *et al.*, 1997), nous avons choisi de privilégier l'emploi de l'aluminium, cation métallique pour lequel la connaissance des formes chimiques en solution semble mieux maîtrisée lors des étapes d'électrocoagulation. Aussi seul l'effet de la coagulation à base de sulfate d'aluminium ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 14\text{H}_2\text{O}$ ) et de l'électrocoagulation par plaques d'aluminium 1050A a été étudié.

L'objectif de ce chapitre a été d'essayer d'étudier la réactivité de la MO du lixiviat de Crézin vis à vis de ces deux procédés, d'en comprendre les mécanismes, puis d'analyser la part de MO réfractaire aux traitements en utilisant :

- les techniques de fractionnement,
- l'analyse structurale par pyrolyse CG/SM avec TMAH et
- les méthodes de mesure de la bioréactivité.

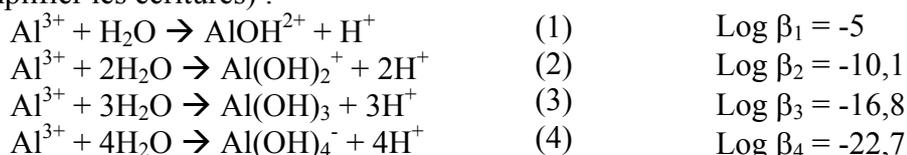
développées dans les trois précédentes parties.

## I. Les différents procédés de traitements étudiés

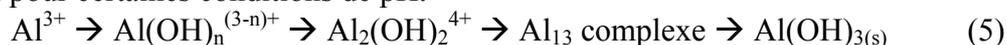
La compréhension des mécanismes mis en jeu en coagulation et en électrocoagulation a toujours suscité un grand intérêt dans l'objectif de mieux améliorer ces deux procédés. De ce fait, de nombreux travaux relatent les réactions chimiques les régissant.

### I.1. Coagulation-floculation

En coagulation, le cation métallique ( $\text{Al}^{3+}$ ) est introduit sous forme de sels dissous. Dès sa mise en solution, il s'hydrate en  $[\text{Al}(\text{H}_2\text{O})_6]^{3+}$  puis s'hydrolyse en différents complexes mononucléaires selon sa concentration et le pH. Les équations (1) à (4) présentent les monomères d'aluminium ainsi formés (les molécules d'eau relatives à l'hydratation ne sont pas indiquées pour simplifier les écritures) :



Cependant, à mesure que la concentration en aluminium et/ou l'âge de la solution augmentent, des complexes polynucléaires d'aluminium et des précipités d'hydroxyde d'aluminium se forment pour certaines conditions de pH.



Ainsi, certaines espèces comme  $[\text{Al}_{13}\text{O}_4(\text{OH})_{13}]^{7+}$ ,  $[\text{Al}_3(\text{OH})_4]^{5+}$  et  $[\text{Al}_2(\text{OH})_2]^{4+}$  ont été mises en évidence et largement étudiées (Akitt & Farthing, 1978 ; Tossell, 2001) mais d'autres comme  $[\text{Al}_6(\text{OH})_{15}]^{3+}$  restent encore simplement des propositions (Bersillon *et al.*, 1980). Les mécanismes régissant ces phénomènes d'hydrolyse-polymérisation sont néanmoins décrits par deux principaux modèles, «core-links» (Brosset, 1952) et «cage-like» (Johansson, 1962), dont les nombreuses différences soulignent la complexité des processus impliqués. Récemment, Bi *et al.* (2004) ont fusionné ces deux modèles pour n'en créer qu'un seul : le modèle «continuous», toutefois les étapes intermédiaires de formation de certains polymères de même que certaines cinétiques de formation demeurent encore partiellement méconnues. Les phénomènes d'hydrolyse-polymérisation peuvent être cependant globalement appréhendés par le rapport d'hydroxylation défini comme le rapport de la concentration en ions  $\text{OH}^-$  sur la concentration totale en aluminium. Ainsi, les polymères d'aluminium prédominent pour un rapport d'hydroxylation supérieur à 0,1 et des concentrations en aluminium supérieures à  $10^{-4}\text{M}$ , alors que les espèces monomères priment pour des concentrations en aluminium inférieures à  $10^{-4}\text{M}$  et un rapport d'hydroxylation inférieur à 0,1. Néanmoins, la spéciation des systèmes à base d'aluminium, bien que largement documentée (Sposito, 1996), connaît encore des inconnues, notamment au niveau des cinétiques de formation (Holt *et al.*, 2002).

### I.2. Electrocoagulation

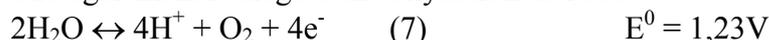
#### I.2.1 Réactions aux électrodes

Dans le procédé d'électrocoagulation, le coagulant est produit in situ par oxydation électrolytique d'une anode suite au passage d'un courant. Les principales réactions mises en jeu pour des électrodes en aluminium soumises un courant continu sont les suivantes (Ibanez *et al.*, 1998) :

A l'**anode**, le métal est oxydé suivant la réaction :



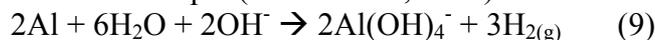
Catonné (1996) précise que, si la densité de courant est suffisante et si les conditions du milieu s'y prêtent, l'anode peut être également le siège d'une oxydation de l'eau :



A la **cathode**, la principale réaction répertoriée dans la bibliographie conduit à la réduction de l'eau :



La production d'ions  $\text{OH}^-$  sur la face cathodique provoque également une dissolution de la cathode par augmentation locale du pH (Picard *et al.*, 2000) :



L'ensemble des ions  $\text{Al}^{3+}$  générés en solution s'hydratent puis réagissent avec l'eau pour former principalement :



En réalité, comme en coagulation, diverses espèces monomériques comme  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_2^+$ ,  $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ , et polymériques comme  $\text{Al}_2(\text{OH})_2^+$ ,  $\text{Al}_6(\text{OH})_{15}^{3+}$ ,  $\text{Al}_7(\text{OH})_{17}^{4+}$ ,  $\text{Al}_8(\text{OH})_{20}^{4+}$ ,  $\text{Al}_{13}\text{O}_4(\text{OH})_{24}^{7+}$ ,  $\text{Al}_{13}(\text{OH})_{34}^{5+}$ , sont formées puis se transforment finalement en  $\text{Al}(\text{OH})_{3(\text{s})}$  selon de complexes cinétiques de précipitation (Jiang *et al.*, 2002 ; Qu & Liu, 2004).

### I.2.2 Principale loi régissant l'électrocoagulation : la seconde loi de Faraday

Une des principales lois explicitant les réactions d'électrocoagulation est la seconde loi de Faraday. Cette loi montre que la quantité d'ions métalliques dissous par oxydation anodique est directement proportionnelle à l'intensité imposée et à la durée d'électrolyse mais inversement proportionnelle à la valence de l'ion émis (Vik *et al.*, 1984 ; Prétorius *et al.*, 1991 ; Rubach & Saur, 1997).

Ottewill & Walsh (1995) expriment la seconde loi de Faraday, relative à une électrode, comme :

$$m_{\text{théorique}} = \frac{M}{n} \times \frac{I \cdot t}{F} \quad \text{avec} \quad \left\{ \begin{array}{l} m_{\text{théorique}} : \text{masse théoriquement dissoute en g} \\ M : \text{masse molaire de l'ion considéré en g.mol}^{-1} \\ n : \text{Nombre d'électrons mis en jeu dans la réaction considérée} \\ I : \text{Intensité imposée aux bornes des électrodes en A} \\ t : \text{durée d'électrolyse en s} \\ F : \text{constante de Faraday} = 96485,3 \text{ C.mol}^{-1} \end{array} \right.$$

A partir de cette loi, il est possible d'estimer la masse d'électrode théoriquement consommée par électrolyse et d'en déduire un rendement anodique ( $R_{\text{anode}}$ ) :

$$R_{\text{anode}} = \frac{\text{Masse expérimentalement dissoute (g)}}{\text{Masse théorique donnée par la loi de Faraday (g)}} \times 100$$

Selon de nombreux auteurs tels que Kharlamova & Gorokhova (1982), Groterud & Smoczynski (1986) et Prétorius *et al.* (1991), le rendement anodique est de 100% pour des électrodes en fer. Pour l'aluminium, Lewandowski (1977) avance qu'en raison d'une dissolution chimique, ce rendement doit être supérieur à 100%. Przhergorlinskii *et al.* (1987) et Chen *et al.* (2000 a et b) appuient cette hypothèse en annonçant que la masse perdue par des électrodes en aluminium lorsqu'elles sont soumises à un courant continu est de 1,15 à 1,20 fois plus importante que celle prévue par la loi de Faraday. Picard *et al.* (2000) confirment ce rendement d'environ 120% et l'attribuent à la production d'ions  $\text{Al}^+$ .

A la cathode, et sans autres réactions de réduction, la production d'hydrogène par électrolyse de l'eau suit également la seconde loi de Faraday.

$$R_{\text{cathode}} = \frac{\text{Masse expérimentalement formée (g)}}{\text{Masse théorique donnée par la loi de Faraday (g)}} \times 100$$

Si toutefois les électrodes (anode et cathode) sont le siège de plusieurs réactions électrochimiques en même temps, Bannoud (1991), Coeuret & Storck (1993) et Catonné (1996) attirent plus particulièrement l'attention sur la notion de rendement Faradique ( $R_F$ ) qui se définit comme la quantité d'électricité nécessaire pour produire  $n_P$  moles d'un produit P rapportée à la quantité d'électricité effectivement consommée pendant l'électrolyse. Chaque réaction sera donc accompagnée d'un rendement Faradique anodique ou cathodique tel que la somme de tous ces rendements soit égale à 1 à l'anode et à la cathode.

Rochaix (1996) exprime simplement ce rendement  $R_F$  comme :

$$R_F = \frac{\text{Quantité d'électricité nécessaire pour produire } n_P \text{ moles de produit P}}{\text{Quantité d'électricité réellement consommée pendant l'électrolyse}} = \frac{I_{\text{théorique}} \times t}{I_{\text{consommée}} \times t}$$

La loi de Faraday, comme elle a été précédemment définie, s'applique à toutes les réactions électrochimiques, cependant la quantité dissoute dépend également du nombre d'électrodes et par conséquent du mode de connexion. Selon Pretorius *et al.* (1991) et Papp (1994), il existe plusieurs modes de connexion : monopolaire série, monopolaire parallèle, bipolaire série. La figure IV-1 représente le mode de connexion « bipolaire série » où seules les électrodes d'extrémité sont connectées au générateur de courant alors que les électrodes intermédiaires s'autopolarisent.

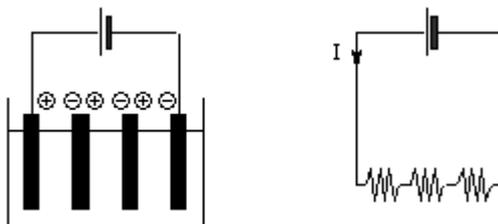


Figure IV-1 : Schéma de connexion électrique du mode bipolaire série

Suivant ce mode, pour  $p$  électrodes, le système sous tension est constitué de  $(p-1)$  anodes. Brett & Brett (1993) et Rajeswhar & Ibanez (1997) estiment que le mode série est plus judicieux et conseillent le mode bipolaire ne nécessitant que deux connexions électriques quel que soit le nombre d'électrodes. Selon Papp (1994), la distribution de courant est alors meilleure, il existe un gain de tension et l'intensité de courant nécessaire est moindre puisque le même courant passe dans toutes les cellules.

Dans ces conditions, la masse de métal dissous (en  $g \cdot h^{-1}$ ) s'exprime donc de la façon suivante

$$m_{\text{théorique}} = \frac{M}{n} \times \frac{I \cdot t}{F} \times (p - 1)$$

Dans le cas d'électrodes en aluminium et avec un rendement faradique anodique et cathodique unitaire, on obtient :

$$\begin{aligned} \text{masse d'aluminium dissous (g.h}^{-1}\text{)} &= 0,3355 \times I \times (p - 1) \\ \text{masse de H}_2 \text{ formé (g.h}^{-1}\text{)} &= 0,0373 \times I \times (p - 1) \end{aligned}$$

Si les expériences s'effectuent dans un réacteur continu, dont le débit est  $Q_e$  en  $m^3 \cdot h^{-1}$ , on peut alors définir la concentration ( $c$ ) en métal en  $g \cdot m^{-3}$  :

$$c = \frac{m_{\text{théorique}}}{Q_e} = \frac{0,3355 \times I \times (p-1)}{Q_e}$$

De ce fait, il est possible tout comme en coagulation d'introduire une dose choisie de coagulant en fixant l'intensité, le nombre de plaques et le débit.

## II. Réactivité de la MO dans les procédés de traitements

Les procédés de coagulation et d'électrocoagulation sont régis par des mécanismes propres qui, outre la façon de libérer l'aluminium, induisent des réactions différentes avec la MO. Néanmoins tous deux utilisent les propriétés des coagulants métalliques pour agréger la MO afin de mieux l'éliminer.

En solution, la stabilité d'un composé étant déterminée par ses propriétés physico-chimiques mais aussi électrostatiques, les nombreuses répulsions électrostatiques entre composés organiques de même charge conduisent à un système très stable au sein duquel les ions ( $\text{OH}^-$ ,  $\text{H}^+$  et autres) assurent l'électroneutralité. En effet, les colloïdes se maintiennent éloignés les uns des autres par la répulsion de leur double couche (couche liée et couche diffuse), malgré les forces de Van der Waals tendant à les réunir (Holt *et al.*, 2002). Cette interaction entre les forces de répulsion et les forces d'attraction est notamment décrite par la théorie de Deryaguin, Landau, Verwey et Overbeek (DLVO) (Deryaguin & Landau, 1941 ; Verwey & Overbeek, 1948). Selon elle, les phénomènes d'attraction ne dominent que si les répulsions sont minimales, aussi pour limiter les répulsions, une barrière d'énergie doit d'abord être surmontée. Le rôle d'un coagulant est de déstabiliser la suspension en réduisant ces forces de répulsion afin de permettre aux particules de s'agréger : c'est le procédé de **coagulation**.

De manière générale l'ensemble de la MO (colloïdale et dissoute) réagit relativement bien à l'ajout d'un coagulant, mais chaque composante implique des mécanismes plus ou moins différents.

### II.1. Mécanismes de la coagulation vis à vis de molécules ou de particules

#### II.1.1 Coagulation des colloïdes organiques ( $>0,45\mu\text{m}$ )

En raison des phénomènes de répulsion, les colloïdes forment généralement des suspensions très stables. Les phénomènes de coagulation agissent alors de manière à neutraliser leurs charges afin de favoriser leur agglomération et permettre leur décantation.

Les mécanismes conduisant à cette déstabilisation des colloïdes ont été largement étudiés (Amirtharajah, 1988) et peuvent être récapitulés comme suit (Rebhun & Lurie, 1993) :

- Diminution de la charge des colloïdes par l'ajout du coagulant qui permet de comprimer leur double couche.
- Neutralisation de la charge restante par les monomères d'aluminium de manière à réduire la répulsion électrostatique inter-particules et favoriser les forces d'attraction.
- Adsorption des colloïdes neutralisés sur les hydroxydes d'aluminium ( $\text{Al}(\text{OH})_{3(s)}$ ) qui conduit à la formation de « floccs ».

Une étape de floculation correspondant à l'agrégation des floccs, est généralement intégrée à la fin de la coagulation afin de former des floccs plus importants, d'une meilleure décantabilité (Hopkins & Ducoste, 2003) et susceptibles de piéger les colloïdes restants.

La mise en application de l'ensemble de ces phénomènes constitue le principe global de la coagulation-floculation. Néanmoins, l'optimisation du procédé a conduit à définir différents types de coagulation-floculation.

Ainsi Amirtharajah (1988) propose un diagramme de coagulation-floculation de la matière organique avec du sulfate d'aluminium représentant différentes zones en fonction du pH ou de la concentration en aluminium et correspondant à différents types de coagulation-floculation. Ce diagramme, présenté à la figure IV-2, définit trois grandes zones :

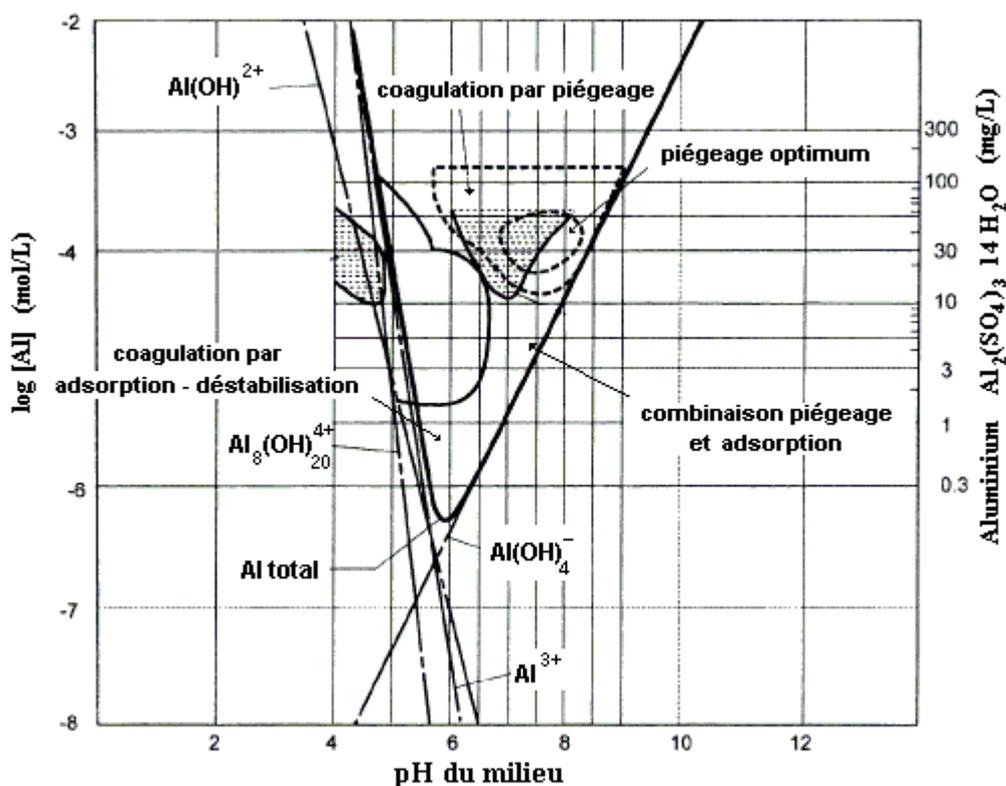


Figure IV-2 : Diagramme de coagulation au sulfate d'aluminium d'après Amirtharajah (1988).

\*Zone de coagulation-floculation par neutralisation des charges (adsorption-déstabilisation) : cette zone définit le domaine d'application de la théorie originale de la coagulation où les colloïdes sont déstabilisés par annulation des charges, abaissement des énergies de répulsion et compression de la double couche sous l'effet des espèces polycationiques de l'aluminium.

\*Zone de coagulation-floculation par piégeage : dans cette zone les colloïdes sont piégés par recouvrement avec  $Al(OH)_{3(s)}$  et précipitent.

\*Zone mixte : cette zone indique le domaine où peuvent coexister les deux mécanismes mais qui selon Rubin & Blocksidge (1979) dépend de la nature du matériau colloïdal.

Toutes les zones situées en dehors du diagramme sont des zones de stabilité colloïdale qui correspondent soit à la formation d'espèces ne permettant pas la coagulation comme  $Al(OH)_4^-$ , soit à une concentration en aluminium trop faible.

## II.1.2 Coagulation des composés organiques dissous (<0,45 $\mu$ m)

Comme les Substances Humiques (SH) et une grande variété de composants simples (sucres, acides aminés, acides organiques) constituent l'essentiel de la Matière Organique, la coagulation des Matières Organiques Dissoutes (MOD) a été largement étudiée (Cathalifaud *et al.*, 1993 ; Gregor *et al.*, 1997). Néanmoins, les recherches se sont plus particulièrement intéressées aux mécanismes de coagulation des SH en raison de leurs nombreuses propriétés, notamment la coloration qu'elles donnent aux eaux (Wall & Choppin, 2003) et leur présence en grande quantité dans les cours d'eau ou retenues. Les substances humiques présentent une charge négative à des pH environnementaux par l'ionisation de leurs groupements carboxyliques et phénoliques. Elles peuvent être considérées comme des polyélectrolytes anioniques de structure indéterminée, mais globalement de hauts poids moléculaires, définissables comme des colloïdes dissous (Senesi *et al.*, 1997). Leur élimination par des coagulants métalliques est connue depuis fort longtemps (Edwards & Amirtharajah, 1985) et

des relations stœchiométriques entre le contenu en MOD (défini par le COD) et la dose de coagulant requis ont même été proposées pour des eaux de différentes concentrations en matière organique dissoute (Lefebvre, 1990). Cependant, les procédés de coagulation-floculation n'éliminent que dans une faible mesure ce type de composés (Lefebvre & Legube, 1993). Gregor *et al.* (1997) pensent que la coagulation s'adresse préférentiellement aux Acides Humiques plutôt qu'aux Acides Fulviques en raison de leur plus haut poids moléculaires et de leur plus faible densité de charge. De même, Martin (1995) montre par le traitement d'extraits isolés d'eaux de surface que les AF s'éliminent mieux que les substances hydrophiles.

En fait il existe surtout deux mécanismes supposés pour l'élimination des substances humiques par des coagulants :

- La liaison d'espèces métalliques aux sites anioniques de la MO pour neutraliser les charges et diminuer sa solubilité. Pour des macromolécules, ceci peut conduire à la précipitation du complexe métal-MO, en formant des particules pouvant être éliminées par sédimentation ou filtration. Selon Buffle *et al.* (1998) et Hunter (1993) la théorie DLVO peut être appliquée aux substances humiques colloïdales en première approximation et l'on peut envisager des mécanismes similaires à ceux définis pour les colloïdes. Ainsi Gregor *et al.* (1997) supposent que la neutralisation de charges peut permettre d'éliminer les Acides Fulviques mais que la dose de coagulant nécessaire peut entraîner la restabilisation des acides humiques du milieu. Cette forme de coagulation est aussi parfois interprétée comme un changement de conformation moléculaire permettant de passer d'un état dissous à des structures de type « pseudomicelle » (Senesi *et al.*, 1997k ; von Wandruszka *et al.*, 1997).
- L'adsorption des substances humiques sur les précipités amorphes d'hydroxydes métalliques. A des pH de 5-6, les substances humiques sont négativement chargées et les hydroxydes d'Al sont positivement chargés, permettant une forte adsorption et quelques neutralisations de charge. Le floc peut être alors considéré comme un matériau adsorbant doté d'une grande surface. Mazet *et al.* (1990) en étudiant l'adsorption sur des floes préformés d'aluminium indiquent une capacité maximale d'adsorption (modèle de Langmuir) de 585mg d'Acides Humiques et de 740mg d'Acides Fulviques par gramme de floes. De même Cathalifaud *et al.* (1993) suggèrent que l'adsorption d'AH sur des floes d'hydroxydes ferriques préformés se réalise selon deux mécanismes simultanés se produisant à la surface des floes :

- une attraction entre les charges positives du floc et les charges négatives des AH
- un échange d'ion entre les ions hydroxyde du floc et les ions chargés négativement des AH



Dans beaucoup de cas pratiques il n'est pas facile de distinguer la précipitation des mécanismes d'adsorption. Dans une étude récente sur la coagulation de SH naturelles par du sulfate d'aluminium, Wang *et al.* (2002) mettent en évidence que les deux processus interviennent à pH 5. La neutralisation de charge semble dominer pour de faibles concentrations en aluminium et l'adsorption pour de plus fortes. En revanche, à pH 7 seuls des phénomènes d'adsorption sur les hydroxydes d'aluminium semblent intervenir. Duan & Gregory (2003) rapportent que l'optimum de pH pour éliminer les produits organiques dissous est généralement plus bas (typiquement pH 5-6) que celui des particules en suspension.

La pré-hydrolyse des coagulants est également efficace pour éliminer la MO dissoute mais elle ne conduit pas à des abattements plus significatifs que les coagulants classiques (Gray *et*

*al.*, 1995). En outre, les espèces polynucléaires de l'aluminium, comme  $Al_{13}$ , sont connues pour se dépolymériser en présence de MO dans les eaux naturelles (Masion *et al.*, 2000).

## II.2. Mécanisme de l'électrocoagulation vis à vis de composés organiques

### II.2.1 Phénomène chimique

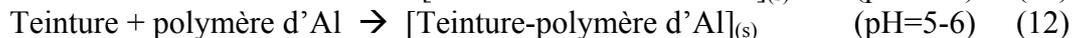
Dans le procédé d'électrocoagulation, le coagulant est produit in situ par oxydation électrolytique du matériau de l'anode, offrant ainsi une alternative à l'utilisation des sels métalliques. Néanmoins malgré cette divergence dans l'introduction du coagulant, les mêmes phénomènes chimiques que ceux décrits en coagulation conduisent à l'élimination des matières organiques.

Ainsi Mollah *et al.* (2001) décrivent le procédé d'électrocoagulation en deux étapes successives, conduisant à la déstabilisation des colloïdes auxquelles s'ajoute une étape de floculation :

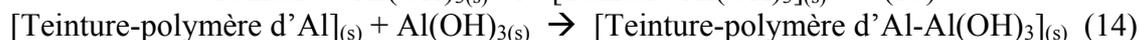
- Formation du coagulant par dissolution électrochimique de l'anode.
- Déstabilisation des colloïdes suivant les mécanismes de compression de la double couche via les ions générés puis neutralisation des charges par les espèces de l'aluminium et enfin formation des floes.
- Floculation des floes formés pour favoriser leur regroupement.

De même, les mécanismes d'élimination des substances organiques dissoutes via précipitation et/ou adsorption sur floes sont évoqués par divers auteurs (Lin & Peng, 1994 ; Gurses *et al.*, 2002). Ainsi Kobya *et al.* (2003) expliquent l'élimination de teintures organiques par précipitation pour des pH de 4 à 6 et par adsorption pour des pH supérieurs à 6,5 selon :

- Précipitation



- Adsorption



Cependant tout comme en coagulation, il n'est pas toujours évident de déterminer le mécanisme impliqué.

### II.2.2 Process électrolytique

L'électrocoagulation se distingue cependant de la coagulation par les possibilités de réactions électrochimiques dues au passage d'électrons dans la solution. De manière générale, l'action des processus électrochimiques sur la MO conduit essentiellement à son oxydation directe à la surface de l'anode et/ou à son oxydation indirecte en solution.

#### II.2.2.1 Oxydation directe

Selon Chiang *et al.* (1995), lors d'une oxydation directe, la matière organique est tout d'abord adsorbée sur l'anode puis transformée par une réaction de transfert d'électrons ou bien détruite par des espèces oxydantes adsorbées sur l'électrode. Murphy *et al.* (1992) précisent que ce processus n'est pas influencé par la densité de courant.

L'utilisation d'une électrode composée de plusieurs oxydes métalliques améliore l'oxydation directe de la matière organique (Mothéo & Pinhedo, 2000). Les anodes en oxydes métalliques ( $MeO_x$ ) présentent généralement une plus grande oxydabilité que les anodes solubles mais ne peuvent pas générer de cations coagulants. En revanche, les électrodes solubles en aluminium ou en fer présentent à leur surface une couche d'oxyde naturelle laissant supposer de possibles phénomènes d'oxydation directe.

Ainsi Comninellis (1994) suggère que les mécanismes d'oxydation de la MO passent par une électrolyse de l'eau à l'anode produisant des radicaux hydroxyles adsorbés :



Les radicaux hydroxyle adsorbés peuvent former de l'oxygène actif chimiquement sorbé :



La matière organique MO est alors oxydée soit par les radicaux hydroxyles soit par l'oxygène actif en  $\text{CO}_2$  :



Selon Chen (2004),  $\text{MeO}_x[\text{OH}\cdot]$  conduit à une meilleure oxydation que  $\text{MeO}_{x+1}$ . Tsai *et al.* (1997) relatent des phénomènes d'électrolyse directe sur un lixiviat d'ordures ménagères mais avec des électrodes consommables. Une analyse par chromatographie d'exclusion stérique révèle en effet l'apparition de sous produits d'oxydation non identifiés par les auteurs. Néanmoins, ils précisent que les composés présentant des doubles liaisons peuvent s'oxyder à l'anode pour former des substances avec des fonctions carbonyles ou se réduire à la cathode pour donner des produits hydrogénés. Par analyse infra rouge, Tsai *et al.* (1997) démontrent qu'après une électrolyse avec des électrodes Al-Cu, des fonctions carboxyles (COOH) disparaissent au profit de fonctions cétones (C=O) et que les groupes hydroxyles peuvent s'oxyder en groupes carbonyles. De plus, lorsqu'ils utilisent des électrodes Fe-Cu, des groupes époxy apparaissent révélant une réaction d'addition d'oxygène dans les doubles liaisons comme suggérée par Comninellis (1994). Tsai *et al.* (1997) supposent également la présence de  $\text{CO}_2$ , de COV et/ou d'autres « petites molécules » en notant que les molécules de « taille moyenne » ne sont ni coagulées ni oxydées en COV ou en  $\text{CO}_2$  sous des courtes durées d'électrolyse. Si la tension et l'intensité appliquées deviennent très élevées, d'autres espèces oxydantes comme des radicaux libres tel que  $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{O}\cdot$ , et de l'eau oxygénée ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) peuvent être formées mais elles conduisent alors à des phénomènes d'oxydation indirecte (Sun *et al.*, 2000).

### II.2.2.2 Oxydation indirecte

La matière organique peut être également oxydée via des processus d'oxydation indirecte par des espèces oxydantes générées après la réaction aux électrodes de constituants de la solution (Chiang *et al.*, 1995). Cependant, le matériel de l'anode influence sensiblement les réactions électrochimiques possibles, en favorisant la formation de certains oxydants.

Les anodes en oxydes métalliques ( $\text{MeO}_x$ ) se distinguent des anodes solubles par leur plus grande conductivité et leur plus grande oxydabilité. Selon Sun *et al.* (2000), si la tension et l'intensité appliquées deviennent très élevées, des espèces oxydantes non adsorbées comme des radicaux libres tel que  $\text{OH}\cdot$ ,  $\text{O}\cdot$ , et de l'eau oxygénée ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) peuvent être également formées en parallèle d'un fort champ électrique. Le tableau IV-1 présente les potentiels de formation de différents oxydants.

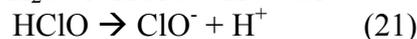
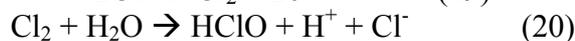
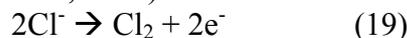
Tableau IV-1 : Potentiel de formation de divers oxydants (Troster *et al.*, 2002)

Oxydants	potentiel de formation (V)
$\text{H}_2\text{O}/\text{OH}\cdot$ (radical hydroxyle)	2,80
$\text{O}_2/\text{O}_3$ (ozone)	2,07
$\text{SO}_4^{2-}/\text{S}_2\text{O}_8^{2-}$ (ion peroxodisulfate)	2,01
$\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}_2$ (eau oxygénée)	1,77
$\text{Cl}^-/\text{ClO}_2$ (dioxyde de chlore)	1,57
$\text{Cl}^-/\text{Cl}_2$ (chlore)	1,36
$\text{H}_2\text{O}/\text{O}_2$ (dioxygène)	1,23

Murphy *et al.* (1992) montrent en effet que suivant les conditions expérimentales et les électrodes utilisées, l'oxydation de l'eau peut induire la formation d'oxygène et ensuite de radicaux tels que  $O^\bullet$  et  $OH^\bullet$  qui participent alors à l'oxydation de composés organiques pour former du  $CO_2$ . Cette oxydation apparaît être indépendante de la densité de courant mais dépend plutôt de la quantité de charge fournie (Ribordy *et al.*, 1997). Ces mêmes auteurs précisent qu'en milieu basique, la déprotonation des fonctions acides de la matière organique facilite l'attaque par les radicaux  $OH^\bullet$  et favorise ainsi la formation de  $CO_2$ . La présence d'espèces minérales comme  $CO_3^{2-}$  et  $HCO_3^-$ , connues comme des pièges à radicaux (Hoigné, 1997), et présentes en grandes quantités dans les lixiviats peut cependant limiter l'action des radicaux.

Plusieurs travaux rapportent l'utilisation de peroxyde d'hydrogène (Brillas *et al.*, 1998) ou d'ozone (El-Shal *et al.*, 1991) électrochimiquement générés pour oxyder des polluants.

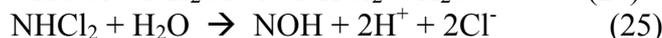
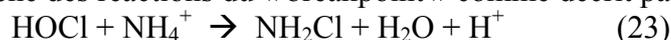
Les espèces du chlore conduisent également à une oxydation indirecte fréquemment rencontrée avec les électrodes solubles ou insolubles. En effet, pour un grand nombre d'effluents contenant des ions chlorure, l'oxydation anodique de ces ions peut conduire à la production d'hypochlorite (Ge *et al.*, 2004) :



L'hypochlorite étant un oxydant puissant, il oxyde alors la matière organique :



Sur un lixiviat de décharge d'ordures ménagères, Chiang *et al.* (1995) et Cossu *et al.* (1998) considèrent que les réactions d'oxydation indirecte par le chlore prédominent et permettent une diminution de la DCO et des ions ammonium. Néanmoins, elles provoquent l'apparition de chloramines. Ces auteurs démontrent alors qu'il existe une compétition entre les réactions d'oxydation de la matière organique et des ions  $NH_4^+$ . Ce mécanisme d'élimination de l'ammonium est proche des réactions du « breakpoint » comme décrit par White (1986) :



Une faible teneur en ions chlorure limite la production de chlore/hypochlorite qui sert alors surtout à la transformation des ions  $NH_4^+$ . Aussi, l'ajout de chlorure de sodium et l'augmentation de la densité de courant permettent de remédier à ces difficultés et de mieux oxyder les composés organiques. Par ce biais, Chiang *et al.* (1995) estiment faire face à des réactions indirectes car Murphy *et al.* (1992) montrent que l'oxydation directe de la matière organique n'est pas influencée par la densité de courant.

### II.2.2.3 Principe du phénomène électrolytique

Au sein d'un réacteur électrochimique, diverses réactions d'oxydoréduction (dites « redox ») sont également susceptibles de se produire avec des composés organiques. Le tableau IV-2 présente les potentiels standards de quelques composés organiques.

Tableau IV-2 : Valeurs des potentiels de réduction de quelques composés organiques (Stumm & Morgan, 1970).

Couples	potentiel de réduction (V)
$CH_2O/CH_3OH$	-0,18
$CH_3CHO/CH_3CH_2OH$	-0.20
$CO_2/CH_3CH_2OH$	-0,31
$CO_2/CH_2O$	-0,48

Néanmoins la seule connaissance du potentiel d'un couple redox ( $E_{eq}$ ) et du potentiel appliqué aux électrodes ( $E_{APP}$ ) ne suffit pas à déterminer si une réaction peut exister puisque ces paramètres ne prennent pas en compte l'aspect cinétique des réactions Vargel (1999). En fait, l' $E_{APP}$  nécessaire pour qu'une réaction ait lieu peut être défini comme la somme de plusieurs termes (Pouet, 1994) :

$$E_{APP} = E_{eq} + \Sigma\eta + IR \quad \text{avec} \quad \left\{ \begin{array}{l} E_{APP} : \text{tension aux électrodes} \\ E_{eq} : \text{potentiel d'équilibre du couple redox} \\ \Sigma\eta : \text{somme des surtensions} \\ IR : \text{chute ohmique (résistance de la solution)} \end{array} \right.$$

Les contraintes cinétiques sont exprimées par la somme des surtensions qui est représentative des différentes étapes d'une réaction électrochimique. En effet, Rochaix (1996) propose un schéma des différentes étapes d'une réaction redox au sein d'un réacteur électrochimique, qui est présenté à la figure IV-3.

