

UNIVERSITE DE LIMOGES
ECOLE DOCTORALE Science - Technologie - Santé
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : Chimie et Microbiologie de l'Eau

Présentée et soutenue

par

Jérôme MICHON

Le 13 Décembre 2006

Etude de l'oxydation biologique de l'arsenic As(III)
par le consortium bactérien CAsO1 :
Mise au point de méthodes de détection et
Application à la détoxification d'effluents

Directeurs de Thèse :

M. C. DAGOT et Mme. V. DELUCHAT, Université de Limoges

JURY

Mme. M.C. LETT	Professeur à l'Université Louis Pasteur, Strasbourg (Rapporteur)
Mme. M.O. SIMONNOT	Professeur à l'INPL, Université de Nancy (Rapporteur)
Mme. B. WELTE	Ingénieur, Eau de Paris
Mme. M.C. DICTOR	Ingénieur Chercheur au BRGM, Orléans
M. M. BAUDU	Professeur à l'Université de Limoges
M. C. DAGOT	Professeur à l'Université de Limoges (Co-Directeur de Thèse)
Mme. V. DELUCHAT	Maître de Conférences à l'Université de Limoges (Co-Directeur de Thèse)

INVITE AU JURY

M. J. DELOUSTAL	Ingénieur, ACTREAD Environnement Limoges
-----------------	--

UNIVERSITE DE LIMOGES
ECOLE DOCTORALE Science - Technologie - Santé
FACULTE DES SCIENCES ET TECHNIQUES

THESE

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : Chimie et Microbiologie de l'Eau

Présentée et soutenue

par

Jérôme MICHON

Le 13 Décembre 2006

Etude de l'oxydation biologique de l'arsenic As(III)
par le consortium bactérien CAsO1 :
Mise au point de méthodes de détection et
Application à la détoxification d'effluents

Directeurs de Thèse :

M. C. DAGOT et Mme. V. DELUCHAT, Université de Limoges

JURY

Mme. M.C. LETT	Professeur à l'Université Louis Pasteur, Strasbourg (Rapporteur)
Mme. M.O. SIMONNOT	Professeur à l'INPL, Université de Nancy (Rapporteur)
Mme. B. WELTE	Ingénieur, Eau de Paris
Mme. M.C. DICTOR	Ingénieur Chercheur au BRGM, Orléans
M. M. BAUDU	Professeur à l'Université de Limoges
M. C. DAGOT	Professeur à l'Université de Limoges (Co-Directeur de Thèse)
Mme. V. DELUCHAT	Maître de Conférences à l'Université de Limoges (Co-Directeur de Thèse)

INVITE AU JURY

M. J. DELOUSTAL	Ingénieur, ACTREAD Environnement Limoges
-----------------	--

REMERCIEMENTS

Les travaux présentés dans ce mémoire ont été réalisés au Laboratoire des Sciences de L'Eau et de l'Environnement (LSEE) de l'Université de Limoges. Je remercie Mr Michel Baudu, Directeur du LSEE pour m'avoir accueilli en 2003 au sein de son équipe et pour avoir accepté de présider le Jury de cette soutenance.

Je tiens tout d'abord à remercier Monsieur le Professeur Christophe Dagot, qui a encadré cette thèse en me laissant une grande liberté et beaucoup d'autonomie. Je le remercie également pour sa disponibilité, la pertinence de ses remarques, la confiance qu'il m'a toujours témoigné et pour sa rigueur notamment lors de la rédaction.

Je veux témoigner mon immense gratitude à Madame Véronique Deluchat, Maître de Conférence à l'Université de Limoges, qui a co-encadré cette thèse. Je tiens à la remercier pour sa grande disponibilité ainsi que pour ses nombreux conseils et à lui exprimer toute ma reconnaissance pour sa bonne humeur, sa gentillesse et sa patience. Merci enfin pour tout ce qu'elle m'a apporté sur le plan des relations humaines, tant professionnelles que personnelles. J'espère juste que ce n'est pas une fin et que l'on aura encore l'occasion de travailler ensemble.

Je suis très reconnaissant à Mesdames Marie-Claire Lett, Professeur à l'Université de Strasbourg et Marie-Odile Simonnot, Professeur à l'INPL de Nancy, pour avoir accepté de rapporter ce travail de thèse. J'apprécie les commentaires constructifs que vous m'avez fourni lors de ma soutenance.

Je tiens également à remercier Madame Bénédicte Welté, Ingénieur et co-responsable du service Eau de Paris, de s'être déplacée jusqu'à Limoges pour assister à la soutenance de cette thèse ainsi que pour ses commentaires avisés.

Mes remerciements d'adressent également à Madame Marie-Christine Dictor du Service Environnement et Procédé du BRGM d'Orléans pour avoir acceptée d'examiner ce travail et pour sa collaboration au sein du projet RITEAU As-Thiox durant ces 3 années.

Merci également à Jérôme Deloustal, ingénieur au sein du bureau d'étude ACTREAD environnement pour sa présence dans mon jury de thèse et sa collaboration sur le projet RITEAU.

Je tiens également à exprimer toute ma reconnaissance à ceux qui ont contribué à la réalisation de ce travail :

Aux différents interlocuteurs et partenaires du projet RITEAU "As-Thiox". Je remercie ainsi plus particulièrement Mme Fabienne Battaglia-Brunet, Mr Francis Garrido, Mme Catherine Crouzet et Mr Pierre Gallé du BRGM d'Orléans ainsi que Mr Jean-Jacques Godon et Mlle Valérie Bru de l'INRA de Narbonne.

Mr Jean Claude Bollinger, Professeur au LSEE, et Mr Bernard Serpaud, Maître de conférences au LSEE, pour les échanges instructifs et leur étroite collaboration sur la thématique de l'arsenic.

Mr Shukry, pour son aide sur la partie analytique mais également pour ses conseils, sa disponibilité, son soutien lors des baisses de régime et sa vision de la vie : encore MERCI.

Mr Michel Redon, Mme Martine Casteignau et Mr Chaisemartin pour leur disponibilité et leur aide technique.

Christiane, Lourdès et Karine pour leur gentillesse, leur bonne humeur et les bons moments passés ensemble : ne vous inquiétez pas, je ne vous oublierai pas comme ça...

Un remerciement particulier aux trois Master Recherche qui ont participé à ce travail : Christelle, Arnaud et Julie. Merci pour la patience que vous m'avez accordée ainsi que pour le travail effectué pendant les soirées et les week-ends au laboratoire ou sur le pilote....

Merci également à ceux qui m'ont permis de m'intégrer facilement au sein du LSEE. Merci notamment à Gilles pour ses réflexions, son aide et ses dépannages toujours urgents...ah les problèmes informatiques. François pour toutes les discussions partagées et pour m'avoir fait découvrir et apprécier Limoges, les Limougeaux et la région.... ce n'était pas gagné au début. Jean-François pour m'avoir fait souffrir en VTT mais heureusement fait apprécier le cognac....

Merci à Stéphane pour ses conseils scientifiques mais aussi pour les soirées, les cinés (on se reverra pour Saw IV) et les bonnes bouffes partagées. Allez courage, dans quelques années tu diras : "Nous, à Limoges...."

Un grand merci à tous les membres, anciens et actuels, du LSEE pour ces années qui resteront inoubliables : Sophie, Sonia, Liliane, Virginie, Priscilla, Paul, Rémy, Sébastien, Eric, Daouda, Céline, Florence, Christophe, Martin, Moustapha , Didier...

Merci aux membres du bureau de l'Aquatech et à tous ses adhérents pour les moments partagés lors des manifestations.

Je tiens également à exprimer toute ma gratitude au Professeur Jean Louis Taverdet de l'Université de Saint-Etienne pour avoir cru en moi durant mes études et m'avoir lancé dans le monde de la recherche.

Trugarez am kariad Cyril pour m'avoir toujours encouragé et écouté et sans qui je n'aurai peut être pas atterri à Limoges...

Je ne saurais oublier ma famille et plus particulièrement mes parents et ma sœur qui ont su m'encourager et me soutenir et à qui je dédie ce travail en témoignage de ma profonde affection.

Enfin, je tiens à adresser mes derniers remerciements à toi Audrey, toi qui à toujours été là pendant ces 4 années...au début, pour rigoler, en tant que simple partenaire de squash (aïe mon épaule...), puis maintenant pour partager ma vie et mes sentiments.

Je ne peux terminer en ayant une petite pensée à Saint-Etienne (ne jamais oublier d'où l'on viens) et surtout : ALLEZ LES VERTS.

SOMMAIRE

PARTIE A : SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES	9
II - LES DIFFERENTES ORIGINES DE L'ARSENIC	10
II.1. Origines naturelles	10
II.2. Origines anthropiques	10
II.2.1. <i>L'arsenic dans l'atmosphère</i>	11
II.2.2. <i>L'arsenic dans l'eau</i>	11
III - SPECIATION ET TRANSFORMATION DE L'ARSENIC.....	14
III.1. Arsenic inorganique	15
III.2. Arsenic organique.....	17
IV - TOXICITE DE L'ARSENIC.....	18
V - METHODES D'ANALYSES DE L'ARSENIC DANS L'EAU.....	22
V.1. Méthodes d'analyses de l'As(Total).....	22
V.2. Méthodes d'analyses de l'As(III)	24
VI - REGLEMENTATION CONCERNANT L'ARSENIC.....	27
VI.1. Eaux destinées à la consommation humaine	27
VI.2. Effluents industriels et miniers.....	28
VII - ELIMINATION DE L'ARSENIC DANS LES EAUX DESTINEES A LA CONSOMMATION HUMAINE.....	30
VII.1. Adsorption	30
VII.1.1. <i>Adsorption sur colonne d'alumine activée</i>	30
VII.1.2. <i>Adsorption sur colonne d'oxyde de fer</i>	31
VII.1.3. <i>Adsorption sur les oxydes de manganèse</i>	32
VII.1.4. <i>Adsorption sur des composés mixtes</i>	33
VII.1.4.1. Adsorption sur un sable recouvert d'oxyde de manganèse et de fer.....	33
VII.1.4.2. Adsorption sur un support mixte fer-calcium	33
VII.1.5. <i>Adsorption sur le fer à la valence zéro</i>	33
VII.1.6. <i>Autres adsorbants</i>	35
VII.2. Coagulation-floculation et précipitation	36
VII.2.1. <i>Coagulation-floculation par les sels de fer</i>	37
VII.2.2. <i>Coagulation-floculation par les sels d'aluminium</i>	38
VII.2.3. <i>Autres coagulants</i>	39
VII.3. Décarbonatation à la chaux.....	39
VII.4. Les techniques membranaires.....	41
VII.5. Les résines échangeuses d'ions.....	43
VII.6. L'électrocoagulation	44
VII.7. L'électrodialyse	45
VII.8. L'immobilisation <i>in situ</i>	45

VIII - OXYDATION CHIMIQUE DE L'As(III) EN As(V)	49
VIII.1. Oxydation à l'air	50
VIII.2. Oxydation au peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂)	50
VIII.3. Oxydation à l'ozone (O ₃).....	51
VIII.4. Oxydation à l'hypochlorite de sodium (NaOCl)	51
VIII.5. Oxydation au permanganate de potassium (KMnO ₄).....	52
VIII.6. Oxydation au dioxyde de manganèse (MnO _{2(s)}).....	52
VIII.7. Oxydation au chlorure ferrique (FeCl ₃).....	53
VIII.8. Oxydation par la limaille de fer.....	54
VIII.9. Oxydation photochimique	54
IX - OXYDATION BACTERIENNE DE L'As(III) EN As(V)	57
IX.1. Oxydation bactérienne indirecte de l'As(III)	57
IX.2. Oxydation bactérienne directe de l'As(III)	61
IX.2.1. <i>Oxydation par des bactéries hétérotrophes</i>	61
IX.2.2. <i>Oxydation par des bactéries autotrophes</i>	66
IX.2.2.1. Bactéries chimiolithoautotrophes	66
IX.2.2.2. Bactéries du genre Thiomonas.....	67
X - CONCLUSION	72

PARTIE B : MATERIEL ET METHODES

I - REACTIFS	75
II - EAU SYNTHETIQUE	76
II.1. Protocole de préparation	76
II.2. Oxydation de l'As(III) dans l'eau synthétique	78
III - METHODES D'ANALYSES DE L'ARSENIC DANS L'EAU	79
III.1. Analyse de l'As(Total) par GF-AAS.....	79
III.1.1. <i>Appareillage</i>	79
III.1.2. <i>Logiciel d'auto-optimisation des températures ATOM[®]</i>	79
III.1.3. <i>Réactifs et solutions</i>	81
III.2. Analyse de l'As(III) par HG-AAS	82
III.2.1. <i>Appareillage</i>	82
III.2.2. <i>Réactifs et solutions</i>	83
III.3. Spéciation de l'arsenic par HPLC-HG-AFS	84
III.4. Conservation des échantillons	85
IV - CARACTERISATION DE LA POZZOLANE	86
IV.1. Analyse élémentaire de la pouzzolane	86
IV.2. Détermination de la surface spécifique	86
IV.3. Détermination de la capacité d'adsorption de la pouzzolane.....	87
IV.3.1. <i>Etude en réacteurs discontinus</i>	87
IV.3.2. <i>Etude en bioréacteur</i>	87

V - OXYDATION BACTERIENNE DE L'AS(III) PAR CASO1 EN BIOREACTEUR.....	88
V.1. Description de l'unité pilote	88
V.2. Principe de fonctionnement.....	88
V.3. Acquisition des données	89
VI - ETUDES DES CONDITIONS PHYSIQUES DE FONCTIONNEMENT DES BIOREACTEURS	91
VI.1. Rétention de l'eau	91
VI.2. Détermination des temps de séjour	91
VI.2.1. <i>Fonction de distribution des temps de séjour</i>	92
VI.2.2. <i>Distribution des temps de séjour dans un réacteur réel</i>	93
VI.2.3. <i>Procédure expérimentale</i>	94
VI.3. Détermination de la constante de transfert d'oxygène.....	95
VI.3.1. <i>Méthode en eau claire</i>	95
VI.3.2. <i>Méthode dynamique</i> :	97
VII - SUIVI EN BIOREACTEUR DE L'OXYDATION BACTERIENNE DE L'AS(III) PAR CASO1	98
VII.1. Préparation de l'inoculum CASO1 pour l'ensemencement du pilote	98
VII.1.1. <i>Préparation du milieu de culture de CASO1</i>	98
VII.1.2. <i>Remise en culture de la population CASO1</i>	100
VII.2. Inoculation des bioréacteurs	101
VII.3. Echantillonnage dans l'unité pilote.....	102
VII.4. Démontage des bioréacteurs	103
VII.4.1. <i>Prélèvement de la pouzzolane</i>	103
VII.4.2. <i>Teneur en matières volatiles en suspension (MVS)</i>	104
VII.4.3. <i>Cinétique d'oxydation de l'As(III) par la biomasse prélevée dans les bioréacteurs</i> ..	104
VII.4.4. <i>Caractérisation du consortium bactérien CASO1 par PCR-SSCP</i>	105
VIII -SUIVI <i>IN SITU</i> DE L'OXYDATION BACTERIENNE DE L'AS(III) PAR CASO1....	106
VIII.1. Présentation du site minier de Chéni-les Farges.....	106
VIII.2. Présentation du pilote ACTREAD	107

PARTIE C : RESULTATS EXPERIMENTAUX

CHAPITRE C₁ : OPTIMISATION DE L'ANALYSE D'As(TOT) ET D'As(III)

I - ANALYSE D'AS(TOT) PAR GF-AAS.....	113
I.1. Principe de l'analyse de l'arsenic par GF-AAS	113
I.2. Optimisation des conditions opératoires de l'analyse.....	114
I.2.1. <i>Conditions spectroscopiques</i>	114
I.2.2. <i>Programme thermique</i>	116
I.3. Performances analytiques	118
I.3.1. <i>Etalonnage</i>	118
I.3.2. <i>Limite de détection</i>	120
I.3.3. <i>Domaine de linéarité</i>	120
I.3.4. <i>Répétabilité</i>	120
I.3.5. <i>Réproductibilité</i>	121
I.3.6. <i>Interférences</i>	121

I.4. Validation de la méthode	123
I.5. Conclusion sur la technique GF-AAS optimisée	124
II - ANALYSE DE L'AS(III) PAR HG-AAS	126
II.1. Principe de l'analyse par HG-AAS.....	126
II.2. Analyse de l'arsenic total par HG-AAS	127
II.3. Optimisation de l'analyse d'As(III) par HG-AAS.....	128
II.3.1. Influence du pH.....	128
II.3.2. Effet de la concentration en acide citrique sur la génération d'arsine	129
II.3.3. Effet de la concentration en NaBH ₄	130
II.3.4. Paramètres instrumentaux	131
II.4. Performances analytiques	133
II.4.1. Etalonnage	133
II.4.2. Limite de détection	133
II.4.3. Domaine de linéarité.....	133
II.4.4. Répétabilité	133
II.4.5. Reproductibilité.....	133
II.4.6. Interférences	134
II.5. Validation de la méthode	134
II.6. Conclusion sur la technique HG-AAS optimisée	137
III - CONSERVATION DES ECHANTILLONS.....	138
III.1. Problématique.....	138
III.2. Protocole de conservation des espèces arsénées	138

CHAPITRE C₂ : CARACTERISATION DU MATERIAU SUPPORT ET DES BIOREACTEURS

I - SUIVI CINETIQUE DE L'OXYDATION D'AS(III) DANS L'EAU SYNTHETIQUE EN ABSENCE DE LA POPULATION CASO1	143
I.1. Influence de la température.....	143
I.2. Influence de l'air	146
I.3. Influence de la lumière sur l'oxydation d'As(III).....	147
II - CARACTERISATION DE LA POUZZOLANE.....	149
II.1. Analyse élémentaire du solide	149
II.2. Densité relative et porosité externe.....	150
II.3. Surface spécifique.....	150
II.4. Charge de surface et constantes d'acidité de la pouzzolane	150
II.4.1. Mesure du pH _{zpt}	150
II.4.2. Mesure des constantes d'acidité	151
II.5. Capacité d'échange cationique	152
II.6. Etude de la capacité d'adsorption de la pouzzolane	152
II.6.1. Etude en réacteurs discontinus	153
II.6.2. Etude en bioréacteurs	155
II.7. Etude de la capacité d'oxydation de la pouzzolane en bioréacteur	155
III - ETUDES DES CONDITIONS PHYSIQUES DE FONCTIONNEMENT DES BIOREACTEURS D'OXYDATION BACTERIENNE D'AS(III)	157
III.1. Description de l'unité pilote	157

III.1.1. Prédimensionnement	157
III.1.2. Principe de fonctionnement	158
III.2. Détermination du volume utile de chacun des bioréacteurs	158
III.2.1. Rétention de l'eau	160
III.2.2. Détermination des temps de séjour	162
III.2.3. Détermination de la constante de transfert d'oxygène	168
III.2.3.1. Bioréacteur non ensemencé	168
III.2.3.2. Détermination de la constante de transfert dans un bioréacteur ensemencé par la population CAsO1	170

CHAPITRE C₃ : OXYDATION BACTERIENNE D'AS(III) PAR CAsO1

I - SUIVI DE L'OXYDATION BACTERIENNE D'AS(III) EN BIOREACTEUR PAR LE CONSORTIUM CAsO1	175
I.1. Inoculation des bioréacteurs	176
I.1.1. Inoculation de la 1 ^{ère} campagne (Juillet - Novembre 2005)	176
I.1.2. Inoculation de la 2 ^{ème} campagne (Janvier - Mars 2006)	178
I.2. Suivi de l'oxydation bactérienne après inoculation	179
I.3. Dosage de l'arsenic organique	181
I.4. Suivi du pH et du potentiel redox	181
I.5. Influence de la température	183
I.6. Influence de la conductivité	184
I.7. Influence du temps de séjour	185
I.7.1. Influence du temps de séjour après inoculation	185
I.7.2. Influence du temps de séjour durant le suivi du pilote	188
I.7.2.1. Influence du temps de séjour en sortie de bioréacteurs	188
I.7.2.2. Influence du temps de séjour au sein des bioréacteurs	190
I.8. Etude de l'influence de la concentration en As(III) sur les performances d'oxydation	192
I.8.1. Performances en sortie de bioréacteur	193
I.8.2. Performances au sein des bioréacteurs	194
I.9. Etude de l'influence de la variation du temps de séjour et de la concentration en As(III)	196
II - CARACTERISATION DE LA BIOMASSE APRES L'ARRET DES BIOREACTEURS.	199
II.1. Suivi de l'oxydation bactérienne de As(III) en réacteur discontinu	199
II.2. Caractérisation de l'évolution potentielle du consortium bactérien CAsO1 par PRC-SSCP	202
III - SUIVI DE L'OXYDATION BACTERIENNE DE AS(III) EN BIOREACTEUR PAR LE CONSORTIUM CAsO1 A L'ECHELLE INDUSTRIELLE	206

PARTIE D : CONCLUSION ET PERSPECTIVES

FIGURES

Figure 1 : Répartition mondiale de la pollution par l'arsenic (source : Chakraborti <i>et al.</i> , 2002)	13
Figure 2 : Principales espèces arsénisées détectées dans l'environnement	14
Figure 3 : Diagramme d'équilibre (Eh, pH) pour les espèces aqueuses arsénisées (source : Lombi <i>et al.</i> , 1999).....	16
Figure 4 : Métabolisme des espèces arsénisées chez les eucaryotes (d'après Simeonova <i>et al.</i> , 2004)	20
Figure 5 : Modèle de l' <i>arsénite oxydase</i> , avec les sites actifs, les co-facteurs et les enchaînements des acides aminés (source : Silver et Phung, 2005)	64
Figure 6 : Arbre phylogénétique des gènes d'ADNr SSU de la souche <i>Thiomonas</i> b6 et des principales autres α - et β -protéobactéries oxydant As(III) (source : Battaglia-Brunet <i>et al.</i> , 2006a).....	70
Figure 7: Système de dosage en HG-AAS.....	83
Figure 8 : Synoptique du pilote d'oxydation biologique des eaux arsénisées.....	90
Figure 9 : Représentation des distributions de temps de séjour. (a) : Réponse à une injection- impulsion, (b) : Réponse à une injection-échelon (source : Villermaux, 1993)	94
Figure 10 : Représentation de l'évolution de la concentration en oxygène dissous lors de l'application de la méthode en eau claire.....	96
Figure 11 : Représentation de l'évolution de la concentration en oxygène dissous lors de l'application de la méthode dynamique	97
Figure 12 : Hauteur de prélèvement des échantillons dans chaque bioréacteur	102
Figure 13 : Hauteur de prélèvement de la pouzzolane dans chaque bioréacteur	103
Figure 14 : Vue satellite du site minier de Chéni-les-Farges (87) (source : Google Earth).....	106
Figure 15 : Synoptique du Pilote ACTREAD.....	108
Figure 16 : Spectres d'absorption atomique obtenus par GF-AAS, pour un échantillon contenant 5 $\mu\text{g}(\text{As}).\text{L}^{-1}$. Analyse réalisée avec une lampe à cathode creuse classique (A), avec une lampe à cathode creuse haute intensité (UltrAA-Lamp [®]) (B).....	115
Figure 17 : Interférences des ions SO_4^{4-} (a) et des ions SO_4^{2-} et PO_4^{3-} (b) sur la détermination d'As(Tot) pour une concentration en arsenic de $4 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}$ (une absorbance normalisée de 100 correspond à une réponse obtenue sans interférence).....	122
Figure 18 : Influence du pH sur le signal d'absorption de l'arsenic (III) et de l'arsenic (V)	128
Figure 19 : Influence de la concentration en acide citrique sur l'absorbance liée à l'As(III) et l'As(V)	130
Figure 20 : Influence de la concentration en réducteur (NaBH_4) sur l'absorbance liée à As(III) et As(V).....	131
Figure 21 : Evolution au cours du temps de la concentration en As(III) et As(Tot) pour des échantillons acidifiés (HCl , HNO_3^-) ou non.....	139
Figure 22 : Evolution de la concentration en As(III) dans l'eau synthétique en fonction de la température.....	144
Figure 23 : Variation, dans l'eau synthétique enrichie à $100 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}$ en As(III), de la durée de la phase de latence et de la vitesse d'oxydation lors des suivis des cinétiques d'oxydation des arsénites.....	145
Figure 24 : Evolution de la concentration en As(III) dans l'eau synthétique en fonction du contact avec l'air, à 22°C	146

Figure 25 : Evolution de la concentration en As(III) dans l'eau synthétique en fonction de la lumière, à 22°C	148
Figure 26 : Mesure de la charge de surface de la pouzzolane.....	151
Figure 27 : Mesure des constantes d'acidité de la pouzzolane	152
Figure 28 : Evolution de la concentration en arsenic dans 1L d'eau synthétique enrichie à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en As(III), en contact avec 100 g de pouzzolane, à 22°C, sous agitation	154
Figure 29 : Schéma des trois bioréacteurs composant l'unité pilote.....	159
Figure 30 : Evolution de la conductivité en réponse à : une injection échelon pour un bioréacteur alimenté de façon ascendante à un débit de 40 mL.min^{-1} (a) et à une purge échelon pour un bioréacteur alimenté de façon descendante à un débit de 180 mL.min^{-1} (b)	163
Figure 31 : Evolution de F(t) et E(t) pour un bioréacteur alimenté de façon ascendante à un débit de 40 mL.min^{-1} (réponse à une injection échelon) (a) et pour un bioréacteur alimenté de façon descendante à un débit de 180 mL.min^{-1} (réponse à une purge échelon) (b).....	165
Figure 32 : Bioréacteur C2 rempli d'eau, à 18°C, sans matériau support. (a) : variation de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps. (b) : variation de $\text{Ln}(C^*-C_L)$ en fonction du temps.....	169
Figure 33 : Bioréacteur C2, à 18°C, avec matériau support, mais sans ensemencement. (a) variation de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps. (b) : variation de $\text{Ln}(C^*-C_L)$ en fonction du temps.....	170
Figure 34 : Bioréacteur avec matériau support et avec ensemencement, à 23°C. (a) : variation de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps. (b) : variation de C_L en fonction de $r_{O_2X} + dC_L/dt$	171
Figure 35 : Evolution de la concentration en As(V) et en As(III) en sortie des bioréacteurs C1, C2 et C3	177
Figure 36 : Evolution de la concentration en As(V) et en As(III) en sortie des bioréacteurs C1, C2 et C3	179
Figure 37 : Evolution de la concentration en As(III) dans les bioréacteurs C1 et C2 en fonction de la distance par rapport à l'alimentation, pour un temps de séjour de 10h, à 11°C, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III).....	180
Figure 38 : Variation, dans le réservoir R1 et dans le bioréacteur C1, lors de la seconde campagne de mesure, du pH (a) et du potentiel redox (b)	182
Figure 39 : Evolution de la concentration en As(III) dans le bioréacteur C2 en fonction de la température et de la distance par rapport à l'alimentation pour un temps de séjour de 10 h, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III)	184
Figure 40 : Evolution de la concentration en As(III) dans le bioréacteur C2 en fonction de la conductivité et de la distance par rapport à l'alimentation pour un temps de séjour de 10 h, à 11°C, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III)	185
Figure 41 : Evolution du pourcentage d'As(III) oxydé aux points M-150 dans le bioréacteur C1 (a), et en D-50 (b) et D-250 (c) dans le bioréacteur C2, pour des temps de séjour post-inoculation de 10 h et 50 h, en fonction du nombre de jours suivant l'inoculation pour une alimentation avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III), à 11°C, en fonction du temps de séjour.....	187
Figure 42 : Influence du temps de séjour sur l'efficacité de l'oxydation d'As(III) dans les bioréacteurs C1 (a), C2 (b) et C3 (c), à 11°C, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III).....	189
Figure 43 : Evolution du pourcentage d'As(III) oxydé au sein des bioréacteurs C1 (a), C2 (b), C3 (c), à 11°C, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III), en fonction du temps de séjour et de la durée de fonctionnement du pilote (1j, 5j).....	191

Figure 44 : Evolution de la concentration en As(III) au sein du bioréacteur C2 en fonction du ratio As(III)/As(V), pour un temps de séjour de 5h, à 11°C, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III).....	193
Figure 45 : Evolution du pourcentage d'As(III) oxydé dans les bioréacteurs C1 (a), C2 (b) et C3 (c), pour un temps de séjour de 2h, à 11°C, en fonction de la concentration en As(III) dans l'eau synthétique.....	195
Figure 46 : Evolution du pourcentage d'As(III) oxydé en fonction de la charge appliquée au sein des bioréacteurs C1 (a), C2 (b) et C3 (c), dans l'eau synthétique, à 11°C.....	197
Figure 47 : Cinétiques d'oxydation obtenues avec le support "Pouzzolane + Biofilm" collecté dans les bioréacteurs C1 (a), C2 (b), C3 (c) lors des tests d'activité réalisés à 22°C et 10% en masse de support dans l'eau synthétique enrichie à $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ en As(III).....	200
Figure 48 : Profil SSCP de la Population CAsO1.....	203
Figure 49 : Caractérisation par un suivi PCR-SSCP de la biomasse prélevée, lors de la seconde campagne d'étude, dans le bioréacteur C2.....	203
Figure 50 : Analyse en Composantes Principales des résultats obtenus par PCR-SSCP, lors de la première campagne d'étude d'oxydation bactérienne en bioréacteur.....	204

TABLEAUX

Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques de l'arsenic.....	9
Tableau 2 : pKa et degré d'oxydation des principales espèces arsénées	15
Tableau 3 : Doses létales de différents composés arsénés chez la souris et le hamster.....	18
Tableau 4 : Classement des toxicités des différentes formes arsénées	19
Tableau 5 : Paramètres analytiques obtenus par différentes techniques de détection de l'arsenic inorganique dans les échantillons d'eau durant les 10 dernières années	26
Tableau 6 : Normes nationales relatives à la concentration maximale en arsenic dans les eaux destinées à la consommation humaine	28
Tableau 7 : Les différents mécanismes d'élimination de l'arsenic par FeO.....	34
Tableau 8 : Influence de la nature des sels d'aluminium utilisés pour le traitement de l'As(V).....	39
Tableau 9 : Comparatif des différentes techniques de traitement pour l'élimination de l'arsenic dans l'eau.....	48
Tableau 10 : Présentation des différents oxydants chimiques de l'As(III) en As(V).....	56
Tableau 11 : Principales bactéries et archaeobactéries hétérotrophes capables d'oxyder l'As(III) en As(V).....	65
Tableau 12 : Caractéristiques de l'eau synthétique.....	77
Tableau 13 : Liste des réactifs et gaz utilisés pour l'analyse de l'As(Tot) en GF-AAS.....	81
Tableau 14 : Liste des réactifs et gaz utilisés pour l'analyse de l'As(III) en HG-AAS.....	84
Tableau 15 : Composition de la solution A.....	98
Tableau 16 : Composition de la solution B.....	99
Tableau 17 : Composition de la solution d'oligo-éléments	99
Tableau 18 : Milieu de culture de la population CAsO1	100
Tableau 19 : Caractéristiques de l'eau à oxyder issue du piézomètre PZ 32.....	107
Tableau 20 : Résultats obtenus avec le logiciel ATOM [®] lors de l'optimisation du programme thermique pour la détermination de l'arsenic par GF-AAS.....	117
Tableau 21 : Programme électrothermique utilisé pour le dosage de l'arsenic par GF-AAS.....	118
Tableau 22 : Comparaison des résultats obtenus pour le dosage de l'As inorganique.....	119
Tableau 23 : Détermination de la concentration en arsenic total, par la méthode optimisée, dans l'eau synthétique et dans trois échantillons prélevés près de Limoges, enrichis ou non en As(V)	123
Tableau 24 : Comparaison des performances et caractéristiques obtenues entre la technique de dosage par GF-AAS optimisée lors de cette étude et deux autres méthodes couramment utilisée pour le dosage de l'arsenic inorganique	125
Tableau 25 : Caractéristiques des paramètres instrumentaux utilisés pour le dosage de l'As(III), entre 1 et 20 µg.L ⁻¹ , par la méthode HG-AAS.....	132
Tableau 26 : Concentration en arsenic total, déterminée par GF-AAS, et en As(III), déterminée par HG-AAS, dans une eau synthétique enrichie en As(III) et As(V)	135
Tableau 27 : Concentration en arsenic total déterminée par GF-AAS et As(III) déterminée par HG-AAS dans l'échantillon réel S1, prélevé près de Limoges, et enrichie successivement en As(III) et As(V)	136
Tableau 28 : Analyse des principaux composés chimiques de la pouzzolane	149
Tableau 29 : Analyse des principaux oxydes présents dans la pouzzolane	150
Tableau 30 : Capacité de rétention des différents bioréacteurs (L)	160
Tableau 31 : Conditions opératoires utilisées pour la détermination de la DTS dans les trois bioréacteurs.....	162
Tableau 32 : Temps de séjour réels obtenus dans les trois bioréacteurs en fonction du débit d'alimentation; comparaison avec les temps de séjour théorique	167

Tableau 33 : Paramètres expérimentaux de la phase d'inoculation des bioréacteurs	176
Tableau 34 : Cinétique d'oxydation ($\mu\text{g (As(III)).L}^{-1}.\text{min}^{-1}$), obtenues pour les bioréacteurs C1, C2 et C3, en fonction de la zone de prélèvement du support "Pouzzolane + Biofilm" dans les différents bioréacteurs	201

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

L'eau, ressource naturelle indispensable à la vie, est aussi devenue, de manière directe ou induite, la première cause de mortalité et de maladies au monde. En France, la qualité des eaux, et d'une façon générale, des milieux aquatiques, doit être évaluée aujourd'hui dans le contexte de la directive cadre européenne du 23 octobre 2000 qui impose une révision profonde des méthodes d'analyse et des objectifs de qualité attendus : en 2015, la ressource en eau, toutes catégories confondues (cours d'eau, eaux souterraines, eaux littorales...) doit être en « bon état » (Rapport Sénatorial, 2002).

L'Arsenic est un métalloïde largement répandu dans la nature et l'eau en est une des principales source de dissémination (via la dissolution de minerais riches en arsenic ou d'activités industrielles telles que l'extraction minière, l'utilisation de combustibles fossiles, le traitement du bois...) et d'exposition, notamment sous sa forme inorganique. Dès les années 80, ce dernier est classé cancérigène pour l'homme par le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) et par l'Agence de Protection de l'Environnement américaine (US EPA).

Dans le monde, et particulièrement dans les pays en développement tel que le Bangladesh, on a constaté les dangers de l'ingestion d'arsenic liés à la contamination des forages destinés à la fourniture d'eau propre engendrant, d'après un rapport de l'OMS, le plus grand empoisonnement de l'histoire. En France, certains sites se révèlent être riches en arsenic et ont fait l'objet d'investigations à Ferrette dans le haut Rhin (contamination naturelle) ou dans la région de Salsigne, dans l'Aude (exploitation d'industries minières et métallurgiques), mais également dans d'autres départements bordant des zones géologiques dite de socle. Le bilan mené en France sur 44 départements révélait que 200 000 personnes étaient desservies par des eaux à teneur en arsenic supérieure à la norme.

En conséquence, la réglementation concernant la teneur maximale admissible en arsenic dans les eaux destinées à la consommation humaine a été réduite de 50 à 10 $\mu\text{g.L}^{-1}$, voire 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Cependant, cette réglementation concerne la concentration en arsenic total, alors que la toxicité de l'arsenic dépend de sa spéciation (formes organiques ou inorganiques et degré d'oxydation), l'arsenic (III) étant reconnu par les instances sanitaires comme plus toxique que l'arsenic (V). Outre l'aspect toxicologique, la connaissance de la spéciation de l'arsenic devient fondamentale lors de la définition des modes de traitement à appliquer.

Il existe en effet de nombreuses propositions de solutions techniques chimiques, physico-chimiques, biologiques de traitement de l'arsenic. Cependant, celles-ci se heurtent bien souvent à leur faisabilité technico-économique et, de plus, bon nombres des procédés de traitement sont plus efficaces vis-à-vis de l'élimination d'As(V) que d'As(III). En toute logique, le traitement des eaux contaminées en arsenic, devrait comporter à minima une étape de détoxification consistant à l'oxydation de l'As(III) en As(V).

En conséquence, et étant données les contraintes environnementales, sanitaires, technico-économiques, et dans le cadre d'un développement durable et maîtrisé, le projet RITEAU As-Thiox, a pour objet la mise au point d'un procédé d'oxydation de l'As(III) par des bactéries du cycle du soufre, apparentées au genre *Thiomonas*, (traitements moins coûteux et éventuellement plus simples en terme d'exploitation), bactéries qui utilisent l'As(III) comme source d'énergie. Un consortium bactérien, noté CAsO1, a été isolé par une équipe du BRGM sur l'ancien site minier de Chéni (87), susceptible de correspondre au cahier des charges.

Quatre organismes participent à ce projet : le BRGM d'Orléans, la société ACTREAD Environnement, basée à Limoges, le LBE de l'INRA de Narbonne et le Laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement de Limoges (LSEE).

Le travail de recherche rapporté dans ce document permet l'évaluation d'un procédé biologique de détoxification d'effluents ou d'eaux de ressources arséniées, de l'échelle laboratoire à l'échelle du pilote semi-industriel sur site, en y associant la mise au point de techniques analytiques performantes et adaptées au contexte. Principalement, les performances du consortium sélectionné seront évaluées en réacteur pilote, suivant le cahier des charges correspondant au traitement de ressources en eau à des fins de potabilisation ou d'effluents contaminés en arsenic.

Après une synthèse bibliographique concernant les propriétés et le dosage de l'arsenic, la réglementation et les procédés de traitement de l'arsenic dans les eaux, les matériels et méthodes utilisés dans le cadre de cette étude seront présentés.

La partie résultat sera scindée en trois chapitres :

- l'optimisation de méthodes de dosage de l'arsenic total et de l'As(III) par Spectrométrie d'Absorption Atomique sera présentée,
- la caractérisation du matériau de garnissage des bioréacteurs servant de support à la population bactérienne CAsO1 ainsi que les conditions de fonctionnement des bioréacteurs d'oxydation biologique utilisés,
- le suivi des performances d'oxydation de la population CAsO1, en réacteur pilote, alimenté par une eau reconstituée; une courte présentation des premiers essais sur site minier est également rapporté.

Les conclusions de l'étude et les nombreuses perspectives qui s'ouvrent à l'issue de cette étude, en terme de procédé, de suivi des performances, d'optimisation et d'extrapolation, seront finalement exposées.

PARTIE A :

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

La synthèse bibliographique s'attachera à présenter dans un premier temps des généralités sur l'élément chimique Arsenic à travers ses propriétés physico-chimiques, son origine, sa toxicité ainsi que sur la législation en vigueur et les différentes techniques d'analyse.

Dans un deuxième temps, un état de l'art des différents procédés d'élimination de ce micropolluant dans l'eau sera présenté avec une attention particulière pour les petites installations de traitement.

Enfin, après une description succincte des procédés d'oxydation chimique de l'As(III) en As(V), l'oxydation bactérienne de l'As(III) en As(V) sera développée.

I - PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES

L'arsenic (As), élément découvert par Albertus Magnus en 1250, est naturellement présent dans l'environnement. L'arsenic natif existe sous trois formes allotropiques : jaune (α); noire (β) et grise (γ). La forme γ , forme la plus stable et la plus commune, cristallise dans le système rhomboédrique. L'arsenic, dans ce cas, apparaît sous un aspect gris métallique, assez cassant. Appartenant au groupe Va de la classification périodique, il possède des propriétés communes avec les éléments de cette famille (azote, phosphore, bismuth, antimoine). L'électronégativité de cet élément est trop élevée pour lui conférer un caractère métallique : l'arsenic appartient au groupe des métalloïdes. Quelques propriétés physico-chimiques de l'élément arsenic sont présentées dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Propriétés physico-chimiques de l'arsenic

Numéro atomique	33						
Masse moléculaire	74,9216						
Configuration électronique	[Ar]3d ¹⁰ 4s ² 4p ³						
Degrés d'oxydation	-III, 0, +III, +V						
Principaux isotopes	71	72	73	74	75	76	77
Durée de $\frac{1}{2}$ vie	2,72 j	26,0 h	80,3 j	17,8 j	∞	26,3 h	38,8 h

La chimie de l'arsenic est fondée sur les propriétés de ses oxydes et sur leurs capacités à former des sels avec de nombreux cations (Fe, Mn, Al). Ses possibilités d'établir des liaisons covalentes stables avec l'hydrogène et le carbone sont à la base d'une grande variété de composés organiques de l'arsenic, d'origine naturelle ou anthropique.

II - LES DIFFERENTES ORIGINES DE L'ARSENIC

II.1. Origines naturelles

L'arsenic est naturellement présent dans l'environnement. Les teneurs en arsenic dans la croûte terrestre sont de l'ordre de 1 à 3 mg.kg⁻¹, ce qui correspond au 20^{ème} rang en terme d'abondance (Mandal et Suzuki, 2002). La concentration moyenne d'arsenic évaluée dans les sols se situe entre 5 et 6 mg.kg⁻¹ (Mandal et Suzuki, 2002; Wang et Mulligan, 2006). Cette teneur est très variable en fonction de la nature du sol et de l'activité humaine (Liao *et al.*, 2005).

Les flux naturels d'arsenic dans l'environnement représentent entre 2800 t.an⁻¹ et 8000 t.an⁻¹ (Loebenstein, 1994). Les sources naturelles les plus communes de cet élément sont les éruptions et les roches volcaniques, les roches sédimentaires marines, les eaux souterraines et les combustibles fossiles (charbon, pétrole) (Mandal et Suzuki, 2002; Smedley et Kinniburgh, 2002; Wang et Mulligan, 2006). L'arsenic est également présent dans plus de deux cents minéraux, le plus souvent associé à des composés sulfurés ou à certains métaux tels que l'or, l'argent, le cobalt, le plomb, le zinc ou le cuivre (Mandal et Suzuki, 2002; Smedley et Kinniburgh, 2002; Kim *et al.*, 2002). Les minéraux primaires les plus fréquents sont l'arsénopyrite (FeAsS), le réalgar (AsS) et l'orpiment (As₂S₃). L'arsenic étant souvent associé aux dépôts d'antimoine, bismuth, cadmium, cobalt, fer, mercure, molybdène, nickel, or, platine, plomb, sélénium, tungstène, uranium, zinc; il a été utilisé comme indicateur dans le domaine de la prospection minière, notamment dans la prospection de l'or.

La dissolution de l'arsenic dans l'eau peut être attribuée à des processus géochimiques naturels, incluant l'oxydation des minéraux sulfurés, la désorption de l'arsenic à partir d'oxyhydroxydes de fer, de manganèse et d'aluminium, des remontées de sources thermales le long des failles (Jain et Ali, 2000; Mandal et Suzuki, 2002; Smedley et Kinniburgh, 2002; Wang et Mulligan, 2006). Ainsi, des concentrations d'arsenic élevées apparaissent localement, influencées par des situations hydro-géologiques particulières (Rodriguez *et al.*, 2004).

La présence d'arsenic dans l'atmosphère est généralement liée à l'activité volcanique, aux feux de forêts et à la volatilisation via des microorganismes (Molénat *et al.*, 2000).

II.2. Origines anthropiques

Les fonderies, la combustion du charbon, l'exploitation minière (principalement de l'or), ainsi que différentes activités industrielles constituent la majorité des apports d'arsenic dans l'environnement.

Les émissions d'arsenic sont comprises entre 24 000 t.an⁻¹ et 124 000 t.an⁻¹ (Loebenstein, 1994), soit 3 à 50 fois plus que les émissions naturelles. L'essentiel de la production mondiale d'arsenic réside dans la production de trioxyde d'arsenic (As₂O₃) à hauteur de 40 000 t.an⁻¹ pour l'année 1999 (Reese, 2000).

II.2.1. L'arsenic dans l'atmosphère

La concentration moyenne d'arsenic dans l'air est de 0,02 à 4 ng.m⁻³ pour les zones reculées et en milieu rural. En zone urbaine, des concentrations supérieures à 50 ng.m⁻³ ont été enregistrées en Europe (European Commission, 2001) alors qu'aux Etats-Unis des concentrations beaucoup plus fortes (> 1000 ng.m⁻³) ont pu être relevées à proximité de sites industriels (WHO, 2001).

L'arsenic étant présent dans les minerais de cuivre, le grillage et le raffinage ultérieur de ces derniers représentent la contribution la plus importante à la pollution atmosphérique : 12 800 t.an⁻¹ (Matschullat, 2000). Les contaminations localisées près de ces fonderies (Ferguson et Gavis, 1972) indiquent que la majeure partie de l'arsenic contenu dans les fumées est rapidement éliminée par les dépôts secs ou par les précipitations.

La combustion du charbon dans le cadre du chauffage domestique est la deuxième source de pollution atmosphérique. La teneur en arsenic dans le charbon varie de 1 mg.kg⁻¹ à plus de 3500 mg.kg⁻¹ (Ding *et al.*, 2001). Selon Sterling et Helble (2003), la combustion du charbon représente entre 2 et 5% des émissions totales d'arsenic. Lors d'une utilisation domestique, des intoxications par inhalation ont été constatées. Ding *et al.* (2001) ont démontré que plus de 3000 personnes ont été intoxiquées dans la province du Guizhou (Chine) par chauffage au charbon. Si la teneur en arsenic dans le pétrole est inférieure à 0,2 mg.kg⁻¹ (Brandstetter *et al.*, 2000), la grande consommation de ce matériau fossile en fait également une source importante d'arsenic dans le milieu naturel.

II.2.2. L'arsenic dans l'eau

La concentration moyenne en arsenic dans les océans est de l'ordre de 1 à 2 µg.L⁻¹ (Nakazato *et al.*, 2002). Dans les eaux douces non polluées, la teneur moyenne en arsenic est inférieure à 10 µg.L⁻¹ (Mandal et Suzuki, 2002). Cependant, les teneurs observées sont différentes selon qu'il s'agit d'eaux souterraines, de rivière ou estuariennes ainsi que selon la nature du sol traversé (Smedley et Kinniburgh, 2002; Duker *et al.*, 2005).

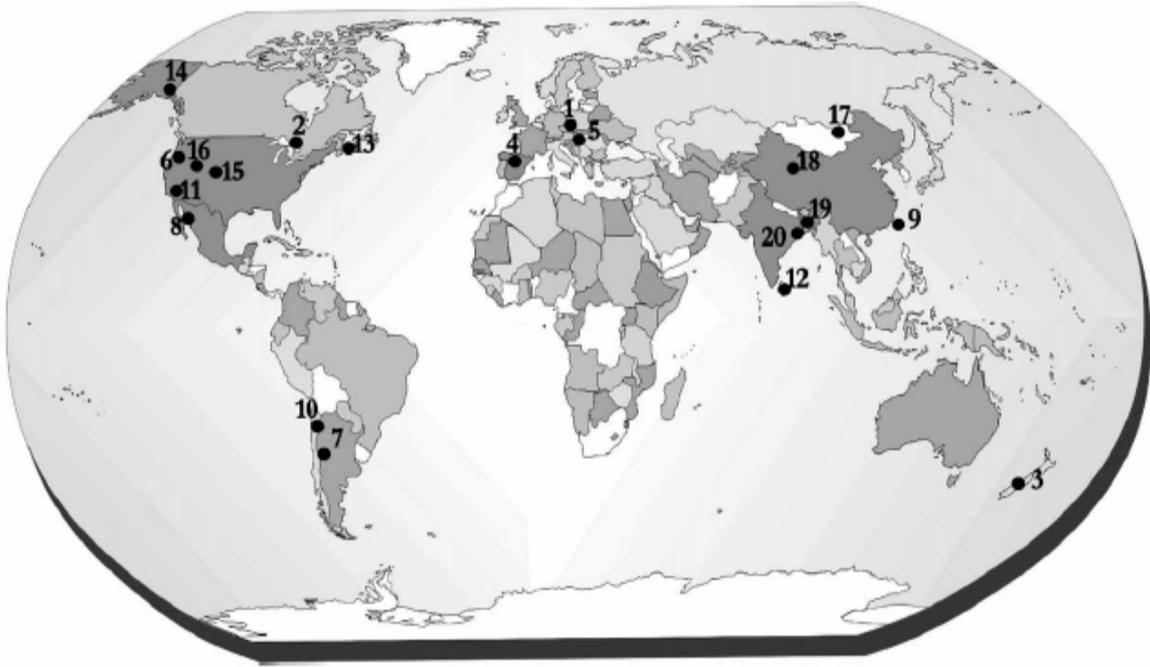
Dans le cas des eaux souterraines, cette importante variabilité des concentrations est illustrée par une étude récente de Gong *et al.* (2006) : les valeurs déterminées par ces auteurs varient en effet de 1 à 1000 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

Néanmoins, si les concentrations en arsenic dans les eaux sont fortement dépendantes des conditions géochimiques et de l'environnement aquatique, les apports anthropiques ont une influence très significative (Anawar *et al.*, 2003). En effet, les apports d'arsenic dans les eaux en provenance des activités humaines sont liés d'une part, à la production et à l'usage de cet élément ou de produits chimiques dérivés, d'autre part, au fait que l'arsenic constitue l'un des sous-produits majeurs de la métallurgie des métaux non-ferreux (Cu, Zn, Co, Au, Pb). Ainsi, la lixiviation par les eaux de pluie de stériles miniers ou de zones de stockage de produits arséniés peut conduire à la contamination des eaux souterraines, des rivières ainsi que des lacs.

De plus, si aujourd'hui l'utilisation des arséniates de plomb, de calcium, de magnésium et de zinc n'est plus autorisée dans le domaine agricole, l'arsenic est toujours utilisé dans la fabrication de produits phytosanitaires herbicides (Duker *et al.*, 2005; Pichard *et al.*, 2005). L'arsenic est également employé pour traiter le bois avec des produits comme les arséniates de plomb, de calcium et de sodium et surtout le CCA (Cuivre Chrome Arsenic), un arséniate de cuivre chromé. Enfin, l'arsenic est couramment utilisé comme agent décolorant dans l'industrie du verre, en tant que composant d'alliage métallique, dans certains traitements médicaux et en électronique (Pichard *et al.*, 2005).

Il apparaît donc que des concentrations très fortes en arsenic sont relevées dans les aquifères de nombreuses régions du monde (Figure 1). Cependant, les pays les plus exposés aux problèmes de contaminations d'arsenic dans les eaux sont le West Bengale en Inde et le Bangladesh (Chakraborti *et al.*, 2002; Pal *et al.*, 2002).

En effet, plus de 200 000 personnes au West Bengale et près de 40 millions de personnes au Bangladesh sont exposées à des eaux chargées en arsenic (Sracek *et al.*, 2004). La principale voie d'exposition a lieu via l'ingestion directe d'eau ou par son utilisation dans la cuisine ou l'irrigation.



1. Pologne; 2. Canada; 3. Nouvelle Zélande; 4. Espagne; 5. Hongrie; 6 Oregon (USA); 7. Argentine; 8. Mexique; 9. Taiwan; 10. Chili; 11. Californie (USA); 12. Sri Lanka; 13. Canada; 14. Alaska (USA); 15. Utah (USA); 16. Nevada (USA); 17. Mongolie Intérieure; 18, Chine; 19. Bangladesh; 20. West Bengale (Inde).

**Figure 1 : Répartition mondiale de la pollution par l'arsenic
(source : Chakraborti et al., 2002)**

III - SPECIATION ET TRANSFORMATION DE L'ARSENIC

L'arsenic peut se trouver dans l'environnement sous quatre degrés d'oxydation : As(-III) (arsine), As(0) (arsenic métallique), As(III) (arsénite) et As(V) (arséniate). Ainsi, il est important de pouvoir pondérer la concentration totale en arsenic dans un milieu donné par sa spéciation car en découle la solubilité, la biodisponibilité et la toxicité de l'arsenic. On classe les dérivés d'arsenic en deux familles distinctes : les composés purement minéraux ou inorganiques (composés les plus répandus dans l'eau) et les composés organométalloïdiques. Les formules des espèces les plus couramment détectées dans l'environnement sont présentées Figure 2.

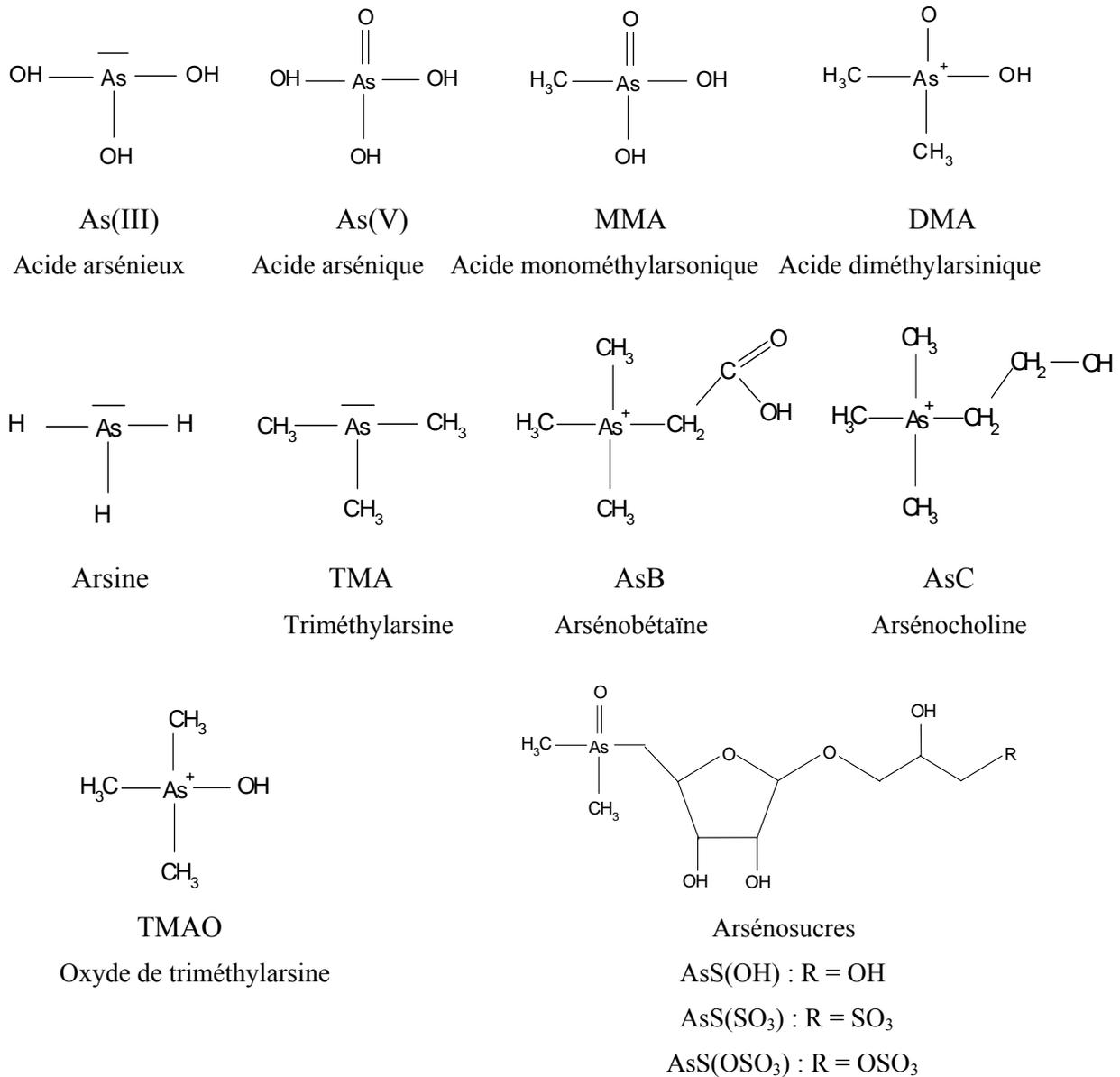


Figure 2 : Principales espèces arsénées détectées dans l'environnement

Comme le montrent les valeurs des constantes d'acidité présentées dans le Tableau 2, un grand nombre de ces espèces possède un caractère acido-basique. Ces propriétés influencent la spéciation des espèces arséniées dans l'eau.

Tableau 2 : pKa et degré d'oxydation des principales espèces arséniées

Espèce	Degré d'oxydation	pKa	Référence
As(III)	+ III	9,29 / 12,1 / 13,4	Bissen et Frimmel, 2003a
As(V)	+ V	2,24 / 6,96 / 11,5	Smith et Martell, 1976-1982
MMA	+ V	4,19 / 8,77	Smith et Martell, 1976-1982
DMA	+ V	1,78 / 6,14	Smith et Martell, 1976-1982
AsB	+ V	4,7	Smith et Martell, 1976-1982
TMAO	+ V	3,6	Van Elteren et Slejkovec, 1997

III.1. Arsenic inorganique

Dans l'air, l'arsenic inorganique est essentiellement présent sous forme d'arsine.

Dans les sols, l'arsenic est principalement sous forme inorganique. La forme de l'élément va dépendre, en outre, du pH ainsi que des conditions oxydo-réductrices du milieu. L'As(V) est l'espèce majoritaire dans les conditions oxydantes. Il est retenu par sorption ou précipitation avec les oxydes et hydroxydes de fer, de manganèse ou d'aluminium (Smedley et Kinniburgh, 2002; Bissen et Frimmel, 2003a) ainsi que par la matière organique (Sadiq, 1997). Dans les milieux réducteurs et acides, les oxydes d'As(III) ainsi que les sulfures d'As sont les espèces arséniées les plus stables (Carbonell-Barrachina *et al.*, 2000). L'As(III) précipite avec les sulfures de fer comme l'arsénopyrite (FeAsS). Dans les conditions réductrices extrêmes, l'arsenic peut-être trouvé sous forme d'arsine (Sadiq *et al.*, 1983; Moore *et al.*, 1988; Wang et Mulligan, 2006). Ainsi, lorsque les conditions (pH, E°) dans les sols changent, le degré d'oxydation de l'arsenic, et par conséquent sa mobilité, varie (Masscheleyn *et al.*, 1991). A ces phénomènes physico-chimiques, s'ajoute l'activité microbienne; les espèces inorganiques pouvant être ainsi réduites, oxydées ou méthylées par certains microorganismes présents dans les sols (Lombi *et al.*, 2000).

Dans l'eau, l'espèce arsénée la plus stable thermodynamiquement est l'ion arséniate. Néanmoins, comme dans le cas des sols, le pH et le potentiel rédox (Eh) influencent fortement la spéciation de l'arsenic. Comme le montre la Figure 3, trois espèces peuvent coexister en fonction du Eh et du pH dans les conditions naturelles (partie grisée): H_2AsO_4^- , HAsO_4^{2-} et H_3AsO_3 . Les calculs d'équilibres thermodynamiques prédisent que dans les eaux, sous conditions oxydantes ($0,2 \text{ V} < \text{Eh} < 0,5 \text{ V}$), l'arséniate est largement majoritaire, et les espèces H_2AsO_4^- et HAsO_4^{2-} coexistent, alors que sous conditions réductrices ($0 \text{ V} < \text{Eh} < -0,1 \text{ V}$) H_3AsO_3 est la forme la plus stable (Smedley et Kinniburgh, 2002).

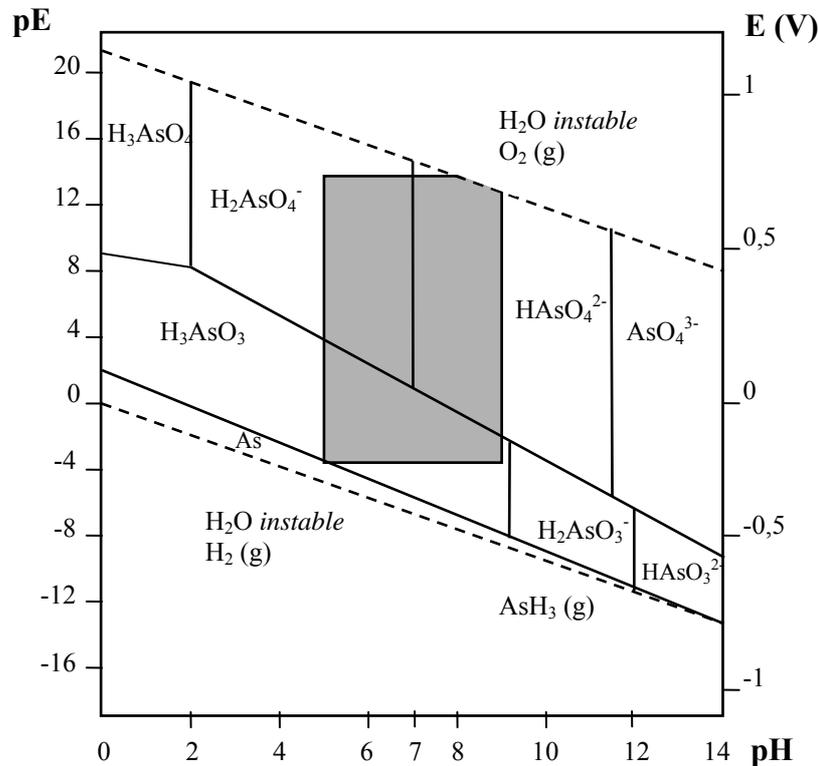


Figure 3 : Diagramme d'équilibre (Eh, pH) pour les espèces aqueuses arsénées (source : Lombi *et al.*, 1999)

Dans les eaux souterraines, les conditions sont souvent réductrices et l'arsenic se trouve majoritairement sous formes d'arsénites tandis que les arsénates sont majoritaires dans les eaux de surface. Cependant, la présence d'arséniate et/ou d'arsénite n'est pas uniquement dictée par les données thermodynamiques et les constantes cinétiques des réactions d'oxydo-réduction, l'activité biologique contrôle également la répartition de l'arsenic inorganique (Sadiq *et al.*, 1983).