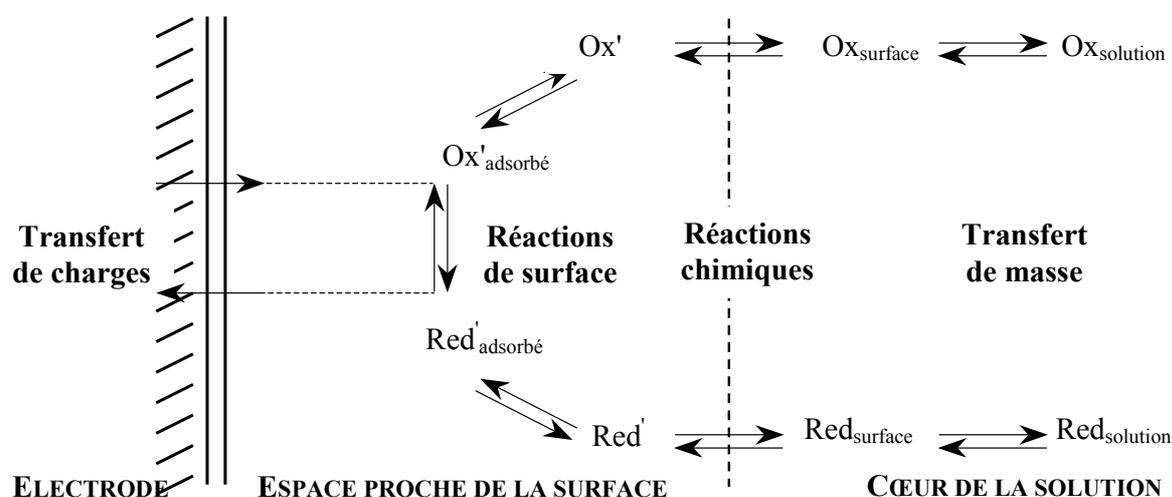


Figure IV-3 : Mécanisme réactionnel d'une réaction électrochimique (Rochaix (1996))

Selon cette approche, la vitesse globale d'une réaction électrochimique est influencée par chaque étape du mécanisme réactionnel, c'est à dire :

- le transfert de masse ou transfert de matière lui même influencé par la migration (champ électrique), la diffusion (effet d'un gradient de potentiel chimique dû à la double couche) et la convection (effet d'un gradient de température, de pression ou d'agitation mécanique) des composés dans la solution.
- les réactions chimiques au sein de la solution (acido-basique, complexation, déshydratation).
- les réactions de surface (adsorption, désorption)
- le transfert de charges.

Ainsi en considérant deux couples redox de composés organiques ( $Ox_1/Red_1$  et  $Ox_2/Red_2$ ) présentant des potentiels d'équilibre  $E_{eq}^1$  et  $E_{eq}^2$  proches,



$$\text{tel que } E_{eq}^1 < E_{eq}^2$$

il semble que la réaction (27) puisse thermodynamiquement et électrochimiquement avoir lieu, sauf si sa surtension  $\eta_1$  est supérieure à la surtension  $\eta_2$  de la réaction (28), traduisant alors un mécanisme réactionnel plus lent. Le cas le plus souvent répertorié ne concerne pas des composés organiques mais l'électrolyse d'une solution de chlorure de sodium par des électrodes de platine avec les couples  $H_2O/O_2$  ( $E^0=1,23V$ ) et  $Cl^-/Cl_2$  ( $E^0=1,36V$ ).

### II.2.3 Impact sur la MO

Afin de mieux comprendre la réactivité de la MO en électrocoagulation, de nombreux auteurs ont cherché à définir les impacts du phénomène chimique et du process électrolytique sur divers composés organiques.

Kharlamova & Gorokhova (1982) démontrent par exemple que le phénol s'élimine par adsorption sur les floes lors d'une électrocoagulation. Selon Phutdhawong *et al.* (2000), une électrocoagulation par des électrodes en aluminium élimine préférentiellement les composés phénoliques possédant des fonctions OH en ortho l'une de l'autre, tout comme l'observent Lefèbvre & Legube (1993) lors d'une coagulation floculation au chlorure ferrique. En outre, Phutdhawong *et al.* (2000) estiment également que les composés phénoliques ne sont pas oxydés puisqu'ils se retrouvent en quasi totalité après redissolution des floes sans formation de sous produits. Par contre, Tsai *et al.* (1997) mettent en avant une modification des groupements fonctionnels de la MO lors d'électrocoagulation par des électrodes en aluminium ou en fer.

Différentes études électrolytiques rapportent aussi l'oxydation de composés organiques, comme l'ouverture du cycle pour la 1,4 benzoquinone (Pulgarin *et al.*, 1994) ou la formation d'acide oxalique à partir du 2-chlorophénol (Polcaro *et al.*, 1999). Johnson *et al.* (2000) montrent que des acides carboxyliques (oxalique, maléique et malonique) s'oxydent en dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) après 20 minutes d'électrolyse sur des électrodes en platine et en milieu acide. Selon ces mêmes auteurs, l'acide cyanurique se transforme en ions nitrate et nitrite, et la perte d'azote total observée est supposée due à une formation de N<sub>2</sub> ou de NH<sub>3</sub>. Mothéo & Pinhedo (2000) démontrent que lors d'une électrolyse à partir d'électrodes Dimensionally Stable Anodes (DSA) en titane, des acides humiques extraits de lac, peuvent également s'oxyder et se transformer en CO<sub>2</sub>. Une analyse par HPLC montre qu'après l'électro-oxydation, deux ou trois nouveaux pics apparaissent correspondant à la présence de sous produits de dégradation non identifiés. Chen (2004) signale que le type d'électrode est déterminant dans le type de transformation subi par la MO.

Ciorba *et al.* (2000) rapportent que la matière organique peut avoir des effets sur le comportement électrochimique des électrodes notamment sur leur potentiel et par conséquent sur les réactions d'oxydoréduction susceptibles d'exister. Murphy *et al.* (1992) et Johnson *et al.* (2000) précisent aussi l'importance d'une élévation de température sur la rapidité de dégradation des composés organiques.

## III. Mise en œuvre des procédés

### III.1. Matériels et méthodes

#### III.1.1 Coagulation-floculation

Les essais de coagulation ont été réalisés dans des béciers hauts de col de 1L associés à un banc Jar Test permettant de réaliser la floculation. A un litre d'échantillon sont ajoutés des ions Al<sup>3+</sup> à partir de solutions de sulfate d'aluminium (Al<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 14H<sub>2</sub>O, Prolabo) de concentration connue. Diverses solutions d'acide (HCl, Prolabo) et de soude (NaOH, Prolabo) servent ensuite à ajuster le pH (pH-mètre métrohm 744) à la valeur souhaitée. La floculation est alors assurée par cinq minutes d'agitation rapide puis quinze minutes d'agitation lente et la solution est laissée une heure à décanter.

#### III.1.2 Electrocoagulation

Les essais d'électrocoagulation ont nécessité une installation plus conséquente comprenant un pilote, des plaques, un générateur de courant et une pompe. La floculation a ensuite été effectuée sur un banc Jar Test dans les mêmes conditions que pour la coagulation floculation.

### III.1.2.1 Pilote et plaques

Le pilote d'électrocoagulation employé est celui conçu et développé par Brizard (2001). Le réacteur d'électrocoagulation se compose d'une cuve en plexiglas (figure IV-4) d'un volume total de 1,25 L munie de deux supports d'électrodes qui permettent une circulation sinusoidale de l'effluent à traiter dans le réacteur en intercalant successivement des plaques de type 1 puis de type 2 (figure IV-5).

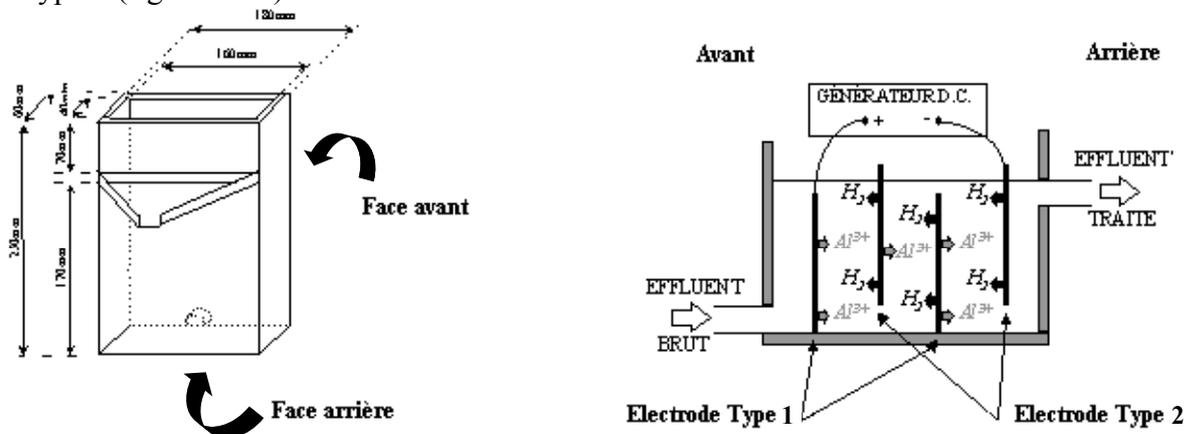


Figure IV-4 : Présentation du réacteur d'électrocoagulation et de la disposition des électrodes permettant une circulation sinusoidale de l'eau traitée

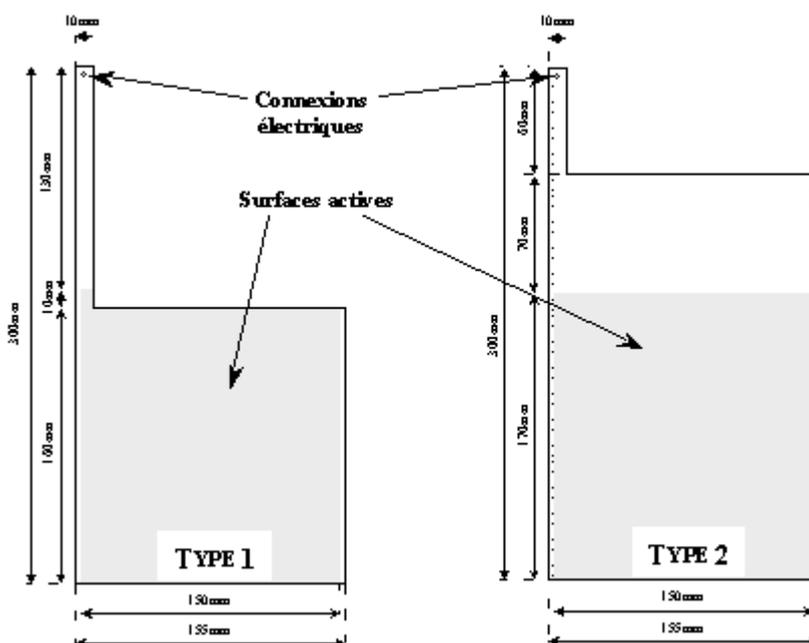


Figure IV-5 : Description des électrodes utilisées dans le réacteur d'électrocoagulation

Le volume utile du réacteur dépend du nombre de paires d'électrodes utilisées ( $n'$ ) qui influence également le temps de passage et le temps de séjour dans le réacteur.

$$V_{\text{utile}} = 1,25 - (n' \times 0,125)$$

L'espace interpolaire, correspondant à l'écart entre les électrodes, peut être facilement modulé en utilisant plusieurs supports différents permettant d'aller de 2 mm à plusieurs centimètres. Le nombre d'électrodes pouvant alors varier de 2 à 10.

Les électrodes utilisées ont été découpées dans de l'alliage d'aluminium 1050A. Cet alliage a été choisi en raison de sa meilleure conductivité électrique ( $35,5\text{mS.m}^{-1}$  pour l'alliage 1050A contre  $18\text{mS.m}^{-1}$  pour l'alliage AG3). En outre Picard (2000) ne rapporte aucune différence d'électrodissolution pour différents alliages d'aluminium. La composition chimique de l'alliage 1050A donnée par le fabricant est présentée au tableau IV-3.

Tableau IV-3 : Composition de l'alliage d'aluminium 1050A selon le fournisseur (Duralinox)

	Cu	Si	Fe	Mn	Zn	Mg	Cr	Ti	Al
1050A	0,02%	0,15%	0,20%	0,03%	0,05%	0,03%	0,03%	0,05%	99,44%

La surface active des électrodes est de  $241\text{cm}^2$  pour les électrodes de type 1 et de  $255\text{cm}^2$  pour les électrodes de type 2 soit une densité de courant maximum respectivement de  $41,5$  et  $39,2\text{mA.cm}^{-2}$  dans nos conditions d'expériences. Hormis leur rôle essentiel de libération des ions aluminium lors de l'électrocoagulation, elles permettent également, par leur disposition, d'imposer à l'eau un mouvement sinusoïdal.

Le nettoyage des plaques s'effectue suivant le protocole décrit par Pretorius *et al.* (1991) : lavage à l'acide chlorhydrique, nettoyage à l'aide d'une brosse, rinçage abondant à l'eau du robinet et dégraissage à l'acétone si besoin. Les plaques sont alors portées au moins 1 heure à  $105^\circ\text{C}$  puis refroidies dans un dessiccateur avant d'être pesées.

### III.1.2.2 Générateur de courant et pompe

Un générateur (Sodilec France, SDR 150-10), permettant de délivrer au maximum 10A ( $\pm 0,1\text{A}$ ) sous 150V ( $\pm 2\text{V}$ ), a été utilisé pour fournir une source de courant continu. L'intensité entre les électrodes a été contrôlée à l'aide d'un multimètre Metrix MX20. Les intensités et les tensions qui seront notées dans la suite de ce travail sont celles lues sur les générateurs.

Une pompe centrifuge (IWAKI France, MD-30RZM-200N) permettant de délivrer de 50 à  $500\text{L.h}^{-1}$  avec une précision estimée à environ 2%, a été employée. La présence d'un débitmètre et d'une vanne à membrane en aval de cette pompe permettent de réguler le débit d'échantillon délivré au pilote d'électrocoagulation.

## IV. Réactivité de la MO contenue dans le lixiviat de Crézin lors de son traitement.

### IV.1. Elimination de la MO du lixiviat par coagulation et électrocoagulation

Les conditions optimales d'élimination du Carbone Organique Dissous ont été définies pour les deux procédés.

#### IV.1.1 Coagulation-floculation

L'optimisation a été conduite au travers de multiples essais avec différentes concentrations en aluminium et à divers ajustements du pH final. La figure IV-6 rapporte les pourcentages d'abattement en COD observés en fonction de la concentration en aluminium et du pH final.

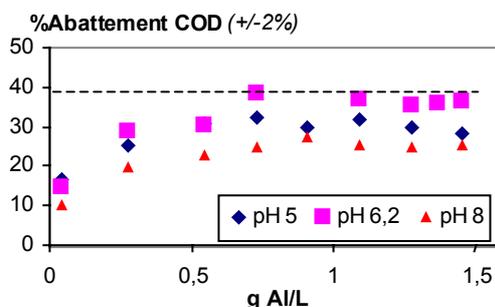


Figure IV-6 : Pourcentages d'abattement du COD obtenus en coagulation-floculation en fonction de la concentration en aluminium et du pH final.

Il apparaît qu'un pH de 6,2 est plus efficace pour l'élimination du COD (environ 38%) puisque de moins bons abattements sont observés à pH 5 et 8. En revanche, la dose optimale d'aluminium semble toujours se situer entre 0,5 et 0,9 g Al.L<sup>-1</sup> quelque soit le pH.

Ces différences de réactivité selon le pH et la concentration sont attribuables aux mécanismes impliqués en coagulation et notamment aux espèces de l'aluminium. En effet, la spéciation de l'aluminium change avec la concentration mais aussi en fonction du pH comme le montre la figure IV-7.

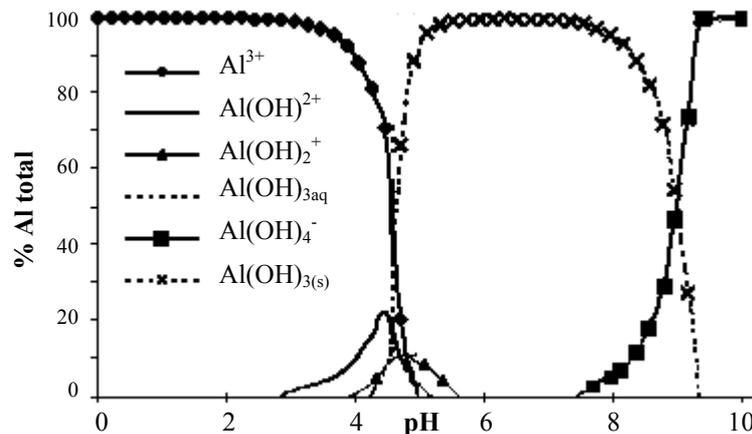


Figure IV-7 : Distribution des espèces hydroxylées de l'Al en fonction du pH dans une solution simple d'aluminium à 25°C,  $[Al]_{total} = 0,7g\ Al.L^{-1}$  (calculs faits sur Mineql<sup>+</sup> V. 4.07).

Ainsi à pH 5, les espèces cationiques de l'aluminium ( $Al^{3+}$ ,  $Al(OH)^{2+}$ ,  $Al(OH)_2^+$ ) encore présentes peuvent conduire à des phénomènes de neutralisation de charge, mais la présence d' $Al(OH)_{3(s)}$  permet probablement aussi des phénomènes d'adsorption. En revanche, à pH 6,2 les mécanismes d'adsorption sont favorisés en raison de l'espèce  $Al(OH)_{3(s)}$  qui prédomine. A pH 8, la présence de la forme  $Al(OH)_4^-$  limite probablement les phénomènes d'adsorption. Cependant, il apparaît difficile de conclure quant aux mécanismes réels impliqués dans la coagulation du lixiviat, d'autant qu'en fonction du pH la MO peut présenter différentes conformations (Schnitzer, 1991) et surtout une charge variable. Ainsi, Gregor *et al.* (1997) expliquent certains phénomènes de précipitation observés entre pH 4 et 5,5 par la présence de sites carboxyliques déprotonés permettant le pontage de plusieurs composés organiques par des ions aluminium.

Aussi, des essais de détermination de la charge des composés organiques ont été menés lors des tests de coagulation afin de tenter d'expliquer les mécanismes prédominants. La mesure du potentiel zéta ( $\xi$ ) a été réalisée à l'aide d'un zétaphorémètre (Zéphy) et sera assimilée au potentiel de charge des particules. La figure IV-8 présente l'évolution du potentiel zéta ( $\xi$ ) lors des essais de coagulation à différents pH.

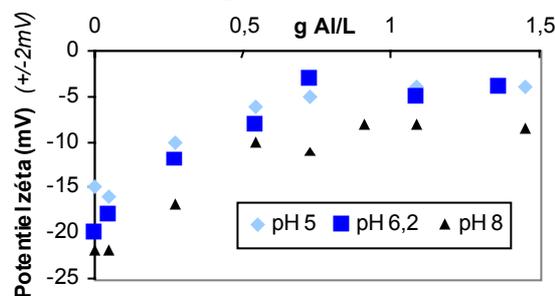


Figure IV-8 : Evolution du potentiel zéta ( $\xi$ ) lors des essais de coagulation à différents pH et à différentes concentrations en aluminium.

Les résultats montrent que quelque soit le pH, le potentiel zéta reste négatif sur toute la gamme de concentration, mais tend vers la neutralité aux plus fortes concentrations et notamment au voisinage de la concentration optimale d'abattement. Selon Wang *et al.* (2002) cela traduit une élimination des composés organiques principalement par adsorption sur les hydroxydes d'aluminium  $\text{Al}(\text{OH})_{3(s)}$ . En effet, ils observent un changement de signe du potentiel zéta dans le cas d'un mécanisme majoritairement par neutralisation de charge (notamment à pH 5 et pour de faibles concentrations en aluminium). Pour le lixiviat, il y a très certainement une neutralisation partielle des charges de la MO par adsorption sur  $\text{Al}(\text{OH})_{3(s)}$  aux trois pH mais aussi par les espèces cationiques de l'aluminium à pH 5. Cependant, ce mécanisme ne semble pas suffire pour annuler la charge de la MO et permettre ainsi sa précipitation. En revanche, l'abaissement des charges favorise l'agrégation des floccs et par conséquent l'élimination de la MO. Les potentiels zéta les plus proches de la neutralité sont observés pour la coagulation à pH 5 et 6,2 ce qui est en adéquation avec les meilleurs abattements de COD constatés à la figure IV-6. La moins bonne efficacité de la coagulation à pH 5, malgré un potentiel  $\xi$  proche de zéro, pouvant être imputée à une moindre présence des formes  $\text{Al}(\text{OH})_{3(s)}$ . De même le plus faible abattement observé à pH 8 semble pouvoir s'expliquer par la présence d' $\text{Al}(\text{OH})_4^-$ .

La coagulation par adsorption à pH 6,2 semblant la plus efficace, nous avons cherché à définir la dose précise d'aluminium conduisant à la meilleure élimination de la MO du lixiviat définie par son COD mais aussi par son absorbance UV à 254nm et sa Demande Chimique en Oxygène (DCO). La figure IV-9 rapporte les pourcentages d'abattement de l'absorbance UV à 254nm, du COD et de la DCO du lixiviat de Crézin en fonction de la concentration en aluminium introduit.

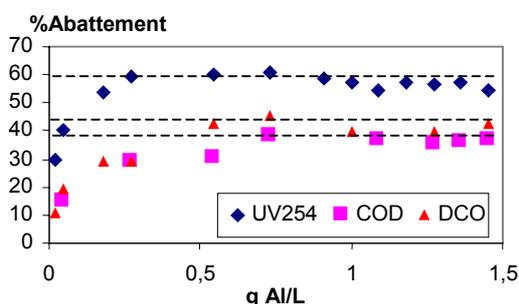


Figure IV-9 : Pourcentages d'abattement de l'absorbance UV à 254nm, du COD et de la DCO du lixiviat de Crézin en fonction de la concentration en aluminium introduit à pH 6,2.

Les résultats de coagulation-floculation mettent en évidence un abattement de 60% (+/-2%) de l'absorbance UV à 254nm, de 38% (+/-2%) du COD et de 45% (+/-3%) de la DCO pour une dose optimale de  $0,69\text{g Al.L}^{-1}$ .

Le fort abattement obtenu en absorbance UV semble indiquer une élimination préférentielle des composés qui absorbent à 254nm et auxquels on confère généralement des structures aromatiques et/ou des insaturations. De même l'abattement en DCO souligne une plus grande disparition des composés chimiquement oxydables. Aussi, il semble qu'il y ait une certaine sélectivité des composés éliminés par coagulation-floculation. On peut supposer l'élimination des Substances de type Humique ( $\text{SH}^*$ ) dans le lixiviat puisqu'elles présentent généralement une forte aromaticité et de grandes structures. En effet, selon Lefèbre & Legube (1990), les substances humiques correspondent aux composés organiques les mieux éliminés d'une eau naturelle et généralement, les Acides Fulviques sont plus difficilement éliminés que les Acides Humiques de même origine. Martin (1995) montre que les fractions les plus

hydrophobes d'une eau de surface sont les plus touchées par la coagulation et présentent une forte aromaticité et de hauts poids moléculaires apparents.

Le traitement par coagulation-floculation des lixiviats ayant surtout pour but de diminuer la DCO (Didier-Guerloguet & Provost, 1997), de nombreuses données sont répertoriées dans la littérature. Ainsi le tableau IV-4 présente les taux d'abattement en DCO obtenus par coagulation-floculation de lixiviats à l'aide de sels d'aluminium et de fer pour diverses études.

Tableau IV-4 : Taux d'abattement en DCO obtenus par coagulation-floculation de lixiviats stabilisés, en cours de stabilisation et non stabilisés à l'aide de sels de fer et d'aluminium lors de diverse études.

	Coagulant	Référence	Dose (g de coagulant/L)	pH	DCO lixiviats (mg O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	Abattement en DCO % (+/-3%)
<b>Lixiviats stabilisés</b>	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	Diamadopoulos, 1994	5,13	5,6	1141	39
	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	<b>cette étude, 2004</b>	<b>8,74</b>	<b>6,2</b>	<b>380</b>	<b>45</b>
	FeCl <sub>3</sub>	Diamadopoulos, 1994			1141	56
	FeCl <sub>3</sub>	Ceballero, 2001	2,6	5,5	550	74
<b>Lixiviats en cours de stabilisation</b>	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	Amokrane <i>et al.</i> , 1997	6	libre	4100	42
	Al	Monje-Ramirez & Orta de Velasquez, 2004	1,2	4-5	4580	58
	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	Silva <i>et al.</i> , 2004	0,7	4,5	3460 3470	23 27
	FeCl <sub>3</sub>	Amokrane <i>et al.</i> , 1997	5,7	libre		55
	FeCl <sub>3</sub>	Tatsi <i>et al.</i> , 2003	2	10	5350	75
	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	Monje-Ramirez & Orta de Velasquez, 2004	2,4	4-5	3250	67
<b>Lixiviats non stabilisés</b>	FeCl <sub>3</sub>	Tatsi <i>et al.</i> , 2003	-	-	70 900	25

Le taux d'abattement de la DCO et la dose de coagulant obtenus pour le lixiviats de Crézin apparaissent proches de ceux observés par Amokrane *et al.* (1997) mais sur un lixiviats de DCO plus élevée. En revanche, le taux d'abattement est plus faible que celui obtenu par Ceballero (2001) sur le lixiviats du même site mais avec du chlorure ferrique. Néanmoins, les différents travaux répertoriés au tableau IV-4 tendent à indiquer que globalement sur un même lixiviats, les taux d'abattements sont systématiquement plus élevés lors d'un traitement par le fer plutôt que par l'aluminium.

De plus, la coagulation semble plus efficace sur des lixiviats stabilisés ou en cours de stabilisation que sur des lixiviats non stabilisés (dit «jeunes»). Selon Amokrane *et al.* (1997), les pourcentages d'élimination de la DCO et du COD varient généralement de 10 à 25% pour des lixiviats jeunes mais atteignent de 50 à 65% pour des lixiviats stabilisés. La teneur en SH\* peut-être en partie expliquer cette différence de réactivité des lixiviats en fonction de leur état de stabilisation. En effet, les lixiviats jeunes contiennent de nombreux composés simples (acides gras volatils, sucres...) issus de la décomposition des matières organiques du déchet alors qu'au contraire, les lixiviats plus âgés présentent des molécules plus complexes issues des phénomènes d'humification (Kjeldsen *et al.*, 2001). En fin de stabilisation, le pourcentage de Substances Humiques\* d'un lixiviats variant probablement moins (Lagier (2000) et Artiola-Fortuny & Fuller (1982) l'estiment respectivement à 80% et 60% du COD), les différences de réactivité pourraient être plus attribuées à la répartition AH\*/AF\*. En effet, selon Artiola-Fortuny & Fuller (1982) le pourcentage d'AH\* tend à augmenter avec l'âge de la décharge et peut atteindre plus de 30-40% du COD. Castagnoli *et al.* (1990) et Christensen *et al.* (1998) observent en comparant des lixiviats de sites et d'âges différents des teneurs en AH\* et AF\* respectivement de 4 à 44% et de 7 à 72% du COD. Ainsi, le lixiviats de Crézin avec 62% de SH\* dans son COD dont 5% d'AH\* et 57% d'AF\*, présente un taux d'abattement moyen, cohérent au vue de sa faible teneur en AH\*.

En conclusion, même si les différences d'efficacité sont probablement imputables à des réactifs, à des doses ou à des pH différents (Silva *et al.*, 2004), les caractéristiques intrinsèques d'une MO jouent très certainement aussi un rôle très important.

## IV.1.2 Electrocoagulation

### IV.1.2.1 Vérification de la seconde loi de Faraday

De nombreux auteurs rapportant que des électrodes en aluminium ne respectent pas la loi de Faraday, nous avons tout d'abord cherché à déterminer le rendement anodique réel pour les conditions et le matériel expérimental utilisés dans cette étude.

Des essais d'électrocoagulation du lixiviat de Crézin à l'aide de deux électrodes en aluminium 1050A, d'un débit de  $100\text{L}\cdot\text{h}^{-1}$ , d'un espace interpolaire de 2mm ont été réalisés pour diverses intensités pendant 30minutes. Les électrodes ont été pesées (balance Sartorius Basic 610) avant et après chaque expérience afin de déterminer la perte de masse au cours de l'expérimentation. La figure IV-10 représente l'évolution expérimentale des pertes de masse à l'anode et à la cathode, ainsi que celles théoriquement attendues suivant la loi de Faraday.

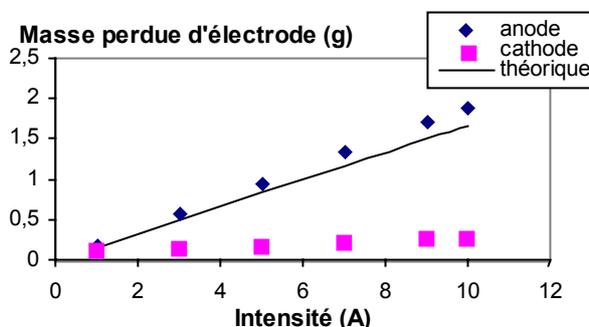


Figure IV-10 : Evaluation des pertes de masse aux électrodes

La masse expérimentalement dissoute à l'anode varie proportionnellement avec l'intensité mais reste supérieure à la masse théorique déterminée par la seconde loi de Faraday comme rapportée dans la littérature (Przhegorlinskii *et al.*, 1987). Le rendement anodique moyen obtenu est de 115%, ce qui reste proche de celui obtenu par Picard (2000) avec des électrodes du même type d'alliage. Plusieurs hypothèses tentent d'expliquer ce comportement particulier des électrodes en aluminium :

- Despic & Parkhulik (1989) considèrent que l'oxydation anodique de l'aluminium conduit simultanément à la formation d'ions  $\text{Al}^{3+}$  et  $\text{Al}^+$ . Cette différence de valence influe directement sur le calcul de la masse théorique dissoute. Néanmoins à l'heure actuelle, l'espèce  $\text{Al}^+$  n'a été mise en évidence que dans des solvants organiques (Stöckigt, 1998).
- Mameri *et al.* (1998) attribuent la surdissolution anodique à la présence d'ions chlorure en quantité importante. Ces ions induiraient une corrosion par piqûre des électrodes en aluminium. Néanmoins Picard (2000) précise que jusqu'à  $2,5 \times 10^{-2}\text{M}$ , les chlorures ne provoquent pas une dissolution supplémentaire. La teneur en ions chlorure du lixiviat de Crézin étant de l'ordre de  $10^{-2}\text{M}$ , cette hypothèse peut être proscrite.
- Radovan *et al.* (1997) expliquent que lors de l'oxydation anodique, de petits morceaux d'aluminium se détachent et sont donc comptabilisés dans la masse expérimentalement dissoute. Cet « effet de morceaux » suppose que l'électrode se désagrège localement et libère, sans utiliser d'énergie, des morceaux non dissous. Radovan *et al.* (1998) rajoutent que ces morceaux d'aluminium peuvent ensuite réagir comme des microélectrodes. Cependant, Picard (2000) élimine cette hypothèse en étudiant l'électrocoagulation d'électrodes en aluminium renforcées par traitement thermique.

Il apparaît ainsi encore délicat d'expliquer la dissolution particulière de l'anode, néanmoins l'hypothèse retenue par Picard (2000), à savoir : une formation simultanée d'ions  $Al^{3+}$  et d'ions  $Al^+$ , semble la plus cohérente.

Une perte de masse est également relevée à la cathode en raison de l'augmentation du pH (Szynkarczuk *et al.*, 1994). En revanche, elle apparaît plus faible que celle observée par Picard *et al.* (2000). Le lixiviat étant un milieu tamponné (pH=7,2), l'augmentation de pH suite à la libération d'ions hydroxydes est moins importante, ce qui conduit à des pH finaux un peu moins basiques et donc moins agressifs vis à vis de la cathode en aluminium. De même, la forte conductivité du lixiviat autorise un passage aisé du courant qui limite l'élévation de la température par effet Joule et par conséquent une meilleure dissolution chimique de l'aluminium suivant la loi d'Arrhénius.

#### IV.1.2.2 Electrocoagulation du lixiviat de Crézin

L'optimisation de l'élimination a été conduite selon la même démarche que pour la coagulation-floculation en étudiant l'effet de différentes concentrations en aluminium et divers ajustements du pH final.

Les paramètres (intensité, débit, nombre d'anode), régulant la concentration en aluminium électrodissous, ont été déterminés à partir de la loi de Faraday corrigée du taux de surdissolution anodique (1,15). Cependant les contraintes électriques, dynamiques et physiques de l'installation d'électrocoagulation sont apparues limitantes des doses pouvant être introduites. En effet, en considérant les paramètres les plus performants possibles, à savoir : la plus forte intensité (10A), le plus faible débit ( $50L.h^{-1}$ ) et le plus grand nombre d'électrodes, la loi de Faraday corrigée détermine une concentration maximale de  $0,69g Al.L^{-1}$ , ce qui ne permet pas de balayer la plage  $0,5-0,9g Al.L^{-1}$  déterminée en coagulation. Aussi pour essayer d'observer l'effet de plus fortes concentrations, nous avons soumis le même échantillon à une double électrocoagulation afin d'ajouter les quantités d'aluminium électrodissous et de travailler à des teneurs supérieures à  $0,69g Al.L^{-1}$ .

La figure IV-11 présente les pourcentages d'abattement en COD observés en fonction de la concentration en aluminium et du pH final.

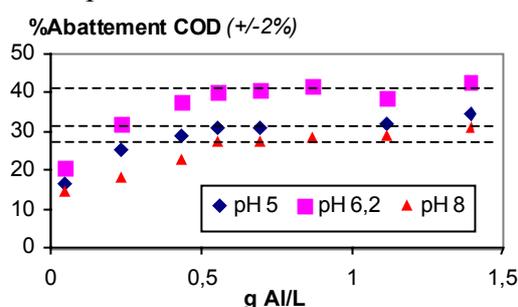


Figure IV-11 : Pourcentages d'abattement du COD du lixiviat de Crézin obtenus en électrocoagulation en fonction de la concentration en aluminium et du pH final.

Les résultats montrent qu'un pH de 6,2 est plus efficace pour l'élimination du COD qu'un pH de 5 ou de 8 et que la dose optimale d'aluminium se situe au delà de  $0,55g Al.L^{-1}$  quelque soit le pH. Ces résultats apparaissent en accord avec ceux obtenus en coagulation. En revanche, les abattements semblent encore augmenter légèrement jusqu'à la concentration de  $1,39g Al.L^{-1}$ .

La spéciation de l'aluminium peut encore expliquer les différences d'abattement en fonction du pH, par contre la légère augmentation de l'abattement aux plus fortes doses d'Al, est plutôt imputable au procédé. Ainsi, on peut penser que la part électrolytique de l'électrocoagulation induit un abattement supplémentaire, puisqu'en coagulation le phénomène n'est pas observé.

#### IV.1.2.3 Mécanismes

Afin d'essayer de comprendre les mécanismes impliqués dans l'élimination de la MO par électrocoagulation, la mesure du potentiel zéta ( $\xi$ ) a été réalisée pour différents pH et différentes concentrations en aluminium. La figure IV-12 présente l'évolution du potentiel zéta lors de ces essais d'électrocoagulation.

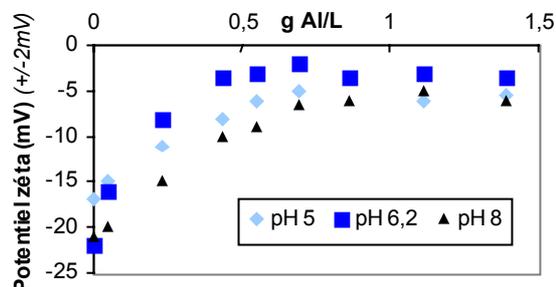


Figure IV-12 : Evolution du potentiel zéta lors des essais d'électrocoagulation du lixiviat de Crézin à différents pH et différentes concentrations en aluminium.

Par analogie aux travaux de Wang *et al.* (2002), on peut encore supposer que les mécanismes d'adsorption sont principalement responsables de l'élimination de la MO puisqu'à aucun moment le potentiel zéta ne s'annule. Cependant, l'oxydation potentielle de la MO au cours de l'électrocoagulation (Tsai *et al.*, 1997) laisse supposer que son abattement n'est pas uniquement lié à de l'adsorption.

Aussi pour essayer de comprendre si la part électrolytique du procédé intervient ou non sur l'abattement en COD, nous avons réalisé la même série d'essai mais en remplaçant les plaques d'aluminium par des plaques identiques en acier inoxydable non électro-solubles. La figure IV-13 présente les abattements en COD obtenus pour ces essais.

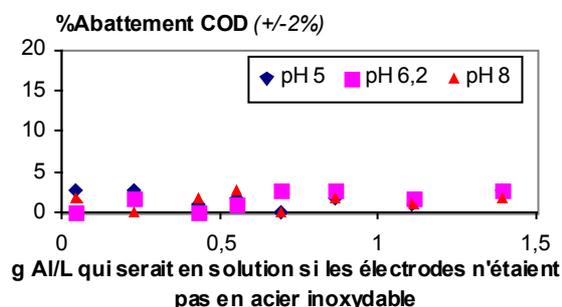


Figure IV-13 : Pourcentages d'abattement du COD du lixiviat de Crézin obtenus en électrolyse avec des plaques en acier inoxydable et pour différents pH.

Ainsi, le phénomène électrolytique n'apparaît pas directement induire d'abattement du COD et par conséquent de la MO sous nos conditions expérimentales. Tsai *et al.* (1997) rapportent pourtant une oxydation des matières organiques en CO<sub>2</sub> ou en Carbone Organique Volatil et de nombreux auteurs indiquent des abattements de la DCO (Chiang *et al.*, 1995 ; Cossu *et al.*, 1998). Ali & Rumeau (1994) ajoutent qu'une oxydation anodique de macromolécules de type Substances Humiques conduit à la formation de composés de bas poids moléculaires apparents. Néanmoins dans l'ensemble de ces études, l'électrolyse est appliquée sur des durées beaucoup plus longues (au delà de 20 minutes) que le temps de séjour de l'échantillon dans notre pilote. En effet, à partir de la modélisation des écoulements réalisée par Brizard (2001) utilisant la Distribution des Temps de Séjours selon le protocole de Villermaux (1993), il est possible d'estimer les temps de séjours moyens sous un débit de 50L.h<sup>-1</sup> à 47 secondes pour 10 plaques et à 86 secondes pour deux plaques. Ainsi, on peut supposer que la durée d'électrolyse n'a pas été suffisamment longue pour permettre un élimination de la MO, les

effets d'une électrolyse étant généralement d'autant plus visibles que le temps d'électrolyse est long. Ainsi, Chiang *et al.* (1995) relèvent 15% d'abattement de la DCO au bout d'une heure et 35% au bout de quatre heures. En revanche, Ceballero (2001) n'observe également aucun effet de l'électrolyse sur l'abattement de COD pour des temps d'électrolyse proches de ceux appliqués dans cette étude.

Cependant, bien que la figure IV-13 montre qu'il n'y a pas d'abattement du COD pour de faibles durées d'électrolyse, elle ne permet pas de conclure qu'il n'y a pas eu de transformation intrinsèque de la MO. Aussi pour déterminer l'effet de l'électrolyse sur la MO, d'autres essais ont été réalisés à l'aide de plaques en acier inoxydable en faisant varier les différents paramètres de l'électrolyse (intensité, débit, nombre de plaques). Mais de par le nombre de ces paramètres et la multitude de modalités possibles, nous avons choisi d'utiliser un plan d'expérience afin de minimiser le nombre de manipulation et d'obtenir des conclusions solides et adéquates de manière efficace et économique (ISO 3534-3). En outre, plusieurs auteurs ont déjà fait appel à cette approche pour comprendre l'impact de l'électrolyse (Chiang *et al.*, 1995) et de l'électrocoagulation (Brizard, 2001) sur la MO en un minimum d'expériences.

Le principal objectif a été de suivre l'influence de facteurs sur l'électrolyse de la matière organique, tels que : l'intensité de traitement, le débit d'alimentation du réacteur, le nombre d'électrodes et la température du lixiviat brut afin d'en comprendre les mécanismes. Trois réponses ont été suivies, la valeur de l'absorbance UV à 254nm et l'abattement de la DCO pour suivre l'évolution de la MO puis la teneur en ions chlorure pour déterminer la formation éventuelle de l'oxydant HClO.

Parmi les matrices d'expériences définies par G. Taguchi (Taguchi, 1987), un plan permettant de prendre en compte 4 paramètres à 3 niveaux en 9 expériences  $L_9(3^4)$  a été retenu. Le tableau IV-5 présente la matrice d'expériences du plan  $L_9(3^4)$  et les niveaux attribués à chacun des paramètres.

Tableau IV-5 : Matrice d'expériences d'un plan d'expériences  $L_9(3^4)$  (Taguchi, 1987).

N° Expérience	Intensité A			Débit L/H			Nbre de plaques			Température °C		
	1	5	10	50	100	200	3	6	10	10	20	30
1	1			50			3			10		
2	1				100			6			20	
3	1					200			9			30
4		3		50				6				30
5		3			100				9	10		
6		3				200	3				20	
7			5	50					9		20	
8			5		100		3					30
9			5			200		6		10		

L'analyse du plan d'expériences a été effectuée à partir de tracés graphiques et notamment des diagrammes des effets des facteurs sur la réponse. Cependant, bien qu'il soit possible de représenter le diagramme des effets de chaque facteur pour une réponse donnée, il est nettement plus intéressant de pouvoir superposer plusieurs diagrammes indiquant ainsi l'effet d'un facteur sur plusieurs réponses en même temps. Cependant, les réponses n'ayant pas la même unité, il faut trouver un nombre sans dimension permettant le tracé de ce type de diagramme. Ce nombre, que l'on peut appeler  $Z_i$ , se définit de la façon suivante : pour une réponse  $Y_i$  avec  $i \in [1; 9]$  expériences, on calcule le pourcentage de variation de la réponse par rapport à la moyenne (réponse moyennée,  $\bar{Y}$ ) selon :

$$Z_i = \frac{Y_i - \bar{Y}}{\bar{Y}} \times 100$$

Ce calcul peut être effectué pour toutes les réponses ce qui permet de tracer le diagramme des effets des différents facteurs sur plusieurs réponses ( $Z_i$ ) en fonction des modalités des facteurs. Il est alors possible de comparer l'écart entre deux réponses.

La figure IV-14 représente les diagrammes des effets de l'intensité (a), du débit (b), du nombre de plaques (c) et de la température (d) d'électrolyse sur la mesure de l'absorbance UV à 254nm du lixiviat.

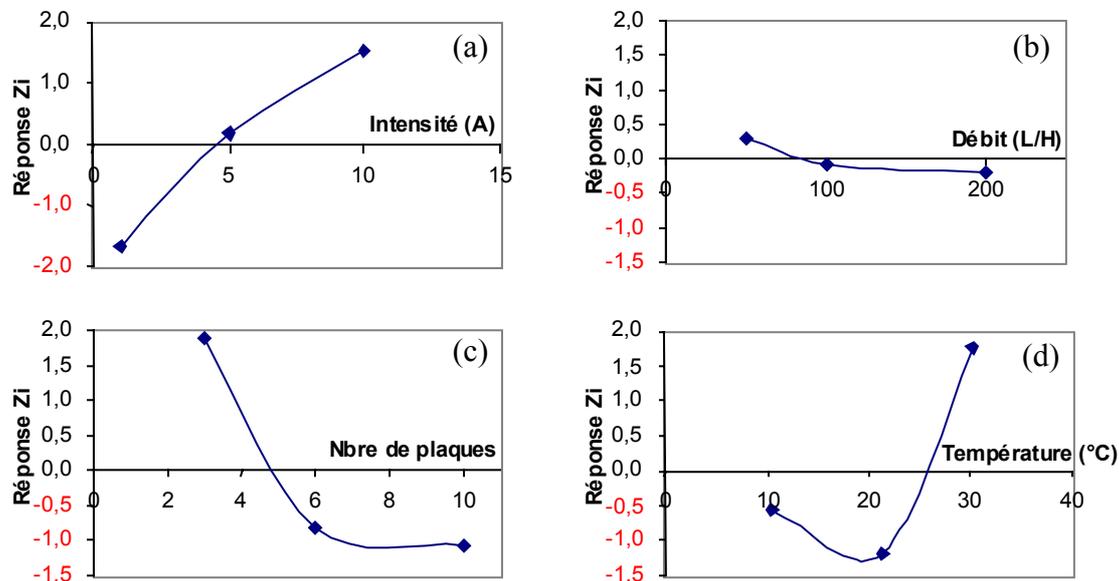


Figure IV-14 : Diagrammes des effets de l'intensité (a), du débit (b), du nombre de plaques (c) et de la température (d) d'électrolyse sur la mesure de l'absorbance UV à 254nm du lixiviat.

Les diagrammes des effets indiquent qu'une augmentation de l'intensité ou de la température se traduit par une augmentation de l'absorbance UV à 254nm alors qu'au contraire une augmentation du nombre de plaques entraîne sa diminution. Une évolution du débit n'a quasiment pas d'influence.

En supposant que l'absorbance UV à 254 nm traduise la résonance des structures aromatiques mais aussi les délocalisations engendrées par des insaturations et des groupements fonctionnels, on peut supposer qu'une augmentation de l'absorbance résulte d'une transformation structurale de la MO par voie électrochimique : certaines structures ou certaines fonctions ayant été rendues «plus conjuguées». En effet, Tsai *et al.* (1997) rapportent que durant une électrolyse, les doubles liaisons peuvent être oxydées à l'anode ou réduites à la cathode. Les oxydations conduisent à des composés carbonylés à partir de doubles liaisons ou d'alcools et les réductions produisent des composés hydrogénés à partir de groupements carbonyles ou de doubles liaisons.

De même, en supposant que l'électrolyse engendre les espèces oxydantes du chlore ( $\text{Cl}_2$  et  $\text{ClO}^-$ ), la formation de composés organochlorés est envisageable. L'addition d'un halogène sur une structure induisant alors un effet inductif attracteur qui pourrait favoriser des délocalisations. Labouyrie-Rouillier (1997) en synthétisant plusieurs travaux sur la chloration des eaux de surface rapporte que la formation de composés organohalogénés connaît des proportions variables suivant les fractions de MO considérées. Les Acides Humiques induisent plus de composés organohalogénés que les Acides Fulviques de même origine (Reckhow *et al.*, 1990). Les études cinétiques de De Laat *et al.* (1982) montrent que la présence de cycles aromatiques activés par des groupements donneurs d'électrons conduirait à une consommation rapide du chlore alors que les sites méthylcétones provoqueraient une consommation plus lente (Croué, 1987). Néanmoins, la formation de produits organochlorés

est assez lente et prend plusieurs heures (Reckhow, 1990 ; Martin, 1995), aussi il est probable qu'ils ne soient présents qu'en infime quantité.

Selon la figure IV-14, il apparaît que certains paramètres favorisent plus les modifications de la MO que d'autres. L'augmentation de l'intensité et par conséquent de la densité de courant engendre une plus grande quantité d'électrons qui semble favoriser la transformation de la MO. En revanche l'augmentation du nombre de plaques induit une diminution de la densité de charge qui limite vraisemblablement le phénomène. De même l'augmentation du débit qui conduit à une diminution du temps de séjour et donc de la durée d'électrolyse, devrait freiner les transformations mais son effet semble pourtant peu important. Par contre, il semble que la température favorise la transformation de la MO, or les réactions électrochimiques sont théoriquement indépendantes de la température contrairement aux réactions chimiques. Aussi, on peut supposer que la température agit surtout au niveau des réactions d'oxydation par des espèces oxydantes générées en solution puisque Ribordy *et al.* (1997) estiment qu'entre 20 et 65°C, la température n'affecte pas une électrolyse.

Néanmoins, même si la MO est transformée, il est difficile de savoir si l'oxydation est directe ou indirecte. Aussi pour essayer de déterminer si un seul ou les deux phénomènes interviennent lors de l'électrolyse du lixiviat de Crézin, nous avons suivi lors du plan d'expériences, les abattements de la DCO et de la concentration en ions chlorure. Un abattement de la DCO traduisant les conséquences d'une oxydation de la MO et un abattement de la concentration en ions chlorures traduisant leur éventuelle transformation électrochimique en  $\text{Cl}_2$  ou  $\text{HClO}$ .

La figure IV-15 présente les diagrammes des effets de l'intensité (a), du débit (b), du nombre de plaques (c) et de la température (d) d'électrolyse sur l'abattement de la DCO et de la concentration en chlorures ( $\text{Cl}^-$ ) dans le lixiviat.

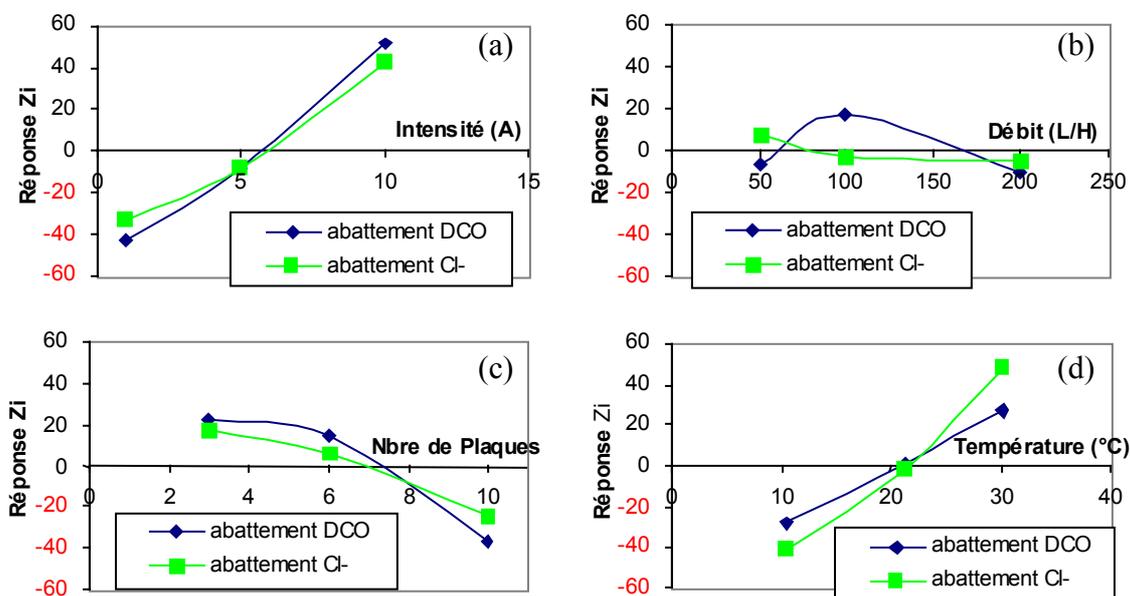


Figure IV-15 : Diagrammes des effets de l'intensité (a), du débit (b), du nombre de plaques (c) et de la température (d) d'électrolyse sur l'abattement de la DCO et de la concentration en chlorures ( $\text{Cl}^-$ ) dans le lixiviat.

Globalement les abattements de la DCO et des ions chlorure suivent les mêmes évolutions. Les diagrammes des effets montrent qu'une augmentation de l'intensité favorise les abattements en DCO et en  $\text{Cl}^-$ . Une augmentation du nombre de plaques conduit par contre à une diminution des deux abattements. De même, l'abattement des chlorures semble légèrement diminuer avec une augmentation de débit alors que l'abattement de la DCO passe

par une valeur plus importante avant de diminuer. Une élévation de la température induit une augmentation des deux abattements, un peu plus perceptible pour les chlorures.

En supposant que la DCO traduise l'état de la matière organique, une diminution de la DCO sous entend que la MO a subi des transformations, vraisemblablement des oxydations, dans sa structure. Comme pour l'absorbance UV, on peut considérer qu'une augmentation de l'intensité ou une diminution du nombre de plaques favorise les réactions électrochimiques en apportant plus d'électrons aux électrodes. Les composés organiques et les chlorures se retrouvant tous deux oxydés, l'oxydation des MO pourrait être en partie attribuée à la formation d'hypochlorite. Cependant, l'influence plus importante des paramètres « intensité et nombre de plaques » sur la DCO laisse supposer que l'abattement de la DCO n'est pas uniquement lié à l'oxydation par les espèces du chlore. Ainsi, d'autres oxydants pourraient avoir été formés. En outre, Chiang *et al.* (1995) précisent qu'une grande partie de l'hypochlorite formé intervient dans l'élimination de l'ammonium suivant les réactions du « breakpoint ». Le débit qui fixe le temps de séjour, semble légèrement influencer la transformation des chlorures mais surtout modifier l'abattement de la DCO. Cependant, l'augmentation de l'abattement en DCO à un débit de 100L/H, est assez surprenante puisqu'en général un temps d'électrolyse plus long est plus propice à la dégradation de la MO (Treille, 1973). Aussi cette donnée aurait besoin d'être revalidée. L'effet bénéfique de la température semble indiquer que les deux abattements répondent à des réactions chimiques. De ce fait, on peut supposer que la MO est préférentiellement oxydée par oxydation indirecte via des oxydants chimiques. En revanche, la consommation des ions chlorure étant une réaction redox (équation 19), la température ne devrait pas autant influencer. Cependant, l'oxydation de la MO par l'hypochlorite (équation 22) de même que la dismutation du chlore (équation 20) pourraient être responsables de cette évolution avec la température.

L'importance des réponses  $Z_i$  relatives aux abattements en DCO et en ions chlorure ( $-60 < Z_i < 60$ ) en comparaison de la réponse  $Z_i$  de la mesure d'absorbance UV ( $-1,5 < Z_i < 2$ ) laisse également supposer que les transformations influencent la valeur d'absorbance ne représentent qu'une infime proportion des modifications subies par la MO et perceptibles par la DCO.

En conclusion, si l'on considère uniquement le phénomène électrolytique, il apparaît que la MO peut subir certaines transformations vraisemblablement structurales par oxydation indirecte. Cependant, un procédé d'électrocoagulation utilisant des plaques en aluminium doit nécessairement consommer une partie des électrons pour la dissolution électrochimique, aussi on peut supposer que moins d'électrons restent disponibles pour les autres phénomènes électrolytiques. Ainsi, une mesure de l'abattement en ions chlorure lors de traitements par électrolyse et par électrocoagulation sans ajustement du pH et avec les mêmes paramètres (intensité, débit, nombre de plaque, température) a été réalisée, les résultats sont présentés au tableau IV-6.

Tableau IV-6 : Pourcentages d'abattement en ions chlorure lors de traitements par électrolyse et par électrocoagulation du lixiviat de Crézin.

	Pourcentages d'abattement des ions Cl <sup>-</sup> sous	
	1A – 50L.h <sup>-1</sup> 10 plaques – 20°C	10A – 50L.h <sup>-1</sup> 10 plaques – 20°C
Electrolyse (+/-2%)	2%	10%
Electrocoagulation (+/-2%)	1%	5%

Ces résultats montrent que l'abattement en chlorures est plus important en électrolyse qu'en électrocoagulation et dépend bien dans les deux cas de la densité de courant. Ainsi, on peut supposer que les processus liés à l'électrolyse interviennent aussi lors de l'électrocoagulation mais dans une moindre mesure devant les mécanismes de coagulation.

#### IV.1.2.4 Détermination de l'optimum de traitement par électrocoagulation

L'électrocoagulation au pH de 6,2 semblant la plus efficace, nous avons cherché à définir la dose précise d'aluminium conduisant à la meilleure élimination de la MO du lixiviat définie par son COD mais aussi par son absorbance UV à 254nm et sa Demande Chimique en Oxygène (DCO). La figure IV-16 présente les pourcentages d'abattement de l'absorbance UV à 254nm, du COD et de la DCO du lixiviat de Crézin en fonction de la concentration réelle en aluminium introduit (correction de la surdissolution).

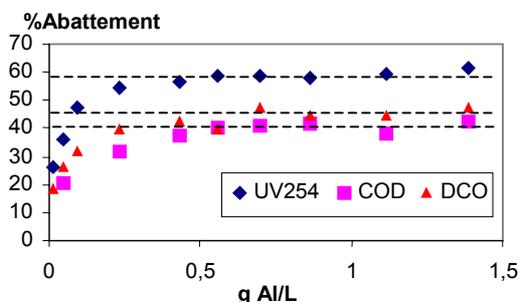


Figure IV-16 : Pourcentages d'abattement de l'absorbance UV à 254nm, du COD et de la DCO obtenus par électrocoagulation du lixiviat de Crézin en fonction de la concentration réelle en aluminium introduit.

Les résultats d'électrocoagulation mettent en évidence un abattement de 58% de l'absorbance UV à 254nm, de 41% du COD et de 47 % de la DCO pour une dose optimale de 0,57g Al.L<sup>-1</sup>. Ces valeurs apparaissent très proches des résultats obtenus en coagulation-floculation ce qui semble indiquer que les deux traitements éliminent la matière organique de façon semblable en terme de quantité. On observe un abattement préférentiel de l'absorbance UV et de la DCO pouvant traduire l'élimination de composés aromatiques et oxydables. Cependant, l'existence d'un processus électrolytique pouvant transformer la MO lors de l'électrocoagulation pourrait avoir biaisé les abattements observés. En effet, on peut supposer que :

- les transformations s'additionnent aux mécanismes de coagulation. Ainsi, une augmentation de l'absorbance UV par l'électrolyse pourrait diminuer l'abattement global d'absorbance UV de l'électrocoagulation. En revanche, l'élimination d'une partie de la DCO par le processus électrolytique pourrait aussi compenser une moins bonne efficacité de l'électrocoagulation à coaguler.
- la matière organique transformée par les phénomènes électrolytiques est éliminée. Il est envisageable que les structures transformées soient ensuite éliminées par coagulation et ne modifient alors pas le taux d'abattement. Les composés les plus réactifs au traitement comme les substances humiques présentent généralement de très nombreux groupements fonctionnels pouvant être oxydés ou réduits.
- les transformations sont négligeables devant la coagulation. Les résultats du tableau IV-6 montrent en effet que le processus électrolytique est moins important en électrocoagulation que dans le cas d'une électrolyse seule sur certains paramètres.

Généralement ces hypothèses ne sont pas prises en compte et la plupart des travaux ne considèrent que l'efficacité globale du procédé. Ainsi le tableau IV-7 présente les taux d'abattement en DCO obtenus par électrocoagulation-floculation de lixiviats stabilisés, en cours de stabilisation et non stabilisés à l'aide d'anodes en fer et en aluminium pour diverses études.

Tableau IV-7 : Taux d'abattement en DCO obtenus par électrocoagulation de lixiviats stabilisés, en cours de stabilisation et non stabilisés à l'aide d'anodes en fer ou en aluminium lors de diverses études.

	Anodes	Référence	Dose g.L <sup>-1</sup>	pH	DCO lixiviat (mg O <sub>2</sub> .L <sup>-1</sup> )	Abattement en DCO % (+/-3%)
<b>Lixiviats stabilisés</b>	Al	<b>cette étude, 2004</b>	<b>0,57</b>	<b>6,2</b>	<b>380</b>	<b>47</b>
	Fe	Ceballero, 2001	0,77	5,5	550	72
<b>Lixiviats en cours de stabilisation</b>	Al	Tsai <i>et al.</i> , 1997	0,2*	Libre	1207	34
	Fe	Tsai <i>et al.</i> , 1997	1,02	Libre	1134	35
<b>Lixiviats non stabilisés</b>	Al	Tsai <i>et al.</i> , 1997	0,26*	Libre	4781	34
	Fe	Tsai <i>et al.</i> , 1997	1,04	Libre	4979	39

(\* : les doses ont été estimées en supposant un rendement anodique de 1 pour la loi de Faraday)

L'abattement en DCO déterminé pour le lixiviat de Crézin apparaît plus faible que celui obtenu par Ceballero (2001) sur le lixiviat du même site mais avec des électrodes en fer. Tsai *et al.* (1997) observent également une efficacité légèrement meilleure de l'électrocoagulation par le fer sur des lixiviats. Le fer est généralement plus efficace que l'aluminium (Bayramoglu *et al.*, 2004), Kobya *et al.* (2003) justifiant cette différence par le fait que la DCO d'eaux contenant des teintures serait éliminée par électrocoagulation et électrooxydation avec des électrodes en fer mais seulement par électrocoagulation avec des électrodes en aluminium. De plus le fer induit une plus faible consommation d'énergie alors que l'aluminium conduit à une plus faible consommation des électrodes mais reste plus cher en coût d'utilisation (Bayramoglu *et al.*, 2004). En outre, certains auteurs qui appliquent l'électrocoagulation par l'aluminium ne tiennent pas compte de la dose réellement électrodissoute et avancent des taux de traitement inférieurs à la réalité.

La part de DCO éliminée apparaît également plus importante sur le lixiviat stabilisé de Crézin que sur les lixiviats moins stabilisés de l'étude de Tsai *et al.* (1997). Cette différence souligne une élimination plus facile de la MO du lixiviat de Crézin en raison peut être de sa teneur et/ou de sa répartition en SH\*.

En comparaison à la coagulation-floculation, les taux d'abattement apparaissent quasi identiques en électrocoagulation. Certaines études rapportent pourtant une meilleure efficacité de l'électrocoagulation notamment sur l'élimination des matières en suspensions (Murugananthan *et al.*, 2004) et des floes les plus fins (Michel, 1996) du fait de la production de gaz permettant la flottation de ces éléments. Selon Lee & Chou (1994) (cité par Ge *et al.*, 2004) l'aluminium électrodissous est plus efficace que celui apporté par une solution de sulfate d'aluminium.

## IV.2. Détermination de la matière organique résiduelle aux traitements

Quelques soient les conditions de traitement, la coagulation et l'électrocoagulation n'éliminent jamais la totalité de la MO d'un lixiviat. Une fraction résiduelle est systématiquement observée mais les outils d'analyse globale ne permettent pas de différencier la MO résiduelle à une coagulation de celle d'une électrocoagulation. Aussi, nous avons décidé d'étudier la MO résiduelle aux deux traitements en utilisant les méthodes de fractionnement, d'analyse de la taille, d'étude de la biodégradabilité et enfin d'identification structurale par pyrolyse afin d'essayer de comprendre leur réactivité.

### IV.2.1 Fractionnement de la MO après traitement

L'identification des différentes fractions contenues dans un lixiviat avant et après traitement constitue une méthodologie simple et efficace pour déterminer les fractions qui ont ou non pas

réagi. C'est pourquoi, le protocole défini par Malcom & Mac Carthy (1992), précédemment appliqué au lixiviat de Crézin non traité (1<sup>ère</sup> Partie paragraphe V.2.2), a été également appliqué au lixiviat de Crézin après son traitement par coagulation et électrocoagulation aux conditions optimales de concentration en aluminium et de pH.

La figure IV-17 présente la distribution du COD du lixiviat de Crézin avant traitement (a) et les pourcentages de COD éliminés au sein de chaque fraction après traitement par le sulfate d'aluminium ( $[Al]=0,7g.L^{-1}$  ;  $pH=6,2$ ) (b). La figure IV-18 présente la distribution dans chaque fraction de la part de MO éliminée et de la part résiduelle.

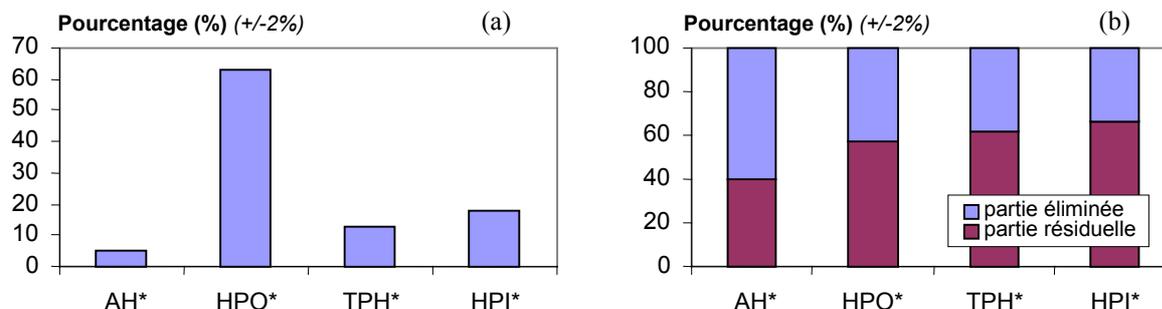


Figure IV-17 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin non traité (a) et pourcentages des parties éliminées et résiduelles au sein de chaque fraction après traitement par coagulation floculation (b).

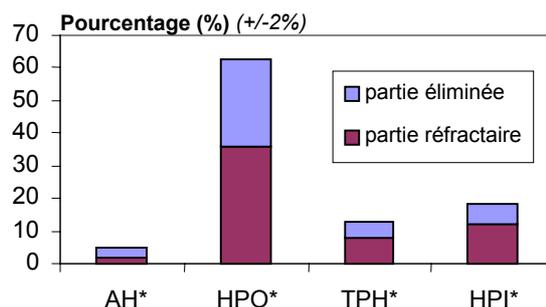


Figure IV-18 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin avant traitement par le sulfate d'aluminium et répartition des parties éliminées et réfractaires dans chacune des fractions.

Les résultats mettent en évidence que la coagulation-floculation engendre une forte diminution de la fraction Acides Humiques\* (AH\*) mais également une bonne élimination des fractions : Hydrophobe (HPO\*), Transphilique (TPH\*) et Hydrophile (HPI\*). Néanmoins, une partie résiduelle et certainement réfractaire à la coagulation s'observe dans chaque fraction. En effet, à l'optimum de traitement on peut supposer que le résiduel correspond à des substances réfractaires au traitement. Une nouvelle coagulation de la fraction résiduelle aurait permis de vérifier cette hypothèse : absence d'élimination supplémentaire mais ces essais n'ont pas été réalisés à ce jour. Selon la figure IV-18, la MO résiduelle apparaît quantitativement dominée par la fraction HPO\* mais il semble que les fractions TPH\* et HPI\* s'éliminent le moins bien (figure IV-17 (b)).

La figure IV-19 présente la distribution du COD du lixiviat de Crézin avant traitement (a) et les pourcentages de COD éliminés au sein de chaque fraction après traitement par électrocoagulation à l'aide d'électrodes en aluminium 1050A ( $[Al]=0,57g.L^{-1}$  ;  $pH=6,2$ ) (b). La figure IV-20 présente la distribution dans chaque fraction de la part de MO éliminée et de la part résiduelle.

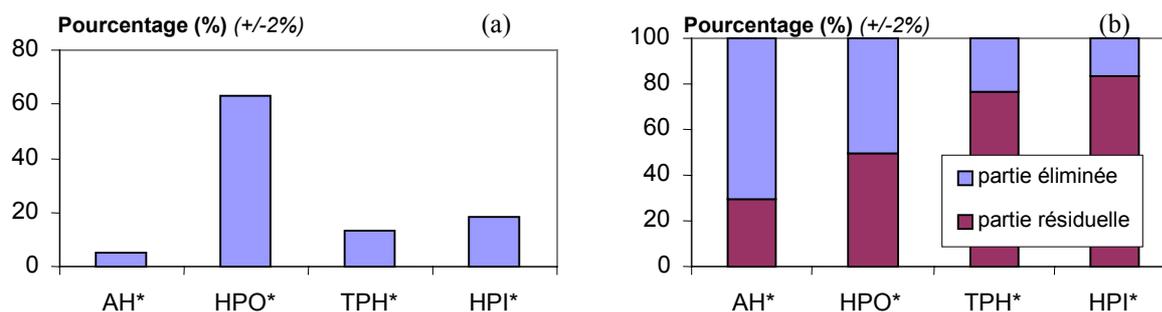


Figure IV-19 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin non traité (a) et pourcentages des parties éliminées et résiduelles au sein de chaque fraction après traitement par électrocoagulation floculation (b).

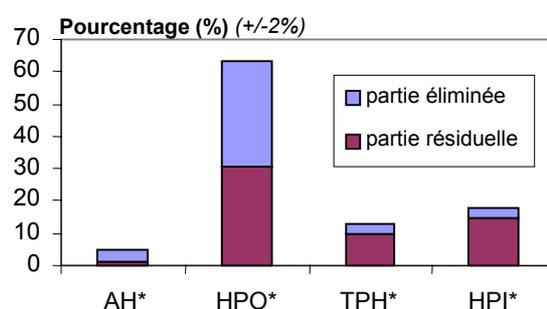


Figure IV-20 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin avant traitement par électrocoagulation avec des électrodes d'aluminium et répartition des parties éliminées et réfractaires dans chacune des fractions.

Les résultats montrent que l'électrocoagulation conduit à une diminution préférentielle des fractions AH\* et HPO\* alors que les fractions TPH\* et HPI\* demeurent très peu touchées par le traitement. Aussi, la MO résiduelle, et certainement, réfractaire à l'électrocoagulation semble se composer d'une plus grande proportion des fractions HPI\* et TPH\* qu'en coagulation tout en restant majoritairement constituée de la fraction HPO\*.

Les deux procédés de traitement permettent d'éliminer plus de la moitié des AH\* ce qui est en accord avec les données de la littérature (Martin, 1995 ; Gregor *et al.*, 1997). L'ordre d'élimination des fractions suit le même classement pour les deux procédés : AH\*>HPO\*>TPH\*>HPI\*. Martin (1995) montre également par coagulation d'extraits isolés d'eaux de surface que les AF s'éliminent mieux que les substances hydrophiles. Dans les milieux naturels, les AH (Thurman, 1985) et les composés HPO sont généralement plus hydrophobes et de plus hautes masses moléculaires que les composés HPI (Violleau, 1999). Ainsi, on peut justifier l'ordre d'élimination par le fait que l'hydrophobie conduit à une meilleure adsorption sur les floes et que les composés de hauts poids moléculaires apparents, en présentant une densité de charge moins grande, ont une charge plus simple à neutraliser. La fraction HPI\* du lixiviat apparaît comme la moins réactive de toutes comme le suggère son caractère faiblement hydrophobe. Néanmoins, la MO résiduelle présente en terme de masse une majorité de composés HPO\*, puis de composés HPI\* et enfin TPH\*, puisque initialement la fraction HPO\* était largement majoritaire dans le lixiviat.

La fraction HPO\* semble légèrement mieux éliminée par électrocoagulation que par coagulation à l'inverse des fractions TPH\* et HPI\*. Ces différences entre les deux traitements étant vraisemblablement imputables aux caractéristiques intrinsèques de ces procédés,

l'évolution du fractionnement suite à une électrolyse a été réalisée pour déterminer si l'électrolyse et potentiellement l'électrocoagulation, sous nos conditions, peuvent modifier la répartition de la MO. Effectivement, la discussion a été menée en supposant que les deux procédés n'avaient qu'une action d'élimination de la MO et en aucun cas une action destructive ou de transformation. Or le procédé par électrocoagulation peut modifier les caractéristiques de la MO de par ses capacités oxydatives.

La distribution du COD du lixiviat de Crézin avant traitement (a) et les pourcentages de COD éliminés au sein de chaque fraction après traitement par électrolyse à l'aide d'électrodes en acier inoxydable (b) sont présentés à la figure IV-21. La figure IV-20 présente la distribution dans chaque fraction de la part de MO éliminée, de la part résiduelle ainsi que de la part de MO créée.

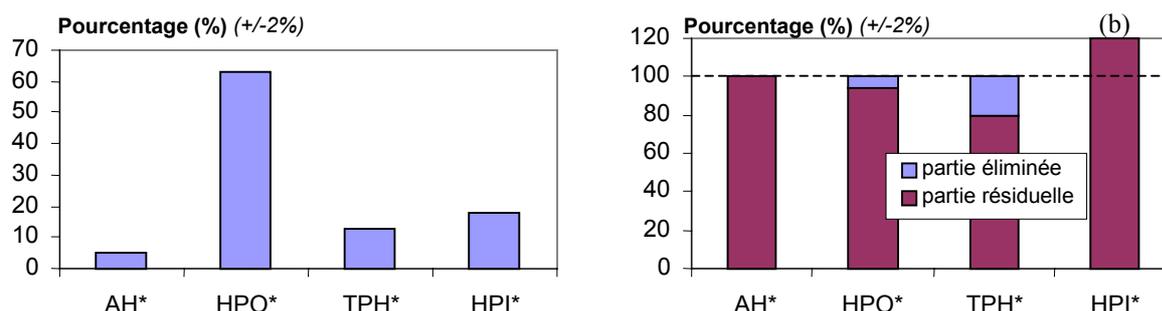


Figure IV-21 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin non traité (a) et pourcentages des parties éliminées et résiduelles au sein de chaque fraction après traitement par électrolyse (b).

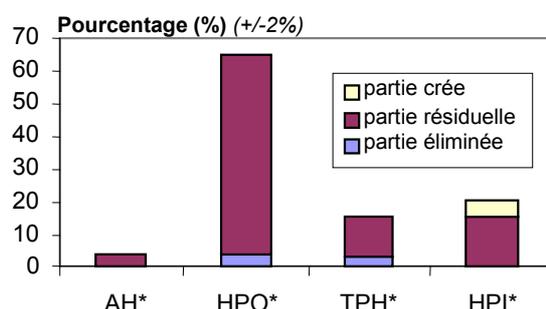


Figure IV- 22 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin avant traitement par électrolyse avec des électrodes d'aluminium et répartition des parties éliminées, réfractaires et créées dans chacune des fractions.

Il apparaît que l'électrolyse ne modifie pas la fraction AH\* et élimine faiblement les fractions HPO\* et TPH\*. En revanche, la fraction HPI\* s'avère plus importante après l'électrolyse si bien qu'une part semble avoir été créée. On peut alors supposer que cette création provient de la disparition des fractions HPO\* et TPH\* qui auraient été dégradées en composés plus hydrophiles. En effet dans d'autres procédés utilisant l'oxydation par ClO<sub>2</sub> ou l'ozone, Swietlik *et al.* (2004) mettent en évidence une diminution des fractions naturelles AH et HPO au profit de la fraction hydrophile. De par l'importance de la fraction HPO\* dans le COD et la DCO du lixiviat (1<sup>ère</sup> Partie paragraphe V.4), il est probable qu'elle contribue le plus à l'enrichissement de la fraction HPI\*. Ainsi, la fraction HPO\* (mais aussi TPH\*, dans une moindre mesure) peut être considérée comme une fraction réactive à l'électrolyse. La faible contribution de la fraction HPI\* à la DCO du lixiviat (1<sup>ère</sup> Partie paragraphe V.4), exprime une faible oxydabilité qui pourrait justifier son manque de réactivité vis à vis de l'électrolyse. Néanmoins, bien qu'apparemment réfractaire, la fraction HPI\* semble bénéficier des effets de l'électrolyse au contraire de la fraction AH\*, totalement réfractaire.