III.2. Arsenic organique

La présence d'arsenic organique dans les sols et dans les eaux est due à la présence de microorganismes capables de méthyler les formes inorganiques en formes organiques. Turpeinen *et al.* (2002) ont ainsi montré la transformation de l'As(V) en MMA, DMA et triméthylarsine. Généralement, les eaux souterraines comme les eaux de mer ne contiennent pas ou peu d'arsenic organique, ce qui n'est pas le cas des eaux de lacs ou d'étangs (Mandal et Suzuki, 2002; Hung *et al.*, 2004).

Chez les végétaux ainsi que chez les animaux et les hommes, l'arsenic est accumulé dans les tissus vivants. Les espèces inorganiques sont facilement volatilisables et sont méthylées en MMA et DMA (Vahter 1999; Ng *et al.*, 2003) de façon à être éliminées plus rapidement. Cette propriété est souvent utilisée dans les mécanismes de détoxification de certains organismes.

IV - TOXICITE DE L’ARSENIC

La toxicité de l’arsenic est connue depuis l’antiquité, cet élément étant célèbre pour son utilisation à des fins d’empoisonnement. Les doses létales (LD₅₀) des espèces arséniées les plus connues chez la souris ou le hamster sont répertoriées dans le Tableau 3.

Tableau 3 : Doses létales de différents composés arséniés chez la souris et le hamster (source : Hughes, 2002)

Espèce	Animal	LD ₅₀ (mg(As).kg ⁻¹)
As ₂ O ₃	Souris	26
As(III)	Souris	8
As(III)	Hamster	8
As(V)	Souris	22
MMA ^{III}	Hamster	2
MMA	Souris	916
DMA	Souris	648
TMAO	Souris	5500
AsB	Souris	>4260

Pour l’être humain, la dose létale par ingestion de trioxyde d’arsenic (As₂O₃) est comprise entre 70 et 180 mg(As).kg⁻¹ (Grossier et Ledrans, 1999).

L’arsine (AsH₃) est considérée comme le composé le plus toxique : la dose fatale est de 250 mg.m⁻³ pendant une durée d’exposition de 30 min (Bissen et Frimmel, 2003a).

Dans le passé, les formes inorganiques de l’arsenic (As(III) et As(V)) étaient définies comme les espèces les plus toxiques après l’arsine, l’As(III) étant considéré comme 10 à 60 fois plus toxique que l’As(V) (Jain et Ali, 2000; Ferguson et Davis 1972; Squibb et Fowler, 1983).

La toxicité des formes méthylées a longtemps été considérée moindre que celle des composés inorganiques, la biométhylation de l’arsenic était alors définie comme un processus de détoxification (Petrick *et al.*, 2000).

Cependant, depuis quelques années, plusieurs études ont établi le caractère toxique pour les cellules humaines des espèces méthylées; plus particulièrement des composés où l’arsenic est au degré d’oxydation (+III) (Petrick *et al.*, 2000; Styblo *et al.*, 2000; Vega *et al.*, 2001; Dopp *et al.*, 2004; Hirano *et al.*, 2004). Le Tableau 4 résume les différents classements de toxicité obtenus.

Tableau 4 : Classement des toxicités des différentes formes arséniées

Classification de la toxicité	Référence
MMA ^{III} > As(III) > As(V) > MMA ^V ; DMA ^V	Petrick <i>et al.</i> , 2000
As(III) > MMAO ^{III} > DMA ^{III} > DMA ^V > MMA ^V > As(V)	Vega <i>et al.</i> , 2001
DMA ^{III} > MMA ^{III} > As(III); As(V) > MMA ^V > DMA ^V > TMAO ^V	Dopp <i>et al.</i> , 2004
DMA ^{III} ; MMA ^{III} > As(III) > As(V) > MMA ^V ; DMA ^V > TMAO ^V	Hirano <i>et al.</i> , 2004

La toxicité de l’As(III) est principalement liée à la désactivation d’enzymes par formation de liaison avec les groupements –SH et –OH, principalement s’il y a deux groupements –SH dans l’enzyme (Mandal et Suzuki, 2002). L’As(III) peut également interagir avec les groupements thiols de plusieurs enzymes et inhiber leur activité (Duker *et al.*, 2005). Cette inhibition de l’activité biochimique explique la forte toxicité de l’As(III) sur l’organisme.

Le mode d’action de l’As(V) correspond à une substitution avec l’ion phosphate, en raison de leur structure similaire, au cours de la phosphorylation (processus de production d’énergie par les cellules). En effet, l’ion arséniate va réagir avec l’ADP (adénosine-5’-diphosphate) afin de former une liaison arséniate-phosphate. L’ester arsénié ainsi formé peut facilement s’hydrolyser et se dissocier sans générer d’ATP (adénosine-5’-triphosphate) (Dixon, 1997; Goyer et Clarkson, 2001). Le processus biologique de production d’énergie dans la cellule est alors court-circuité.

Les composés arséniés, principalement MMA et DMA au degré d’oxydation (+III), sont cytotoxiques, génotoxiques, et ont un potentiel inhibiteur plus important sur l’activité enzymatique que l’As(III) inorganique (Rossman, 2003).

Chez l’homme et l’animal, les espèces arséniées sont métabolisées par méthylation puis sont excrétées dans les urines (Vahter *et al.*, 1995; Goering *et al.*, 1999; Hindmarsh, 2000). Par ailleurs, les espèces organiques sont éliminées plus rapidement que les espèces inorganiques (Gregus and Némethi, 2002; Rossman, 2003).

La Figure 4 décrit le métabolisme des différentes espèces arséniées chez l’homme.

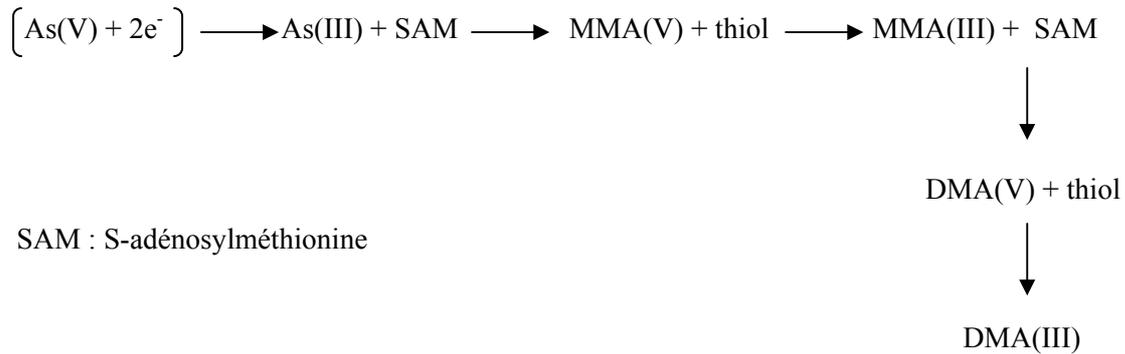


Figure 4 : Métabolisme des espèces arséniées chez les eucaryotes (d’après Simeonova *et al.*, 2004)

La toxicité de l’arsenic dépend donc du composé arsénié entrant en jeu dans l’exposition. Néanmoins, les effets sanitaires de l’ingestion d’arsenic sont liés à la modalité mais également à la durée et à la concentration reçue. Les principaux symptômes et pathologies observés chez l’homme suite à une intoxication par l’arsenic peuvent survenir dans les minutes ou les heures suivant l’ingestion (Pichard *et al.*, 2005). Ainsi, une exposition aiguë se manifeste essentiellement par des vomissements, des diarrhées voire des crampes musculaires (Mandal et Suzuki, 2002; Bissen et Frimmel, 2003a).

Une exposition chronique à long terme peut entraîner une hyperpigmentation et une kératose sur la paume des mains et la plante des pieds. Ces symptômes s’accompagnent également de problèmes nerveux (encéphalopathie), cardiovasculaires (gangrène du pied ou maladie du « Blackfoot », acrocyanose), hépatiques (hépatomégalie, cirrhose), endocriniens (diabètes), hématologiques (aplasie médullaire, anémie), rénaux mais aussi de conjonctivites et de rhinites (Piamphongsant, 1999; Hughes, 2002; Ng *et al.*, 2003; Rodriguez *et al.*, 2003).

L’ingestion d’arsenic peut également être génotoxique et induire une altération de l’ADN par stress oxydatif (Kaltreider et Hamilton, 2001; Rossman *et al.*, 2004; Schoen *et al.*, 2004; Yamauchi *et al.*, 2004; Snow *et al.*, 2005).

L’arsenic est considéré comme agent cancérigène pour l’homme par l’Agence Internationale de Recherche contre le Cancer (IARC) depuis 1987, et par l’Agence américaine de Protection de l’Environnement (US EPA) depuis 1998. Néanmoins, cette classification s’applique à l’élément As en général mais pas nécessairement à chaque espèce arséniée (IARC, 1987). Les cancers engendrés touchent principalement la peau, la vessie, les reins, le foie et la prostate (NRC, 1999).

Le caractère essentiel de l'arsenic pour l'organisme n'est pas établi, bien que certaines expériences chez l'animal le montre comme étant plausible (NRC, 1999). Cependant, l'arsenic peut présenter un intérêt pour la santé humaine. Depuis des décennies, l'arsenic a été utilisé en pharmacologie, pour le traitement contre le psoriasis, la malaria, la leucémie, et de la syphilis entre autres (Rodriguez *et al.*, 2003; Yoshida *et al.*, 2004). Le plus célèbre de ces médicaments, la liqueur de Fowler, utilisée en particulier pour le traitement contre le psoriasis, était composée d'arsénite de potassium à 1% (Rossman, 2003).

Plusieurs études montrent que l'arsenic, à certaines concentrations, pourrait avoir des propriétés thérapeutiques dans le traitement de certains cancers (Bode et Dong, 2000 et 2002; Oketani *et al.*, 2002; Kanzawa *et al.*, 2003).

V - METHODES D'ANALYSES DE L'ARSENIC DANS L'EAU

V.1. Méthodes d'analyses de l'As(Total)

Il existe environ une dizaine de méthodes qui permettent le dosage de l'arsenic total. On entend par arsenic total la concentration d'arsenic présente dans les fractions dissoutes et en suspension d'un échantillon d'eau. Dans ces méthodes, on oxyde l'arsenic et on l'analyse sans tenir compte de sa forme chimique (inorganique ou organique) ni de son état d'oxydation (As(III) ou As(V)).

Parmi l'ensemble des méthodes recensées, il est possible de citer (Burguera et Burguera, 1997; Hung *et al.*, 2004) :

- la colorimétrie (ou spectrométrie d'absorption moléculaire)
- la fluorescence aux rayons X
- l'activation neutronique instrumentale (INAA)
- la polarographie
- la spectrométrie d'absorption atomique flamme (FAAS)
- la spectrométrie d'absorption atomique four (GF-AAS) ou spectrométrie d'absorption atomique avec atomisation électrothermique (ET-AAS)
- la génération d'hydrures suivie d'une détection par spectrométrie d'absorption atomique (HG-AAS) ou par fluorescence atomique (HG-AFS)
- la spectrométrie de fluorescence atomique après génération d'hydrures (HG-AFS)
- la spectrométrie d'émission atomique dans un plasma d'argon (ICP-AES)
- la spectrométrie de masse dans un plasma d'argon (ICP-MS).

Néanmoins, certaines de ces techniques ne sont pas directement applicables en laboratoire en raison : de leurs limites de détection, difficulté de mise en œuvre, durée d'analyse mais aussi de leurs coûts d'investissement et de fonctionnement relativement élevés.

L'INAA, souvent utilisée comme technique de référence pour l'analyse des solides mais nécessitant l'accès à un réacteur nucléaire et la fluorescence aux rayons X, n'est pas utilisée couramment en laboratoire pour doser l'arsenic total (Thomas, 2002; Hung *et al.*, 2004).

La colorimétrie et la FAAS, en raison de leurs limites de détection trop importantes (plusieurs dizaines de $\mu\text{g.L}^{-1}$), et la polarographie, qui requiert une maîtrise technique assez importante, ne sont généralement plus utilisées pour le dosage de l'arsenic total, en routine en laboratoire.

L'utilisation d'électrodes solides est proscrite en raison des effets de mémoires rendant la technique peu sensible (Li et Smart, 1996; Ferreira et Barros, 2002) alors que l'utilisation d'une microélectrode à goutte de mercure, même si elle permet d'obtenir des limites de détection inférieures à $1 \mu\text{g.L}^{-1}$ est sujette aux interférences avec Se^{4+} , Sb^{3+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} en outre (Burguera et Burguera, 1998; Ferreira et Barros, 2002).

Si le dosage de l'arsenic par ICP-AES est peu répandu, notamment à cause des limites de détection souvent trop importantes (Thomas, 2002; Hung *et al.*, 2004), depuis 1985, grâce au développement commercial de l'ICP-MS, le dosage de l'arsenic par ICP a connu un véritable essor. Ainsi, la détermination de l'arsenic par ICP-MS est la technique la plus répandue (Francesconi et Kuehnelt, 2004; Hung *et al.*, 2004), principalement en raison de ses très faibles limites de détection obtenues (proche du ng.L^{-1} voire du pg.L^{-1}) et de la rapidité des analyses. Cependant, la complexité et le coût relativement élevé à l'achat d'un détecteur à spectrométrie de masse, ainsi que les interférences isobariques provoquées par les ions chlorure (ArCl , CaCl_2), limitent l'utilisation de l'ICP-MS pour le dosage de l'arsenic en routine dans les petits laboratoires d'analyses (Latva *et al.*, 2000; Hsiang *et al.*, 2004; Hung *et al.*, 2004).

Le dosage par HG-AFS est une technique qui permet de doser précisément, avec un appareillage moins coûteux que l'ICP-MS, l'arsenic dans des limites de détections proche du ng.L^{-1} (Gomez-Ariza *et al.*, 1998). Néanmoins, cette technique nécessitant une étape de pré-réduction de l'arsenic (augmentant la durée de l'analyse) est pour l'instant peu répandue dans les laboratoires d'analyses (Thomas, 2002).

La technique de dosage par HG-AAS est très utilisée pour le dosage de l'arsenic à l'état de trace dans l'eau car elle possède; une limite de détection inférieure au $\mu\text{g.L}^{-1}$, une facilité de mise en œuvre ainsi qu'un faible coût d'investissement et de fonctionnement (Burguera et Burguera, 1997; Francesconi et Kuehnelt, 2004; Hung *et al.*, 2004). L'utilisation d'une étape de réduction avant l'étape de détection, comme pour la détermination par HG-AFS, ainsi que l'importance liée à l'état d'oxydation de l'espèce arsénée limite son développement pour le dosage de l'arsenic total (Coelho *et al.*, 2002).

Le dosage par GF-AAS (ou ET-AAS) d'éléments à l'état de trace ou d'ultra-trace dans les eaux, les urines, les sols mais également dans des échantillons biologique ou hospitalier (cheveux, urine, sang...) est une technique de plus en plus utilisée (Anazaki *et al.*, 1999; Latva *et al.*, 2000; Hung *et al.*, 2004). Cette technique née en 1967, a été considérablement améliorée grâce au traitement du signal et au développement des systèmes d'atomisation. Cette technique est simple à mettre en œuvre, rapide et relativement peu coûteuse, notamment comparée à l'ICP-MS ; enfin, elle nécessite de faibles volumes d'échantillons (Hsiang *et al.*, 2004).

V.2. Méthodes d'analyses de l'As(III)

De par ses transformations, essentiellement des réactions d'oxydation, de réduction, d'alkylation modifiant la forme chimique de l'élément, la spéciation de l'arsenic est modifiée ainsi que sa toxicité. Aussi, la détermination des différentes formes de l'arsenic a suscité un grand intérêt ces dernières années débouchant sur l'optimisation de nombreux couplages analytiques permettant la quantification de chacune des formes arséniées. Ces travaux permettent ainsi d'évaluer plus précisément les risques associés aux pollutions arséniées pour les différents écosystèmes (Molénat *et al.*, 2000).

La première méthode développée par Grabinski en 1981 était basée sur une séparation par chromatographie sur colonne échangeuse d'ions suivie de l'analyse par GF-AAS des fractions collectées. La limite de détection était de l'ordre des $10 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour chacune des formes arséniées, à savoir l'As(III), l'As(V), le MMA et le DMA. Avec les développements importants dans le domaine de l'instrumentation, de nombreuses techniques analytiques permettant la différenciation des composés d'un même élément ont été développées au cours des dix dernières années comme le montre la revue bibliographique de Francesconi et Kuehnelt (2004).

La plupart de ces techniques reposent sur un couplage entre une méthode séparative, généralement la chromatographie, et un détecteur élémentaire spécifique comme l'ICP-AES, l'ICP-MS, l'HG-AAS, l'ETAAS ou l'AFS (Bohari *et al.*, 2001). Ces différents couplages permettent la quantification des différentes formes arséniées avec des limites de détection extrêmement faibles, souvent inférieures au $\mu\text{g.L}^{-1}$, voire proches du ng.L^{-1} .

Concernant l'analyse des deux formes de l'arsenic inorganique, As(III) et As(V), une synthèse des méthodes analytiques existantes de détermination des concentrations en arsenic inorganique dans les eaux a été écrite par Hung *et al.* (2004). Ils répertorient toutes les techniques analytiques de détermination de l'As(III) et de l'As(V) dans les eaux comme le montre le Tableau 5. Selon les résultats présentés par Hung *et al.* (2004), le couplage des techniques HPLC-ICP-MS se révèle être une technique performante pour la détermination de l'As(III) et de l'As(V) dans l'eau avec de très bonnes sensibilités. En effet, l'utilisation de l'HPLC ne nécessite aucune dérivation des analytes comme le nécessite la chromatographie gazeuse. La séparation des espèces organiques (MMA et DMA) est aussi bien assurée que la séparation de l'As(III) et de l'As(V) (Gong, 2002). Néanmoins, le couplage HPLC-ICP-MS augmente singulièrement le temps d'analyse et la détermination des différentes espèces arséniées, organiques et inorganiques, dure entre 15 et 20 min.

La génération d'hydrures couplée à un piège cryogénique (CT), même si elle n'est pas évoquée dans cette étude, permet également une bonne détermination des formes inorganiques de l'arsenic (Burguera *et al.*, 1998; Molénat *et al.*, 1999).

L'étude de Hung *et al.* (2004), présente également des systèmes de différenciation par génération d'hydrures sélective couplée à la spectométrie d'absorption atomique (HG-AAS). Lors de l'utilisation de la génération d'hydrures, la spéciation est assurée en appliquant différentes conditions d'hydruration, chacune de ces conditions permettant de déterminer la teneur en un ou plusieurs composés arséniés (Schraim *et al.*, 2000; Gonzales *et al.*, 2003).

Tableau 5 : Paramètres analytiques obtenus par différentes techniques de détection de l'arsenic inorganique dans les échantillons d'eau durant les 10 dernières années (source : Hung *et al.*, 2004)

Espèce	Pré concentration/séparation	Dérivation	Détection	Limite de détection ($\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)
Spectrométrie atomique				
As(III)		HG	AAS	0,6
As(V)		HG	AAS	0,5
As(III)	FI-SE	HG	AAS	0,05
As(V)	FI-SE	HG	AAS	2
As(III)	FI	HG	AAS	0,037
As(III)	FI-KR : PDC	HG	AFS	0,023
As(III)		HG	AFS	0,67
As(III)	IC	HG	AFS	4
As(III)	SPE		GFAAS	0,11
As(V)	SPE		GFAAS	0,15
As(III)	PDC		GFAAS	0,02
As(III)	AE-résine : PDC		GFAAS	6,6
As(III)	SPE		GFAAS	0,04
Techniques ICP				
As(III)		HG	ICP-AES	0,7
As(III)	FI-KR		ICP-MS	0,021
As(V)	FI-KR		ICP-MS	0,029
As(V)	SPE		ICP-MS	0,008
As(III)	HG		ICP-MS	0,003
As(III)	HG-GF		ICP-MS	0,02
As(III)	HPLC		ICP-MS	0,02
As(III)	HPLC		ICP-MS	0,06
Techniques nucléaires				
As(III)	PDC		NAA	0,01
As(V)	PDC		NAA	
As(III)	CE		NAA	0,02
Electrochimie				
As(III)	polarographie		CSV	0,52
As(III)	ampérométrie		CA	0,15
As(III)	polarographie		CCSA	3
As(V)	polarographie		CCSA	0,5
As(III)	polarographie		ASV	0,19
As(III)	polarographie		SWCSV	0,0045
As(III)	polarographie		ASV	0,32

HG : génération d'hydrures; AAS : spectrométrie d'absorption atomique; FI : injection à flux constant; SE : extraction solide; KR : réacteur fermé; PDC : complexe pyrrolidine dithiocarbamate; AFS : spectrométrie de fluorescence atomique; IC : chromatographie ionique; SPE : extraction en phase solide; GFAAS : spectrométrie d'absorption atomique four; AE : échange d'anions; ICP inductive plasma d'argon; AES : spectrométrie d'émission atomique; MS : spectrométrie de masse; GF : four graphite; HPLC : chromatographie liquide haute performance; NAA : activation neutronique instrumentale; CE : échange de cations; CSV : polarographie par redissolution cathodique; CA : chrono ampérométrie; CCSA : polarographie impulsionnelle à courant constant; ASV : polarographie par redissolution anodique; SWCSV : polarographie par redissolution cathodique à impulsions carrées.

VI - REGLEMENTATION CONCERNANT L'ARSENIC

VI.1. Eaux destinées à la consommation humaine

Etant donné le degré de toxicité de l'arsenic pour l'homme, les normes internationales relatives à l'arsenic dans les eaux de boissons sont sévères (WHO, 2006). Les premières normes de l'OMS (Organisation Mondiale de la Santé) relatives à la qualité de l'eau de boisson datant de 1958 fixaient une concentration de $200 \mu\text{g.L}^{-1}$ comme concentration maximale admissible d'arsenic. En 1963, la norme fut révisée et ramena la concentration maximale admissible à $50 \mu\text{g.L}^{-1}$. En 1984, cette valeur a été maintenue comme « valeur guide » par l'OMS et de nombreux pays l'ont conservée comme norme nationale ou comme cible intermédiaire. Depuis 1994, l'arsenic inorganique est reconnu cancérigène et une valeur guide provisoire de $10 \mu\text{g(As).L}^{-1}$ a été établie.

Cette dernière valeur est définie comme une « valeur guide provisoire » car elle est conditionnée par les limites de détermination des appareils de mesure utilisés dans les laboratoires d'analyses. Selon cette limite, et pour une consommation quotidienne de 2 L d'eau, le niveau de risque de cancers cutanés pour des personnes exposées durant leur vie entière serait alors de 6 pour 10 000 (Yamamura *et al.*, 2001). Les directives de l'OMS sont destinées à servir de base à l'élaboration de normes nationales, compte tenu des conditions environnementales (aspect géologique des régions étudiées), sociales, économiques et culturelles, locales ou nationales.

Parallèlement à cette directive de l'OMS, l'US EPA a fixé comme norme, en 2001, la valeur de $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ (Brown et Ross, 2002). Cette proposition a pour but d'être davantage en adéquation avec la protection de la santé humaine et de protéger les consommateurs contre les effets à long terme dus à la présence d'arsenic dans les eaux de boisson. Cependant, la norme actuelle concernant l'arsenic est de $50 \mu\text{g.L}^{-1}$ aux Etats-Unis.

Comme le montre le Tableau 6 relatif aux normes nationales de concentrations en arsenic admissibles dans les eaux de boisson, la valeur guide de l'OMS ($10 \mu\text{g.L}^{-1}$) a été adoptée comme référence dans beaucoup de pays. La Communauté Européenne a ainsi imposé depuis 1998 cette valeur aux différents états membres (European Council Directive, 1998).

Tableau 6 : Normes nationales relatives à la concentration maximale en arsenic dans les eaux destinées à la consommation humaine (source : Yamamura *et al.*, 2001)

Pays dont la norme est de 50 µg.L ⁻¹	Pays dont la norme est comprise entre 10 et 50 µg.L ⁻¹	Pays dont la norme est de 10 µg.L ⁻¹	Pays dont la norme est inférieure à 10 µg.L ⁻¹
Barhein (-)	Canada	Union Européenne (1998)	Australie
Bangladesh (-)	25 µg.L ⁻¹ (1999)	Japon (1993)	7 µg.L ⁻¹ (1996)
Bolivie (1997)		Jordanie (1991)	
Chine (-)		Laos (1998)	
Egypte (1995)		Mongolie (1998)	
Inde (-)		Namibie (1994)	
Indonésie (1990)		Syrie (1994)	
Oman (1978)			
Philippines (1978)			
Arabie Saoudite (1983)			
Sri-Lanka (1983)			
Viet Nam (1989)			
Zimbabwe (1986)			
Etats-Unis (1986)			

() indique l'année de la mise en vigueur de la norme.

Au niveau national, le décret français n° 2001-1220 de décembre 2001, qui s'appuie sur la directive 98/83/CE du Conseil Européen, et dont la mise en application est effective depuis décembre 2003, fixe une norme de 10 µg.L⁻¹ d'arsenic dans les eaux destinées à la consommation humaine. Par ailleurs, en fonction de la filière de traitement de potabilisation, les eaux brutes, en amont de la filière, doivent contenir au maximum de 10 à 100 µg(As).L⁻¹ (European Council Directive, 1975).

VI.2. Effluents industriels et miniers

Les principaux secteurs où l'on rencontre des rejets en arsenic sont l'industrie de production d'arsenic, l'industrie des batteries, du verre, de l'électronique, des colorants, des peintures, des herbicides, des pesticides, de la métallurgie, du traitement des métaux, du bois, du tannage et de l'agroalimentaire (Pichard *et al.*, 2005).

Ainsi, il existe autant d'effluents industriels que d'industries elles-mêmes, tant les procédés de fabrication et de traitement sont spécifiques (même au sein d'un secteur industriel précis). Les concentrations en arsenic des rejets aqueux peuvent alors varier de quelques dizaines de $\mu\text{g.L}^{-1}$ à plusieurs centaines de mg.L^{-1} voire de g.L^{-1} .

Au niveau national, la réglementation établie par l'arrêté du 2 février 1998, relatif aux ICPE (Installations Classées pour la Protection de l'Environnement), soumises à autorisation, fixe une concentration maximale en arsenic de $0,05 \text{ mg.L}^{-1}$ dans les eaux rejetées dans le milieu naturel, lorsque le rejet dépasse $0,5 \text{ g.j}^{-1}$. A titre d'exemple, cet arrêté impose pour les fabriques de dioxyde de titane, un flux maximum dans les rejets de $0,004 \text{ kg(As).t}^{-1}$ de dioxyde de titane produit.

Néanmoins, et outre cette réglementation nationale, des arrêtés préfectoraux sont généralement établis au cas par cas pour les rejets industriels. Il en est de même pour les effluents miniers. Ainsi, pour le site minier de Salsigne (Aude), l'arrêté préfectoral n° 99-1334 fixe une concentration en arsenic strictement inférieure à $0,05 \text{ mg(As).L}^{-1}$ dans les eaux rejetées ou un flux d'arsenic inférieur à 30 g.j^{-1} alors que pour le site minier du Bourneix (87), l'arrêté préfectoral du 8/03/1991, impose une concentration en arsenic strictement inférieure à $0,1 \text{ mg(As).L}^{-1}$ dans les effluents.

VII - ELIMINATION DE L'ARSENIC DANS LES EAUX DESTINEES A LA CONSOMMATION HUMAINE

Cette partie bibliographique décrit les différents procédés applicables à l'élimination de l'arsenic dans l'eau. Une attention particulière est portée à leurs applications dans un contexte particulier comme les petites installations de traitement (capacités inférieures à 10 m³.h⁻¹) rencontrées dans les zones à habitat dispersé ainsi que dans les pays en voie de développement.

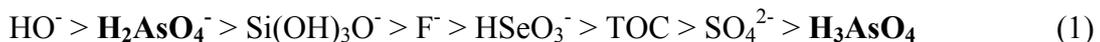
VII.1. Adsorption

VII.1.1. Adsorption sur colonne d'alumine activée

L'alumine activée (Al₂O₃), une forme déshydratée de Al(OH)₃, a été l'un des premiers matériaux utilisés (Sorg et Logsdon, 1978). Se présentant sous forme granulaire, c'est un bon adsorbant vis-à-vis de l'arsenic, en raison de sa surface spécifique relativement élevée (200-300 m².g⁻¹), se comportant comme un échangeur d'ions OH⁻ (Gaid, 2005).

Si cette technique permet d'obtenir des rendements d'élimination de l'As(III) et de l'As(V) supérieurs à 95%, elle est fortement affectée par le pH : As(V) sera principalement adsorbé à des pH inférieurs à 6 et As(III) pour des pH supérieurs à 7 (Gupta et Chen, 1978; Leist *et al.*, 2000; Welté, 2002; US EPA, 2003; Singh et Pant, 2004).

Différents ions entrent en compétition avec l'As(V) lors des réactions d'adsorption (Sancha *et al.*, 2000). Dans une gamme de pH s'étendant entre 5,5 et 9,0, les ions compétiteurs sont classés de la façon suivante (US EPA, 2000a) :



Il est nécessaire d'opérer en milieu acide afin de s'affranchir de la compétition des ions hydroxyde. A pH acide, la surface de Al₂O₃ est protonée, ce qui permet un rendement optimal pour l'élimination de l'As(V), espèce sous forme anionique dans les conditions physico-chimiques rencontrées dans les eaux naturelles (H₂AsO₄⁻ à pH compris entre 5 et 6).

Cependant, travailler à de tels pH nécessite un réajustement final de pH avant la distribution de l'eau (Gaid, 2005). L'élimination de l'As(V) est maximale (98%) pour des pH compris entre 5,5 et 6,0 et le temps de contact optimal est de 310 min (US EPA, 2003).

Le volume d'eau traitée avant saturation par une colonne d'alumine activée à pH acide, est 5 à 20 fois plus important que pour une colonne opérant dans des conditions de pH neutre (Hathaway et Rubel, 1987).

Le désavantage de ce support réside dans sa régénération, réalisée avec de la soude concentrée, et aux éluats issus de la régénération qui sont chargés en arsenic. En outre, une perte de l'ordre de 2 à 5% de Al_2O_3 ainsi qu'une diminution de la capacité d'adsorption (20% en moyenne) sont observées au cours des régénérations (Wang *et al.*, 2000; US EPA, 2003). Le matériau doit donc être fréquemment remplacé, ce qui accroît le coût de ce procédé.

VII.1.2. Adsorption sur colonne d'oxyde de fer

L'adsorption sur les oxydes, les hydroxydes et les oxy-hydroxydes de fer est une technique émergente depuis une dizaine d'année, qui semble donner des résultats encourageants (Driehaus *et al.*, 1998; Swedlund et Webster, 1999; Grafe *et al.*, 2001; O'Reilly *et al.*, 2001; Waltham et Eick, 2002). Il existe un grand nombre d'oxydes de fer, mais certains seulement, en raison de leur surface spécifique élevée, permettent un traitement efficace de l'arsenic : c'est le cas des hydroxydes de fer amorphes.

En fonction de la quantité de matière organique présente, ces formes amorphes se cristallisent pour donner : la goethite (α -FeOOH), l'hématite (Fe_2O_3) et la ferrihydrite entre autres.

La fixation de l'arsenic est principalement liée à la surface spécifique et à la cristallisation des oxydes et hydroxydes (Bissen et Frimmel, 2003b). As(V) est plus facilement adsorbé à la surface des oxydes de fer que l'As(III). Cependant, Raven *et al.* (1998) montrent qu'à la fois As(V) et As(III) ont de fortes affinités pour la ferrihydrite et que l'As(III) est mieux retenu que l'As(V) dans une gamme de pH compris entre 3 et 11. Grafe *et al.* (2001) ont montré que la rétention de l'arsenic était deux à trois fois plus forte sur la ferrihydrite que sur la goethite.

Les colonnes d'oxyde de fer sont plus performantes que celles d'alumine activée pour le traitement de l'arsenic dans les eaux naturelles (US EPA, 2003). Néanmoins, certaines espèces entrent en compétition avec l'arsenic dans les traitements par adsorption sur les oxydes de fer : les ions phosphate, les bicarbonates, les sulfates et certains acides organiques naturels (Swedlund et Webster, 1999; Grafe *et al.*, 2001; O'Reilly *et al.*, 2001; Meng *et al.*, 2002; Waltham et Eick, 2002).

Depuis, quelques années, plusieurs essais pilotes ont été réalisés avec des lits filtrants remplis d'hydroxydes de fer, dont l'un des plus connus est le GEH (Granular Eisen Hydroxyde) ou GFH (Granular Ferric Hydroxyde) (Rubel, 2003; Gaid, 2005).

Ce matériau adsorbant et non régénérable, permet d'obtenir des taux d'élimination de l'As(V) proches de 100%, de préférence dans des eaux faiblement chargées en arsenic (<50 $\mu\text{g(As).L}^{-1}$) (Moles *et al.*, 2004).

Ce procédé nécessite très peu de surveillance et semble être un outil de choix pour les stations de petites et moyennes capacités. Néanmoins, la nécessité d'une étape d'oxydation ainsi que le prix relativement élevé du procédé sont des freins à son exploitation.

L'adsorption sur un sable recouvert d'oxyde de fer a également été testée pour l'élimination de l'arsenic dans l'eau. Cette technique émergente (US EPA, 2000b) permet d'obtenir de forts taux d'élimination de l'As(III) et de l'As(V) (Thirunavukkarasu *et al.*, 2002). Gupta *et al.* (2005) ont démontré que des essais en colonne permettent d'obtenir un taux d'abattement de l'As(III) de 94% avec un temps de contact de 2 h.

VII.1.3. Adsorption sur les oxydes de manganèse

Le dioxyde de manganèse (MnO_2) est un oxydant puissant qui peut être fixé sur une matrice solide comme le sable, en vue d'une utilisation sous forme de lit filtrant. L'élimination de l'arsenic par ce procédé a fait l'objet de nombreuses études (Phommavong *et al.*, 1996; Subramanian *et al.*, 1997; Badjpai et Chaudhuri, 1999).

Le mécanisme d'élimination de l'arsenic se décompose alors en 4 étapes :

- As(III) se lie à la surface de l'oxyde de manganèse
- oxydation de l'As(III) en As(V) et réduction de Mn(IV) en Mn(II)
- adsorption de l'As(V) à la surface de l'oxyde de manganèse
- libération de Mn(II).

Néanmoins, cet adsorbant est peu efficace, surtout pour des pH supérieurs à 6,5. Si la présence de fer(II) dans l'effluent à traiter est nécessaire, la présence d'ions divalents interfère dans l'élimination de l'arsenic. De plus, ce système entraîne l'élution de manganèse et la stabilité à long terme de ces filtres n'est pas connue.

VII.1.4. Adsorption sur des composés mixtes

VII.1.4.1. Adsorption sur un sable recouvert d'oxyde de manganèse et de fer

Les propriétés adsorbantes de ce composé mixte ont été mises en évidence par Chakravarty *et al.* (2002), pour des pH compris entre 2 et 8. Des essais de désorption mettent en évidence l'impossibilité de désorber l'arsenic fixé, même avec de fortes variations de pH.

La présence de cations divalents (Ni^{2+} , Co^{2+} , Mg^{2+}) dans l'eau à traiter favorise l'adsorption d'arsenic en augmentant la charge de surface du sable. Contrairement au cas du sable recouvert d'oxyde de manganèse seul, il n'y a aucun relargage de manganèse avec ce type de support.

VII.1.4.2. Adsorption sur un support mixte fer-calcium

Wang et Reardon (2001) ont développé un réacteur comportant une colonne de sidérite (FeCO_3) et une de calcite (CaCO_3). La majorité de l'arsenic est ainsi éliminé par le fer. Cependant, ce système nécessite la présence d'oxydants, comme le Cr(VI), pour générer la formation d'(oxy)hydroxydes de fer(III) permettant l'élimination de l'arsenic. Les résultats montrent qu'à la fois As(V) et As(III) ont de fortes affinités pour la ferrihydrite : As(III) est retenu en plus grande quantité qu'As(V) pour des pH supérieurs à 7,5. Cette technique permet également de reminéraliser l'eau avec le calcium libéré.

VII.1.5. Adsorption sur le fer à la valence zéro

Le fer à valence 0 (Fe^0) a été utilisé avec succès comme média filtrant dans l'élimination de différents polluants dans les eaux : les composés halogénés organiques, les nitrates, les nitrites et les métaux lourds (Lien et Wilkin, 2005).

Depuis 2000, l'adsorption sur le Fe^0 a été testée dans le cas de l'élimination *in situ* de l'arsenic (Lackovic *et al.*, 2000; Farrell *et al.*, 2001; Su et Puls, 2001a et b; Nikolaidis *et al.*, 2003). Les différents mécanismes supposés intervenir dans ce traitement sont présentés dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Les différents mécanismes d'élimination de l'arsenic par Fe⁰
(source : Lien et Wilkin, 2005)

Procédé d'élimination	Description	Exemple	Référence
Adsorption	Immobilisation des métaux impliquant l'agglomération des espèces à la surface du fer à travers une étape de complexation	Adsorption sur Fe ⁰ ou sur Fe ⁰ corrodé (oxyhydroxydes de fer) afin de former des liaisons avec l'As comme des sphères internes des complexes bidendates	Lackovic <i>et al.</i> , 2000 Manning <i>et al.</i> , 2002a Melitas <i>et al.</i> , 2002 Dixit et Hering, 2003
Précipitation	Nucléation et croissance d'une phase solide	Symphesite : Fe ₃ (AsO ₄) ₂ .8H ₂ O Réalgar : As ₄ S ₄	Nikolaidis <i>et al.</i> , 2003
Co-précipitation	Incorporation d'arsenic comme constituants mineurs dans la structure minérale	Co-précipitation de l'As avec : - la rouille verte carbonatée : Fe ₄ (II)Fe ₂ (III)(OH) ₁₂ CO ₃ . x H ₂ O - les sulfures et disulfures de fer : FeS, Fe ₃ S ₄ , FeS ₂	Nikolaidis <i>et al.</i> , 2003 Lien <i>et al.</i> , 2005
Réaction oxydo-réduction	Réduction Oxydation	As ⁵⁺ + 2e ⁻ => As ³⁺ (insignifiant) As ³⁺ + 3e ⁻ => As ⁰ (peu probable) As ³⁺ => As ⁵⁺ oxydants : rouille verte carbonatée, maghémite, hématite	Farrell <i>et al.</i> , 2001 Manning <i>et al.</i> , 2002a Melitas <i>et al.</i> , 2002 Su et Puls, 2004 Lien <i>et al.</i> , 2005

La plupart des études montrent une meilleure élimination de l'As(V) que de l'As(III) par Fe⁰ (Lackovic *et al.*, 2000; Farrell *et al.*, 2001; Manning *et al.*, 2002a; Melitas *et al.*, 2002), cependant pour Su et Puls (2001a), l'inverse est observé. Dans des conditions oxydantes, As(V) est plus facilement éliminé qu'As(III) par Fe⁰ (Bang *et al.*, 2005). A pH 6, près de la totalité de l'As(V) est éliminée contre seulement 82% pour As(III). Les conditions rédox influencent fortement les rendements d'élimination; en condition anoxique, seulement 10% de l'As(III) et de l'As(V) sont éliminés.

Différentes espèces entrent en compétition avec l'arsenic pour ce traitement : silicates, sulfates, borates, chromates, nitrates, carbonates inhibent l'élimination de l'arsenic (Su et Puls, 2001b). Néanmoins, Sun *et al.* (2006) ont démontré récemment que de fortes concentrations en sulfates et nitrates permettent une augmentation de l'élimination de l'As(V). En effet, la présence de nitrates accélèrent la corrosion du fer alors que les sulfates favorisent la précipitation de l'arsenic suivant la réaction :



Ainsi, l'élimination de l'arsenic sur le fer à la valence 0 représente un procédé de traitement de l'arsenic prometteur même si des études doivent être encore menées pour l'optimiser.

VII.1.6. Autres adsorbants

Plusieurs autres adsorbants ont été testés pour éliminer l'arsenic de l'eau. Parmi les plus efficaces, on peut notamment citer :

- les minerais d'argile : Liévremont *et al.* (2003), proposent l'utilisation de la kutnahorite ($\text{CaMn}(\text{CO}_3)_2$) et de la chabazite ($\text{CaAl}_2\text{Si}_4\text{O}_{12},6\text{H}_2\text{O}$) comme supports mais aussi comme matériaux adsorbants de l'As(V). La kaolinite et la bentonite sont également utilisées pour l'adsorption de l'arsenic. L'adsorption sur des argiles pontées, dérivées d'une montmorillonite, a également été étudiée (Lenoble, 2003)
- les sulfures de fer (FeS) ainsi que la pyrite (FeS_2) : Bostick et Fendorf (2003) montrent qu'As(III) est mieux retenu pour des pH compris entre 5 et 6, et que la réduction de l'As(V) est accompagnée d'une oxydation en surface du soufre et du fer(II)
- le charbon actif, en grain ou en poudre : plusieurs études (Huang et Fu, 1984; Jubinka *et al.*, 1992; Manju *et al.*, 1998; Jiang *et al.*, 2001) ont rapporté que ce support permettait une élimination de l'arsenic avec des taux d'élimination élevés (> 90%) dans une large gamme de concentration (du $\mu\text{g.L}^{-1}$ au mg.L^{-1}). L'adsorption de l'arsenic est améliorée par un pré-traitement du charbon actif avec le cuivre et le fer, qui permettent de précipiter l'arsenic (Pattanayak *et al.*, 2000). Les performances sont fortement dépendantes du pH
- les cendres volantes : Diamadopoulos *et al.* (1993) ont constaté que l'élimination de l'arsenic avec ce support dépend fortement du pH. Pour des concentrations initiales en As(V) de 10 mg.L^{-1} , les taux d'élimination sont de 80% à pH 4 contre seulement 20% à pH 7
- les zéolites naturelles, les pierres volcaniques ainsi que la poudre de cactus : ces matériaux permettent une adsorption efficace de l'As(III) et de l'As(V) dans une gamme de pH compris entre 4 et 11 (Elizalde-Gonzales *et al.*, 2001)
- le chitosan et la chitine : Elson *et al.* (1980) ont obtenu de faibles rendements (capacité d'adsorption de $0,01 \text{ mg}$ d'arsenic par gramme de solide) pour l'élimination de l'arsenic avec l'utilisation de ces polysaccharides comme matériaux supports

- les phosphate de fer : Lenoble et *al.* (2005) ont montré l'adsorption de As(III) et As(V) sur des phosphates de fer(III) (FePO_4). Ce support solide combine une étape d'oxydation de l'As(III) par Fe^{3+} puis une adsorption par les ions PO_4^{3-} des arsénates formés.

De nombreux supports peuvent donc être utilisés dans le cadre de l'élimination de l'arsenic par adsorption. Si l'alumine activée était jusqu'à présent le matériau le plus utilisé, l'élimination de l'arsenic par adsorption sur les oxydes de fer ainsi que le fer à la valence zéro sont des procédés prometteurs. Les résultats obtenus sont très satisfaisants, néanmoins, les études menées sur les différents supports ont montré une meilleure élimination de l'As(V) que de l'As(III) et donc la nécessité d'oxyder les arsénates en arsénites préalablement à l'étape d'adsorption. Le rendement d'élimination de l'arsenic dépend également fortement de la qualité de l'eau à traiter (pH, ions compétiteurs, matière organique...) obligeant un asservissement des traitements à la qualité des eaux brutes. Enfin, même si les matériaux supports sont régénérables, le problème des éluats de régénération nécessite de compléter la filière de traitement par une filière de traitement de ces éluats.

VII.2. Coagulation-floculation et précipitation

La coagulation et la floculation sont des procédés classiques en traitement des eaux, les floccs étant ensuite éliminés par sédimentation et/ou filtration. Les principaux réactifs utilisés pour la coagulation-floculation permettent également le traitement de l'arsenic par précipitation/adsorption. Ces réactifs sont les sels de fer ou d'aluminium.

L'élimination de l'arsenic durant l'étape de coagulation-floculation fait intervenir différents mécanismes (Edwards, 1994) :

- précipitation : formation de composés insolubles : $\text{Al}(\text{AsO}_4)$ ou $\text{Fe}(\text{AsO}_4)$
- co-précipitation : incorporation d'une espèce soluble de l'arsenic dans les précipités d'hydroxyde métallique
- adsorption : formation de complexes de surface entre l'arsenic soluble et les sites actifs des hydroxydes formés ($\text{Fe}(\text{OH})_3$ et $\text{Al}(\text{OH})_3$).

Dans le cas de l'élimination de l'arsenic, la co-précipitation et l'adsorption qui sont les deux principaux mécanismes ne semblent pas jouer un rôle significatif au contraire de la précipitation. Des modèles physico-chimiques d'adsorption ont été proposés (Scott *et al.*, 1995; Hering *et al.*, 1997). Le modèle de complexation de surface permet de prédire les rendements d'élimination de l'arsenic en fonction de la qualité de l'eau brute. La surface du floc est alors assimilée à un polymère oxo-acide.

VII.2.1. Coagulation-floculation par les sels de fer

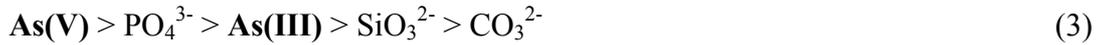
Différents sels de fer, FeCl_3 , $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$, $\text{FeCl}(\text{SO}_4)$ sont utilisés. FeCl_3 permet d'atteindre des rendements de plus de 95% pour l'élimination de l'As(V) (Merrill *et al.*, 1987; Cheng *et al.*, 1994; Johnston et Heijnen, 2001; Gaid, 2005). Les sulfates de fer conduisent à des performances légèrement inférieures, 80-85%, (Gupta et Chen, 1978) et les sels ferreux à des rendements beaucoup plus faibles, de l'ordre de 25% (Scott *et al.*, 1995). Ces études montrent que l'As(III) est moins bien éliminé avec des rendements de 40 à 60% (Cheng *et al.*, 1994; Scott *et al.*, 1995; Tokunaga *et al.*, 1999; Leist *et al.*, 2000; Bissen et Frimmel, 2003b; US EPA, 2003; Gaid, 2005) voire de 30% (Hering *et al.*, 1997).

Cette différence s'explique par la neutralité de l'arsénite au pH des eaux naturelles, alors que les arsénates sont anioniques (Borho et Wilderer, 1996; Smedley et Kinniburgh, 2002). Cependant, la quantité résiduelle d'arsenic dans les eaux traitées suivant ce procédé est généralement supérieure à $10 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Le pH de l'eau brute joue un rôle très important dans l'élimination de l'arsenic. Jiang (2001) a ainsi défini un pH optimal à 7 pour l'élimination par FeCl_3 . D'autres études ont démontré que pour des pH supérieurs à 8, le rendement d'élimination diminue nettement (Nenov *et al.*, 1994; Scott *et al.*, 1995; Joshi et Chaudhuri, 1996). Les conditions optimales pour le traitement de As(V) correspondent à des pH compris entre 5 et 8 (US EPA, 2003).

Le pourcentage d'arsenic éliminé dépend également de la quantité de coagulant injectée : les meilleurs rendements d'élimination sont obtenus avec les doses les plus importantes de sel de fer ajoutées (Leist *et al.*, 2000; Han *et al.*, 2002; Welté, 2002). Une concentration comprise entre 5 et 25 mg.L^{-1} de chlorure ferrique est en général recommandée pour obtenir des rendements d'élimination supérieurs à 90% (US EPA, 2003). Cette dose de coagulant est d'autant plus importante que la norme à atteindre est basse (Welté, 2002).

La présence d'ions compétiteurs tels que PO_4^{3-} , SiO_4^{2-} ; SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , Cl^- et NO_3^- ainsi que la matière organique, influencent l'élimination de l'arsenic (Tipping, 1981; Hering *et al.*, 1997; Meng *et al.*, 2002). Ces composés interfèrent sur la mobilité des espèces arséniées et perturbent le traitement en occupant les sites d'adsorption ou en créant des répulsions électrostatiques (Brewster et Laschinger, 1992; Meng *et al.*, 2000 et 2002). Meng *et al.* (2002) ont ainsi classé l'affinité de certains anions et des composés arséniés pour les sites de $\text{Fe}(\text{OH})_3$:



VII.2.2. Coagulation-floculation par les sels d'aluminium

Les traitements par les sels d'aluminium peuvent mettre en jeu des formes monomères (AlCl_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18 \text{H}_2\text{O}$) ou des formes pré-polymérisées (Hathaway et Rubel, 1987; Welté, 2002; Gaid, 2005). Les formes pré-polymérisées sont des complexes d'hydroxydes d'aluminium avec des rapports OH/Al pouvant varier de 1,5 à 2,5 pour les coagulants préparés *in situ* ou de l'ordre de 2,0 à 2,1 pour les formes commercialisées (Welté, 2002).

L'élimination de l'arsenic par les sels d'aluminium est moins efficace que celle obtenue avec les sels de fer (Cheng *et al.*, 1994; Scott *et al.*, 1995; Hering *et al.*, 1997; Gregor, 2001; Bohro et Wilderer, 1996; Bissen et Frimmel., 2003b; US EPA, 2003). Comme pour les sels de fer, les arsénates sont mieux éliminés par les sels d'aluminium (60 à 80% d'abattement) que les arsénites (10% d'abattement) (Welté, 2002; Gaid, 2005). L'élimination de l'arsenic par les sels d'aluminium augmente avec la quantité de coagulant ajouté mais reste inférieure à celle obtenue avec les sels de fer (Scott *et al.*, 1995; Hering *et al.*, 1997). Ceci est dû à la moins bonne formation d'hydroxyde d'aluminium par rapport à la formation des hydroxydes de fer (Brewster et Laschinger, 1992) et à la stabilité des floes (McNeill et Edwards, 1997a).

Le domaine de pH recommandé pour l'élimination de l'arsenic avec $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ est compris entre 6,2 et 6,5 (Gaid, 2005). La présence d'ions compétiteurs (PO_4^{3-} , SiO_4^{2-} , SO_4^{2-} , CO_3^{2-} , Cl^- et NO_3^-) et de la matière organique réduit les rendements d'élimination de l'arsenic (Hering *et al.*, 1997).

L'usage des formes pré-polymérisées d'aluminium n'améliore pas le rendement d'élimination de l'arsenic, comme le montre le Tableau 8. Avec les sels d'aluminium, pour un même rapport OH/Al, plus le temps de réaction est important, plus les rendements d'élimination sont faibles (Welté, 2002).

Tableau 8 : Influence de la nature des sels d'aluminium utilisés pour le traitement de l'As(V) (source : Gaid, 2005)

Coagulant	Al ₂ (SO ₄) ₃ .18H ₂ O	AlCl ₃	PCBA	WAC BA	Aqualène
% d'élimination de l'As(V)	75	75	75	35	30

VII.2.3. Autres coagulants

Les sels de lanthane (hydroxydes, carbonates) en tant qu'agents de précipitation de l'As(V) ont été étudiés par Tokunaga *et al.* (1999). L'efficacité dans des gammes de pH inférieures à 8, la faible quantité de réactif (moindre que les produits conventionnels), la faible concentration résiduelle en lanthane dans l'eau traitée (sous réserve que l'ajout de lanthane soit optimisé) et les temps de réaction rapides font de ces sels un nouveau procédé d'élimination de l'As(V) pour le traitement d'effluents industriels.

La technique de coagulation-floculation est la technique d'élimination de l'arsenic la plus couramment utilisée. Néanmoins, ce procédé doit être suivi d'une étape de filtration sur un support granulaire. Après la coagulation-floculation et une simple étape de sédimentation, les hydroxydes de fer et d'aluminium, avec les arsénates ou arsénites adsorbés, peuvent rester en suspension sous forme colloïdale et conduire à des rendements d'élimination de l'arsenic de seulement 30% (Hering et al., 1997), alors que si une étape de filtration est ajoutée, les rendements atteignent plus de 95%. La quantité de coagulant apportée doit être adaptée à la concentration d'arsenic à éliminer et le rendement d'élimination de l'arsenic dépend fortement de la qualité de l'eau à traiter : pH, turbidité, présence d'ions compétiteurs ou de matière organique. Cette technique n'est pas adaptée au traitement des eaux pour des unités de faible capacité comme celles rencontrées dans les zones d'habitats dispersés. De plus, avec ce type de procédé, une pré-oxydation de l'As(III) en As(V) est nécessaire pour obtenir de meilleurs taux d'élimination de l'arsenic.

VII.3. Décarbonatation à la chaux

La décarbonatation à la chaux est un procédé physico-chimique utilisé dans le but d'adoucir ou décarbonater une eau (élimination des ions Ca²⁺ et Mg²⁺).

L'addition de chaux augmente le pH, et conduit à la précipitation des métaux. L'élimination de l'arsenic par décarbonatation à la chaux est obtenue par co-précipitation de l'arsenic avec CaCO_3 ou $\text{Mg}(\text{OH})_2$ ou par précipitation de $\text{Ca}_2(\text{AsO}_4)_2$ (McNeill et Edwards, 1997b). Une décarbonatation classique (baisse du titre hydrotimétrique calcique) ou un adoucissement avec élimination de la dureté calcique et magnésienne en travaillant à des pH élevés, conduisent à des rendements différents.

Pour des pH inférieurs à 9,0, les rendements d'élimination de l'As(III) et de l'As(V) sont inférieurs à 20% alors que pour des pH supérieurs à 10,5, les taux d'élimination de l'As(V) sont supérieurs à 90% (Gupta et Chen, 1978; Sorg et Logsdon, 1978; Gaid 2005). Pour des pH compris entre 11,0 et 11,5 et une concentration en As(V) variant de 5 et $160 \mu\text{g.L}^{-1}$, près de 100% de l'arsenic peut être éliminé par addition de $0,5 \text{ mg.L}^{-1}$ de magnésium (McNeill et Edwards, 1997b). Pour des pH plus élevés, la compétition entre les ions OH^- et les arsénates pour occuper les sites d'adsorption augmente, ce qui diminue le rendement d'élimination de l'As(V).

Les rendements d'élimination de l'As(V) sont meilleurs que ceux obtenus avec As(III) : plus de 95% de l'As(V) peut être éliminé avec ce procédé contre 80% de l'As(III) (Gaid, 2005). Pour des pH supérieurs à 10,5, le mécanisme d'élimination de l'As(V) semble davantage lié aux hydroxydes de magnésium qu'aux hydroxydes de calcium. En effet, à de tels pH, As(V) est éliminé par formation de $\text{Mg}_3(\text{AsO}_4)_2$ ainsi que par co-précipitation avec $\text{Mg}(\text{OH})_2$, alors que la co-précipitation avec CaCO_3 intervient pour moins de 10% dans l'élimination de l'As(V) (US EPA, 2003).

Le procédé de décarbonatation à la chaux est intéressant dans le cas des eaux très dures et contenant peu d'arsenic. Néanmoins, les volumes de boues produites par le procédé de décarbonatation sont plus importants que ceux obtenus par les procédés de coagulation-floculation, même si la concentration en arsenic résiduel est faible, 1 à 4% de la concentration totale en solide (US EPA, 2003). Ce procédé est également plus coûteux que la coagulation-floculation mais il peut être utilisé dans le cadre de l'élimination de l'arsenic, en tant que complément d'une étape de décarbonatation classique.

VII.4. Les techniques membranaires

L'utilisation de membranes en traitement des eaux connaît un important essor. Comparativement aux techniques classiques de séparation, les membranes ont l'avantage d'éliminer simultanément une plus large variété de polluants sans ajustement du traitement face aux variations des caractéristiques de l'eau brute. Ainsi, l'élimination de l'arsenic par filtration membranaire a fait l'objet de plusieurs études (Waypa *et al.*, 1997; Brandhuber et Amy, 1998).

La microfiltration ainsi que l'ultrafiltration n'apparaissent pas applicables au traitement des eaux contaminées en arsenic en tant que processus unique. La microfiltration ne permet pas d'atteindre des rendements d'élimination de l'arsenic supérieurs à 40% (Janjic *et al.*, 1997). Néanmoins, la microfiltration améliore sensiblement l'élimination quand elle intervient pour des eaux faiblement chargées en arsenic (inférieure à 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

Ce traitement est donc réservé au traitement de finition, plus particulièrement à la suite d'un traitement de coagulation-floculation-filtration classique (Han *et al.*, 2002; Wickramasinghe *et al.*, 2004) où subsistent toujours de l'arsenic (10 à 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$).

La nanofiltration permet d'éliminer directement l'arsenic. Des taux d'élimination de l'As(V) supérieurs à 90-95% ont été obtenus (Urase *et al.*, 1998; Kang *et al.*, 2000; Oh *et al.*, 2000 et 2004; Vrijenhoek et Waypa, 2000; Sato *et al.*, 2002). Dans ces études le taux d'élimination de l'As(III) était inférieur à 50%. Cependant, une étude de Sato *et al.* (2002) a démontré que pour une concentration en As(III) de 50 $\mu\text{g.L}^{-1}$ dans l'eau brute, des taux d'élimination de 75% avaient été atteints pour As(III) par nanofiltration.

L'osmose inverse est la seule technique permettant d'éliminer totalement l'arsenic sous forme dissoute. Brandhuber et Amy (1998), dans une étude de l'élimination de l'arsenic par osmose inverse, ont obtenu des taux d'élimination de l'As(V) voisins de 100% contre 60-80% pour As(III). Sato *et al.* (2002) ont rapporté des pourcentages d'abattement de 99% pour une concentration initiale de 60 $\mu\text{g.L}^{-1}$ en As(V).

La charge de l'espèce arsénisée joue un rôle primordial. En nanofiltration, As(V) est mieux retenu qu'As(III) (Brandhuber et Amy, 1998; Urase *et al.*, 1998; Oh *et al.*, 2000 et 2004). Ces mêmes auteurs ont démontré que la membrane retenait à sa surface les ions de même charge et laissait passer les espèces neutres. Les membranes possédant un potentiel Zéta négatif (Oh *et al.*, 2000) retiennent donc plus efficacement les arsénates que les arsénites.

Le pH a donc une importance dans l'élimination des espèces arséniées (Shih *et al.*, 2005) : plus il est élevé, plus la rétention de l'As(V) et de l'As(III) est favorisée. D'après Seidel *et al.* (2001), As(V) est mieux éliminé par nanofiltration à pH 8,5 (85%) qu'à pH 4,5 (8%). Urase *et al.* (1998) ont observé que 90% d'As(III) pouvait être éliminé par filtration membranaire à pH 10, alors que ce taux n'était que de 50% à pH 5. Cette augmentation de l'élimination de l'arsenic était liée au fait qu'As(V) et As(III) sont davantage chargés négativement aux pH les plus élevés comme le montre la Figure 3 (Urase *et al.*, 1998; Kang *et al.*, 2000; Oh *et al.*, 2000 et 2004; Vrijenhoek et Waypa, 2000; Brandhuber et Amy, 2001; Seidel *et al.*, 2001).

L'étude de la charge de surface de la membrane explique également l'obtention de meilleurs taux d'élimination de l'arsenic avec l'augmentation du pH : plus le pH augmente, plus la charge de surface de la membrane devient négative et plus elle est apte à éliminer les espèces chargées négativement, comme les arsénates (Urase *et al.*, 1998; Kang *et al.*, 2000; Oh *et al.*, 2000).

La concentration initiale en arsenic affecte les rendements d'élimination de l'arsenic. Seidel *et al.* (2001) ont constaté qu'en augmentant la concentration en arsenic de 10 à 316 $\mu\text{g.L}^{-1}$, les rendements d'élimination augmentaient pour As(V) de 60 à 90% et diminuait pour As(III) de 28 à 5% pour As(III). Cependant, l'effet de ce paramètre n'est pas clairement établi puisque Brandhuber et Amy (2001) aboutissent au constat inverse.

La présence de certains ions (Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ , HPO_4^{3-} , SiO_3^{2-} , Cl^- , CO_3^{2-}) a un impact négatif sur l'élimination de l'As(V) (Brandhuber et Amy, 2001; Seidel *et al.*, 2001). L'influence des ions calcium est due à la formation d'un complexe entre Ca^{2+} et les groupes de charges négatives situés à la surface de la membrane. Cette dernière prend alors une charge positive défavorable à la rétention des arsénates (Childress et Elimelech, 1996; Deshmukh et Childress, 2001). La présence de matière organique affecte négativement l'élimination de l'As(V) (Brandhuber et Amy, 1998 et 2001). Aucune étude de l'effet des ions compétiteurs sur l'élimination de l'As(III) n'a été menée.

La rétention de l'arsenic est différente selon la pression utilisée et selon la composition de la membrane (Shih, 2005). Fox (1989) a démontré que quelle que soit la membrane utilisée, l'élimination de l'As(V) est de 98% alors que l'efficacité d'élimination de l'As(III) varie de 46% à 75%.

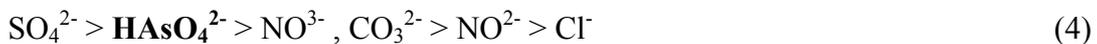
L'osmose inverse et la nanofiltration permettent donc une élimination satisfaisante de l'As(V). La microfiltration est une technique d'élimination de l'arsenic mais seulement en complément d'une étape de coagulation-floculation. Le principal désavantage de ce procédé est son coût d'investissement et de fonctionnement.

VII.5. Les résines échangeuses d'ions

Wang *et al.* (2002) ont obtenu des taux d'élimination de l'As(V) supérieurs à 90% et des concentrations finales en arsenic inférieures à 5 µg.L⁻¹, avec des résines échangeuses d'anions composées de groupements échangeurs de type "bases fortes".