Aussi en supposant que de tels effets interviennent également en électrocoagulation, dans la répartition des fractions après électrocoagulation (figure IV-19 (b)), la part de la fraction HPI\* qui serait éliminée ne serait pas de 16% puisque les 84% résiduels tiendraient compte de la part non éliminée et de la part créée. Dès lors en considérant 20% de création, seulement 64% de la fraction HPI\* serait réellement résiduelle en électrocoagulation ce qui correspondrait à des résultats proches de ceux obtenus par coagulation (figure IV-17 (b)).

#### IV.2.2 Evolution de la Taille

L'analyse de la taille permet également de suivre directement le comportement et l'évolution d'une MO lors d'un traitement et d'en déterminer l'atteinte à sa structure. De nombreuses techniques permettent de déterminer la distribution en taille d'une matrice organique comme la chromatographie d'exclusion stérique (SEC), le Fractionnement par couplage Flux-Force (FFF), la dispersion des rayons X aux petits angles (SAXS) et l'ultrafiltration (UF). Cependant, afin de comparer nos résultats avec les études antérieures réalisées sur le lixiviat de Crézin (Lagier, 2000 ; Ceballero, 2001), nous avons choisi d'appliquer l'ultrafiltration en mode diafiltration. Le mode de diafiltration consistant à maintenir dans la cellule un volume constant en remplaçant le volume ultrafiltré par une solution sans soluté mais au pH (7,2) et à la force ionique ( $I=0,04M$ ) du lixiviat de Crézin.

En ultrafiltration, la taille se rapporte au Poids Moléculaire Apparent (PMA) de la MO et non à la taille proprement dite (Logan & Jiang, 1990). Le principe de l'UF consiste à appliquer une pression suffisante sur un liquide en contact avec une membrane semi-perméable de façon à ce que les molécules organiques, dont la taille est inférieure à celle des pores, passent à travers la membrane. Chaque membrane est caractérisée par un seuil de coupure (en Da) défini comme le pouvoir d'arrêt de la membrane au dessus de laquelle 90% des molécules sont retenues. Dans le cadre de notre étude, des seuils de coupure de 30KDa, 3KDa et 0,5KDa ont été appliqués à l'aide de membranes Amicon (YM 30, YM 3 et YC 0,5) et d'une cellule d'ultrafiltration frontale de chez Millipore. La pression étant assurée par de l'azote.

##### IV.2.2.1 Caractérisation des PMA du lixiviat de Crézin avant traitement

Afin de mieux apprécier la réactivité de la MO selon la taille de ses constituants, nous avons tout d'abord cherché à caractériser le lixiviat avant traitement.

La figure IV-23 montre la distribution des PMA du Carbone Organique Dissous du lixiviat de Crézin selon les études de Lagier (2000), Ceballero (2001) et cette étude.

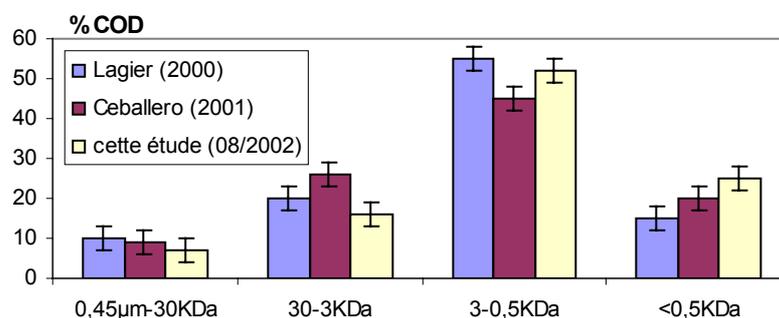


Figure IV-23 : Distribution des PMA du Carbone Organique Dissous du lixiviat de Crézin déterminée dans les études de Lagier (2000), Ceballero (2001) et lors de cette étude.

D'après ces résultats, le lixiviat de Crézin apparaît dominé par des composés dont le PMA est compris entre 3 et 0,5KDa alors que les plus gros composés ( $>30KDa$ ) sont les moins présents. La faible quantité d'AH\* (5%), supposés de haut PMA, par rapport aux AF\*, supposés de plus bas PMA, pourrait être une explication. En effet, les données sur la taille de la MO confirment généralement les résultats concernant la distribution des SH\* (Artiola-

Fortuny & Fuller, 1982 ; Calace & Petronio, 1997). Ainsi Calace *et al.* (2001) montrent qu'un jeune lixiviat est constitué à plus de 70% de composés inférieurs à 0,5KDa, en accord avec le reste de la littérature pour laquelle la distribution des poids moléculaires augmente avec l'augmentation de l'âge du lixiviat (Frimmel & Weis, 1991 ; Kang *et al.*, 2002).

Au cours de ces dernières années, la distribution des PMA du lixiviat de Crézin ne semble avoir que peu évoluée malgré une forte diminution du COD passant de 350mg C.L<sup>-1</sup> pour Lagier (2000) à 120mg C.L<sup>-1</sup> en août 2002. La fraction 0,45µm-30KDa est restée pratiquement constante alors que la plus petite fraction semble s'être enrichie. Les fractions intermédiaires donnent quant à elles l'impression de fluctuer mais les écarts peuvent être liés à la fois aux expérimentateurs, à l'hétérogénéité de l'échantillonnage, à l'erreur sur la mesure et à la répétabilité. L'état stabilisé de ce lixiviat pourrait aussi expliquer cette évolution très lente de la MO. Ainsi, la faible quantité d'AH\* serait due à la lenteur des processus d'humification, qui auraient généré, à ce stade d'évolution du lixiviat, des composés de taille moyenne. Kang *et al.* (2002) mettent également en évidence un lixiviat stabilisé (DCO=1367mgO<sub>2</sub>.L<sup>-1</sup>) dominé par des composés de masses moléculaires intermédiaires (10-50KDa).

Néanmoins, l'attribution de composés de certains PMA à des fractions de la MO (comme les hauts PMA aux AH\*) étant importante pour confirmer les discussions, nous avons cherché à déterminer la distribution des PMA des différentes fractions extraites par le protocole de Malcolm & Mac Carthy (1992). La figure IV-24 rapporte la distribution des PMA du COD des fractions AH\*, HPO\*, TPH\* et HPI\* extraites du lixiviat de Crézin.

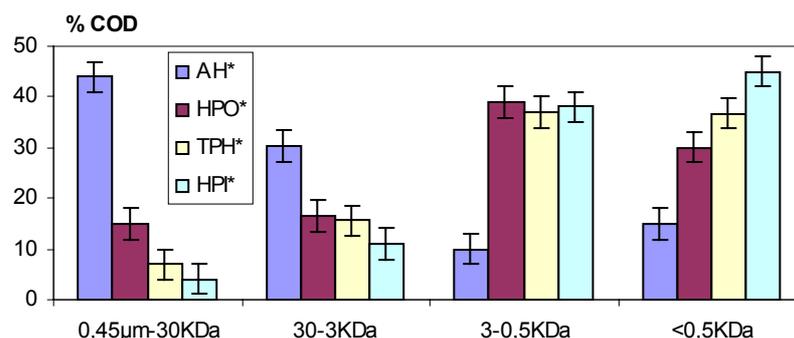


Figure IV-24 : Distribution des PMA du COD des fractions AH\*, HPO\*, TPH\* et HPI\* extraites du lixiviat de Crézin.

Les résultats laissent apparaître que la fraction AH\* est essentiellement constituée de composés de hauts PMA (supérieurs à 3KDa) alors que la fraction HPO\* (contenant la fraction AF\*) se définit par la présence de composés de plus petites tailles (inférieurs à 3KDa). Ainsi, il semble que les processus d'humification génèrent des composés similaires aux SH des milieux naturels (Thurman, 1985) et dont la complexité de structure évolue dans le sens HPO\*/AF\*→AH\*. Kang *et al.* (2002) rajoutent qu'avec le vieillissement de la décharge, les AH\* voient leur masse moléculaire augmenter et les AF\* leur masse diminuer. Néanmoins, l'évolution de la taille des AF\* et des AH\* au sein d'un lixiviat n'est pas toujours très claire car la MO dépend de la composition des déchets, du type d'enfouissement, du type de collecte du lixiviat et des conditions climatiques (El Fadel *et al.*, 2002) tout autant que de l'âge du site (Kang *et al.*, 2002). Lagier (2000) en appliquant le même protocole d'ultrafiltration observe une distribution similaire des PMA pour les fractions AH\* et AF\* du lixiviat de Crézin. Dans leur étude Kang *et al.* (2002), observent que 92% des PMA sont inférieurs à 50KDa pour la fraction AF\* d'un lixiviat stabilisé contre 58% pour la fraction AH\* possédant en revanche 12 % de composés supérieurs à 100KDa.

Selon la figure IV-24, la fraction la plus hydrophile (HPI\*) se compose essentiellement de composés inférieurs à 3KDa et la fraction TPH\* semble être un intermédiaire entre les

fractions HPO\* et HPI\*. Dans les eaux de surface, des analyses de taille par chromatographie d'exclusion stérique ont permis de mettre en évidence que les PMA diminuaient de la fraction HPO vers la fraction TPH puis la fraction HPI (Violleau, 1999). Néanmoins, il apparaît qu'une fraction extraite par résines XAD correspond à un ensemble de composés de diverses tailles et par conséquent de réactivités probablement différentes. Ce mélange au sein des fractions pouvant être attribué à la porosité des résines qui induit des phénomènes d'exclusion stérique en plus de phénomènes d'affinité.

#### IV.2.2.2 Caractérisation des PMA du lixiviat de Crézin après traitement

L'évolution de la taille a été utilisée pour essayer d'appréhender la réactivité de la MO du lixiviat suite aux traitements par coagulation-floculation et par électrocoagulation sous des conditions optimales ainsi qu'après une électrolyse dans les mêmes conditions que l'électrocoagulation.

La figure IV-25 présente la distribution des PMA du COD du lixiviat de Crézin avant et après traitement. Les pourcentages ont tous été déterminés par rapport au COD du lixiviat avant traitement.

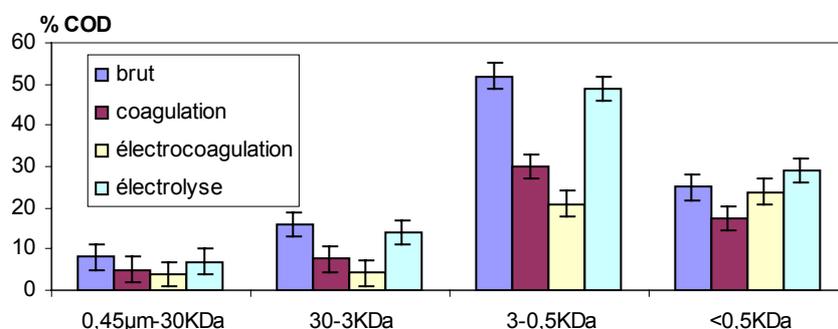


Figure IV-25 : Distribution des PMA du COD du lixiviat de Crézin avant et après traitement par coagulation, électrocoagulation et électrolyse.

Les résultats mettent évidence des abattements différents selon les fractions étudiées et les traitements employés. La fraction 0,45µm-30KDa apparaît bien éliminée par coagulation et électrocoagulation mais pas par électrolyse. Ces résultats sont en accord avec la littérature qui montre que les structures de hautes masses moléculaires s'éliminent bien par coagulation (Croué *et al.*, 1997 ; Chow *et al.*, 1999). Brizard (2001) en étudiant l'effet des mêmes procédés sur la MO d'une eau de surface observe par contre un très fort abattement de cette fraction (environ 85%) par coagulation et électrocoagulation. Dans le lixiviat de Crézin, la faible quantité globale d'AH\* (5%) peut expliquer le plus faible abattement trouvé malgré leur forte présence dans cette fraction de taille (figure IV-24). Brizard (2001) met également en évidence une forte élimination de la fraction 0,45µm-30KDa par électrolyse, laissant supposer que cette fraction de MO est moins électrolytiquement réactive dans le lixiviat que dans certaines eaux de surface. On peut penser que la forte biodégradation subie dans la décharge et/ou les processus d'humification ont conduit à générer des composés de hautes masses moléculaires à caractère réfractaire au sein du lixiviat.

Les fractions 30-3KDa et 3-0,5KDa sont également bien éliminées par coagulation et encore mieux par électrocoagulation alors que l'électrolyse apparaît ne toucher que légèrement ces deux fractions. Ainsi il semble que les composés constituant ces fractions réagissent bien aux mécanismes de la coagulation mais demeurent plus réfractaires à l'électrolyse. Les bons abattements pouvant être attribués à la présence des fractions humiques (AH\* et HPO\*) et notamment la fraction HPO\* qui constitue l'essentiel de la MO du lixiviat. En outre, comme l'électrolyse semble parvenir à éliminer une partie de cette fraction de taille, la

part électrolytique de l'électrocoagulation pourrait contribuer à son élimination et alors en partie expliquer la meilleure efficacité de ce procédé sur la coagulation. De plus, la création d'un champ électrique en électrocoagulation peut favoriser la migration et l'élimination des composés de plus haute densité de charge (Matteson *et al.*, 1995).

La fraction <0,5KDa se révèle quelque peu éliminée par la coagulation alors que l'électrocoagulation semble inefficace. L'électrolyse semble quant à elle enrichir cette fraction, supposant ainsi un apport de petites structures résultant vraisemblablement de la décomposition de plus grosses entités. Les fractions les plus petites se révèlent également touchées par la coagulation comme le rapportent Tsai *et al.* (1997). En revanche l'électrocoagulation apparaît inopérante sur les petits composés alors que la littérature précise justement qu'elle permet d'abattre ce type de composés (Ali & Rumeau, 1994). En fait, l'augmentation de cette fraction <0,5KDa suite à l'électrolyse laisse supposer qu'en électrocoagulation, l'abattement est peut être biaisé par la création de petits composés. En effet, Tsai *et al.* (1997) observent une diminution des structures de PMA supérieurs à 10KDa au profit de composés compris entre 1 et 10KDa à la suite du traitement d'un lixiviat avec des électrodes en aluminium. Brizard (2001) observe également des résultats similaires sur la MO d'une eau de surface.

En conclusion, les données apportées par l'ultrafiltration apparaissent concordantes avec les données du fractionnement (IV.2.1). Ainsi la MO de hauts PMA associable aux AH\* s'élimine bien en coagulation de même que les composés de PMA intermédiaires attribuables à la fraction HPO\*. Les plus petits PMA, assimilables à la fraction hydrophile, se retrouvent aussi abattus mais apparaissent globalement assez peu touchés par les traitements de coagulation et d'électrocoagulation. Aussi la MO réfractaire peut être considérée comme un ensemble d'éléments de diverses tailles mais majoritairement inférieures à 3KDa.

### IV.2.3 Evolution de la bioréactivité après traitement

Lorsqu'une matrice organique subit un traitement, sa réactivité est parfois modifiée. Ainsi, la bioréactivité, qui dépend en partie de l'état de la matrice organique, peut totalement évoluer à la suite de certains traitements physico-chimiques. De ce fait, l'évolution des teneurs en Carbone Organique Dissous Biodégradable (CODB) et en Carbone Organique Assimilable (COA) devient une indication sur l'effet du traitement et permet aussi de vérifier si les modifications chimiques et biologiques s'opèrent sur les mêmes fractions de MO.

#### IV.2.3.1 Carbone Organique Dissous Biodégradable (CODB)

La mesure du CODB a été réalisée suivant le protocole défini à la 3<sup>ème</sup> Partie (paragraphe III-1) sur des échantillons du lixiviat de Crézin non traités et traités aux conditions optimales par coagulation, électrocoagulation et électrolyse. Le tableau IV-8 rapporte les valeurs et les pourcentages d'élimination du CODB obtenus avec la souche *Pseudomonas fluorescens*.

Tableau IV-8 : Valeurs et pourcentages d'élimination du CODB obtenus avec la souche *P. fluorescens* sur le lixiviat non traité et traité aux conditions optimales par coagulation, électrocoagulation et électrolyse.

	lixiviat			
	non traité	coagulé	électrocoagulé	électrolysé
CODB ( $\pm 0,2 \text{ mg C.L}^{-1}$ )	1,1	0,7	0,8	1,2
% de CODB éliminé ( $\pm 15\%$ )	-	36	27	-9

Les résultats laissent apparaître une élimination du CODB en coagulation et en électrocoagulation mais pas en électrolyse. De par l'incertitude sur la mesure, les écarts entre le résiduel de coagulation et d'électrocoagulation restent assez faibles et la valeur négative

obtenue pour l'électrolyse pourrait être associée à une absence d'élimination. Néanmoins, le pourcentage d'abattement obtenu par coagulation est proche des gammes de valeurs rapportées par la littérature concernant les eaux naturelles, entre 38 et 88% selon Croué *et al.* (1997) et entre 0 et 54% selon Volk *et al.* (2000).

L'abattement de CODB observé en coagulation et en électrocoagulation pourrait être attribué à l'élimination des différentes fractions de la MO du lixiviat. En effet, Amon & Benner (1996) ont démontré que les composés biodégradables incluent des molécules de hautes et faibles masses moléculaires. Le CODB, du moins pour les eaux de surface, se compose de 75% de Substances Humiques, 30% de sucres et 4% d'acides aminés (Volk *et al.*, 1997). Aussi on peut attribuer cette diminution du CODB principalement à l'élimination des fractions AH\* et HPO\* définies comme biodégradables à la 3<sup>ème</sup> Partie (paragraphe III-1).

L'électrolyse semble par contre ne conduire à aucun abattement de ce paramètre et on peut alors supposer que les composés biodégradables ne sont pas réactifs à une oxydation par électrolyse. Néanmoins comme les données du fractionnement et de l'analyse de taille soulignent une transformation des fractions HPO\* et TPH\* au profit de la fraction HPI\*, on peut aussi supposer qu'il y a eu décomposition des éléments biodégradables de ces deux fractions en composés également biodégradables mais de nature hydrophile.

#### IV.2.3.2 Carbone Organique Assimilable (COA)

La mesure du COA a également été réalisée suivant le protocole défini à la 3<sup>ème</sup> Partie (paragraphe III-2) sur les mêmes échantillons du lixiviat de Crézin non traités et traités aux conditions optimales par coagulation, électrocoagulation et électrolyse. Le tableau IV-9 rapporte les valeurs de COA obtenues avec la souche *Pseudomonas fluorescens*.

Tableau IV-9 : Valeurs du COA obtenues avec la souche *P. fluorescens* sur le lixiviat non traité et traité aux conditions optimales par coagulation, électrocoagulation et électrolyse.

	lixiviat			
	non traité	coagulé	électrocoagulé	électrolysé
COA (+/-10µg C.L <sup>-1</sup> )	105	114	95	126
% de COA éliminé (+/- 8%)	-	-9	10	-20

Les résultats ne mettent en avant aucune élimination du COA par la coagulation ou l'électrocoagulation (-9% et +10% n'étant pas considérés comme significatifs). Seul le lixiviat électrolysé présente une teneur en COA un peu plus élevée.

Généralement, il est reconnu que le COA s'élimine beaucoup plus difficilement que le CODB par coagulation (Volk *et al.*, 2000). Owen *et al.* (1993) observent une élimination de 16% du COA contre 49% du CODB lors de l'utilisation de sels d'aluminium sur une eau de surface. Volk *et al.* (2000) considèrent que le COA est probablement constitué de petites molécules qui ne sont pas affectées par les mécanismes de la coagulation. Aussi on peut supposer que le COA du lixiviat se compose également de petites molécules réfractaires à ces mécanismes.

L'augmentation de la teneur en COA après électrolyse tend à indiquer la formation de composés simples, résultant vraisemblablement de réactions d'oxydation. En effet, une augmentation du COA suite à des traitements oxydatifs est souvent observée. Ainsi Easton & Jago (1993) rapportent qu'une préchloration augmente d'environ 83% la teneur en COA d'une eau et Escobar & Randall (2001) indiquent qu'une ozonation peut même l'augmenter jusqu'à 127%. L'hypothèse de la formation de composés biodégradables hydrophiles à partir de composés hydrophobes, évoquée pour le CODB, peut être aussi émise. Aussi pour essayer de la vérifier, le COA des fractions HPO\* et HPI\* (extraites du lixiviat électrolysé) a été déterminé. Les valeurs obtenues sont données au tableau IV-10.

Tableau IV-10 : Valeurs du COA obtenues pour les fractions HPO\* et HPI\* après électrolyse du lixiviat. (incertitude sur le COA à  $\pm 10\mu\text{g C.L}^{-1}$ ).

	non traité	électrolysé
HPO*	$100\mu\text{g C.L}^{-1}$	$82\mu\text{g C.L}^{-1}$
HPI*	$15\mu\text{g C.L}^{-1}$	$10\mu\text{g C.L}^{-1}$

Les résultats tendent à indiquer que l'électrolyse conduit à une légère diminution du COA au sein de la fraction HPO\* mais la variation reste très faible. Parallèlement le COA au sein de la fraction HPI\* reste quasiment constant.

Ainsi, il apparaît que la fraction HPO\* perd quelques éléments bioréactifs mais qui ne sont pas retrouvés dans la fraction HPI\*. Cependant comme les résultats d'électrolyse soulignent l'augmentation de la fraction HPI\* et l'apparition de composés de très petites tailles, on peut supposer que cette fraction connaît un apport de composés. Néanmoins ces composés peuvent s'avérer non assimilables ou alors la toxicité biaise l'analyse, auquel cas l'hypothèse d'un transfert de biodégradabilité demeure toujours en suspens.

En conclusion la MO réfractaire aux traitements par coagulation et électrocoagulation apparaît composée de l'ensemble du COA correspondant vraisemblablement à une partie des petits PMA observés par ultrafiltration. De même une part importante du CODB ne se trouve pas éliminée par ces traitements. Aussi, la MO réfractaire vis à vis des traitements se révèle en revanche potentiellement plus biodégradable que la MO d'origine. Par conséquent, les réactivités chimiques et biologiques ne semblent pas directement associées au sein du lixiviat.

#### IV.2.4 Pyrolyse CG/SM

La pyrolyse CG/SM, de par son information d'ordre moléculaire, peut permettre d'identifier certains des constituants présents au sein des fractions résiduelles. Aussi, nous avons choisi de l'appliquer sur la fraction HPI\* après traitement par coagulation ou électrocoagulation suivant le protocole de dépôt sur argile K10 défini à la **2<sup>ème</sup> Partie** (paragraphe II.2.1.4).

Les pyrochromatogrammes des fractions HPI\* extraites après coagulation et électrocoagulation aux doses optimales ainsi que le pyrochromatogramme de la fraction HPI\* extraite du lixiviat non traité sont présentés à la figure IV-26.

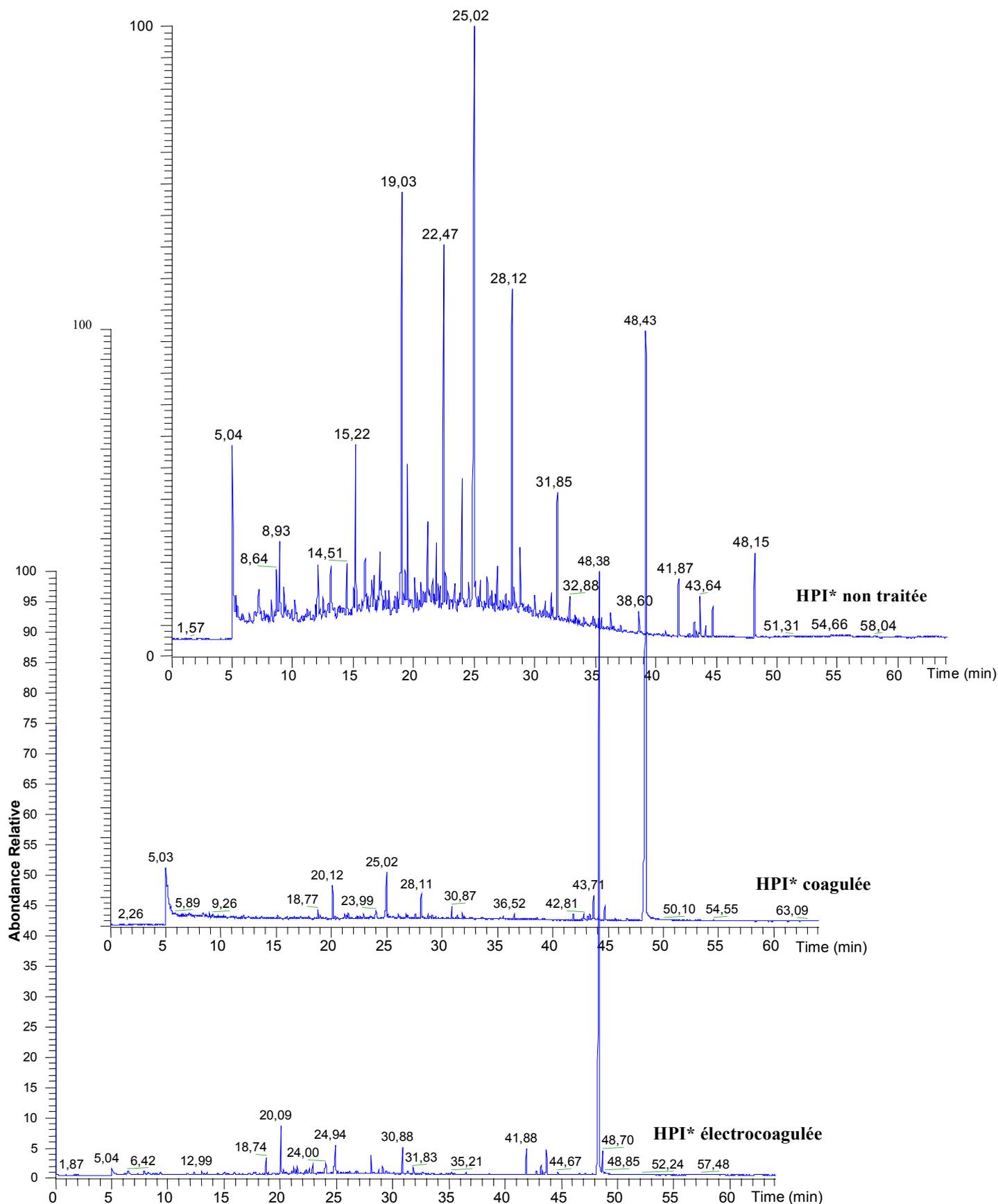


Figure IV-26 : Pyrochromatogrammes des fractions HPI\* extraites après coagulation et électrocoagulation aux doses optimales et de la fraction HPI\* extraite du lixiviat non traité.

Les deux pyrochromatogrammes obtenus après traitement montrent des allures très similaires mais bien différentes de celui de la fraction HPI\* non traitée (figure IV-26). Il sont dominés par un immense pic à 48,4min précédé de quelques petits pics alors que le pyrochromatogramme de la fraction non traitée se compose de plusieurs pics importants dont le principal se situe à 25,02min.

Ainsi, on pourrait supposer que les fractions HPI\* obtenues après traitements ne comportent que très peu de composés, cependant la réponse du signal est donnée en abondance relative et la prépondérance du pic à 48,4 écrase les autres pics, rendant alors l'interprétation plus difficile. En effet, de nombreux composés présents dans la fraction non traitée puis retrouvés après traitement ont pu être identifiés et sont rapportés au tableau IV-11.

Tableau IV-11 : Liste des composés présents dans la fraction non traitée puis retrouvés après traitement par coagulation et électrocoagulation.

	HPI*	HPI* coagulé	HPI* électrocoagulé
<b>Monoesters méthyliques</b>			
C14	23,83	22,90	22,95
C16	28,12	28,11	28,09
C18	31,85	31,84	31,83
<b>Dérivés ligno-cellulosiques</b>			
Acide 3,4-diméthoxybenzoïque méthyle ester (G6)	21,19	21,42	21,5
Acide 3,4,5-triméthoxybenzoïque méthyle ester (S6)	24,05	24,82	24,80
<b>Stéroïdes et dérivés</b>			
Campestérol	41,87	41,88	41,87
$\beta$ -sitostérol	43,64	43,71	43,67
Cholestadiène	48,15	48,43	48,38
<b>Composé indigène</b>			
2,3,5 tri méthoxy phénol	25,02	25,02	24,94
<b>Plastifiants</b>			
Méthyl, éthyl Phtalate	20,01	20,12	20,09
Di (2-EthylHexyle) Phtalate	38,60	38,59	38,58

Les résultats montrent que différentes catégories de composés persistent après traitement par coagulation ou électrocoagulation puisque des acides carboxyliques, des dérivés ligno-cellulosiques, des stéroïdes et des plastifiants sont retrouvés. L'ensemble de ces composés identifiés (ainsi que certains non identifiés) constitue la part résiduelle et réfractaire aux procédés de traitement chimique de la MO hydrophile.

Ainsi, il apparaît que seuls les acides carboxyliques en C14, C16 et C18 demeurent après traitement, mais le C16 est bien moins important que dans la fraction HPI\* non traitée. Les acides en C14 et C18 sont en revanche très peu visibles et les acides en C8, C10 et C12 semblent même avoir disparus. Goins *et al.* (2002), en analysant par pyrolyse CG/SM avec TMAH les eaux issues de stations de potabilisation, indiquent par contre une bonne élimination des plus longs acides et une plus faible élimination des plus petits. Néanmoins, comme les petits acides de la fraction HPI\* non traitée présente un faible signal, leur abattement contribue à fondre ce signal dans le bruit de fond.

Parmi les dérivés ligno-cellulosiques, un fragment guaiacyl (G6) et un fragment syringyl (S6) sont encore identifiés après traitement. La totalité des autres fragments semble avoir été éliminée, notamment tous les fragments *p*-hydroxyphényl. Lors du traitement par l'aluminium de Matières Organiques dissoutes terrestres et aquatiques, différents auteurs relatent l'abattement des fragments d'origine ligneuse mais aussi la présence dans le résiduel de plusieurs dérivés ligno-cellulosiques (Bruchet *et al.*, 1990 ; Chow *et al.*, 1999 ; Page *et al.*, 2003). Goins *et al.* (2002) insistent sur la présence de dérivés guaiacyl dont la quantité tend

sans explication à augmenter après traitement. Bruchet *et al.* (1990) et Page *et al.* (2003) rapportent surtout la présence, après traitement, de fragments issus de polysaccharides et traduisant le caractère réfractaire des dérivés cellulosiques. Cependant, le lixiviat de Crézin non traité ne présente aucun fragment caractéristique de la cellulose ou des hémicelluloses.

Les composés de type stéroïdes (à savoir les deux phytostérols et le cholestadiène) apparaissent également réfractaires aux traitements puisque la totalité des composés identifiés dans la fraction HPI\* non traitée se retrouve après traitement,. Le cholestadiène est même le pic majeur de ces fractions. Selon Snyder *et al.* (2003), les traitements physico-chimiques éliminent généralement assez mal de nombreux stéroïdes, ce qui corroborerait cette persistance.

Le polyphénol qui dominait la fraction avant les traitements est encore présent mais sa réponse est beaucoup moins importante.

Le méthyl, éthyl phtalate et le DEHP sont les deux seuls plastifiants identifiés mais seul le signal du méthyl, éthyl phtalate est important. Ying *et al.* (2004) considèrent que les composés chimiques d'origine anthropique dont le coefficient de partage octanol/eau ( $K_{ow}$ ) est supérieur à 3 peuvent s'éliminer par coagulation. En effet, les plastifiants ayant des  $K_{ow}$  assez élevés (4,79 pour le DBP ; 7,5 pour le DEHP selon Staples *et al.*, 1997) ont bien été éliminés, aussi il est probable que le méthyl, éthyl phtalate présente une moins grande lipophilie lui permettant de résister aux traitements.

Hormis les composés déjà répertoriés, l'analyse des pyrochromatogrammes après traitement a aussi permis d'identifier de nouveaux composés présentés au tableau IV-12.

Tableau IV-12 : Liste des composés non présents dans la fraction non traitée et retrouvés après traitement par coagulation ou électrocoagulation.

	HPI*	HPI* coagulé	HPI* électrocoagulé
Acide 3-(4-méthoxyphényl)-2-propénoïque méthyle ester (P18)	-	18,77	18,74
Bisphénol A	-	30,85	30,88

Ainsi, le bisphénol A et un fragment ligno-cellulosique de structure *p*-hydroxyphényl (P18) qui n'étaient présents que dans la fraction AH\* apparaissent dans la fraction HPI\* coagulée et la fraction HPI\* électrocoagulée. D'autres composés non identifiés apparaissent également au temps de rétention de 44,71min de la fraction HPI\* coagulée. Cette présence peut être attribuée au fait que leur signal ait été masqué dans la fraction HPI\* non traitée mais Yamamoto *et al.* (2001) précisent pourtant que le bisphénol A est très bien éliminé par des traitements classiques. On peut également supposer que ces composés sont associés à des éléments les rendant plus réfractaires aux traitements.

La similitude des pyrochromatogrammes laisse supposer que les mêmes éléments sont éliminés par les deux traitements et que par conséquent les mêmes composés sont réfractaires. Néanmoins, quelques différences peuvent être observées.

Ainsi, il apparaît au tout début des pyrochromatogrammes un large pic pouvant indiquer la présence de petits composés. Cependant ce pic s'observe essentiellement pour la fraction HPI\* coagulée alors que les résultats d'ultrafiltration tendent à montrer que ce procédé élimine mieux les plus petits composés que l'électrocoagulation. Néanmoins, comme la détection ne commence qu'à partir de 5min, il se peut que de tout-petits composés aient déjà été élués et soient par conséquent non perçus.

L'intensité de certains pics se révèle également différente selon les traitements considérés, ce qui pourrait indiquer des efficacités variables entre les deux traitements. Par exemple, le pic du campestérol est moins intense dans la fraction coagulée. Le pic du composé sortant à

44,67-44,71min est par contre moins élevé dans la fraction électrocoagulée. Néanmoins, ces différences demeurent mineures et le tracé en abondance relative peut fausser les données.

En conclusion, la MO réfractaire intrinsèque à la fraction HPI\* se révèle constituée d'un vaste ensemble de composés d'origine naturelle et anthropique. Les principaux éléments résistant aux traitements étant des dérivés ligno-cellulosique, des composés synthétiques comme le biphenol A et le méthyl, éthyl phtalate et surtout les stéroïdes dont le cholestadiène.

La présence du bisphenol A, théoriquement bien éliminé par les mécanismes de coagulation, porte à croire que certains composés s'associent au sein de la MO avec d'autres éléments qui leur confèrent une plus grande hydrophilie. De même, la présence du méthyl, éthyl phtalate tendrait à montrer que la biodégradation de composés hydrophobes au sein du lixiviat, génère également des composés plus hydrophiles et plus difficiles à éliminer par les traitements chimiques. Néanmoins la part réfractaire de la fraction HPI\* semble surtout dominée par le cholestadiène. Cependant, l'utilisation de la fixation sur argile dans le protocole d'analyse doit modérer la contribution du cholestadiène. En effet, le principe d'affinité de composés pour un support conduit à différents équilibres de sorption qui peuvent ne pas restituer les proportions réelles des composés présents dans la solution.

Enfin, la comparaison avec des données pyrochromatographiques de MO terrestres et aquatiques pourrait expliquer que l'une des raisons à l'efficacité des procédés à base de coagulation sur les lixiviats stabilisés réside dans l'absence de fragments cellulosiques, généralement réfractaires à ce type de traitements.

### **IV.3. Conclusion**

La MO du lixiviat montre une réactivité aux traitements physico-chimiques par coagulation et électrocoagulation globalement moyenne (40% d'élimination du COD). Les abattements de l'absorbance UV à 254nm et de la DCO laissent supposer que les composés présentant les structures les plus délocalisées et les plus oxydables s'éliminent le mieux. La coagulation semble agir sur la MO uniquement par adsorption alors que l'électrocoagulation semble vraisemblablement coupler à ce phénomène, de l'oxydation chimique indirecte.

La matière organique réfractaire aux traitements se compose essentiellement de composés de la fraction HPO\* et d'éléments des fractions HPI\* et TPH\* mais peu de composés de type AH\*. L'analyse de taille révèle que cette portion de MO est surtout constituée de composés inférieurs à 3KDa mais des composés de hauts poids moléculaires apparents sont toujours quelque peu présents. En outre, il semble que la MO réfractaire aux traitements soit au contraire plutôt biodégradable et même assimilable.

Les fractions HPO\* et HPI\* jouent encore un rôle important dans le comportement de la MO du lixiviat de Crézin. Les composés HPO réagissent vraisemblablement à l'oxydation par leur transformation en partie en composés de type HPI\*. En revanche la fraction HPI\* préalablement définie comme réfractaire à la biodégradation peut être également définie comme réfractaire aux traitements. Par conséquent, la dynamique de ces deux fractions semble probablement être l'élément primordial gouvernant le comportement et le devenir de la MO.