Korngold *et al.* (2001) ont obtenu des taux d'élimination de 99%, pour une concentration initiale en arsenic de 600 µg.L⁻¹. Avec ce type de procédé, As(V) est mieux éliminé que l'As(III) du fait de la différence de charge entre les arsénates et les arsénites. As(V) peut être éliminé avec une résine sélective à base d'ions chlorure et d'ions hydroxyde, pour des pH compris entre 6,5 et 9,0 (US EPA, 2000a). Les résines sélectives à base de sulfate ainsi que celles à base de nitrates sont également très utilisées pour l'élimination de l'As(V) (Jonhston et Heijnen, 2001). Les résines sont prétraitées avec HCl ou NaCl afin d'introduire des ions chlorure qui seront facilement échangés par les ions arsénate (Ghurye *et al.*, 1999; Korngold *et al.*, 2001).

Les échanges entre les ions fixés et mobiles étant fonction entre autres de la charge surfacique, l'efficacité du traitement de l'As(V) est fortement dépendante du pH et de la concentration des autres anions, particulièrement SO₄²⁻, F⁻, NO₃⁻ (Clifford et Lin, 1991; Sancha *et al.*, 2000; US EPA, 2000a; Korngold *et al.*, 2001), alors que les ions chlorure n'affectent pas la capacité d'échange (Guenegou *et al.*, 1998). Ces interférences sont liées à la compétition entre les différents anions et les arsénates (Sancha *et al.*, 2000). Le classement des interférences liées aux différents ions compétiteurs est établi comme suit (US EPA, 2000a) :



*Les résines échangeuses sont donc très efficaces dans le cas des eaux faiblement minéralisées. La concentration en solide total dissous (minéraux, sels, métaux) ne doit pas excéder 500 mg.L⁻¹ (Wang *et al.*, 2002). Les eaux fortement chargées en MES ne peuvent pas être traitées avec ce type de procédé. La régénération des résines s'effectue à la soude caustique, la concentration en arsenic dans les éluats est généralement inférieure à 10 mg.L⁻¹ (Bissen et Frimmel, 2003b; US EPA, 2003).*

Comme pour la filtration membranaire, l'élimination de l'arsenic par résines échangeuses est donc un procédé assez contraignant et difficile à mettre en œuvre pour de petites unités de potabilisation. Les résultats obtenus sont satisfaisants (concentration finale en arsenic inférieure à $5 \mu\text{g.L}^{-1}$), seulement As(V) est bien éliminé; As(III) n'étant pas affecté.

VII.6. L'électrocoagulation

L'électrocoagulation-floculation est de plus en plus utilisée en traitement des eaux (Chen *et al.*, 2002; Holt *et al.*, 2005). L'efficacité de ce procédé sur l'élimination de l'arsenic a fait l'objet de nombreuses études (Kumar *et al.*, 2004; Parga *et al.*, 2005; Hansen *et al.*, 2006). Balasubramanian et Madhavan (2001), ont obtenu des taux d'élimination d'arsenic de 90% et 100% pour des concentrations de 100 mg.L^{-1} , une durée d'électrolyse de 12 h et des intensités respectives de 0,50 et $1,25 \text{ A.dm}^{-2}$.

Kumar *et al.* (2004) ont comparé l'efficacité de trois matériaux constitutifs de l'électrode : l'aluminium, le fer et le titane. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec une électrode de fer (près de 99%), alors qu'avec une électrode d'aluminium ou de titane, les rendements étaient respectivement de 37% et 58%. Le taux résiduel d'arsenic obtenu avec les électrodes de fer est inférieur à $10 \mu\text{g.L}^{-1}$, ce qui représente un intérêt majeur en potabilisation et représente une meilleure performance qu'avec les procédés coagulation-floculation classiques.

Les taux d'élimination de l'As(V) sont les mêmes pour les procédés classiques de coagulation-floculation ou d'électrocoagulation-floculation (99%), mais en ce qui concerne As(III), les rendements obtenus par électrocoagulation-floculation (99%) sont meilleurs que ceux obtenus par coagulation-floculation chimique (90 à 93%) (Kumar *et al.*, 2004). Ceci s'expliquerait par les réactions d'adsorption et de co-précipitation qui s'opèrent avec les hydroxydes formés. Le pH entre 6 et 8, n'a pas d'influence sur les rendements d'élimination de l'arsenic. Une augmentation de l'intensité entre 0,65 et $1,53 \text{ A.dm}^{-2}$ engendre une augmentation de la cinétique d'élimination de l'arsenic, mais au-delà de $1,53 \text{ A.dm}^{-2}$, le rendement d'élimination de l'arsenic ne s'améliore pas (Hansen *et al.*, 2006). Cet effet est attribué à une passivation à l'anode. Pour de plus faibles courants ($0,8 \text{ A.dm}^{-2}$), As(V) est mieux éliminé qu'As(III), respectivement 80% contre 8%.

L'électrocoagulation-floculation est une technique émergente pour l'élimination de l'arsenic dans l'eau. Les résultats obtenus établissent qu'à l'inverse de la coagulation classique, cette technique permet d'obtenir des concentrations en arsenic inférieures à 10 µg.L⁻¹.

Ce procédé est efficace pour le traitement de l'As(V), les rendements d'élimination de l'As(III) sont plus faibles. Une oxydation préalable de l'As(III) en As(V) est donc nécessaire en amont de cette étape de traitement.

En outre, la consommation énergétique ainsi que le changement régulier des électrodes engendrent des surcoûts importants qui peuvent être un frein au développement de cette technique.

VII.7. L'électrodialyse

L'électrodialyse est utilisée pour le dessalement d'eau de mer ainsi que pour le traitement des sous-produits d'eaux industrielles (agroalimentaire, traitement de surface...). Dans le cas de l'élimination de l'arsenic, cette technique a fait l'objet de peu d'études. Le pourcentage d'élimination peut atteindre 95% et la concentration finale peut être inférieure à 3 µg.L⁻¹ (Kartinen et Martin, 1995; Mondal *et al.*, 2006). Cette technique permet d'obtenir une eau de très bonne qualité en sortie de traitement : tous les micropolluants (pesticides, métaux lourds, détergents) ainsi que les bactéries et virus peuvent être éliminés.

L'électrodialyse est un procédé très onéreux (investissement et fonctionnement) et comme pour l'osmose inverse, il est souvent nécessaire de reminéraliser l'eau traitée. Une étape de pré-traitement est nécessaire car la présence de matières en suspension conduit au colmatage des pores des membranes. De plus, il est nécessaire d'oxyder As(III) qui n'est pratiquement pas éliminé du fait de sa neutralité (H₃AsO₃). Enfin, les études concernant ce procédé sont peu nombreuses et ce procédé n'est pas encore applicable sur les filières de potabilisation.

VII.8. L'immobilisation *in situ*

Lorsque l'arsenic est présent dans des eaux souterraines réductrices et acides, il est possible d'immobiliser l'arsenic en créant des conditions oxydantes.

Ainsi, Matthes (1981) a injecté directement du permanganate de potassium (KMnO₄) à l'intérieur de 17 puits souillés.

Dans cet aquifère acide et riche en fer, l'eau était fortement polluée en arsenic (13,6 mg.L⁻¹). L'ajout d'importantes quantités de KMnO₄ dans les puits a permis de réduire la concentration en arsenic libre (ou mobile) de plus de 99% de telle sorte que la concentration finale obtenue soit de 60 µg.L⁻¹. L'étude a montrée que l'As(III) a été oxydé en As(V) par l'ajout de KMnO₄ et que ces mêmes ions ont ensuite co-précipités avec les ions Fe³⁺ et Mn²⁺, immobilisant ainsi l'arsenic.

L'addition *in situ* d'oxygène afin de réduire les concentrations en arsenic dans une eau souterraine a également été testée (Jonhston et Heijnen, 2001); les concentrations en arsenic ont ainsi été diminuées de 20 à 5 µg.L⁻¹. Une analyse du fer et du manganèse au cours de cette étude a montré une baisse de leurs concentrations, certainement due à une co-précipitation de ces espèces avec l'arsenic.

Les barrières perméables réactives (BPR) font partie des techniques « passives » de décontamination des eaux souterraines. Une BPR est constituée d'une zone perméable de matériaux réactifs (métal réducteur, accepteur ou donneur d'électrons, adsorbants, lit bactérien...) située sur le panache d'eau souterraine polluée. Cette technique passive *in situ* a été testée dans le cas de l'élimination de l'arsenic. La spéciation de l'arsenic dans les eaux souterraines est déterminante pour l'efficacité de la BPR. Ces dernières sont généralement composées d'oxyhydroxydes de fer et d'aluminium mais aussi de Fe⁰ et fonctionnent selon le même principe de sorption que celui appliqué pour la dépollution des sols. Ahn *et al.* (2003) ont étudié l'efficacité des BPR à base de produits métallurgiques riches en oxyde ou hydroxyde de fer et de calcium. Selon cette étude, les BPR à base de calcium sont plus efficaces que les BPR à base de Fe⁰ et permettent d'éliminer aussi bien l'As(V) que l'As(III). Au cours du processus d'élimination de l'arsenic, d'importantes quantités de calcium sont libérées et le pH augmente fortement, en raison de la dissolution des hydroxydes de calcium. L'arsenic présent en solution est éliminé par formation de composés Ca-As, plus précisément de Ca₄(OH)₂(AsO₄)₂·4H₂O, plutôt que par adsorption sur les oxydes de fer.

Ces techniques d'immobilisation in situ sont relativement coûteuses et assez limitées. Les oxydants ajoutés peuvent s'avérer toxiques vis-à-vis de l'écosystème, l'activité bactériologique est généralement modifiée et la formation de précipités de fer ou de manganèse produits peut conduire à l'obstruction des exutoires.

Dans le cas des BPR, il peut exister des problèmes de colmatage et de réversibilité des mécanismes de sorption.

Le Tableau 9 présente un comparatif des différentes techniques de traitement pour l'élimination de l'arsenic dans les eaux à potabiliser. Il dresse les avantages et limites de chaque procédé présenté précédemment.

Il apparaît ainsi que l'élimination de l'arsenic dépend de la qualité de l'eau brute, mais aussi qu'elle engendre un surcoût plus ou moins important dans la filière de traitement et que le devenir des éluats est un problème qui doit être pris en compte.

Ce tableau montre également que l'efficacité des traitements répertoriés est plus importante dans le cadre de l'élimination de l'As(V) que pour l'As(III) et qu'une étape d'oxydation des arsénites en arsénates est impérative pour atteindre des concentrations résiduelles en arsenic inférieures à $10 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Tableau 9 : Comparatif des différentes techniques de traitement pour l'élimination de l'arsenic dans l'eau

Procédé de Traitement	Efficacité		Principales interférences	Respect de la norme (10 µg.L ⁻¹)	Niveau technique	Rejet	Coût	Observations
	As(III)	As(V)						
Adsorption sélective								
- alumine activée	+/++	+++	OH ⁻ , F ⁻ , SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ , MO	+++	++	++	++/+++	réajustement nécessaire du pH
- oxydes de fer								
- oxydes (1)	++	+++ /++++	OH ⁻ , PO ₄ ³⁻ , CO ₃ ²⁻ , SO ₄ ²⁻	++	++	++	++	bonne qualité de l'eau brute requise
- (oxy)hydroxyde (GEH)	+++ /++++	++++	OH ⁻	++++	++	+	++++	matériau non régénérable
- dioxydes de manganèse (2)	++ /+++	++ /+++	Fe, Mn, OH ⁻	+++	+++	+++	++	problème d'élution du manganèse
- composés mixtes								
- sable + (1) + (2)	++++	++ /+++	-	+++	++	+++	++	études en laboratoire seulement
- fer à la valence zéro (Fe ⁰)	+++	++++	-	+++	+++	++	++ /+++	études en laboratoire seulement
Précipitation – Co-précipitation								
- sels de fer	++	++++	PO ₄ ³⁻ , SiO ₃ ²⁻ , OH ⁻ , MO	++	++	+++	+++	génère des boues
- sels d'aluminium	0/+	++	PO ₄ ³⁻ , SiO ₃ ²⁻ , OH ⁻ , MO	+	++	+++	+++	génère des boues, toxicité de Al
- décarbonatation à la chaux	++ /+++	+++ /++++	Fe	+++	++ /+++	++++	+++ /++++	réajustement nécessaire du pH
Techniques membranaires								
- microfiltration	+	++		0	++++	++++	++++	idéal en complément de l'étape de coagulation/floculation classique
- ultrafiltration	+	++	Ca ²⁺ , Mg ²⁺ , K ⁺ , PO ₄ ³⁻	0	++++	++++	++++	
- nanofiltration	++	+++ /++++	SiO ₃ ²⁻ , Cl ⁻ , CO ₃ ²⁻	++ /+++	++++	++++	++++	rendement meilleur si pH élevé (8-10)
- osmose inverse	++ /+++	++++		++++	++++	++++	++++	
Résine échangeuses d'ions								
	0/+	+++ /++++	SO ₄ ²⁻ , NO ₃ ⁻ , CO ₃ ²⁻ , NO ₂ ⁻ , Cl ⁻ , MES	++	+++	++++	++ /+++	rendement meilleur si pH élevé (6-9)
Electrocoagulation								
	+++	++++	-	++++	+++	++	++++	grande consommation d'énergie
Electrodialyse								
	0/+	+++	-	++++	++++	++++	++++	reminéralisation de l'eau nécessaire en aval
Immobilisation in situ								
	+/++	+++	-	++	++++	++	+++ /++++	toxicité vis-à-vis de l'environnement

++++ : très élevé

+++ : élevé

++ : moyen

+ : faible

0 : aucun

VIII - OXYDATION CHIMIQUE DE L'As(III) EN As(V)

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, lors des procédés de traitements usuels, l'élimination de l'As(III) n'est pas aussi efficace que celle de l'As(V). Il est donc important d'oxyder As(III), présent sous la forme neutre (H_3AsO_3), en As(V) présent sous forme anionique mono ou divalente (H_2AsO_4^- et HAsO_4^{2-}).

D'après les valeurs de pKa correspondant à As(III) et As(V), les couples redox des espèces associées à l'arsenic s'écrivent :



Le pH dans les eaux souterraines étudiées étant généralement inférieur à 7, le couple redox considéré est celui de la relation (5). La demi-équation d'oxydo-réduction est donc la suivante (Pourbaix, 1963) :



$$E = 0,666 - 0,0887\text{pH} + 0,0295 \log [\text{H}_2\text{AsO}_4^-] / [\text{H}_3\text{AsO}_3] \quad (8)$$

Contrairement à l'oxydation de Fe^{2+} en Fe^{3+} qui s'effectue rapidement en présence d'oxygène, la cinétique d'oxydation de l'As(III) en As(V) par cette voie nécessite plusieurs jours (Bissen et Frimmel, 2003b). Des oxydants tels que l'ozone, le chlore, le dioxyde de fer, le KMnO_4 sont utilisés afin d'accélérer cette réaction:



Le rapport stœchiométrique électronique relatif à l'arsenic et à l'oxydant est défini par la relation suivante (10) :

$$r = \frac{n \times [\text{Ox}] \times V_{\text{Ox}}}{2 \times [\text{As}] \times V_{\text{As}}} \quad (10)$$

où n : électrons impliqués par le couple Ox/Red de l'oxydant utilisé, [Ox] et V_{Ox} sont respectivement la concentration molaire et le volume de la solution d'oxydant, [As] et V_{As} la concentration molaire et le volume de la solution d'As(III) utilisés lors du dosage rédox de As(III).

On définit pour chaque oxydant testé, un rapport stœchiométrique électronique correspondant au nombre de moles d'électrons consommés par l'oxydant par mole d'électron fournie par As(III).

VIII.1. Oxydation à l'air

As(III) peut s'oxyder en As(V) en présence de l'oxygène de l'air mais cette réaction est longue (Cherry *et al.*, 1979; Hug et Leupin, 2003).

Kim et Nriagu (2000) ont mis en évidence un phénomène d'oxydation de 54% d'As(III) en As(V) par l'air, à 20°C, au bout de 5 jours, dans une eau souterraine contenant de 46 à 62 µg.L⁻¹ d'As total dont plus de 70% se trouvent sous forme d'As(III). L'oxydation à l'oxygène pur n'améliore que peu le rendement d'oxydation de l'As(III) (Kim et Nriagu, 2000; Bissen et Frimmel, 2003b). La cinétique d'oxydation à l'air est accélérée en présence d'ions Mn²⁺ (Daus *et al.*, 2000) mais également d'ions Cu²⁺ à pH 11,2 (Tozawa et Nishimura, 1984).

L'oxydation de l'As(III) en As(V) est donc une réaction trop lente pour être utilisée dans une unité de traitement des eaux.

VIII.2. Oxydation au peroxyde d'hydrogène (H₂O₂)

Le peroxyde d'hydrogène est un oxydant peu réactif vis-à-vis de l'As(III). L'équation d'oxydation est la suivante (11) :



Cette oxydation nécessite un très fort excès stœchiométrique de H₂O₂ par rapport à As(III). Teixeira *et al.* (1990) ont ainsi démontré que même un très fort excès de H₂O₂ (supérieur à 10000%) ne permet d'oxyder que 50% d'une solution d'As(III) de concentration 74 mg.L⁻¹. En outre, plus la concentration en As(III) est faible et plus H₂O₂ doit être en excès. Molnar *et al.* (1994) ont démontré que l'oxydation est plus efficace pour des pH basiques, les formes anioniques de l'arsénite étant plus réactives que les formes neutres.

Hug et Leupin (2003) ont étudié l'utilisation de Fe(II) conjuguée à la présence de H₂O₂. La réaction de Fenton, permet d'obtenir des cinétiques rapides d'oxydation de l'As(III) pour une gamme de pH comprise entre 3,5 et 7,5.

La présence simultanée de Fe(II) et H₂O₂, donne un intermédiaire entraînant la formation de Fe(IV) pour des pH neutres, et de radicaux libres OH[•] à pH acide.

Pour des pH neutres, la réaction de Fe(IV) avec As(III) donne Fe(III) et As(V). As(IV) réagit immédiatement avec O₂ dissous pour donner As(V). L'efficacité de cette réaction, se justifie par la présence de Fe(IV) et de radicaux libres OH[•], ce qui explique le peu de réactivité de H₂O₂ seul.

VIII.3. Oxydation à l'ozone (O₃)

L'ozone est l'oxydant le plus puissant (Tozawa et Nishimura, 1984; US EPA, 2003). La réaction d'oxydation est la suivante (12) :

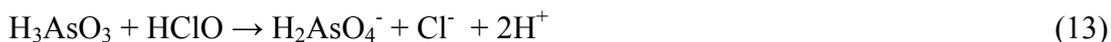


Kim et Nriagu (2000) ont observé que pour une eau contenant 40 µg.L⁻¹ d'As(III), la totalité de l'arsénite présent était oxydé au bout de 20 min. La cinétique d'oxydation de l'As(III) est d'autant plus rapide que la concentration en O₃ est importante (Tozawa et Nishimura, 1984). Un excès stœchiométrique de 3 permet d'oxyder 95% d'As(III) en 18 secondes (Ghurye et Clifford, 2001). Le manganèse ne semble pas avoir d'influence sur la réaction alors que la cinétique d'oxydation de l'As(III) en As(V) est dix fois plus importante lorsque l'eau brute contient 2 mg.L⁻¹ de sulfure (Ghurye et Clifford, 2001). D'après Kim et Nriagu, (2000), la présence de fer accélère l'oxydation de l'As(III). Le pH (gamme de 1 à 11) ainsi que la température (20 à 80°C) ne semblent pas avoir d'effet sur l'efficacité de l'oxydation (Tozawa et Nishimura, 1984).

Néanmoins, l'ozone est un oxydant trop onéreux pour être utilisé dans les petites stations de potabilisation ainsi que dans les pays en voie de développement (Jiang, 2001).

VIII.4. Oxydation à l'hypochlorite de sodium (NaOCl)

L'hypochlorite de sodium est très utilisé pour l'oxydation de l'As(III) en As(V), principalement en raison de son faible coût. La réaction est la suivante (13) :



L'hypochlorite de sodium permet l'oxydation complète de l'As(III) (McMullin *et al.*, 1995). Selon Lenoble (2003), un rapport stœchiométrique de 4, correspondant à une quantité d'oxydant de 2,65 mg ClO⁻ par mg d'As(III), est nécessaire pour que cette oxydation soit complète.

Un excès stœchiométrique de 3 permet d'oxyder 95% d'As(III) en 42 secondes (Ghurye et Clifford, 2001).

Malgré son fort pouvoir oxydant, l'utilisation de l'hypochlorite de sodium en pré-oxydation dans les petites unités de production d'eau potable n'est pas conseillée à cause de la production de trihalométhanes (THM) en présence de matières organiques (Lenoble, 2003; US EPA, 2003).

Cependant, NaOCl peut être utilisé pour l'oxydation de l'As(III) dans le cas des eaux souterraines, qui ont des concentrations faibles en carbone organique. Le fer, le manganèse et le carbone organique total (COT) ne semblent pas avoir d'influence sur l'efficacité de l'oxydation de l'As(III) en As(V) par NaOCl.

VIII.5. Oxydation au permanganate de potassium (KMnO₄)

Le KMnO₄ est très utilisé comme oxydant vis-à-vis de l'As(III) (Borho et Widerer, 1996; Subramanian *et al.*, 1997; Chiu et Hering, 2000; Bissen et Frimmel, 2003b; Lenoble, 2003). La réaction d'oxydation est la suivante (14) :



D'après Lenoble (2003), l'oxydation complète par le KMnO₄ ne suit pas la stœchiométrie puisque dès que ce rapport vaut 0,9, l'oxydation de l'As(III), pour une concentration comprise entre 7,4 et 74 mg.L⁻¹, est totale en 5 minutes, alors qu'un excès de 3 permet d'oxyder plus de 95% d'As(III) (50 µg.L⁻¹) en 15 secondes, à pH 7,3 (Ghurye et Clifford, 2001). En outre, la réaction est indépendante du pH quand il est compris entre 6,3 et 8,3.

Le KMnO₄ est donc un oxydant efficace vis-à-vis de l'As(III) mais il présente l'inconvénient d'être difficile à manipuler (très corrosif, coloration violette persistante).

VIII.6. Oxydation au dioxyde de manganèse (MnO_{2(s)})

Les propriétés oxydantes du dioxyde de manganèse solide vis-à-vis de l'As(III) ont fait l'objet de nombreuses études (Oscarson *et al.*, 1981a et b; Moore *et al.*, 1990; Driehaus *et al.*, 1995; Nesbitt *et al.*, 1998; Badjpai et Chaudhuri, 1999; Manning *et al.*, 2002b). La réaction d'oxydation est la suivante (15) :



La capacité oxydante du $\text{MnO}_{2(s)}$ solide vis-à-vis de l'As(III) est très faible et d'importants excès stœchiométriques sont nécessaires (Lenoble, 2003).

L'efficacité de l'oxydation dépend fortement du ratio molaire initial $\text{MnO}_2/\text{As(III)}$ qui est généralement assez élevé (Driehaus *et al.*, 1995). Lenoble (2003) a montré que la capacité oxydante de $\text{MnO}_{2(s)}$ est très faible comparativement à celle de KMnO_4 et ainsi son influence au sein d'une solution de KMnO_4 est quasi nulle.

Des essais en batch ont montré une augmentation de l'oxydation de l'As(III) avec la température alors que l'effet du pH mais aussi de l'oxygène dissous est minime (Moore *et al.*, 1990; Scott et Morgan, 1995; Ghurye et Clifford, 2001). Fe^{2+} , Mn^{2+} , Ca^{2+} et SO_4^{2-} diminuent le pouvoir oxydant de MnO_2 (Driehaus *et al.*, 1995; Scott et Morgan, 1995; Ghurye et Clifford, 2001).

La quantité de manganèse relarguée dans l'eau traitée est généralement assez faible étant donné l'adsorption de Mn^{2+} à la surface du solide (Moore *et al.*, 1990; Driehaus *et al.*, 1995; Subramanian *et al.*, 1997; Nesbitt *et al.*, 1998) mais aussi la formation d'un précipité entre le manganèse et les arsénates : la krautite, $\text{MnHAsO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (Tournassat *et al.*, 2002).

L'inconvénient de ce procédé est que le $\text{MnO}_{2(s)}$ a un faible pouvoir désinfectant, et qu'il est nécessaire d'utiliser un autre oxydant ou désinfectant dans la filière de traitement (Johnston et Heijnen, 2001; US EPA, 2003).

VIII.7. Oxydation au chlorure ferrique (FeCl_3)

Le chlorure ferrique fait l'objet de nombreuses études concernant l'oxydation de l'As(III) (Brewster et Laschinger, 1992; Meng *et al.*, 2000 et 2002; Lenoble, 2003). L'équilibre redox impliquant Fe^{3+} est le suivant (16):



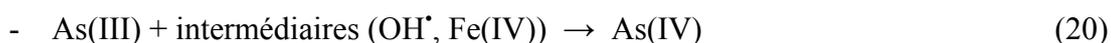
Des rapports stœchiométriques de 0,20 et 0,18 permettent l'oxydation totale de l'As(III) par le FeCl_3 pour des concentrations respectives de 7,4 et 74 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ d'As(III) (Lenoble, 2003). Cette oxydation n'est pas immédiate et dépend du volume de FeCl_3 ajouté.

Le faible rapport stœchiométrique, la stabilité de ce produit ainsi que son faible coût font de FeCl_3 l'oxydant le plus performant, du point de vue de l'oxydation de l'As(III) en As(V). Cependant, la présence d'ions interférants (SO_4^{2-} , Cl^- ou NO_3^-) est un problème, de même que la génération de boues arséniées qui doivent être retraitées (Meng *et al.*, 2000 et 2002).

VIII.8. Oxydation par la limaille de fer

L'oxydation de l'As(III) par la limaille de fer est observée en parallèle d'une oxydation du fer(II) par l'oxygène (Hug et Leupin, 2003; Leupin et Hug, 2005).

Le mécanisme mis en évidence est le suivant :



Le principal avantage de l'utilisation de la limaille de fer réside dans le fait qu'elle contient trois fois plus de fer en poids que n'importe quel sel de fer, alors que l'inconvénient de ce support réside dans la compétition existante entre les phosphates et l'As(V) lors de la phase d'adsorption.

VIII.9. Oxydation photochimique

As(III) peut être oxydé par le rayonnement naturel en présence d'oxygène (Bissen *et al.*, 2001). Cette réaction, très lente, est accélérée par l'utilisation d'un rayonnement artificiel d'Ultra-Violet (UV) en présence d'oxygène (Ghurye et Clifford, 2001). Selon Bissen et Frimmel (2003b), 90% d'une solution d'As(III) à 74 $\mu\text{g.L}^{-1}$ est oxydé en moins de 90 secondes, en utilisant une lampe à vapeur de mercure haute pression.

Le rayonnement UV est assuré à une longueur d'onde comprise entre 190 et 240 nm et l'énergie nécessaire est de 3 à 4 kWh.m⁻³.

L'utilisation de lampe à vapeur de mercure basse pression ne permet pas d'obtenir une oxydation de l'As(III) en As(V) (Welté, 2002). La photo-oxydation peut également être utilisée en tant que complément à l'ajout d'un réactif chimique.

Pour une concentration en As(III) de 40 mg.L⁻¹ et un ratio molaire As/H₂O₂ égal à 1, As(III) est oxydé en moins de 10 minutes en utilisant un rayonnement UV en présence d'O₂ (Bissen et Frimmel, 2003b).

La présence de diverses espèces chimiques comme, TiO_2 , Fe^{3+} , SO_3^{2-} , ainsi qu'un milieu acide permet d'augmenter le rendement de l'oxydation photochimique de l'As(III) tout en diminuant la puissance du rayonnement UV (EAWAG, 1999; Bissen *et al.*, 2001; Emmett et Khoe, 2001; Ghurye et Clifford, 2001; Hug *et al.*, 2001).

Zaw et Emmett (2002) ont ainsi proposé une méthode d'oxydation de l'As(III) en utilisant une lampe UV mais aussi les sels de fer et les ions SO_3^{2-} , en présence d'oxygène, comme photocatalyseurs. Le principe repose, dans le cas de l'utilisation des sels de fer, sur la transformation des groupements $\text{Fe}(\text{OH})_3$ par le rayonnement $h\nu$ en ions Fe^{2+} et en OH^\bullet . Ces radicaux libres vont ensuite être utilisés pour oxyder As(III) en As(V). Les ions SO_3^{2-} en présence d'oxygène, conjugués au rayonnement UV, permettent d'obtenir une oxydation totale d'As(III) en As(V).

As(III) peut être oxydé par les radiations UV en présence de TiO_2 (Bissen *et al.*, 2001). Ce système est peu coûteux car TiO_2 peut être fixé sur un support lorsque la lumière naturelle est utilisée comme source de radiation. Les résultats obtenus sont satisfaisants puisque As(III) (à une concentration de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$) est entièrement oxydé, en moins de 5 minutes, en As(V). Néanmoins, ce procédé est peu applicable pour la potabilisation des eaux, du fait de la toxicité du titane.

Les deux procédés de traitements, SODIS (**S**olar water **DIS**infection) et SORAS (**S**olar **O**xydation and **R**emoval of **A**rsenic), développés par l'EAWAG et applicables aux pays en voie de développement, utilisent la photo-oxydation par les rayons UV-A pour oxyder As(III) en As(V). Les eaux à traiter sont placées dans des bouteilles en polyéthylènetéréphtalate dans lesquelles l'eau est additionnée de citrate ou de jus de citron.

L'utilisation d'un rayonnement UV (80 mW.m^{-2}) ou de la lumière naturelle, combinée aux fortes concentrations en fer contenues généralement dans ces eaux, permet l'oxydation de l'As(III) en As(V) et l'adsorption de l'arsenic sur les hydroxydes de fer, qui sont ensuite éliminés par décantation. Ce type de procédé a également été étudié par Hug *et al.* (2001).

Le Tableau 10 dresse un bilan des performances des différents additifs chimiques utilisés dans une filière de traitement en vue de l'oxydation de l'As(III) en As(V). L'ajout de réactifs chimiques augmente généralement le coût du traitement. En outre, le suivi et l'appui technique sont généralement un frein à leur utilisation dans les petites stations de production d'eau potable.

Tableau 10 : Présentation des différents oxydants chimiques de l'As(III) en As(V)

Procédé d'oxydation chimique	Quantité d'oxydant nécessaire	Facilité de mise en oeuvre sur le terrain	Toxicité / risque sanitaire	Coût	Observations
Peroxyde d'hydrogène	très fort excès	0/+	0	++++	réaction accélérée en présence de Fe(II) (<i>Réaction de Fenton</i>)
Ozone	r = 3	0	0	++++	réaction accélérée en présence de Fe(II)
Hypochlorite de sodium	r = 3	++++	+++	+	risque de formation de THM
Permanganate de potassium	r = 0,9	+++	0	+	formation de manganèse sous forme particulaire (MnO _{2(s)})
Dioxyde de manganèse	très fort excès	+++	++	+	pas de manganèse relargué
Chlorure ferrique	r = 0,2	+++	0	+ / +++	interférences liées à SO ₄ ²⁻ , Cl ⁻ et NO ₃ ⁻ ; formation de boues
Limaille de fer	?	+++	0	++	interférences liées à PO ₄ ³⁻
Photochimique	?	+++	0 / +++	+ / +++	lampe à vapeur de Hg basse pression, pH acide

++++ : très élevé

+++ : élevé

++ : moyen

+ : faible

0 : aucun

? : informations insuffisantes

r : rapport stoechiométrique

IX - OXYDATION BACTERIENNE DE L'As(III) EN As(V)

L'oxydation de l'As(III) en As(V) est généralement réalisée en utilisant des oxydants chimiques (Cf chapitre VIII). Depuis quelques années, des traitements biologiques sont utilisés pour oxyder ou éliminer différents polluants rencontrés dans les eaux. Selon Tamaki et Frankenberger (1992), l'oxydation de l'As(III) en As(V) dans l'environnement est davantage liée aux conditions microbiologiques du milieu qu'à une oxydation chimique généralement assez lente.

La présence de bactéries oxydantes de l'arsenic dans les drainages miniers acides (Acid Mine Drainage, AMD) est également reconnue. Ces bactéries jouent un rôle important dans l'oxydation et l'immobilisation de l'arsenic dans les AMD et peuvent représenter un outil potentiel pour la remédiation de ces sites. Cependant, avec les deux bactéries acidophiles les plus étudiées, *Acidithiobacillus ferrooxidans* et *Leptospirillum ferrooxidans*, l'oxydation directe de l'As(III) en As(V), par voie hétérotrophe ou autotrophe, n'a pas encore été démontrée (Wakao *et al.*, 1988; Bruneel *et al.*, 2004). Depuis quelques années des souches bactériennes associées au genre *Thiomonas* ont été isolées dans de tels sites et sont capables de réaliser l'oxydation de l'As(III) (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002, 2003 et 2006a; Casiot *et al.*, 2003; Dictor *et al.*, 2003; Duquesne, 2004; Bruneel *et al.*, 2004).

L'oxydation bactérienne de l'As(III) en As(V), peut donc s'effectuer de deux manières :

- une oxydation indirecte de l'As(III) en As(V) par des bactéries ferro-oxydantes ou manganèse-oxydantes pour lesquelles la présence d'oxyhydroxydes de fer ou de manganèse permet l'oxydation de l'arsenic
- une oxydation directe de l'As(III) par des bactéries hétérotrophes, autotrophes ou mixotrophes. Certaines bactéries tirent leur énergie de cette réaction et sont qualifiées de chimiolithotrophes.

IX.1. Oxydation bactérienne indirecte de l'As(III)

L'existence de bactéries ferro-oxydantes et manganèse-oxydantes est connue depuis plusieurs décennies (Ghiorse, 1984; Mouchet, 1992; Sandstrom et Mattsson, 2001).

Ces microorganismes peuvent être classés en trois groupes principaux :

- les Chlamydo bactériales, bactéries filamenteuses (engainées) comme les genres *Leptothrix* (*Leptothrix ochracea*) et *Sphaerotilus*,
- les Caulobactériales, bactéries pédonculées comme l'espèce *Gallionella ferruginea*,
- les bactéries vraies ou eubactéries (coques, bâtonnets, vibrions...)

Ces bactéries, exceptées les espèces du genre *Gallionella*, sont également capables d'oxyder Mn^{2+} en Mn^{3+} et/ou Mn^{4+} et de tirer leur énergie de l'oxydation du fer (*Gallionella*) ou de la consommation de matière organique (*Leptothrix*) (Katsoyiannis et Zouboulis, 2004). Les conditions d'oxydation, particulièrement de pH et de potentiel redox, voire de température, sont plus contraignantes dans le cas de l'oxydation du manganèse que pour le fer (Gage *et al.*, 2001; Katsoyiannis *et al.*, 2002). Lorsque les conditions sont favorables, toutes ces bactéries sont capables de provoquer ou d'accélérer, en milieu aérobie, une oxydation du fer ou du manganèse. Ces microorganismes sont utilisés depuis plusieurs années en potabilisation pour éliminer le fer ou le manganèse (Mouchet, 1992; Dimitrakos *et al.*, 1997; Gouzinis *et al.*, 1998; Cameron et Bourguine, 1999).

Les produits obtenus par cette oxydation bactérienne sont, dans le cas du fer, des oxydes de fer hydratés comme la lépidocrocite (γ -FeOOH) et la goethite (α -FeOOH) alors que dans le cas du manganèse, ce sont généralement des oxydes de manganèse hydratés, $MnO(OH)_2$, ou non, MnO_2 (Mouchet, 1992; Katsoyiannis *et al.*, 2002). Ces précipités oxydent partiellement voire totalement As(III) en As(V) et adsorbent l'As(V) (Edwards, 1994; Lebrun, 2005).

L'oxydation de l'As(III) serait donc une oxydation indirecte car engendrée par les oxydes formés au cours de la déferrisation ou de la démanganisation biologique. Néanmoins, les bactéries ferro-oxydantes et manganèse-oxydantes ont un effet direct sur l'oxydation de l'As(III) en As(V) (Seith et Jekel, 1997). L'oxydation rapide de l'As(III) en As(V), avant son élimination par les oxydes de manganèse, a été mise en évidence (Katsoyiannis et Zouboulis, 2004).

L'oxydation de l'As(III) en présence de telles bactéries est plus rapide que l'oxydation due aux hydroxydes de manganèse, ce qui souligne le rôle de ces bactéries dans l'oxydation de l'As(III) mais également dans la génération de surfaces réactives d'oxyde de manganèse. Selon Katsoyiannis *et al.* (2004), les bactéries manganèse-oxydantes produisent une enzyme, la peroxydase, qui catalyse la formation de H_2O_2 .

Ainsi, le mécanisme de démanganisation biologique en présence d'arsenic est le suivant :

- oxydation biologique de Mn^{2+} en Mn^{4+} par les bactéries manganèse-oxydantes
- oxydation biologique de As(III) en As(V) par H_2O_2 produit par une enzyme de type peroxydase produite par les bactéries manganèse-oxydantes
- précipitation des oxydes de Mn(IV)
- oxydation de l'As(III) par les oxydes de Mn(IV) et sorption de l'As(V) par les oxydes de Mn(IV)

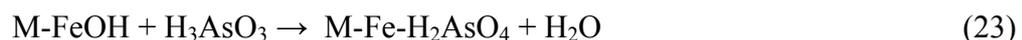
Cette oxydation biologique de l'As(III) et de Mn^{2+} pourrait s'avérer être très intéressante, notamment dans le cas des eaux présentant de fortes teneurs en arsenic et en manganèse mais assez faible en arsenic (Katsoyiannis *et al.*, 2004) .

Dans le cas de la déferrisation biologique, l'oxydation biologique et l'élimination de l'As(III) peut se décrire de la façon suivante (Katsoyiannis et Zouboulis, 2004) :

- oxydation biologique de Fe^{2+} en hydroxydes de fer(III) par les bactéries ferro-oxydantes suivant la réaction (22) :



- oxydation biologique de l'As(III) en As(V) en milieu aérobie
- sorption de l'As(III) non oxydé sur les hydroxydes de fer formés suivant la réaction (23) :



Dans un procédé de déferrisation biologique, les bactéries ferro-oxydantes initialement présentes oxydent le fer, qui va ensuite précipiter avec l'arsenic au sein d'un filtre à sable, mais aussi l'arsénite en arséniate au cours du traitement (Grapin *et al.*, 2002). Zouboulis et Katsoyiannis (2005) ont démontré que l'activité oxydante des bactéries ferro-oxydantes sur As(III) est liée au maintien d'un potentiel rédox relativement élevé (320-340 mV) par les microorganismes.

Récemment, Casiot *et al.* (2006) ont montré qu'une bactérie majoritairement présente dans un biofilm réalisant la déferrisation biologique était capable d'oxyder directement l'As(III). Cette bactérie serait une nouvelle espèce, et présente seulement 95% de similarité de séquence d'ADNr 16S avec la souche de *Leptothrix* la plus proche; aucune autre séquence d'ADNr 16S présentant davantage de similarité n'a été mise en évidence.

Un procédé apparenté au traitement par déferrisation a été proposé pour le traitement d'un exhaure de galerie de mine dont le pH est proche de la neutralité (Battaglia-Brunet *et al.*, 2006b).

L'oxydation bactérienne par des bactéries ferro-oxydantes a également été mise en évidence dans l'oxydation des minéraux sulfurés. Ces derniers génèrent des eaux acides contenant souvent des concentrations élevées en Au, Bi, Cd, Co, Fe, Hg, Mo, Ni, Pb, Pt, Sb, Se, Sn, U, W et Zn, qui sont les constituants principaux des AMD ou des drainages acides de roches (Acid Rock Drainage, ARD). Les minéraux sulfurés, majoritairement la pyrite est la plus abondante, se décomposent par un processus biogéochimique complexe qui met en jeu des réactions d'oxydation ainsi que de la catalyse biotique (Lebrun, 2005). Les bactéries les plus connues catalysant l'oxydation de la pyrite sont les bactéries du type *Acidithiobacillus ferrooxidans* et *Leptospirillum ferrooxidans* (Leblanc *et al.*, 1996; Schrenk *et al.*, 1998). Ces bactéries acidophiles sont reconnues pour oxyder le fer(II) à des pH très acides (entre 1,0 et 3,5) et nécessitent seulement de l'O₂, du CO₂, une forme réduite du fer ou du soufre et de petites quantités d'azote et de phosphate pour leur métabolisme (Sand *et al.*, 1992). Les produits formés lors de l'oxydation de la pyrite par ce type de bactéries sont du fer oxydé insoluble, de l'acide sulfurique mais aussi plusieurs phases solides ferriques secondaires (Lebrun, 2005).

La biominéralisation des hydroxydes ferriques formés peut s'accompagner de l'incorporation d'éléments dissous divers comme Si, Ca, PO₄ (Clarke *et al.*, 1997; Konhauser, 1998) et d'arséniate (Leblanc *et al.*, 1996; Langner *et al.*, 2001). La composition de ces phases ferriques biominéralisées dépend de la composition des eaux ainsi que des processus métaboliques spécifiques à chaque microorganisme. Pour la formation d'hydroxydes ferriques riches en As(V), si plusieurs études ont suggéré qu'As(III) était oxydé en As(V) par des bactéries ferro-oxydantes comme les *Acidithiobacillus ferrooxidans* (Leblanc *et al.*, 1996; Casiot *et al.*, 2003; Morin *et al.*, 2003), et que les ions arséniate formés étaient immédiatement co-précipités avec le fer(III), l'étude de Dusquene *et al.* (2003) démontre qu'As(III) est directement précipité par les oxydes ferriques sous forme de schwermannite ou tooeleite alors qu'As(V) ne l'est pas.

Ces procédés d'oxydation biologique de l'As(III) en As(V) sont relativement efficaces et permettent en outre une élimination de l'arsenic. Ces techniques ne nécessitent pas d'entretien régulier ni d'ajout de produits chimiques. Katsoyiannis et Zouboulis (2004) ont démontré que 95% de l'arsenic était éliminé par ce type de procédé pour des concentrations initiales de 200 µg.L⁻¹. Leur utilisation permet d'éliminer trois polluants en une seule étape (Fe, Mn et As).

IX.2. Oxydation bactérienne directe de l'As(III)

IX.2.1. Oxydation par des bactéries hétérotrophes

Des microorganismes bactériens hétérotrophes résistant à des hautes teneurs en arsenic ont été identifiés dès 1918, en Afrique du Sud, dans des bacs destinés à la désinfection du bétail. Il s'agit de bactéries du type *Bacillus arsenoxidans*, probablement une bactérie du genre *Achromobacter* (Green, 1918). Parmi les espèces présentes, certaines étaient capables d'oxyder l'As(III) en As(V). En 1954, Turner et Legge (Philips et Taylor, 1976) découvrent que l'oxydation de l'arsénite est liée à la synthèse d'une enzyme soluble, qu'ils nomment *arsénite deshydrogénase*. L'activité de cette enzyme semble être couplée au transport d'électrons jusqu'à l'oxygène.

Les bactéries étudiées par ces auteurs étaient des organismes hétérotrophes comprenant des γ -protéobactéries, de type *Pseudomonas arsenoxydans* et *Xanthomonas arsenoxydans* et des β -protéobactéries de type *Achromobacter arsenoxydans*.

Pour ces bactéries, qui requièrent une source carbonée pour leur croissance et leur besoin énergétique, l'oxydation de l'arsenic est considérée comme un mécanisme de détoxification et la réaction mise en jeu est la suivante (24) :



L'oxydation bactérienne de l'arsénite a également été constatée dans des boues activées, en condition aérobie chez les espèces *Alcaligenes faecalis* (Philips et Taylor, 1976) et dans les sols (Quastel et Scholefield, 1953; Osborne et Ehrlich, 1976). Une souche bactérienne isolée dans les sols, l'*Alcaligenes sp.*, une β -protéobactérie Gram-négative, possède la capacité d'oxyder l'arsénite en arséniate, en présence d'une source de carbone organique, avec l'oxygène comme accepteur terminal d'électrons (Osborne et Ehrlich, 1976). La constante de Michaelis (K_m) obtenue et relative à l'oxydation de l'arsénite est de $1,5 \cdot 10^{-4} \text{ mol.L}^{-1}$. Le pH optimal est de 7, alors que le débit d'oxygène nécessaire à la réaction d'oxydation est de $6,7 \mu\text{L}$ d'oxygène par minute pour un volume de $3,7 \text{ mL}$. Le système enzymatique d'oxydation de l'arsenic étant inductible, l'enzyme est synthétisée uniquement en présence de substrat et cette synthèse est conditionnée par la croissance bactérienne. Les électrons, résultant de l'oxydation de l'arsénite par une oxydo-réductase, seraient transférés via le cytochrome C et la cytochrome oxydase à l'accepteur terminal qui est l'oxygène. La réaction peut donc être décrite comme suit (25) :



Une souche bactérienne proche des genres *Alcaligenes* et *Pseudomonas* a été isolée par Weeger *et al.* (1999). Cette bactérie, nommée ULPAs1, a besoin d'une source de carbone organique (peptone, lactate, acétate) et d'éléments minéraux (PO_4^{3-}) pour se développer et peut oxyder l'As(III) avec une cinétique de $30 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Suite à une première analyse des séquences d'ADN ribosomal 16S, le gène le plus proche de cette souche appartenait au genre *Zoogloea*, genre constitué de β -protéobactéries que l'on trouve dans les sols et les boues activées.

La concentration maximale admissible en As(III) pour cette bactérie est de 500 mg.L^{-1} . Cette souche bactérienne a été récemment immobilisée sur un gel d'alginate et son activité oxydante testée en réacteurs batch (Simeonova *et al.*, 2005). Sa position taxonomique a récemment été révisée, elle serait apparentée au genre *Herminiimonas* (Muller *et al.*, 2006).

Santini *et al.* (2002) ont isolé dans deux sites miniers (mines d'or) cinq souches bactériennes hétérotrophes capables d'oxyder l'As(III) en As(V). Les souches NT-5, NT-6, NT-10, NT-14 et BEN-4 sont toutes des β -protéobactéries avec deux affiliations différentes. Les souches NT-5, NT-6 et NT-14 appartiennent au genre *Hydrogenophaga*, de la famille des *Comamonadaceae*, alors que les souches NT-10 et BEN-4 appartiennent au genre *Achromobacter* et *Bordetella*, de la famille des *Alcaligenaceae*. A l'intérieur de cette dernière famille, BEN-4 est identique du point de vue phylogénétique et phénotypique à *Alcaligenes faecalis*. Pour tous ces microorganismes hétérotrophes, l'oxydation de l'As(III) se déroule en période de croissance logarithmique.

Récemment, Macur *et al.* (2004) ont isolé trois souches bactériennes capables d'oxyder de façon hétérotrophe As(III) en As(V) dans des colonnes remplies de sols et pour des eaux ayant une concentration en As(III) de $5,5 \text{ mg.L}^{-1}$. Ces trois souches sont apparentées aux espèces *Agrobacterium tumefaciens* (α -protéobactérie), *Variovorax paradoxus* (β -protéobactérie) et *Pseudomonas fluorescens* (γ -protéobactérie).

D'autres bactéries issues d'environnements extrêmes, telles que des sources chaudes, ont été découvertes et sont très efficaces pour oxyder l'As(III). Deux espèces responsables sont affiliées au genre *Thermus* : les premières souches découvertes possèdent le gène responsable de l'oxydation de l'As(III). Ces bactéries, appelées *Thermus aquaticus* YTI et *Thermus thermophilus* HB8, sont des archaebactéries thermophiles dont les températures optimales de croissance sont respectivement comprises entre 40 et 79°C et 47 à 85°C. Gihring *et al.* (2001) ont démontré que les colonies formées par ces organismes ne peuvent pas se développer uniquement en présence d'As(III) et qu'elles oxydaient l'arsénite durant leur phase exponentielle de croissance à une vitesse de $8,4 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$.

Sehlin et Lindström (1992) ont étudié l'oxydation de l'arsenic par une espèce bactérienne thermophile acidophile : *Sulfolobus acidocaldarius* BC. L'étude de cette souche bactérienne a montré que l'oxydation de l'As(III) se produit en fin de croissance exponentielle, lorsque le substrat énergétique est épuisé. L'ajout d'une dose de substrat inhibe d'ailleurs transitoirement l'activité d'oxydation. En outre, quand les cellules ont été préalablement adaptées à l'arsenic, l'activité oxydante de cette population peut être multipliée par huit.

La souche bactérienne *Agrobacterium albertimagneti* AOL15, isolée près d'une source chaude de Californie, a la capacité d'oxyder As(III) mais ne peut se développer qu'en présence d'O₂ comme accepteur final d'électrons (Salmassi *et al.*, 2002). La cinétique d'oxydation de l'As(III) peut atteindre 1,83 mg.L⁻¹.h⁻¹ et les fortes concentrations en As(III) (370 mg.L⁻¹) sont toxiques pour cette souche. Cette oxydation de l'As(III) serait un mécanisme de résistance.

L'oxydation de l'arsénite semble être un simple processus de détoxification pour certains organismes. Actuellement, l'oxydation de l'As(III) en As(V) comme mode de détoxification a été prouvée pour plus de 15 souches bactériennes (Hamsch *et al.*, 1995). Ce mécanisme peut également fournir de l'énergie pour la croissance d'autres espèces bactériennes.

L'espèce qui semble intervenir le plus dans l'oxydation hétérotrophe de l'As(III) en As(V) est *Alcaligenes faecalis*. Anderson *et al.* (1992) ont purifié et caractérisé l'enzyme responsable de cette oxydation : l'*arsénite oxydase*. Elle a été localisée sur la surface externe de la membrane intérieure de la bactérie. Selon les auteurs, l'azurine et un cytochrome de type C servent d'accepteurs d'électrons pour l'enzyme et semblent former une chaîne de transport d'électrons périplasmiques. L'*arsénite oxydase* contient deux sous-unités hétérogènes ($\alpha_1\beta_1$), dont la plus importante est un polypeptide de 88 kDa, possédant un cofacteur à molybdène et un centre à fort potentiel en fer [3Fe-4S]. L'autre sous unité est un monomère de 14 kDa comportant un centre [2Fe-2S] de type Rieske. Un système annexe de sécrétion, composé de deux arginines contiguës, TAT (Twin Arginine Translocation), assure la liaison entre le cytoplasme et le périplasme de la cellule. Cette enzyme fait partie de la famille des réductases du diméthylsulfoxyde (DMSO); sa structure globale est présentée Figure 5.

La base génétique de l'*arsénite oxydase* responsable de l'oxydation hétérotrophe de l'As(III) chez la souche ULPAs1, isolée par Weeger *et al.* (1999), a été déterminée par mutagénèse aléatoire et séquençage (Muller *et al.*, 2003).

L'identification de deux gènes, désignés *aoxA* et *aoxB*, responsables de cette oxydation a montré une forte similitude avec la séquence isolée par Anderson *et al.* (1992), de l'*arsénite oxydase* chez *Alcaligenes faecalis*. L'expression de ces gènes, organisés en opéron, est induite en présence d'arsenic.

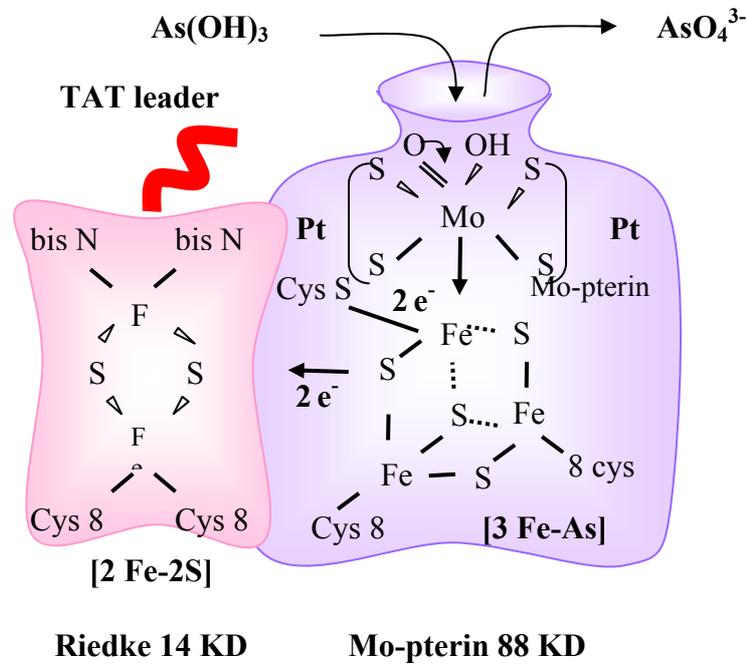
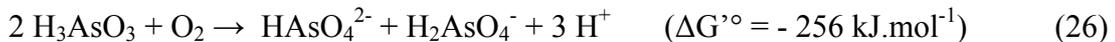


Figure 5 : Modèle de l'arsénite oxydase, avec les sites actifs, les co-facteurs et les enchaînements des acides aminés (source : Silver et Phung, 2005)

Généralement, les bactéries sont 10 fois plus résistantes à l'arséniate qu'à l'arsénite (Tamaki et Frankenberger, 1992). La réaction d'oxydation de l'As(III) en As(V) qui a lieu au cours de ce procédé de détoxification correspond à la réaction exothermique suivante (Santini *et al.*, 2000) :



La plupart des microorganismes hétérotrophes capables d'oxyder l'As(III) en As(V) sont donc des protéobactéries ou des archaebactéries. Le Tableau 11 présente les principaux microorganismes hétérotrophes capables d'oxyder As(III) en As(V). Les études menées sur l'oxydation de l'As(III) par des bactéries hétérotrophes ont été généralement réalisées avec de fortes concentrations en arsenic, supérieures au milligramme par litre.

Tableau 11 : Principales bactéries et archaebactéries hétérotrophes capables d'oxyder l'As(III) en As(V)

Espèce	Phylogénie	Lieu d'isolation	[As] testée (en mg.L ⁻¹)	Référence
<i>Bacillus arsenoxydans</i>	β-protéobactérie	bac parasiticide à bétail	1500 – 7400	Green, 1918
<i>Pseudomonas arsenoxydans</i> <i>Xanthomonas arsenoxydans</i> <i>Achromobacter arsenoxydans</i>	γ-protéobactérie γ-protéobactérie β-protéobactérie	bac parasiticide à bétail	1500 – 7400	Phillips et Taylor, 1976
Consortium bactérien de sol	-	sol	185 - 3000	Quastel et Scholefield, 1953
<i>Alcaligenes faecalis</i>	β-protéobactérie	effluents d'égouts bruts	750 - 1500	Phillips et Taylor, 1976
<i>Alcaligenes sp.</i>	β-protéobactérie	sol	18 - 180	Osborne et Ehrlich, 1976
Consortium bactérien d'eau de mer	-	eau de mer côtière	0,0075 – 6,9	Scudlark et Johnston, 1982
<i>Alcaligenes faecalis</i> avec enzyme isolée et purifiée	β-protéobactérie	-	15	Anderson <i>et al.</i> , 1992
<i>Pseudomonas Putida</i> 18	γ-protéobactérie	dépôts miniers	50 - 500	Abdrashitova <i>et al.</i> , 1981
ULPAs1 (<i>Herminiimonas arsenicoxydans</i> sp. nov.)	β-protéobactérie	eaux contaminées en arsenic	100	Weeger <i>et al.</i> , 1999
<i>Agrobacterium albertimagni</i> ALO15	α-protéobactérie	macrophyte aquatique	0,15 - 370	Salmassi <i>et al.</i> , 2002
NT-5, NT-6, NT-10, NT-14 et BEN-4	β-protéobactéries	effluents miniers	375 -750	Santini <i>et al.</i> , 2002
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> <i>Variovorax paradoxus</i> <i>Pseudomonas fluorescens</i>	α-protéobactérie β-protéobactérie γ-protéobactérie	colonnes remplies de sol	5,6	Macur <i>et al.</i> , 2004
<i>Sulfolobus acidocaldarius</i> BC	archae Sulfolobales	-	75	Sehlin et Lindström, 1992
<i>Thermus thermophilus</i> HB8	archae Thermales	sources chaudes	75	Gihring <i>et al.</i> , 2001
<i>Thermus thermophilus</i> YTI	archae Thermales	sources chaudes	75	Gihring <i>et al.</i> , 2001
<i>Thermus sp.</i> HR13	archae Thermales	sources chaudes	75	Gihring et Banfield, 2001

IX.2.2. Oxydation par des bactéries autotrophes

IX.2.2.1. Bactéries chimiolithoautotrophes

Les bactéries autotrophes se développent en utilisant l'arsénite comme donneur d'électrons et généralement l'oxygène comme accepteur d'électrons. Dans ce cas précis, les bactéries tirent leur énergie de l'oxydation de l'As(III) en As(V) avec comme seule source de carbone, le carbone minéral; elles sont qualifiées de chimiolithoautotrophes. Avant 2002, seuls deux microorganismes chimiolithoautotrophes, tirant leur énergie de l'oxydation de l'arsénite, étaient identifiés (Ilyaletdinov et Abdrashitova, 1981; Santini *et al.*, 2000).

Le premier microorganisme chimiolithoautotrophe oxydant As(III) en As(V) a été isolé dans des effluents provenant d'une mine d'or (Ilyaletdinov et Abdrashitova, 1981). Cette γ -protéobactérie, *Pseudomonas arsenitoxidans*, se développe sur un milieu minéral contenant 1,3 g.L⁻¹ d'arsénite. Son temps de génération est de l'ordre de 2 jours.

Un second microorganisme chimiolithoautotrophe, isolé en 2000 par Santini *et al.* dans des échantillons d'arsénopyrite près d'une ancienne mine d'or d'Australie, a été nommée NT-26. Ces auteurs ont isolé une autre souche bactérienne chimiolithoautotrophe, nommée NT-25, mais celle-ci n'a pas été étudiée en raison de son faible taux de croissance par rapport à la souche NT-26. L'analyse par séquençage d'ADN ribosomal 16S a confirmé que la souche NT-26 était apparentée au genre *Agrobacterium* de la classe des α -protéobactéries et constituait donc une nouvelle espèce bactérienne. Cette souche est capable d'oxyder As(III) à un taux de 9 mg.L⁻¹.h⁻¹ avec un rendement de croissance de 3,6.10⁷ cellules par millimole d'As(III) oxydé, avec un pH optimal de 5,5. Les expériences, menées avec des concentrations en As(III) comprises entre 375 et 750 mg.L⁻¹, ont permis de déterminer un temps de génération de la souche NT-26 égal à 7,6 h. L'oxydation de l'arsénite peut se dérouler durant la phase de latence ainsi que durant la phase stationnaire. L'enzyme qui intervient dans le processus d'oxydation chimiolithoautotrophe de cette souche bactérienne a été purifiée et caractérisée par Santini et Van den Hoven (2004). Elle est constituée de deux sous unités hétérogènes ($\alpha_2\beta_2$), nommées AroA (98 kDa) et AroB (14 kDa) et elle possède deux atomes de molybdène et neuf ou dix atomes de fer par unité.

L'utilisation du clonage et d'un séquençage suivi d'une analyse moléculaire de la structure du gène de cette enzyme a permis de montrer des similitudes avec les enzymes responsables de l'oxydation hétérotrophe chez deux β -protéobactéries, à savoir la souche ULPAs1 isolée par Weeger *et al.* (1999) ainsi que l'espèce *Alcaligenes faecalis* isolée par Anderson *et al.* (1992).

Santini *et al.* (2002) ont également isolé 4 autres souches chimiolithoautotrophes dans différentes mines d'or australiennes. Ces microorganismes nommés NT-2, NT-3, NT-4 et BEN-5 appartiennent tous à la classe des α -protéobactéries, les souches NT-2, NT-3 et NT-4 étant proches du genre *Sinorhizobium* alors que la souche BEN-5 appartient au genre *Agrobacterium*, soit le même genre que les souches NT-25 et NT-26 isolées 2 ans plus tôt.

Oremland *et al.* (2002) ont isolé dans un lac californien une souche bactérienne chimiolithoautotrophe capable d'oxyder l'As(III) en As(V), elle a été baptisée MLHE-1. Elle est la seule à utiliser le nitrate comme accepteur terminal d'électrons au lieu de l'oxygène. La croissance de la souche MLHE-1 peut avoir lieu en milieu anaérobie. Le processus d'oxydation de l'arsenic est alors accompagné d'une réduction des nitrates en nitrites. L'équation d'oxydation de l'As(III) en As(V) s'écrit comme suit :



Cette souche peut également croître de façon hétérotrophe, en milieu aérobie ou anaérobie, avec l'acétate comme donneur d'électrons et l'oxygène ou les nitrates comme accepteur d'électrons. L'analyse par séquençage d'ADNr 16S a montré que cette γ -protéobactérie était reliée au genre *Ectothiorhodospira*. Les temps de génération de la souche en milieu aérobie et anaérobie sont respectivement de 8 h et 37 h pour un processus chimiolithoautotrophe et de 5,5 h et 9,5 h pour un processus hétérotrophe.

IX.2.2.2. Bactéries du genre Thiomonas

Les bactéries du genre *Thiomonas* font partie de la classe des β -protéobactéries, de l'ordre des Burkholdérales et ont une coloration Gram-négative. Elles peuvent être hétérotrophes ou autotrophes; on les qualifie de bactéries mixotrophes. Selon Moreira et Amils (1997), la croissance des *Thiomonas* est optimale dans un milieu contenant des composés sulfurés et de la matière organique (extrait de levure, peptone, sucre, acides aminés).