---

## **Conclusion**

---

---

## Conclusion

L'étude de la Matière Organique (MO) du lixiviat issu de la décharge d'Ordures Ménagères de Crézin le classe en « début de phase d'humification » en raison notamment de la répartition de ses substances de type humique et non humique. La comparaison de la répartition de ses molécules organiques avec divers milieux naturels terrestres et aquatiques montre une similitude plus marquée avec des milieux aquatiques anaérobies sans apport de matière fraîche. La MO du lixiviat se constituerait d'éléments moins renouvelés que l'humus des sols et probablement très altérés.

Les données de l'analyse structurale montrent que la matière organique du lixiviat pourrait être présentée comme le mélange d'éléments de trois contributions distinctes : une contribution allochtone soulignant l'origine des structures végétales fortement dégradées avec essentiellement la présence de dérivés ligneux, une contribution anthropique avec la présence de plusieurs composés assimilables à des matières plastiques fortement dégradées ou à des xénobiotiques, et une contribution autochtone avec la présence d'éléments liés au cycle de vie des microorganismes de la décharge et non plus au résultat de leur activité (dégradation). De plus, la distribution de ces trois apports dans diverses fractions du lixiviat semble indiquer que leur combinaison ne s'arrête pas à une association, mais va jusqu'à une interconnexion. On peut par conséquent supposer que la genèse de la MO sous les conditions particulières d'une décharge conduit à un assemblage différent des composés organiques et donc à une humification qui lui est propre et qui est différente de celle des milieux naturels.

Ainsi, la MO carbonée du lixiviat serait dominée par la fraction HPO\* attribuable à un apport allochtone (résidus végétaux et déchets anthropiques à base végétale) associée à une contribution d'origine indigène (activité bactérienne) et anthropique par les fractions HPI\* et TPH\*. La fraction hydrophobe (HPO\*) du lixiviat présenterait une grande biodégradabilité somme toute atypique par rapport à des milieux naturels mais en adéquation avec sa bonne oxydabilité chimique alors que la faible biodégradabilité de la fraction HPI\* trouverait une explication dans le confinement d'une décharge conduisant à l'épuisement des composés simples au cours du temps ou bien qui pourrait s'expliquer par un effet de toxicité.

Le fractionnement de la MO azotée met également en évidence une particularité. La MO azotée se situe principalement dans la fraction HPI\* associée à la dynamique bactérienne de la décharge mais présentant la plus faible oxydabilité. Alors que le carbone se situerait vraisemblablement dans des structures oxydables, l'azote organique serait localisé dans des structures relativement réfractaires ou inertes à l'oxydation, à savoir des structures complexes à oxyder ou déjà oxydées. L'intense activité bactérienne induirait alors un cycle de l'azote interne à la décharge conduisant à la genèse d'azote réfractaire suite à des phénomènes de lyses et recroissances successives au sein d'une décharge confinée.

La faible biodégradabilité du lixiviat et notamment de ses constituants les plus hydrophiles et les plus azotés expliquerait l'inefficacité des traitements biologiques sur des lixiviats stabilisés. La présence d'éléments toxiques pourrait être aussi mise en cause. L'efficacité moyenne des traitements par coagulation (environ 40% d'élimination du COD et 47% de la DCO) s'expliquerait par la faible réactivité des fractions HPI\* et TPH\* mais aussi de la fraction HPO\*. Les éléments récalcitrants à ces traitements correspondraient à des composés de faible taille (inférieurs à 3KDa) et plutôt biodégradables.

Cependant, afin de valider les hypothèses et d'affiner les remarques, il serait nécessaire de comparer ces résultats à d'autres lixiviats en étudiant des lixiviats de caractéristiques très différentes (états de stabilisation, âges, ...) et d'appliquer d'autres techniques analytiques (comme par exemple la photo induction) pour mieux définir les mécanismes qui conduisent à la formation de la MO d'un lixiviat.

## **Références Bibliographiques**

---

## Références Bibliographiques

- Adam G., Porzel A., Schmidt J., Schneider B. & Voigt B. (1996).** New developments in brassinosteroid research. In : *Studies in natural products chemistry*. Rahman A. (Ed) Elsevier, New York.
- ADEME (2000).** In : *Déchets municipaux*. ADEME (Ed), 2<sup>ème</sup> édition, Paris, 11 p.
- Agren S. (2002).** The possible similarity between organic substances in leachates and forest waters. In : *Proceeding of Kalmar Eco-Tech 01, Leachate and wastewater treatment with high-tech and natural systems*. Hogland W. (Ed), 26-28 November 2001, Kalmar, Sweden.
- Aguer J.P. & Richard C. (2001).** Propriétés photoinductrices des substances humiques - Influence du fractionnement par couplage SEC-PAGE. In : *Proceeding 4<sup>ème</sup> colloque de l'IHSS France. Rôle et comportement des matières organiques dans l'environnement*. Nov. 21-22.
- Aiken G.R. (1992).** Chloride interference in the analysis of dissolved organic carbon by the wet oxidation method. *Environ. Sci. Technol.*, 26(12), 2435-2439.
- Aiken G.R., McKnight D.M., Thorn K.A. & Thurman E.M. (1992).** Isolation of hydrophilic organic acids from water using non-ionic macroporous resins. *Org. Geochem.*, 18, 567-573.
- Aiken G.R. & Leenheer J. (1993).** Isolation and chemical characterization of dissolved and colloidal organic matter. *Chem. Ecol.*, 8, 135-151.
- Aiken G.R., Kaplan L.A. & Weishaar J. (2002).** Assessment of the relative accuracy in the determination of organic matter concentrations in aquatic systems. *J. Environ. Monit.*, 4, 70-74.
- Ait Akbour R., Douch J., Hamdani M. & Schmitz P. (2002).** Effet de l'agrégation sur le transport de la kaolinite recouverte d'acide humique à travers un sable de quartz d'origine naturelle. *Géoscience*, 334, 981-985.
- Akitt J.W. & Farthing A. (1978).** New <sup>27</sup>Al-NMR studies of the hydrolysis of the aluminium cation. *J. Magnet. Reson.*, 32, 345-352.
- Albertsson A.C., Barenstedt C. & Karklson S. (1995).** Solid phase extraction and gas chromatographic-mass spectrometric identification of degradation products from enhanced environmentally degradable polyethylene. *J. Chromatogr. A*, 690(2), 207-217.
- Ali A. & Rumeau M. (1994).** Potabilisation des eaux par procédé électromembranaire. In : *Proceeding du colloque Hydrotop "Mieux gérer l'eau"*. 12-15 avril.
- Almendros G. & Sanz J. (1991).** Structural study on the soil humin fraction - Boron trifluoride-methanol transesterification of soil humin preparations. *Soil Biol. Biochem.*, 23, 1147-1154.
- Almendros G., Guadalix M.E., Gonzalez-Villa F.J. & Martin F. (1996).** Preservation of aliphatic macromolecules in soil humin. *Org. Geochem.*, 24(6-7), 651-659
- Almendros G., Dorado J., González-Vila F.J., Blanco M.J. & Lankes U. (2000).** <sup>13</sup>C NMR assessment of decomposition patterns during composting of forest and shrub biomass. *Soil Biol. Biochem.*, 32(6), 793-804.
- Amann R.I., Ludwig W. & Schleifer K.H. (1995).** Phylogenetic identification and in situ detection of individual microbial cells without cultivation. *Microbiol. Rev.*, 59, 143-149.
- Amirtharajah A. (1988).** Some theoretical views of filtration. *J. Am. Water Works Ass.*, 146, 36-46.
- Amokrane A., Comel C. & Veron J. (1997).** Landfill leachates pre-treatment by coagulation-flocculation. *Wat. Res.*, 31(11), 2775-2782.
- Amon R.M.W. & Benner R. (1996).** Bacterial utilization of different size classes of dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, 41(1), 41-51.
- Amon R.M.W., Fitznar H.P. & Benner R. (2001).** Linkages among the bioreactivity, chemical composition, and diagenetic state of marine dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, 46, 287-297.
- Andersson S. & Nilsson S.I. (2001).** Influence of pH and temperature on microbial activity, substrate availability of soil-solution bacteria and leaching of dissolved organic carbon in a mor humus. *Soil Biol. Biochem.*, 33, 1181-1191.

- Andreottola G. & Cannas P. (1992).** Chemical and biological characteristics of landfill leachate. In : *Landfilling of waste : leachate*. Christensen T.H., Cossu R. & Stegmann R. (Eds). Spon E. & Spon F.N., London, 65–88.
- Argyropoulos D.S. & Menachem S.B. (1997).** Lignin. In : *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. Eriksson K-E.L. (Ed). Springer-Verlag, Germany.
- Arheimer B., Andersson L. & Lepisto A. (1996).** Variation of nitrogen concentration in forest streams - Influences of flow, seasonality and catchment characteristics. *J. Hydrol.*, 179, 281-304.
- Artinger R., Buckau G., Geyer S., Fritz P., Wolf M. & Kim J. (2000).** Characterization of groundwater humic substances: influence of sedimentary organic carbon. *Appl. Geochem.*, 15, 97-116.
- Artiola-Fortuny J. & Fuller W. (1982).** Humic substances in landfill leachates - Humic acid extraction and identification. *J. Environ. Qual.*, 11, 663-668.
- Ash M. & Ash I. (1995).** In : *Handbook of plastic and rubber additives*. Gower (Ed), Hampshire, UK.
- Aulin C., Bozkurt S., Moreno L. & Neretnieks I. (1997).** The influence of humic substances on the long term mobility of toxic metals. In : *Proceeding of Sardinia 97*, 6th International Landfill Symposium. Christensen T.H., Cossu R., Stegmann R. (Eds). Pula. Sardinia.
- Badr E.S.A., Achterberg E.P., Tappin A.D., Hill S.J. & Braungardt C.B. (2003).** Determination of dissolved organic nitrogen in natural waters using high-temperature catalytic oxidation. *Trac-Trend Anal. Chem.*, 22(11), 819-827.
- Bagnara C., Toci R., Gaudin C. & Belaich J.P. (1985).** Isolation and characterization of a cellulolytic microorganism, *Cellulomonas fermentans sp. nov.*. *Int. J. Syst. Bact.*, 35, 502-507.
- Balard H., Saada A., Papirer E. & Siffert B. (1997).** Energetic surface heterogeneity of illites and kaolinites. *Langmuir*, 13, 1256-1259.
- Bannoud A.H. (1991).** Etude de l'élimination électrochimique de l'hydrogénocarbonate de calcium contenu dans les eaux - Mise au point d'un adoucisseur par électrodialyse-électrolyse. Thèse de doctorat - Université de Montpellier II.
- Barlaz M.A., Ham R.K. & Schaefer D.M. (1990).** Methane production from municipal Refuse : A review of enhancement techniques and microbial dynamics. *CRC Crit. Rev. Environ. Control*, 19(6), 557-584.
- Barlaz M.A. (1997).** Microbial studies of landfill and anaerobic refuse decomposition. In *Manual of environmental microbiology*. Hurst C.J., Knudsen G.R., McInerney M.J. & Stetzenbach L.D. (Eds), Washington DC, 541-557.
- Barlaz M.A., Rooker A.P., Kjeldsen P., Gabr M. A. & Borden R.C. (2002).** Critical evaluation of factors required to terminate the postclosure monitoring period at solid waste landfills (Policy Analysis ). *Environ. Sci. Technol.*, 36(16), 3457-3464.
- Barrett J.G. & Scott I.R. (1983).** Pyrrolidone carboxylic acid synthesis in guinea pig epidermis. *J. Invest. Dermatol.*, 81, 122-124.
- Barry R. C. & Kim M. (2000).** Using landfill gas to study solid waste microbial communities. In : *100th General Meeting of the American Society for Microbiology*. American Society for Microbiology, Washington, D.C.
- Bauer M.J. & Herrmann R. (1997).** Estimation of the environmental contamination by phthalic acid esters leaching from household wastes. *Sci. Total Environ.*, 208(1-2), 49-57.
- Bauer M.J., Herrmann R., Martin A. & Zellmann H. (1998).** Chemodynamics, transport, behaviour and treatment of phthalic acid esters in municipal landfill leachate. *Water Sci. Technol.*, 38(2), 185-192.
- Baun D.L. & Christensen T.H. (2004).** Speciation of heavy metals in landfill leachate : a review. *Waste Manage. Res.*, 22, 3-23.
- Bayona J.M., Fernandez P. & Albaiges J. (1993).** Oxy-substituted PAHs in urban atmospheric particulates and coastal marine sediments. In : *Polycyclic aromatic compounds*. Garrigues P. & Lamothe M. (Eds). Gordon & Breach, Paris, 371-378.
- Bayramoglu M., Kobya M., Can O.T. & Sozbir M. (2004).** Operating cost analysis of electrocoagulation of textile dye wastewater. *Sep. Purif. Technol.*, 37(2), 117-125.
- Bersillon J.L., Hsu P.H. & Fiessinger F. (1980).** Characterization of hydroxo-aluminium solutions. *J. Soil Sci. Soc. Amer.*, 44, 630-637.

- Bi S., Wang C., Cao Q. & Zhang C. (2004).** Studies on the mechanism of hydrolysis and polymerisation of aluminium salts in aqueous solution : correlations between the « core-links » model and the « cage-like » Keggin- $\text{Al}_{13}$  model. *Coordin. Chem. Rev.*, 248(5-6), 441-455.
- Bichet-Hébé I. (1998).** Caractérisation microbiologique et physico-chimique de déchets ménagers en centre d'enfouissement technique. Thèse de doctorat - Université d'Angers.
- Bizzari S.N., Jaeckel M. & Yoshida Y. (1996).** Plasticizers.576, CEH marketing research report.
- Blakey N., Cossu R., Maris P. & Mosey F. (1992).** Anaerobic lagoons and UASB reactors : Laboratory experiments. In : *Landfilling of waste : leachate*. Christensen T.H., Cossu R., Stegmann R. (Eds), Elsevier Applied Science Publisher, Amsterdam, 245-263.
- Blanchette R.A. (1995).** Degradation of lignocellulose complex in wood. *Can. J. Bot.*, 73, S999-S1010.
- Block J.C., Mathieu L., Servais P., Fontvieille D. & Werner P. (1992).** Indigenous bacterial inocula for measuring the biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) in waters. *Wat. Res.*, 26, 481-486.
- Boissier J.M. & Fontvieille D. (1993).** Biodegradable dissolved organic carbon in seepage waters from two forest soils. *Soil Biol. Biochem.*, 25, 1257-1261.
- Boni M.R. & Musmeci L. (1998).** Organic fraction of municipal solid waste (OFMSW) extend of biodegradation. *Waste Manage. Res.*, 16(2), 103-107.
- Bouras O. (2003).** Propriétés adsorbantes d'argiles pontées organophiles : Synthèse et caractérisation. Thèse de doctorat - Université de Limoges.
- Boutrup S., Erichsen P.C., Wiggers L. & Jensen C.A. (1998).** Investigations on xenobiotics from wastewater into environmental circulation in Aarhus county. Denmark Environmental Division report.
- Boyer J.N. & Groffman P.M. (1996).** Bioavailability of water extractable organic carbon fractions in forest and agricultural soil profiles. *Soil Biol. Biochem.*, 28, 783-790.
- Bozkurt S., Moreno L. & Neretnieks I. (2000).** Long-term processes in waste deposits. *Sci. Total Environ.*, 250, 101-121.
- Bozkurt S., Lucisano M., Moreno L. & Neretnieks I. (2001).** Peat as a potential analogue for the long-term evolution in landfills. *Earth-Sci. Rev.*, 53, 95-147.
- Brett C.M.A. & Brett A.M.O. (1993).** In : *Electrochemistry : principles, methods and applications*. Oxford Science publications, 427 p.
- Brillas E., Sauleda R. & Casado J. (1998).** Degradation of 4-chlorophenol by anodic oxidation, electro-Fenton, photoelectro-Fenton and peroxi-coagulation processes. *J. Electrochem. Soc.*, 145(3), 759-765.
- Brizard Y. (2001).** L'électrocoagulation appliquée à la production d'eau potable au moyen d'électrodes de fer. Thèse de doctorat - Université de Limoges.
- Brosset C. (1952).** *Acta Chem. Scand.*, 6, 910.
- Bruchet A., Rousseau C. & Mallevalle J. (1990).** Pyrolysis-GC-MS for investigating high-molecular weight THM precursors and other refractory organics. *J. Am. Water Works Ass.*, 82(9), 66-74.
- Brunow G. (2001).** Methods to reveal the structure of lignin. In : *Biopolymers vol 1- Lignin, humic substances and coal*. Hofrichter M. & Steinbüchel A. (Eds). Wiley-VCH, Germany, 89-116.
- Budge S. & Parrish C.C. (1998).** Lipid biogeochemistry of plankton, settling matter and sediments in Trinity bay, Newfoundland II. *Org. Geochem.*, 29(5-7), 1547-1559.
- Buffle J., Wilkinson K.J., Stoll S., Filella M. & Zhang J. (1998).** A generalised description of aquatic colloidal interactions : the three-colloidal component approach. *Environ. Sci. Technol.*, 32(19), 2887-2899.
- Burdige D.J. & Gardner K.G. (1998).** Molecular weight distribution of dissolved organic carbon in marine sediment pore waters. *Mar. Chem.*, 62, 45-64.
- Burgos W.D., Berry D.F., Bhandari A. & Novak J.T. (1999).** Impact of soil-chemical interactions on the bioavailability of naphthalene and 1-naphthol. *Wat. Res.*, 33(18), 3789-3795.
- Cai Y.Q., Jiang G.B., Liu J.F. & Zhou Q.X. (2003).** Multi-walled carbon nanotubes packed cartridge for the solid-phase extraction of several phthalate esters from water samples and their determination by high performance liquid chromatography. *Anal. Chim. Acta.*, 494, 149-156.
- Calace N. & Petronio B.M. (1997).** Characterization of high molecular weight organic compounds in landfill leachate : humic substances. *J. Environ. Sci. Health*, A32(8), 2229-2244.

- Calace N., Liberatori A., Petronio B.M. & Pietroletti M. (2001).** Characteristics of different molecular weight fractions of organic matter in landfill leachate and their role in soil sorption of heavy metals. *Environ. Pollut.*, 113, 331-339.
- Canuel E.A. & Martens C.S. (1993).** Seasonal variation in the sources and alteration of organic matter associated with recently-deposited sediments. *Org. Geochem.*, 20(5), 563-577.
- Caraco N.F. & Cole J.J. (2003).** The importance of organic nitrogen production in aquatic systems : a landscape perspective. In : *Dissolved organic matter in aquatic ecosystems*. Findlay S. & Sinsabaugh R. (Eds), Academic press, 263-283.
- Castagnoli O., Musmeci L., Zavattiero E. & Chirico M. (1990).** Humic substances and humification rate in a municipal refuse disposed of in a landfill. *Water Air Soil Poll.*, 53, 1-12.
- Cathalifaud G., Waïs Mossa M.T. & Mazet M. (1993).** Preformed ferric hydroxide flocs as adsorbents of humic substances. *Environ. Sci. Tech.*, 27(11), 55-60.
- Catonné J.C. (1996).** Traitements de surface par voie humide : introduction. *Techniques de l'Ingénieur*, M 1428, 1-16.
- Ceballero S. (2001).** Essais de traitement d'un lixiviat stabilisé de décharge d'ordures ménagères par électrocoagulation. Etude du comportement de la matière organique. Rapport de DEA - Université de Limoges.
- Challinor J.M. (1995).** Characterisation of wood by pyrolysis derivatisation-gas chromatography/mass spectrometry. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 35, 93-107.
- Challinor J.M. (1996).** A rapid simple pyrolysis derivatisation gas chromatography-mass spectrometry method for profiling of fatty acids in trace quantities of lipids. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 37, 185-197.
- Charnock C. & Kjonno O. (2000).** Assimilable organic carbon and biodegradable dissolved organic carbon in Norwegian raw and drinking waters. *Wat. Res.*, 34(10), 2629-2642.
- Chefetz B., Chen Y., Clapp C.E. & Hatcher P.G. (2000).** Characterisation of organic matter in soils by thermochemolysis using tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 64, 583-589.
- Chefetz B., Tarchitzky J., Deshmukh A.P., Hatcher P.G. & Chen Y. (2002).** Structural characterisation of soil organic matter and humic acids in particle-size fractions of an agricultural soil. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 66, 129-141.
- Chen G. (2004).** Electrochemical technologies in wastewater treatment. *Sep. Purif. Technol.*, 38(1), 11-41.
- Chen X., Chen G. & Yue P.L. (2000a).** Electrocoagulation and electroflotation of restaurant wastewater restaurant wastewater. *J. Environ. Eng-ASCE*, 126(9), 858-863.
- Chen X., Chen G. & Yue P.L. (2000b).** Separation of pollutants from restaurant wastewater by electrocoagulation. *Sep. Purif. Technol.*, 19, 65-76.
- Cheshire M.V., Tussell J.D., Fraser A.R., Bracewell J.M., Robertson G.W., Benzing-Rurdie, L.M., Ratcliffe C.I., Ripmeester J.A. & Goodman B.A. (1992).** Nature of soil carbohydrate and its association with soil humic substances. *J. Soil Sci.*, 43, 359-373.
- Chian E.S.K. & DeWalle F.B. (1976).** Sanitary landfill leachates and their treatment. *Journal of the Environmental Engineering Division*, 102 (EE2), 411-431.
- Chiang L-C., Chang J-E. & Wen T-C. (1995).** Indirect oxidation effect in electrochemical oxidation treatment of landfill leachate. *Wat. Res.*, 29(2), 671-678.
- Chin Y.P., Aiken G. & O'Loughlin E. (1994).** Molecular weight, polydispersity and spectroscopic properties of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 28(11), 1853-1858.
- Chow C.W.K., van Leeuwen J.A., Drikas M., Fabris R., Spark K.M. & Page D.W. (1999).** The impact of the character of natural organic matter in conventional treatment with alum. *Water Sci. Technol.*, 40(9), 97-104.
- Christ M.J. & David M.B. (1996).** Dynamics of extractable organic carbon in Spodosol forest floors. *Soil Biol. Biochem.*, 28(9), 1171-1179.
- Christensen J.B., Jensen D.L., Gron C., Filip Z. & Christensen T.H. (1998).** Characterization of the dissolved organic carbon in landfill leachate-polluted groundwater. *Wat. Res.*, 32(1), 125-135.
- Christensen T.H., Kjeldsen P., Bjerg P.L., Jensen D.L., Christensen J.B., Baun A., Albrechtsen H-J. & Heron G. (2001).** Biogeochemistry of landfill leachate plumes. *Appl. Geochem.*, 16(7-8), 659-718.

- CIDAD (Consize International Chemical Assessment Document) (2003).** Diethyl phthalate. *Report of the World Health Organization*, N 52.
- Ciorba G.A., Radovan C., Vlaicu I. & Pitulice L. (2000).** Correlation between organic component and electrode material: consequences on removal of surfactants from wastewater. *Electrochim. Acta*, 46(2-3), 297-303.
- CIR (Cosmetic Ingredient Reviews Committee) (1985).** Final report on the safety assessment of dibutyl phtalate and diethyl phtalate. *J. Am. Coll. Tox.*, 4, 267-303.
- Clair T.A., Kramer J.R., Sydor M. & Eaton D. (1991).** Concentration of aquatic dissolved organic matter by reverse osmosis. *Wat. Res.*, 25(9), 1033-1037.
- Claus H., Filip Z. & Alberts J.J. (1997).** Microbial utilization and transformation of riverine humic substances. In : *The role of humic substances in the ecosystems and in environmental protection*. Drozd J., Gonet S.S., Senesi N. & Weber J. (Eds). Proceeding of the 8th Meeting Int. Humic Substances Society, Wroclaw, Poland, 561-566.
- Claus H. & Filip Z. (1998).** Degradation and transformation of aquatic Humic Substances by laccase-producing fungi *Cladosporium cladosporioides* and *Polyporus versicolor*. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 26, 180-185.
- Claus H., Gleixner G. & Filip Z. (1999).** Formation of Humic-like substances in mixed and pure cultures of aquatic microorganisms. *Acta Hydrochim. Hydrobiol.*, 27(4), 200-207.
- Clifford D.J., Carson D.M., McKinney D.E., Bortiatynski J.M. & Hatcher P.G. (1995).** A new rapid technique for the characterisation of lignin in vascular plants : Thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Org. Geochem.*, 23(2), 169-175.
- Clouse S.D. & Sasse J.M. (1998).** Brassinosteroids : essential regulators of plant growth and development. *Annu. Rev. Plant Phys.*, 49, 427-451.
- Coates J.D., Cole K.A., Chakraborty R., O'Connor S.M. & Achenbach L.A. (2002).** Diversity and ubiquity of bacteria capable of utilizing humic substances as electron donors for anaerobic respiration. *Appl. Environ. Microb.*, 68(5), 2445-2452.
- Coble P.G. (1996).** Characterization of marine and terrestrial DOM in seawater rising excitation-emission matrix spectroscopy. *Mar. Chem.*, 51(4), 325-346.
- Coeuret T. & Storck A. (1993).** In : *Eléments de génie électrochimique*. Lavoisier (Ed), 402 p.
- Colin X. (2000).** Modélisation cinétique de la thermo-oxydation de matériaux polymères et composites à hautes performances thermomécaniques. Thèse de doctorat - ENSAM Paris.
- Colombo J.C., Silverberg N. & Gearing J.N. (1997).** Lipid biogeochemistry in the Laurentian Trough - I. Changes in composition of fatty acids, sterols, and aliphatic hydrocarbons in rapid settling particles. *Org. Geochem.*, 25(3-4), 211-225.
- Comninellis C. (1994).** Electrocatalysis in the electrochemical conversion/combustion of organic pollutants for waste water treatment. *Electrochim. Acta*, 39, 1857-1862.
- Connolly J.P., Coffin R.B. & Landeck R.L. (1994).** Modeling carbon utilization by bacteria in natural waters systems. In : *Modelling the metabolic and physiologic and activities of microorganisms*. Hurst C.J. & USEPA (Eds). Wiley and Sons Inc, USA.
- Conte P. & Piccolo A. (1999).** Conformational arrangement of dissolved humic substances. Influence of solution composition on the association of humic molecules. *Env. Sci. Technol.*, 33(10), 1682-1690.
- Cook H.A. (1967).** Microorganisms in household refuse and seepage water from sanitary landfills. *Proc. West Virginia Acad. Sci.*, 39, 107-115.
- Cornell S., Rendell A. & Jickells T. (1995).** Atmospheric inputs of dissolved organic nitrogen to the oceans. *Nature (London)*, 376, 243-246.
- Cossu R., Polcaro A.M., Lavagnolo M.C., Mascia M., Palmas S. & Renoldi F. (1998).** Electrochemical treatment of landfill leachate : Oxidation at Ti/PbO<sub>2</sub> and Ti/SnO<sub>2</sub> anodes. *Environ. Sci. Technol.*, 32(22), 3570-3573.
- Cozzarelli I.M., Sufliata J.M., Ulrich G., Harris S.H., Breit G.N., Christenson S.C. & Norvell J.S. (1997).** Microbial processes and the availability of alternate electron acceptors in an anaerobic landfill-leachate plume. In : Proceeding of *American Geophysical Union, Spring Meeting*, EOS Transactions, May 27-30, 78(17), S127-S138.
- Cranwell P.A. (1976).** Decomposition of aquatic biota and sediment formation : lipid components of two blue-green algae species and of detritus resulting from microbial attack. *Freshwater Biol.*, 6, 481-488.

- Croué J.P. (1987).** Contribution à l'étude de l'oxydation par le chlore et l'ozone d'acides fulviques naturels extraits d'eaux de surfaces. Thèse de doctorat - Université de Poitiers.
- Croué J.P., Martin B., Deguin A. & Legube B. (1993).** Isolation and characterization of dissolved hydrophobic and hydrophilic organic organic substances of a water reservoir. In : *Proceeding of Workshop on NOM in Drinking Water*, Chamonix France, Sept. 19-22, 43-51.
- Croué J.P., Martin-Mousset B., Lefebvre E., Deguin A. & Legube B. (1997).** Impact des traitements de potabilisation sur le CODB et la distribution des substances et non humiques de la matière organique naturelle. *Rev. Sci. Eau*, 10(1), 63-81.
- Croué J.P. (2001).** Les matières organiques naturelles des eaux. *Cours au Diplôme d'Etude Approfondie « Chimie & Microbiologie de l'eau »*. Université de Poitiers
- Croué J.P., Benedetti M.F., Violleau D. & Leenheer J.A. (2003).** Characterization and copper binding of humic and nonhumic organic matter isolated from the South Platte river : Evidence for the presence of nitrogenous binding site. *Environ. Sci. Technol.*, 37(2), 328-336.
- Dallet P., Labat L., Kummer E. & Dubost J.P. (2000).** Determination of urea, allantoin and lysine pyroglutamate in cosmetic samples by hydrophilic interaction chromatography. *J. Chromatogr. B*, 742(2), 447-452.
- Daly K., Sharp R.J. & McCarthy A.J. (2000).** Development of oligonucleotide probes and PCR primers for detecting phylogenetic subgroups of sulphate-reducing bacteria. *Microbiology UK*, 146, 1693-1705.
- Davies G., Fataftah A., Radwan A., Raffauf R.F., Ghabbour E.A. & Jansen S.A. (1997).** Isolation of humic acid from the terrestrial plant *Brugmansia sanguinea*. *Sci. Total Environ.*, 201, 79-87.
- De Clerck E., Vanhoutte T., Hebb T., Geerinck J., Devos J. & De Vos P. (2004).** Isolation, Characterization, and Identification of Bacterial Contaminants in Semifinal Gelatin Extracts. *Appl. Environ. Microbiol.*, 70(6), 3664-3672.
- De Laat J., Merlet N. & Dore M. (1982).** Chlorination of organic compounds: Chlorine demand and reactivity in relationship to the trihalomethane formation. Incidence of ammoniacal nitrogen. *Wat. Res.*, 16(10), 1437-1450.
- De Leeuw J.W. & Largeau C. (1993).** A review of macromolecular organic compounds that comprise living organisms and their role in kerogen, coal and petroleum formation. In : *Organic Geochemistry*. Engel M.H. & Macko S.A. (Eds). Plenum press. New York.
- De Nobili M., Bragato G., Alcaniz J.M., Puigbo A. & Comellas L. (1990).** Characterization of electrophoretic fractions of humic substances with different electrofocusing behaviour. *Soil Sci.*, 150(5), 763-770.
- De Schampelaere K.A.C., Unamuno V.I.R., Tack F.M.G., Vanderdeelen J. & Janssen C.R. (2004).** Reverse osmosis sampling does not affect the protective effect of dissolved organic matter on copper and zinc toxicity to freshwater organisms. *Chemosphere, In Press, Corrected Proof*.
- del Rio J.C., Gonzalez-Vila F.J., Martin F. & Verdejo T. (1994).** Characterisation of humic acids from low-rank coals by <sup>13</sup>C-NMR and pyrolysis-methylation. Formation of benzenecarboxylic acid moieties during the coalification process. *Org. Geochem.*, 22(6), 885-891.
- del Rio J.C., McKinney D.E., Knicker H., Nanny M.A., Minard R.D. & Hatcher P.G. (1998).** Structural characterization of bio- and geo-macromolecules by off-line thermochemolysis with tetramethylammonium hydroxide. *J. Chromatogr. A.*, 823, 433-448.
- Deryaguin B.V. & Landau L.D. (1941).** A theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and so the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes, *Acta Phys-Chim. Sinica*, 14, 633.
- Despic A. & Parkhutik V.P. (1989).** Electrochemistry of aluminium in aqueous solutions and physics of its anodic oxide. In : *Modern aspects of electrochemistry*. Bockris J.O.M., White R.E. & Conway B.E. (Eds), 20, 401-503.
- Diamadopoulos E. (1994).** Characterization and treatment of recirculation-stabilized leachate. *Wat. Res.*, 28(12), 2439-2445.
- Didier-Guerloguet B. & Provost G. (1997).** In : *Etat de l'art des procédés de traitement des lixiviats issus des installations de stockage des déchets*. ADEME (Ed), Paris.
- Dizer H., Fischer B., Sepulveda I., Loffredo E., Senesi N., Santana F. & Hansen P.D. (2002).** Estrogenic effect of leachates and soil extracts from lysimeters spiked with sewage sludge and reference endocrine disrupters. *Environ. Toxicol.*, 17(2), 105-112.

- Duan J. & Gregory J. (2003).** Coagulation by hydrolysing metal salts. *Adv. Colloid Interfac.*, 100-102, 475-502.
- Dugenes S., Comrisson J., Cassabianca H. & Grenier-Loustalot M.F. (1999).** Municipal solid waste incineration bottom ash : Characterization and kinetic studies of organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, 33(7), 1110-1115.
- Easton J. & Jago P. (1993).** The impact of water treatment on AOC removal - Experiences at UK Water Works. In : Proceeding of the *AWWA Water Quality Technol. Conference*, Miami.
- Eckenfelder W.W. Jr. (1982).** Gestion des eaux usées urbaines et industrielles. *Ed. techniques et documentation*, Lavoisier (Eds). Paris 503p.
- Edwards G.A. & Amirtharajah A. (1985).** Removing color caused by humic acids. *J. Am. Water Works Assoc.*, 77, 50-57.
- Ejlertsson J., Johansson E., Karlsson A. & Svensson B.H. (1996a).** Anaerobic degradation of xenobiotics by organisms from municipal solid waste under landfilling conditions. *Antonie van Leeuwenhoek*. 69(1), 67-74.
- Ejlertsson J., Meyerson U. & Svensson B.H. (1996b).** Anaerobic degradation of phthalic acid esters during digestion of municipal solid waste under landfilling conditions. *Biodegradation*, 7, 345-352.
- El-Fadel M., Bou-Zeid E., Chahine W. & Alayli B. (2002).** Temporal variation of leachate quality from pre-sorted and baled municipal solid waste with high organic and moisture content. *Waste Manage.*, 22(3), 269-282.
- El-Shal W., Khordagui H., El-Sebaie O., El-Sharkawi F. & Sedahmed G.H. (1991).** Electrochemical generation of ozone for water treatment using a cell operating under natural convection, *Desalination*, 99, 149-157.
- Elfarissi F. & Pefferkorn E. (2000).** Kaolinite/humic acid interaction in the presence of aluminium ion. *Colloid Surfaces A*, 168, 1-12.
- Environnement Canada (1994a).** Le phtalate de dibutyle. Loi canadienne sur la protection de l'environnement. *Rapport d'évaluation*, EN 40-215/34F, 38 p.
- Environnement Canada (1994b).** Le phtalate de bis(2-éthylhexyle). Loi canadienne sur la protection de l'environnement. *Rapport d'évaluation*, EN 40-215/37F, 52 p.
- Eriksson K.E., Blanchette R.A. & Ander P. (1990).** Microbial degradation of wood and wood Components. Springer-Verlag, Berlin, 407 p.
- Escobar I.C. & Randall A.A. (1999).** Influence of nanofiltration on distribution system biostability. *J. Am. Water Works Assoc.*, 91(6), 76-89.
- Escobar I.C. & Randall A.A. (2001).** Assimilable organic carbon (AOC) and biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) complementary measurements. *Wat Res.*, 35(18), 4444-4454.
- Escobar I.C., Randall A.A. & Taylor J.S. (2001).** Bacterial growth in distribution systems : Effect of assimilable organic carbon and biodegradable dissolved organic carbon. *Environ. Sci. Technol.*, 35, 3442-3447.
- Espadaler I., Caixach J., Om J., Ventura F., Cortina M., Pauné F. & Rivera J. (1997).** Identification of organic pollutants in Ter river and its system of reservoirs supplying water to Barcelona (Catalonia, Spain) : A study by GC/MS and FAB/MS. *Wat. Res.*, 31(8), 1996-2004.
- Etchebehere C., Errazquin M.I., Dabert P. & Muxi L. (2002).** Community analysis of a denitrifying reactor treating landfill leachate. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 40, 97-106.
- Evans E.J., Batts B.D., Cant N.W. & Smith J.W. (1985).** The origin and significance of nitriles in shale oil. *Org. Geochem.*, 8, 367-374.
- Fabbri D. & Helleur R. (1999).** Characterisation of tetramethylammonium hydroxide thermochemolysis products of carbohydrates. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 49, 277-293.
- Farnworth J.J. (1995).** IHSS Newsletter, 13, 8.
- Fási A., Pálinkó I., Gömöry Á. & Kiricsi I. (2004).** Ring opening, dimerisation and oligomerisation reactions of methyloxirane on solid acid and base catalysts. *J. Mol. Catal. A-Chem.*, 208(1-2), 307-311.
- Fengel D. & Wegener G. (1989).** In : *Wood: chemistry, ultra structure, reactions*. De Gruyter W. (Ed), New York. 613 p.
- Ferrari S., Belevi H. & Baccini P. (2002).** Chemical speciation of carbon in municipal solid waste incinerator residue. *Waste Manage.*, 22(3), 303-314.

- Filip Z. & Alberts J.J. (1994).** Microbial utilization resulting in early diagenesis of salt-marsh humic acids. *J. Sci. Total Environ.*, 144, 121-135.
- Filip Z., Pecher W. & Berthelin J. (2000).** Microbial utilization and transformation of humic acid-like substances extracted from a mixture of municipal refuse and sewage sludge disposed of in a landfill. *Environ. Pollut.*, 109, 83-89.
- Förstner U. & Wittmann G.T.W. (1981).** In : *Metal pollution in the aquatic environment*. Springer-Verlag, Berlin.
- François V. (2004).** Détermination d'indicateurs d'accélération et de stabilisation de déchets ménagers enfouis. Etude de l'impact de la recirculation de lixiviats sur colonnes de déchets. Thèse de doctorat - Université de Limoges.
- Frimmel F.H. & Weis M. (1991).** Ageing effects of high molecular weight organic acids which can be isolated from landfill leachates. *Water Sci. Technol.*, 23, 419-426.
- Fromme H., Küchler T., Otto T., Pilz K., Müller J. & Wenzel A. (2002).** Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Wat. Res.*, 36(6), 1429-1438.
- Fujioka S. & Sakurai A. (1997).** Brassinosteroids. *Nat. Prod. Rep.*, 14, 1-10.
- Ge J., Qu J., Lei P. & Liu H. (2004).** New bipolar electrocoagulation-electroflotation process for the treatment of laundry wastewater. *Sep. Purif. Technol.*, 36(1), 33-39.
- Geller A. (1986).** Comparison of mechanisms enhancing biodegradability of refractory lake water constituents. *Limnol. Oceanogr.*, 31, 755-764.
- Gendebien A., Pauwels M., Constant M., Ledrut-Damanet M-J., Nyns E.J., Willumsen H-C., Butson J., Fabry R. & Ferrero G-L. (1992).** Landfill gas. From environment to energy. *Report by Commission of the European Communities*. 865 p.
- Gilbert E. (1988).** Biodegradability of ozonation products as a function of COD and DOC elimination by the example of humic acids. *Wat. Res.*, 22, 123-126.
- Gimbert L.J., Andrew K.N., Haygarth P.M. & Worsfold P.J. (2003).** Environmental applications of flow field-flow fractionation (FIFFF). *Trac-Trend Anal. Chem.*, 22(10), 615-633.
- Goins K.M., Frazier S., Kim S., Hatcher P.G., Cannon F.S., Casale R.J. (2002).** The use of Tetramethylammonium Hydroxide (TMAH)-Thermochemolysis to characterize and monitor NOM removal during water treatment. In : *Proceedings of the AWWA Annual Conference and Exposition*.
- Golchin A., Oades J.M., Skjemstad J.O. & Clarke P. (1994).** Soil structure and carbon cycling. *Aust. J. Soil Res.*, 32, 1043-1068.
- Gonzalez-Vila F.J., Saiz-Jimenez C. & Martin F. (1982).** Identification of free organic-chemicals found in composted municipal refuse. *J. Environ. Qual.*, 11(2), 251-254.
- Goossens H., Duren R.R., de Leeuw J.W. & Schenck P.A. (1989).** Lipids and their mode of occurrence in bacteria and sediments - II. Lipids in sediment of a stratified, freshwater lake. *Org. Geochem.*, 14(1), 27-41.
- Gorham E. (1991).** Northern peatlands : role in the carbon cycle and probable responses to climatic warming. *Ecol. Appl.*, 1(2), 182-195.
- Grasset L. (1997).** Etude de l'humine et des acides humiques des sols : Importance de la composante lipidique. Thèse de doctorat - Université de Poitiers.
- Grasset L. & Ambles A. (1998).** Structure of humin and humic acid from an acid soil as revealed by phase transfer catalysed hydrolysis. *Org. Geochem.*, 29(4), 881-891.
- Grasset L., Guignard C. & Ambles A. (2002).** Free and esterified aliphatic carboxylic acids in humin and humic acids from a peat sample as revealed by pyrolysis with tetramethylammonium hydroxide or tetramethylammonium acetate. *Org. Geochem.*, 33(3), 181-188.
- Gray K.A., O'Melia C.R. & Yao C.H. (1995).** Inorganic metal polymers : A comparison of aluminium and iron(III) polymers for water treatment. I. Preparation and characterization of polymers. *J. Am. Water Works Assoc.*, 87(4), 136-146.
- Gregor J.E., Nokes C.J. & Fenton E. (1997).** Optimising natural organic matter removal from low turbidity waters by controlled pH adjustment of aluminium coagulation. *Wat. Res.*, 31(12), 2949-2958.
- Gron C., Wassenaar L. & Krog M. (1996).** Origin and structures of groundwater humic substances from three Danish aquifers, *Environ. Int.*, 22(5), 519-534.
- Groterud O. & Smoczyński L. (1986).** Phosphorus removal from water by means of electrolysis. *Wat. Res.*, 20(5), 667-669.

- Grundl T.J. & Cherkauer D.S. (2003).** The effects of complex mixtures of chemicals in leachate on the transport of pollutant in groundwater. *Wisconsin Groundwater Research Project Summary*. No. GCC-UWS-04.
- Guinebretière M-H., Berge O., Normand P., Morris C., Carlin F. & Nguyen-The C. (2001).** Identification of bacteria in pasteurized zucchini purees stored at different temperatures and comparison with those found in other pasteurized vegetable purees. *Appl. Environ. Microbiol.*, 67(10), 4520-4530.
- Gurses A., Yalcin M., Dogan C. (2002).** Electrocoagulation of some reactive dyes: a statistical investigation of some electrochemical variables. *Waste Manage.*, 22(5), 491-499.
- Hagedorn F. & Schleppi P. (2000).** Determination of total dissolved nitrogen by persulfate oxidation. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 163, 81-82.
- Haider K. (1994).** Advances in the basic research of the biochemistry of humic substances. In : *Humic substances in the global environment and implications on human health*. Senesi N. & Miano T.M. (Eds), Elsevier Science BV, Amsterdam, 91-107.
- Hale Boothe D.D., Smith M.C., Gattie D.K. & Das K.C. (2001).** Characterization of microbial populations in landfill leachate and bulk samples during aerobic bioreduction. *Advances in Environmental Research*, 5, 285-294.
- Hansch C., Leo A. & Hoekman D. (1995).** In : *Exploring QSAR - hydrophobic, electronic, and steric constants*. American Chemical Society, Washington DC. 101 p.
- Harmsen J. (1983).** Identification of organic compounds in leachate from a waste tip. *Wat. Res.*, 17(6), 699-705.
- Harvey R.W., Suflita J.M. & McInerney M.J. (1997).** Overview of issues in subsurface and landfill microbiology. In : *Manual of environmental microbiology*. Hurst C.J., Knudsen G.R., McInerney M.J., Stetzenbach L.D. & Walter M.V. (Eds). Washington DC. 523-525.
- Hatcher P.G., Spiker E.C., Szeverenyi N.M. & Maciel N.M. (1983).** Selective preservation and origin of petroleum-forming aquatic kerogen. *Nature (London)*, 305, 498-501.
- Hatcher P.G. & Spiker E.C. (1988).** Selective degradation of plant biomolecules. In : *Humic Substances and their role in the environment*. Frimmel F.H. & Christman R.F. (Eds), John Wiley & Sons, New York, 59-74.
- Hatcher P.G. & Clifford D.J. (1994).** Flash pyrolysis and in situ methylation of humic acids from soil. *Org. Geochem.*, 21(10-11), 1081-1092.
- Hatcher P.G. & Minard R.D. (1996).** Comparison of dehydrogenase polymer (DHP) lignin with native lignin from gymnosperm wood by thermochemolysis using tetramethylammonium hydroxide (TMAH). *Org. Geochem.*, 24(6-7), 593-600.
- Hatfield R.D. (1989).** Structural polysaccharides in forages and their degradability. *Agron. J.*, 81, 39-46.
- Hayes M.H.B. & Malcolm R.L. (2001).** Structures of humic substances. In : *Humic Substances and chemical contaminants*. Clapp C.E., Hayes M.H.B., Senesi N., Bloom P. & Jardine P.M. (Eds). Soil Science of America, Madison, 3-40.
- He T., Quinn D., Fu E. & Wang Y.K. (1999).** Analysis of diagnostic metabolites by capillary electrophoresis-mass spectrometry. *J. Chromatogr. B*, 727(1-2), 43-52.
- Hedges J.I. (1988).** Polymerization of humic substances in natural environments. In : *Humic substances and their role in the environment. Life Sciences Research report 41*. Frimmel F.H. & Christman R.F. (Eds), Wiley interscience, Chichester, 45-58.
- Hedges J.I. (1993).** Comparative analyses of dissolved organic carbon and nitrogen in natural waters. *Mar. Chem.*, 41(1-3), 121-134.
- Heller R., Esnault R. & Lance C. (2000).** In : *Physiologie végétale : Développement*, tome 2. Dunod (Eds). 105 p.
- Hendricker A.D. & Voorhees K.J. (1998).** Amino acid and oligopeptide analysis using Curie-point pyrolysis mass spectrometry with in-situ thermal hydrolysis and methylation : Mechanistic considerations. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 48, 17-33.
- Hendriks H.F., Westrate J.A., van Vliet T. & Meijer G.W. (1999).** Spreads enriched with three different levels of vegetable oil sterols and the degree of cholesterol lowering in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 53, 319-327.

- Hertkorn N., Claus H., Schmitt-Kopplin Ph., Perdue E.M. & Filip Z. (2002). Utilization and transformation of aquatic humic substances by autochthonous microorganisms. *Environ. Sci. Technol.*, 36, 4334-4345.
- Hesse S. & Frimmel F.H. (1999). Biochemical characterization of refractory organic substances. *Acta Hydroch. Hydrob.*, 27(2), 94-97.
- Hiradate S., Nakada T., Shindo H. & Yoneyama T. (2004). Carbon source of humic substances in some Japanese volcanic ash soils determined by carbon stable isotopic ratio  $d^{13}C$ . *Geoderma*, 119, 133-141.
- Hiraide M. & Uchitomi K. (1999). Effective desorption of humic substances from amberlite XAD-2 resin with sodium dodecyl sulphate. *Anal. Sci.*, 15, 1051-1054.
- Hoigné J. (1997). Inter-calibration of OH radical sources and water quality parameters. *Water Sci. Technol.*, 35(4), 1-8.
- Holt P.K., Barton G.W., Wark M. & Mitchell C.A. (2002). A quantitative comparison between chemical dosing and electrocoagulation. *Colloid Surface A*, 211(2-3), 233-248.
- Hongve D. (1999). Production of dissolved organic carbon in forested catchments. *J. Hydrol.*, 224, 91-99.
- Hongve D., van Hees P.A.W. & Lundstrom U.S. (2000). Dissolved components in precipitation water percolated through forest litter. *Eur. J. Soil Sci.*, 51, 667-677.
- Hopkins D.C. & Ducoste J.J. (2003). Characterizing flocculation under heterogeneous turbulence. *J. Colloid Interf. Sci.*, 264(1), 184-194.
- Huang L-N., Zhou H., Chen Y-Q., Luo S., Lan C-Y. & Qu L-H. (2002). Diversity and structure of the archaeal community in the leachate of a full-scale recirculating landfill as examined by direct 16S rRNA gene sequence retrieval. *FEMS Microbiology letters*, 214, 235-240.
- Huck P.M. (1990). Measurement of biodegradable organic matter and bacterial growth in drinking water. *J. Am. Waters Works Assoc.*, 82, 78-86.
- Hufschmid A., Becker-van Slooten K., Strawczynski A., Vioget P., Parra S., Péringer P. & Pulgarin C. (2003). BOD<sub>5</sub> measurements of water presenting inhibitory Cu<sup>2+</sup>. Implications in using of BOD to evaluate biodegradability of industrial wastewaters. *Chemosphere*, 60, 171-176.
- Huizhong M.A., Allen H.E. & Yin Y. (2001). Characterization of isolated fractions of dissolved organic matter from natural waters and a wastewater effluent. *Wat. Res.*, 35(4), 985-996.
- Hunter R.J. (1993). In : *Introduction to modern colloid science*. Oxford University Press, New York.
- Hureiki L., Gauthier C. & Prevost M. (1996). Etude de l'évolution des acides aminés totaux dans deux filières de traitements d'eau potable. *Rev. Sci. Eau*, 3, 297-318.
- Husmark U. & Rönnér U. (1990). Forces involved in adhesion of *Bacillus cereus* spores to solid surfaces under different environmental conditions. *J Appl. Bacteriol.*, 69, 557-562.
- Hussein H., Ibrahim S.F., Kandeel K. & Moawad H. (2004). Biosorption of heavy metals from waste water using *Pseudomonas sp.*. *Electronic Journal of Biotechnology*, 7(1), 38-45.
- Ibanez J.G., Singh M.M. & Szafran Z. (1998). Laboratory experiments on electrochemical remediation of the environment. Part 4 : colour removal of simulated wastewater by electrocoagulation-electroflotation. *J. Chem. Educ.*, 75(8), 1040-1041.
- IHSS (2004). Site web de l'International Humic Substances Society, [www.ihss.gatech.edu](http://www.ihss.gatech.edu)
- Imai A., Fukushima T., Matsushige K., Kim Y-H. & Choi K. (2002). Characterization of dissolved organic matter in effluents from wastewater treatment plants. *Wat. Res.*, 36(4), 859-870.
- Inbar Y., Hadar Y. & Chen Y. (1992). Characterization of humic substances formed during the composting of solid wastes from wineries. *Sci. Total Environ.*, 113, 35- 48.
- Ingerslev F., Baun F. & Nyholm N. (1998). Biodegradation of pentachlorophenol in various shake flask biodegradability test – From screening to simulation level. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17, 1712-1719.
- INRA (1995). In : *Référentiel pédologique*, INRA Editions, 332 p.
- Institut Pasteur (1981). In : *Milieux et réactifs de laboratoire Pasteur*. Institut Pasteur production.
- Ishida Y., Wakamatsu S., Yokoi H., Ohtani H. & Tsuge S. (1999). Compositional analysis of polyunsaturated fatty acid oil by one step thermally assisted hydrolysis and methylation in the presence of trimethylsulfonium hydroxide. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 49, 267-276.
- ISO 10707 (1994). Evaluation in an aqueous medium of the “ultimate” aerobic biodegradability of organic compounds - Method by analysis of biochemical oxygen demand (closed bottle test).

- Jandl R. & Sollins P. (1997).** Water-extractable soil carbon in relation to the below-ground carbon cycle. *Biol. Fertil. Soils*, 25, 196-201.
- Jandl R. & Sletten R.S. (1999).** Mineralisation of forest soil carbon: interactions with metals. *J. Plant Nutr. Soil Sci.*, 162, 623-629.
- Jekel M.R. (1986).** The stabilization of dispersed mineral particles by adsorption of humic substances. *Wat. Res.*, 20(12), 1543-1554.
- Jiang J-Q., Graham N., Andre C., Kelsall G.H. & Brandon N. (2002).** Laboratory study of electro-coagulation-flotation for water treatment. *Wat. Res.*, 36(16), 4064-4078.
- Jiang J.Q. & Cooper C. (2003).** The removal of humic substance with modified clay adsorbents. *Environ. Eng. Sci.*, 20(6), 581-586.
- Jiang J.Q. & Zeng Z. (2003).** Comparison of modified montmorillonite adsorbents. Part II. The effects of the type of raw clays and modification conditions on the adsorption performance. *Chemosphere*, 53, 53-62.
- Johansson G. (1962).** *Acta Chem. Scand.*, 16, 403-420.
- Johansson C., Valarie I., Klavins M., Allard B., Borén H. & Grimvall A. (1994).** The use of a chemical degradation techniques to study lignin-derived phenolic structures in humic matter. In : *Humic substances in the global environment and implication on human health*. Senesi N. & Miano T.D. (Eds), Elsevier, Amsterdam, 167-172.
- Johansson I., Pavasars I., Borén H. & Allard B. (2000).** Analysis of water leachable organic components in incineration residues. *Int. J. Environ. An. Ch.*, 78, 305-313.
- Johansson I. & van Bavel B. (2003).** Levels and patterns of polycyclic aromatic hydrocarbons in incineration ashes. *Sci. Total Environ.*, 311(1-3), 221-231.
- Johnson D.C., Feng J. & Houk L.L. (2000).** Direct electrochemical degradation of organic wastes in aqueous media. *Electrochim. Acta*, 46(2-3), 323-330.
- Jolivet C., Guillet B., Karroum M., Andreux F., Bernoux M. & Arrouays D. (2001).** Les phénols de la lignine et le  $^{13}\text{C}$ , traceurs de l'origine des matières organiques du sol. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la Terre et des planètes*, 333, 651-657.
- Jones D.L. & Edwards A.C. (1998).** Influence of sorption on the biological utilization of two simple carbon substrates. *Soil Biol. Biochem.*, 30, 1895-1902.
- Jonsson S., Ejlertsson J., Ledin A., Mersiowsky I. & Svensson B.H. (2003a).** Mono- and diesters from o-phthalic acid in leachates from different European landfills. *Wat. Res.*, 37(3), 609-617.
- Jonsson S., Ejlertsson J. & Svensson B.H. (2003b).** Transformation of phthalates in young landfill cells. *Waste Manage.*, 23(7), 641-651.
- Joret J.C. & Lévi Y. (1986).** Méthode d'évaluation du carbone éliminable des eaux par voie biologique. *Trib. Cebedeau*, 510(39), 3-9.
- Joret J.C., Lévi Y. & Volk C. (1990).** Biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) content of drinking water and potential regrowth of bacteria. In : *Proceeding of the IAWPRC, International Symposium on Health Related Water Microbiology*. Tubingen.
- Jørgensen N.O.G., Stepanaukas R., Pedersen A-G.U., Hansen M. & Nybroe O. (2003).** Occurrence and degradation of peptidoglycan in aquatic environments. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 46, 269-280.
- Jovancicevic B. Vucelic D., Saban M., Wehner H. & Vitorovic D. (1993).** Investigation of the catalytic effects of indigenous minerals in the pyrolysis of Aleksinac oil shale substrates : Steranes, triterpanes and triaromatic steroids in the pyrolysates. *Org. Geochem.*, 20(1), 69-76.
- Jun-Kai D., Wei J., Tian-Zhu Z., Ming S., Xiao-Guang Y. & Chui-Chang F. (1997).** The effects of isomerization and degradation of polysaturated fatty acids in oils by different volume proportions of TMAH in thermally assisted hydrolysis and methylation. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 42, 1-8.
- Julve P. (1996).** Les tourbières de France : écologie et valeur patrimoniale. *Cahiers Scientifiques et Techniques du réseau Tourbières de France*, 1, 2-7.
- Kalbitz K. & Geyer S. (2002).** Different effects of peat degradation on dissolved organic carbon and nitrogen. *Org. Geochem.*, 33(3), 319-326.
- Kalbitz K., Schmerwitz J., Schwesig D. & Matzner E. (2003).** Biodegradation of soil-derived dissolved organic matter as related to its properties. *Geoderma*, 113, 273-291.
- Kang K-H., Shin H.S. & Park H. (2002).** Characterization of humic substances present in landfill leachates with different landfill ages and its implications. *Wat. Res.*, 36(16), 4023-4032.

- Kaplan L.A. & Bott T.L. (1990).** Nutrients for bacterial growth in drinking water : Bioassay evaluation. *EPA Report No.* EPA/600/S2-89/030.
- Kaplan L.A., Reasoner D.J., Rice E.W. & Bott T.L. (1992).** A survey of assimilable organic carbon, biodegradable organic carbon and coliform growth response in U.S. drinking waters. *Rev. Sci. Eau*, 5, 207-225.
- Kaplan L.A., Bott T.L. & Reasoner D.J. (1993).** Evaluation and simplification of the assimilable organic carbon nutrient bioassay for bacterial growth in drinking water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 1532-1539.
- Karapanagioti H. K., Sabatini D. A., Kleinedam S., Grathwohl P. & Ligouis B. (1999).** Phenanthrene sorption with heterogeneous organic matter in a landfill aquifer material. *Phys.Chem. Earth PT B*, 24(6), 535-541.
- Kästner M. & Hofrichter M. (2001).** Biodegradation of humic substances. In : *Lignin, humic substances and coal. Biopolymers Vol 1.* Hofrichter M. & Steinbüchel A. (Eds), Wiley-VCH, Germany, 349-378.
- Kaushal S.S. & Lewis W.M. Jr. (2003).** Patterns in the chemical fractionation of organic nitrogen in rocky mountain streams. *Ecosystems*, 6, 483-492.
- Kawamura K., Tannenbaum E. & Huizinga B.J. (1986).** Long-chain carboxylic acids in pyrolysates of Green River Kerogen. *Org. Geochem.*, 10, 1059-1065.
- Kennedy M.J., Reader S.L. & Swierczynski L.M. (1994).** Preservation records of micro-organisms: evidence of the tenacity of life. *Microbiology*, 140, 2513-2519.
- Kharlamova T.A. & Gorokhova L.T. (1982).** Water treatment and demineralisation technology : The use of electrocoagulation for the purification of phenol-containing effluents. *Sov. Jour. Water Chem. Technol.*, 4(2), 157-158.
- Kilduff J.E., Mattaraj S., Wigton A., Kitis M. & Karanfil T. (2004).** Effects of reverse osmosis isolation on reactivity of naturally occurring dissolved organic matter in physico-chemical processes. *Wat. Res.*, 38(4), 1026-1036.
- Killops S.D. & Killops V.G. (1993).** Chemical composition of biogenic matter. In : *An introduction to organic geochemistry.* Killops S.D. & Killops V.G. (Eds). Longman Scientific & Technical, Londre.
- Kim C.H. (1995).** Characterization and substrate specificity of an endo- $\beta$ -1,4-D-glucanase I (Avicelase I) from an extracellular multienzyme complex of *Bacillus circulans*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 959-965.
- Kim M. (2003).** The study of landfill microbial communities using landfill gas and landfill gas condensate. Thesis – University of Drexel.
- Kitis M., Kilduff J.E. & Karanfil T. (2001).** Isolation of dissolved organic matter (DOM) from surface waters using reverse osmosis and its impact on the reactivity of DOM to formation and speciation of disinfection by-products. *Wat. Res.*, 35(9), 2225-2234.
- Kjeldsen P., Barlaz M.A., Rooker A.P., Baun A., Ledin A. & Christensen T.H. (2002).** Present and long-term composition of MSW landfill leachate : A review. *Crit. Rev. Env. Sci.Tec.*, 32(4), 297-336.
- Knicker H., Hatcher P.G. & Gonzalez-Vila F.J. (2002).** Formation of heteroaromatic nitrogen after prolonged humification of vascular plant remains as revealed by nuclear magnetic resonance spectroscopy. *J. Environ. Qual.*, 31, 444-449.
- Koby M., Can O.T. & Bayramoglu M. (2003).** Treatment of textile wastewater by electrocoagulation using iron and aluminium electrodes. *J. Hazard. Mater.*, B100, 163-178.
- Kögel-Knabner I., Leeuw J.W., Hatcher P.G. & Leeuw J.W. (1992).** Nature and distribution of alkaly carbon in forest soil profiles: implication for the origin and humification of aliphatic biomacromolecules. *Sci. Total Environ.*, 117/118, 175-185.
- Kögel-Knabner I. (1997).**  $^{13}\text{C}$  and  $^{15}\text{N}$  NMR spectroscopy as a tool in soil organic matter studies. *Geoderma*, 80, 243–270.
- Kögel-Knabner I. (2002).** The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter. *Soil Biol. Biochem.*, 34, 139-162.
- Kolattukudy P.E. (2001).** Polyesters in higher plants. In *Advances in biochemical engineering biotechnology.* Scheper T. (Ed). Springer-Verlag, Berlin. 71, 1–19.

- Kölsch S., Gebhardt S., Terjung F., Liebezeit G., Reuter R. & Brumsack H-J. (2003).** Freshwater discharge into the East Friesian Wadden sea : Geochemistry of humic matter-rich waters. *Berichte - Forschungszentrum Terramare*, 12, 71-74.
- Kononova M.M. & Alexandrova L.V. (1973).** Formation of humic acids during plant residue humification and their nature. *Geoderma*, 9, 157-164.
- Kruempelbeck I. & Ehrig H-J. (1999).** Long term behaviour of municipal solid waste landfills in Germany. In : *Proceeding of Sardinia 99, Seven International Waste Management and landfill Symposium*, 27-35.
- Kuhad R.C., Singh A. & Eriksson K.E. (1997).** Microorganisms and enzymes involved in the degradation of plant fiber cell walls. In : *Advances in Biochemical Engineering / Biotechnology*. Eriksson K.E. (Ed). Springer-Verlag, Germany.
- Kukkonen J., McCarthy J. & Oikari A. (1990).** Effects of XAD-8 fractions of dissolved organic carbon on the sorption and the bioavailability of organic micropollutants. *Arch. Environ. Con. Tox.*, 19, 551-557.
- Kunst F., Ogasawara N., Moszer I., Albertini A.M., Alloni G., Azevedo V., Bertero M.G., Bessières P., Bolotin A., Borchert S., Borriss R., Boursier L., Brans A., Braun M., Brignell S.C., Bron S., Brouillet S., Bruschi C.V., Caldwell B., Capuano V., Carter N.M., Choi S-K., Codani J-J., Connerton I.F., Cummings N.J., Daniel R.A., Denizot F., Devine K.M., Düsterhöft A., Ehrlich S.D., Emmerson P.T., Entian K.D., Errington J., Fabret C., Ferrari E., Foulger D., Fritz C., Fujita M., Fujita Y., Fuma S., Galizzi A., Galleron N., Ghim S-Y., Glaser P., Goffeau A., Golightly E. J., Grandi G., Guiseppi G., Guy B.J., Haga K., Haiech J., Harwood C.R., Hénaut A., Hilbert H., Holsappel S., Hosono S., Hullo M-F., Itaya M., Jones L., Joris B., Karamata D., Kasahara Y., Klaerr-Blanchard M., Klein C., Kobayashi Y., Koetter P., Koningsstein G., Krogh S., Kumano M., Kurita K., Lapidus A., Lardinois S., Lauber J., Lazarevic V., Lee S-M., Levine A., Liu H., Masuda S., Mauël C., Médigue C., Medina N., Mellado R.R., Mizuno M., Moestl D., Nakai S., Noback M., Noone D., O'Reilly M., Ogawa K., Ogiwara A., Oudega B., Park S-H., Parro V., Pohl T.M., Portetelle D., Porwollik S., Prescott A.M., Presecan E., Pujic P., Purnelle B., Rapoport G., Rey M., Reynolds S., Rieger M., Rivolta C., Rocha E., Roche B., Rose M., Sadaie Y., Sato T., Scanlan E., Schleich S., Schroeter R., Scoffone F., Sekiguchi J., Sekowska A., Seror S.J., Serror P., Shin B.S., Soldo B., Sorokin A., Tacconi E., Takagi T., Takahashi H., Takemaru K., Takeuchi M., Tamakoshi A., Tanaka T., Terpstra P., Tognoni A., Tosato V., Uchiyama S., Vandenbol M., Vannier F., Vassarotti A., Viari A., Wambutt R., Wedler E., Wedler H., Weitzenegger T., Winters P., Wipat A., Yamamoto H., Yamane K., Yasumoto K., Yata K., Yoshida K., Yoshikawa H-F., Zumstein E., Yoshikawa H. & Danchin A. (1997).** The genome sequence of the gram positive bacterium *Bacillus subtilis*. *Nature*, 390, 249-256.
- Kuzyakov Y.V. (1996).** Transformation of low-molecular nitrogen-containing compounds in soil. *Eurasian Soil Sci+*, 29(12), 1333-1341.
- Kvenvolden K.A. (1966).** Molecular distribution of normal fatty acids and paraffins in some lower cretaceous sediments. *Nature*, 209, 573-577.
- Kylefors K., Ecke H. & Lagerkvist A. (1999).** Relevancy of discharge limit of COD for landfill leachates. In : *Proceeding of Sardinia 99, 7th International Landfill Symposium*. Christensen T.H., Cossu R., Stegmann R. (Eds). Vol IV.
- Labouyrie-Rouillier L. (1997).** Extraction et caractérisation des matières organiques naturelles dissoutes d'eaux de surface : étude comparative des techniques de filtration membranaire et d'adsorption sur résines macro poreuses non ioniques. Thèse de doctorat - Université de Poitiers.
- Ladapo J.A. & Nwosu V. (1999).** Growth response of landfill bacteria to different concentrations of heavy metals. *J. Environ. Biol.*, 20(1), 1-5.
- Lafever R.E., Vogel B.S. & Croteau R. (1994).** Diterpenoid resin acid biosynthesis in conifers : enzymatic cyclization of geranylgeranyl pyrophosphate to abietadiene, the precursor of abietic acid. *Arch. Biochem. Biophys.*, 313(1), 139-149.
- Lagier T. (2000).** Etude des macromolécules de lixiviat, caractérisation et comportement vis à vis des métaux. Thèse de doctorat - Université de Poitiers.
- Lagier T., Feuillade G. & Matejka G. (2002).** Characterisation and comparison of humic and fulvic like acids extracted from sanitary landfill leachate. Acceptée à Environ. Sci. Pollut. R.

- Lamotte M., Fornier de Violet Ph. & Garrigues Ph.(2000).** Phosphorescence of natural organic matter in relation with conformation and interaction with copper cation. In : Proceeding of the 10<sup>th</sup> Int. Meeting of the IHSS, Toulouse, July 24-28.
- Larsen H.F., Helweg C., Pedersen A.R., Boyd H.B., Lauresen S.E. & Hansen J. (2000).** Kemikalier i tekstiler (Chemicals in textiles). *Miljøprojekt - Danish Environmental Protection Agency*, N° 534.
- Larson R.A. & Weber E.J. (1994).** In : *Reaction mechanisms in environmental organic chemistry*. Lewis (Eds).
- Lassen P. & Carlsen L. (1997).** Solubilization of phenanthrene by humic acids. *Chemosphere*, 34(4), 817-825.
- Launay A. (1997).** Vieillessement hydrolytique du PET. Thèse de doctorat - ENSAM, Paris.
- Launay A., Thominet F. & Verdu J. (1999).** Hydrolysis of poly(ethylene terephthalate) a steric exclusion chromatography study. *Polym. Degrad. Stabil.*, 63, 383-389.
- Law M. (2000).** Plant Sterol and Stanol Margarine and Health. *Brit. Med. J.*, 320, 861-864.
- Lebonte S. (2003).** Méthodes multivariées pour la caractérisation des eaux usées. Thèse de doctorat - Institut National de Polytechnique de Lorraine, Nancy.
- LeChevalier M.W., Babcock T.M. & Lee R.G. (1987).** Examination and characterization of distribution system biofilms. *Appl. Environ. Microbiol.*, 53(12), 2714-2724.
- LeChevalier M.W., Shaw N., Kaplan L. & Bott T. (1993).** Development of a rapid assimilable organic carbon method for water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 59, 1526-1531.
- Leenheer J.A. (1981).** Comprehensive approach to preparative isolation and fractionation of dissolved organic carbon from natural waters and wastewaters. *Environ. Sci. Technol.*, 15(5), 578-587.
- Leenheer J.A., Croué J.P., Benjamin M., Korshin G.V., Hwang C.J., Bruchet A. & Aiken G. (2000).** Comprehensive isolation of natural organic matter for spectral characterization and reactivity testing. In : *Natural organic matter and disinfection by-products*. Barrett S.E., Krasner S.W. & Amy G. (Eds). American Chemical Society symposium series 761, Washington DC.
- Leenheer J.A., Hsu J. & Barber L.B. (2001).** Transport and fate of organic wastes in groundwater at the Stringfellow hazardous waste disposal site, southern California. *J. Contam. Hydrol.*, 51, 163-178.
- Leenheer J.A. & Croué J.P. (2003).** Characterizing aquatic dissolved organic matter. *Environ. Sci. Technol.*, 37(1), 18A-26A.
- Leenheer J.A., Nanny M.A. & Mc Intyre C. (2003).** Terpenoids as major precursors of dissolved organic matter in landfill leachates, surface water, and groundwater. *Environ. Sci. Technol.*, 37(11), 2323-2331.
- Lefebvre E. (1990).** Coagulation des substances humiques aquatiques par le fer ferrique en milieu aqueux - Effet de la préoxydation. Thèse de doctorat - Université de Poitiers.
- Lefebvre E. & Legube B. (1990).** Coagulation par le Fe(III) de substances humiques extraites d'eaux de surface : Effet du pH et de la concentration en substances humiques. *Wat. Res.*, 24(5), 591-606.
- Lefebvre E. & Legube B. (1993).** Coagulation-floculation par le chlorure ferrique de quelques acides organiques et phénols en solution aqueuse. *Wat. Res.*, 27(3), 433-447.
- Leinweber P. & Schulten H-R. (1999).** Advances in analytical pyrolysis of soil organic matter. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 49, 359-383.
- Lenoble V. (2003).** Elimination de l'Arsenic pour la production d'eau potable : Oxydation chimique et adsorption sur des substrats solides innovants. Thèse de doctorat - Université de Limoges.
- Lewandowski R. (1977).** L'elcoflot ou électro-coagulo-flottation (Procédé Epap-lewan). *La tribune Cébédéau*, 24(407), 351-363.
- Lichtfouse E., Chenu C., Baudin F., Leblond C., Da Silva M., Behar F., Derenne S., Largeau C., Wehrung P. & Albrecht P. (1998).** A novel pathway of soil organic matter formation by selective preservation of resistant straight-chain biopolymers: chemical and isotope evidence. *Org. Geochem.*, 28(4), 411-415.
- Lin G-Y. (1991).** Anaerobic digestion of landfill leachate. *Water SA*, 17, 301-306.
- Lin S.H. & Peng C.F. (1994).** Treatment of textile wastewater by electrochemical method. *Wat. Res.*, 28(2), 277-282.
- Ling W.H. & Jones P.J. (1995).** Dietary phytoosterols : a review of metabolism, benefits and side effects. *Life Sci.*, 57(3), 195-206.

- Loffredo E., Pezzuto M., Brunetti G. & Senesi N. (2000).** Interaction of environmental endocrine disrupters with humic acids from soils and sludges. In : Proceeding of the *Humic Substances Seminar IV*. North-eastern University Boston. USA. March 22-24.
- Logan B.E. & Jiang Q. (1990).** Molecular size distribution of dissolved organic matter. *J. Environ. Eng-ASCE*, 116(6), 1046-1062.
- Lozet J. & Mathieu C. (1997).** In : *Dictionnaire de Science du sol*, Lavoisier TEC & DOC (Eds), 488 p.
- Lu S.T., Ruth E. & Kaplan I.R. (1989).** Pyrolysis of kerogen in the absence and presence of montmorillonite. The generation, degradation and isomerization of steranes and triterpanes at 200° and 300°C. *Org. Geochem.*, 14, 491-499.
- Lundquist E.J., Jackson L.E. & Scow K.M. (1999).** Wet - dry cycles affect dissolved organic carbon in two California agricultural soils. *Soil Biol. Biochem.*, 31, 1031-1038.
- Mac Carthy P. (2001).** The principles of humic substances. *Soil Sci.*, 166(11), 738-751.
- Malcolm R.L. (1991).** Factors to be considered in the isolation and characterization of aquatic humic substances. In : *Humic substances in the aquatic and terrestrial environment*. Boren H. & Allards B. (Eds), John Wiley and Sons, London, 369-391.
- Malcolm R.L. & Mac Carthy P. (1992).** Quantitative evaluation of XAD 8 and XAD 4 resins used in tandem for removing organic solutes from water. *Environ. Int.*, 18, 597-607.
- Mameri N., Yeddou A.R., Lounici H., Belhocine D., Grib H. & Bariuo D. (1998).** Defluoridation of septentrional Sahara water of north Africa by electrocoagulation process using bipolar aluminium electrodes. *Wat. Res.*, 32(5), 1604-1612.
- Marino M., Hoffmann T., Schmid R., Möbitz H. & Jahn D. (2000).** Changes in protein synthesis during the adaptation of *Bacillus subtilis* to anaerobic growth conditions. *Microbiology*, 146, 97-105.
- Marschner B. & Bredow A. (2002).** Temperature effects on release and ecologically relevant properties of dissolved organic carbon in sterilised and biologically active soils. *Soil Biol. Biochem.*, 34, 459-466.
- Marschner B. & Kalbitz K. (2003).** Controls of bioavailability and biodegradability of dissolved organic matter in soils. *Geoderma*, 113, 211-235.
- Martin B. (1995).** La matière organique naturelle dissoute des eaux de surface : fractionnement, caractérisation et réactivité. Thèse de doctorat - Université de Poitiers.
- Martin F., Gonzalez-Vila F.J., del Rio J.C. & Verdejo T. (1994).** Pyrolysis derivatization of humic substances : I. Pyrolysis of fulvic acids in the presence of tetramethylammonium hydroxide. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 28, 71-80.
- Martin F., del Rio J.C., Gonzalez-Vila F.J. & Verdejo T. (1995).** Pyrolysis derivatization of humic substances : II. Pyrolysis of soil humic acids in the presence of tetramethylammonium hydroxide. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 31, 75-83.
- Martin M. (1998).** Theory of field flow fractionation. In : *Advances in chromatography*. Brown P.R. & Grushka E. (Eds). Marcel Dekker, New York, 39, 1-138.
- Martin-Mousset B., Croué J.P., Lefebvre E. & Legube B. (1997).** Distribution and characterization of the dissolved organic matter of surface waters. *Wat. Res.*, 31(3), 541-553.
- Masion A., Vilge-Ritter A., Rose J., Stone W.E.E., Teppen B.J., Rybacki D. & Bottero J.Y. (2000).** Coagulation-flocculation of natural organic matter with Al salts : Speciation and structure of the aggregates. *Environ. Sci. Technol.*, 34(15), 3242-3246.
- Mathur S.P. (1974).** Phthalate esters in the environment : Pollutants or natural products ? *J. Environ. Qual.*, 3, 189-197.
- Matteson M.J., Dobson R.L., Glenn R.W. Jr, Kukunoor N.S., Waits W.H. & Clayfield E.J. (1995).** Electrocoagulation and separation of aqueous suspensions of ultrafine particles. *Colloid Surface A*, 104, 101-109.
- Mattsson R., Lindstrom D., Sterte J. & Odberg L. (2003).** Influence of abietic acid, betulinol, sodium oleate and tripalmitine on the migration of AKD in paper. *J. Pulp Pap. Sci.*, 29(8), 281-285.
- Maurice P.A. & Namjesnik-Dejanovic K. (1999).** Aggregate structures of sorbed humic substances observed in aqueous solution. *Environ. Sci. Technol.*, 33(9), 1538-1541.
- Mazet M., Angbo L. & Serpaud B. (1990).** Adsorption of humic acids onto preformed aluminium hydroxide flocs. *Wat. Res.*, 24(12), 1509-1518.