En l'absence de matières organiques, *Thiomonas* peut être autotrophe et utiliser le soufre ou des composés sulfurés inorganiques réduits tels les thiosulfates (S_2O_3) ou les tétrationates (S_4O_6) comme source d'énergie.

La première bactérie du genre *Thiomonas* a été isolée dans des sols par London en 1963, et plus récemment à partir de sites miniers comme l'espèce *Thiomonas cuprina* sp. nov. isolée par Huber et Stetter en 1990.

La capacité de cette espèce à oxyder le fer ayant été démontrée (Johnson et Hallberg, 2005), la capacité de cette souche bactérienne à oxyder l'arsenic a été étudiée.

En 2004, Bruneel *et al.* ont rapporté la présence de trois souches bactériennes, apparentées au genre *Thiomonas*, oxydant l'arsenic dans un AMD près de l'ancien site minier de Carnoulès en France (30). Dans cette étude, les trois souches (B1, B2 et B3) présentent plus de 99% d'homologie avec le groupe Ynys1 décrit par Dennison *et al.* (2001). Selon les auteurs, l'existence d'une biodiversité entre le gène *Thiomonas* et le groupe Ynys1 génère une tolérance des souches vis-à-vis des différentes concentrations en éléments métalliques. Les souches apparentées à *Thiomonas sp.* Ynys1 ont acquis une adaptation pour des fortes concentrations en As(III) en milieu acide mais aussi à des pH proches de la neutralité; deux des souches isolées (B2 et B3) peuvent oxyder As(III) en As(V) *in vitro* avec un rendement de 90%, mais uniquement en présence de thiosulfate.

Une population bactérienne mixte appelée CAsO1 (Chéni Arsenic Oxydante 1) a été isolée sur le site de Chéni, une ancienne mine d'or localisée en Haute-Vienne (87) (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002; Dictor *et al.*, 2003). Cette population microbienne est composée de deux microorganismes notés b6 et b3. Des analyses phylogénétiques de la séquence complète de l'ARNr 16S de la souche b3, minoritaire, indiquent une affiliation proche de *Ralstonia picketti*, une β -protéobactérie de l'ordre des burkholdérales, alors que la souche b6, souche majoritaire, possède des caractéristiques phénotypiques assez proches de l'espèce *Thiomonas sp.* Ynys 3, une souche isolée sur un site minier et capable d'oxyder Fe(II). Néanmoins, les différences entre les deux séquences d'ADNr 16S de b6 et *Thiomonas sp.* Ynys 3 étant comprises entre 5 et 9%, le microorganisme majoritaire de la population CAsO1 b6 représenterait une nouvelle espèce de β -protéobactérie (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002).

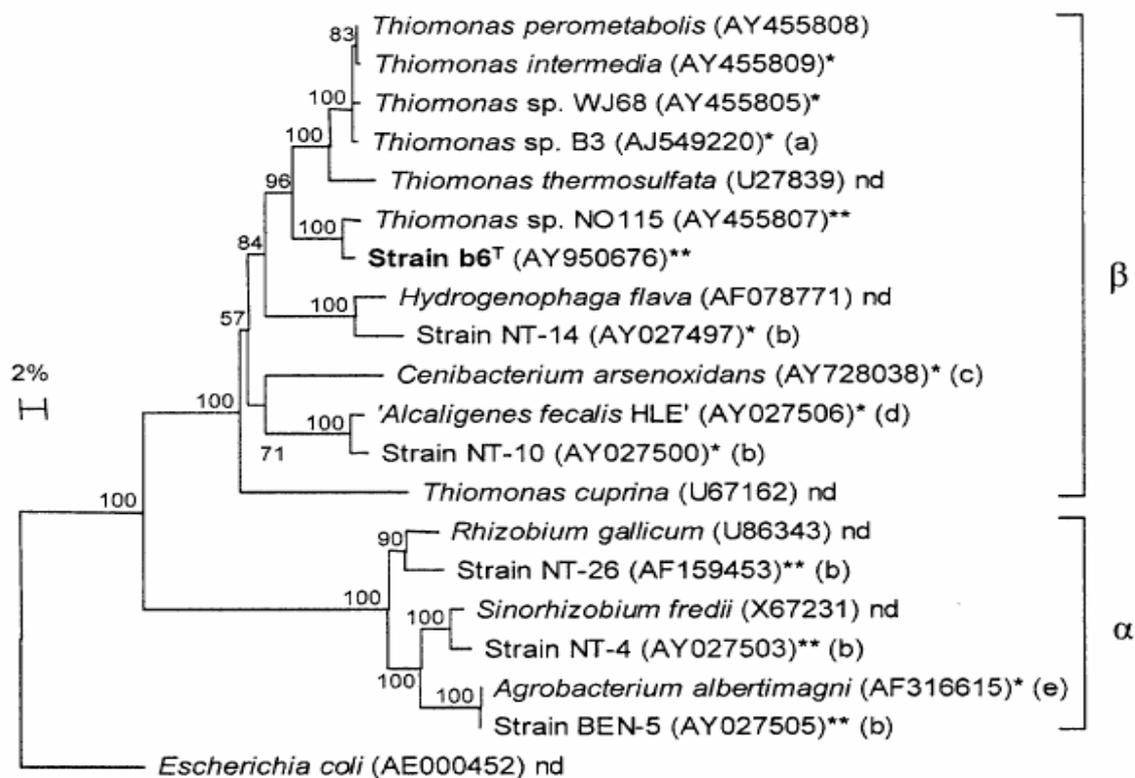
L'étude récente de Battaglia-Brunet *et al.* (2006a) a permis une meilleure identification de la souche b6. L'analyse phylogénétique des séquences d'ADNr SSU de b6 et d'une souche isolée sur un site minier en Norvège *Thiomonas sp.* NO115 (Coupland *et al.*, 2004) montre plus de 98% d'homologie entre les deux séquences. Des analyses avec d'autres souches de *Thiomonas* comme les espèces *Thiomonas intermedia* et *Thiomonas thermosulfata* ont révélé des caractéristiques phénotypiques proches entre b6 et ces souches, comme la croissance litho-autotrophique sur des composés sulfurés réduits et le caractère mixotrophe des différentes espèces.

Ainsi, en se basant sur les particularités phylogénétiques et phénotypiques, le microorganisme b6 a été proposé, dans une banque de souches internationale, comme nouvelle espèce du genre *Thiomonas* : *Thiomonas arsenivorans* sp. nov.

La souche bactérienne b6 est, à l'instar des bactéries du genre *Thiomonas*, un microorganisme mixotrophe, capable d'utiliser du carbone organique comme source de carbone, et peut ainsi croître chimiolithotrophiquement en présence de composés sulfurés. Cependant, alors que la plupart des *Thiomonas* ont besoin de substrats complexes ou d'une gamme limitée de composés simples pour avoir un métabolisme hétérotrophe, b6 peut également se développer de façon hétérotrophe avec de nombreux substrats organiques simples comme du soufre, des thiosulfates, des extraits de levure, du glutamate et du succinate mais aussi avec du glucose, de l'aspartate, du pyruvate, du raffinose, du sucrose et du sorbitol (Battaglia-Brunet *et al.*, 2006a).

Alors qu'auparavant le caractère chimiolithotrophe du genre *Thiomonas* était exclusivement connu en présence de composés sulfurés, l'oxydation de l'arsenic en conditions autotrophes est une caractéristique phénotypique commune de plusieurs bactéries du genre *Thiomonas* isolées dans divers environnements tels que les sites miniers contaminés par l'As(III) (b6, NO115). De plus, si d'autres souches bactériennes isolées de sites miniers comme les souches NT-26, NT-4 et BEN-5, isolées par Santini *et al.* (2000 et 2002), ont la faculté de croître de façon autotrophe avec As(III) comme seule source d'énergie, elles appartiennent toutes à la branche des α -protéobactéries et sont ainsi phylogénétiquement distantes du genre *Thiomonas*.

La souche bactérienne *Thiomonas* sp NO115 capable de croître de façon chimiolithotrophe en présence d'As(III) n'ayant pas encore été caractérisée, la souche bactérienne b6 (nommée *Thiomonas arsenivorans* sp. nov), isolée de la population bactérienne CAsO1, est le seul microorganisme parmi les β -protéobactéries capable de croître de façon autotrophe durant l'oxydation de l'As(III). L'organisme b3 minoritaire, est quant à lui hétérotrophe. Ainsi, globalement, le consortium bactérien CAsO1 a un comportement autotrophe et cette association entre les deux souches est bénéfique car b3 pourrait consommer la matière organique produite par b6 en cas de manque de CO₂.



(*): bactéries capables d'oxyder As(III); (**): bactéries capables de croître de façon chimolithotrophe en présence d'As(III). (nd): oxydation d'As(III) non déterminée. Barre: 2 nucléotides substitués pour 100 nucléotides (^aBruneel *et al.*, 2004; ^bSantini *et al.*, 2002; ^cWeeger *et al.*, 1999; ^dAnderson *et al.*, 2003; ^eSalmassi *et al.*, 2002).

Figure 6 : Arbre phylogénétique des gènes d'ADNr SSU de la souche *Thiomonas* b6 et des principales autres α- et β-protéobactéries oxydant As(III) (source : Battaglia-Brunet *et al.*, 2006a)

L'oxydation de l'As(III) par le consortium bactérien CAsO1 a été observée à des concentrations de 100 mg.L⁻¹ d'As(III), ce qui d'après Weeger *et al.* (1999), classe cette bactérie dans la catégorie des bactéries fortement résistantes à l'arsenic. Une activité significative de CAsO1 peut être observée pour des pH compris entre 4,0 et 7,5 avec un optimum de température compris entre 20 et 30°C (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002). L'espèce autotrophe NT-26 isolée par Santini *et al.* (2000) est capable d'oxyder 9 mg.L⁻¹.h⁻¹ d'As(III) en batch avec un milieu nutritif minimal, tandis que les taux les plus élevés obtenus avec CAsO1 sont de 4 mg.L⁻¹.h⁻¹ d'As(III) (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002). L'espèce ULPAs1 isolée par Weeger *et al.* (1999) est quant à elle capable d'oxyder jusqu'à 30 mg.L⁻¹.h⁻¹ d'As(III).

Cependant, CAsO1 reste la population bactérienne la plus avantageuse dans le cas d'une application en traitement des eaux car elle est autotrophe et croît en formant un biofilm, ce qui lui permet d'oxyder rapidement l'As(III) en condition continue avec un débit d'alimentation important.

Le consortium CAsO1 présente plusieurs particularités qui permettent sa mise en œuvre dans une filière de traitement des eaux (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002; Dictor *et al.*, 2003) :

- elle est autotrophe, ce qui nécessite un faible apport de nutriments,
- elle est capable d'oxyder des concentrations en arsénite allant de 5 mg.L⁻¹ à 1 g.L⁻¹,
- elle présente de bonnes capacités de fixation sur un support minéral et peut former un biofilm; la cinétique globale est donc accrue,
- l'oxydation peut s'effectuer dans une large gamme de température et de pH,
- la vitesse d'oxydation de l'As(III) en As(V) est de 3,98 g.L⁻¹.j⁻¹ dans un réacteur à lit fixé.

Néanmoins, les performances de cette population n'ont pas été étudiées à de faibles concentrations en As(III) avant les travaux réalisés dans le cadre de la présente thèse.

X - CONCLUSION

L'étude bibliographique montre ainsi les potentialités technico-économiques de l'oxydation biologique de l'As(III) en As(V). L'intérêt de notre travail sera de développer un procédé peu coûteux d'oxydation biologique de l'As(III) en As(V) en vue d'une élimination par adsorption. L'objectif est d'étudier le traitement biologique en réacteurs à lit-fixéensemencés par le consortium bactérien CAsO1 et alimentés en continu avec une eau faiblement contaminée en arsénite ($100 \mu\text{g.L}^{-1}$) en vue d'une application à la potabilisation ou au traitement des eaux.

PARTIE B :

MATERIEL ET METHODES

Dans ce chapitre, nous présenterons les réactifs, les différents dispositifs opératoires et les méthodologies utilisées lors de nos travaux.

Dans un premier temps, les techniques employées pour le dosage de l'arsenic seront décrites. Une seconde partie sera consacrée à la caractérisation du matériau support sélectionné ainsi qu'à la détermination des conditions physiques de fonctionnement des bioréacteurs. Enfin, ce chapitre présentera les protocoles d'inoculation et d'échantillonnage adoptés au cours de l'étude de l'oxydation bactérienne de l'As(III) par le consortium CAsO1.

I - REACTIFS

Tous les réactifs utilisés sont de qualité "pour analyse" et utilisés sans purification ultérieure. Toutes les solutions sont préparées avec de l'eau ultra pure obtenue à l'aide d'un système de purification d'eau MilliQ Gradient A10 (résistivité 18,2 M Ω .cm et Carbone Organique Total (COT) < 4 ppb). Avant utilisation la verrerie est lavée dans HNO₃ 10%, et rincée soigneusement avec de l'eau ultra pure.

Lors de toutes les études menées au cours de ces expériences, les solutions d'arsenic utilisées sont des solutions d'As(V) préparées à partir de Na₂HAsO₄.7H₂O (Fluka, pureté > 98,5%) et d'As(III) préparées à partir de NaAsO₂ (Fluka, pureté > 99%), de concentration 1g.L⁻¹. Les solutions filles sont préparées juste avant emploi par dilution de ces solutions mères.

II - EAU SYNTHETIQUE

II.1. Protocole de préparation

Les essais d'oxydation biologique de l'As(III) en As(V) sont réalisés sur une eau synthétique après dopage en As(III). La composition en ions majeurs de cette eau synthétique est établie à partir de la composition moyenne d'eaux de captage contaminées en arsenic (Lenoble, 2003) et basée sur le protocole de Smith *et al.* (2002).

Cependant, la composition chimique de cette eau est modifiée afin de favoriser le développement de la population CASO1. Des nutriments de base, sous formes d'ions phosphate et ammonium sont ajoutés afin d'assurer le maintien de la population bactérienne au sein des bioréacteurs. De plus, contrairement au protocole développé par Lenoble (2003), le protocole final de préparation ne comporte pas d'ajout d'HCl et de H₂SO₄; les ions chlorure et sulfate sont apportés avec les sels d'ammonium.

Le pH final de la solution est alors de 9,3. Pour obtenir un pH compris entre 6,5 et 7,0 ($\pm 0,1$), un bullage à l'air libre d'une douzaine d'heures est nécessaire. Lors des travaux avec l'unité pilote, les volumes d'eau synthétique étant de plusieurs centaines de litres, un bullage à l'air libre de 12 h n'est pas suffisant pour abaisser le pH (0,1 unité de pH par heure). Ainsi, un bullage de CO₂ est effectué durant une dizaine de seconde pour fixer le pH à 7.

Le protocole final de préparation de l'eau synthétique comporte :

- solution 1 composée de Ca(NO₃)₂ et de MgCl₂
- solution 2 composée de KHCO₃
- solution 3 composée de Na₂SiO₃
- solution 4 composée de NH₄Cl et de (NH₄)₂SO₄
- solution 5 composée de KH₂PO₄ et de K₂HPO₄
- un bullage de dioxyde de carbone (quelques secondes) après mélange des quantités nécessaires de ces 5 solutions.

Cette préparation en plusieurs étapes permet d'obtenir des solutions initiales dont les masses de sels à peser sont suffisamment importantes pour garantir une bonne précision sans excéder la limite de solubilité de chaque sel.

Les produits utilisés sont tous de qualité "Pour Analyse" : $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Fluka, > 99,5%), $\text{MgCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Prolabo, > 99%), KHCO_3 (Fluka, > 99,5%), $\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (Fluka, > 97%), NH_4Cl (Merck, 99,8%), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (Prolabo, 100%), KH_2PO_4 (Prolabo, > 99,5%), K_2HPO_4 (Prolabo, 100%).

La composition de l'eau synthétique ainsi obtenue est présentée dans le Tableau 12. (composition en ions majeurs : Annexe 1). Les concentrations des ions majeurs sont vérifiées par dosage par chromatographie ionique (Dionex DX 120, équipé d'une colonne anionique AS9.HC - phase éluante Na_2CO_3^- , et d'une colonne cationique CS12.A - phase éluante $\text{CH}_3\text{SO}_3\text{H}$), mesure confirmée par analyse dans un laboratoire agréé. Cette eau synthétique est ensuite utilisée, après dopage en As(III) et/ou As(V), dans les expériences sur l'étude de l'oxydation de l'As(III) et pour la caractérisation de la pouzzolane.

Tableau 12 : Caractéristiques de l'eau synthétique

	Concentration totale calculée	
	mmol.L ⁻¹	mg.L ⁻¹
Calcium	0,080	3,2
Magnésium	0,054	1,3
Sodium	0,300	6,9
Potassium	0,21	8,2
Ammonium	0,191	3,4
Hydrogénocarbonates	0,021	1,3
Sulfates	0,035	3,4
Chlorures	0,227	8,1
Nitrates	0,160	9,9
Phosphore total	0,131	4,1
Silice	0,150	9,0

Lors des études d'oxydation biologique de l'As(III) en As(V), menées en pilote, à l'échelle du laboratoire, l'eau synthétique est fabriquée en grande quantité (200 à 1000 L par jour) et enrichie en As(III). Le protocole de préparation de 200 L d'eau synthétique est présenté en Annexe 2.

II.2. Oxydation de l'As(III) dans l'eau synthétique

Les expériences concernant l'oxydation de l'As(III) par l'air sont menées dans des béchers (5 L) et dans un fût de 60 L. L'influence de la température sur l'oxydation de l'As(III) est testée en régulant la température par l'intermédiaire d'un cryothermostat Huber Polystat cc1.

L'influence de la lumière est testée en exposant les échantillons à la lumière ambiante ou en les plaçant à l'obscurité dans une armoire thermostatée.

Les prélèvements sont effectués régulièrement, conditionnés selon le protocole présenté dans la partie "Résultats expérimentaux" - chapitre C₁, puis analysés par GF-AAS pour le dosage de l'arsenic total et par HG-AAS pour le dosage des arsénites.

III - METHODES D'ANALYSES DE L'ARSENIC DANS L'EAU

Deux techniques d'analyses de l'arsenic ont été optimisées : l'analyse de l'arsenic total par Spectrométrie d'Absorption Atomique Four (GF-AAS) et la détermination de l'As(III) par Spectrométrie d'Absorption Atomique couplée à la Génération d'Hydrures (HG-AAS). Les appareillages ainsi que les réactifs utilisés sont présentés.

III.1. Analyse de l'As(Total) par GF-AAS

III.1.1. Appareillage

Les mesures sont réalisées à l'aide d'un spectromètre d'absorption atomique Varian SpectrAA 880Z équipé d'un four de graphite GTA 100Z et d'une correction Zeeman du bruit de fond.

La lampe à cathode creuse utilisée lors de l'optimisation de la méthode de dosage est une lampe à cathode creuse haute intensité, "UltrAA-Lamp[®]" (Varian, numéro de série : OOHO 770). Cette lampe utilise le courant d'une lampe à cathode creuse mais un module externe permet d'appliquer une seconde décharge à l'intérieur de la lampe et d'augmenter l'intensité de l'émission. Les résultats obtenus avec cette lampe sont comparés avec les résultats obtenus par une lampe à cathode creuse classique (Varian, numéro de série : OYH 6072).

La longueur d'onde de la raie caractéristique est de 193,7 nm, une intensité lumineuse de 10 mA et une largeur de fente de 0,5 nm sont sélectionnées après optimisation. Des tubes (Varian 63-100012-00) avec plate-forme (Varian 63-100024-00) en carbone pyrolytique sont utilisés.

Le volume injecté est de 21 μL incluant 5 μL de modificateur. Toutes les mesures sont effectuées en triplicat et basées sur l'intégration de l'absorbance.

Un passeur d'échantillon (Varian, modèle 31-972) est utilisé.

III.1.2. Logiciel d'auto-optimisation des températures ATOM[®]

Pour déterminer les températures optimales de décomposition et d'atomisation utilisées dans le programme électrothermique, la méthode la plus couramment employée consiste à sélectionner approximativement une température d'atomisation et à mesurer les absorbances obtenues après l'application de températures croissantes de décomposition. On détermine ainsi la température la plus élevée pour laquelle on n'observe aucune perte d'analyte par volatilisation, c'est la température optimale de décomposition.

La procédure est reconduite mais en fixant la température optimale de décomposition précédemment déterminée et en élevant progressivement la température d'atomisation. On peut ainsi déterminer la température optimale d'atomisation où le signal mesuré est le plus élevé.

Cette méthode conventionnelle, qui a comme hypothèse qu'il n'existe pas d'interactions entre les paramètres, est coûteuse en nombre d'essais et inefficace : elle ne permet pas d'optimiser la réponse analytique (sensibilité), ni de trouver un modèle prédictif lorsqu'il existe des interactions entre les deux paramètres (températures de décomposition et d'atomisation), ce qui est le cas le plus fréquent en absorption atomique électrothermique. Ainsi, il faudrait recommencer une ou plusieurs fois le test pour atteindre le signal maximum (méthode du simplex). Ces itérations demandent d'effectuer un tel nombre d'expériences que ces tests ne sont jamais réalisés.

Pour pallier ces inconvénients, le logiciel ATOM[®] (Advanced Temperature Optimization Methodology) a été utilisé. Ce logiciel est développé par la société Varian France (Version 1.0, référence : SRM20020624) et spécifiquement élaboré pour le dosage d'éléments en GF-AAS. Il est basé sur la théorie des plans d'expériences et permet d'utiliser plusieurs données simultanément, d'où une précision accrue et un faible nombre d'essais à réaliser. Pour caractériser le modèle retenu, le plan d'expérience comporte douze expériences.

Avec ATOM[®], à partir des valeurs des températures moyennes d'atomisation et de décomposition et des variations de température souhaitées, le logiciel indique les douze expériences à réaliser sur le spectromètre.

La valeur de ces températures est généralement tirée de la bibliographie, ou de réglages préalables, et le pas de variation est de quelques centaines de degré.

Les calculs mathématiques et statistiques déterminent automatiquement les températures optimales d'atomisation et de dissociation pour le dosage d'un élément dans une matrice donnée. De plus, selon l'allure des courbes obtenues par ces calculs, l'exploitation de la surface 3D de celles-ci permet de contrôler la fiabilité de la méthode, dans le but de choisir le modificateur chimique le plus adapté au dosage, ainsi que de diminuer l'écart type obtenu sur les répliqués.

Dans le cadre de ce travail, les températures de dissociation et d'atomisation du programme thermique, ainsi que le modificateur chimique, seront optimisés par l'intermédiaire de ce logiciel. Pour valider ces paramètres analytiques, les résultats obtenus par ATOM[®], devront être une surface 3D apparentée à une forme elliptique dont la crête sera parallèle à l'axe des abscisses.

III.1.3. Réactifs et solutions

Les réactifs employés dans cette étude sont présentés dans le Tableau 13. Toutes les solutions de standards sont préparées par dilution des réactifs dans de l'eau très pure (Milli-Q Gradient A10 (résistivité 18,2 MΩ.cm et Carbone Organique Total (COT) < 4 ppb)). Toute la verrerie est décontaminée à l'acide nitrique à 10% pendant plusieurs jours, puis rincée au minimum 3 fois avec l'eau ultra pure.

Les solutions étalons à 1000 mg.L⁻¹ d'arsenic sont conservées à 4°C, à l'abri de la lumière. Les solutions diluées sont préparées le jour même.

Les cations (Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, Mg²⁺, Fe²⁺) et anions (Cl⁻, SO₄²⁻, PO₄³⁻, SiO₄⁴⁻) testés lors de l'étude de l'interférence de certaines espèces anioniques ou cationiques sur la détermination de l'arsenic ont tous une pureté supérieure à 98,5% (As < 0,0001%); ils sont préparés par dissolution dans de l'eau ultra pure.

Tableau 13 : Liste des réactifs et gaz utilisés pour l'analyse de l'As(Tot) en GF-AAS

Réactif	Qualité	Fournisseur
Na ₂ HAsO ₄ ·7H ₂ O, hydrogéoarséniate de sodium	98,5%	Fluka
NaAsO ₂ , métaarsénite de sodium	99%	Fluka
HCl, acide chlorhydrique	32%, Pour Analyse	Merck
HNO ₃ , acide nitrique	69%, Suprapur	Merck
NaOH, hydroxyde de sodium	98%	Prolabo
KI, iodure de potassium	99%	Merck
Ni(NO ₃) ₂ , nitrate de nickel	99%	Fluka
Pd(NO ₃) ₂ , nitrate de palladium	99%	Fluka
Mg(NO ₃) ₂ , nitrate de magnésium	99%	Fluka
Ar, Argon	99%	Air Liquide

La technique développée est validée par dosage de l'arsenic sur :

- un matériau de référence secondaire (Fluka, [As(III)] = 998 ± 2 mg.L⁻¹, pureté > 99,5%, numéro de certificat K1-0102, produit n°11078) certifié par l'EMPA (St. Gallen, Suisse). Cet échantillon est dilué dans une solution à 0,1% d'acide nitrique (v/v, pH inférieur à 3) afin d'obtenir une concentration en As(III) égale à $5,0 \pm 0,1$ µg.L⁻¹.
- l'eau synthétique enrichie en As(III) et As(V) et dont la composition en ions majeurs est donnée en Annexe 1.
- trois échantillons d'eaux souterraines (S1, S2, S3) prélevées près de Limoges (87). Ces échantillons sont immédiatement acidifiés avec une solution à 1% d'HCl (2M) puis filtrés à 0,45 µm par des filtres en PTFE (Macherey-Nagel) et conservés à l'abri de la lumière à 6°C. La composition en ions majeurs de ces eaux est donnée en Annexe 1.

III.2. Analyse de l'As(III) par HG-AAS

III.2.1. Appareillage

Les mesures sont réalisées à l'aide d'un spectromètre d'absorption atomique Varian SpectrAA 220 Flame AAS. Une lampe à cathode creuse à arsenic (Varian, numéro de série : OYH 6072) est utilisée comme source de radiation. La longueur d'onde de la raie caractéristique est de 193,7 nm. Une intensité lumineuse de 10 mA et une largeur de fente de 0,5 nm sont sélectionnées d'après les recommandations du constructeur. Le délai avant chaque mesure et le temps de mesure ont été optimisés et correspondent respectivement à 45 et 3 s. Toutes les mesures sont effectuées en triplicat et basées sur l'intégration de l'absorbance.

La génération d'hydrures est assurée par un système VGA (Vapour Generation Assembly, Varian VGA-77). Cet appareillage est équipé d'un séparateur gaz-liquide et d'une pompe péristaltique permettant d'acheminer séparément les solutions d'acide, de réducteur et d'échantillons. Les solutions de réactifs sont pompées par des tubes en Tygon R3603 noir-noir (diamètre interne de 0,76 mm) à un débit de 1 mL.min⁻¹, alors que les solutions d'échantillons sont pompées par des tubes en Tygon R3603 violet-noir (diamètre interne de 2,29 mm) à un débit de 7 mL.min⁻¹.

L'atomisation a lieu dans une cellule en quartz, celle-ci étant lavée à l'eau ultra pure, après chaque analyse. Le gaz vecteur, utilisé dans le but d'acheminer l'arsine formée par le système VGA vers le séparateur gaz/liquide pour ensuite atteindre la cellule en quartz, est l'argon. La flamme est composée d'un mélange air/acétylène.

Un passeur d'échantillon (SPS 5, Varian) est également utilisé.

L'optimisation des différents paramètres chimiques et instrumentaux d'analyses seront présentés dans la partie "Résultats expérimentaux" - chapitre C₁.

Le système étudié est présenté sur la Figure 7.

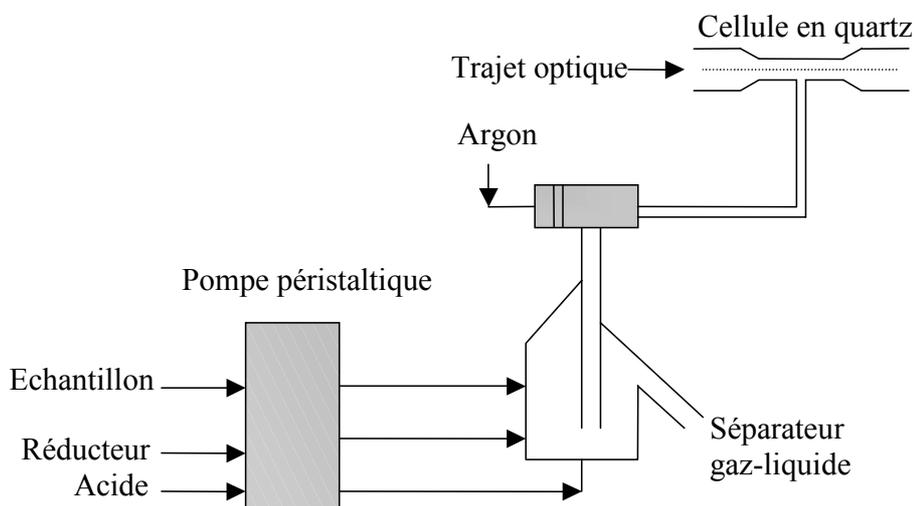


Figure 7: Système de dosage en HG-AAS

III.2.2. Réactifs et solutions

Les réactifs employés dans cette étude sont présentés dans le Tableau 14. Toutes les solutions de standards sont préparées par dilution des réactifs dans de l'eau ultra pure. Comme pour l'analyse en GF-AAS, toute la verrerie est décontaminée à l'acide nitrique à 10% pendant plusieurs jours, puis rincée au minimum 3 fois avec l'eau ultra pure.

Les solutions étalons à 1000 mg.L⁻¹ d'arsenic sont conservés à 4°C, à l'abri de la lumière. Les solutions diluées sont préparées le jour même.

Les solutions de réactifs (tétraborohydrate de sodium, acide citrique) sont préparées quotidiennement, juste avant l'analyse. La solution de tétraborohydrate de sodium est préparée par dissolution de NaBH₄ dans de l'hydroxyde de sodium, afin d'éviter la décomposition des ions BH₄⁻.

Les cations (Na⁺, K⁺, NH₄⁺, Ca²⁺, Mg²⁺) et anions (Cl⁻, NO₂⁻, NO₃⁻, SO₄²⁻, PO₄³⁻) testés lors de l'étude de l'interférence de certaines espèces anioniques ou cationiques sur la détermination de l'arsenic sont les mêmes que celles utilisées dans le cadre de la mise au point du dosage de l'As(Tot) par GF-AAS.

Tableau 14 : Liste des réactifs et gaz utilisés pour l'analyse de l'As(III) en HG-AAS

Réactif	Qualité	Fournisseur
$\text{Na}_2\text{HAsO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, hydrogéoarséniate de sodium	98,5%	Fluka
As_2O_3 , métaarsénite de sodium	98%	Fluka
$\text{CH}_3\text{AsO}(\text{ONa})_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, méthylarsinate de sodium	98%	Carlo Erba
$(\text{CH}_3)_2\text{AsO}_2\text{Na} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, cacodyliate de sodium	99%	Fluka
NaBH_4 , tétraborohydrate de sodium	96%	Merck
NaOH , hydroxyde de sodium	98%	Prolabo
$\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_7$, acide citrique	99,5%	Fluka
KI, iodure de potassium	99%	Merck
EDTA, acide éthylène-diamine-tétracétique	99%	Prolabo
Ar, Argon	99%	Air Liquide
Acétylène	99%	Air Liquide

La technique développée est validée par analyse de l'As(III) sur le matériau de référence secondaire utilisé lors de l'optimisation de l'analyse par GF-AAS. Elle a également été appliquée sur l'eau synthétique enrichie en As(III) et As(V) ainsi que sur sept échantillons d'eaux (S1 à S7) souterraines prélevées près de Limoges (87). Ces échantillons sont conservés de la même manière que pour l'optimisation de l'analyse par GF-AAS. La composition en ions majeurs de ces eaux est donnée en Annexe 1.

III.3. Spéciation de l'arsenic par HPLC-HG-AFS

La mesure de la concentration en arsenic inorganique et organique dans des échantillons prélevés au sein des bioréacteurs, lors de la deuxième campagne du suivi de la cinétique d'oxydation d'As(III) par la population CAsO1, est réalisée au Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Organique et Environnement (L.C.A.B.I.E) de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour.

La quantification de quatre espèces arséniées (As(III), As(V), MMA et DMA) est réalisée par un couplage Chromatographie Liquide Haute Performance - Génération d'Hydrures - Spectrométrie de Fluorescence Atomique (HPLC-HG-AFS).

L'appareillage utilisée est composé d'une colonne échangeuse d'anions de type PRP-X 100 de Hamilton et d'une pompe péristaltique LABCRAFT[®] qui délivre les réactifs lors de la génération d'hydrures. La détection est effectuée par un spectromètre à fluorescence atomique de type P.S. Analytical EXCALIBUR[®], équipé d'une lampe à décharge à cathode creuse boostée.

D'après les conditions opératoires établis par Bohari *et al.* (2001), il est possible d'atteindre des limites de détection respectives de 0,05, 0,06, 0,05, 0,07 $\mu\text{g.L}^{-1}$ pour l'As(III), l'As(V), le MMA et le DMA.

III.4. Conservation des échantillons

La détermination de la spéciation de l'arsenic dans les eaux nécessite des précautions particulières. En effet, certaines espèces arséniées, notamment l'As(III) ne sont pas stables à température ambiante. Il est donc nécessaire de conditionner les échantillons pour les conserver jusqu'à l'analyse.

Dans la partie "Résultats expérimentaux" - chapitre C₁, un protocole de conservation de l'arsenic dans l'eau est élaboré. Les réactifs utilisés sont l'acide chlorhydrique, HCl, (32%, Pour Analyse, Merck) et l'acide nitrique, HNO₃, (69%, Suprapur, Merck). Les solutions diluées de ses acides sont préparées par dilution dans l'eau ultra pure.

IV - CARACTERISATION DE LA POUZZOLANE

La pouzzolane, utilisée comme matériau support pour les microorganismes a une granulométrie de 4-8 mm. Elle provient de l'entreprise "Carrière et concassage de Velay", une carrière qui exploite des minerais de pouzzolane dans le bassin du Puy en Velay (43). Cette carrière exploite des gisements proches du volcan de la Denise, lieu d'où venait la pouzzolane utilisée par le Bureau de Recherches Géologiques et Minières (BRGM) d'Orléans, lors de précédentes études sur l'oxydation biologique de l'As(III) par la population CAsO1 (Samary, 2005).

Le matériau support, préalablement à son introduction dans les bioréacteurs (pilote décrit paragraphe V-2), ainsi que lors des différentes études en réacteurs discontinus est rincé à l'eau ultra pure et séché à l'air libre pendant 72 h. Puis, durant 5 jours, une solution contenant uniquement de l'eau ultra pure est mise en circulation sur la pouzzolane placée dans les bioréacteurs, à un débit de $20 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$, soit $28,8 \text{ L} \cdot \text{j}^{-1}$. Des prélèvements sont effectués en sortie de bioréacteurs et analysés par chromatographie ionique.

IV.1. Analyse élémentaire de la pouzzolane

Ces mesures sont réalisées au BRGM (45). Les principaux composés chimiques de la pouzzolane sont dosés par analyse multi-élémentaire par Spectrométrie d'Emission Atomique par Plasma à Couplage Inductif (ICP-AES), modèle Jobin-Yvon 200. Cette analyse est réalisée après grillage à 450°C , frittage au peroxyde de sodium et mise en solution à l'acide chlorhydrique de la totalité du solide.

La détermination de la quantité d'oxyde de fer(II) est réalisée par volumétrie : après mise en solution du fer, par l'acide fluorhydrique et l'acide sulfurique; le fer est dosé par titration avec du bichromate de potassium.

IV.2. Détermination de la surface spécifique

La mesure de la surface spécifique de la pouzzolane est déterminée selon la méthode BET (Brunauer, Emmett et Teller). Le principe de cette méthode repose sur l'adsorption de molécules d'azote, donc de molécules de dimension moléculaire connue, à la surface d'un solide en couche monomoléculaire.

En déterminant le nombre de molécules nécessaire pour former la monocouche, on peut accéder à l'aire spécifique SBET ($\text{m}^2.\text{g}^{-1}$) du matériau. La mesure est réalisée avec un appareil Micrometrics ASAP 2010, par isotherme à 200°C , au laboratoire C.N.R.S. de Céramiques Nouvelles de l'Université de Limoges. Afin d'éviter tout changement de structure, l'échantillon a préalablement été dégazé à 160°C .

IV.3. Détermination de la capacité d'adsorption de la pouzzolane

IV.3.1. Etude en réacteurs discontinus

Plusieurs essais d'adsorption sont réalisés dans des erlenmeyers de 2 L. Un ratio pouzzolane/eau synthétique de 10% est appliqué : la masse de pouzzolane introduite est de 100 g pour un volume de 1000 mL d'eau synthétique.

Les essais sont réalisés sur une table d'agitation oscillante à $150 \text{ tr}.\text{min}^{-1}$ (Ikabortechnik, KS 501), à pH 7 et à température ambiante ($22 \pm 2^\circ\text{C}$). Dans chacun de ces erlenmeyers, une concentration de $100 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}$ en arsenic est appliquée. Trois solutions sont préparées : une solution d'As(III), une solution d'As(V) et un mélange équimolaire As(III)-As(V) à $50 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}$ chacun.

IV.3.2. Etude en bioréacteur

Avant la mise en route de l'étude de l'oxydation biologique de l'As(III) dans l'unité pilote, une étude de l'adsorption de l'As(III) dans un réacteur rempli de pouzzolane (22 kg), est réalisée. Le débit d'alimentation du bioréacteur est fixé à $10 \text{ mL}.\text{min}^{-1}$. Ce test est réalisé, à $22 \pm 0,2^\circ\text{C}$, avec une eau synthétique enrichie en As(III) à une concentration de $100 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}$.

Lors des deux études, les prélèvements et les mesures sont réalisés périodiquement (triplicats) et le dosage au cours du temps des concentrations en arsenic total et en As(III) dans ces échantillons est effectué par les méthodes analytiques décrites paragraphe III de ce chapitre.

V - OXYDATION BACTERIENNE DE L'AS(III) PAR $CaSO_4$ EN BIOREACTEUR

V.1. Description de l'unité pilote

L'unité pilote est composée de trois bioréacteurs à lit fixé (C1, C2 et C3) non stérilisables et de trois réservoirs (R1, R2 et R3). Chacun des réservoirs est relié à un bioréacteur. Les réservoirs (650 x 160 mm) ainsi que les bioréacteurs (1050 x 200 mm) sont en polychlorure de vinyle (PVC) cristal. Ce matériau, économique et résistant aux produits chimiques, est choisi car il permet de visualiser les écoulements et les niveaux des fluides à l'intérieur des réservoirs et bioréacteurs. L'ensemble des tubes d'alimentation et de prélèvement utilisés au cours de ces travaux est en Tygon R3603, matériau inerte chimiquement. Le synoptique général de l'unité pilote est présenté sur la Figure 8. Deux photographies de l'unité pilote sont données en Annexe 3.

V.2. Principe de fonctionnement

L'alimentation du bioréacteur C1 (Figure 8) est effectuée de façon ascendante alors que les bioréacteurs C2 et C3 sont alimentés gravitairement.

L'alimentation en eau de l'unité pilote est réalisée au moyen de 4 pompes péristaltiques de type Masterflex L/S numérique, modèle No 7524-55, ayant un débit théorique compris entre 0,5 et 560 mL.min⁻¹. Ces pompes péristaltiques sont nommées P1, P2, P3 et P4. Comme il est indiqué sur la Figure 8, la pompe péristaltique P1 achemine l'eau du réservoir de stockage principal aux trois réservoirs R1, R2 et R3 : l'eau est alors thermostatée à la température souhaitée. La pompe P2 alimente le bioréacteur C1, par le bas, en utilisant l'eau du réservoir R1 et l'effluent oxydé est évacué en haut de colonne par un déversoir. La pompe P3 alimente par le haut les bioréacteurs C2 et C3, en utilisant les eaux des réservoirs R2 et R3, et la pompe P4 permet l'évacuation des effluents issus des bioréacteurs C2 et C3; elle assure ainsi le contrôle du temps de séjour de l'effluent dans ces deux bioréacteurs.

Les réservoirs ainsi que les bioréacteurs sont équipés d'une double-enveloppe en PVC cristal, de 50 mm d'épaisseur remplie d'eau et reliée à un cryothermostat type Huber Polystat cc1. Ce dernier est équipé d'une pompe de recirculation de 13 L permettant de réguler la température de l'ensemble de l'unité pilote à $T \pm 0,2^\circ\text{C}$, sur une gamme de température de -20 à 80°C .

Chacun des trois bioréacteurs est alimenté en air, par un bullage à un débit de $10 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ (débitmètres Aalborg). L'air est injecté en bas de colonne et traverse une plaque multiperforée afin de permettre une distribution de l'air la plus homogène possible sur toute la hauteur de colonne.

Afin d'homogénéiser les solutions contenues dans chacun de ces trois réservoirs, ces derniers sont placés sur un agitateur magnétique de marque Fisherbrand, modèle 10512, d'une capacité d'agitation de 25 L. Chacun des trois réservoirs est fermé par un couvercle afin de limiter les échanges avec l'air et percé dans le but de permettre le passage des sondes de mesures physico-chimiques.

V.3. Acquisition des données

Les suivis des paramètres potentiel d'oxydo-réduction, pH et température sont réalisés dans les réservoirs (entrée des bioréacteurs) et en sortie des bioréacteurs : en haut de colonne pour le bioréacteur C1 et via une cellule de mesure située en aval des bioréacteurs C2 et C3.

Les sondes utilisées sont de marque Heito et comportent des électrodes combinées pH/température, type BRVST6, et des électrodes combinées rédox, type BRPt6. L'automatisation de l'acquisition de ces données (pH, Eh et température) est réalisée par le développement électronique et logiciel mis au point spécifiquement pour l'unité pilote par la société DLC Instrumentation (86). L'acquisition des données permet de suivre en continu l'évolution des paramètres physico-chimiques au sein des réservoirs et des bioréacteurs et le stockage des données.

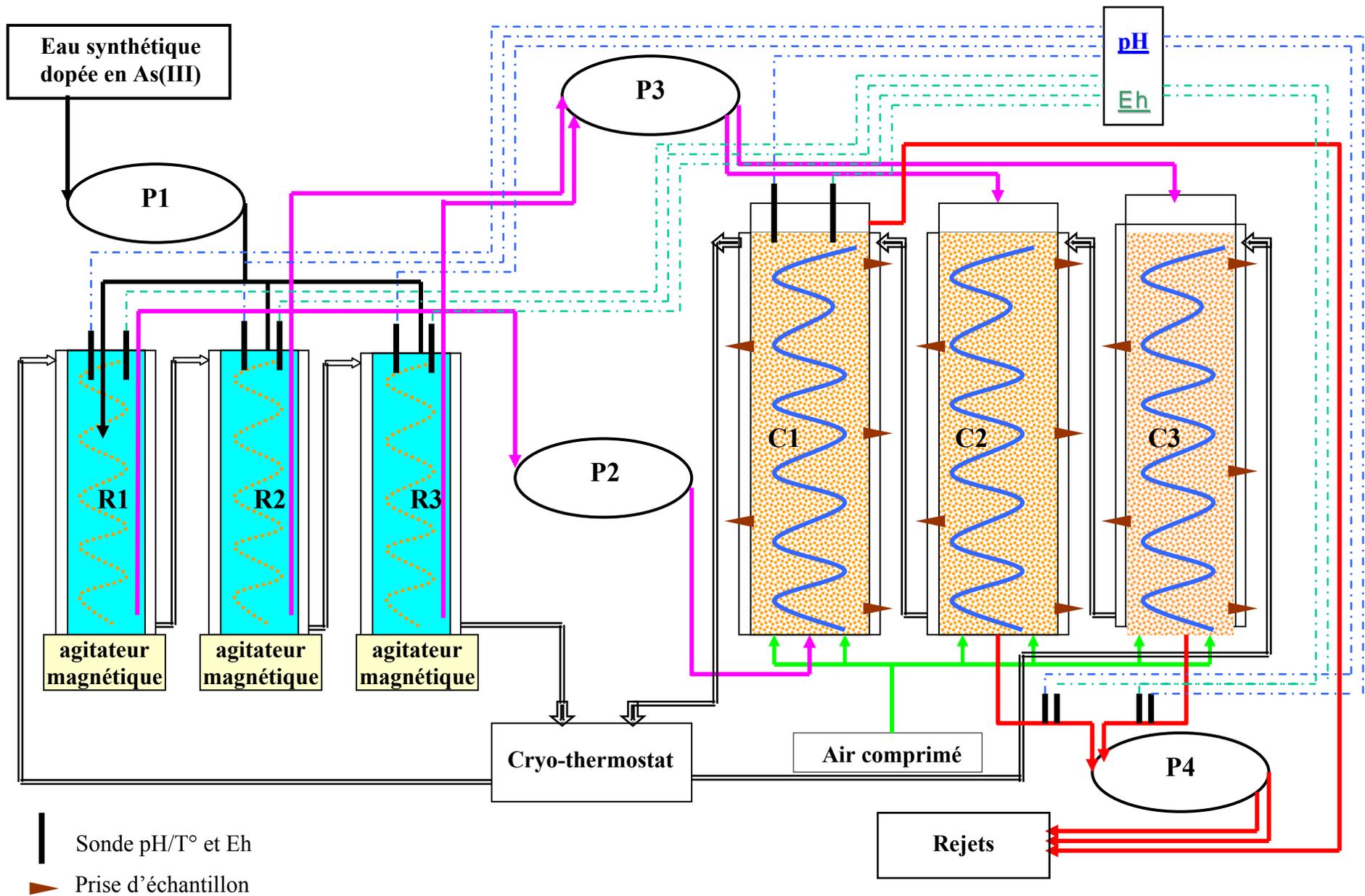


Figure 8 : Synoptique du pilote d'oxydation biologique des eaux arsénées

VI - ETUDES DES CONDITIONS PHYSIQUES DE FONCTIONNEMENT DES BIOREACTEURS

L'étude hydrodynamique a pour objectif de caractériser les écoulements, d'accéder aux profils de Distribution des Temps de Séjour (DTS) et aux constantes de transfert d'oxygène $K_L a$ au sein des bioréacteurs.

VI.1. Rétention de l'eau

Le volume d'eau mis en jeu dans le bioréacteur est lié à la nature du matériau support. En effet, ce volume est fonction de la capacité de rétention d'eau du matériau. La mesure de cette capacité s'effectue à l'aide de la méthode dite de ressuyage.

- Méthode de ressuyage : la méthode de ressuyage consiste à mesurer les volumes d'eau égouttable et d'eau retenue après égouttage. La somme des volumes d'eau retenue et égouttée correspond au volume d'eau total mis en jeu dans le massif.

- Méthode de mesure de l'eau égouttable : la détermination du volume d'eau égouttée s'effectue à l'aide de la méthode de drainage. Cette méthode consiste, après établissement du régime permanent sur un massif quelconque, à couper l'alimentation et à suivre le volume d'eau en sortie en fonction du temps. Le volume d'eau récupéré est noté V_r alors que le volume d'eau égouttable est noté V_e .

- Méthode de mesure de l'eau retenue après égouttage : le volume d'eau retenu après égouttage est déterminé de la façon suivante. Un volume d'eau connu est introduit de façon à immerger le massif initialement sec. Après immersion totale du matériau, la colonne est vidangée. La différence des volumes injectés et recueillis, rapportée à la masse de matériau, exprime la capacité d'eau retenue (non égouttable) du matériau.

VI.2. Détermination des temps de séjour

La description de l'écoulement des phases, leur mode de mélange et de mise en contact dans les réacteurs, sont nécessaires pour comprendre les phénomènes de transfert de matière.

Une méthode qui permet d'aboutir par une approche systémique, à cette description des phénomènes d'écoulement dans les réacteurs réels, est la méthode de la Distribution des Temps de Séjour (DTS). Une description des aspects théoriques de la DTS ainsi que de la détermination expérimentale des fonctions de distribution est présentée en Annexe 4.

VI.2.1. Fonction de distribution des temps de séjour

Dans le cas d'un régime permanent, la fonction distribution des temps de séjour $E(t)$ peut être assimilée à la densité de probabilité du temps de séjour t dans le débit de sortie (Villiermaux, 1993). Cette fonction peut être obtenue grâce à l'équation (28), où $C(t)$ représente la concentration en traceur, à l'instant t , en sortie de réacteur.

$$E(t) = \frac{C(t)}{\int_0^{\infty} C(t)dt} \quad (28)$$

Les moments statistiques d'ordre n autour de l'origine, notés μ_n (29), fournissent des grandeurs caractéristiques de la distribution des temps de séjour, en particulier μ_1 et μ_2 , représentant respectivement le temps de séjour moyen τ et la variance à la distribution σ^2 .

$$\mu_n = \int_0^{\infty} t^n E(t)dt = \frac{\int_0^{\infty} t^n C(t)dt}{\int_0^{\infty} C(t)dt} \quad (29)$$

Le moment d'ordre 1 correspondant peut alors être comparé au temps de passage t_p donné par l'équation (30) :

$$t_p = \frac{V_t}{Q} \quad (30)$$

V_t : volume total d'eau mis en jeu dans le massif (L)

Q : débit d'alimentation (L.min⁻¹)

Le moment d'ordre 2 permet d'accéder, selon Villiermaux (1993), au paramètre de dispersion P . Ce paramètre, homogène à un critère de Péclet, est défini par la longueur L du réacteur (réacteur assimilé à un réacteur clos) pour une vitesse linéaire u et un coefficient de dispersion axiale D_a , équation (31) :

$$\sigma_{\theta}^2 = \frac{\sigma^2}{t_p^2} = \frac{2}{P} - \frac{2}{P^2} \times (1 - e^{-P}) \quad (31)$$

$$P = \frac{uL}{D_a}$$

Les calculs de l'Indice de Dispersion de Morrill (MDI) et de l'Efficacité Volumétrique (VE) permettent également de caractériser l'écoulement au sein d'un réacteur.

En effet, d'après Morrill (cité par Metcalf et Eddy, 2003), un indice de dispersion peut être calculé par le rapport du percentile 90 (P90) sur le percentile 10 (P10) des valeurs cumulées en fonction du temps (32); l'efficacité volumique étant le rapport inverse en pourcentage (33). Une valeur de MDI de 1 correspond à un réacteur piston tandis qu'une valeur de 22 correspond à un réacteur parfaitement agité.

Les valeurs correspondantes à la courbe E(t) en fonction du temps sont cumulées et ramenées en pourcentage d'occurrence. Ces dernières sont tracées sur papier à échelle de probabilité log-normale en fonction du temps. On en déduit ainsi par simple lecture les différents percentiles et les deux coefficients sont obtenus par les formules suivantes :

$$\text{MDI} = \text{P90} / \text{P10} \quad (32)$$

$$\text{VE (\%)} = 100 / \text{MDI} \quad (33)$$

VI.2.2. Distribution des temps de séjour dans un réacteur réel

Dans un réacteur réel où l'écoulement est de type quelconque, les courbes de DTS observées sont des courbes intermédiaires entre les deux comportements idéaux, comme le montrent les Figures 9 (a) et (b).

La connaissance des fonctions de distribution pour un système donné permet, par simple comparaison avec les courbes correspondant aux systèmes idéaux, d'accéder à l'écart par rapport à un réacteur idéal. Dans le cas où les différences sont importantes, les modèles idéaux pourront être combinés ou modifiés de manière à rendre compte du comportement réel du système.

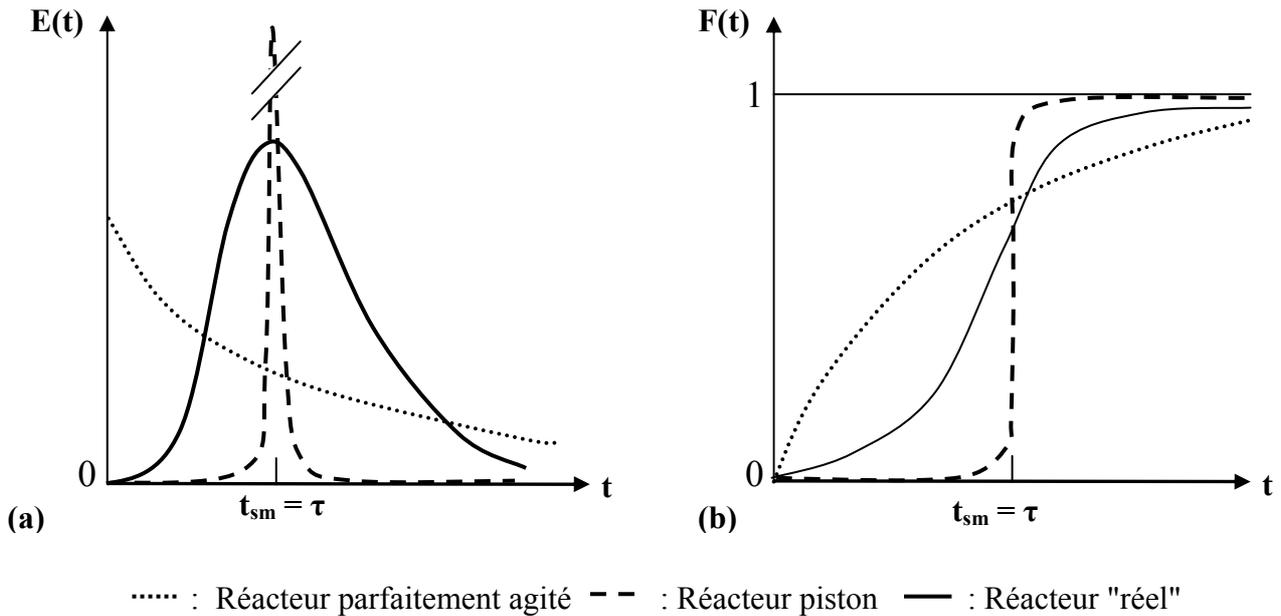


Figure 9 : Représentation des distributions de temps de séjour. (a) : Réponse à une injection-impulsion, (b) : Réponse à une injection-échelon (source : Villermaux, 1993)

VI.2.3. Procédure expérimentale

La distribution des temps de séjour est réalisée sur les trois bioréacteurs à l'aide d'une injection échelon. En effet, si l'injection du traceur, dans la majorité des études sur les DTS de solide est effectuée sous la forme d'une injection impulsion (Mohammedi, 1998; Petit, 2005), il est nécessaire que le temps d'injection soit très inférieur au temps de séjour moyen des particules dans le système.

Pour ce faire, dans la plupart des études, une faible quantité de traceur est placée dans un réservoir maintenu sous pression (2 à 6 bar) et est relié à une électrovanne. Ainsi, la méthode d'injection échelon ou de purge échelon est dans notre cas la plus adaptée car elle ne nécessite aucune modification du dispositif expérimental : une quantité de traceur adéquat est mélangée dans de l'eau ultra pure et mise en circulation en régime permanent dans le bioréacteur.

Le traceur choisi est le chlorure de sodium (NaCl) en raison de sa simplicité d'emploi et de la facilité de détection à l'aide d'un conductimètre. Les valeurs de conductivité sont enregistrées en fonction du temps. L'acquisition des données se fait avec un pas de temps compris entre 10 et 20 secondes, selon la durée de la DTS. Le nombre de points doit être suffisant pour discrétiser correctement les courbes et l'intervalle suffisamment faible pour ne pas omettre un éventuel pic initial correspondant à un débit de court-circuit éventuel.

La courbe d'étalonnage (Annexe 5) nous permet d'obtenir la concentration de la solution de NaCl à partir de la conductivité. Cette courbe est établie à partir de plusieurs solutions étalons de NaCl préparées dans de l'eau ultra pure. Une solution à 2 g.L⁻¹ est choisie car elle offre un bon compromis entre des signaux de conductivité détectable et une solution de densité proche de 1. Ce dernier paramètre est très important, car la densité ne doit pas être trop élevée au risque de fausser les mesures.

A partir des courbes expérimentales de conductivité obtenues, les courbes expérimentales de DTS pour chacun des bioréacteurs sont tracées.

VI.3. Détermination de la constante de transfert d'oxygène

Deux méthodes sont utilisées pour déterminer la conductance de transfert K_La ainsi que la vitesse de consommation de l'oxygène r_{O₂}X : la méthode en eau claire et la méthode dynamique.

VI.3.1. Méthode en eau claire

La méthode en eau claire permet de mesurer la constante de transfert K_La dans un milieu saturé en O₂.

Le bassin d'aération est rempli d'eau, l'aérateur est mis en fonctionnement afin de saturer le milieu. L'aération est ensuite coupée et l'eau d'alimentation est désoxygénée par un excès de sulfite de sodium. Le sulfite de sodium n'a aucune influence sur l'intensité de transfert et le K_La mesuré caractérise le transfert de l'oxygène dans l'eau et ne dépend en aucun cas de la réaction 34 du sulfite de sodium. En présence d'ions cobalt, les ions sulfite sont oxydés selon la réaction :



La quantité de sulfite doit être en excès afin d'abaisser la concentration en oxygène dissous à une valeur proche de 0 mg.L⁻¹ (on compte en théorie 7,88 mg de sulfite de sodium par mg d'oxygène).

Lorsque tout le sulfite est oxydé, le bioréacteur est aéré de nouveau. L'évolution de la concentration en oxygène dans l'eau en sortie de colonne est suivie avec un oxymètre (Ponselle ACP, capteur CPC-C4ET-S10). La variation de la concentration en O₂ dans le milieu en fonction du temps est décrite par l'équation de transfert ci-dessous (35) :

$$\frac{dC_L}{dt} = K_L a (C^* - C_L) \quad (35)$$

$K_L a$: conductance de transfert (h^{-1})

C^* : concentration en oxygène dissous à saturation ($mg\ d'O_2.L^{-1}$; fonction de la température et de la pression)

C_L : concentration en oxygène dissous, à l'instant t ($mg\ d'O_2.L^{-1}$)

La Figure 10 (a) représente l'évolution de la concentration en oxygène dissous lors de l'application de la méthode en eau claire. Comme le montre la Figure 10 (b), la linéarisation de l'équation (35) permet d'accéder à la valeur du $K_L a$; on en déduit ainsi les différents paramètres :

- la Capacité d'Oxygénation (CO) définie comme étant la quantité d'oxygène fournie en une heure ($g\ O_2.h^{-1}.m^{-3}$) (36):

$$CO = K_L a \cdot C^* \quad (36)$$

- l'Apport Horaire (AH) en oxygène dans le réacteur ($g\ O_2.h^{-1}$) (37) :

$$AH = CO \cdot V \quad (37)$$

V : volume du bassin (m^3)

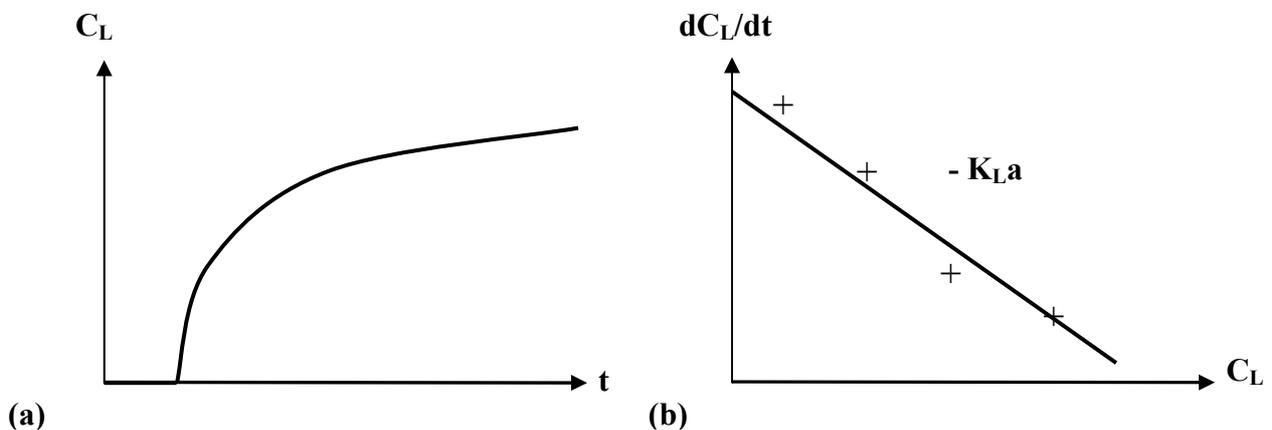


Figure 10 : Représentation de l'évolution de la concentration en oxygène dissous lors de l'application de la méthode en eau claire

VI.3.2. Méthode dynamique :

La méthode dynamique permet la mesure de la constante de transfert $K_L a$ à partir de la connaissance de la consommation en oxygène par les bactéries ($r_{O_2 X}$) dans un bassin.

Cette méthode est basée sur le bilan en oxygène à l'intérieur du bassin, durant un état transitoire, qui est traduit selon l'équation (38) :

$$\frac{dC_L}{dt} = k_L a (C^* - C_L) - r_{O_2 X} \quad (38)$$

$r_{O_2 X}$: consommation d'oxygène par les bactéries

d'où l'on obtient, après linéarisation, la relation suivante (39) :

$$C_L = C^* - \frac{1}{k_L a} \left(r_{O_2 X} + \frac{dC_L}{dt} \right) \quad (39)$$

Expérimentalement, après aération du milieuensemencé et en considérant la croissance bactérienne comme stationnaire, l'aération est arrêtée au temps $t = 0$ dans un milieu inoculé. La décroissance de la teneur en O_2 dissous est alors linéaire avec le temps selon (40) :

$$\frac{dC_L}{dt} = -r_{O_2 X} \quad (40)$$

La pente de la droite obtenue (Figure 11 (a)), permet de déterminer la valeur de $r_{O_2 X}$, la consommation d'oxygène par les bactéries. Le réacteur est à nouveau aéré et la concentration en oxygène dissous, C_L , est suivie en fonction du temps. On en déduit ainsi la valeur de constante de transfert $K_L a$ (Figure 11 (b)).