- McIntosh D. & Austin B. (1990).** Recovery of an extremely proteolytic form of *Serratia liquefaciens* as a pathogen of atlantic salmon, *Salmo salar*, in Scotland. *J. Fish Biol.*, 36, 765-772.
- Mc Kinney D.E., Bortiatynski J.M., Carson D.M., Clifford D.J., De Leeuw J.W. & Hatcher P.G. (1996).** Tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis of the aliphatic biopolymer cutan : Insights into the chemical structure. *Org Geochem.*, 24(6/7), 641-650.
- Mejbri R., Matejka G., Lafrance P. & Mazet M. (1995).** Fractionnement et caractérisation de la matière organique des lixiviats de décharges d'ordures ménagères. *Rev. Sci. Eau*, 8, 217-236.
- Mejbri R. (1997).** Fractionnement et caractérisation de la matière organique dissoute dans les lixiviats de décharges d'ordures ménagères : Effets du traitement par lagunage aéré. Thèse de doctorat. Université de Limoges.
- Melis J., Morillo M., Martínez de Iharduya A. & Muñoz-Guerra S. (2001).** Poly( $\alpha$ -alkyl,  $\gamma$ -glutamate) of microbial origin : I. Ester derivatization of poly( $\gamma$ -glutamic acid) and thermal degradation. *Polymer.*, 42(23), 9319-9327.
- Mercier F., Moulin V., Guittet M.J., Barre N., Gautier-Soyer M., Trocellier P. & Toulhoat P. (2002).** Applications of new surface analysis techniques (NMA and XPS) to humic substances. *Org. Geochem.*, 33(3), 247-255.
- Mermoud F., Clerc O., Gulacar F. & Buchs A. (1981).** Analyse des acides gras et des stérols dans le plancton du lac Léman. *Arch. Sci.*, 34, 367-382.
- Meyers P.A. (2003).** Applications of organic geochemistry to paleolimnological reconstructions : a summary of examples from the Laurentian Great Lakes. *Org. Geochem.*, 34(2), 261-289.
- Meyers P.A. & Eadie B.J. (1993).** Sources, degradation, and recycling of organic matter associated with sinking particles in Lake Michigan. *Org. Geochem.*, 20(1), 47-56.
- Michel G. (1996).** L'électricité concourt à la maîtrise de problèmes associées à l'environnement. *La technique moderne*, 1-2.
- Miettinen I. T., Vartiainen T. & Martikainen P. J. (1999).** Determination of assimilable organic carbon in humus-rich drinking waters. *Wat. Res.*, 33(10), 2277-2282.
- Möder M., Popp P. & Pawliszyn J. (1998).** Characterisation of water-soluble components of slurries using solid-phase microextraction coupled to liquid chromatography mass spectrometry. *J. Microcolumn Sep.*, 10(2), 225-234.
- Mogren R.M., Scarpino P. & Summers R.S. (1990).** Measurement of biodegradable dissolved organic carbon in drinking water. In : Proceeding of the *Annual AWWA*, Cincinnati, USA.
- Mollah M.Y.A., Schennach R., Parga J.R. & Cocke D.L. (2001).** Electrocoagulation (EC) - Science and applications. *J. Hazard. Mater.*, 84(1), 29-41.
- Møller J., Miller M. & Kjøller A. (1999).** Fungal-bacterial interaction on beech leaves: influence on decomposition and dissolved organic carbon quality. *Soil Biol. Biochem.*, 31, 367-374.
- Monje-Ramirez I. & Orta de Velásquez M.T. (2004).** Removal and transformation of recalcitrant organic matter from stabilized saline landfill leachates by coagulation-ozonation coupling processes. *Wat. Res.*, 38(9), 2359-2367.
- Monties B. & Lapierre C. (1981).** Données récentes sur l'hétérogénéité de la lignine. *Physiologie Végétale*, 19, 327-348.
- Moran M.A. & Hodson R.E. (1990).** Bacterial production on humic and nonhumic components of dissolved organic carbon. *Limnol. Oceanogr.*, 35, 1744-1756.
- Moran M.A., Sheldon Jr. W.M. & Zepp R.G. (2000).** Carbon loss and optical properties changes during long-term photochemical and biological degradation of estuarine dissolved organic matter. *Limnol. Oceanogr.*, 45, 1254-1264.
- Morel R. (1996).** In : *Les sols cultivés*. Lavoisier, Paris.
- Moszkowicz P., Sanchez F., Barna R. Méhu J. (1998).** Pollutants leaching behaviour from solidified wastes : a selection of adapted various models. *Talanta*, 46(3), 375-383.
- Mothéo A. & Pinhedo L. (2000).** Electrochemical degradation of humic acid. *Sci. Total Environ.*, 256(1), 67-76.
- Muller R. & Steiner A. (1988).** Influence of nickel and copper on anaerobic sludge digestion,. In : Proceeding of the *5th International Symposium on Anaerobic Digestion*, Bologna, Italy. 41-144.
- Münster U. (1993).** Concentrations and fluxes of organic carbon substrates in the environment. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 63, 243-274.

- Murphy D.V., Mac Donald A.J., Stockdale E.A., Goulding K.W.T., Fortune S., Gaunt J.L., Poulton P.R., Wakefield J.A., Webster C.P. & Wilmer W.S. (2000). Soluble organic nitrogen in agricultural soils. *Biol. Fert. Soils*, 30, 374-387.
- Murphy O.J., Hitchens D.G., Kaba L. & Verostko C.E. (1992). Direct electrochemical oxidation of organic for wastewater treatment. *Wat. Res.*, 26(4), 443-451.
- Muruganathan M., Bhaskar Raju G. & Prabhakar S. (2004). Separation of pollutants from tannery effluents by electro flotation. *Sep. Purif. Technol.*, 40(1), 69-75.
- Namour Ph. & Müller M.C. (1998). Fractionation of organic matter from wastewater treatment plants before and after a 21 day biodegradability test : a physical-chemical method for measurement of the refractory part of effluents. *Wat. Res.*, 32(7), 2224-2231.
- Nanny M.A. & Ratasuk N. (2002). Characterization and comparison of hydrophobic neutral and hydrophobic acid dissolved organic carbon isolated from three municipal landfill leachates. *Wat. Res.*, 36(6), 1572-1584.
- Nascimento Filho I., von Mühlen C., Schossler P. & Bastos Caramao E. (2003). Identification of some plasticizers compounds in landfill leachate. *Chemosphere*, 50, 657-663.
- Nelson P.N., Dictor M.C. & Soulas G. (1994). Availability of organic carbon in soluble and particle-size fractions from a soil profile. *Soil Biol. Biochem.*, 26, 1549-1555.
- Nes W.R. & McKean M.L. (1976). In : *Biochemistry of steroids and other isopentenoids*. University Park press. Baltimore.
- Newcombe G., Drikas M., Assemi S. & Beckett R. (1997). Influence of characterised natural organic material on activated carbon adsorption : I. Characterisation of concentrated reservoir water. *Wat. Res.*, 31(5), 965-972.
- Newman R.H. (1992). Determination of the degree of cellulose crystallinity in wood cell wall. *Holzforshung*. 46, 205-210.
- Nicholson W.L., Munakata N., Horneck G., Melosh H.J. & Setlow P. (2000). Resistance of *Bacillus* endospores to extreme terrestrial and extraterrestrial environments. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 64(3), 548-572.
- Nierop K.G.J. (1998). Origin of aliphatic compounds in a forest soil. *Org. Geochem.*, 29(4), 1009-1016.
- Nierop K.G.J., Pullemena M.M. & Marinissen J.C.Y. (2001). Management induced organic matter differentiation in grassland and arable soil: a study using pyrolysis techniques. *Soil Biol. Biochem.*, 33(6), 755-764.
- Nierop K.G.J. & van Bergen P.F. (2002). Clay and ammonium catalysed reactions of alkanols, alkanolic acids and esters under flash pyrolytic conditions. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 63, 197-208.
- Nip M., Tegelaar E.W., Brinkhuis H., De Leeuw J.W., Schenck P.A. & Holloway P.J. (1986). Analysis of modern and fossil plant cuticles by Curie point pyrolysis gas-chromatography and Curie point pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry : Recognition of a new, highly aliphatic and resistant biopolymer. *Org. Geochem.*, 10, 769-778.
- Odegaard H. & Koottatep S. (1982). Removal of humic substances from natural waters by reverse osmosis, *Wat. Res.*, 16, 613-620.
- OECD guidelines (1993). In : *Guidelines for testing chemicals*, Paris.
- Ogawa H., Amagai Y., Koike I., Kaiser K. & Benner R. (2001). Production of refractory dissolved organic matter by bacteria. *Science : (Washington D.C.)*, 292, 917-920.
- Oh C.H., Kim J.H., Kim K.R. & Mabry T.J. (1995). Rapid gas chromatographic screening of edible seeds, nuts and beans for non-protein and protein amino acids. *J. Chromatogr. A*, 708(1), 131-141.
- Ottewill G.A. & Walsh F.C. (1995). Faraday's laws revisited. In : *Education in chemistry*. 158-162.
- Oros D.R. (2002). Identification and evaluation of previously unknown organic contaminants in the San Francisco estuary (1999-2001). *RMP Technical Report: SFEI Contribution 75*. San Francisco Estuary Institute, Oakland.
- Owen D.M., Amy G.L. & Chowdhury Z.K. (1993). Characterization of natural organic matter and its relationship to treatability. *Report AWWA research foundation*, Denver.
- Page D.W. (2003). Characterisation of organic matter in sediment from Corin reservoir Australia. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 70, 169-183.

- Page D.W., van Leeuwen J.A., Spark K.M. & Mulcahy D.E. (2003).** Application of pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry for characterisation of dissolved organic matter before and after alum treatment. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 67, 247-262.
- Pal O.R. & Vanjara.A.K. (2001).** Removal of malathion and butachlor from aqueous solution by clays and organoclays. *Separ. Purif. Technol.*, 24(1-2), 167-172.
- Palleroni N.J. (1984).** Genus I. *Pseudomonas migula*. In : *Bergey's manual of systematic bacteriology, vol. 1*. Krieg N.R. & Holt J.G., Williams and Wilkins (eds), Baltimore, USA.
- Papp R. (1994).** Réacteurs électrochimiques : cellules d'électrolyse. *Technique de l'ingénieur*, J4800, 1-20.
- Pareek S., Kim S.K. Matsui S. & Shimizu Y. (1998).** Hydrolysis of lignocellulosic materials under sulfidogenic and methanogenic conditions. *Wat. Sci. Technol.*, 38(2), 193-200.
- Park J.N., Fukumoto Y., Fujita E., Tanaka T., Washio T., Otsuka S., Shimizu T., Watanabe K. & Abe H. (2001).** Chemical composition of fish sauces produced in southeast and east Asian countries. *J. Food Comp. Anal.*, 14, 113-125.
- Parlanti E., Morin B. & Vacher L. (2002).** Combined 3D-spectrofluorometry, high performance liquid chromatography and capillary electrophoresis for the characterization of dissolved organic matter in natural waters. *Org. Geochem.*, 33(3), 221-236.
- Paul E.A. & Clark F.E. (1996).** In : *Soil microbiology and biochemistry*. 2<sup>nd</sup> Ed., Academic press, New York.
- Pavasars I. (1999).** Characterisation of organic substances in waste materials under alkaline conditions. Thesis - University of Linköping.
- Pelmont J. (1993).** In : *Bactéries et environnement. Adaptations physiologiques*. Presses universitaires de Grenoble.
- Perestelo F., Rodriguez A., Pérez R., Carnicero A., de la Fuente G. & Falcón M.A. (1996).** Isolation of a bacterium capable of limited degradation of industrial and labelled, natural and synthetic lignins. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 12, 111-112.
- Perry J.J., Volkman J.K., Johns R.B. & Bavor H.J. Jr (1979).** Fatty acids of bacterial origin in contemporary marine sediments. *Geochim. Cosmochim. Ac.*, 43, 1715-1725.
- Peuravuori J., Ingman P., Pihlaja K. & Koivikko R. (2001).** Comparisons of sorption of aquatic humic matter by DAX 8 and XAD 8 resins from solid-state <sup>13</sup>C NMR spectroscopy's point of view. *Talanta*, 55, 733-742.
- Peuravuori J., Lehtonen T. & Pihlaja K. (2002a).** Sorption of aquatic humic matter by DAX 8 and XAD 8 resins. Comparative study using pyrolysis gas chromatography. *Anal. Chim. Acta*, 471(2), 219-226.
- Peuravuori J., Koivikko R. & Pihlaja K. (2002b).** Characterization, differentiation and classification of aquatic humic matter separated with different sorbents : synchronous scanning fluorescence spectroscopy. *Wat. Res.*, 36(18), 4552-4562.
- Phutdhawong W., Chowwanapoonpohn S. & Buudhasukh D. (2000).** Electrocoagulation and subsequent recovery of phenolic compounds. *Anal. Sci.*, 16, 1083-1084.
- Picard T. (2000).** Contribution à l'étude des réactions aux électrodes en vue de l'application à l'électrocoagulation. Thèse de doctorat - Université de Limoges.
- Picard T., Cathalifaud-Feuillade G., Mazet M. & Vandensteendam C. (2000).** Cathodic dissolution in the electrocoagulation process using aluminium electrodes. *J. Envir. Monit.*, 2 77-80.
- Piccolo A., Nardi S. & Concheri G. (1996).** Macromolecular changes of soil humic substances induced by interactions with organic acids. *Eur. J. Soil Sci.*, 47, 319-328.
- Piccolo A., Conte P. & Cozzolino A. (2000).** Polymerisation by enzyme-catalysed oxidative couplings of supramolecular associations of humic molecules. *Naturwissenschaften*, 87, 391-394.
- Piccolo A. (2001).** The supramolecular structure of humic substances. *Soil Sci.*, 106(11), 810-832.
- Piccolo A. (2002).** The supramolecular structure of humic substances. Novel understanding of humus chemistry and implications in soil science. *Adv. Agron.*, 75, 57-134.
- Piccolo A., Conte P., Trivellone E., Van Lagen B. & Buurman P. (2002a).** Reduced heterogeneity of a lignite humic acid by preparative HPSEC following interaction with an organic acid. Characterization of size-separates by PYR-GC-MS and <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, 36(1), 76-84.

- Piccolo A., Spaccini R., Tagliatesta P. & Moschetti G. (2002b).** Sequestration of soil organic carbon by an « in situ polymerization reaction ». In : Proceeding of 17<sup>th</sup> World congress on Soil Science. Bangkok. Thailand.
- Pinney M.L., Westerhoff P.K. & Baker L. (2000).** Transformations in dissolved organic carbon through constructed wetlands. *Wat. Res.*, 34, 1897-1911.
- Polcaro A.M., Palmas S., Renoldi F. & Mascia M. (1999).** On the performance of Ti/SnO<sub>2</sub> and Ti/PbO<sub>2</sub> anodes in electrochemical degradation of 2-chlorophenol for wastewater treatment, *J. Appl. Electrochem.*, 29, 147-151.
- Potts M. (1994).** Desiccation tolerance of prokaryotes. *Microbiol. Rev.*, 58, 755-805.
- Pouet M.F. (1994).** Traitement physico-chimiques associés à une microfiltration d'eau usée urbaine. Thèse de doctorat - Université de Montpellier.
- Pourcher A-M., Sutra L., Hébé I., Moguedet G., Bollet C., Simoneau P. & Gardan L. (2001).** Enumeration and characterization of cellulolytic bacteria from refuse of a landfill. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 34(3), 229-241.
- Prétorius W.A., Johannes W.G. & Lempert G.G. (1991).** Electrolytic iron in flocculant production with bipolar electrode in series arrangement. *Water Sa*, 17(2), 133-138.
- Przhergorlinskii V.I., Ivanishvili A.I. & Grebenyuk V.D. (1987).** Dissolution of aluminium electrodes in the electrocoagulation treatment of water. *Sov. J. Water. Chem. Technol.*, 9(2), 181-182.
- Pulchan K.J., Helleur R. & Abrajano T.A. (2003).** TMAH thermochemolysis characterization of marine sedimentary organic matter in a Newfoundland fjord. *Org. Geochem.*, 34(2), 305-317.
- Pulgarin C., Adler N., Peringer P. & Comninellis Ch. (1994).** Electrochemical detoxification of a 1,4-benzoquinone solution in wastewater treatment. *Wat. Res.*, 28(4), 887-893.
- Qu J. & Liu H. (2004).** Optimum conditions for Al13 polymer formation in PACL preparation by electrolysis process. *Chemosphere*, 55, 51-56.
- Qualls R.G. & Haines B.L. (1992).** Biodegradability of dissolved organic matter in forest throughfall, soil solution and stream water. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 56, 578-586.
- Quinty F. & Rochefort L. (2003).** In : *Peatland restoration guide*, Canadian Sphagnum Peat Moss Association & New Brunswick Department of Natural Resources and Energy (Eds). 2<sup>nd</sup> Ed., Québec, 106 p.
- Radovan C., Vlaicu I., Ciorba G. & Adam-Stoia M. (1997).** Conditions and practical consequences of aluminium anodic dissolution in electrochemical water treatment. *Annals of West University of Timisoara. Ser. Chem.*, 6, 259-266.
- Radovan C., Vlaicu I., Ciorba G. & Adam-Stoia M. (1998).** Theoretical and practical aspects of aluminium anodic behaviour in electrochemical water treatment. *Proc. Electrochem. Soc.*, 97(28), 427-438.
- Radwan A., Willey R.J., Davies G., Fataftah A., Ghabbour E.A. & Jansen S.A. (1997a).** Supercritical fluid CO<sub>2</sub> extraction accelerates isolation of humic acid from live *Pylayella littoralis* (*Phaeophyta*). *J. Appl. Phycol.*, 8, 545-551.
- Radwan A., Willey R.J., Davies G., Fataftah A., Ghabbour E.A., Jansen S.A. & Willey R.J. (1997b).** Isolation of humic acid from the brown algae *Ascophyllum nodosum*, *Fucus vesiculosus*, *Laminaria saccharina* and the marine angiosperm *Zostera marina*. *J. Appl. Phycol.*, 8, 553-562.
- Rajeswhar K. & Ibanez J. (1997).** In: *Environmental electrochemistry : Fundamentals and applications in pollution abatement*. Academic Press., 776 p.
- Rampersad K., Goldstone L.A. & Tivchev G.N. (1998).** Study of methods for the cultivation of anaerobic cellulose-degrading bacteria. *Water S.A.*, 24(4), 343-346.
- Raymond P.A. & Bauer J.E. (2001).** Riverine export of aged terrestrial organic matter to the North Atlantic Ocean. *Nature*, 409, 497-500.
- Rebhun M. & Lurie M. (1993).** Control of organic mater by coagulation and flocs separation. *Water Sci. Technol.*, 27(11), 1-20.
- Reckhow D.A., Singer P.C. & Malcolm R.L. (1990).** Chlorination of humic materials : by-product formation and chemical interpretations. *Environ. Sci. Technol.*, 24(11), 1655-1664.
- Reuschenbach P, Pagga U. & Strotmann U. (2003).** A critical comparison of respirometric biodegradation tests based on OECD 301 and related test method. *Wat. Res.*, 37, 1571-1582.
- Ribas F., Erias J. & Lucena F. (1991).** A new dynamic method for the rapid determination of biodegradable dissolved organic carbon in drinking water. *J. Appl. Bact.*, 71, 371-378.

- Ribordy P., Pulgarin C., Kiwi J. & Peringer P. (1997).** Electrochemical versus photochemical pre-treatment of industrial wastewater. *Water Sci. Technol.*, 35(4), 293-302.
- Riboulleau A., Mongenot T., Baudin F., Derenne S. & Largeau C. (2002).** Factors controlling the survival of proteinaceous material in the Late Tithonian kerogens (Kashpir oil shales, Russia). *Org. Geochem.*, 33(10), 1127-1130.
- Ricking M., Schwarzbauer J. & Franke S. (2003).** Molecular markers of anthropogenic activity in sediments of the Havel and Spree rivers (Germany). *Wat. Res.*, 37(11), 2607-2617.
- Rochaix C. (1996).** In : *Electrochimie : Thermodynamique - Cinétique*. Nathan (Ed), 239p.
- Rönner U., Husmark U. & Henriksson A. (1990).** Adhesion of *Bacillus* spores in relation to hydrophobicity. *J. Appl. Bacteriol.*, 69, 550-556.
- Rorije E., Peijnenburg W.J.G.M. & Klopman G. (1998).** Structural requirements for the anaerobic biodegradation of organic chemicals : a fragment model analysis. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17(10), 1943-1950.
- Rubach S. & Saur I.F. (1997).** Onshore testing of produced water by electroflocculation. *Filtr. Sep.*, 34(8), 877-882.
- Rubin A.J. & Blocksidge H. (1979).** Coagulation of the bacterium *Escherichia coli* by aluminium nitrate. *Environ. Sci. Technol.*, 2, 358
- Ruokojärvi P., Ruuskanen J., Ettala M., Rahkonen P. & Tarhanen J. (1995).** Formation of polyaromatic hydrocarbons and polychlorinated organic compounds in municipal waste landfill fires. *Chemosphere*. 31(8), 3899-3908.
- Safe S.H. & Gaido K.W. (1998).** Phytoestrogens and anthropogenic estrogenic compounds. *Environ. Toxicol. Chem.*, 17, 119-126.
- Saiz-Jimenez C. (1994).** Analytical pyrolysis of humic substances: pitfalls, limitations and possible solutions. *Environ. Sci. Technol.*, 28(11), 1773-1780.
- Sakai S., Urano S. & Takatsuki H. (2000).** Leaching behaviour of PCBs and PCDDs/DFs from some waste materials. *Waste Manage.*, 20(2-3), 241-247.
- Sanchez-Monedero M.A., Cegarra J., Garcia D. & Roig A. (2002).** Chemical and structural evolution of humic acids during organic waste composting. *Biodegradation*, 13, 361-371.
- Sanin F.D., Knappe D.R.U. & Barlaz M.A. (2000).** Biodegradation and humification of toluene in a simulated landfill. *Wat. Res.*, 34(12), 3063-3076.
- Schmitter J.M., Arpino P. & Guiochon G. (1978).** Investigation of high-molecular weight carboxylic acids in petroleum by different combinations of chromatography (gas and liquid) and mass spectroscopy (electron impact and chemical ionization). *J. Chromatogr. A*, 167, 149-158.
- Schmitt-Koplin P., Freitag D. & Kettrup A. (1999).** Capillary electrophoresis studies on Norwegian surface water natural organic matter. *Environ. Int.*, 25(2-3), 259-274.
- Schnitzer M. & Khan S.U. (1972).** In : *Humic substances in the environment*. Dekker M. (Ed), New York.
- Schnitzer M., Marshall P.M. & Hindle D.A. (1983).** The isolation of soil humic and fulvic acid components rich in "unknown" nitrogen. *Can. J. Soil Sci.*, 63, 425-433.
- Schnitzer M. (1991).** Soils organic matter - The next 75 years. *Soil Sci.*, 151, 41-58.
- Schnitzer M., Kodama H. & Schulten H.R. (1994).** Mineral effects on the pyrolysis-field ionization mass spectrometry of fulvic acid. *Soil Sci. Soc. Am. J.*, 58(4), 1100-1107.
- Schulten H.R. (1995).** The three-dimensional structure of soil agromineral complexes studied by analytical pyrolysis. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 32, 111-126.
- Schulten H.R. (1996).** Three-dimensional, molecular structures of Humic Acids and their interactions with water and dissolved contaminants. *Intern. J. Environ. Anal. Chem.*, 64, 147-162.
- Schulten H.R. & Leinweber P. (1996).** Characterization of humic and soil particles by analytical pyrolysis and computer modeling. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 38, 1-53.
- Schulten H.R., Leinweber P. & Theng B.K.G. (1996).** Characterization of organic matter in an interlayer clay-organic complex from soil pyrolysis methylation-mass spectroscopy. *Geoderma*, 69, 105-118.
- Schulten H.R., Sorge-Lewin C. & Schnitzer M. (1997).** The structure of "unknown" soil nitrogen investigated by analytical pyrolysis. *Biol. Fertil. Soils*. 24(3), 249-254.
- Schulten H.R. (1999).** Analytical pyrolysis and computational chemistry of aquatic humic substances and dissolved organic matter. *J. Anal. Applied Pyrolysis*, 49(1-2), 385-415.

- Schwarzbauer J., Heim S., Brinker S. & Littke R. (2002).** Occurrence and alteration of organic contaminants in seepage and leakage water from a waste deposit landfill. *Wat. Res.*, 36(9), 2275-2287.
- Seitzinger S.P., Sanders R.W. & Styles R. (2002).** Bioavailability of DON from natural and anthropogenic sources to estuarine phytoplankton. *Limnol. Oceanogr.*, 47(2), 353-366.
- Senesi N., Miano T. & Brunetti G. (1996).** Humic-like substances in organic amendments and effects on native soil humic substances. In : *Humic substances in terrestrial ecosystem*. Piccolo A. (Ed), Elsevier, Amsterdam, 532-533.
- Senesi N., Rizzi F.R., Dellino P. & Aquafredda P. (1997).** Fractal humic acids in aqueous suspensions at various concentrations, ionic strengths, and pH values. *Colloid Surface A*, 127,57-68.
- Senesi N. & Loffredo E. (1999).** The Chemistry of Soil Organic Matter. In : *Soil Physical Chemistry*. Sparks D.L. (Ed.), CRC Press LLC, 239-370.
- Servais P., Billen G. & Hascoet M.C. (1987).** Determination of the biodegradable fraction of dissolved organic matter in waters. *Wat. Res.*, 21, 445-450.
- Servais P., Barillier A. & Garnier J. (1995).** Determination of the biodegradable fraction of the dissolved and particulate organic carbon waters. *Ann. Limnol.*, 31, 75-80.
- Sharp J.H., Rinker K.R., Savidge K.B., Abell J., Benaim J.Y., Bronk D., Burdige D.J., Cauwet G., Chen W., Doval M.D., Hansell D., Hopkinson C., Kattner G., Kaumeyer N., McGlathery K.J., Merriam J., Morley N., Nagel K., Ogawa H., Pollard C., Pujo-Pay M., Raimbault P., Sambrotto R., Seitzinger S.P., Spyres G., Tirendi F., Walsh T.W. & Wong C.S. (2002).** A preliminary methods comparison for measurement of dissolved organic nitrogen in seawater. *Mar. Chem.*, 78, 171-184.
- Sharp J.H., Beauregard A.Y., Burdige D., Cauwet G., Curless S. E., Lauck R., Nagel K., Ogawa H., Parker A. E., Primm O., Pujo-Pay M., Savidge W. B., Seitzinger S., Spyres G. & Styles R. (2004).** A direct instrument comparison for measurement of total dissolved nitrogen in seawater. *Mar. Chem.*, 84, 181-193.
- Shevchenko S.M. & Bailey G.W. (1996).** Life after death: lignin-humic relationships reexamined. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 26(2), 95-153.
- Shirotani K., Tsubuki S., Lee H.J., Maruyama K. & Saido T.C. (2002).** Generation of amyloid peptide with pyroglutamate at position 3 in primary cortical neurones. *Neurosci. Lett.*, 327(1), 25-28.
- Showalter A.M. (1993).** Structure and function of plant cell wall proteins. *The Plant Cell*, 5, 9-23.
- Shrigadi N.B., Shinde A.B. & Samant S.D. (2003).** Study of catalytic activity of free and K10-supported iron oxyhydroxides and oxides in the Friedel-Crafts benzylolation reaction using benzyl chloride/alcohol to understand their role in the catalysis by the Fe exchanged/impregnated K10 catalysts. *Appl. Catal. A-Gen.*, 252(1), 23-35.
- Sicre M-A., Broyelle I., Lorre A. & Saliot A. (1993).** Sources and transport of particulate hydrocarbons in the meso-tidal Changjiang estuary. *Estuar. Coast. Shelf S.*, 37, 557-573.
- Silva A.C., Dezotti M. & Sant'Anna Jr. (2004).** Treatment and detoxification of a sanitary landfill leachate. *Chemosphere*, 55, 207-214.
- Sjöström E. (1993).** In : *Wood chemistry. Fundamentals and applications*. Academic Press, New York, 291p.
- Smibert R.M. & Krieg N.R. (1994).** Phenotypic characterization. In : *Methods for General and Molecular Bacteriology*. Gerhardt P., Murray R.G.E., Wood W.A. & Krieg N.R. (Eds.), Washington DC.
- Snyder S.A., Westerhoff P., Yoon Y. & Sedlak D.L. (2003).** Pharmaceuticals, personal care products, and endocrine disrupters in water : Implications for the water industry. *Environ. Eng. Sci.*, 20(5),449-469.
- Sommerville K. & Preston T. (2001).** Characterization of dissolved combined amino acids in marine waters. *Rapid Commun. Mass Sp.*, 15, 1287-1290.
- Søndergaard M. & Worm J. (2001).** Measurement of biodegradable dissolved organic carbon (BDOC) in lake water with a bioreactor. *Wat. Res.*, 35, 2505-2513.
- Søndergaard M., Borch N.H. & Riemann B. (2000).** Dynamics of biodegradable DOC produced by freshwater plankton communities. *Aquat. Microb. Ecol.*, 23, 73-83.
- Spaccini R., Piccolo A., Conte P., Haberauer G. & Gerzabek M.H. (2002).** Increased soil organic carbon sequestration through hydrophobic protection by humic substances. *Soil Biol. Biochem.*, 34(12), 1839-1851.

- Spósito G. (1989).** In : *The chemistry of soils*. Oxford University Press, New York.
- Spósito G. (1996).** In : *The environmental chemistry of aluminium*. Second edition. CRC Press Ltd, Florida.
- Stackebrandt E., Frederiksen W., Garrity G.M., Grimont P.A., Kämpfer P., Maiden M.C., Nesme X., Rossello-Mora R., Swings J., Trüper H.G., Vauterin L., Ward A.C. & Whitman W.B. (2002).** Report of the AD HOC committee for the re-evaluation of the species definition in bacteriology. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 52, 1043-1047.
- Stanfield G. & Jago P.H. (1987).** The development and use of a method for measuring the concentration of assimilable organic carbon in water. *WRC Environment*, 43 p.
- Staples C.A., Adams W.J., Parkerton T.F., Gorsuch J.W., Biddinger G.R. & Reinert K.H. (1997).** Aquatic toxicity of eighteen phthalate esters. *Environ. Toxicol. Chem.*, 16, 875-891.
- Staples C.A., Dorn P.B., Klecka G.M., O'Block S.T. & Harris L.R. (1998).** A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*. 36, 1234-1254.
- Steil L., Hoffmann, T., Budde I., Völker U. & Bremer E. (2003).** Genome-wide transcriptional profiling analysis of adaptation of *Bacillus subtilis* to high salinity. *J. Bacteriol.*, 185(21), 6358-6370.
- Stepanauskas R., Edling H. & Tranvik L.J. (1999).** Differential dissolved organic nitrogen availability and bacterial aminopeptidase activity in limnic and marine waters. *Microb. Ecol.*, 38(3), 264-272.
- Stepanauskas R., Laudon H. & Jorgenson N.O.G. (2000).** High DON bioavailability in boreal streams during a spring flood. *Limnol. Oceanogr.*, 45(6), 1298-1307.
- Stevenson F.J. (1982).** In : *Humic chemistry : Genesis, composition, reactions*. John Wiley & Sons (Eds), New York.
- Stevenson F.J. (1994).** In : *Humus chemistry: Genesis, composition, reactions*. 2<sup>nd</sup> Ed, John Wiley & Sons (Eds), New York.
- Streeter T.C., Bardgett R.B. & Bol R. (2000).** Amino acids as a nitrogen source in temperate upland grasslands : the use of dual labelled (<sup>13</sup>C, <sup>15</sup>N) glycine to test for direct uptake by dominant grasses. *Rapid Commun. Mass Sp.*, 14, 1351-1355.
- Stöckigt D. (1998).** The Mechanism of the gas-phase ion-molecule reaction between Al<sup>+</sup> and thanol. *J. Phys. Chem.*, A 102, 10493-10500.
- Stumm W. & Morgan J.J. (1970).** In : *Aquatic Chemistry*. John Wiley & Sons (Eds). New York.
- Sturm R.N. (1973).** Biodegradability of non ionic surfactant : screening test for predicting rate and ultimate degradation. *J. Oil Chem. Soc.*, 50, 159-167.
- Sun B., Sato M. & Clements J.S. (2000).** Oxidative processes occurring when pulsed high voltage discharges degrade phenol in aqueous solution. *Environ. Sci. Tech.*, 34(3), 509-513.
- Swietlik J., Dabrowska A., Raczyk-Stanislawiak U. & Nawrocki J. (2004).** Reactivity of natural organic matter fractions with chlorine dioxide and ozone. *Wat. Res.*, 38(3), 547-558.
- Szynkarczuk J., Kan J., Hassan T.A. & Donini J.C. (1994).** Electrochemical coagulation of clay suspensions. *Clay Clay Miner.*, 42(6), 667-673.
- Taguchi G. (1987).** System of experimental design : engineering methods to optimize quality and to minimize costs. Reprinted 1991, New York, White plains, Quality resources.
- Tatsi A.A., Zouboulis A.I., Matis K.A. & Samaras P. (2003).** Coagulation-flocculation pretreatment of sanitary landfill leachates. *Chemosphere*, 53(7), 737-744.
- Tegelaar E.W., De Leew J.W. & Saiz-Jemenez C. (1989).** Possible origin of aliphatic moieties in humic substances. *Sci. Total Environ.*, 81/82, 1-17.
- Tessier A. & Turner D.R. (1995).** In : *Metal speciation and bioavailability in aquatic systems*. Tessier & Turner (Eds), Wiley, Chichester.
- Thorn K.A., Goldenberg W.S., Younger S.J. & Weber E.J. (1999).** Covalent binding of aniline to humic substances: Comparison of nucleophilic addition, enzyme-, and metal-catalyzed reactions. In : *Humic and Fulvic Acids : Isolation, Structure, and Environmental Role*. Gaffney J.S., Marley N.A. & Clark S.B. (Eds), ACS Symposium Series 651, Washington D.C., 299-326.
- Thurman E.M., Aiken G. & Malcolm R.L. (1978).** The use of macroreticular nonionic resins to preconcentrate trace organic acids from water. In : *Proceeding of 4<sup>th</sup> Joint Conference on Sensing of Environmental Pollutant*, 166, 630-634.
- Thurman E.M. & Malcolm R.L. (1981).** Preparative isolation of aquatic humic substances. *Environ. Sci. Technol.*, 15(4), 463-466.

- Thurman E.M. (1985).** In : *Developments in biochemistry : Organic geochemistry of natural waters*. Nijhoff M. & Junk W. (Eds). Dordrecht.
- Tibbles B.J., Alexander A. & Baecker W. (1989).** Effect of pH and inoculum size on phenol degradation by bacteria isolated from landfill waste. *Environ. Pollut.*, 59, 227-239.
- Tixier C., Bogaerts P., Sancelme M., Bonnemoy F., Twagilimana L., Cuer A., Bohatier J. & Veschambre H. (2000).** Fungal biodegradation of phenyurea herbicide, diuron : structure and toxicity of metabolites. *Pest. Manag. Sci.*, 56, 455-462.
- Tortora G.J., Funke B.R. & Case C.L. (1998).** Fungi, algae, protozoa, and multi-cellular parasites. In : *Microbiology, an introduction*. Addison Wesley Longman, 320-358.
- Tossell J.A. (2001).** Calculation of the structural and NMR properties of the tridecameric  $\text{AlO}_4\text{Al}_{12}(\text{OH})_{24}(\text{H}_2\text{O})_{12}^{7+}$  polycation. *Geochim. Cosmochim. Ac.*, 65(15), 2549-2553.
- Treille P. (1973).** Epuration électrique des eaux résiduaires. *Rapport Centre Belge d'Etude et de Documentation des Eaux*, N 357-358, 326-331.
- Troster I., Schafer L. & Fryda M. (2002).** Recent developments in production and application of DiaChem-electrodes for wastewater treatment. *New Diam. Front. C. Technol.*, 12(2), 89-97.
- Tsai C.T., Lin S.T., Shue Y.C. & Su P.L. (1997).** Electrolysis of soluble organic matter in leachate from landfills. *Wat. Res.*, 31(12), 3073-3081.
- Tuomela M. (2002).** Degradation of lignin and other  $^{14}\text{C}$ -labelled compounds in compost and soil with an emphasis on white-rot fungi. Thesis - University of Helsinki.
- Tusseu-Vuillemin M-H., Dispan J., Mouchel J.M. & Servais P. (2003).** Biodegradable fraction of organic carbon estimated under oxic and anoxic conditions. *Wat. Res.*, 37, 2242-2247.
- Urase T. (2003).** Fate of organic and inorganic pollutants in treatment processes of landfill leachates. Taro Urase's leachate study : <http://www.cv.titech.ac.jp>
- Urbansky E. (2001).** Total organic carbon analysers as tools for measuring carbonaceous matter in natural waters. *J. Environ. Monit.*, 3(1), 102-112.
- Vaccari A. (1999).** Clays and catalysis : a promising future. *Appl. Clay Sci.*, 14, 161-198.
- Van der Kooij D., Visser A. & Hijnen W.A.M. (1982).** Determining the concentration of easily assimilable organic carbon in drinking water. *J. Am. Water Works Assoc.*, 74, 540-545.
- Van der Kooij D. & Hijnen W.A.M. (1984).** Substrate utilization by an oxalate consuming *Spirillum* species in relation to its growth in ozonated water. *Appl. Environ. Microbiol.*, 47, 551-559.
- Van der Kooij D. (1992).** Assimilable organic carbon as an indicator of bacterial regrowth. *J. Am. Water Works Assoc.*, 84, 57-65.
- Van Dyke M.I. & McCarthy A.J. (2002).** Molecular Biological Detection and Characterization of *Clostridium* Populations in Municipal Landfill Sites. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68(4), 2049-2053.
- Vargel C. (1999).** In : *Corrosion de l'aluminium*. Dunod (Ed), 502p.
- Vermeersch O. & Mlynarek J. (1999).** Filter Criteria for Geotextile Materials in Soil Filtration and Leachate Collection Systems. In : *Proceeding of Sardinia 99, Seventh International Waste Management and Landfill Symposium*, Cagliari, Italy, 3, 233-240.
- Verwey E.J.W. & Overbeek J.T.G. (1948).** In : *Theory of the stability of lyophobic colloids*, Elsevier (Ed), Amsterdam.
- Vik E.A., Carlson D.A., Eikum A.S. & Gjessing E.T. (1984).** Electrocoagulation of potable water. *Wat. Res.*, 18(11), 1355-1360.
- Vikelsøe J., Thomsen M., Johansen E. & Carlsen L. (1999).** Phthalates and nonylphenols in soil. A field study of different soil profiles. *Technical report*. Denmark National Environmental Research Institute. N 268.
- Vikelsøe J., Thomsen M. & Carlsen L. (2002).** Phthalates and nonylphenols in profiles of differently dressed soils. *Sci. Total Environ.*, 296, 105-116
- Villiermaux J. (1993).** Génie de la réaction chimique : conception et fonctionnement des réacteurs. In : *Techniques et documentation*, Lavoisier (Ed), 448 p.
- Violleau D. (1999).** Intérêt du fractionnement et de l'extraction des matières organiques naturelles d'eaux de surface pour l'étude de leurs propriétés structurales et de leur pouvoir complexant vis-à-vis du cuivre. Thèse de doctorat - Université de Poitiers.
- Volk C.J., Renner C. & Joret J.C. (1992).** The measurement of BDOC: an index of bacterial regrowth potential in water. *Rev. Sci. Eau*, 5, 189-205.

- Volk C.J., Volk C.B. & Kaplan L.A. (1997).** Chemical composition of biodegradable dissolved organic matter in stream water. *Limnol. Oceanogr.*, 42, 39-44.
- Volk C.J., Bell K., Ibrahim E., Verges D., Amy G. & Lechevallier M. (2000).** Impact of enhanced and optimized coagulation on removal of organic matter and its biodegradable fraction in drinking water. *Wat. Res.*, 34, 3247-3257.
- Volk C.J. & Le Chevallier M.W. (2000).** Assessing biodegradable organic matter. *J. Am. Water Works Assoc.*, 92(5), 64-76.
- Volk C.J. (2002).** Biodegradable dissolved organic carbon in drinkingwater. In : *The Encyclopaedia of Environmental Microbiology*. Bitton G. (Eds), Wiley and Sons, New York, 484-507.
- Volkman J.K., Johns R.B., Gillan F.T., Perry G.J. & Bavor H.J. Jr (1980).** Microbial lipids of an interfacial sediment. I-Fatty acids and hydrocarbons. *Geochim. Cosmochim. Ac.*, 44, 1133-1143.
- von Wandruszka R., Ragle C. & Engebretson R. (1997).** The role of selected cations in the formation of pseudomicelles in aqueous humic acid. *Talanta*, 44(5), 805-809.
- Waksman S.A. (1936).** In : *Humus. Origin, chemical composition and importance in nature*. Baltimore.
- Wall N.A. & Choppin G.R. (2003).** Humic acids coagulation: influence of divalent cations. *Appl. Geochem.*, 18(10), 1573-1582.
- Wallace B. (2002).** TOC determination in brine samples : Sample load performance evaluation. *Application note Tekmar-Dohrmann*, 22-24.
- Wang X.C., Jin P.K. & Gregory J. (2002).** Structure of Al-humic flocs and their removal at slightly acidic and neutral pH. *Water Sci. Tech.*, 2(2), 99-106.
- Watanabe A. & Kuwatsuka S. (1991).** Fractionation of soil fulvic acids using polyvinyl-pyrrolidone and their ionization difference spectra. *Soil Sci. Plant Nutr.*, 37, 611-617.
- Wayne L.G., Brenner D.J., Colwell R.R., Grimont P.A.D., Kandler O., Krichevsky M.I., Moore L.H., Moore W.E., Murray R.G., Stackebrandt E., Starr M.P. & Trüper H.G. (1987).** Report of the ad hoc committee on reconciliation of the approaches to bacterial systematics. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 37, 463-464.
- Weber W.J. & Huang Q. (2003).** Inclusion of persistent organic pollutants in humification processes : Direct chemical incorporation of phenanthrene via oxidative coupling. *Environ. Sci. Technol.*, 37(18), 4221-4227.
- Wei J., Furrer G., Kaufmann S & Schulin R (2001).** Influence of clay minerals on the hydrolysis of carbamate pesticides. *Environ. Sci. Technol.*, 35(11), 2226-2232.
- Weis M., Abbt-Barun G. & Frimmel F.H. (1989).** Humic-like substances from landfill leachates - Characterization and comparison with terrestrial and aquatic humic substances. *Sci. Total Environ.*, 81/82, 343-352.
- Werner P. & Hamsch B. (1986).** Investigation of the growth of bacteria in drinking water. *Water Supply*, 4(3), 227-232.
- Wershaw R.L., Llaguno E.C., Leenheer J.A., Sperline R.P. & Song Y. (1996).** Mechanism of formation of humus coatings on mineral surfaces. 2. Attenuated total reflectance spectra of hydrophobic and hydrophilic fractions of organic acids from compost leachate on alumina. *Colloid Surface A*, 108, 199-211.
- White D.M., Garland D.S., Beyer L. & Yoshikawa K. (2004).** Pyrolysis-GC/MS fingerprinting of environmental samples. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 71(1), 107-118.
- White G.C. (1986).** In : *The handbook of chlorination*. Second edition, Van Nostrand Reinhold (Ed), New York.
- Wiegner T.N. & Seitzinger S.P. (2001).** Photochemical and microbial degradation of external dissolved organic matter inputs to rivers. *Aquat. Microb. Ecol.*, 24, 27-40.
- Willker W., Engelmann J. & Brand A. (1995).** Identification of pyro-glutamate and glucosyl-aminoacids in cell culture media. *J. Magn. Res. Anal.*, 1, 20-24.
- Woese C.R. (1987).** Bacterial evolution. *Microbiol. Rev.*, 51, 221-271.
- Wolfersberger M.G., Tabachnick J., Finkelstein B.S. & Levin M. (1973).** L-pyrrolidone carboxylic acid content in mammalian epidermis and other tissues. *J. Invest. Dermatol.*, 60, 278-281.
- Xu J.M., Gan J., Papiernik S.K., Becker J.O. & Yates S.R. (2003).** Incorporation of fumigants into Soil Organic Matter. *Environ. Sci. Technol.*, 37, 1288-1291.

- Yamamoto T. & Yasuhara A. (1999).** Quantities of bisphenol a leached from plastic waste samples. *Chemosphere*, 38(11), 2569-2576.
- Yamamoto T., Yasuhara A., Shiraishi H. & Nakasugi O. (2001).** Bisphenol A in hazardous waste landfill leachates. *Chemosphere*, 42(4), 415-418.
- Yang H.H., Lai S.O., Hsieh L.T., Hsueh H.J. & Chi T. (2002).** Profiles of PAH emission from steel and iron industries. *Chemosphere*, 48(10), 1061-1074.
- Yano Y., McDowell W.H. & Aber J.D. (2000).** Biodegradable dissolved organic carbon in forest soil solution and effects of chronic nitrogen deposition. *Soil Biol. Biochem.*, 32, 1743-1751.
- Yanze-Kontechou C. & Blondeau R. (1990).** Effect of heterotrophic bacteria on different humic substances in mixed batch cultures. *Can. J. Soil Sci.*, 70, 51-59.
- Yasuhara A., Shiraishi H., Nishikawa M., Yamamoto T., Uehiro T., Nakasugi O., Okumura T., Kenmotsu K., Fukui H., Nagase M., Ono Y., Kawagoshi Y., Baba K. & Noma Y. (1997).** Determination of organic components in leachates from hazardous waste disposal sites in Japan by gas chromatography-mass spectrometry. *J. Chromatogr. A*, 774, 321-332.
- Yilmaz E.I. (2003).** Metal tolerance and biosorption capacity of *Bacillus circulans* strain EB1. *Res. Microbiol.*, 154, 409-415.
- Ying G.G., Kookana R. & Waite T.D. (2004).** Endocrine Disrupting Chemicals (EDCs) and pharmaceuticals and Personal Care Products (PPCPs) in reclaimed water in Australia. In : *Report of Australian Water Conservation and Reuse Research Program*.
- Yuen S.T.S. (1999).** Bioreactor landfills promoted by leachate recirculation : A full-scale study. Thesis - University of Melbourne.
- Yuste L., Corbella M.E., Turiegano M.J., Karlson U., Puyet A. & Rojo F. (2000).** Characterization of bacterial strains able to grow on high molecular mass residues from crude oil processing. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 32: 69-75.
- Zang X., Van Heemst J.D.H., Dria K.J. & Hatcher P.G. (2000).** Encapsulation of protein in humic acid from a histosol as an explanation for the occurrence of organic nitrogen in soil and sediment. *Org. Geochem.*, 31(6), 679-695.
- Zang X., Brown J.C., van Heemst J.D.H., Palumbo A. & Hatcher P.G. (2001).** Characterization of amino acids and proteinaceous materials using online tetramethylammonium hydroxide (TMAH) thermochemolysis and gas chromatography-mass spectrometry technique. *J. Anal. Appl. Pyrol.*, 61, 181-193.
- Zawistowski J. & Kitts D.D. (2002).** A functional soup. *Canadian Chem. News*, 17-19.
- Zech W., Ziegler F., Kögel-Knabner I. & Haumaier L. (1992).** Humic substances distribution and transformation in forest soils. *Sci. Total Environ.*, 117/118, 155-174.
- Zech W., Senesi N., Guggenberger G., Kaiser K., Lehmann J., Miano T.M., Miltner A. & Schroth G. (1997).** Factors controlling humification and mineralization of soil organic matter in the tropics. *Geoderma*, 79, 117-161.
- Zeng F., Cui K., Li X., Fu J. & Sheng G. (2003).** Biodegradation kinetics of phthalates esters by *Pseudomonas fluorescens* FS1. *Process Biochem.*, 39(9), 1125-1129.
- Zhu W-X. & Carreiro M.M. (2004).** Variations of soluble organic nitrogen and microbial nitrogen in deciduous forest soils along an urban-rural gradient. *Soil Biol. Biochem.*, 36, 279-288.
- Ziechmann W. & Huebner M. (2000).** The structure of humic substances – Limits and potential. In : *Proceeding of the Humic Substances Seminar IV*. Northeastern University Boston. USA. March 22-24.
- Zsolnay A. & Steindl H. (1991).** Geovariability and biodegradability of the water-extractable organic material in an agricultural soil. *Soil Biol. Biochem.*, 23, 1077-1082.
- Zsolnay A. (1996).** Dissolved humus in soil waters. In : *Humic Substances in Terrestrial Ecosystems*. Piccolo A. (Eds.), Elsevier, Amsterdam, 171-223.

## ***Liste des figures & des tableaux***

---

## Liste des figures

### Première partie

Figure I-1 : Mécanismes de formation des substances humiques de sol (Stevenson, 1982).....	8
Figure I-2 : Courbe de percée idéale sur une résine XAD 8 d'une eau naturelle de COD = 10mg C.L <sup>-1</sup> (Malcolm & Mac Carthy, 1992).....	19
Figure I-3 : Courbe de fuite de la matière organique du lixiviat de Crézin sur différentes résines XAD. ....	22
Figure I-4 : Influence de la concentration en MO sur le fractionnement par résine DAX 8. ....	25
Figure I-5 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine DAX 8 pour trois concentrations d'un même lixiviat. ....	25
Figure I-6 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine XAD 4 pour le lixiviat brut et dilué au 1/2 en sortie de résine DAX 8. ....	27
Figure I-7 : Courbes de percée sur résine DAX 8 de solutions de sol suivies par absorbance UV à 254nm et par COD. ....	28
Figure I-8 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine DAX 8 pour la solution de sol brute et diluée au 1/4,5. ....	28
Figure I-9 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine DAX 8 pour la solution de Tourbe brute et diluée au 1/5. ....	28
Figure I-10 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine XAD 4 pour une solution de tourbe brute et diluée au 1/2 en sortie de résine DAX 8. ....	29
Figure I-11 : Courbes de percée de l'eau brute (rivière Glane) suivies par absorbance UV à 254nm et par COD. ....	30
Figure I-12 : Courbes de percée de l'eau concentrée par osmose inverse (rivière Glane) suivies par absorbance UV à 254nm et COD. ....	30
Figure I-13 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine DAX 8 pour l'eau de la Glane brute et concentrée par osmose inverse. ....	31
Figure I-14 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine DAX 8 pour l'eau de la Valoine brute et concentrée par osmose inverse. ....	31
Figure I-15 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur une résine XAD 4 pour l'eau de la Glane brute et préconcentrée. ....	32
Figure I-16 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine DAX 8 pour le lixiviat de Crézin dilué au 1/10 avec correction ou non de la force ionique avant acidification. ....	34
Figure I-17 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine XAD 4, après percolation sur résine DAX 8 sous un k' de 100, pour le lixiviat de Crézin dilué au 1/10 avec correction ou non de la force ionique avant acidification. ....	34
Figure I-18 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine DAX 8 pour l'eau de la Glane brute avec modification ou non de la force ionique avant acidification. ....	35
Figure I-19 : Pourcentages d'Absorbance UV à 254nm et de COD retenus sur résine XAD 4, après percolation sur résine DAX 8 sous un k' de 100, pour l'eau de la Glane avec modification ou non de la force ionique avant acidification. ....	35
Figure I-20 : Procédure de fractionnement de la MO selon Thurman & Malcolm (1981). ....	36
Figure I-21 : Procédure de fractionnement de la MO selon Malcolm & Mac Carthy (1992). ....	37
Figure I-22 : Répartition de la matière organique du lixiviat de Crézin, de la solution de Tourbe, de la solution de sol de Crézin, de l'eau de surface La Glane et de l'eau souterraine Villepanet par le protocole de Thurman & Malcolm (1981). ....	38
Figure I-23 : Répartition de la matière organique du lixiviat de Crézin, de la solution de Tourbe, de la solution de sol de Crézin, de l'eau de surface de la Glane et de l'eau souterraine de Villepanet par le protocole de Malcom & Mac Carthy (1992). ....	41
Figure I-24 : Répartition de l'azote organique du lixiviat de Crézin, de la solution de Tourbe, de la solution de sol de Crézin, de l'eau de surface de la Glane et de l'eau souterraine de Villepanet par le protocole de Malcom & Mac Carthy (1992). ....	43
Figure I-25 : Répartition de la Demande Chimique en Oxygène du lixiviat de Crézin, de la solution de tourbe, de la solution de sol de Crézin, de l'eau de surface la Glane et de l'eau souterraine de Villepanet par le protocole de Malcom & Mac Carthy (1992). ....	45

## Deuxième partie

Figure II-1 : Structure en feuillet des argiles. ....	55
Figure II-2 : Cinétique d'adsorption de la matière organique hydrophile sur argile K10 à différents pH. ....	58
Figure II-3 : Isotherme d'adsorption de la matière organique hydrophile sur argile K10 en représentation directe. ....	59
Figure II-4 : Evolution du potentiel zéta ( $\zeta$ ) de l'argile K10 en fonction du pH pour différentes forces ioniques. ....	60
Figure II-5 : Pourcentage d'humidité restant dans l'argile après centrifugation. ....	61
Figure II-6 : Schématisation des apports à la matière organique des lixiviats de décharge. ....	83
Figure II-7 : Pyrochromatogrammes des fractions AH* et AF* extraites du lixiviat de Crézin. ....	85
Figure II-8 : Pyrochromatogrammes des fractions TPH* et HPI* extraites du lixiviat de Crézin. ....	86
Figure II-9 : Pyrochromatogramme de l'échantillon Bactéries. ....	87
Figure II-10 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon AH* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	88
Figure II-11 : Pourcentages des fragments d'origine anthropique retrouvés dans l'échantillon AH* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	88
Figure II-12 : Pourcentages des fragments d'autres composés retrouvés dans l'échantillon AH* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	88
Figure II-13 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon AF* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	89
Figure II-14 : Pourcentages des fragments d'origine anthropique retrouvés dans l'échantillon AF* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	89
Figure II-15 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon TPH* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	90
Figure II-16 : Pourcentages des fragments d'origine anthropique retrouvés dans l'échantillon TPH* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	90
Figure II-17 : Pourcentages des fragments d'autres composés retrouvés dans l'échantillon TPH* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	90
Figure II-18 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon HPI* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	91
Figure II-19 : Pourcentages des fragments d'origine anthropique retrouvés dans l'échantillon HPI* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	91
Figure II-20 : Pourcentages des fragments d'autres composés retrouvés dans l'échantillon HPI* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	91
Figure II-21 : Pourcentages des fragments d'origine naturelle retrouvés dans l'échantillon TPH* par analyse semi quantitative du pyrogramme. ....	92

## Troisième partie

Figure III-1 : Courbes de croissance de <i>B. mycoides</i> et de <i>B. subtilis</i> dans le lixiviat de Crézin. ....	107
Figure III-2 : Pourcentages de Carbone Organique Dissous Biodégradable déterminés à l'aide de <i>B. subtilis</i> et <i>P. fluorescens</i> dans les fractions AH*, AF* et HyI* extraites du lixiviat. ....	109
Figure III-3 : Pourcentages de Carbone Organique Dissous Biodégradable déterminés à l'aide de <i>B. subtilis</i> et <i>P. fluorescens</i> dans les fractions AH, AF et HyI extraites de la rivière la Glane. ....	109
Figure III-4 : Pourcentages de carbone organique dissous biodégradable déterminés à l'aide de <i>B. subtilis</i> et <i>P. fluorescens</i> dans les fractions HPO*, TPH* et HPI* extraites du lixiviat. ....	111
Figure III-5 : Pourcentages de carbone organique dissous biodégradable déterminés à l'aide de <i>B. subtilis</i> et <i>P. fluorescens</i> dans les fractions HPO, TPH et HPI extraites de la rivière la Glane. ....	112
Figure III-6 : Relation entre la concentration en acétate de sodium et le nombre de colonies de <i>Bacillus subtilis</i> obtenues au bout de la période d'incubation. ....	115
Figure III-7 : Relation entre la concentration en acétate de sodium et le nombre de colonies de <i>Pseudomonas fluorescens</i> obtenues au bout de la période d'incubation. ....	115
Figure III-8 : Teneurs en Carbone Organique Assimilable déterminées à l'aide de <i>B. subtilis</i> et <i>P. fluorescens</i> sur les fractions AH*, HPO*, TPH* et HPI* extraites du lixiviat de Crézin. ....	116

Figure III-9 : Teneurs en Carbone Organique Assimilable déterminées à l'aide de <i>B. subtilis</i> et <i>P. fluorescens</i> sur les fractions AH, HPO, TPH et HPI extraites de l'eau de la rivière la Glane. ....	116
Figure III-10 : Relation entre le carbone organique assimilable et le carbone organique dissous biodégradable pour le lixiviat de Crézin et l'eau de surface la Glane avec <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas fluorescens</i> .....	119
Figure III-11 : Evolution de la DBO <sub>5</sub> en fonction du nombre de bactéries inoculées et de la concentration en acétate de sodium introduite. ....	121
Figure III-12 : Relation entre la concentration en acétate de sodium et la DBO <sub>5</sub> mesurée. ....	122
Figure III-13 : Demande Biochimique en Carbone déterminée pour <i>P. fluorescens</i> avec les fractions AH*, AF* extraites du lixiviat de Crézin et les fractions AHcom, AFcom extraites de matières organiques commerciales. ....	122
Figure III-14 : Schématisation des parts de Carbone Organique Dissous Biodégradable, Carbone Organique Assimilable et Carbone Organique Dissous Réfractaire au sein du Carbone Organique Dissous du lixiviat et des milieux naturels. ....	124

## Quatrième partie

Figure IV-1 : Schéma de connexion électrique du mode bipolaire série.....	129
Figure IV-2 : Diagramme de coagulation au sulfate d'aluminium d'après Amirtharajah (1988). ....	131
Figure IV-3 : Mécanisme réactionnel d'une réaction électrochimique (Rochaix (1996)) .....	136
Figure IV-4 : Présentation du réacteur d'électrocoagulation et de la disposition des électrodes permettant une circulation sinusoïdale de l'eau traitée.....	138
Figure IV-5 : Description des électrodes utilisées dans le réacteur d'électrocoagulation .....	138
Figure IV-6 : Pourcentages d'abattement du COD obtenus en coagulation-floculation en fonction de la concentration en aluminium et du pH final. ....	139
Figure IV-7 : Distribution des espèces hydroxylées de l'Al en fonction du pH dans une solution simple d'aluminium à 25°C, $[Al]_{total} = 0,7g\ AL.L^{-1}$ (calculs faits sur Mineql <sup>+</sup> V. 4.07).....	140
Figure IV-8 : Evolution du potentiel zéta ( $\xi$ ) lors des essais de coagulation à différents pH et à différentes concentrations en aluminium.....	140
Figure IV-9 : Pourcentages d'abattement de l'absorbance UV à 254nm, du COD et de la DCO du lixiviat de Crézin en fonction de la concentration en aluminium introduit à pH 6,2.....	141
Figure IV-10 : Evaluation des pertes de masse aux électrodes .....	143
Figure IV-11 : Pourcentages d'abattement du COD du lixiviat de Crézin obtenus en électrocoagulation en fonction de la concentration en aluminium et du pH final.....	144
Figure IV-12 : Evolution du potentiel zéta lors des essais d'électrocoagulation du lixiviat de Crézin à différents pH et différentes concentrations en aluminium. ....	145
Figure IV-13 : Pourcentages d'abattement du COD du lixiviat de Crézin obtenus en électrolyse avec des plaques en acier inoxydable et pour différents pH.....	145
Figure IV-14 : Diagrammes des effets de l'intensité (a), du débit (b), du nombre de plaques (c) et de la température (d) d'électrolyse sur la mesure de l'absorbance UV à 254nm du lixiviat. ....	147
Figure IV-15 : Diagrammes des effets de l'intensité (a), du débit (b), du nombre de plaques (c) et de la température (d) d'électrolyse sur l'abattement de la DCO et de la concentration en chlorures (Cl) dans le lixiviat. ....	148
Figure IV-16 : Pourcentages d'abattement de l'absorbance UV à 254nm, du COD et de la DCO obtenus par électrocoagulation du lixiviat de Crézin en fonction de la concentration réelle en aluminium introduit.....	150
Figure IV-17 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin non traité (a) et pourcentages des parties éliminées et résiduelles au sein de chaque fraction après traitement par coagulation floculation (b). ....	152
Figure IV-18 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin avant traitement par le sulfate d'aluminium et répartition des parties éliminées et réfractaires dans chacune des fractions.....	152
Figure IV-19 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin non traité (a) et pourcentages des parties éliminées et résiduelles au sein de chaque fraction après traitement par électrocoagulation floculation (b). ....	153
Figure IV-20 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin avant traitement par électrocoagulation avec des électrodes d'aluminium et répartition des parties éliminées et réfractaires dans chacune des fractions.....	153
Figure IV-21 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin non traité (a) et pourcentages des parties éliminées et résiduelles au sein de chaque fraction après traitement par électrolyse (b). ....	154
Figure IV-22 : Distribution du COD du lixiviat de Crézin avant traitement par électrolyse avec des électrodes d'aluminium et répartition des parties éliminées, réfractaires et créées dans chacune des fractions.....	154
Figure IV-23 : Distribution des PMA du Carbone Organique Dissous du lixiviat de Crézin déterminée dans les études de Lagier (2000), Ceballero (2001) et lors de cette étude.....	155

---

<i>Figure IV-24 : Distribution des PMA du COD des fractions AH*, HPO*, TPH* et HPI* extraites du lixiviat de Crézin. ....</i>	<i>156</i>
<i>Figure IV-25 : Distribution des PMA du COD du lixiviat de Crézin avant et après traitement par coagulation, électrocoagulation et électrolyse. ....</i>	<i>157</i>
<i>Figure IV-26 : Pyrochromatogrammes des fractions HPI* extraites après coagulation et électrocoagulation aux doses optimales et de la fraction HPI* extraite du lixiviat non traité. ....</i>	<i>161</i>

## Liste des tableaux

### Première partie

Tableau I-1 : Principaux paramètres physico-chimiques relatifs au lixiviat de Crézin. ....	12
Tableau I-2 : Caractéristiques de l'horizon A du sol de Crézin. ....	13
Tableau I-3 : Principaux paramètres physico-chimiques relatifs aux eaux de la Glane, de la Valoine et de Villepanet. ....	15
Tableau I-4 : Indices SUVA relatifs aux courbes de percée de la MO du lixiviat sur différentes résines. ....	23
Tableau I-5 : Rendements d'extraction de la MO du lixiviat de Crézin par élution à NaOH 0,1M et à un mélange acétonitrile /eau (75% CH <sub>3</sub> CN / 25% H <sub>2</sub> O). ....	23
Tableau I-6 : Evolution de la répartition hydrophobe / hydrophile en absorbance UV à 254nm et COD en fonction du volume d'échantillon percolé et du facteur de capacité k'. ....	26
Tableau I-7 : Taux de récupération de la MO lors d'une concentration par osmose inverse et valeurs de l'indice SUVA des eaux brutes. ....	30
Tableau I-8 : Récapitulatif des gammes de COD et des valeurs limites de Vp/Vr et de k' à ne pas dépasser lors du fractionnement par résine DAX 8 ou bien par couplage DAX 8 / XAD 4. ....	33
Tableau I-9 : Valeurs du rapport AH/AF pour le lixiviat de Crézin, la solution de Tourbe, la solution de sol, l'eau de la Glane et l'eau de Villepanet. ....	40
Tableau I-10 : Répartition du carbone organique dissous dans les fractions HPO*, TPH* et HPI* du lixiviat de Crézin ayant séjourné 8 jours dans une cuve à l'air. ....	42
Tableau I-11 : Répartition de l'azote organique dissous dans les fractions HPO*, TPH* et HPI* du lixiviat de Crézin ayant séjourné 8 jours dans une cuve à l'air. ....	44

### Deuxième partie

Tableau II-1 : Contraintes requises au développement d'une procédure pour analyser la MO hydrophile par pyrolyse/CG/SM. ....	54
Tableau II-2 : Caractéristiques de l'illite, de la kaolinite et de la montmorillonite (Morel, 1996). ....	57
Tableau II-3 : Contraintes requises au développement d'une procédure pour analyser la MO hydrophile par pyrolyse/CG/SM. ....	61
Tableau II-4 : Identité et temps de rétention des monoesters méthyliques retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin et dans l'échantillon Bactéries. ....	64
Tableau II-5 : Identité et temps de rétention des diesters méthyliques retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin et dans l'échantillon Bactéries. ....	64
Tableau II-6 : Identité et temps de rétention des dérivés de structures p-hydroxyphényl, guaiacyl et syringyl ainsi que des fragments rapportés à la lignine retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin. ....	67
Tableau II-7 : Identité et temps de rétention des composés de type stéroïdes retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin. ....	70
Tableau II-8 : Identité et temps de rétention des composés d'origine bactérienne retrouvés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin et dans l'échantillon Bactéries. ....	71
Tableau II-9 : Identité et temps de rétention du composé azoté retrouvé dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin. ....	73
Tableau II-10 : Identité et temps de rétention du composé carboné retrouvé dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin. ....	74
Tableau II-11 : Identité et temps de rétention des composés, associés aux matières plastiques, identifiés dans les différentes fractions du lixiviat de Crézin. ....	75
Tableau II-12 : Concentrations de certains phtalates dans des lixiviats de Déchets d'Ordures Ménagères (DOM), de Déchets Industriels (DI) et de Déchets Plastiques (DP). ....	76
Tableau II-13 : Concentrations du bisphénol A dans des lixiviats de Déchets d'Ordures Ménagères (DOM), de Déchets Industriels (DI) et de Déchets Plastiques (DP). ....	78
Tableau II-14 : Identité et temps de rétention du composé organique xénobiotique retrouvé dans une des fractions du lixiviat de Crézin. ....	79

Tableau II-15 : Répartition des différents types de composés anthropiques identifiés au sein des fractions extraites du lixiviat. ....	80
Tableau II-16 : Identité et temps de rétention des composés carbonés, azotés et soufrés retrouvés dans les fractions du lixiviat de Crézin mais non attribués à une source. ....	81

### Troisième partie

Tableau III-1 : Principales méthodes permettant la détermination de la biodégradabilité de matières organiques dissoutes considérant le phénomène comme de l'assimilation bactérienne et de la minéralisation de composés organiques ou seulement comme de l'assimilation bactérienne. ....	96
Tableau III-2 : Recueil des microorganismes identifiés dans le lixiviat de Crézin et indication de leur présence dans les études de Hale Boothe et al. (2001) et de Pourcher et al. (2001). ....	104
Tableau III-3 : Estimation et détermination du Carbone Organique Dissous Biodégradable du lixiviat de Crézin et de l'eau de surface la Glane par les souches <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas fluorescens</i> . ....	113
Tableau III-4 : Estimation et détermination du Carbone Organique Assimilable du lixiviat de Crézin et de l'eau de surface la Glane par les souches <i>Bacillus subtilis</i> et <i>Pseudomonas fluorescens</i> . ....	118

### Quatrième partie

Tableau IV-1 : Potentiel de formation de divers oxydants (Troster et al., 2002) .....	134
Tableau IV-2 : Valeurs des potentiels de réduction de quelques composés organiques (Stumm & Morgan, 1970). ....	135
Tableau IV-3 : Composition de l'alliage d'aluminium 1050A selon le fournisseur (Duralinox) .....	139
Tableau IV-4 : Taux d'abattement en DCO obtenus par coagulation-floculation de lixiviats stabilisés, en cours de stabilisation et non stabilisés à l'aide de sels de fer et d'aluminium lors de diverses études. ....	142
Tableau IV-5 : Matrice d'expériences d'un plan d'expériences $L_9(3^4)$ (Taguchi, 1987). ....	146
Tableau IV-6 : Pourcentages d'abattement en ions chlorure lors de traitements par électrolyse et par électrocoagulation du lixiviat de Crézin. ....	149
Tableau IV-7 : Taux d'abattement en DCO obtenus par électrocoagulation de lixiviats stabilisés, en cours de stabilisation et non stabilisés à l'aide d'anodes en fer ou en aluminium lors de diverses études. ....	151
Tableau IV-8 : Valeurs et pourcentages d'élimination du CODB obtenus avec la souche <i>P. fluorescens</i> sur le lixiviat non traité et traité aux conditions optimales par coagulation, électrocoagulation et électrolyse. ....	158
Tableau IV-9 : Valeurs du COA obtenues avec la souche <i>P. fluorescens</i> sur le lixiviat non traité et traité aux conditions optimales par coagulation, électrocoagulation et électrolyse. ....	159
Tableau IV-10 : Valeurs du COA obtenues pour les fractions HPO* et HPI* après électrolyse du lixiviat. (incertitude sur le COA à $\pm 10\mu\text{g C.L}^{-1}$ ). ....	160
Tableau IV-11 : Liste des composés présents dans la fraction non traitée puis retrouvés après traitement par coagulation et électrocoagulation. ....	162
Tableau IV-12 : Liste des composés non présents dans la fraction non traitée et retrouvés après traitement par coagulation ou électrocoagulation. ....	163

## **Résumé**

Cette étude s'est intéressée à caractériser la Matière Organique (MO) d'un lixiviat, MO qui joue un rôle majeur dans les processus biogéochimiques et dans la mobilité des polluants au sein des décharges. Des protocoles de fractionnement par résines XAD ont été mis en place afin d'étudier et de comparer la répartition des éléments carbonés, azotés et de l'oxydabilité de cette MO avec diverses matières organiques de milieux naturels terrestres (sol, tourbe) et aquatiques (eau de surface et eau souterraine). Une identification des éléments de base de la MO du lixiviat (fractions extraites) a été réalisée par pyrolyse CG/SM après dérivation au TMAH. La matière organique la plus hydrophile a en outre fait l'objet d'une nouvelle procédure de conditionnement à la pyrolyse, basée sur la fixation sur une argile catalytique. Divers protocoles de mesure de la biodégradabilité ont été développés et appliqués sur des fractions extraites permettant une caractérisation originale de la MO au travers de sa réactivité biochimique. Une autre approche de caractérisation a consisté à étudier la réactivité chimique de la MO du lixiviat en utilisant des procédés de traitement que sont la coagulation-floculation et l'électrocoagulation.

## **Mots clés**

Matière Organique, lixiviat, fractionnement, pyrolyse, biodégradabilité, coagulation, électrocoagulation

## **Abstract**

This study was interested to characterise Organic Matter (OM) from a leachate, OM which plays a major role within landfills. Fractionation protocols by XAD resins were set up in order to compare the distribution of carbon-contained and nitrogen-contained elements and of the oxydability of this OM with various OM of terrestrial (soil, peat) and aquatic (surface water and groundwater) natural environments. The basic elements of the leachate OM were identified by pyrolysis GC/MS after TMAH derivation. The most hydrophilic OM was the subject of a procedure of conditioning to pyrolysis, based on a fixation on a catalytic clay. Biodegradability tests were developed for an original characterisation of OM based on its biochemical reactivity. Another approach of characterisation consisted in studying the chemical reactivity of OM by using treatment processes like coagulation-flocculation and electrocoagulation.

## **Key words**

Organic Matter, leachate, fractionation, pyrolysis, biodegradability, coagulation, electrocoagulation