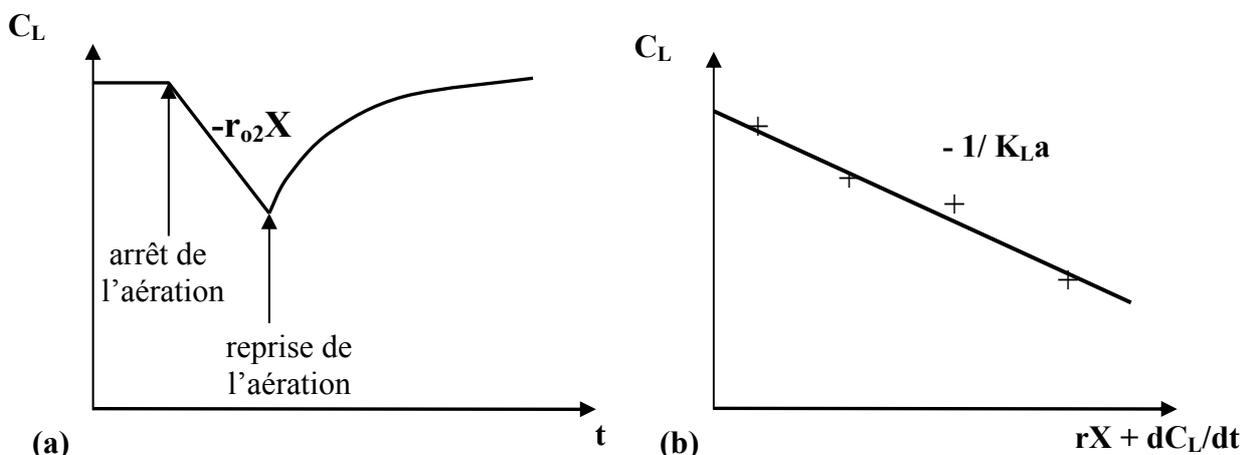


Figure 11 : Représentation de l'évolution de la concentration en oxygène dissous lors de l'application de la méthode dynamique

VII - SUIVI EN BIOREACTEUR DE L'OXYDATION BACTERIENNE DE L'As(III) PAR CAsO1

VII.1. Préparation de l'inoculum CAsO1 pour l'ensemencement du pilote

L'inoculum CAsO1 a été préparé au BRGM d'Orléans à partir du dernier repiquage de CAsO1 à 100 mg.L⁻¹. Ce protocole de préparation s'étale sur une durée de deux semaines et comprend une étape de préparation d'un milieu de culture à 50 mg.L⁻¹ en As(III) ainsi qu'une remise en culture de la population CAsO1.

VII.1.1. Préparation du milieu de culture de CAsO1

La préparation du milieu de culture de CAsO1 est obtenue en réalisant le mélange de plusieurs solutions minérales.

- **Milieu minéral** : le milieu minéral est composé d'un mélange équivolumique des deux solutions A et B décrites ci-après.

Solution A : les différents sels utilisés pour la préparation de 0,5 L de solution A sont présentés dans le Tableau 15.

Cette solution est stockée dans un flacon en verre de 1 L, son pH est ajusté à 6.

Tableau 15 : Composition de la solution A

Eléments	Masse ajoutée (g)	Concentration dans la solution (mmol.L ⁻¹)
KH ₂ PO ₄	0,01	0,15
K ₂ HPO ₄	0,01	0,12
NaCl	0,05	1,71
(NH ₄) ₂ SO ₄	0,05	0,67

Solution B : les différents sels utilisés pour la préparation de 0,5 L de solution B sont présentés dans le Tableau 16.

Cette solution est stockée dans un flacon en verre de 0,5 L.

Tableau 16 : Composition de la solution B

Eléments	Masse ajoutée (g)	Concentration dans la solution (mmol.L ⁻¹)
MgSO ₄ , 7H ₂ O	0,05	0,41
CaCl ₂ , 2H ₂ O	0,05	0,68

Après stérilisation des solutions A et B (120°C pendant 20 min), la solution B est versée dans le flacon A en condition stérile.

- **Solution d'oligo-éléments** : une solution d'oligo-éléments contenant 500 mL d'eau ultra pure, 6,25 mL d'HCl en solution à 25% ainsi que les différents éléments donnés dans le Tableau 17 a été préparée. Cette solution est filtrée à 0,45 µm et stockée dans un flacon en verre stérile.

Tableau 17 : Composition de la solution d'oligo-éléments

Eléments	Masse ajoutée (g)	Concentration dans la solution (mmol.L ⁻¹)
FeCl ₂ , 7H ₂ O	1,500	11,88
H ₃ BO ₃	0,060	1,94
MnSO ₄ , H ₂ O	0,117	1,39
CoCl ₂ , 6H ₂ O	0,025	0,21
ZnCl ₂	0,070	1,03
NiCl ₂ , 6H ₂ O	0,025	0,21
CuCl ₂ , 2H ₂ O	0,015	0,18
Na ₂ MoO ₄ , 6H ₂ O	0,025	0,16

- **Solution d'As(III) :**

Une solution aqueuse d'As(III) est préparée par dissolution à chaud d'As₂O₃ en milieu basique (0,55 g de NaOH dans 100 mL d'eau ultra pure à ébullition).

Le Tableau 18 présente le milieu de culture de la population CAsO1 obtenu en mélangeant les différentes solutions préparées précédemment. La concentration en As(III) dans le milieu de culture présenté dans ce tableau est de 50 mg.L⁻¹.

Tableau 18 : Milieu de culture de la population CAsO1

Solution	Volume de la solution ajoutée (en mL)
milieu minéral (solution A + B)	1000
solution d'oligo-éléments	1
solution d'As(III) (10 g.L ⁻¹)	5

VII.1.2. Remise en culture de la population CAsO1

La mise en culture de la population CAsO1 est réalisée par la mise en suspension d'un tube congelé à - 80°C dans un erlenmeyer en verre stérile de 250 mL, contenant le milieu de culture CAsO1 à une concentration en As(III) de 100 mg.L⁻¹. Cette solution est placée en incubation sur une table d'agitation, à 25°C, pendant deux jours.

Un prélèvement est effectué à T0 ainsi qu'à la fin de la durée d'incubation pour vérifier que l'oxydation de l'As(III) en As(V) a bien lieu. Les analyses sont réalisées par spectrométrie d'absorption atomique flamme.

Trois repiquages successifs de la culture CAsO1 sont alors effectués dans le milieu de culture afin d'obtenir une culture microbienne active en présence de 100 µg.L⁻¹ d'As(III).

- 1^{er} repiquage : dans deux erlenmeyers stériles de 250 mL en verre, sont ajoutés 90 mL de milieu de culture CAsO1 à 50 mg.L⁻¹ d'As(III). Les erlenmeyers sontensemencés avec 10 mL de l'inoculum CAsO1 à 100 mg.L⁻¹ et placés sur une table d'agitation à 25°C pendant 4 jours. Un prélèvement est effectué dans les erlenmeyers afin de suivre l'oxydation de l'As(III) par CAsO1. Si l'oxydation est totale, un deuxième repiquage est alors réalisé.

- 2^{ème} repiquage : dans quatre erlenmeyers stériles de 500 mL en verre, sont ajoutés 300 mL de milieu de culture CAsO1 à 10 mg.L⁻¹ d'As(III). Les erlenmeyers sontensemencés avec 30 mL du mélange du repiquage précédent et sont placés sur une table d'agitation à 25°C pendant 4 jours.
- 3^{ème} repiquage : après vérification de l'oxydation complète de l'As(III), un repiquage est réalisé dans deux flacons en verre de 5 L contenant chacun 4 L de milieu de culture de CAsO1 à 1 mg.L⁻¹ d'As(III). Les flacons sont ensuiteensemencés à raison de 500 mL d'inoculum à 9 mg.L⁻¹ d'As(III) (du repiquage précédent) et placés sur des agitateurs magnétiques dans une pièce thermostatée à 20°C pendant 4 jours. Au bout de 4 jours, un prélèvement est réalisé afin de vérifier l'oxydation de l'As(III).

La concentration initiale en arsenic dans la suspension d'inoculum CAsO1 est la suivante :

$$[\text{As(III)}] = 0 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$$

$$[\text{As(Tot)}] = [\text{As(V)}] = 1810 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$$

VII.2. Inoculation des bioréacteurs

L'inoculation des bioréacteurs est réalisée par la mise en recirculation, dans chacun des trois bioréacteurs, de la suspension d'inoculum CAsO1 préparée selon le protocole décrit précédemment.

Le volume d'inoculum ajouté (solution A) correspond à 10% du volume utile de chaque bioréacteur; la solution d'eau synthétique (solution B) enrichie à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ constituant l'apport nécessaire au remplissage total de chacun des bioréacteurs.

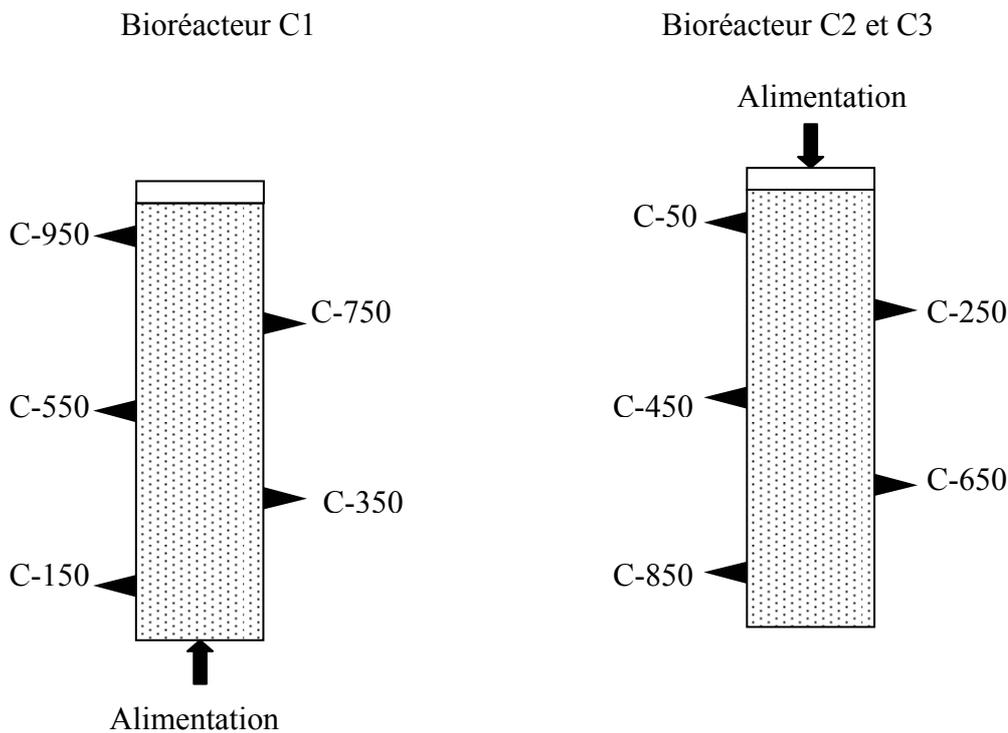
Le mélange est mis en recirculation pendant 70 h, à une température de 11°C. Le débit d'alimentation ainsi que la durée de la mise en recirculation sont définis afin d'assurer au minimum deux passages du mélange dans chaque bioréacteur. La mise en recirculation au sein des bioréacteurs C2 et C3, bioréacteurs alimentés par le haut, est constitué d'une boucle fermée : l'entrée et la sortie de chaque bioréacteur sont reliés; le débit étant régulé par une pompe péristaltique. Néanmoins, afin de s'assurer d'une saturation complète des deux bioréacteurs, une immersion totale des colonnes a été assurée par un ajout supplémentaire de 150 mL de mélange (solution A + B) par rapport au volume accessible des bioréacteurs.

La mise en recirculation du mélange (solution A + B) dans le bioréacteur C1, n'est pas assurée par une simple boucle fermée mais par la présence d'un bac de reprise, le réservoir R1 en l'occurrence. En effet, le déversoir en sortie du bioréacteur C1 se vide dans le réservoir R1, réservoir dans lequel est branché la prise d'alimentation du bioréacteur C1. Ainsi, un volume de 2 L de mélange (0,2 L d'inoculum et 1,8 L d'eau synthétique enrichie en As(III) à $100 \mu\text{g.L}^{-1}$) est placé dans ce réservoir, permettant une alimentation en continue du bioréacteur C1.

VII.3. Echantillonnage dans l'unité pilote

L'échantillonnage quotidien dans les bioréacteurs est réalisé en entrée et en sortie de chaque bioréacteur ainsi qu'à cinq hauteurs différentes.

Comme le montre la Figure 12, pour le bioréacteur C1 (alimenté par voie ascendante), les prises d'échantillons sont situées respectivement à 150, 350, 550, 750 et 950 mm après l'alimentation alors que pour les bioréacteurs C2 et C3 (alimentés gravitairement), ces mêmes prises d'échantillons se situent à 50, 250, 450, 650 et 850 mm après l'alimentation.



C1-150 : distance de 150 mm entre le point d'alimentation et la prise d'échantillonnage

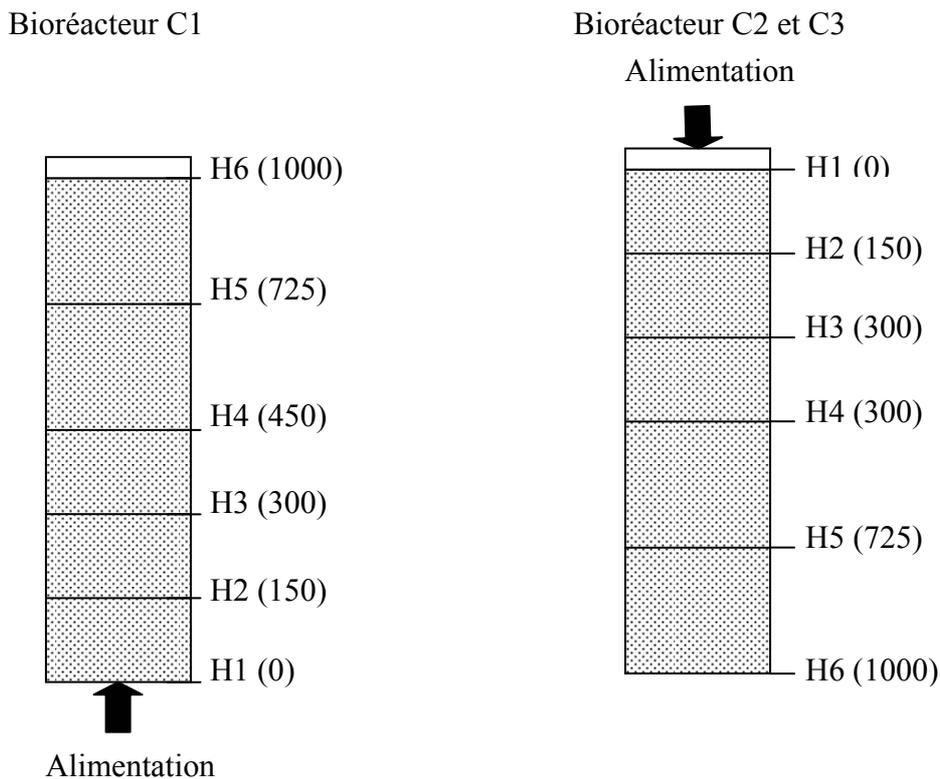
Figure 12 : Hauteur de prélèvement des échantillons dans chaque bioréacteur

Un échantillonnage quotidien de la solution d'eau synthétique enrichie en As(III) est également effectué dans le réservoir de stockage principal ainsi que dans les trois réservoirs (R1, R2 et R3) alimentant les bioréacteurs. Chaque échantillon est acidifié avec une solution à 1% d'HCl (2M) et conservé à 4°C. Les échantillons sont ensuite dosés hebdomadairement par les techniques optimisés (Cf "Résultats Expérimentaux" - chapitre C₁), afin de déterminer la concentration en As(III) (dosage par HG-AAS) et en arsenic total (dosage par GF-AAS). La concentration en As(V) est obtenue par différence entre les concentrations en As(total) et As(III).

VII.4. Démontage des bioréacteurs

VII.4.1. Prélèvement de la pouzzolane

Lors de la fin du suivi d'oxydation de l'As(III) par la population CAsO1 en bioréacteurs, ces derniers sont démontés et la pouzzolane est prélevée à différentes hauteurs dans chacun d'eux. Les hauteurs de ces prélèvements sont présentées sur la Figure 13.



(0) distance en mm par rapport à l'alimentation

Figure 13 : Hauteur de prélèvement de la pouzzolane dans chaque bioréacteur

A la fin de chaque campagne de suivi d'oxydation biologique, 18 échantillons de 200 g de support humide sont prélevés. La moitié de la quantité de chaque échantillon prélevé est expédiée immédiatement au Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement (LBE) de l'Institut National de la Recherche Agronomique de Narbonne (11) pour analyse par PCR-SSCP, l'autre moitié étant conservée pendant 24 heures, à 15°C, afin d'effectuer les cinétiques d'oxydation sur le support "Pouzzolane + Biofilm" et de mesurer le pourcentage de matières volatiles en suspension de ce support.

VII.4.2. Teneur en matières volatiles en suspension (MVS)

La détermination de la teneur en MVS, pour les 18 échantillons de support "Pouzzolane + Biofilm", est réalisée par calcination au four (FIRLABO) à 550°C pendant 2 heures, de l'échantillon préalablement séché dans une étuve à 105°C (METRAWATT R0-8) et résulte de l'application de la norme AFNOR NF T 90-105.

VII.4.3. Cinétique d'oxydation de l'As(III) par la biomasse prélevée dans les bioréacteurs

Un suivi cinétique de l'oxydation biologique de l'As(III) pour les 18 échantillons prélevés lors du démontage des bioréacteurs est réalisé en triplicats, en réacteurs discontinus (erlenmeyers de 200 mL), dans les 24 heures suivant le démontage des bioréacteurs.

Un ratio pouzzolane/eau synthétique de 10% est utilisé pour ces tests réalisés dans des erlenmeyers contenant 100 mL d'eau synthétique, enrichie en As(III) à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Les essais sont réalisés sur une table d'agitation oscillante à 150 tr.min^{-1} (Ikabortechnik, KS 501), à température ambiante ($22 \pm 2^\circ\text{C}$).

Des prélèvements sont réalisés régulièrement afin de connaître l'évolution de la teneur en As(III) et As(Tot). Ces analyses sont effectuées le jour même par les techniques décrites dans la partie "Résultats Expérimentaux" - chapitre C₁ (aucun conditionnement des échantillons n'est donc nécessaire).

VII.4.4. Caractérisation du consortium bactérien CAsO1 par PCR-SSCP

Cette analyse est réalisée au LBE de Narbonne (11). Elle permet de caractériser la biomasse présente sur le support "Pouzzolane + Biofilm" lors du démontage des bioréacteurs. Cette analyse est effectuée dans les 48 h suivant le démontage des bioréacteurs. La technique utilisée pour caractériser la biomasse présente sur le support est la technique PCR-SSCP. Un descriptif de la méthode est proposé en Annexe 6.

Cette technique d'identification et de suivi moléculaire des microorganismes est basée sur la sélection du gène codant pour les ARN ribosomiques. Pour l'analyse SSCP (Single Strand Conformation Polymorphism) des communautés microbiennes sont lysées et leurs chromosomes (ADN totaux) sont purifiés. Les gènes codants pour les ARNr 16S sont partiellement amplifiés *in vitro* par réaction de polymérisation en chaîne (PCR) à l'aide d'amorces marquées. Il en résulte un mélange de fragments d'ADNr 16S représentatif des microorganismes présents dans le prélèvement de départ. Ce mélange est analysé par électrophorèse SSCP qui permet la séparation de fragments d'ADN de même taille mais de séquence différente. La communauté bactérienne du prélèvement apparaît alors comme un profil de pics où chaque pic correspond à une espèce microbienne différente. La comparaison des profils permet alors de suivre rapidement l'évolution des populations microbiennes dominantes de l'écosystème.

Le matériel utilisé pour ces analyses ainsi que les protocoles appliqués sont identiques à ceux présentés par Dabert *et al.* (2005).

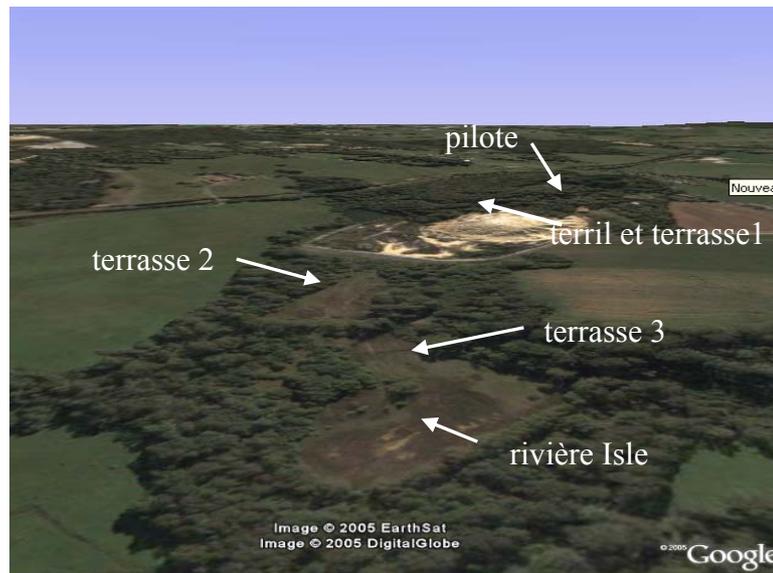
VIII - SUIVI *IN SITU* DE L'OXYDATION BACTERIENNE DE L'As(III) PAR CAsO1

Des essais pilote sont réalisés sur un site minier pour l'oxydation des effluents arséniés. Ce pilote est installé sur le site minier de Chéni-les Farges à Saint Yriex La Perche (87); site où la population bactérienne CAsO1 a été isolée par le BRGM.

VIII.1. Présentation du site minier de Chéni-les Farges

Il s'agit d'une ancienne mine d'or souterraine faisant actuellement l'objet d'une étude de réaménagement et de dépollution par le BRGM. Ce site se distingue par son terril résultant du traitement du minerai de quartz aurifère de 1921 à 1951. Environ 550 000 m³ de résidus sur une hauteur de 20 m environ sont ainsi exposés à l'érosion. Les résidus en question contiennent de fortes teneurs en arsenic et des teneurs significatives en métaux lourds : 6054 mg.kg⁻¹ d'As, 393 mg.kg⁻¹ de Pb, 134 mg.kg⁻¹ de Zn et 25 mg.kg⁻¹ de Cu.

La mise en place de digues formant trois terrasses étagées successives (Figure 14), a permis de contenir les stériles. Cependant, environ 100 000 m³ ont été entraînés par l'érosion vers la rivière Isle située 500 m en contrebas. Ce phénomène est désormais limité depuis la réhabilitation en 2000 de la digue en aval immédiat du terril.



**Figure 14 : Vue satellite du site minier de Chéni-les-Farges (87)
(source : Google Earth)**

VIII.2. Présentation du pilote ACTREAD

L'unité pilote contenue dans un bungalow est mise en place à l'entrée du site. Cette unité pilote est composée de deux colonnes dont une seule servira de bioréacteur. Ainsi cette colonne sera remplie par de la pouzzolane (diamètre 4-8 mm) issue de la même carrière que celle utilisée lors de nos précédentes études d'oxydation bactérienne de l'As(III) à l'échelle du laboratoire. Le volume utile du bioréacteur rempli de pouzzolane est de 125 L.

Le piézomètre PZ 32, utilisé pour alimenter le pilote, est situé en contrebas du site, sur la terrasse n°3, zone fortement marécageuse. Le prélèvement puis l'acheminement de l'eau à oxyder depuis le piézomètre PZ 32 jusqu'à l'unité pilote est réalisé à l'aide d'une pompe centrifuge de marque Flygt monophasée de 700 W, capable d'alimenter le pilote à un débit de 500 L.h^{-1} . L'eau est reprise via un bac de 80 L pour alimenter le bioréacteur. Ce bac comporte une poire de niveau asservissant la pompe du piézomètre. Les bioréacteurs sont alimentés gravitairement par des pompes immergées placées dans le bac ou via un ensemble de pompes doseuses pour le travail à faibles débits. Le Tableau 19 présente quelques caractéristiques de l'eau à oxyder issue du piézomètre PZ 32. Cependant, les caractéristiques de cette eau fluctuent énormément dans le temps.

Afin de réaliser un suivi de l'expérimentation, des sondes mesurant en continu le pH, la température et le potentiel d'oxydo-réduction, sont disposées en entrée et en sortie de bioréacteur. Un ensemble de piquages sur la colonne permet de réaliser des prélèvements d'eau à différentes hauteurs dans le bioréacteur. Un synoptique du pilote est présenté sur la Figure 15. Les eaux traitées sont rejetées via un bac de reprise vers le terril.

Tableau 19 : Caractéristiques de l'eau à oxyder issue du piézomètre PZ 32

	[As(Tot)] mg.L^{-1}	[As(III)] mg.L^{-1}	[As(V)] mg.L^{-1}	[Fe(Tot)] mg.L^{-1}	[Mn(Tot)] mg.L^{-1}
PZ 32	17,3	4,4	12,9	59	2,5

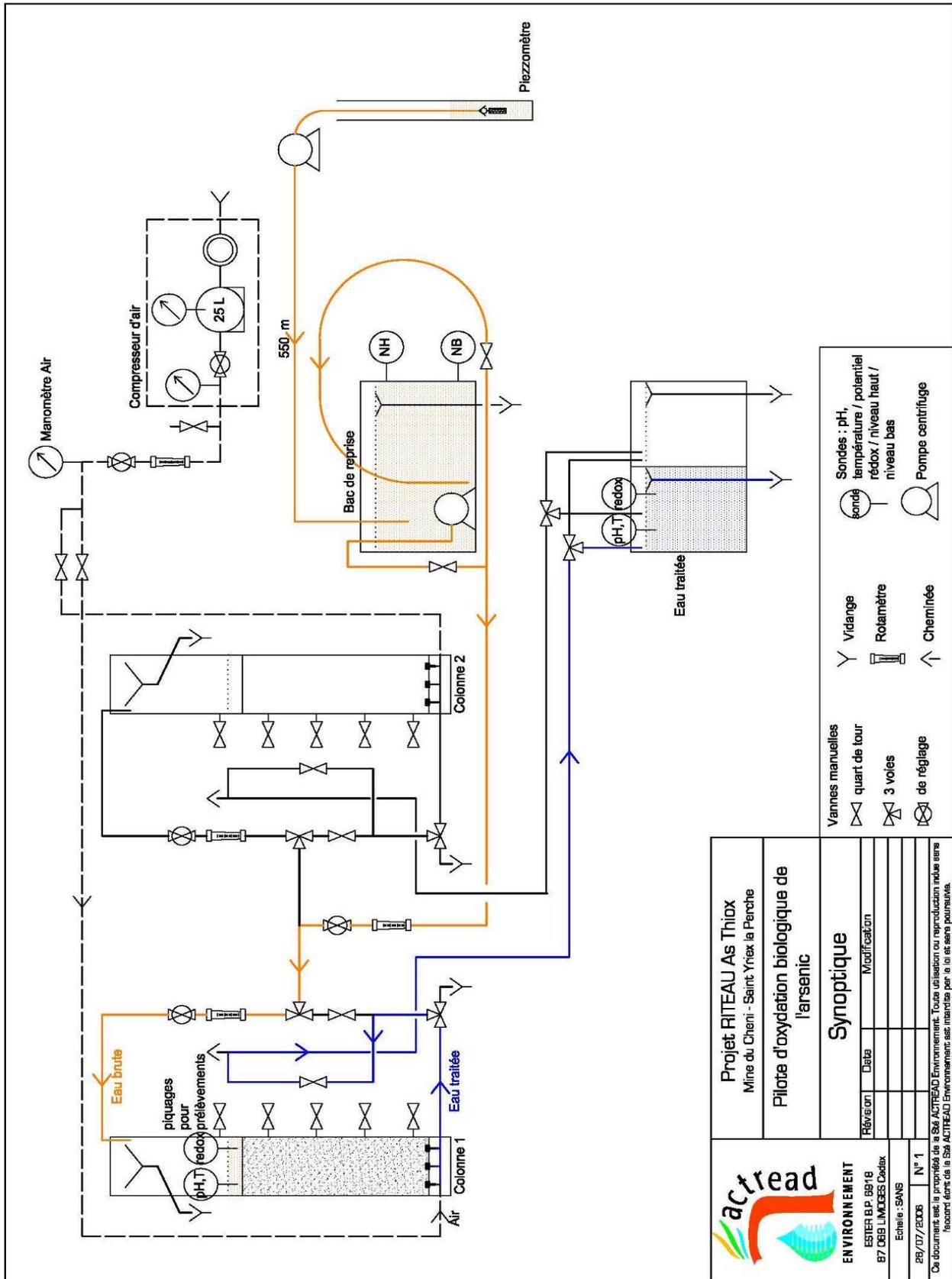


Figure 15 : Synoptique du Pilote ACTREAD

PARTIE C :
RESULTATS EXPERIMENTAUX

Chapitre C₁ :

Optimisation de l'analyse d'As(Tot) et d'As(III)

Dans le présent chapitre, une optimisation de deux techniques de dosage sera présentée.

La première partie sera consacrée à l'optimisation d'une technique de dosage de l'arsenic total inorganique par Spectrométrie d'Absorption Atomique Four (GF-AAS).

Dans la seconde partie, une optimisation de la technique de dosage de l'As(III) par Spectrométrie d'Absorption Atomique avec Génération d'Hydrures en mode continu sera décrite (HG-AAS).

Une troisième partie présentera un protocole de conservation de As(III) et As(V) dans les eaux souterraines.

I - ANALYSE D'As(Tot) PAR GF-AAS

La Spectrométrie d'Absorption Atomique Four (GF-AAS) offre une limite de détection adaptée au dosage de l'arsenic dans les eaux, de l'ordre du $\mu\text{g.L}^{-1}$. Cependant, pour atteindre cette limite de détection, la plupart des techniques de dosage de l'arsenic par GF-AAS utilisent une étape de pré-concentration ou de séparation des différentes espèces arséniées, cela augmentant la complexité et la durée de l'analyse (Burguera et Burguera, 1997; Hung *et al.*, 2004; Shemirani *et al.*, 2005).

L'optimisation de cette technique consiste en une mise au point des conditions d'analyse de l'arsenic total par GF-AAS avec l'utilisation d'une lampe à cathode creuse boostée et d'un programme thermique adapté. Ce programme thermique a été réalisé avec l'aide d'un logiciel spécialement développé pour cet appareillage, ATOM[®].

Les performances analytiques obtenues après optimisation de la technique ont été évaluées. La validité de cette méthode de dosage de l'arsenic a été vérifiée par une série de tests menés sur un échantillon de référence secondaire ainsi que sur une eau synthétique et des échantillons d'eau naturelle.

Le matériel et les réactifs utilisés sont présentés dans la partie "Matériel et Méthodes" - chapitre III.

I.1. Principe de l'analyse de l'arsenic par GF-AAS

Il s'agit d'une méthode de dosage fondée sur la mesure de l'absorbance de radiations photoniques spécifique, par des atomes en phase gazeuse. Le four constitue un élément chauffant, où se forme un nuage atomique de l'élément à doser. Un système de circulation d'eau permet son refroidissement. Une lampe à cathode creuse, spécifique de l'élément à doser, émet un rayonnement qui traverse le four. En sortie du four, un monochromateur permet de sélectionner la longueur d'onde spécifique de l'élément à doser. La mesure est réalisée grâce à un photo-multiplicateur qui transforme un photon en un courant électrique (tube contenant un matériau photo-sensible). L'électron éjecté sera réceptionné par un système de dynodes.

A chaque contact, il y a formation de plusieurs électrons dont le nombre sera proportionnel au nombre de photons et le courant sera mesuré entre l'anode et la cathode.

La qualité de l'analyse va dépendre du programme mis en place qui comporte cinq étapes principales :

- le séchage de l'échantillon par évaporation progressive du solvant, en évitant toute ébullition pour ne pas avoir de projections dans ou hors du tube. Un balayage à l'argon permet de protéger le carbone du four de l'oxydation par l'oxygène atmosphérique
- le prétraitement thermique ou minéralisation permettant l'élimination des principaux constituants de la matrice notamment des substances organiques. Il s'agit d'éliminer le maximum de la matrice sans perte de l'élément à doser par une montée en température par palier et coupure de l'argon
- l'atomisation par choc thermique et passage de l'état gazeux à l'état atomique
- la pyrolyse ou nettoyage du four par chauffage intense pour détruire toute matière présente, ce qui entraîne une usure du four qui doit être changé toutes les 200 analyses environ
- le refroidissement du four en vue d'une nouvelle analyse

L'effet Zeeman permet d'effectuer une correction du bruit de fond dû à la matrice résiduelle lors de l'étape d'atomisation : il consiste en la décomposition de la raie spectrale d'absorption de l'élément dosé, en multiplet, par application d'un champ magnétique à l'atomisateur.

L'utilisation d'un modificateur chimique permet de diminuer les interférences chimiques et de stabiliser l'analyte durant l'atomisation. De plus, l'utilisation d'une lampe à cathode creuse à haute intensité (ou boostée), permet d'abaisser la limite de détection.

I.2. Optimisation des conditions opératoires de l'analyse

I.2.1. Conditions spectroscopiques

Afin d'améliorer les conditions spectroscopiques lors du dosage de l'arsenic par GF-AAS, une lampe à cathode creuse en arsenic haute intensité, l'UltraAA-Lamp[®] est utilisée.

La comparaison entre les spectres d'absorption obtenus lors du dosage par GF-AAS, d'une solution contenant 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(V), avec une lampe à cathode creuse en arsenic classique et avec l'UltraAA-Lamp[®] est représentée sur la Figure 16.

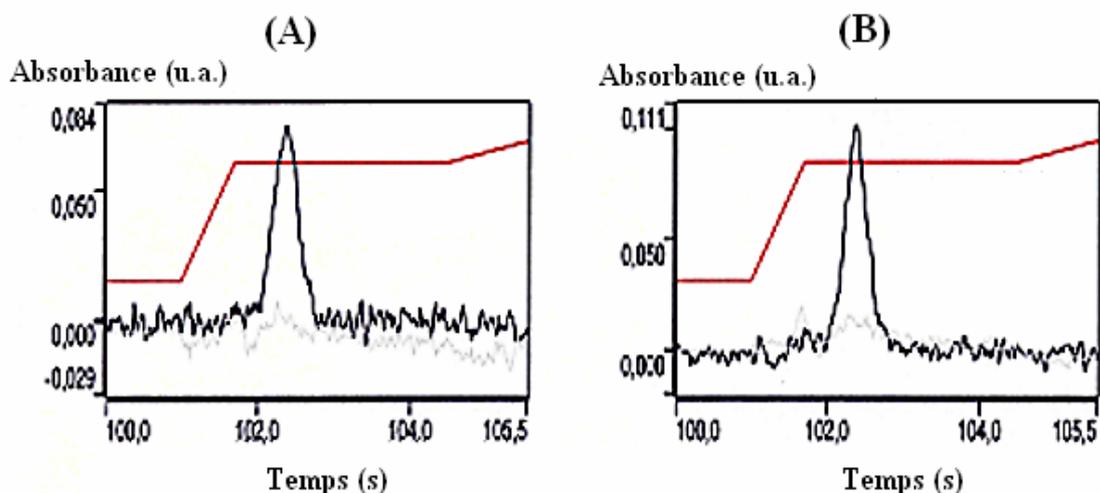


Figure 16 : Spectres d'absorption atomique obtenus par GF-AAS, pour un échantillon contenant $5 \mu\text{g}(\text{As}).\text{L}^{-1}$. Analyse réalisée avec une lampe à cathode creuse classique (A), avec une lampe à cathode creuse haute intensité (UltraAA-Lamp[®]) (B)

Comme le montre la Figure 16, l'utilisation d'une lampe à cathode creuse en arsenic haute intensité améliore la sensibilité de la mesure analytique. En effet, par rapport à une lampe à cathode creuse classique, la sensibilité du signal est augmentée de près de 40% : le signal en hauteur de pic mesurée est égal à 0,111 unité d'absorbance en utilisant l'UltraAA-Lamp[®], contre 0,084 unité d'absorbance pour une analyse réalisée avec une lampe à cathode creuse classique.

Selon l'étude de Bezur (1998), lors du dosage de l'arsenic, l'utilisation d'une lampe à cathode creuse boostée par rapport à une lampe à cathode creuse classique permet d'augmenter de 30% la valeur de la pente de la droite d'étalonnage.

En outre, l'utilisation de l'UltraAA-Lamp permet d'abaisser la valeur du bruit de fond observé lors de l'analyse. Ainsi, le rapport entre l'aire mesurée et le bruit de fond est abaissé de 2,5 fois par rapport à une analyse réalisée avec une lampe à cathode creuse classique.

L'intensité appliquée aux bornes de la lampe, la longueur d'onde et la raie caractéristique utilisée sont également optimisées : les valeurs obtenues sont de 10 mA pour l'intensité, 193,7 nm pour la longueur d'onde et 0,2 nm pour l'épaisseur de la fente. Pour une épaisseur de fente de 0,5 nm, valeur usuellement recommandée dans la littérature pour le dosage de l'arsenic par GF-AAS (Weltz et Sperling, 1999; Latva *et al.*, 2000), le signal obtenu est trop faible pour les concentrations en arsenic inférieures à $2 \mu\text{g}.\text{L}^{-1}$.

L'optimisation du bruit de fond est finalisée par l'ajout d'un stabilisant thermique dans l'analyte. Trois stabilisants thermiques sont testés : KI, NaOH, HNO₃, pour des concentrations en volume de 0,1 à 3%.

Les résultats obtenus avec l'addition de NaOH n'ont pas permis d'améliorer le bruit de fond du signal, alors que l'ajout de KI et HNO₃ ont permis de l'abaisser. Néanmoins, l'utilisation de KI ne s'est pas avérée judicieuse car une couleur brune est apparue sur le capillaire, coloration liée à la décomposition de l'iodure de potassium. Les conditions optimales correspondent à une concentration d'HNO₃ de 1% en volume.

I.2.2. Programme thermique

Les conditions d'analyse sont optimisées de sorte que l'As(III) et l'As(V) soient atomisés, ensemble, à la même température. En effet, l'utilisation d'un seul et unique programme thermique permettra l'utilisation d'une seule droite d'étalonnage valable aussi bien pour la quantification d'As(III) et d'As(V); les deux espèces arséniées les plus abondamment rencontrées dans les eaux souterraines.

Le but de cette optimisation du programme thermique a consisté, dans un premier temps, à déterminer les durées et températures des étapes de dissociation et d'atomisation, puis, dans un deuxième temps, à valider le modificateur chimique ainsi que le stabilisateur thermique utilisé. Le modificateur chimique est un additif indispensable car il permet de réduire les interférences chimiques dues aux effets de matrice et augmente ainsi la sensibilité de l'analyse. Le stabilisateur chimique permet de stabiliser le signal durant l'étape d'atomisation et d'éviter une perte de l'analyte généré au cours de cette étape.

Les optimisations sont réalisées en utilisant le logiciel ATOM[®] présenté précédemment (Cf "Matériel et Méthodes" - chapitre III). Les volumes injectés sont de 21 µL : 16 µL pour l'échantillon et 5 µL de modificateur chimique. Les modificateurs chimiques testés sont Ni, Pd, et un mélange Pd-Mg. Ce sont les modificateurs chimiques les plus couramment utilisés en GF-AAS pour le dosage de l'arsenic (Weltz et Sperling, 1999; Lima *et al.*, 2003). Les températures d'atomisation et de dissociation testées avec le logiciel ont été choisies à partir des résultats de la littérature (Weltz et Sperling, 1999; Latva *et al.*, 2000; Lima *et al.*, 2003).

L'étude est réalisée en effectuant dix séries, comportant chacune douze tests. Les résultats sont présentés dans le Tableau 20.

Tableau 20 : Résultats obtenus avec le logiciel ATOM[®] lors de l'optimisation du programme thermique pour la détermination de l'arsenic par GF-AAS

Modificateur chimique	T(°C) de dissociation programmée (pas : 300°C)	T(°C) d'atomisation programmée (pas : 250°C)	Surface 3D	Contour de la surface 3D par rapport à l'axe	T (°C) de dissociation obtenue	T(°C) d'atomisation obtenue
Ni	1000	2000	parabole	oblique	-	-
		4000	ellipse	oblique	1130	2330
Pd	1200	2200	parabole	oblique	-	-
		2440	ellipse	oblique	1250	2330
	1600	2000	ellipse	oblique	1430	2200
		2400	ellipse	oblique	1480	2250
Pd-Mg	1200	2000	ellipse	oblique	1135	2230
		2400	ellipse	parallèle	1178	2395
	1600	2000	parabole	oblique	-	-
		2400	parabole	oblique	-	-

Les critères de validation du logiciel ATOM[®] ont permis, à travers ces dix séries, de valider un couple de température (dissociation et atomisation), pour un modificateur donné : les températures de dissociation et d'atomisation sont respectivement de 1178°C et de 2395°C. Le modificateur chimique retenu est un modificateur à base de palladium et de magnésium. La feuille de travail résultant de ces séries et obtenue par le logiciel ATOM[®] est présentée en Annexe 7.

Le ratio entre les quantités de palladium et de magnésium injectées est également optimisé. Les meilleurs résultats sont obtenus pour un ratio Pd/Mg de 1/5 en masse, avec une concentration en palladium et en magnésium respectivement de 2 et 10 g.L⁻¹.

Le programme électrothermique est ensuite finalisé. Deux étapes de séchages à 140°C et 180°C ainsi qu'une étape de nettoyage du tube à 2600°C, en fin de programme, sont ajoutées. Les rampes de température ainsi que la durée de chaque étape dans le programme électrothermique sont optimisées. Ce programme électrothermique est présenté dans le Tableau 21.

Tableau 21 : Programme électrothermique utilisé pour le dosage de l'arsenic par GF-AAS

Etape	Température (°C)	Rampe (s)	Durée (s)	Débit d'argon (L.min ⁻¹)
Séchage 1	140	5,0	30,0	3,0
Séchage 2	180	5,0	35,0	30,0
Dissociation 1	1178	10,0	20,0	3,0
Dissociation 2	1178	1,0	0,0	0,0
Atomisation	2395	0,8	2,7	0,0
Nettoyage	2600	1,0	1,0	3,0

I.3. Performances analytiques

La sensibilité, la répétabilité et la gamme de linéarité de la technique mise au point sont évaluées. Cette technique est ensuite validée par différents tests sur une eau synthétique, des échantillons réels ainsi qu'avec un matériau de référence secondaire.

I.3.1. Etalonnage

Afin d'étudier le comportement d'As(III) et d'As(V) durant le dosage de l'arsenic par la technique optimisée, deux droites d'étalonnage sont obtenues en utilisant dans le premier cas, une solution à 20 µg.L⁻¹ d'As(III) et dans le deuxième cas une solution à 20 µg.L⁻¹ d'As(V). Les équations (41,42) des deux droites obtenues sont :

$$\text{- As (III) : Abs} = 0,00553 (\pm 0,00007) * [\text{As}] + 0,00043 (\pm 0,00009) \quad (41)$$

$$\text{- As(V) : Abs} = 0,00593 (\pm 0,00012) * [\text{As}] - 0,00001 (\pm 0,00007) \quad (42)$$

Dans le but de vérifier que les espèces As(III) et As(V) sont atomisées à la même température dans le programme thermique établi précédemment, la concentration en As(Tot) dans des solutions d'As(III), d'As(V) et de mélanges d'As(III) et d'As(V) est déterminée en utilisant les deux droites d'étalonnages précédemment obtenues.

Les résultats de ces expériences sont présentés dans le Tableau 22.

Tableau 22 : Comparaison des résultats obtenus pour le dosage de l'As inorganique

Concentration en As ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Espèces arséniées présentes en solution	Droite d'étalonnage utilisée	Pourcentage de recouvrement (%)	Répétabilité (%)
1,65	As(III)	As(III)	97	3,7
	As(III)	As(V)	105	4,1
	As(V)	As(V)	95	3,5
	As(V)	As(III)	96	4,2
	As(III) + As(V) ^a	As(V)	102	4,3
	As(III) + As(V) ^a	As(III)	104	4,6
4,70	As(III)	As(III)	102	1,9
	As(III)	As(V)	105	2,9
	As(V)	As(V)	95	2,0
	As(V)	As(III)	101	2,1
	As(III) + As(V) ^a	As(V)	97	1,7
	As(III) + As(V) ^a	As(III)	98	1,9
7,5	As(III)	As(III)	103	0,3
	As(III)	As(V)	98	0,8
	As(V)	As(V)	101	0,4
	As(V)	As(III)	102	0,6
	As(III) + As(V) ^a	As(V)	97	0,4
	As(III) + As(V) ^a	As(III)	101	0,3

^a : ratio As(III)/As(V) égal à 1 en masse

Les résultats obtenus montrent que quelle que soit la droite d'étalonnage, le pourcentage de recouvrement lié à la détermination de l'As(III) et de l'As(V) est compris entre 95 et 105%, alors que la répétabilité est inférieure à 5%.

Les résultats semblent donc confirmer que l'As(III) et l'As(V) sont atomisés ensemble et qu'une droite d'étalonnage commune peut être utilisée afin de doser l'arsenic par la technique développée.

Ainsi, dans la suite de l'étude, la droite d'étalonnage sélectionnée pour déterminer la concentration en arsenic inorganique dans les différentes solutions, sera celle obtenue en utilisant une solution d'As(V) (42).

I.3.2. Limite de détection

La limite de détection (LD) est évaluée selon les recommandations de l'IUPAC (Currie, 1999) (43) :

$$LD = (3,29 \cdot \sigma) / p \quad (43)$$

avec : σ : écart type du bruit de fond

p : pente de la droite d'étalonnage (signal = $p \times$ quantité injectée)

L'écart type sur la mesure en intégrant l'absorbance du bruit de fond, est évalué à partir des 20 spectres d'absorption de solutions de blanc.

La limite de détection ainsi obtenue est de $0,26 \mu\text{g.L}^{-1}$, pour un volume d'échantillon de $16 \mu\text{L}$, ce qui correspond à une concentration en arsenic détectable de $4,2 \text{ pg}$.

Cette limite de détection est plus faible que celles rencontrées généralement lors du dosage de l'arsenic sans étape de pré-concentration (Lima *et al.*, 2003; Shemirani *et al.*, 2005) et est même comparable avec celles obtenues par des techniques d'analyses couplées (Coelho *et al.*, 2002; Akter *et al.*, 2005).

I.3.3. Domaine de linéarité

Des solutions étalon à des concentrations croissantes sont injectées jusqu'à observer un changement de pente de la droite d'étalonnage ainsi déterminée. La gamme de linéarité s'étend donc de la limite de détection jusqu'à la dernière concentration injectée avant observation du phénomène de saturation.

La réponse est linéaire jusqu'à des teneurs en arsenic de $20 \mu\text{g.L}^{-1}$. Cette technique permet donc de déterminer des concentrations en arsenic sur toute la gamme de valeurs recommandées par l'OMS pour les eaux destinées à la consommation humaine.

I.3.4. Répétabilité

La répétabilité du signal, mesurée par l'intégration de l'absorbance, est déterminée par 5 analyses successives de la solution étalon d'arsenic à $5 \mu\text{g.L}^{-1}$ dans de l'eau ultra-pure.

Quelle que soit la droite d'étalonnage utilisée, la répétabilité des mesures conduit à un écart de $\pm 3,5\%$, ce qui confirme la bonne optimisation de la méthode développée.

I.3.5. Reproductibilité

La reproductibilité des mesures en intégration d'absorbance est également évaluée à court terme (jour après jour) et à long terme (mois après mois). A court terme, la reproductibilité des mesures est inférieure à 5% alors qu'à long terme, elle est inférieure à 8%.

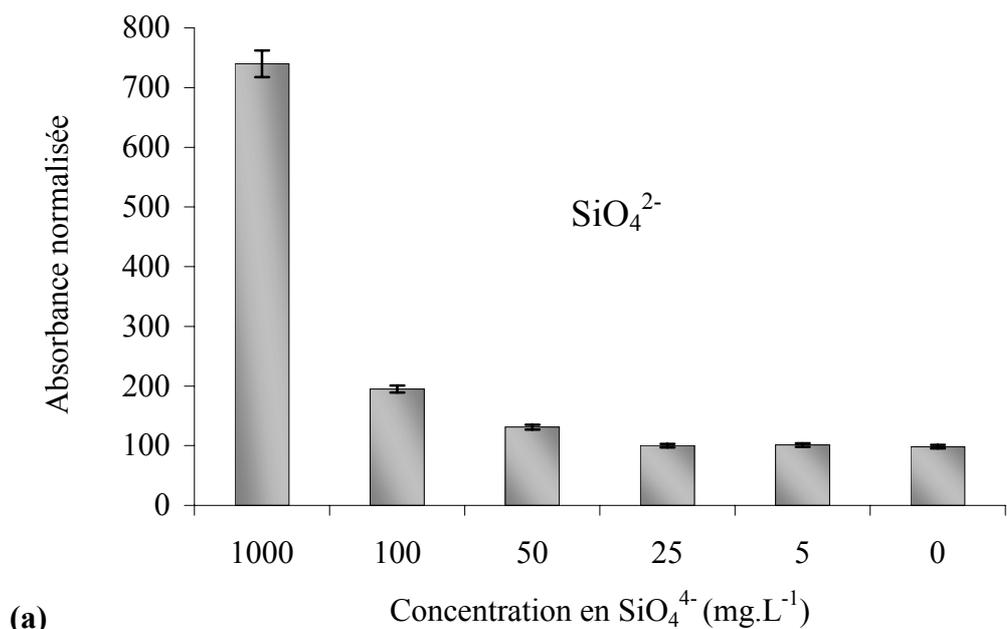
I.3.6. Interférences

Les interférences d'espèces cationiques (Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{2+}) et anioniques (Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} et SiO_4^{4-}) sur la détermination de l'arsenic sont testées avec une eau ultra-pure dopée en arsenic.

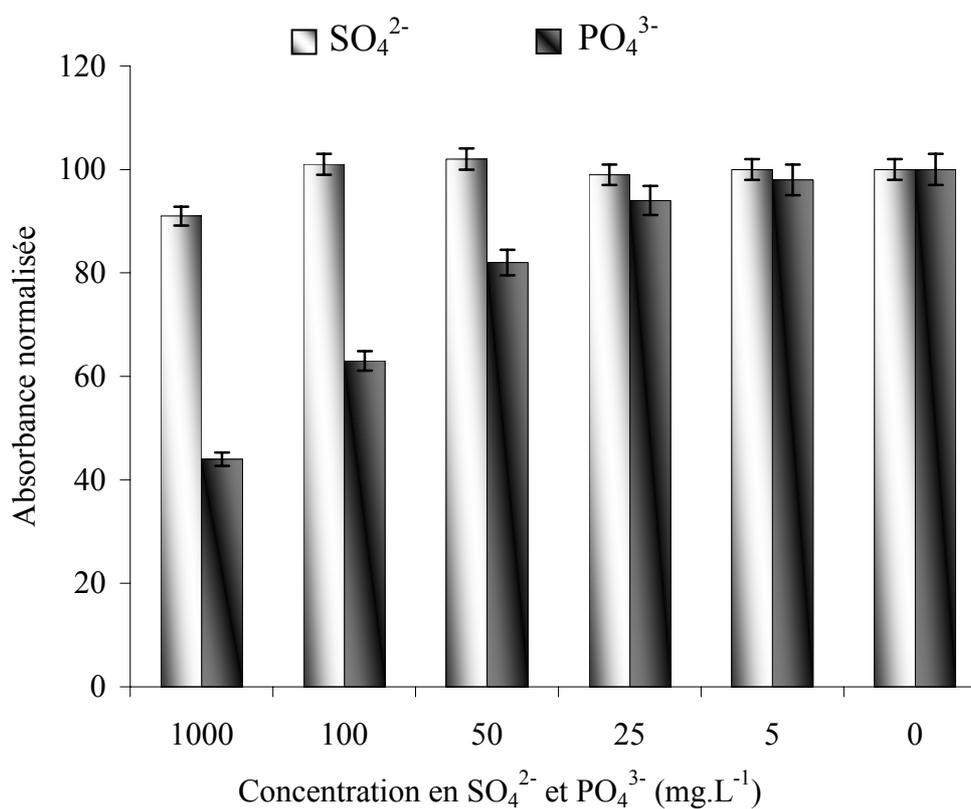
Les espèces cationiques, ainsi que les ions Cl^- , même pour des concentrations représentant un excès de 250 000 fois la concentration en arsenic, n'interfèrent pas dans la détermination de l'arsenic. Les réponses obtenues par rapport aux ions SO_4^{2-} , PO_4^{3-} et SiO_4^{4-} sont représentées sur la Figure 17.

Les interférences liées aux ions SO_4^{2-} (Figure 17 (b)) sont minimales puisque pour une concentration de 1000 mg.L^{-1} , représentant un excès de 250 000 fois la concentration en arsenic ($4 \text{ } \mu\text{g.L}^{-1}$) dans l'échantillon testé, la perturbation de la réponse analytique ne représente que 8%. A l'inverse, les interférences liées aux ions SiO_4^{4-} (Figure 17 (a)) et PO_4^{3-} (Figure 17 (b)) sont importantes. Ainsi, les ions SiO_4^{4-} et PO_4^{3-} peuvent être tolérés jusqu'à une concentration représentant un excès respectivement de 6 000 et 1 000 fois la concentration en arsenic.

Cette étude met donc en évidence l'interférence des ions phosphates sur la détermination de l'arsenic, ce qui s'explique par des propriétés chimiques proches entre les deux espèces.



(a)



(b)

Figure 17 : Interférences des ions SO_4^{4-} (a) et des ions SO_4^{2-} et PO_4^{3-} (b) sur la détermination d'As(Tot) pour une concentration en arsenic de $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ (une absorbance normalisée de 100 correspond à une réponse obtenue sans interférence)

I.4. Validation de la méthode

La fiabilité de la méthode développée est évaluée en réalisant la détermination de l'arsenic total dans un échantillon de référence secondaire, certifié par l'EMPA (St. Gallen, Suisse). Le résultat obtenu donne une concentration en As de $5,1 \pm 0,2 \mu\text{g.L}^{-1}$, une valeur en accord avec celle de l'échantillon dilué (As = $5,0 \pm 0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$).

La méthode développée est également appliquée au dosage de l'arsenic total dans des échantillons d'eaux synthétiques et des échantillons réels, enrichie ou non en As(V).

Les pourcentages de recouvrement entre les valeurs mesurées par la technique optimisée et les valeurs réelles sont présentés dans le Tableau 23.

Tableau 23 : Détermination de la concentration en arsenic total, par la méthode optimisée, dans l'eau synthétique et dans trois échantillons prélevés près de Limoges, enrichis ou non en As(V)

	Concentration en As ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Recouvrement (%)
Eau synthétique + 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$	$1,93 \pm 0,11$	93,3
Eau synthétique + 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$	$5,08 \pm 0,09$	100,2
Eau synthétique + 8 $\mu\text{g.L}^{-1}$	$7,94 \pm 0,07$	98,4
Echantillon 1	$4,69 \pm 0,11$	-
Echantillon 1 + 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$	$6,56 \pm 0,07$	98,1
Echantillon 1 + 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$	$9,85 \pm 0,03$	101,7
Echantillon 2	$2,36 \pm 0,12$	-
Echantillon 2 + 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$	$4,45 \pm 0,11$	102,1
Echantillon 2 + 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$	$7,35 \pm 0,05$	99,9
Echantillon 3	$0,65 \pm 0,06$	-
Echantillon 3 + 2 $\mu\text{g.L}^{-1}$	$2,43 \pm 0,07$	91,7
Echantillon 3 + 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$	$5,54 \pm 0,04$	98,1

Les pourcentages de recouvrement sont déterminés par comparaison entre la concentration en arsenic moyenne obtenue par la mesure de trois réplicats, et la concentration théorique en arsenic suite au dopage réalisé.

Dans tous les cas, les pourcentages de recouvrement obtenus sont supérieurs à 91%. Pour les échantillons contenant plus de 4,45 $\mu\text{g}(\text{As}).\text{L}^{-1}$ les pourcentages de recouvrement sont supérieurs à 98%. Les résultats obtenus confirment donc la validité de la méthode et son adaptation pour les échantillons réels, contenant des concentrations en arsenic inférieures à la "valeur guide" de 10 $\mu\text{g}.\text{L}^{-1}$ recommandée par l'OMS.

I.5. Conclusion sur la technique GF-AAS optimisée

La technique de dosage de l'arsenic par GF-AAS, mise au point dans ce travail, permet de doser l'arsenic pour des concentrations proches du $\mu\text{g}.\text{L}^{-1}$.

L'utilisation d'une UltrAA-Lamp[®], comme lampe à cathode creuse, d'un modificateur chimique à base de Pd-Mg et d'acide nitrique comme stabilisant thermique ont permis d'obtenir des performances proches de celles obtenues avec des techniques analytiques utilisées pour le dosage de l'arsenic, comme le montre le Tableau 24. Le programme thermique est optimisé par un logiciel développé spécifiquement pour le dosage d'éléments en spectrométrie d'absorption atomique four, ATOM[®] et la technique est validée par des tests sur des échantillons réels.

Cette technique de dosage est fiable, simple à mettre en œuvre (ne nécessitant aucune d'étape de pré-concentration ou de séparation) et permet de doser l'arsenic dans l'eau pour des concentrations inférieures à 10 $\mu\text{g}.\text{L}^{-1}$.

Tableau 24 : Comparaison des performances et caractéristiques obtenues entre la technique de dosage par GF-AAS optimisée lors de cette étude et deux autres méthodes couramment utilisées pour le dosage de l'arsenic inorganique

Paramètres analytiques	GF-AAS (cette étude)	FI-HG-AAS (Coelho <i>et al.</i> , 2002)	LC-ICP-MS (Akter <i>et al.</i> , 2005)
Espèces arséniées analysées	As total	As(III), As(V)	As(III), As(V), DMA, MMA
Domaine de linéarité	0,26 – 20 µg.L ⁻¹	10 – 100 µg.L ⁻¹	2 – 100 µg.L ⁻¹
Limite de détection	0,26 µg.L ⁻¹	0,30 µg.L ⁻¹ (As(III)) 0,50 µg.L ⁻¹ (As(V))	0,20 µg.L ⁻¹ (As(III), As(V)) 0,10 µg.L ⁻¹ (DMA, MMA)
Répétabilité	< 5%	< 3%	< 5%
Pourcentage de recouvrement	91-105%	96-108%	80-110%
Interférence	SO ₄ ²⁻ , PO ₄ ³⁻ , SiO ₄ ⁴⁻	Fe ³⁺ , Cu ²⁺ , Ni ²⁺ , Sb ²⁺ , Sn ⁴⁺ , Se ⁴⁺	Cl ⁻
Préparation de l'échantillon	aucune préparation excepté une filtration et une acidification (HCl)	aucune préparation excepté une acidification (HCl)	aucune préparation excepté une filtration
Niveau technique	faible	faible	élevé
Coût de fonctionnement	faible	faible	élevé
Rapidité de l'analyse	rapide (20 échantillons par heure)	très rapide (120 échantillons par heure)	lente (6 échantillons par heure)

II - ANALYSE DE L'As(III) PAR HG-AAS

La technique de dosage de l'As(III) par Spectrométrie d'Absorption Atomique couplée à la Génération d'Hydrures (HG-AAS) a été optimisée. Cette technique est l'une des techniques les plus utilisées en routine pour le dosage de l'arsenic car elle permet une analyse rapide et précise tout en étant assez peu coûteuse (notamment par rapport à l'ICP-MS ou l'ICP-AES). De plus, cette technique est connue et maîtrisée depuis plusieurs années pour le dosage de l'arsenic total et de l'As(III) dans l'eau pour des concentrations inférieures à 20 µg.L⁻¹ (Aggett et Aspell, 1976; Hung *et al.*, 2004).

Néanmoins, pour le dosage de l'As(III), lorsque la concentration est de l'ordre du µg.L⁻¹, une préconcentration de l'échantillon est généralement nécessaire (Francesconi et Kuehnelt, 2004; Hung *et al.*, 2004).

Le but de cette étude est de définir les paramètres instrumentaux et chimiques (acide, réducteur, traitement des échantillons...) pour la détermination spécifique de l'arsénite par la méthode HG-AAS et d'appliquer cette méthode à des échantillons d'eaux naturelles, sans étapes de préconcentration.

La description du matériel et des réactifs utilisés dans ces travaux sont répertoriés dans la partie "Matériel et Méthodes" - chapitre III.

II.1. Principe de l'analyse par HG-AAS

La volatilisation des composés par génération d'hydrures est une technique utilisée depuis 1969 (Holak, 1969). Les analytes sont rendus volatils par réaction chimique, généralement réalisée en milieu acide en présence d'un réducteur, le plus souvent le borohydrure de sodium (NaBH₄). Ce dernier se décompose très rapidement pour donner de l'hydrogène naissant, qui réduit l'analyte. La réaction générale d'hydruration d'un cation métallique Aⁿ⁺ peut s'écrire selon les réactions (44) et (45) (Dédina et Tsalev, 1995) :



La génération d'hydrures est évidemment applicable pour la détermination d'éléments qui forment des hydrures volatils, comme As, Se, Sb, Bi, Ge, Pb, Sn et Te (Pyell *et al.*, 1999).

Le principal avantage de la génération d'hydrures est de s'affranchir des effets de la matrice lors de la détection, et donc de minimiser les variations de sensibilité dues aux interférences. L'autre intérêt de cette méthode est sa facilité d'automatisation en ligne, ainsi, il s'agit d'une méthode très utilisée dans les laboratoires d'analyses. En outre, cette technique est rapide et son coût à l'achat mais aussi en fonctionnement est très compétitif par rapport aux autres techniques.

L'étape de génération d'hydrures est suivie d'une séparation des phases liquide et gazeuse, qui sont introduits dans un séparateur gaz-liquide. Les composés volatils sont entraînés vers le détecteur, par un flux de gaz inerte, généralement de l'argon, tandis que la phase liquide est éliminée soit par un trop plein, soit par aspiration (Dédina et Tsalev, 1995). Les hydrures sont alors facilement thermolysés, vers 730°C, libérant ainsi l'élément As à l'état atomique.

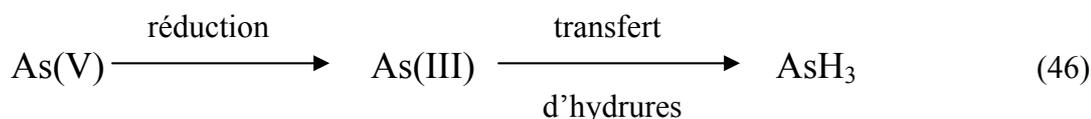
II.2. Analyse de l'arsenic total par HG-AAS

Dans le cas de l'arsenic, le composé formé par la génération d'hydrures est l'arsine ($\text{AsH}_3(\text{g})$) mais il convient tout de même de distinguer divers groupes de composés.

En effet, l'arsénobétaïne et l'arsénocholine, espèces chimiquement très stables, ne génèrent pas d'hydrures stables par action du borohydure de sodium; par conséquent ces deux espèces ne sont pas dosées par cette méthode.

Les formes méthylées d'arsenic organique (MMA et DMA) peuvent générer directement des hydrures par réaction avec le borohydure de sodium (Dédina et Tsalev, 1995; Burguera *et al.*, 1998). Néanmoins, compte tenu des faibles concentrations de ces espèces dans les eaux souterraines, les hydrures issus de ces espèces seront négligés.

Ainsi, l'As dosé par HG-AAS dans le cas des eaux souterraines, correspond à l'arsenic inorganique (As(III) et As(V)). Les hydrures formés par ces deux espèces ne donnent pas la même réponse lors de la génération d'hydrures, le signal le plus important est obtenu à partir de l'arsenic trivalent. Le dosage de la concentration en arsenic total nécessitera la transformation de l'As(V) en As(III) comme le résume la réaction suivante (46) :



Le rendement de la génération d'arsine obtenu par As(V) n'est que de 65%, selon Mester *et al.* (1997). Cette transformation est réalisée en milieu réducteur (excès de iodure de potassium) et acide (excès d'acide chlorhydrique). Les concentrations en arsenic étant de l'ordre du $\mu\text{g.L}^{-1}$, un large excès de KI et de HCl permet de déplacer l'équilibre dans le sens de la réduction d'As(V). Cette technique de dosage de l'arsenic total a fait l'objet d'une publication au sein du laboratoire (Lenoble *et al.*, 2004).

II.3. Optimisation de l'analyse d'As(III) par HG-AAS

II.3.1. Influence du pH

L'arsine est formé par réduction de l'As(III) en arsine, en milieu acide. L'As(V) est quant à lui préalablement réduit en As(III). Ainsi, pour analyser uniquement l'As(III), il est nécessaire de stopper l'étape de réduction de l'As(V) en As(III). Dans ce but, l'effet du pH sur la réduction de l'As(V) est étudié.

Des mesures d'absorbances en fonction du pH sont réalisées sur des échantillons d'eau ultra pure enrichie à $20 \mu\text{g.L}^{-1}$ en As(III) et As(V). Le pH est contrôlé par un ajout d'HCl 2M. Les résultats obtenus sont présentés sur la Figure 18.

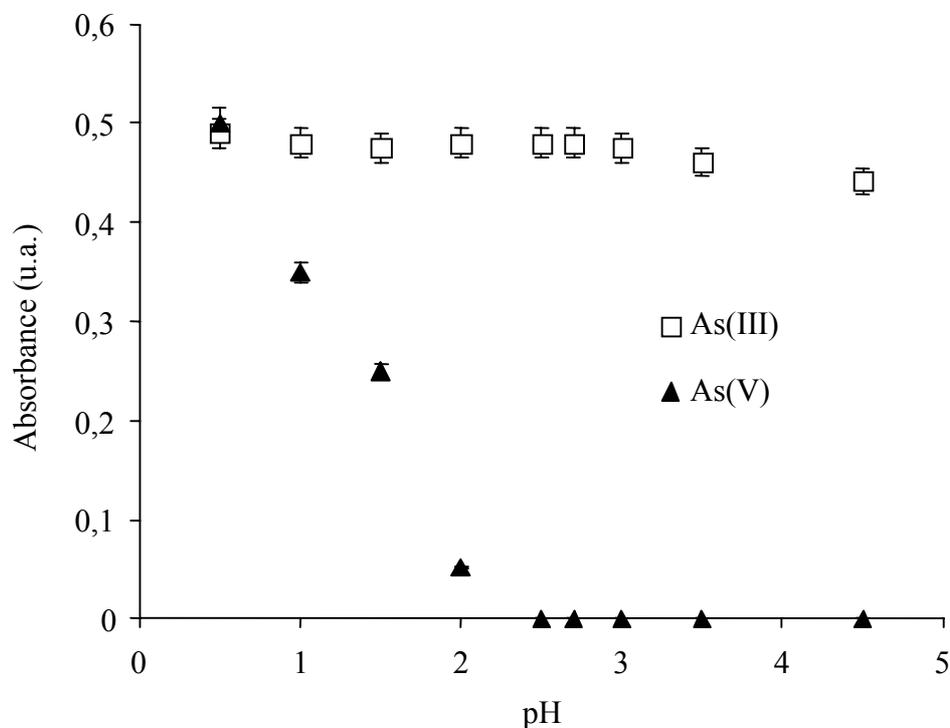


Figure 18 : Influence du pH sur le signal d'absorption de l'arsenic (III) et de l'arsenic (V)

Deux réponses différentes sont obtenues :

- l'absorbance associée à As(III) est peu influencée par le pH lorsqu'il est inférieur à 3,2
- l'absorbance associée à As(V) diminue lorsque le pH augmente; aucun signal n'étant décelé pour un pH supérieur à 2,5.

La génération d'arsine, pour une analyse spécifique de l'As(III), doit être effectuée à des pH supérieurs à 2,5 : le pH optimal se situant entre 2,5 et 3,2. Dans de telles conditions, la réduction des ions arsénates en arsénites est inhibée.

Ces résultats sont différents de ceux obtenus par Agett et Aspell (1976). Selon ces auteurs, une gamme de pH comprise en 3,5 et 5,5 permet de doser l'As(III) sans interférences de l'As(V). Cette différence peut s'expliquer par le fait que les auteurs ont opéré en mode discontinu et non en mode continu, comme lors de nos travaux.

II.3.2. Effet de la concentration en acide citrique sur la génération d'arsine

D'après la littérature, l'acide citrique est l'acide le plus utilisé pour empêcher la réduction de l'As(V) lors du procédé d'hydruration (Burguera et Burguera, 1998; Maity *et al.*, 2004). Ainsi, l'influence de l'acide citrique pour des concentrations comprises entre 0,1 et 0,5 mol.L⁻¹ est étudiée.

La Figure 19 représente les absorbances liées aux concentrations en As(III) et As(V) en fonction de la concentration en acide citrique. L'absorbance liée à l'As(III) augmente lorsque la concentration en acide citrique augmente, même si un optimum se dégage pour des concentrations en acide citrique supérieures à 0,3 mol.L⁻¹. En ce qui concerne, l'absorbance liée à l'As(V), celle-ci est nulle, pour des concentrations en acide citrique inférieures à 0,2 mol.L⁻¹ et augmente jusqu'à un signal de 0,1 unité absorbance lorsque la concentration en acide citrique est de 0,4-0,5 mol.L⁻¹.

Pour doser précisément et uniquement As(III), sans avoir d'interférences liées à la présence d'As(V), il est nécessaire de travailler dans un milieu acidifié à l'acide citrique à 0,2 mol.L⁻¹, correspondant à un pourcentage en acide citrique de 4% en masse. Cette concentration est respectivement deux et quatre fois plus importante que celles utilisées par Maity *et al.* (2004) et Burguera et Burguera (1998).

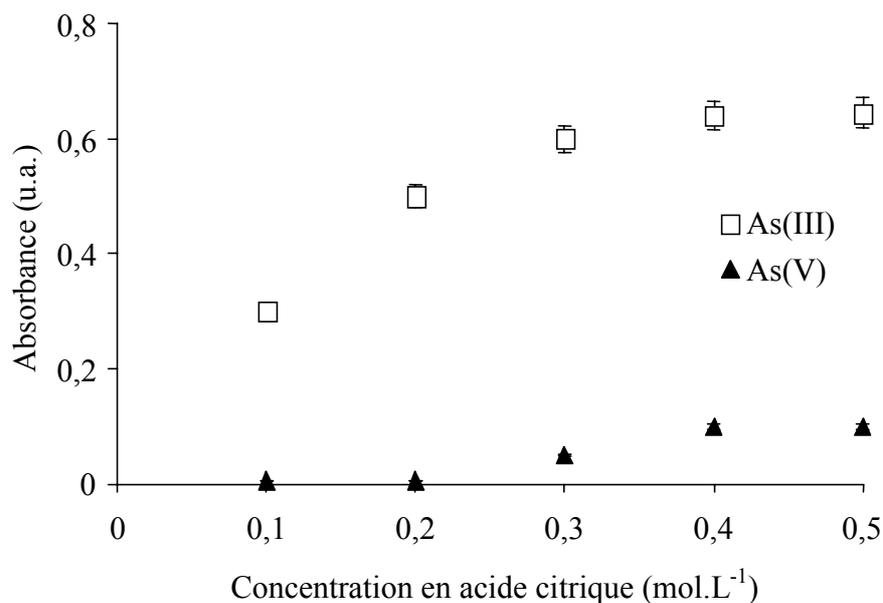


Figure 19 : Influence de la concentration en acide citrique sur l'absorbance liée à l'As(III) et l'As(V)

II.3.3. Effet de la concentration en NaBH₄

L'influence de la concentration en borohydrure de sodium sur la génération d'hydrures est également étudiée. Les concentrations en NaBH₄ testées, varient de 0,05 à 0,30 mol.L⁻¹ alors que la concentration en acide citrique est fixée à 0,20 mol.L⁻¹.

L'absorbance liée à la concentration en As(III) est similaire pour l'ensemble des concentrations en NaBH₄ testées. Pour des concentrations en réducteur inférieures à 0,10 mol.L⁻¹, il n'y a pas d'interférences liées à la concentration en As(V) (aucune réponse en absorbance), alors qu'une absorbance est mesurée pour une concentration en NaBH₄ supérieure à 0,15 mol.L⁻¹.

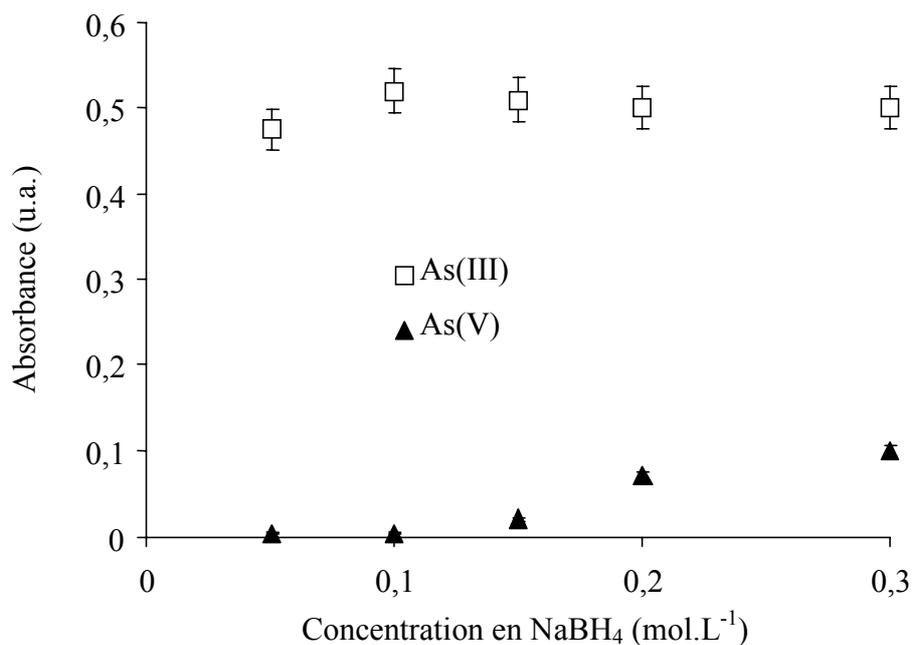


Figure 20 : Influence de la concentration en réducteur (NaBH₄) sur l'absorbance liée à As(III) et As(V)

La concentration en borohydrure de sodium choisie pour permettre de quantifier spécifiquement As(III) en présence d'As(V) est de 0,10 mol.L⁻¹. Afin d'éviter la décomposition des ions BH₄⁻, cette solution est préparée dans 0,2% (en masse) de NaOH.

Cette concentration en NaBH₄ choisie est très faible, en comparaison avec les concentrations utilisées dans la littérature : Maity *et al.* (2004) recommandent une concentration en NaBH₄ de 0,6% en masse. La faible valeur trouvée au cours de notre étude s'explique par le fait que le VGA, placé en amont de l'appareillage permet de travailler en mode continu, assurant ainsi une génération de réducteur en continu dans le séparateur gaz-liquide (Figure 7).

II.3.4. Paramètres instrumentaux

Les paramètres chimiques optimisés, il est nécessaire de définir les caractéristiques des différents paramètres instrumentaux. La longueur d'onde et la largeur de fente optimales sont respectivement de 193,76 nm et 0,5 nm. Une attention particulière est donnée à la cinétique, en ajustant les délais avant mesure. En effet, il est nécessaire d'attendre quelques dizaines de secondes pour que le mélange échantillon - réducteur - acide soit satisfaisant.

Néanmoins, ce délai ne doit pas être trop important pour éviter les risques d'interférences liées à la présence d'As(V). Ainsi, le délai optimisé est de 45 s : il permet une analyse précise de la concentration d'As(III), même en présence d'As(V).

Les débits de l'échantillon, de la solution de borohydrure de sodium et de l'acide citrique sont également optimisés, tout comme les débits des différents gaz (gaz vecteur (Argon) et gaz de la flamme (Acétylène et Air)). Ces différents paramètres instrumentaux sont présentés dans le Tableau 25.

Tableau 25 : Caractéristiques des paramètres instrumentaux utilisés pour le dosage de l'As(III), entre 1 et 20 µg.L⁻¹, par la méthode HG-AAS

Paramètres	Caractéristiques
Longueur d'onde	193,7 nm
Largueur de fente	0,5 nm
Intensité	10 mA
Temps de mesure	3 s
Délais avant la mesure	45 s
Mesure de l'absorbance	intégration
Vitesse pompe péristaltique	100 tour.min ⁻¹
Longueur des tubes (pompe)	20 cm
Débit de l'échantillon	6,5 mL.min ⁻¹
Débit du réducteur (NaBH ₄)	1,0 mL.min ⁻¹
Débit de l'acide (acide citrique)	1,0 mL.min ⁻¹
Débit d'argon (gaz vecteur)	11,5 mL.min ⁻¹
Débit d'acétylène (combustible)	1,5 mL.min ⁻¹
Débit d'air (comburant)	3,5 mL.min ⁻¹

II.4. Performances analytiques

Comme pour le développement de la technique de dosage de l'arsenic total par GF-AAS, les performances analytiques de la méthode développée dans le cadre du dosage de l'As(III) sont évaluées. Cette technique a également été validée par différents tests sur une eau synthétique, des échantillons réels et sur un matériau de référence secondaire.

II.4.1. Etalonnage

Les résultats obtenus après optimisation des paramètres chimiques et instrumentaux de la méthode ont permis d'obtenir une droite d'étalonnage dont l'équation est la suivante (47) :

$$\text{Abs} = 0,00723 (\pm 0,00009) [\text{As(III)}] + 0,0007 (\pm 0,00006) \quad (47)$$

II.4.2. Limite de détection

La limite de détection, calculée selon la relation (43), obtenue pour la détermination de l'As(III) est de 0,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

II.4.3. Domaine de linéarité

La réponse est linéaire jusqu'à des teneurs en arsenic de 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$. Cette technique permet donc, comme la technique de dosage de l'arsenic total par GF-AAS, de déterminer des concentrations en arsenic sur toute la gamme de valeurs recommandées par l'OMS pour les eaux destinées à la consommation humaine.

II.4.4. Répétabilité

La répétabilité du signal, déterminée à partir de 5 analyses de la solution étalon d'arsenic à 5 $\mu\text{g.L}^{-1}$ dans de l'eau ultra-pure, conduit à un écart inférieur à 3%. Ce résultat confirme donc la bonne optimisation de la méthode développée.

II.4.5. Reproductibilité

La reproductibilité des mesures en intégration d'absorbance est également évaluée. A court terme (jour après jour), la reproductibilité des mesures est inférieure à 3% alors qu'à long terme (mois après mois), elle est inférieure à 5%.

II.4.6. Interférences

L'effet d'espèces cationiques (Na^+ , K^+ , NH_4^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+}) et anioniques (Cl^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} et SiO_4^{4-}) sur le dosage d'As(III) est testé.

Différents ratios sont testés avec une eau ultra pure enrichie à $4 \mu\text{g.L}^{-1}$ en As(III). Les résultats obtenus montrent que ces ions, même pour des concentrations de $0,1 \text{ g.L}^{-1}$, soit un excès de 25 000 fois la concentration en As(III), ne perturbent pas la mesure.

Les interférences dues à la présence de Se(IV), Sn(II), Sb(III), Fe(II) et Fe(III); composés susceptibles d'interférer lors du dosage d'un élément par la génération d'hydrures (Welz et Sperling, 1999) sont également testées. Les résultats obtenus montrent que si Sn(II) peut être toléré à une concentration représentant un excès de 500 fois la concentration en As ($4 \mu\text{g.L}^{-1}$), Se(IV), Fe(II) et Fe(III) ne peuvent pas être tolérés à plus de 250 fois la concentration en As(III) alors que Sb(II) ne peut pas l'être pour un excès supérieur à 100 fois la concentration en As(III).

Les interférences liées à l'EDTA sont également étudiées. En effet, ce réactif est souvent utilisé pour la conservation des espèces arsénées dans les effluents miniers (Bednar *et al.*, 2002; McCleskey *et al.*, 2004). Aucune influence pour une concentration représentant un excès de 500 000 fois la concentration en As(III) n'est observée.

Les interférences des composés arséniés organiques (MMA et DMA) susceptibles d'être entraînés lors de l'hydruration sont testées. Le DMA peut être toléré à un excès ne représentant pas plus de 25% la concentration en As(III), alors que le MMA peut être toléré jusqu'à une concentration égale à celle d'As(III).

II.5. Validation de la méthode

Comme pour le développement de la technique de dosage de l'arsenic total par GF-AAS, la fiabilité de la méthode développée est évaluée en réalisant la détermination de l'As(III) dans un échantillon de référence secondaire ainsi que sur des échantillons d'eaux synthétiques et réelles.

Concernant, l'échantillon de référence secondaire, certifié par l'EMPA, le résultat obtenu montre une concentration en As de $5,1 \pm 0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$; valeur en accord avec celle de l'échantillon dilué ($\text{As} = 5,0 \pm 0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$).

La méthode développée est également appliquée au dosage de l'As(III) dans des échantillons d'eaux synthétiques enrichie en As(III) et As(V) afin de vérifier l'influence des ions arséniate sur la mesure.

Des tests sont réalisés sur une eau synthétique enrichie simultanément avec des concentrations en As(III) de 2 à 20 µg.L⁻¹ et des concentrations en As(V) de 10 à 200 µg.L⁻¹.

Les pourcentages de recouvrement entre les valeurs mesurées par la technique optimisée et les valeurs réelles sont compris entre 95% et 106% (Tableau 26). Les meilleurs résultats sont obtenus pour les plus fortes concentrations en As(III). La présence d'As(V) en concentration 10 fois plus élevée que l'As(III) ne perturbe pas la quantification d'As(III) : la méthode optimisée permet donc de doser As(III) sans qu'As(V) n'interfère. Les concentrations mesurées en arsenic total (dosées par la technique GF-AAS développée précédemment) sont très proches des valeurs réelles puisque les recouvrements sont compris entre 97,5% et 100,5%. La concentration en As(V) déduite ($[As(V)] = [As(\text{total})] - [As(III)]$) est très proche de la concentration en As(V) introduite (10 à 200 µg.L⁻¹).

Tableau 26 : Concentration en arsenic total, déterminée par GF-AAS, et en As(III), déterminée par HG-AAS, dans une eau synthétique enrichie en As(III) et As(V)

Enrichissement				Résultats			
As(III)	As(V)	As(Tot)		As(III)		As(V)=As(Tot]-As(III)	
Conc. (µg.L ⁻¹)	Conc. (µg.L ⁻¹)	Conc. (µg.L ⁻¹)	Rec. (%)	Conc. (µg.L ⁻¹)	Rec. (%)	Conc. (µg.L ⁻¹)	Rec. (%)
2,0	10,0	11,7 ± 0,1	97,5	1,9 ± 0,1	95,0	9,9 ± 0,2	99,1
5,0	30,0	34,3 ± 0,5	98,5	5,3 ± 0,2	106,0	29,1 ± 0,4	96,8
10,0	50,0	59,0 ± 0,3	98,2	10,2 ± 0,2	102,0	48,7 ± 0,5	97,5
20,0	200,0	221,0 ± 0,7	100,5	20,3 ± 0,4	101,5	200,7 ± 0,9	100,4

La méthode est appliquée pour le dosage de l'As(III) dans plusieurs eaux prélevées autour de Limoges. Les compositions chimiques de ces eaux sont présentées en Annexe 1.

L'échantillon S1 est composé pour moitié d'As(III) et d'As(V). Ainsi, nous avons choisi d'enrichir cet échantillon successivement avec de l'As(III) puis de l'As(V). Les résultats obtenus après ces différents dopages sont présentés dans le Tableau 27.

Les taux de recouvrement pour As(III) et As(V) sont corrects. En effet, ils varient de 99,1 à 104,3% pour As(III) et de 98,0 à 101,2% pour As(V).

Tableau 27 : Concentration en arsenic total déterminée par GF-AAS et en As(III) déterminée par HG-AAS dans l'échantillon réel S1, prélevé près de Limoges, et enrichie successivement en As(III) et As(V)

	As(Tot)		As(III)		As(V)=As(Tot)-As(III)	
	Concm. ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Rec. (%)	Conc. ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Rec. (%)	Conc. ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Rec. (%)
S1	$4,7 \pm 0,1$		$2,3 \pm 0,1$		$2,4 \pm 0,1$	
S1 + 2,0 $\mu\text{g (As(III)).L}^{-1}$	$6,8 \pm 0,1$	101,2	$4,4 \pm 0,1$	102,3	$2,4 \pm 0,1$	99,1
S1 + 5,0 $\mu\text{g (As(III)).L}^{-1}$	$9,5 \pm 0,2$	98,0	$7,3 \pm 0,1$	99,4	$2,2 \pm 0,1$	93,1
S1 + 10,0 $\mu\text{g (As(III)).L}^{-1}$	$14,8 \pm 0,2$	100,6	$12,2 \pm 0,1$	99,1	$2,6 \pm 0,1$	107,5
S1 + 2,0 $\mu\text{g (As(V)).L}^{-1}$	$6,6 \pm 0,1$	99,2	$2,4 \pm 0,1$	103,4	$4,2 \pm 0,1$	97,0
S1 + 5,0 $\mu\text{g (As(V)).L}^{-1}$	$9,7 \pm 0,1$	99,7	$2,4 \pm 0,1$	103,4	$7,4 \pm 0,1$	98,6
S1 + 10,0 $\mu\text{g (As(V)).L}^{-1}$	$14,8 \pm 0,2$	100,8	$2,4 \pm 0,1$	104,3	$12,4 \pm 0,1$	100,2

Ainsi, la technique de dosage de l'As(III) par la méthode HG-AAS développée est validée et ce, aussi bien dans le cas d'échantillons d'eaux synthétiques que pour des échantillons d'eaux réelles.

Cette technique a été comparée à la technique de dosage par HPLC-HG-AFS, au laboratoire L.C.A.B.I.E. de Pau. Les résultats obtenus pour trente échantillons prélevés dans les bioréacteurs du pilote ont conduit à des résultats similaires (écart type inférieur à 3%).

II.6. Conclusion sur la technique HG-AAS optimisée

La technique de dosage de l'arsenic par HG-AAS, mise au point dans ce travail, permet de doser l'As(III) dans un domaine de concentrations de 0,2 à 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

L'utilisation de cette méthode permet la détermination précise (erreur relative < 3%) et très sensible (limite de détection de 0,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$) de la concentration en As(III) dans les eaux.

L'utilisation de l'acide citrique (0,2 mol.L^{-1}), associée à une concentration précise en borohydrure de sodium (0,1 mol.L^{-1} dissous dans une solution à 0,2% en masse de NaOH), permet l'analyse par HG-AAS de l'As(III) sans que l'As(V) n'interfère.

Différents tests sur une eau synthétique enrichie en As(III) et As(V), mais aussi sur des échantillons réels, ont permis de mettre en évidence l'absence d'interférence liée à la présence d'arséniates (concentration en As(V) inférieure à 200 $\mu\text{g.L}^{-1}$) et aux ions majeurs présents dans les eaux naturelles.

Cette technique de dosage de l'As(III) et de l'As(V) par HG-AAS dans les eaux est facilement transposable en routine dans de nombreux laboratoires, notamment de petits laboratoires, au regard de son faible coût et de sa facilité de mise en oeuvre.

III - CONSERVATION DES ECHANTILLONS

III.1. Problématique

Généralement, la concentration en arsenic total dans un échantillon est stable au cours du temps, excepté pour des eaux ayant de fortes concentrations en fer ou manganèse (effluents miniers acides par exemple). A l'inverse, la concentration en arsénites dans une eau évolue au cours du temps. En effet, l'activité bactérienne ainsi que des réactions de précipitation, d'adsorption conjuguées avec l'action de la température et de la lumière favorisent l'oxydation de l'As(III) en As(V); la réduction des arsénates en arsénites étant moins fréquente (Hall *et al.*, 1999; Daus *et al.*, 2000 et 2006; McCleskey *et al.*, 2004).

Il est donc nécessaire de s'assurer avant chaque mesure en laboratoire, que les concentrations en As(III) et As(V) dans l'échantillon à analyser sont identiques à celles contenues dans l'échantillon prélevé.

Le but de notre étude est donc d'établir un protocole de conservation des échantillons afin de s'assurer, lors du suivi pilote, que les concentrations en As(III) et As(V) analysées sont identiques à celles prélevées *in situ* dans les bioréacteurs et réservoirs.

III.2. Protocole de conservation des espèces arséniées

La technique de dosage de l'As(III) par HG-AAS étant une méthode de laboratoire, il est impératif de conserver les échantillons depuis le jour de prélèvement jusqu'au jour de l'analyse.

Les tests effectués dans cette étude sont réalisés sur trois échantillons d'eau réelle (S1) et dont la caractéristique chimique est présentée en Annexe 1.

Un échantillon est ainsi prélevé puis immédiatement filtré (0,45 µm), et conservé à 6°C dans des flacons en polyéthylène opaque.

Dans les deux autres échantillons prélevés, 1% d'HCl ou d'HNO₃ sont respectivement ajouté afin d'abaisser le pH à 2 et de prévenir toute réaction d'oxydation ou d'adsorption des formes particulières avec l'arsenic. L'abaissement du pH à 2 permet également d'empêcher d'éventuelles réactions d'oxydation ou de réduction des formes arséniées par une population bactérienne.

La Figure 21 présente l'évolution dans le temps des concentrations en As(III) dans les trois échantillons prélevés, ainsi que la concentration en arsenic total de l'échantillon non acidifié. Les concentrations en As(III) et en As(Tot) sont déterminées respectivement par HG-AAS et GF-AAS.

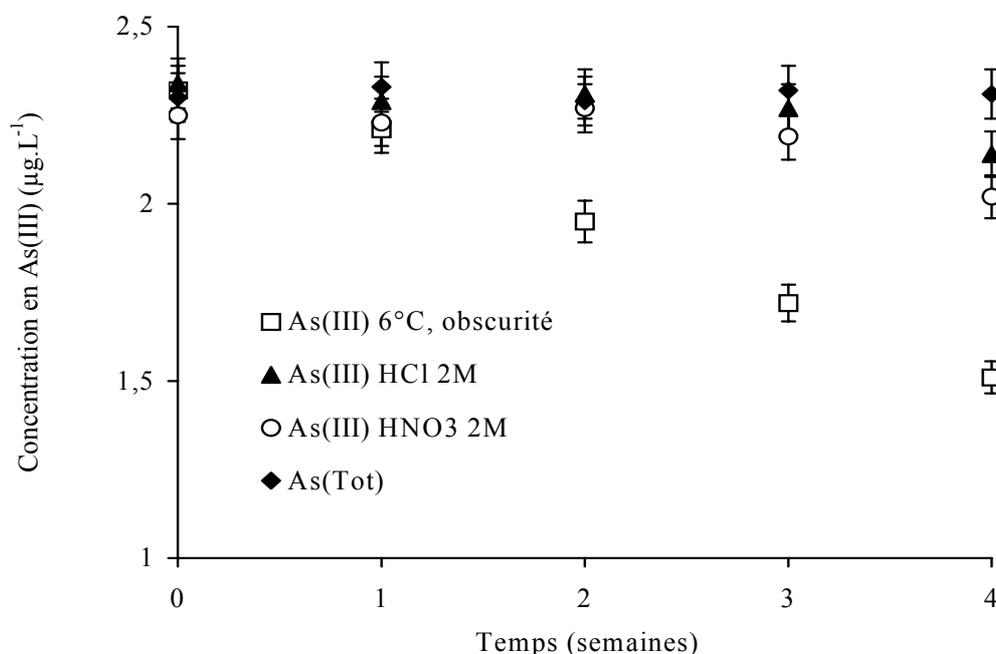


Figure 21 : Evolution au cours du temps de la concentration en As(III) et As(Tot) pour des échantillons acidifiés (HCl, HNO₃) ou non

La concentration en arsenic total ne change pas au cours du temps (Figure 21). En ce qui concerne l'évolution de la concentration en As(III) dans l'échantillon conservé à 6°C et n'ayant pas eu d'ajout d'acide fort, la concentration en As(III) diminue de 15% après une semaine et de 40% après 4 semaines. Pour les échantillons acidifiés avec HCl ou HNO₃, la concentration en As(III) est stable durant trois semaines. Après cette période, l'oxydation de As(III) en As(V) est significative, puisque entre 5 et 10% des arsénites sont oxydés en arsénates, en particulier pour le conditionnement avec HNO₃. L'acide chlorhydrique est donc choisi. Selon Hall *et al.* (1999), l'ajout d'HCl dans une solution d'eau, engendre une surestimation de 50% et 20% dans la détermination de As(III) et As(V). La quantité d'HCl ajoutée a donc été optimisée, pour une gamme de concentration comprise entre 0,5 et 5% en volume.

Les résultats obtenus ont montré qu'une concentration en HCl supérieure à 2% en volume, induit une augmentation de la concentration en As(III) mesurée de 25%, lorsque l'analyse est réalisée immédiatement après analyse. Un conditionnement à 1% en HCl (2M), engendre une surestimation de 5% pour une analyse immédiate, mais lorsque l'échantillon est analysé après deux jours, il n'y a plus de surestimation.

Le protocole de conservation des eaux souterraines, dans le but de déterminer les concentrations en As(III) et As(V) au cours du temps, comporte donc une filtration de l'eau à travers une membrane de 0,45 µm, une acidification de l'eau à 1% en volume de HCl (2M) et une conservation à 6°C dans un flacon opaque.

Ce protocole permet de maintenir les concentrations en As(III) et As(V) durant trois semaines. Cependant, afin d'éviter toute surestimation de la valeur en As(III), l'analyse doit être réalisée par HG-AAS plus de deux jours après le prélèvement.

Dans le cas de l'eau synthétique enrichie en As(III) ou As(V), des tests ont montré qu'une filtration des échantillons n'était pas nécessaire : la concentration en As(III) et As(V) étant similaires au bout de trois semaines dans les échantillons filtrés ou non.

Les deux techniques de détermination de l'arsenic développées au cours de ces travaux permettront, lors de l'étude de l'oxydation bactérienne de As(III) en bioréacteur par le consortium CAsO1, de déterminer précisément les concentrations en As(III) et As(V) dans les échantillons. Le protocole de conservation élaboré permettra de conserver les quantités initiales d'arsénites et d'arséniates durant trois semaines.

Chapitre C₂ :

Caractérisation du matériau support et des bioréacteurs

L'objectif du présent chapitre est de caractériser le matériau de garnissage des bioréacteurs servant de support au consortium bactérien CAsO1, ainsi que les conditions de fonctionnement des bioréacteurs d'oxydation biologique.

La cinétique d'oxydation d'As(III) dans une eau synthétique, la caractérisation chimique de la pouzzolane et la détermination de ses capacités d'adsorption vis-à-vis de l'arsenic seront exposées.

La détermination de la capacité de rétention de l'eau par le massif de garnissage ainsi que la distribution des temps de séjour et la détermination de la constante de transfert d'oxygène au sein des bioréacteurs seront également présentées.

I - SUIVI CINETIQUE DE L'OXYDATION D'AS(III) DANS L'EAU SYNTHETIQUE EN ABSENCE DE LA POPULATION CAsO1

L'objectif de cette étude est de suivre l'évolution de la concentration en As(III) dans une solution d'eau synthétique enrichie en As(III) à 100 µg.L⁻¹ dans des conditions semblables à celles rencontrées pour le suivi de l'oxydation bactérienne d'As(III) dans le pilote.

Ainsi, les conditions opératoires appliquées dans le cadre de la caractérisation de l'activité oxydante de la population CAsO1 pourront être définies de façon à ce que l'oxydation de l'As(III) en As(V) soit uniquement associée à l'oxydation bactérienne et non à une oxydation par l'oxygène de l'air par exemple.

En effet, la cinétique d'oxydation d'As(III) à l'air libre est très lente mais différents paramètres, comme la lumière et la température, peuvent l'accélérer (McCleskey *et al.*, 2004). Ainsi, l'influence de ces trois facteurs : la température, la lumière et le contact avec l'air, est suivie. Pour chacune de ces expériences, la solution d'eau synthétique est préparée suivant le protocole décrit dans la partie "Matériel et Méthodes" - paragraphe II, et enrichie à 100 µg.L⁻¹ d'As(III).

Les prélèvements sont effectués régulièrement, conditionnés puis analysés par GF-AAS pour le dosage de l'arsenic total et par HG-AAS pour le dosage des arsénites.

I.1. Influence de la température

D'après la littérature, une augmentation de la température facilite l'oxydation chimique d'As(III) en As(V) (Hall *et al.*, 1999; Daus *et al.*, 2006). L'influence de la température sur la cinétique d'oxydation d'As(III) est étudiée en se plaçant à 10, 17 et 25°C. Ces trois températures sont choisies car elles appartiennent à la gamme de températures étudiée lors de l'oxydation biologique d'As(III) par CAsO1 en bioréacteur (11 et 25 °C).

Comme l'illustre la Figure 22, la cinétique d'oxydation d'As(III) dans l'eau synthétique augmente avec la température. Cette cinétique d'oxydation n'est pas linéaire mais comporte deux phases distinctes : une 1^{ère} phase où la concentration en As(III) est constante, dite "phase de latence" durant laquelle aucune oxydation des arsénites n'est constatée, et une 2^{ème} phase où la teneur en As(III) diminue de façon linéaire en fonction du temps.

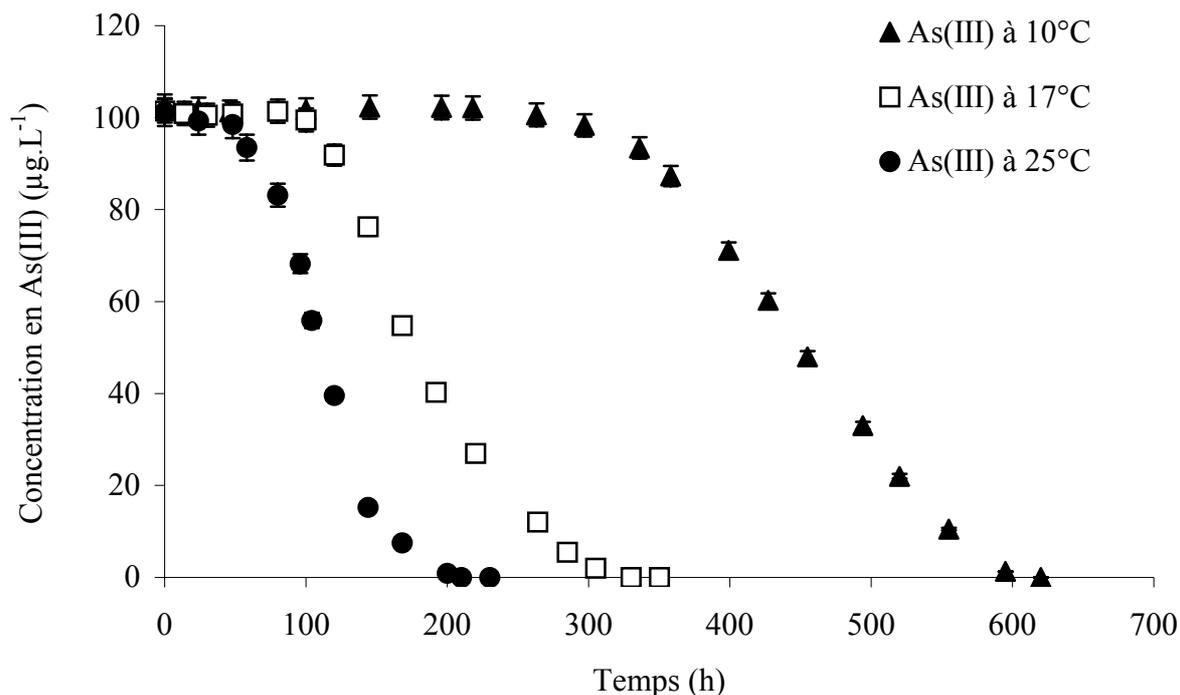


Figure 22 : Evolution de la concentration en As(III) dans l'eau synthétique en fonction de la température

La Figure 22 montre que la durée des phases de latence varie en fonction de la température et qu'elle est d'autant plus longue que la température diminue. Ainsi, ces phases de latence sont respectivement de 45 h à 25°C, 100 h à 17°C et de 270 h à 10°C. Le comportement de l'oxydation d'As(III) en As(V), durant la 2^{ème} phase varie également en fonction de la température.

En effet, la vitesse d'oxydation des arsénites présents en solution dans l'eau synthétique est de 0,29 µg.L⁻¹.h⁻¹ à 10°C, 0,44 µg.L⁻¹.h⁻¹ à 17°C et 0,63 µg.L⁻¹.h⁻¹ à 25°C. De même, l'oxydation d'As(III) est totale en environ 200 h à 25°C, alors qu'il est nécessaire d'attendre 370 h à 17°C et 600 h à 10°C.

Les analyses par GF-AAS ont permis de vérifier la conservation de la matière : la concentration en arsenic total reste stable tout au long du suivi (100 ± 3 µg.L⁻¹).

Une représentation de la vitesse d'oxydation d'As(III) en As(V) ainsi que de la durée des phases de latence en fonction de la température (Figure 23) permet de mieux comprendre les valeurs obtenues.

La Figure 23 présente la variation de la durée de la phase de latence en fonction de la température. Cette évolution suit une loi exponentielle alors que la variation de la cinétique d'oxydation est linéaire dans la gamme de températures testées.

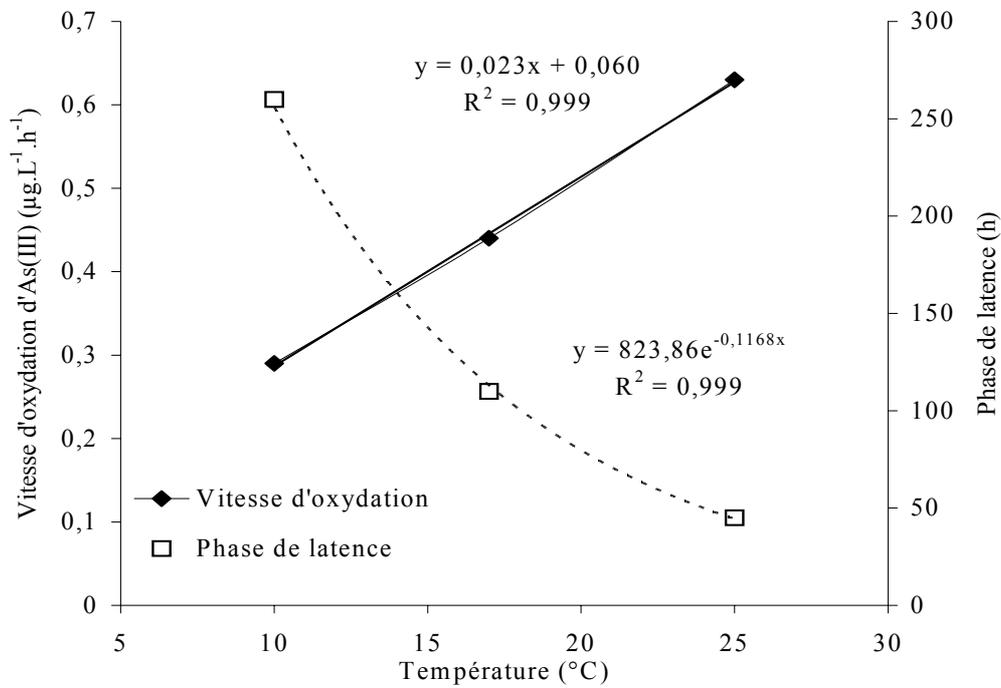


Figure 23 : Variation, dans l'eau synthétique enrichie à 100 µg.L⁻¹ en As(III), de la durée de la phase de latence et de la vitesse d'oxydation lors des suivis des cinétiques d'oxydation des arsénites

Les résultats obtenus confirment d'une part que l'oxydation d'As(III) par l'air sera lente, et d'autre part qu'elle est fonction de la température.

La durée du stockage de la solution dans les réservoirs alimentant chacun des trois bioréacteurs et les temps de séjour appliqués lors de l'étude d'oxydation biologique devront donc être inférieurs à 45 h lorsque la température de fonctionnement de l'unité pilote sera de 25°C et inférieurs à 270 h à 10°C. Ceci évitera toute probabilité d'oxydation chimique d'As(III) en As(V) dans l'eau synthétique; l'oxydation sera alors uniquement liée à l'activité bactérienne.

I.2. Influence de l'air

L'influence de l'air sur l'oxydation de l'As(III) en As(V) est testée. En effet, un contact avec l'air risque de favoriser l'oxydation d'As(III) en As(V). De plus, lors de l'étude de l'oxydation bactérienne d'As(III) en pilote, une agitation est réalisée en permanence à l'intérieur des réservoirs à l'aide d'une agitation magnétique. Les bioréacteurs sont quant à eux aérés (des conditions aérobies étant nécessaires au développement de la population CAsO1).

L'influence de la mise en contact avec l'air de la solution d'eau synthétique enrichie en As(III) est étudiée à température ambiante ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), en utilisant un bécher témoin non agité de 5 L, un bécher de 5 L placé sur une table d'agitation à $170 \text{ tours}\cdot\text{min}^{-1}$ (Ikabortechnik, KS 501) et un fût de 60 L dans lequel est appliqué un bullage d'air de $2,2 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$.

La Figure 24 montre que l'agitation mais aussi la présence d'un bullage d'air n'affecte pas la cinétique d'oxydation d'As(III). En effet, dans les trois cas étudiés, après une phase de latence, les cinétiques d'oxydation d'As(III) sont égales à $0,58 \mu\text{gAs(III)}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{h}^{-1}$.

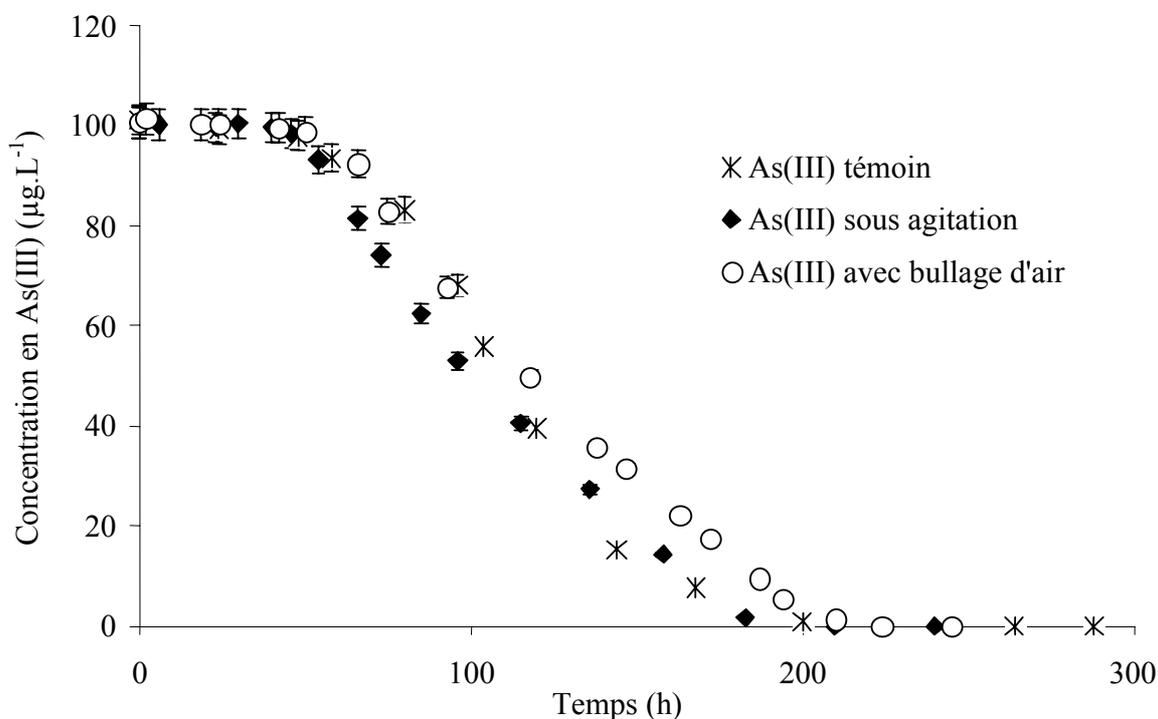


Figure 24 : Evolution de la concentration en As(III) dans l'eau synthétique en fonction du contact avec l'air, à 22°C

La valeur obtenue pour la cinétique d'oxydation d'As(III) pour un échantillon soumis à une agitation ou à un bullage d'air ($0,58 \mu\text{gAs(III)} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$) est très voisine de celle déterminée dans le cadre de l'influence de la température sur l'oxydation de l'As(III) (Figure 2) qui donne une cinétique d'oxydation d'As(III) de $0,56 \mu\text{gAs(III)} \cdot \text{L}^{-1} \cdot \text{h}^{-1}$, à 22°C.

La présence d'air, même pour un bullage de $2,2 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1}$, n'affecte donc pas de façon significative la cinétique d'oxydation d'As(III) en As(V) dans les conditions opératoires étudiées.

I.3. Influence de la lumière sur l'oxydation d'As(III)

Selon Daus *et al.* (2006), la présence de la lumière accélère généralement la cinétique d'oxydation d'As(III) en As(V) dans une eau. L'influence de la lumière sur l'oxydation de l'As(III) est étudiée.

Deux suivis à des températures de 10°C et 25°C sont réalisés en exposant les eaux à la lumière ambiante ou en les plaçant à l'obscurité.

La Figure 25 montre l'exposition à la lumière accélère la cinétique d'oxydation d'As(III). Cet effet est d'autant plus important lorsque la température augmente de 10 à 25°C et se répercute essentiellement sur la durée de la phase de latence. En effet, à 10°C, le temps de latence est de 270 h, pour un échantillon soumis à la lumière naturelle et de 450 h pour un échantillon placé à l'abri de la lumière. A 25°C, le temps de latence est de 45 h pour l'échantillon exposé à la lumière et de 70 h pour celui placé à l'obscurité. En ce qui concerne les cinétiques d'oxydation calculées dans la seconde phase du suivi (après la phase de latence), elles ne sont pas influencées par la lumière : on obtient des résultats identiques à ceux obtenus dans l'étude consacrée à l'influence de la température.

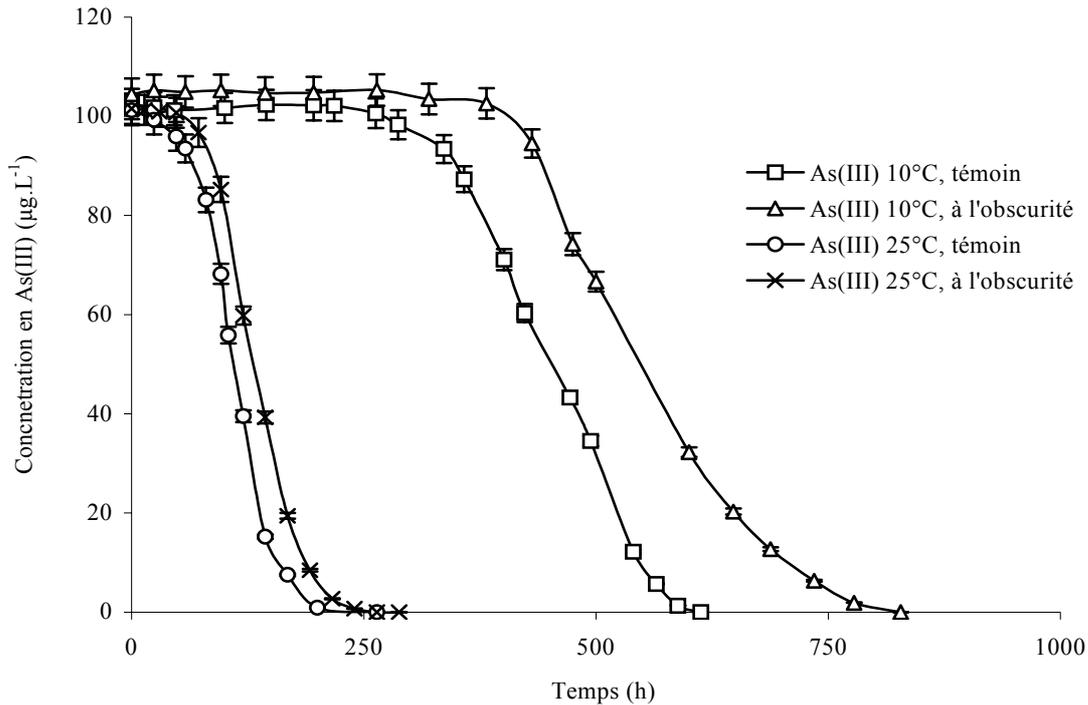


Figure 25 : Evolution de la concentration en As(III) dans l'eau synthétique en fonction de la lumière, à 22°C

Ainsi, lors de l'étude pilote, les réservoirs et les bioréacteurs étant réalisés en PVC cristal, matériau relativement translucide, les temps de séjour ne devront pas être supérieurs à 45 h lorsque la température de fonctionnement du pilote sera de 25°C. Une température de fonctionnement de 10°C, permet de suivre l'activité oxydante de la population CAsO1 avec une durée de stockage et un temps de séjour dans les bioréacteurs inférieur à 270 h.

II - CARACTERISATION DE LA POUZZOLANE

Le garnissage des bioréacteurs est réalisé en utilisant de la pouzzolane. Ce matériau support présente l'avantage d'être peu onéreux et de posséder une granulométrie suffisamment importante, entre 4 et 8 mm, pouvant éviter un colmatage rapide des bioréacteurs. De plus, ce matériau a été validé, lors de précédentes études au BRGM d'Orléans dans le cadre du projet RITEAU "As-Thiox", comme un matériau capable de servir de support, en réacteur à lit fixé, au développement de la population bactérienne CAsO1 (Battaglia-Brunet *et al.*, 2002 et 2006).

Dans ce chapitre, une caractérisation physique et chimique de la pouzzolane est présentée. La composition, la surface spécifique, la charge de surface sont successivement déterminées ainsi que la capacité d'échange cationique de la pouzzolane. Une étude de l'adsorption de ce matériau vis-à-vis des ions arsénates et des arsénites est décrite. En effet, il est nécessaire de s'assurer avant la mise en route du pilote que ce matériau ne conduit pas à une oxydation et/ou adsorption de l'arsenic. Si tel était le cas, l'oxydation d'As(III) en As(V) par la population CAsO1 ne pourrait être discrémentée.

II.1. Analyse élémentaire du solide

La composition chimique de la pouzzolane est décrite dans les Tableau 28 et 29. Le fer est le principal élément pouvant présenter des propriétés oxydantes et adsorbantes vis-à-vis de l'arsenic (Cf paragraphe II.6.).

Tableau 28 : Analyse des principaux composés chimiques de la pouzzolane

Eléments	Sr	Ba	Zr	V	Zn	Ce	Nb	Cr	Cu	As	La	Ni	Co	Y	Li
Concentration (mg.kg ⁻¹)	890	841	393	266	213	145	112	110	108	85	64	63	46	30	12
Limite de quantification (mg.kg ⁻¹)	5	10	20	10	5	10	20	10	5	20	20	10	5	20	10

Tableau 29 : Analyse des principaux oxydes présents dans la pouzzolane

Composés	SiO ₂	Al ₂ O ₃	Fe ₂ O ₃	CaO	MgO	K ₂ O	MnO
Pourcentage en masse (%)	46,3	15,1	9,8	9,0	8,7	1,8	0,17
Limite de quantification (%)	1,0	1,0	1,0	1,0	1,0	0,5	0,01

La quantité d'oxyde de fer(II) contenue dans la pouzzolane déterminée par volumétrie étant de 8,1%, il est nécessaire de caractériser les propriétés oxydantes et adsorbantes de la pouzzolane.

II.2. Densité relative et porosité externe

La densité relative de la pouzzolane obtenue expérimentalement en divisant sa masse par la masse d'eau déplacée par une masse "m" de matériau (Desjardins, 1988) est de 1,38.

La porosité externe, obtenue par le ratio entre le volume des vides externes aux grains et le volume total apparent, est de 0,59.

II.3. Surface spécifique

La surface spécifique de la pouzzolane mesurée par la méthode BET est égale à 7,1 m².g⁻¹. Cette valeur de surface spécifique est très faible en comparaison de celles d'oxyhydroxydes de fer comme la goethite (36 m².g⁻¹) ou d'oxyhydroxydes de fer amorphes (274 m².g⁻¹) (Lenoble, 2003).

II.4. Charge de surface et constantes d'acidité de la pouzzolane

II.4.1. Mesure du pH_{Zpt}

La méthodologie utilisée pour réaliser la détermination du pH_{Zpt} et des constantes d'acidité est décrite dans l'Annexe 8.1.

L'étude de la charge de surface, présentée Figure 26 donne un pH_{Zpt} de 7,2 ± 0,1.

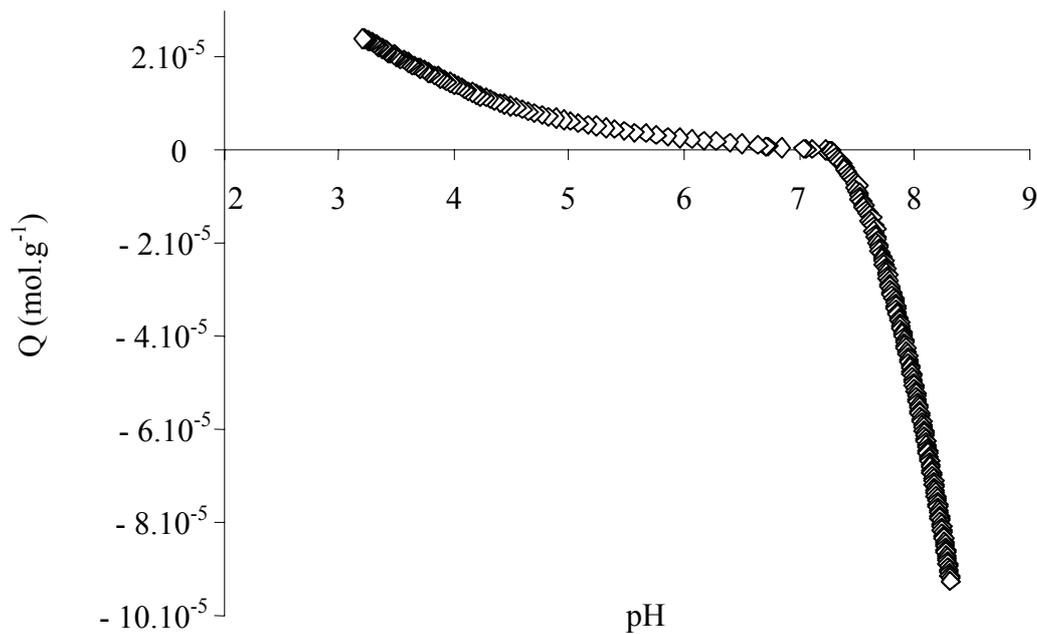


Figure 26 : Mesure de la charge de surface de la pouzzolane

Pour des pH inférieurs à 7,2, la charge de surface de la pouzzolane sera positive. L'adsorption des ions arséniate, chargés négativement, est alors favorisée. Dans les conditions opératoires utilisées, le pH de l'eau est compris entre 6,5 et 7, ainsi, la charge de surface de la pouzzolane sera proche de la neutralité, ce qui ne favorisera pas l'adsorption des ions arséniate (chargés négativement dans nos conditions opératoires) par rapport aux arsénites (espèce neutre dans nos conditions opératoires).

II.4.2. Mesure des constantes d'acidité

Les déterminations des constantes d'acidité de la pouzzolane, pK_{a1}^S et pK_{a2}^S sont présentées dans la Figure 27 et ont été déterminées suivant la méthode de Davranche *et al.* (2003). Les valeurs de ces constantes sont de $7,42 \pm 0,07$ et $6,17 \pm 0,08$ respectivement.

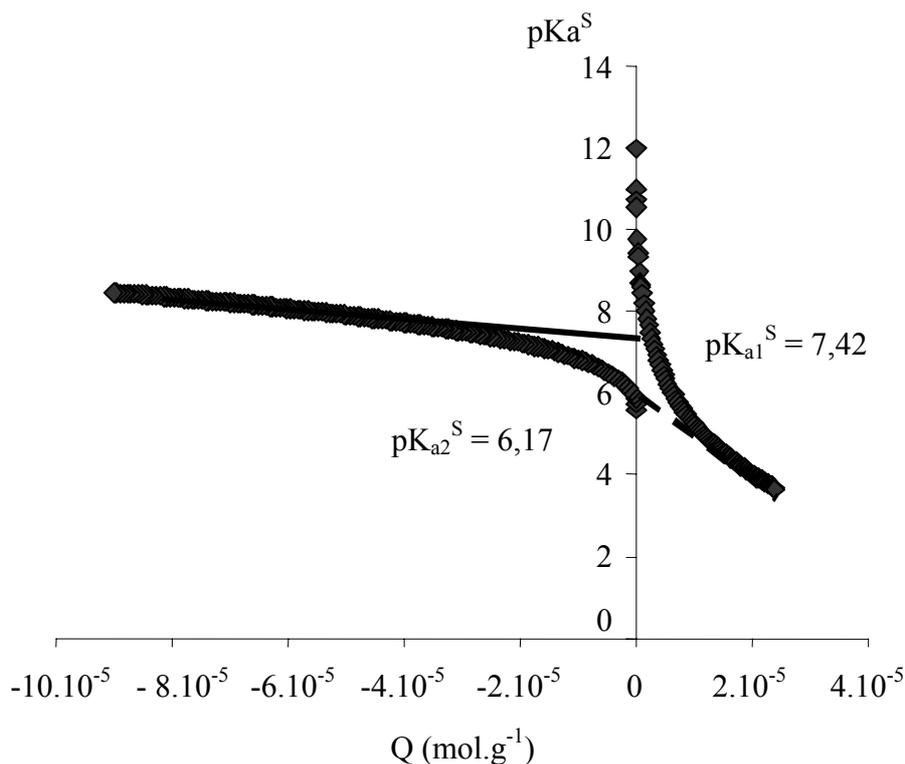


Figure 27 : Mesure des constantes d'acidité de la pouzzolane

Le pH_{zpc} est donc de $6,8 \pm 0,1$, ce qui est légèrement inférieur au pH_{zpt} , mais conduit aux mêmes conclusions : l'adsorption des arsénates ne sera pas favorisée dans nos conditions opératoires.

II.5. Capacité d'échange cationique

La CEC (déterminée en utilisant le protocole décrit en Annexe 8.2) est de $6,42 \pm 0,05$ méq pour 100 g de pouzzolane, soit un nombre total de sites de surface $\{S\}_{\text{tot}}$ égal à $6,42 \pm 0,05 \times 10^{-5} \text{ mol.g}^{-1}$. La valeur moyenne de la CEC pour la pouzzolane est relativement faible comparée à d'autres matériaux comme les argiles (bentonite, montmorillonite) dont la CEC varie entre 60 et 80 méq pour 100 g de solide (Bouras *et al.*, 2002).

II.6. Etude de la capacité d'adsorption de la pouzzolane

La pouzzolane est le matériau support pour la population bactérienne et ne doit pas réagir avec l'arsenic.

La caractérisation de la pouzzolane a révélé une surface spécifique très faible (7,1 m².g⁻¹), une charge de surface neutre de la pouzzolane dans les conditions opératoires utilisées et la présence d'oxyde de fer (8,1 % en masse).

Il est donc impératif de mesurer la capacité d'adsorption de la pouzzolane vis-à-vis de l'As(III) et de l'As(V). Si la capacité de la pouzzolane est faible, la saturation du massif pourrait avoir lieu dès la phase d'ensemencement des bioréacteurs.

Cette étude sera dans un premier temps menée dans des réacteurs discontinus puis réalisée sur un bioréacteur garni de pouzzolane.

II.6.1. Etude en réacteurs discontinus

Les essais d'adsorption sur la pouzzolane sont réalisés avec de l'eau synthétique enrichie en arsenic sur une table d'agitation oscillante à 150 t.min⁻¹ (Ikabortechnik, KS 501), à température ambiante (22 ± 2°C) et à pH 7. Les études sont menées avec trois solutions à une concentration de 100 g.L⁻¹ en pouzzolane et enrichies en arsenic :

- As(III) à 100 µg.L⁻¹ (solution 1)
- As(V) à 100 µg.L⁻¹ (solution 2)
- un mélange équimolaire As(III)-As(V) à 50 µg.L⁻¹ (solution 3)

Un échantillon est également enrichi à 100 µg.L⁻¹ en As(III) sans contact avec la pouzzolane et sert d'échantillon témoin.

Les résultats obtenus, lors de l'étude de la capacité d'adsorption de la pouzzolane pour la solution enrichie en As(V) (solution 2), n'ont montré aucune adsorption : la concentration en As(V) dans l'erlenmeyer est restée constante durant tout le suivi (200 h).

Les résultats obtenus pour la solution enrichie à 100 µg.L⁻¹ en As(III) (solution 1) sont représentés sur la Figure 28. Une diminution immédiate de la concentration en As(III) dans la solution est observée. Après 75 h de suivi, il ne reste plus que 88 µg.L⁻¹ d'As(III) alors que la concentration en As(V) est toujours nulle. Durant les 75 premières heures, il n'y a donc pas d'oxydation des arsénites, mais adsorption ou coprécipitation des arsénites sur la pouzzolane.

Après 75 h, la diminution de la concentration en As(III) est accélérée, alors que dans le même temps, la concentration en As(V) augmente dans les mêmes proportions.

Au delà de ce temps de latence de 75 h, la diminution de la concentration en As(III) est donc liée à son oxydation en As(V). Cette oxydation étant totale au bout de 280 h, la vitesse d'oxydation moyenne d'As(III) est de $0,51 \mu\text{gAs(III).L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ dans ce système, ce qui est peu différent de la vitesse d'oxydation par l'air déterminée à $0,56 \mu\text{gAs(III).L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ d'après la Figure 23. Cette oxydation correspond donc à l'oxydation d'As(III) par l'oxygène de l'air, comme cela a été constaté dans l'échantillon témoin.

Des résultats similaires sont observés pour le mélange équimolaire As(III)-As(V) enrichie à $50 \mu\text{g.L}^{-1}$.

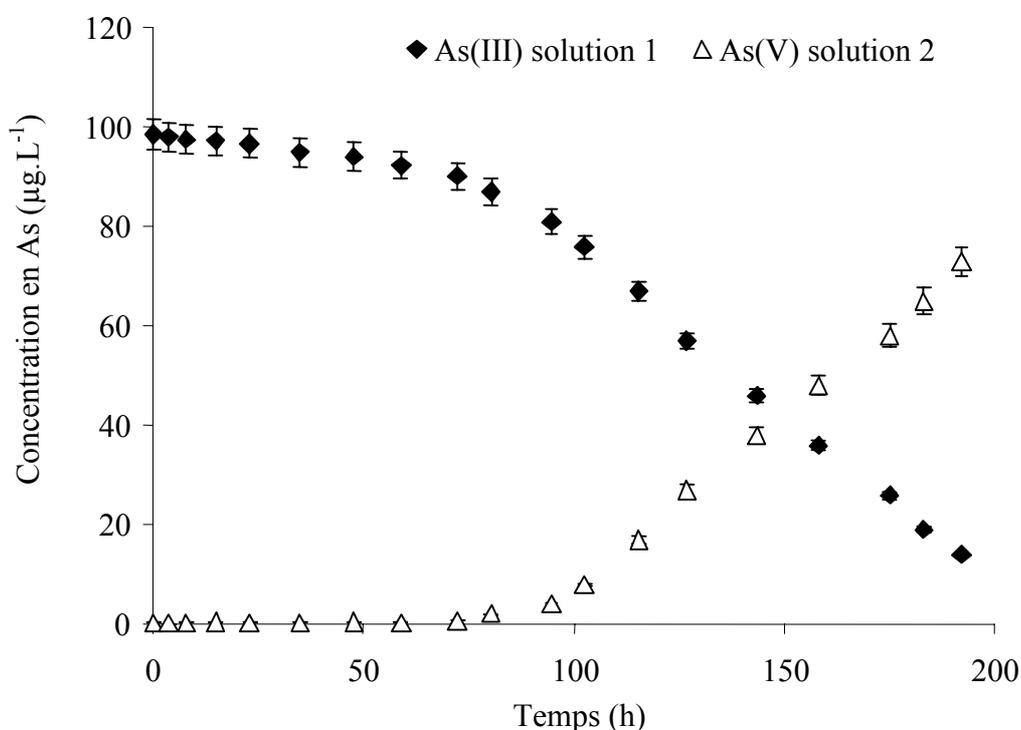


Figure 28 : Evolution de la concentration en arsenic dans 1L d'eau synthétique enrichie à $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ en As(III), en contact avec 100 g de pouzzolane, à 22°C , sous agitation

L'élimination des arsénites dans les solutions 1 et 3 peut s'expliquer par leur adsorption sur la pouzzolane ou par la formation d'un précipité. En effet, les ions Fe^{3+} de la pouzzolane peuvent dans un premier temps oxyder les arsénites en arsénates, puis permettre l'élimination des ions arsénates par coprécipitation avec les ions Fe^{2+} et la formation d'un précipité de type $\text{Fe}_3(\text{AsO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$, comme le montre l'étude de Lenoble *et al.* (2005).

Dans les conditions opératoires étudiées, les ions arsénites ne sont pas adsorbés par la pouzzolane. Les résultats obtenus en réacteurs discontinus, à l'inverse, montrent une élimination des arsénites sur ce matériau. Cette élimination des arsénites sur la pouzzolane, n'est pas très importante : la capacité maximale d'adsorption de l'As(III) sur la pouzzolane, mesurée à partir de cette expérience dans les solutions enrichies en As(III) est de $0,12 \pm 0,04 \mu\text{g(As(III)).g}^{-1}$ de pouzzolane.

II.6.2. Etude en bioréacteur

Avant l'étude de l'oxydation biologique d'As(III) par l'unité pilote, une étude de l'adsorption d'As(III) sur le bioréacteur C2, rempli de pouzzolane (22 kg), est réalisée. Le débit d'alimentation du réacteur est fixé à 10 mL.min^{-1} , soit un temps de séjour de 23,1 h. Ce test est réalisé avec une eau synthétique enrichie en As(III) à une concentration de $100 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Les résultats obtenus ont montré qu'une durée de 40 h de fonctionnement était nécessaire pour que la concentration en As(III) en sortie de réacteur soit égale à la concentration en entrée. La capacité d'adsorption ainsi déterminée est de $0,10 \pm 0,04 \mu\text{gAs(III).g}^{-1}$ de pouzzolane. Cette valeur est très proche de celle déterminée lors de l'étude de l'adsorption de l'As(III) en réacteur discontinu ($0,12 \pm 0,04 \mu\text{gAs(III).g}^{-1}$).

Ainsi, même si ce matériau support est poreux d'un point de vue macroscopique, il possède une capacité d'adsorption nulle vis-à-vis des ions arsénites et très faible vis-à-vis des arsénites. La saturation du matériau sera atteinte rapidement après la mise en route du pilote d'oxydation d'As(III) par la population bactérienne CAsO1.

II.7. Etude de la capacité d'oxydation de la pouzzolane en bioréacteur

L'étude de la capacité d'oxydation de la pouzzolane est testée en bioréacteur, après saturation des sites d'adsorption de la pouzzolane.

Le bioréacteur dont la pouzzolane a été préalablement saturé en As(III) (paragraphe précédent) est alimenté durant 5 jours avec de l'eau synthétique enrichie à $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ en As(III) à un débit d'alimentation de 10 mL.min^{-1} .

Les résultats obtenus montrent que la concentration en As(III) en sortie de bioréacteur est identique à la concentration en entrée durant tout le suivi.

Ainsi, la pouzzolane, après saturation des sites d'adsorption en arsenic, est un matériau inerte vis-à-vis du processus d'oxydation des arsénites en ions arséniates.

La pouzzolane représente donc un matériau support adapté au suivi de l'oxydation bactérienne d'As(III) en As(V) en bioréacteur, ne favorisant pas l'adsorption de l'As(V) et ne participant pas à l'oxydation de l'As(III).

III - ETUDES DES CONDITIONS PHYSIQUES DE FONCTIONNEMENT DES BIOREACTEURS D'OXYDATION BACTERIENNE D'As(III)

Avant de déterminer les conditions physiques de fonctionnement des bioréacteurs et d'améliorer la compréhension du système, la conception de l'unité pilote est rappelée.

III.1. Description de l'unité pilote

L'unité pilote est composée de trois bioréacteurs à lit fixé (C1, C2 et C3) et de trois réservoirs (R1, R2 et R3), chacun des trois réservoirs étant relié à un bioréacteur comme le montre la Figure 8.

III.1.1. Prédimensionnement

Le prédimensionnement de l'unité pilote tient compte de précédents essais menés pour l'étude de l'oxydation en réacteurs à lits fixés d'As(III) en As(V). Ainsi, le prédimensionnement de notre unité pilote est réalisé de façon à être à une échelle intermédiaire entre le pilote de laboratoire mis en place au BRGM dans le cadre du projet RITEAU "As-Thiox", pilote composé de bioréacteurs de volume utile 8 L, et un pilote de traitement sur site de la société ACTREAD Environnement, le volume utile des réacteurs de ce dernier pilote étant de 125 L.

Les bioréacteurs utilisés dans nos travaux ont une capacité de 34 L (1080 x 200 mm). Chacun de ces bioréacteurs est équipé de 5 points de prélèvements, répartis uniformément sur la hauteur de la colonne, dans le but de déterminer l'activité oxydante de la population CAsO1, à différentes distances de l'alimentation.

Le suivi d'oxydation d'As(III) par CAsO1 est réalisé sur trois bioréacteurs ensemencés par la population bactérienne. Aucun bioréacteur "témoin", non ensemencé par cette flore microbienne, n'est mis en place dans cette étude car la pouzzolane, au vu des résultats obtenus précédemment, est un matériau quasi inerte vis-à-vis de l'oxydation des arsénites.

III.1.2. Principe de fonctionnement

Comme le montre le synoptique de la Figure 8, l'alimentation du bioréacteur C1 est effectuée de façon ascendante alors que les bioréacteurs C2 et C3 sont alimentés gravitairement. Ces deux modes d'alimentation se justifient comme suit :

- La circulation ascendante a été utilisée dans le pilote du BRGM d'Orléans. Ce mode de circulation a été choisi, car il limite les problèmes de courts-circuits hydrauliques, par rapport au mode de circulation descendante.
- La circulation descendante ou gravitaire, correspond au mode de circulation utilisé couramment dans les systèmes de traitement industriel (cas du pilote ACTREAD Environnement), car il est plus économique en terme de consommation énergétique.

L'alimentation en effluent de l'unité pilote est réalisée au moyen de 4 pompes péristaltiques numériques.

Dans le but d'optimiser et d'appliquer le procédé d'oxydation biologique à des eaux souterraines, la température au sein des réservoirs et des bioréacteurs est régulée par un cryothermostat.

L'acquisition des données permet de suivre en continu l'évolution des paramètres physico-chimiques (pH, Eh, température) au sein des réservoirs et des bioréacteurs et le stockage des données.

Chacun des trois bioréacteurs est alimenté en air, par un bullage à un débit de 10 mL.min⁻¹ (débitmètres Aalborg). L'air est injecté en bas de colonne et traverse une plaque multiperforée afin de permettre une distribution de l'air la plus homogène possible sur toute la hauteur de colonne. La valeur du débit d'air a fait l'objet de plusieurs études au BRGM (Samary, 2005). Il s'est avéré qu'un débit de 10 mL.min⁻¹ permet le maintien de l'activité de la population bactérienne CASO1 dans un réacteur à lit fixé.

III.2. Détermination du volume utile de chacun des bioréacteurs

Un schéma simplifié des bioréacteurs C1, C2 et C3 est présenté sur la Figure 29.

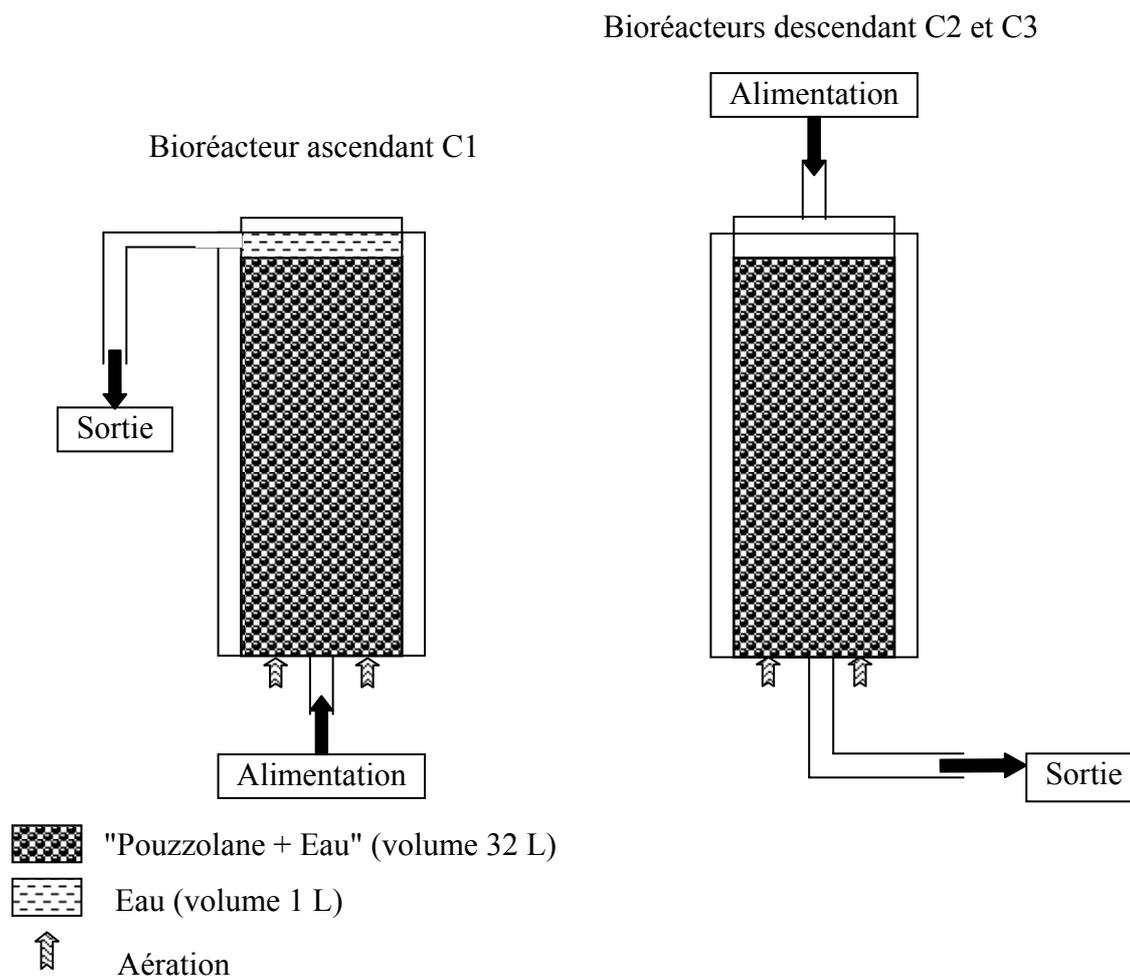


Figure 29 : Schéma des trois bioréacteurs composant l'unité pilote

La masse de pouzzolane contenue dans chaque bioréacteur est de 22 kg. La masse volumique de la pouzzolane calculée précédemment étant de $1,38 \text{ kg.L}^{-1}$, le volume occupé par la pouzzolane est de 15,9 L pour chacun des bioréacteurs.

Comme le montre la Figure 29, les bioréacteurs C2 et C3 alimentés par le haut, présentent un volume apparent de 32 L, représentatif du volume "Pouzzolane + Eau" alors que le bioréacteur C1, alimenté par le bas, présente un volume apparent de 33 L, ce qui est dû à la présence de 1L d'eau supplémentaire en sortie du réacteur ascendant, volume d'eau nécessaire pour le suivi des paramètres physico-chimiques des effluents issus du bioréacteur. Ainsi, le volume utile, volume accessible à l'eau, dans chacun des bioréacteurs est de 17,1 L pour le bioréacteur C1, alimenté de façon ascendante, et de 16,1 L pour les bioréacteurs C2 et C3 alimentés gravitairement.

III.2.1. Rétention de l'eau

Les dispositifs de traitement des eaux utilisant des matériaux filtrants où l'apport d'oxygène est réalisé par une aération artificielle, sont caractérisés par un écoulement ruisselant de l'effluent à traiter. Cet écoulement ruisselant, insaturé, se caractérise par la présence dans le milieu filtrant de trois phases : solide, liquide et gazeuse.

La phase liquide en contact avec la phase gazeuse véhicule les nutriments nécessaires aux besoins métaboliques des bactéries. Si durant les périodes d'arrêt du filtre, l'eau retenue par le massif constitue une réserve pour les bactéries, la présence de l'eau en quantité importante pendant un temps trop long risque de saturer le massif et d'affecter ainsi les échanges gazeux, et par voie de conséquence agir négativement sur l'activité bactérienne (épuisement de l'oxygène).

Le volume d'eau mis en jeu dans le bioréacteur étant lié à la nature du matériau support; une caractérisation de la pouzzolane par la capacité de rétention en eau est donc déterminante. La mesure expérimentale de cette capacité s'effectue par la méthode dite de ressuyage. La capacité de rétention de l'eau de la pouzzolane est également déterminée.

Les résultats obtenus dans le cadre de la méthode de ressuyage sont répertoriés dans le Tableau 30. D'après ce tableau, les teneurs massiques en eau retenue par le massif de pouzzolane au sein des bioréacteurs C2 et C3 sont de 5,6% et de 6,6% au sein du bioréacteur C1. Ces valeurs sont relativement faibles au regard de ceux obtenus dans la littérature (Mohammedi, 1998).

Tableau 30 : Capacité de rétention des différents bioréacteurs (L)

	Bioréacteur C1	Bioréacteur C2	Bioréacteur C3
Volume égouttable; V_e	14,8 ± 0,2	14,1 ± 0,1	14,0 ± 0,2
Volume retenu; V_r	0,8 ± 0,1	0,8 ± 0,1	0,9 ± 0,1
Volume total mis en jeu dans le massif; V_t	15,6 ± 0,2	14,9 ± 0,1	14,9 ± 0,2
Volume utile théorique	17,1	16,1	16,1

Le taux de saturation en eau est déterminé en divisant le volume total d'eau mis en jeu dans le massif par le volume initial au sein du massif (ϵ_0 * Volume apparent). La saturation est atteinte lorsque ce rapport est égal à 100 %.

Dans le cas du bioréacteur C1, ce taux est égal à 88,9% alors que pour les réacteurs C2 et C3, il vaut 92,4%. L'eau occupe donc près de 90% du volume initial du vide dans chacun des trois bioréacteurs : l'écoulement dans les bioréacteurs est proche de la saturation. Une proportion de 10% est simplement disponible pour l'air.

Ainsi, même si la pouzzolane présente une surface rugueuse ainsi qu'une texture relativement poreuse, ce matériau ne retient que très peu l'eau. De plus, le volume occupé par l'eau dans la colonne étant relativement important, l'écoulement dans la suite de l'étude pourra être qualifié de saturé.

Pour la détermination des temps de séjour, le volume total (V_t) mis en jeu dans le massif sera considéré comme étant égal à 15,6 L dans le cas du bioréacteur C1, et égal à 14,9 L dans le cas des bioréacteurs C2 et C3. Le temps de passage t_p sera alors obtenu en rapportant la quantité d'eau totale retenue au débit d'alimentation, soit V_t / Q .

III.2.2. Détermination des temps de séjour

Le temps de séjour est un paramètre important du fait de son influence potentielle sur les rendements d'oxydation des bioréacteurs. Lorsque l'activité biologique est optimale et que le transfert d'oxygène de la phase gazeuse vers le biofilm n'est pas limitant, le temps de séjour prend alors toute son importance.

Pour un débit d'alimentation donné, le temps de séjour peut dépendre de nombreux facteurs tels que la géométrie du réacteur, la hauteur du lit, le taux de vide dans le massif support et surtout le type d'alimentation des réacteurs.

Dans cette étude, la distribution des temps de séjour est déterminée pour chacun des trois bioréacteurs. Plusieurs expériences sont réalisées en faisant varier les débits d'alimentation en eau sur une gamme comprise entre 20 et 180 mL.min⁻¹. Le choix de cette gamme de débit a été décidé de façon à être dans la gamme des débits d'alimentation appliqués aux bioréacteurs lors de l'étude de l'oxydation d'As(III) par la population CAsO1 (5 – 250 mL.min⁻¹ soit des temps de séjour de 50 à 1 h). Le Tableau 31 résume les conditions opératoires pour la détermination de la Distribution des Temps de Séjour (DTS).

Tableau 31 : Conditions opératoires utilisées pour la détermination de la DTS dans les trois bioréacteurs

Paramètres	
Pression	1,8 bar
Température	17°C
Concentration en NaCl	2 g.L ⁻¹
Débits d'alimentation testés	10 – 20 – 40 – 100 – 180 mL.min ⁻¹

Pour chaque débit d'alimentation testé, la conductivité de la solution de traceur en fonction du temps est enregistrée après une injection échelon ou une purge échelon.

Les courbes représentatives de la DTS dans le cas d'une injection échelon, à un débit initial de 40 mL.min⁻¹, et d'une purge échelon, à un débit initial de 180 mL.min⁻¹, obtenues respectivement pour les bioréacteurs C1 et C2 sont présentées Figure 30.

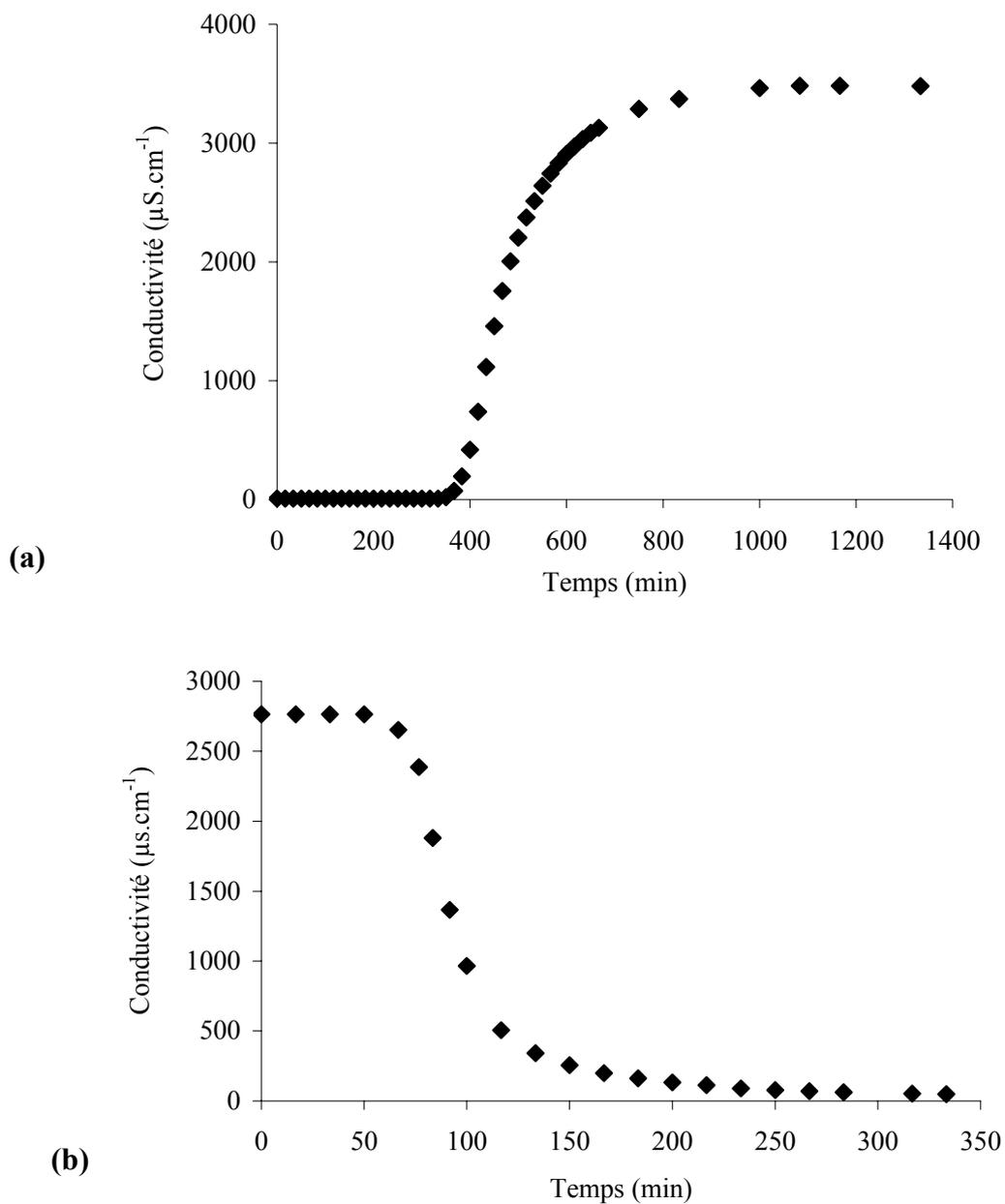


Figure 30 : Evolution de la conductivité en réponse à : une injection échelon pour un bioréacteur alimenté de façon ascendante à un débit de $40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (a) et à une purge échelon pour un bioréacteur alimenté de façon descendante à un débit de $180 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (b)

Les allures générales des courbes obtenues pour les deux bioréacteurs présentent de fortes similitudes. En effet, dans les deux cas, les courbes de distribution des temps de séjour

possèdent une composante piston, représentée par un temps retard, suivie d'une montée relativement rapide et d'une déformation plus ou moins importante, caractéristiques d'un écoulement dispersif.

Afin de déterminer les temps de séjour moyen et de caractériser l'écoulement dans chacun des trois bioréacteurs étudiés, la courbe F, représentative de la réponse dans le cas d'une injection-échelon (Annexe 4) ainsi que la courbe E(t), représentative de la distribution des temps de séjour, ont été tracées dans chacun des cas étudiés.

La Figure 31 représente les courbes F et E(t) pour les deux cas étudiés précédemment (bioréacteurs C1 et C2 alimentés respectivement à un débit de 40 et 180 mL.min⁻¹).

La représentation de la courbe F est caractérisée par un temps retard suivi d'une atteinte du régime permanent relativement rapide. L'exploitation de la courbe E(t), représentative de la DTS, montre que l'écoulement au sein des bioréacteurs est assimilable à celui d'un écoulement piston suivi d'une dispersion. En effet, la courbe représentative de la distribution des temps de séjour est caractérisée par des courbes en cloche avec une déformation de la partie terminale. Cette déformation est d'autant plus importante lorsque le débit d'alimentation est faible (Figure 31(a) et (b)).

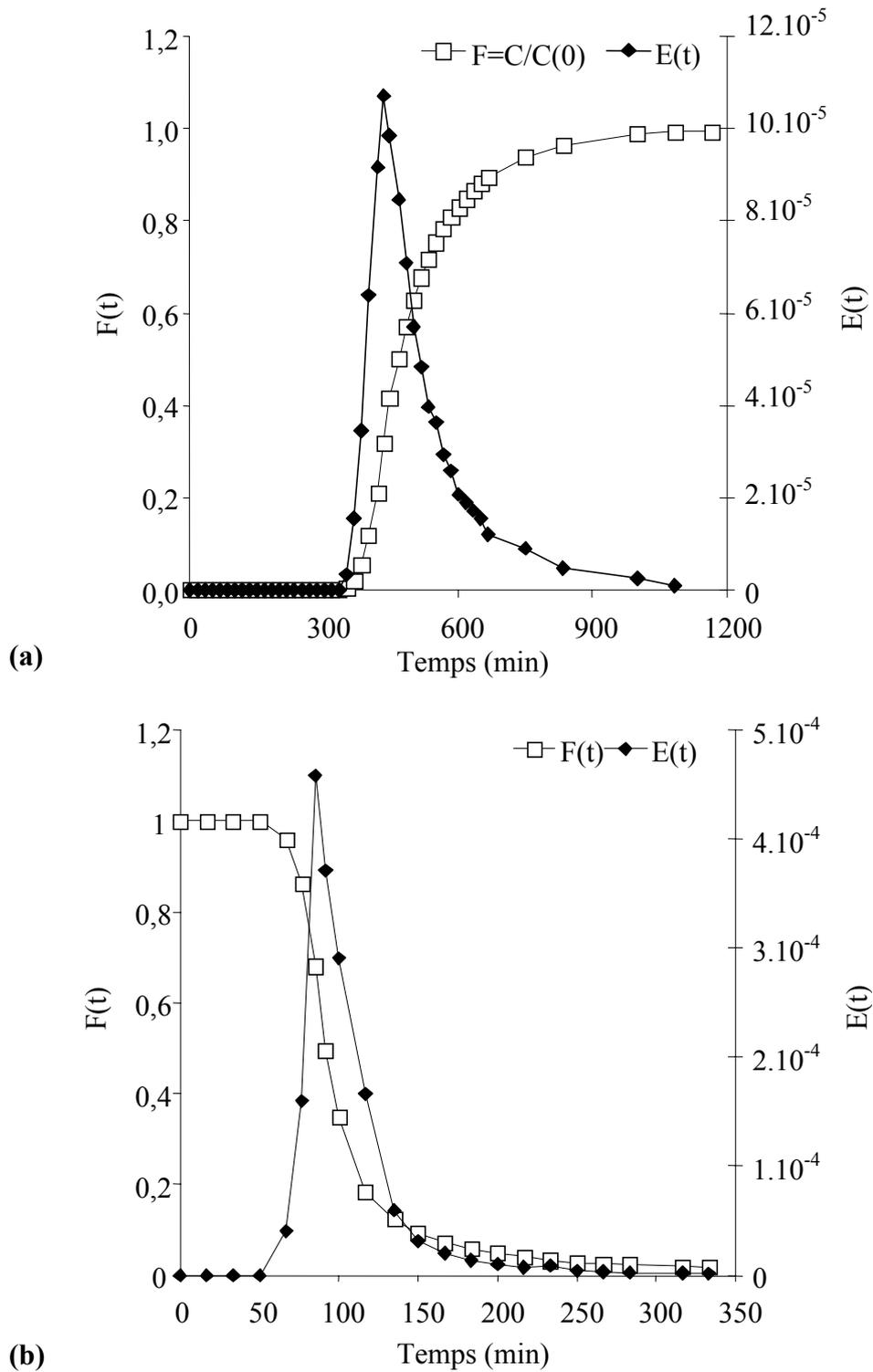


Figure 31 : Evolution de $F(t)$ et $E(t)$ pour un bioréacteur alimenté de façon ascendante à un débit de $40 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (réponse à une injection échelon) (a) et pour un bioréacteur alimenté de façon descendante à un débit de $180 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (réponse à une purge échelon) (b)

Les bioréacteurs peuvent être assimilés à des réacteurs piston avec dispersion. Cette dispersion dépend probablement des conditions aux limites qui règnent au point d'injection du traceur et au point de mesure de la réponse, ainsi qu'au lit de garnissage de pouzzolane composant les trois bioréacteurs. En effet, selon Villermaux (1993), la succession des séparations et réunions des filets de fluide produit une dispersion aléatoire caractérisée par une dispersion axiale D_A et une dispersion radiale D_R .

Dans le domaine de fonctionnement choisi, nous avons déterminé dans chaque cas le temps de séjour moyen (τ) à l'aide de l'équation (29), le temps de passage (t_p) à l'aide de l'équation (30) ainsi que le rapport entre ces deux valeurs (τ / t_p). Ce rapport est fréquemment utilisé en génie chimique pour évaluer la qualité du mélange et de l'écoulement au sein d'un réacteur (Mohammedi, 1998).

Comme le montre le Tableau 32, les volumes accessibles déterminés par la distribution des temps de séjour sont supérieurs pour le bioréacteur C1 à la valeur du volume théorique, même si lorsque le débit augmente, les volumes accessibles déterminés sont proches des valeurs théoriques. Dans le cas des bioréacteurs C2 et C3, les volumes accessibles déterminés sont proches des valeurs théoriques.

Ainsi, d'après la théorie de la distribution des temps de séjour (Annexe 4), le bioréacteur C1 présente de légers courts-circuits hydrauliques alors que les bioréacteurs C2 et C3 peuvent présenter des volumes morts. Néanmoins, ces fractions de volume ne dépassent pas 16% et leurs valeurs diminuent lorsque le débit d'alimentation augmente : pour des débits d'alimentation supérieurs à $100 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$, le rapport τ / t_p prend une valeur proche de 1, caractéristique d'un écoulement optimal.

Tableau 32 : Temps de séjour réels obtenus dans les trois bioréacteurs en fonction du débit d'alimentation; comparaison avec les temps de séjour théorique

	Bioréacteur C1				Bioréacteurs C2 et C3			
Débit d'alimentation (mL.min ⁻¹)	20	40	100	180	20	40	100	180
Temps de passage; t _p (h)	13,03	6,51	2,60	1,45	12,40	6,20	2,48	1,38
Temps de séjour moyen; τ (h)	15,11	7,16	2,73	1,45	10,54	5,89	2,55	1,44
τ / t _p	1,16	1,10	1,05	1,00	0,85	0,95	1,03	1,04
Vol. accessible théorique; V _{1t} (L)	15,6				14,8			
Vol. accessible déterminé; V _{2t} (L)	18,13	17,18	16,4	15,66	12,64	14,13	15,30	15,55
α (α = V _{1t} / V _{2t}) (%)	15,9	9,9	4,9	0,1	15,0	5,0	2,9	4,6

Afin de quantifier l'effet dispersif, le paramètre P, homogène à un critère de Péclet est déterminé pour chaque débit d'alimentation testé. La valeur obtenue est comprise entre 17 et 33 dans le cas du bioréacteur C1 et entre 32 et 68 dans le cas des bioréacteurs C2 et C3. Ces résultats valident l'existence d'une dispersion probablement due à la géométrie du matériau support.

L'indice de dispersion de Morrill et l'efficacité volumétrique ont également été déterminés. Pour un débit d'alimentation de 40 mL.min⁻¹ sur le bioréacteur C1, les valeurs obtenues sont respectivement de 1,4 pour l'indice de Morrill et de 71,4 % pour l'efficacité volumétrique. Ces valeurs sont caractéristiques d'un écoulement essentiellement piston avec une faible dispersion axiale

L'évaluation de la DTS par traçage au chlorure de sodium a permis de déterminer la nature de l'écoulement hydrodynamique du liquide au sein des trois bioréacteurs qui s'apparente à celui de réacteurs pistons avec dispersion axiale. L'écart acceptable entre les volumes théoriques accessibles déterminés par la méthode de ressuyage et les volumes accessibles déterminés par la distribution des temps de séjour permettent de valider les volumes déterminés par la méthode de ressuyage.

Ainsi, dans la suite de l'étude, les bioréacteurs seront assimilés à des réacteurs de type piston avec dispersion axiale et des temps de passage similaires aux temps de séjour moyen. Les volumes accessibles considérés seront de 16 L pour le bioréacteur C1 et de 15 L pour les bioréacteurs C2 et C3.

III.2.3. Détermination de la constante de transfert d'oxygène

Parmi les principaux paramètres influençant le transfert de matière pouvant avoir lieu entre un gaz et un liquide, la constante K_La , exprimée en h^{-1} , caractérise la conductance du transfert dans les bioréacteurs en condition aérobie. Sa valeur tient compte de l'équipement d'aération, de la géométrie du bassin, du débit de gaz et de la profondeur d'insufflation, ainsi que de la vitesse de consommation d'oxygène par les bactéries, r_{O_2X} . La connaissance de ce paramètre est nécessaire pour le dimensionnement d'un bioréacteur et du système d'aération (aérateur de surface ou système à insufflation d'air).

Dans ce chapitre, la détermination de la constante de transfert K_La est déterminée pour les deux bioréacteurs C1 et C2, alimentés respectivement de façon ascendante et descendante. Les résultats obtenus au cours de ces essais étant similaires pour les deux bioréacteurs étudiés, seuls les résultats obtenus pour C2 sont présentés.

III.2.3.1. Bioréacteur nonensemencé

La valeur de la constante de transfert K_La est déterminée par la méthode en eau claire, à 18°C et par la méthode dynamique, à 23°C. Deux expériences sont réalisées avec dans un premier temps, la détermination du K_La dans le cas d'un bioréacteur rempli uniquement d'eau ultra pure puis dans un deuxième temps, la détermination du K_La dans le cas d'un bioréacteur contenant le matériau support et de l'eau ultra pure.

Cas du bioréacteur uniquement rempli d'eau

Le suivi de la concentration en oxygène dissous et la linéarisation du bilan matière en fonction du temps dans le cas d'un bioréacteur rempli entièrement d'eau sont présentés sur la Figure 32.

La valeur du K_La déterminée est de $0,26 \text{ min}^{-1}$ soit $15,6 \text{ h}^{-1}$.

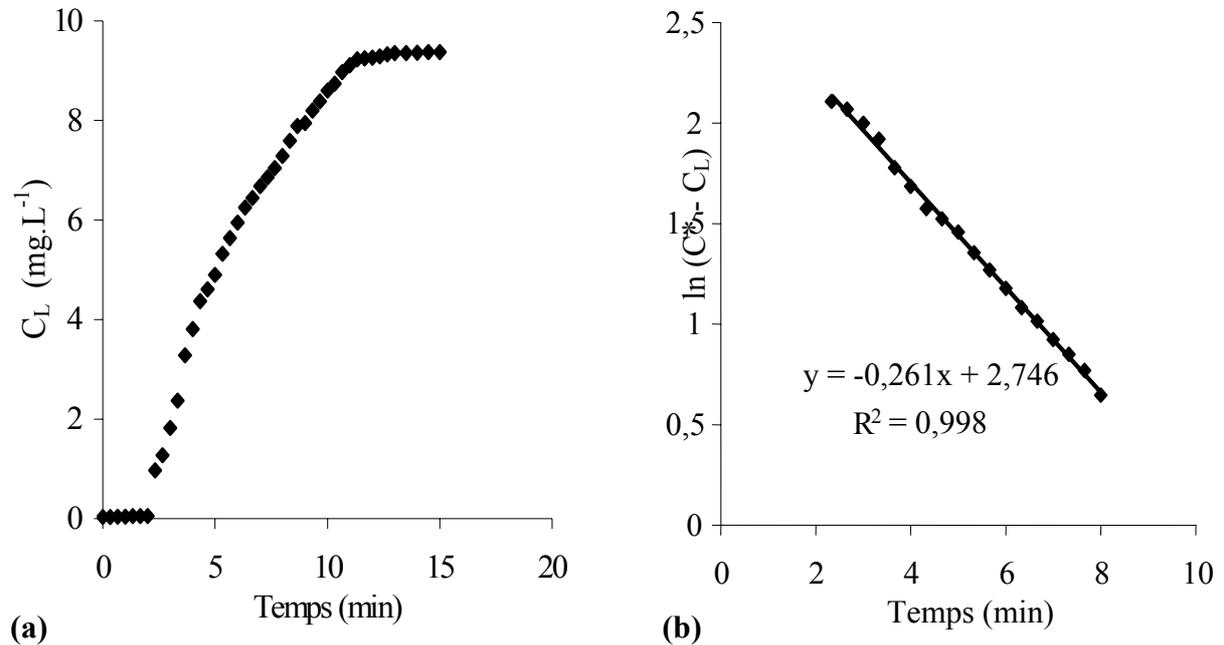


Figure 32 : Bioréacteur C2 rempli d'eau, à 18°C, sans matériau support. (a) : variation de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps. (b) : variation de $\ln(C^* - C_L)$ en fonction du temps

La concentration en oxygène dissous déterminée à la saturation, à 18°C, est de 9,37 mg d'O₂ par litre. Ainsi, la capacité d'oxygénation calculée d'après l'équation (36) est de 146 g O₂.h⁻¹.m⁻³ et l'apport horaire en oxygène (37) pour le bioréacteur de 32 L est de 4,7 g O₂.h⁻¹.

Cas du bioréacteur avec matériau support

Dans le cas d'un bioréacteur rempli d'eau et contenant de la pouzzolane (22 kg), les résultats obtenus pour la détermination du $K_{L,a}$ sont présentés sur la Figure 33.

La constante de transfert $K_{L,a}$ obtenue dans le cas d'un bioréacteur rempli de pouzzolane et d'eau, est identique à celle obtenue dans le cas d'un bioréacteur ne contenant pas de pouzzolane. La pouzzolane n'influence donc pas la constante de transfert $K_{L,a}$, ni l'apport horaire d'oxygène.

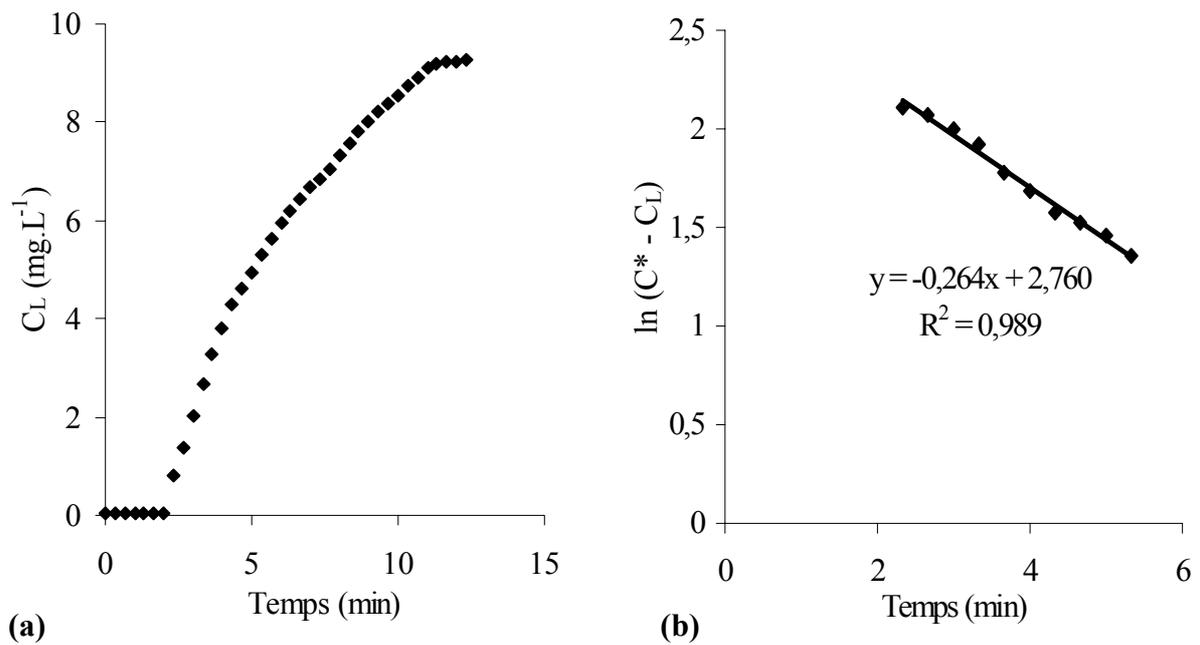


Figure 33 : Bioréacteur C2, à 18°C, avec matériau support, mais sans ensemencement.
(a) variation de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps
(b) variation de $\ln(C^* - C_L)$ en fonction du temps

III.2.3.2. Détermination de la constante de transfert dans un bioréacteur ensemencé par la population CAsO1

L'étude du transfert d'oxygène est réalisée en utilisant la méthode dynamique, à la température de 23°C, dans le cas des deux bioréacteurs C1 et C2, ensemencés par la population CAsO1.

Les résultats obtenus pour le bioréacteur C2 sont présentés sur la Figure 34.

La valeur de r_{O_2X} obtenue est égale à 7,9 $\text{mg O}_2.\text{L}^{-1}.\text{h}^{-1}$ soit 7,9 $\text{g O}_2.\text{m}^{-3}.\text{h}^{-1}$. Ainsi, la vitesse de consommation d'oxygène dans le bioréacteur par CAsO1 est de 125 $\text{mg O}_2.\text{h}^{-1}$.

La valeur de la constante de transfert obtenue après réoxygénation du réacteur, en déterminant la valeur de la pente de la droite obtenue sur la Figure (34 b) est 0,192 min^{-1} soit 11,5 h^{-1} . La concentration en oxygène dissous déterminée à saturation à 23°C, étant de 8,31 mg d'O_2 par litre, la capacité d'oxygénation est de 95,6 $\text{g O}_2.\text{h}^{-1}.\text{m}^{-3}$ et l'apport horaire en oxygène de 1,5 $\text{g O}_2.\text{h}^{-1}$.

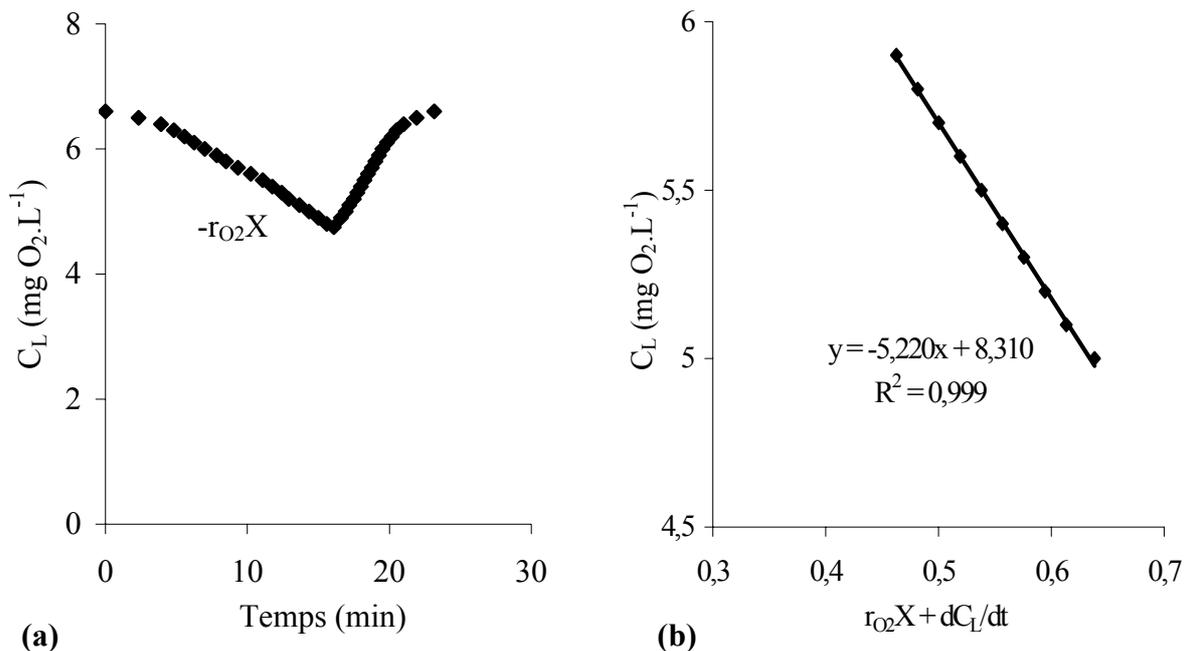


Figure 34 : Bioréacteur avec matériau support et avec ensemencement, à 23°C.
(a) : variation de la concentration en oxygène dissous en fonction du temps
(b) : variation de C_L en fonction de $r_{O_2X} + dC_L/dt$

La valeur du coefficient de transfert spécifique du milieu α , définie comme le rapport entre le coefficient de transfert en condition réelle et le coefficient de transfert en eau claire, est de 74%. Ce rendement inférieur à 100% s'explique par la présence d'un biofilm bactérien à l'intérieur du bioréacteur et est conforme aux résultats de la littérature (Duchène et Cotteux, 2002).

La quantité de biomasse dans chaque bioréacteur, déterminée par le calcul du pourcentage de MVS (mat et met), est de 198 ± 40 mg; la consommation d'oxygène est donc de $0,6 \pm 0,2$ mg O₂.h⁻¹ par gramme de MVS.

Les résultats obtenus confirment les résultats de Battaglia-Brunet et al. (2002) à savoir que la souche CAsO1 nécessite de faibles apports d'oxygène. Ainsi, lors de l'étude pilote le flux d'air insufflé dans les bioréacteurs sera minimal et suffisant.

Chapitre C₃ :

Oxydation bactérienne d'As(III) par CAsO1

Après avoir caractérisé les bioréacteurs, les résultats de l'oxydation biologique d'As(III) par la population bactérienne CAsO1 sont développés dans le chapitre suivant.

Les paramètres influençant l'oxydation seront présentés, puis les résultats des suivis en terme de détoxification d'une eau reconstituée.

I - SUIVI DE L'OXYDATION BACTERIENNE D'AS(III) EN BIOREACTEUR PAR LE CONSORTIUM CAsO1

L'étude de l'oxydation bactérienne d'As(III) en As(V) en bioréacteur par la population CAsO1 est menée au cours de deux périodes :

- 1^{ère} campagne (125 jours)
- 2^{ème} campagne (41 jours)

Le protocole suivi lors de ces deux études est le même :

- préparation de l'inoculum au BRGM d'Orléans (45)
- ensemencement des trois bioréacteurs par le consortium bactérien CAsO1
- étude du suivi de l'oxydation bactérienne par la population CAsO1 en fonction de plusieurs paramètres (temps de séjour, concentration en As(III) et As(V), température, conductivité)
- démontage des bioréacteurs et prélèvements du support "Pouzzolane + Biofilm"
- cinétique d'oxydation du support après démontage des bioréacteurs en réacteur discontinu
- suivi de la dynamique de la biomasse par PCR-SSCP au LBE de Narbonne (11)

Au cours de l'étude, un échantillonnage quotidien est réalisé à l'intérieur de chaque réservoir et bioréacteur; plusieurs échantillons étant prélevés sur toute la hauteur d'un bioréacteur (Cf "Matériel et Méthodes" - chapitre VII) sont immédiatement acidifiés avec une solution d'HCl 1% (2M) et conservés jusqu'à l'analyse à 4°C.

La détermination des concentrations en As(III) dans les échantillons est déterminée par HG-AAS. Le dosage par GF-AAS permet la détermination de l'arsenic total. La détermination de la concentration en As(V) dans chaque échantillon est déterminée par différence entre la concentration en As(Tot) déterminée par GF-AAS et celle en As(III) déterminée par HG-AAS.

I.1. Inoculation des bioréacteurs

L'inoculation des bioréacteurs est réalisée au démarrage de chaque campagne, suivant le protocole décrit dans la partie Matériel et Méthodes : mise en recirculation, dans chacun des trois bioréacteurs, de la solution d'inoculum CAsO1 pendant 70 h, à une température de 11°C.

I.1.1. Inoculation de la 1^{ère} campagne (Juillet - Novembre 2005)

Les conditions expérimentales, relatives à l'inoculation de la 1^{ère} campagne sont définies dans le Tableau 33.

Tableau 33 : Paramètres expérimentaux de la phase d'inoculation des bioréacteurs

Paramètres	Bioréacteur C1	Bioréacteur C2	Bioréacteur C3
Volume accessible théorique des bioréacteurs (L)	16	15	15
Masse de pouzzolane (kg)	22	22	22
Volume solution A* (L)	1,6	1,5	1,5
Volume solution B** (L)	14,5	13,7	13,7
Concentration en As(V) dans le bioréacteur lors de l'inoculation ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	180,0	178,6	178,6
Concentration en As(III) dans le bioréacteur lors de l'inoculation ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	90,0	90,1	90,1
Bac de reprise :	oui	non	non
- volume solution A* (L)	0,2	-	-
- volume solution B** (L)	1,8	-	-
Quantité d'As(III) apportée (mg)	1,6	1,4	1,4
Débit d'alimentation (mL.min^{-1})	8	8	8
Temps de séjour dans le bioréacteur (h)	33,3	31,3	31,3

Solution A* : solution d'inoculum préparée au BRGM d'Orléans (45)

Solution B** : solution d'eau synthétique enrichie à $100 \mu\text{g.L}^{-1}$ en As(III)

Les résultats des suivis des évolutions des concentrations en As(V) et As(III) lors de la 1^{ère} campagne d'inoculation sont représentés sur la Figure 35.

On constate que la concentration en As(III) qui est de 90 $\mu\text{g.L}^{-1}$ dans chacun des trois bioréacteurs au début de l'inoculation décroît très rapidement : au bout de 10 h cette concentration devient nulle. Les suivis des évolutions des concentrations en As(V) montrent que les concentrations en ions arséniate sont identiques dans chacun des 3 bioréacteurs et constante durant toute la phase d'inoculation.

Ainsi, les arsénites ne sont pas oxydés en As(V) mais plutôt retenus par le matériau support. Cette réaction, due à la coprécipitation/adsorption d'As(III) sur la pouzzolane, est très rapide mais également très sélective car comme lors des essais en réacteur discontinu (chapitre précédent), seul l'As(III) est affecté par ce phénomène, As(V) n'étant pas retenu à la surface du solide.

L'augmentation de la concentration en As(V) dans le bioréacteur C1 après 48 h de mise en recirculation (soit un 1,5 fois la durée du temps de séjour) est due à l'apport des ions arséniate contenus dans le réservoir R1 (Cf "Matériel et Méthodes" - chapitre VII).

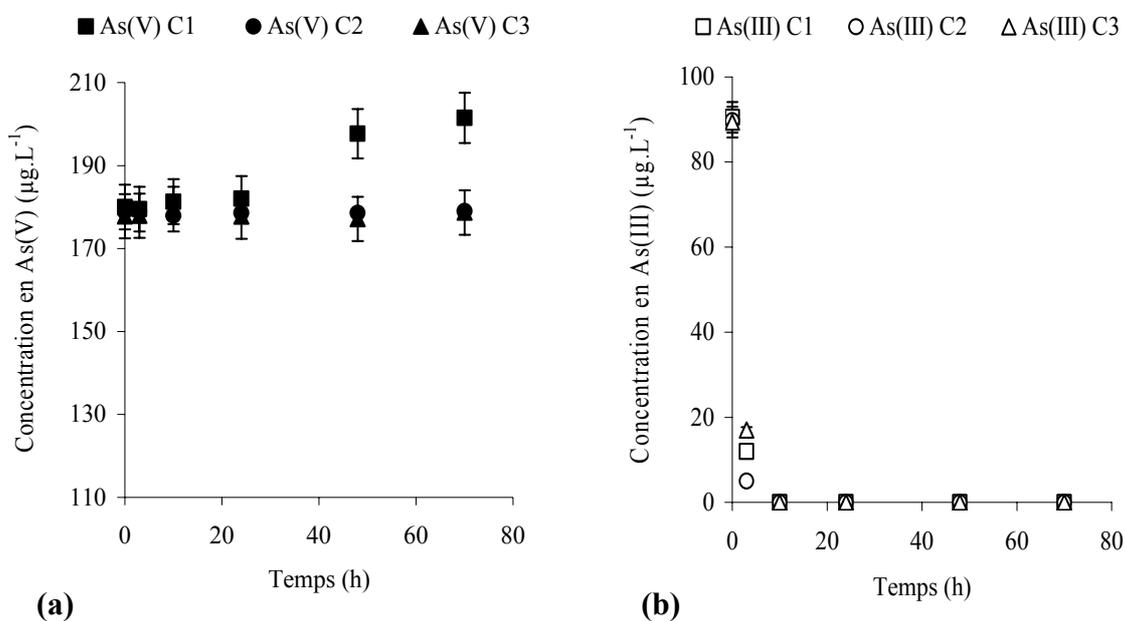


Figure 35 : Evolution de la concentration en As(V) et en As(III) en sortie des bioréacteurs C1, C2 et C3

La quantité de pouzzolane contenue dans les bioréacteurs étant de 22 kg, la capacité d'adsorption de la pouzzolane est de 2,2 mg d'As(III), d'après la caractérisation de la pouzzolane (Cf "Résultats Expérimentaux" - chapitre C₂.II-6.2). La quantité d'As(III) introduite dans les bioréacteurs lors de l'inoculation (1,4 à 1,6 mg) est donc insuffisante pour saturer la pouzzolane. Durant cette étape, étant données les réactions interférentes liées à la pouzzolane, il n'est donc pas possible de conclure quant à l'activité oxydante de la population bactérienne CAsO1.

I.1.2. Inoculation de la 2^{ème} campagne (Janvier - Mars 2006)

La procédure d'inoculation appliquée lors de cette seconde inoculation est identique à celle établie lors de la 1^{ère} campagne.

Cependant, la pouzzolane utilisée lors de ce second ensemencement est la pouzzolane qui a déjà été utilisée lors de la 1^{ère} campagne. Elle est lavée à l'eau ultra pure, séchée, puis réintroduite dans les bioréacteurs et mise en contact avec de l'eau ultra-pure (débit de 25 mL.min⁻¹). La quantité d'arsenic relarguée en sortie des bioréacteurs après une période de 5 jours de circulation d'eau ultra pure est de $3,7 \pm 0,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour C1, $4,1 \pm 0,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour C2 et $3,3 \pm 0,1 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour C3. La détermination de la spéciation a montré que l'arsenic relargué était essentiellement sous forme As(V).

Les volumes accessibles de chaque bioréacteur sont identiques à ceux déterminés lors de la première inoculation. Ainsi, les volumes de la solution d'inoculum et de l'eau synthétique enrichie en As(III) introduits dans les trois bioréacteurs sont identiques à ceux introduits précédemment.

Les résultats obtenus lors de cette seconde campagne d'inoculation sont représentés sur la Figure 36. Comme lors de la 1^{ère} inoculation, la concentration en As(III) dans chacun des trois bioréacteurs diminue rapidement dès le lancement de l'inoculation. Néanmoins, au bout de trois heures, la concentration en As(III) est 5 fois plus importante dans cette 2^{ème} campagne d'inoculation que lors de la 1^{ère}. Cette diminution, moins rapide de la teneur en As(III) dans les bioréacteurs est due à l'absence de réaction avec la pouzzolane et au seul phénomène d'oxydation bactérienne par la population CAsO1. En effet, dans le même temps, les concentrations en As(V) augmentent alors que lors de la 1^{ère} campagne d'inoculation, les concentrations des ions arséniate étaient restées constantes.

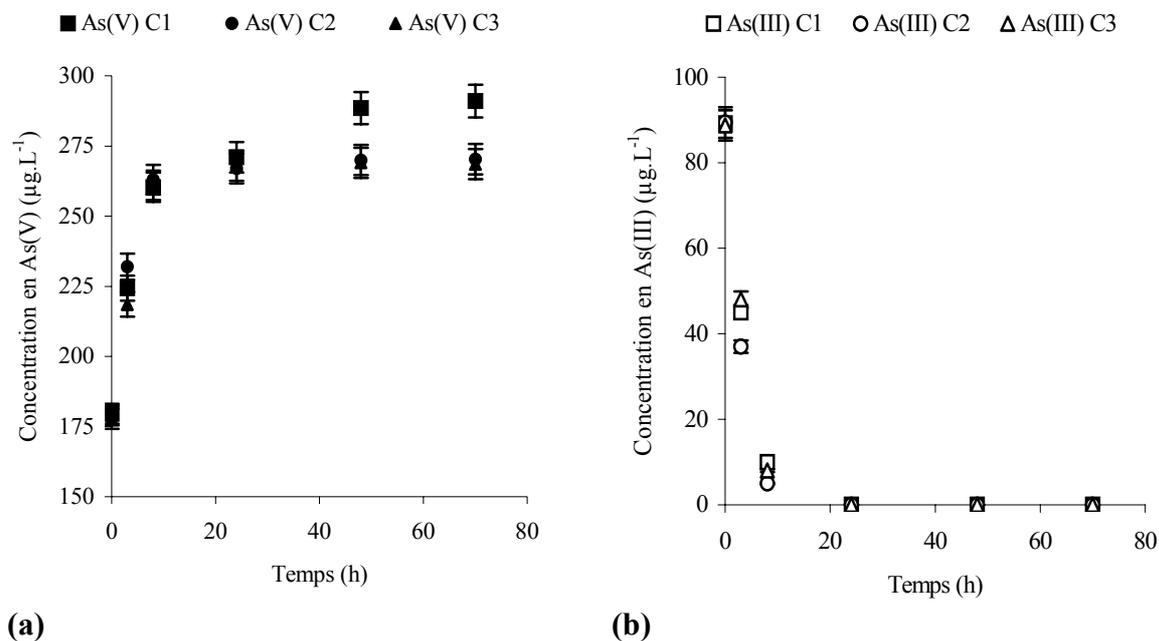


Figure 36 : Evolution de la concentration en As(V) et en As(III) en sortie des bioréacteurs C1, C2 et C3

La cinétique d'oxydation de l'As(III) par la population bactérienne déterminée lors de cette phase d'inoculation est de $11 \pm 0,7 \mu\text{gAs(III).L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Cette cinétique d'oxydation d'As(III) par CAsO1 est lente par rapport aux résultats obtenus par Battaglia-Brunet *et al.* (2005) à savoir, $166 \text{ mgAs(III).L}^{-1}.\text{h}^{-1}$, mais s'explique par le fait que la formation du biofilm n'est pas finalisée, au bout d'une dizaine d'heures de fonctionnement du pilote. De plus, la plus faible concentration en arsénite dans l'eau étudiée (environ $90 \mu\text{g.L}^{-1}$), par rapport à celle utilisée par Battaglia-Brunet *et al.* (2005), 180 mg.L^{-1} , peut également expliquer cette cinétique plus lente.

I.2. Suivi de l'oxydation bactérienne après inoculation

Suite à l'inoculation, les bioréacteurs sont alimentés avec l'eau synthétique enrichie en As(III) à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Les résultats obtenus lors de la seconde campagne de fonctionnement du pilote, suite à l'inoculation, sont présentés sur la Figure 37.

L'oxydation de As(III) est totale en sortie des bioréacteurs dès le premier jour de fonctionnement, suivant l'inoculation. Les résultats obtenus pour les bioréacteurs C2 et C3 étant similaires, seuls les résultats concernant les bioréacteurs C1 et C2 sont présentés.

Des échantillonnages sont effectués au sein des bioréacteurs. Sur la Figure 37, les résultats concernant les échantillonnages situés à proximité de l'alimentation du bioréacteur sont présentés :

- M-150 : prélèvement effectué à 150 mm, au dessus du point d'alimentation du bioréacteur C1, qui fonctionne de façon ascendante

- D-50 et D-250 : prélèvements effectués respectivement à 50 et 250 mm, au dessous du point d'alimentation des bioréacteurs C2 et C3, qui fonctionnent gravitairement (Cf "Matériel et Méthodes" - chapitre VII).

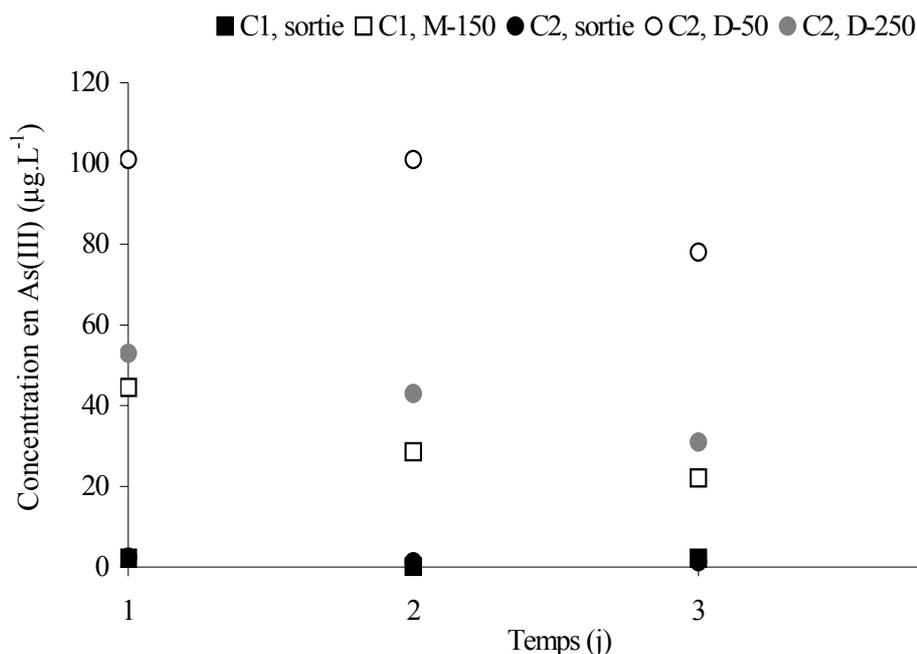


Figure 37 : Evolution de la concentration en As(III) dans les bioréacteurs C1 et C2 en fonction de la distance par rapport à l'alimentation, pour un temps de séjour de 10h, à 11°C, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III)

Après 24 h d'alimentation post-inoculation, pour le bioréacteur C1, 55% de l'As(III) est oxydée en M-150, alors qu'aucune oxydation n'est observée dans les bioréacteurs C2 en D-20. De plus, les résultats obtenus pour le point C2, D-250 montrent que l'oxydation de l'As(III) est moins importante 250 mm après le point d'alimentation pour le bioréacteur C2 que 150 mm après le point d'alimentation pour le bioréacteur C1.

Ainsi, même si l'oxydation de l'As(III) en sortie de bioréacteur est totale dès le 1^{er} jour suivant l'inoculation, il apparaît qu'une alimentation ascendante conduit à une oxydation plus rapide de l'As(III) en As(V) au sein du bioréacteur.

I.3. Dosage de l'arsenic organique

Le procédé d'oxydation biologique de l'arsenic pourrait conduire à la formation d'arsenic organique (MMA et DMA) par méthylation de l'arsenic inorganique.

Ainsi, le dosage des espèces inorganiques sur trente échantillons prélevés, au cours de la 2^{ème} campagne, en sortie de bioréacteurs, est réalisée par HPLC-HG-AFS au laboratoire L.C.A.B.I.E. de Pau (64). Cette technique permet de détecter l'As(III), l'As(V), le MMA et le DMA à des concentrations inférieures au $\mu\text{g.L}^{-1}$ (Cf "Matériel et Méthodes" - chapitre III).

Les résultats obtenus montrent l'absence de composés arséniés organiques dans les échantillons analysés.

I.4. Suivi du pH et du potentiel redox

Le pH et le potentiel redox sont suivis en entrée et en sortie de chaque bioréacteur. Les résultats obtenus montrent des tendances similaires pour les trois bioréacteurs et pour les deux campagnes. La Figure 38 présente un exemple de suivi du pH et du potentiel redox obtenus lors de seconde campagne d'oxydation.

La tendance globale montre une acidification de l'eau lors de son passage dans le bioréacteur. Ainsi, à l'issue du traitement d'oxydation de l'As(III) en As(V), une chute de $0,6 \pm 0,4$ unité pH est observée (suivi portant sur 2670 points).

L'évolution du potentiel redox obéit à la tendance inverse. En effet, le suivi Eh montre une augmentation du potentiel redox en sortie de bioréacteur de $0,9 \pm 0,7$ mV.

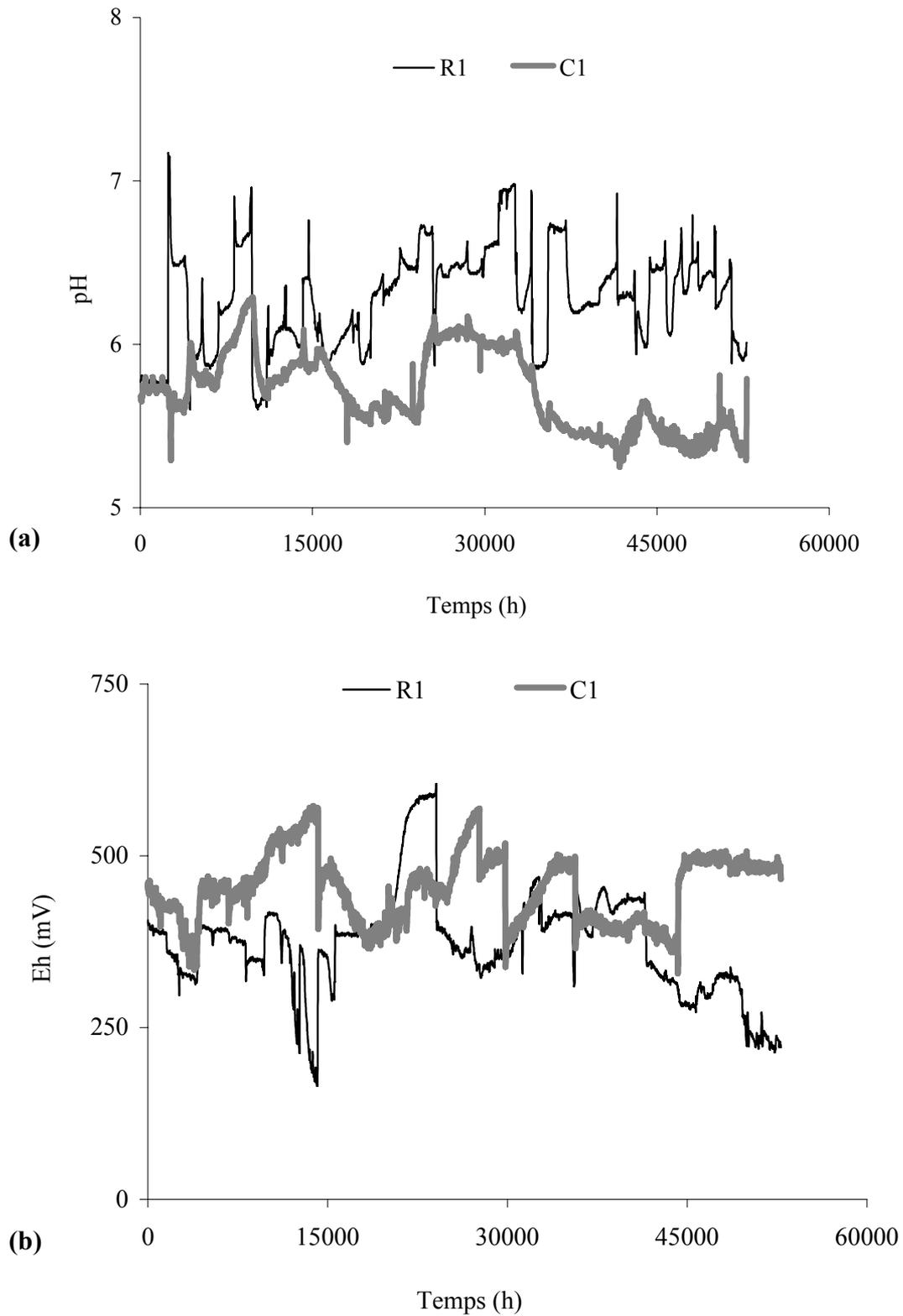


Figure 38 : Variation, dans le réservoir R1 et dans le bioréacteur C1, lors de la seconde campagne de mesure, du pH (a) et du potentiel redox (b)

Les résultats concernant le pH sont en accords avec ceux obtenus par Battaglia-Brunet *et al.* (2002). Selon cette étude, pour un pH de l'eau à traiter de 6,5, une diminution de 0,5 unité pH est observée lors de l'oxydation de l'As(III) par la population CAsO1. Cette diminution du pH lors de l'oxydation de l'As(III) en As(V) correspond à la production de proton, suivant la réaction (48) :



En ce qui concerne l'augmentation du potentiel redox en sortie de bioréacteur, l'oxydation des arsénites en arsénates explique également ce constat.

I.5. Influence de la température

L'activité oxydante de la population CAsO1 à une température de 25 ± 2 °C est testée dans les trois bioréacteurs durant une période de 10 jours. Battaglia-Brunet *et al.* (2002) ont montré que la cinétique d'oxydation d'As(III) par la population CAsO1 est optimale à 25°C; lorsque la température est de 10°C, le taux d'oxydation est 15 fois inférieur à celui obtenu à 25°C.

Dans nos conditions opératoires, deux températures sont testées :

- 11°C, ce qui correspond aux conditions de température rencontrées dans les eaux souterraines,
- 25°C, ce qui correspond à la température optimale pour la population CAsO1.

Le temps de séjour appliqué dans les bioréacteurs est de 10 h. Les résultats obtenus dans le cas du bioréacteur C2 sont présentés Figure 39.

La Figure 39 montre que le pourcentage d'As(III) oxydé en D-50 est de 65% quelle que soit la température (11 ou 25°C).

En sortie de bioréacteur, la totalité de l'As(III) est oxydée pour les deux températures testées. Des résultats similaires sont obtenus dans le bioréacteur C3.

Dans le bioréacteur C1, la totalité de l'As(III) est oxydée en sortie de réacteur; le pourcentage d'As(III) oxydé en M-150 étant identique à 11°C et 25°C (96-97%).

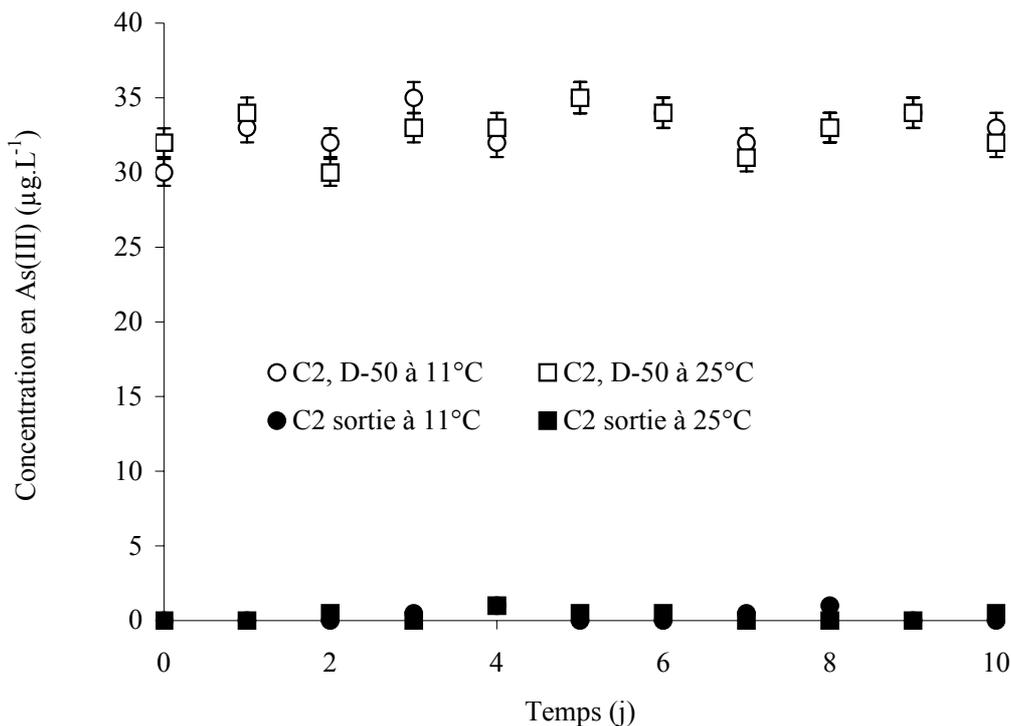


Figure 39 : Evolution de la concentration en As(III) dans le bioréacteur C2 en fonction de la température et de la distance par rapport à l'alimentation pour un temps de séjour de 10 h, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III)

Contrairement à ce qui était attendu, la température de 11°C ne semble pas affecter le rendement d'oxydation d'As(III) en As(V) dans les conditions opératoires étudiées. Ainsi, dans ces conditions opératoires, la population CAsO1 a une efficacité identique quant à l'oxydation des arsénites en arsénates que la température soit de 25°C ou de 11°C. Ce résultat est certainement lié à la bonne colonisation du matériau support par le consortium CAsO1.

I.6. Influence de la conductivité

La conductivité de l'eau synthétique est de $72 \pm 4 \mu\text{S.cm}^{-1}$. L'influence d'une conductivité plus élevée ($190 \pm 8 \mu\text{S.cm}^{-1}$), est testée en enrichissant l'eau synthétique avec du chlorure de sodium durant 10 jours. Cette conductivité, correspond à celle d'une eau du Limousin ramenée à l'équilibre calco-carbonique.

L'influence de la conductivité sur l'oxydation d'As(III) est étudiée pour une solution d'eau synthétique à $100 \mu\text{gAs.L}^{-1}$, à une température de $11 \pm 0,5 \text{ }^\circ\text{C}$. La Figure 40 montre l'évolution de la concentration en As(III) dans le bioréacteur C2 en fonction du temps.

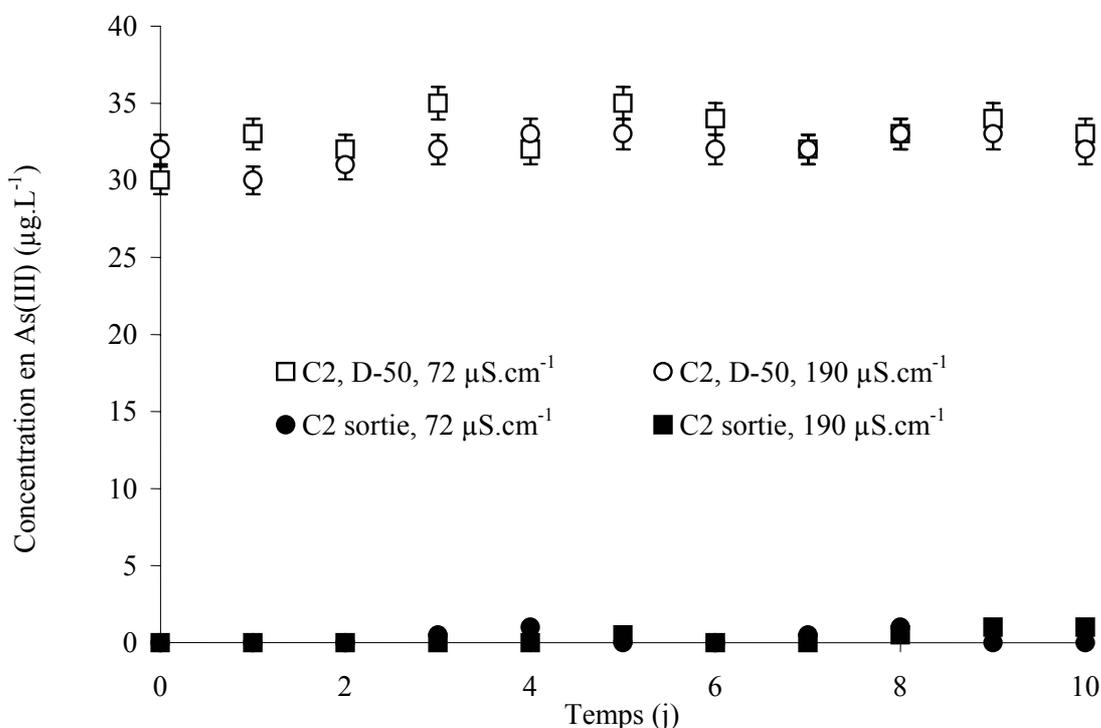


Figure 40 : Evolution de la concentration en As(III) dans le bioréacteur C2 en fonction de la conductivité et de la distance par rapport à l'alimentation pour un temps de séjour de 10 h, à 11°C , avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III)

Dans les conditions opératoires utilisées, la conductivité n'influence pas la cinétique d'oxydation d'As(III) en As(V) dans le bioréacteur C2.

Des résultats similaires sont obtenus pour les bioréacteurs C1 et C3, ainsi qu'à une température de fonctionnement de 25°C .

I.7. Influence du temps de séjour

I.7.1. Influence du temps de séjour après inoculation

Lors de la première campagne de suivi, un temps de séjour post-inoculation de 50 h est appliqué alors que pour la seconde campagne, le temps de séjour est fixé à 10 h.

La Figure 41 présente les résultats d'oxydation obtenus en fonction de ces temps de séjour, après 2, 3 et 4 jours de fonctionnement pour les bioréacteurs C1 et C2; les valeurs obtenues pour C3 étant identiques à celles obtenues pour C2, elles ne sont pas représentées.

L'oxydation est totale en sortie de réacteur quel que soit le temps de séjour appliqué (10 ou 50 h) après l'inoculation et le type d'alimentation des bioréacteurs : ascendant ou descendant.

Les résultats concernant les deux premiers jours post-inoculation ne sont pas pris en compte, dans la mesure où lors de la première inoculation, avant le deuxième jour, la pouzzolane n'était pas saturée. Après le deuxième jour, il n'y a plus d'interférences associées à la pouzzolane, le seul paramètre variable entre les deux expériences est le débit d'alimentation.

Au premier point de prélèvement, situé à 150 mm (M-150) en aval de l'arrivée d'eau pour le bioréacteur C1 et à 50 mm (D-50) dans le cas des bioréacteurs C2 et C3, les résultats de la Figure 41 montrent que l'efficacité de l'oxydation d'As(III) en As(V) diminue avec la réduction du temps de séjour. Après 48 h d'alimentation post-inoculation pour le bioréacteur C1, lorsque le temps de séjour appliqué est de 50 h, la totalité de l'As(III) ($100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$) est oxydée en M-150 alors que seulement 55% d'As(III) sont oxydés lorsque le temps de séjour est de 10 h. Pour ce dernier temps de séjour, au bout 4 jours, le pourcentage d'As(III) oxydé atteint 85 %, en M-150. Les performances d'oxydation au sein des bioréacteurs augmentent donc avec le temps de fonctionnement.

Un comportement similaire est observé pour les bioréacteurs alimentés gravitairement. Lorsque le temps de séjour est de 50 h, 75% d'As(III) est oxydé en D-50 dans les bioréacteurs C2 et C3. Pour un temps de séjour de 10 h, aucune oxydation d'As(III) en As(V) n'est constatée durant les 2 premiers jours suivant l'inoculation; le rendement d'oxydation d'As(III) atteint 30% au bout du 4^{ème} jour suivant l'inoculation.

Les pourcentages d'As(III) oxydés en C2, D-250 pour un temps de séjour de 10 h, étant inférieurs à ceux obtenus pour le même temps de séjour en C1, M-150, l'oxydation d'As(III) dans les bioréacteurs alimentés gravitairement est moins rapide que dans le cas du bioréacteur alimenté par voie ascendante.

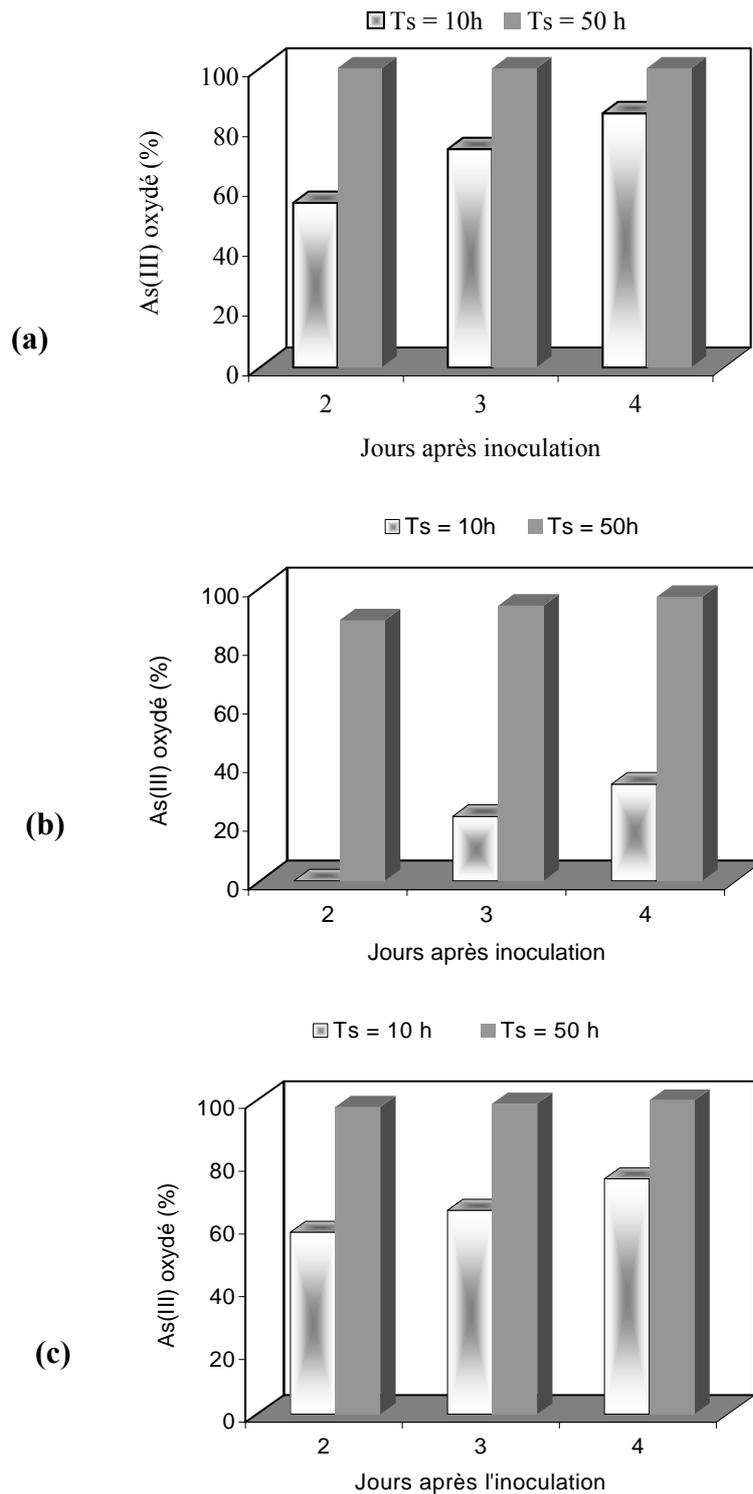


Figure 41 : Evolution du pourcentage d'As(III) oxydé aux points M-150 dans le bioréacteur C1 (a), et en D-50 (b) et D-250 (c) dans le bioréacteur C2, pour des temps de séjour post-inoculation de 10 h et 50 h, en fonction du nombre de jours suivant l'inoculation pour une alimentation avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III), à 11°C , en fonction du temps de séjour

I.7.2. Influence du temps de séjour durant le suivi du pilote

L'impact du temps de séjour sur l'efficacité de l'oxydation de l'As(III) par la population CAsO1 est étudié. Dans un objectif de potabilisation des eaux ou de traitement d'effluents industriels, il est nécessaire de travailler avec des temps de séjours proches de 1 heure. Ainsi, nous avons limité les temps de séjour par rapport à l'alimentation à des temps compris entre 1 et 20 h.

I.7.2.1. Influence du temps de séjour en sortie de bioréacteurs

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'influence du temps de séjour sur l'activité oxydante de la population bactérienne CAsO1 sont représentés pour chacun des bioréacteurs sur la Figure 42.

Pour chacun des temps de séjour, le pourcentage d'oxydation de l'As(III) après 1 jour et 5 jours de fonctionnement est déterminé. Les temps de séjour affectent l'efficacité de l'oxydation d'As(III), et ce, quel que soit le type d'alimentation étudié (gravitaire ou ascendant). En effet, si la totalité de l'As(III) contenue dans l'eau est oxydée dans chacun des trois bioréacteurs pour un temps de séjour de 20 h, seulement 75, 80 et 86% d'As(III) sont oxydés respectivement dans les bioréacteurs C3, C2 et C1, et après un jour de fonctionnement à un temps de séjour de 1 h.

La Figure 42 met également en évidence une augmentation du pourcentage d'oxydation d'As(III) dans les trois bioréacteurs lorsque l'analyse est réalisée après 5 jours de fonctionnement. Des pourcentages d'oxydation de 85 et 90% pour C2 et C3, et de 95% pour C1 sont atteints pour des temps de séjour de 1h. La même observation peut être réalisée pour des temps de séjour de 3h.

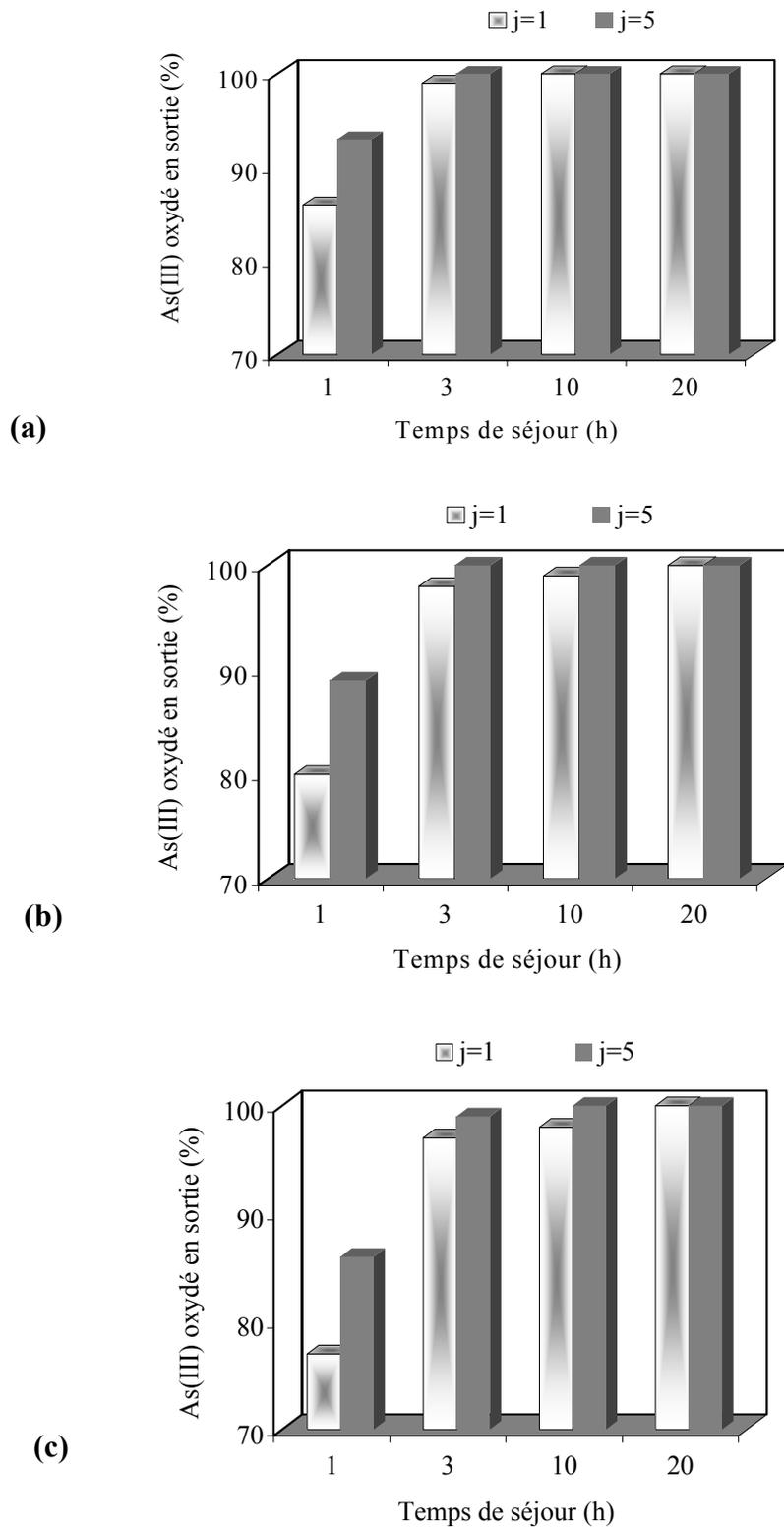


Figure 42 : Influence du temps de séjour sur l'efficacité de l'oxydation d'As(III) dans les bioréacteurs C1 (a), C2 (b) et C3 (c), à 11°C, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III)

Un temps d'adaptation des microorganismes pour des temps de séjour inférieurs à 3 heures, et dans les conditions opératoires testées, est donc nécessaire. Après un délai de 5 jours de fonctionnement, même pour un temps de séjour de 1 heure, l'oxydation de l'As(III) en As(V) est proche de 90%, pour l'ensemble des bioréacteurs.

1.7.2.2. Influence du temps de séjour au sein des bioréacteurs

L'influence du temps de séjour sur l'efficacité de l'activité oxydante de la population CAsO1 ayant été mise en évidence dans le paragraphe précédent; un suivi de l'oxydation d'As(III) au sein des bioréacteurs est nécessaire pour quantifier l'oxydation bactérienne d'As(III) au sein même des bioréacteurs.

Des prélèvements, pour différents temps de séjour, sont effectués à différentes hauteurs dans les trois bioréacteurs. En effet, l'étude précédente ayant montré qu'une adaptation des microorganismes pour des temps de séjours proches d'une heure est nécessaire, deux séries d'échantillonnages sont réalisées pour un même temps de séjour. Une première série après 3 jours de fonctionnement et une deuxième série après 5 jours de fonctionnement dans les mêmes conditions opératoires sont comparées.

Les résultats présentés sur la Figure 43 montrent qu'une oxydation dans le bioréacteur C1 a lieu dans les premières sections traversées : plus de 95% de l'oxydation d'As(III) en As(V) est réalisée dans les 150 premiers mm du bioréacteur pour des temps de séjours supérieurs à 3 h.

Pour des temps de séjour de 1 heure, et après 1 jour de fonctionnement, 75% d'As (III) est oxydé en M-150. Le passage de l'eau à traiter sur le reste de la colonne (850 mm), ne conduit qu'à un abattement supplémentaire de 15% (rendement d'oxydation global d'As(III) de 90% sur l'ensemble du bioréacteur). La concentration en As(III) au niveau des points M-550, M-750 et M-950 évolue très peu, il ne s'opère donc que peu d'oxydation de l'As(III) dans cette zone du bioréacteur.

Le temps de fonctionnement du bioréacteur influence les rendements d'oxydation d'As(III), pour le temps de séjour de 1 h. Pour un temps de fonctionnement de 5 jours, le pourcentage d'As(III) oxydé en sortie de C1 est supérieur à 95%, alors qu'il n'atteint que 75% après une durée de fonctionnement de 1 jour.

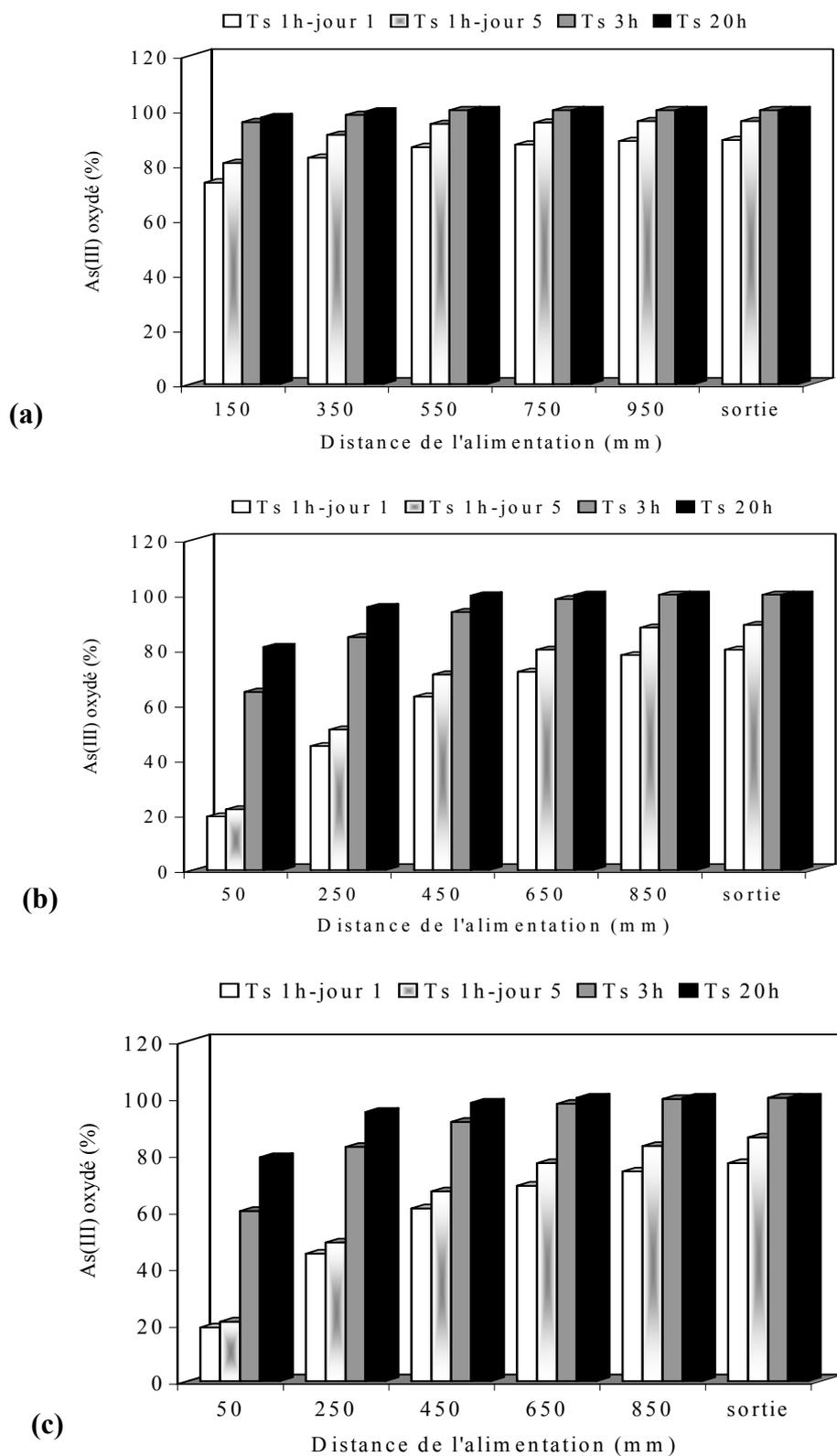


Figure 43 : Evolution du pourcentage d'As(III) oxydé au sein des bioréacteurs C1 (a), C2 (b), C3 (c) , à 11°C, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III), en fonction du temps de séjour et de la durée de fonctionnement du pilote (1j, 5j)

Pour les bioréacteurs C2 et C3, les résultats obtenus sont différents. Pour des temps de séjour supérieurs à 3 h, plus de 60% d'As(III) sont oxydés dans les 250 premiers mm. Pour un temps de séjour de 1 h, une diminution de la concentration en As(III) est observée tout au long du passage de l'eau dans les bioréacteurs : au point D-150, le pourcentage d'As(III) oxydé est de 20%, il atteint 45% en D-250, 60% en D-450, 70% en D-650 et 80% en D-850.

Pour ce dernier temps de séjour (1 h), la représentation de l'évolution de la concentration en As(III) en fonction de l'avancement au sein du bioréacteur permet de démontrer que la cinétique d'oxydation suit une loi du type :

$$C(t) / C(0) = \exp (-kt) \quad (49)$$

La réaction d'oxydation de l'As(III) au sein des bioréacteurs alimentés gravitairement est donc une réaction du 1^{er} ordre en réacteur piston; la valeur de la constante d'oxydation déterminée dans ces conditions étant de 0,11 min⁻¹.

Cette étude met donc en évidence la présence d'une oxydation de l'As(III), sur l'ensemble du profil des bioréacteurs alimentés gravitairement (C2 et C3), oxydation s'apparentant à une oxydation du 1^{er} ordre. Pour le bioréacteur alimenté de façon ascendante (C1), l'oxydation est totale dans le 1^{er} tiers de bioréacteur. La répartition de la biomasse oxydante semble donc être différente selon le type d'alimentation des bioréacteurs; cette répartition semblant être homogène dans les bioréacteurs alimentés gravitairement, alors qu'elle paraît être hétérogène dans le bioréacteur alimenté par voie ascendante.

I.8. Etude de l'influence de la concentration en As(III) sur les performances d'oxydation

Les travaux menés sur l'oxydation bactérienne de l'As(III), sont généralement réalisés avec de fortes teneurs en arsenic, souvent supérieures au mg.L⁻¹ (Cf Tableau 11, "Synthèse Bibliographique" - chapitre IX). Il est également important de connaître la capacité oxydante des bactéries pour des eaux ou effluents contenant de très faibles concentrations en As(III) afin d'aboutir pour une application dans le traitement des eaux faiblement chargées en arsenic (concentration comprise entre 10 et 100 µg.L⁻¹). La résistance de la population CAsO1 et sa réponse dans le temps à de telles concentrations doit également être étudiée et surtout, leur résistance à de telles concentrations.

Ainsi, au cours de nos travaux, l'étude de l'oxydation bactérienne de l'As(III) pour une concentration en As(III) comprise entre 10 et 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ est réalisée, dans un premier temps, pour un temps de séjour fixé à 5 ou 2 h durant une période de trois semaines, puis dans un deuxième temps, pour des temps de séjour variables.

I.8.1. Performances en sortie de bioréacteur

Le suivi de l'oxydation bactérienne en sortie de bioréacteur, pour une concentration en As(III) variant de 10 à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ est réalisée dans l'eau synthétique à 11°C, pour un temps de séjour de 5 h.

Quelle que soit la concentration en As(III), la totalité de As(III) initialement introduite dans l'eau synthétique est oxydée en As(V) en sortie des bioréacteur C1, C2 et C3.

La Figure 44 montre que la réponse à une augmentation de la concentration en As(III) affecte peu le rendement de l'oxydation en As(V). En effet, lorsque la concentration en As(III) est quadruplé en deux jours, la concentration en As(III) en sortie du bioréacteur C2 reste inférieure à 3 $\mu\text{g.L}^{-1}$.

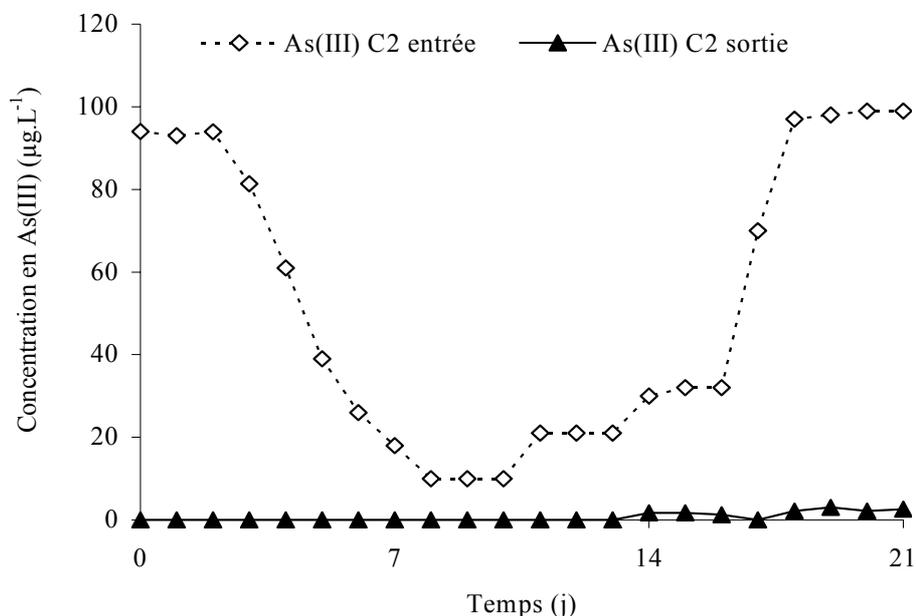


Figure 44 : Evolution de la concentration en As(III) au sein du bioréacteur C2 en fonction du ratio As(III)/As(V), pour un temps de séjour de 5h, à 11°C, avec une eau synthétique enrichie à $100 \pm 3 \mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III)

L'efficacité de l'oxydation bactérienne d'As(III) en As(V) en sortie de bioréacteur n'est donc pas affectée pour des concentrations en As(III) comprise entre 10 à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ et un temps de séjour de 5 h. Pour ce même temps de séjour, une hausse de la concentration en As(III) influence peu le pourcentage d'As(III) oxydé.

L'efficacité de l'oxydation bactérienne ayant été démontrée pour de faibles concentrations en As(III) à un temps de séjour de 5 h, d'autres essais sont réalisés pour un temps de séjour inférieur.

I.8.2. Performances au sein des bioréacteurs

L'influence de la concentration initiale en As(III) dans l'eau synthétique à 11°C est testée pour des temps de séjour de 2 h à 25, 45 et 100 $\mu\text{gAs(III).L}^{-1}$.

Des prélèvements sont effectués en M-150 et en sortie de bioréacteur pour C1 et pour C2 et C3, en D-50, D-250 et en sortie. Ces prélèvements sont réalisés deux jours après établissement du temps de séjour à la concentration souhaitée.

Comme le montre la Figure 45, l'oxydation de l'As(III) en sortie et au sein des bioréacteurs présente des profils différents selon le type d'alimentation.

Pour le bioréacteur C1, et quelle que soit la concentration initiale en As(III), le pourcentage d'As(III) oxydé en M-150 est supérieur à 95%; le pourcentage oxydé en sortie étant de 100%.

Pour les bioréacteurs C2 et C3, les résultats obtenus sont identiques dans les deux cas, et montrent une diminution du pourcentage d'As(III) oxydé au sein du bioréacteur lorsque la concentration augmente. Cette évolution est similaire pour les trois points de prélèvement effectués dans les deux bioréacteurs C2 et C3. Ainsi, si en sortie de ces bioréacteurs, le pourcentage d'As(III) oxydé est supérieur à 95% dans tous les cas, le pourcentage d'As(III) oxydé en D-50 n'est que de 35, 70 et 80-85% pour des concentrations en As(III) respectivement de 100, 45 et 25 $\mu\text{g.L}^{-1}$, correspondant à des concentrations de 35, 31,5 et 21,2 $\mu\text{g.L}^{-1}$ d'As(III) oxydés.

Ces résultats mettent donc en évidence l'influence de la concentration en As(III) sur la cinétique d'oxydation. En effet, la cinétique d'oxydation est d'autant plus rapide que la concentration en As(III) en entrée du bioréacteur est importante.

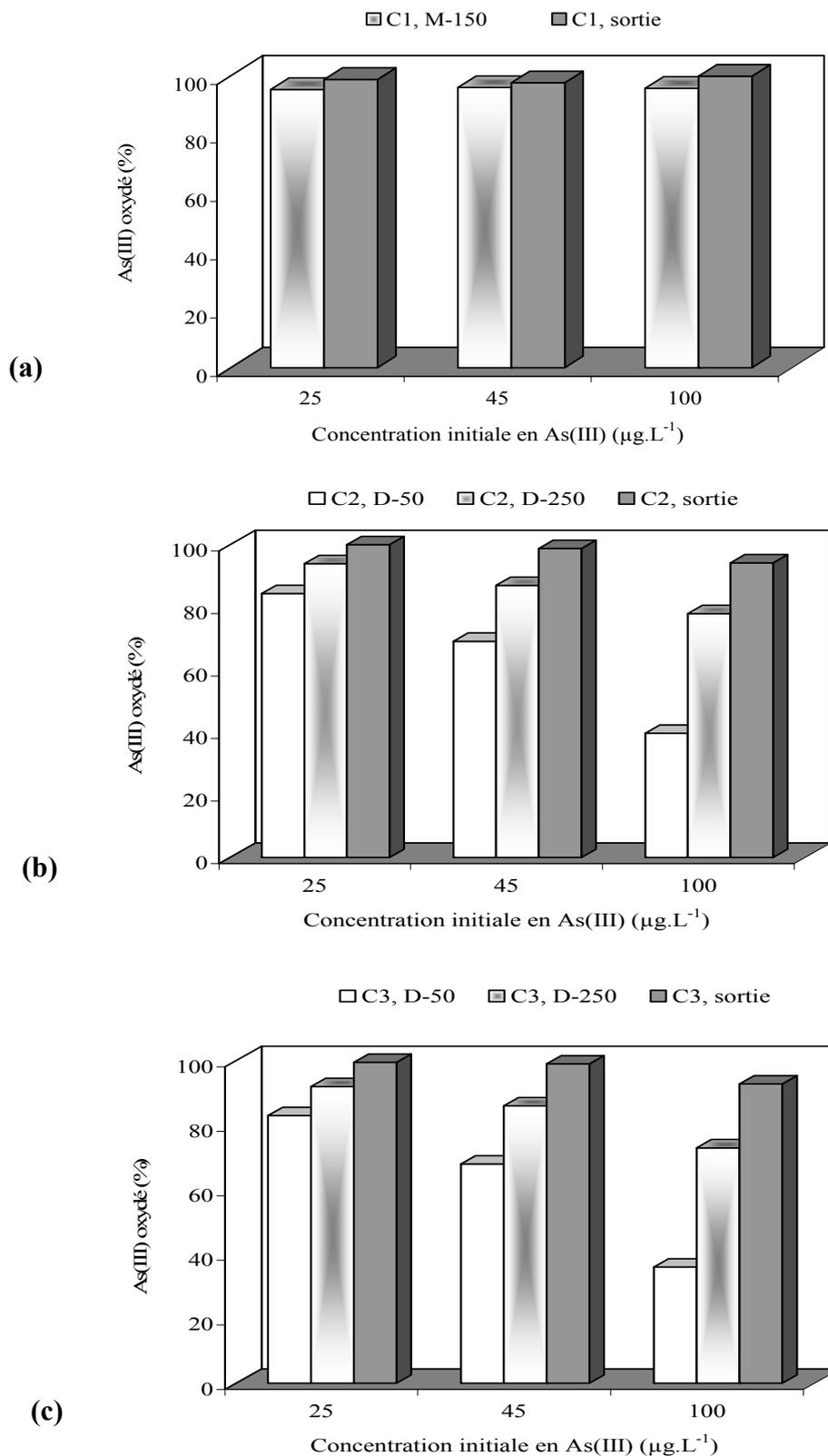


Figure 45 : Evolution du pourcentage d'As(III) oxydé dans les bioréacteurs C1 (a), C2 (b) et C3 (c) pour un temps de séjour de 2h, à 11°C, en fonction de la concentration en As(III) dans l'eau synthétique

Les résultats obtenus pour les deux bioréacteurs en D-250 présentent des pourcentages d'oxydation en As(III) inférieurs à ceux obtenus en M-150 avec le bioréacteur C1.

Cette étude met en évidence le fait que pour un temps de séjour de 2 h, une variation de la concentration en As(III) de 25 à 100 $\mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ n'affecte pas le pourcentage d'oxydation d'As(III) en sortie de bioréacteur. De plus, nous avons constaté que la densité de biomasse oxydante (ou son efficacité) dans les premières sections des bioréacteurs alimenté par flux ascendant est supérieure à celle existante dans les deux bioréacteurs alimentés par flux gravitaire.

I.9. Etude de l'influence de la variation du temps de séjour et de la concentration en As(III)

Afin de simuler les conditions opératoires rencontrées dans les stations de traitement des eaux, l'efficacité de l'oxydation a été suivie en faisant varier simultanément les paramètres temps de séjour et concentration en As(III) dans l'eau à traiter. Dans le cadre de cette partie, les résultats seront donc présentés en fonction de la charge d'arsenic ($\mu\text{gAs(III)}\cdot\text{min}^{-1}$) appliquée en entrée de bioréacteur. L'influence de la charge est suivie en fonction de la distance dans les bioréacteurs.

Les résultats obtenus dans le cadre de cette étude sont représentés sur la Figure 46.

Pour l'ensemble des bioréacteurs, l'oxydation d'As(III) en sortie de bioréacteur est supérieure à 95%, même pour des charges de 25 $\mu\text{gAs(III)}\cdot\text{min}^{-1}$, excepté pour le temps de séjour le plus faible (1 h).

Pour le bioréacteur C1, le pourcentage d'As(III) oxydé en sortie de bioréacteur et en M-150 est maximal, sauf lorsque la charge appliquée est supérieure à 12,5 $\mu\text{gAs(III)}\cdot\text{min}^{-1}$.

Pour les bioréacteurs C2 et C3, des résultats similaires sont obtenus. Pour une charge égale à 2,5 $\mu\text{gAs(III)}\cdot\text{min}^{-1}$, l'oxydation d'As(III) est totale dès le 1^{er} point de prélèvement. Pour une charge appliquée supérieure, si le pourcentage d'As(III) oxydé en sortie de bioréacteur est supérieur à 95%, la charge appliquée a une influence directe sur le déroulement de l'oxydation au sein même du bioréacteur. En effet, lorsque la charge appliquée est multipliée par dix, le pourcentage d'As(III) oxydé en D-50 est divisé par 2. Au point D-250, l'efficacité de l'oxydation d'As(III) en fonction de la charge appliquée est peu affectée (diminution de 10%, lorsque la charge est multipliée par dix).

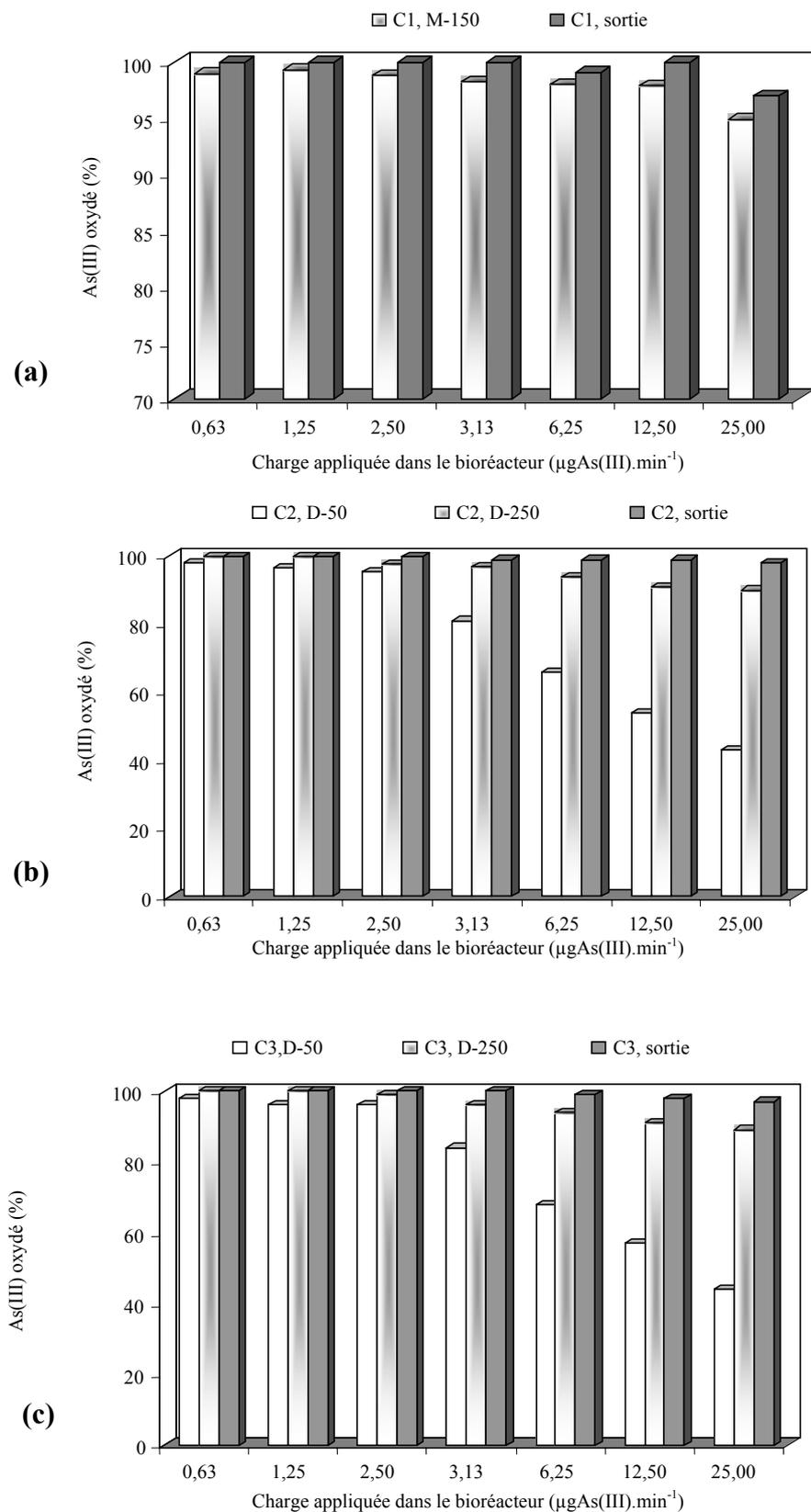


Figure 46 : Evolution du pourcentage d'As(III) oxydé en fonction de la charge appliquée au sein des bioréacteurs C1 (a), C2 (b) et C3 (c), dans l'eau synthétique, à 11°C

Les variations concomitantes de concentration (augmentation) et de temps de séjour (diminution) ne réduisent pas l'efficacité, en sortie des bioréacteurs, de l'oxydation de l'As(III) : 95% de l'As(III) est oxydé en sortie de bioréacteur pour une charge appliquée de 25 $\mu\text{gAs(III).min}^{-1}$. Néanmoins, pour cette charge, l'oxydation au sein des bioréacteurs est moins efficace : près de 90% de l'As(III) à une concentration de 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ est oxydé dans le 1^{er} quart du bioréacteur lorsqu'il est alimenté gravitairement et près de 95% de l'As(III) est oxydé dès le 1^{er} septième du bioréacteur lorsqu'il est alimenté par flux ascendant.

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'oxydation bactérienne d'As(III) en As(V) en bioréacteur par la population CAsO1 ont démontré que pour des temps de séjours supérieurs à 3 h, 95% d'As(III) étaient oxydés en sortie de bioréacteurs, et ce quel que soit le type d'alimentation (ascendant ou descendant); la cinétique d'oxydation augmentant avec la concentration en arsenic.

Lorsque le temps de séjour est abaissé à 1 h, un temps d'adaptation des microorganismes de 5 jours, à ce même débit, a été observé afin d'atteindre un rendement d'oxydation supérieur à 90%. Ces études ont également mis en évidence une répartition différente de la biomasse dans le bioréacteur selon le type d'alimentation. En effet, l'oxydation est totale dans le 1^{er} tiers de bioréacteur lorsqu'il est alimenté par voie ascensionnelle alors qu'elle a lieu dans toutes les sections lorsqu'il est alimenté par voie gravitaire.

La cinétique d'oxydation obtenue dans le cadre de cette étude, pour les bioréacteurs alimentés gravitairement, est une oxydation du 1^{er} ordre dont la constante est de 0,11 min^{-1} . Cette constante est légèrement plus lente que celle obtenue lors d'une oxydation de l'As(III) par l'ozone (0,15 min^{-1}), mais respectivement 500 et 1100 fois plus rapide que lors d'une oxydation à l'oxygène et à l'air (Kim et Nriagu, 2000).

Le procédé d'oxydation biologique de l'As(III) par le consortium bactérien CAsO1 est, en terme de cinétique, seulement 2 fois plus lent que celui mis en jeu lors de l'oxydation biologique indirecte de l'As(III) par des bactéries manganèse oxydantes (Katsoyannis et al., 2004). Par ailleurs, ce procédé peut être considéré comme entre 3 et 12 fois plus rapide que les procédés d'oxydation chimique de l'As(III) par le dioxyde de manganèse décrits précédemment dans la littérature (Oscarson et al., 1983; Moore et al., 1990).

Ainsi, les résultats obtenus dans le cadre de l'oxydation bactérienne de l'As(III) par l'As(V) pour des concentrations en As(III) inférieures à 100 $\mu\text{g.L}^{-1}$ sont très satisfaisants et comparables aux procédés classiques d'oxydation chimique ou biologique.

II - CARACTERISATION DE LA BIOMASSE APRES L'ARRET DES BIOREACTEURS

A la fin des deux campagnes d'études de l'oxydation bactérienne de l'As(III) par la population CAsO1, les temps de séjour appliqués étaient de 3 h et de 1 h respectivement après la première et la seconde campagne. Les bioréacteurs sont démontés et de la pouzzolane est prélevée en différentes hauteurs (Cf "Matériel et Méthodes"- chapitre VII).

Afin de caractériser la biomasse présente sur ce support deux types d'expérimentation sont menés :

- des suivis cinétiques de l'oxydation bactérienne de l'As(III) en réacteur discontinu
- un suivi de la dynamique du consortium bactérien CAsO1 par PCR-SSCP

II.1. Suivi de l'oxydation bactérienne de As(III) en réacteur discontinu

Un suivi cinétique de l'oxydation de l'As(III) par le support "Pouzzolane + Biofilm" est alors réalisée d'après le protocole établi dans la partie Matériel et Méthodes.

Cette étude a pour but de déterminer l'activité oxydante de la biomasse prélevée dans chacun des trois bioréacteurs. La caractérisation de l'activité oxydante permettra ainsi de mieux comprendre la répartition de l'activité oxydante au sein des bioréacteurs.

Les résultats obtenus pour les deux campagnes étant très similaires, seuls les résultats obtenus lors de la seconde sont présentés.

Les cinétiques d'oxydations obtenues pour les trois bioréacteurs sont présentées sur la Figure 47. Les cinétiques d'oxydation de l'As(III) montrent que la pouzzolane est colonisée par des bactéries oxydantes. Quelle que soit la section du bioréacteur étudiée, l'oxydation de l'As(III) en As(V) est observée en quelques heures. L'oxydation d'As(III) par l'oxygène de l'air commençant après 55 heures à 22°C (Cf Figure 23 - "Résultats Expérimentaux" - chapitre C₂), l'oxydation de l'As(III) dans cette étude est uniquement associée à l'activité biologique, probablement de la population CAsO1.

La concentration en arsenic total, mesurée par GF-AAS est constante durant toute la durée des expériences, indiquant que seule la réaction d'oxydation de l'As(III) en As(V) se produit, aucune adsorption n'est mise en évidence.

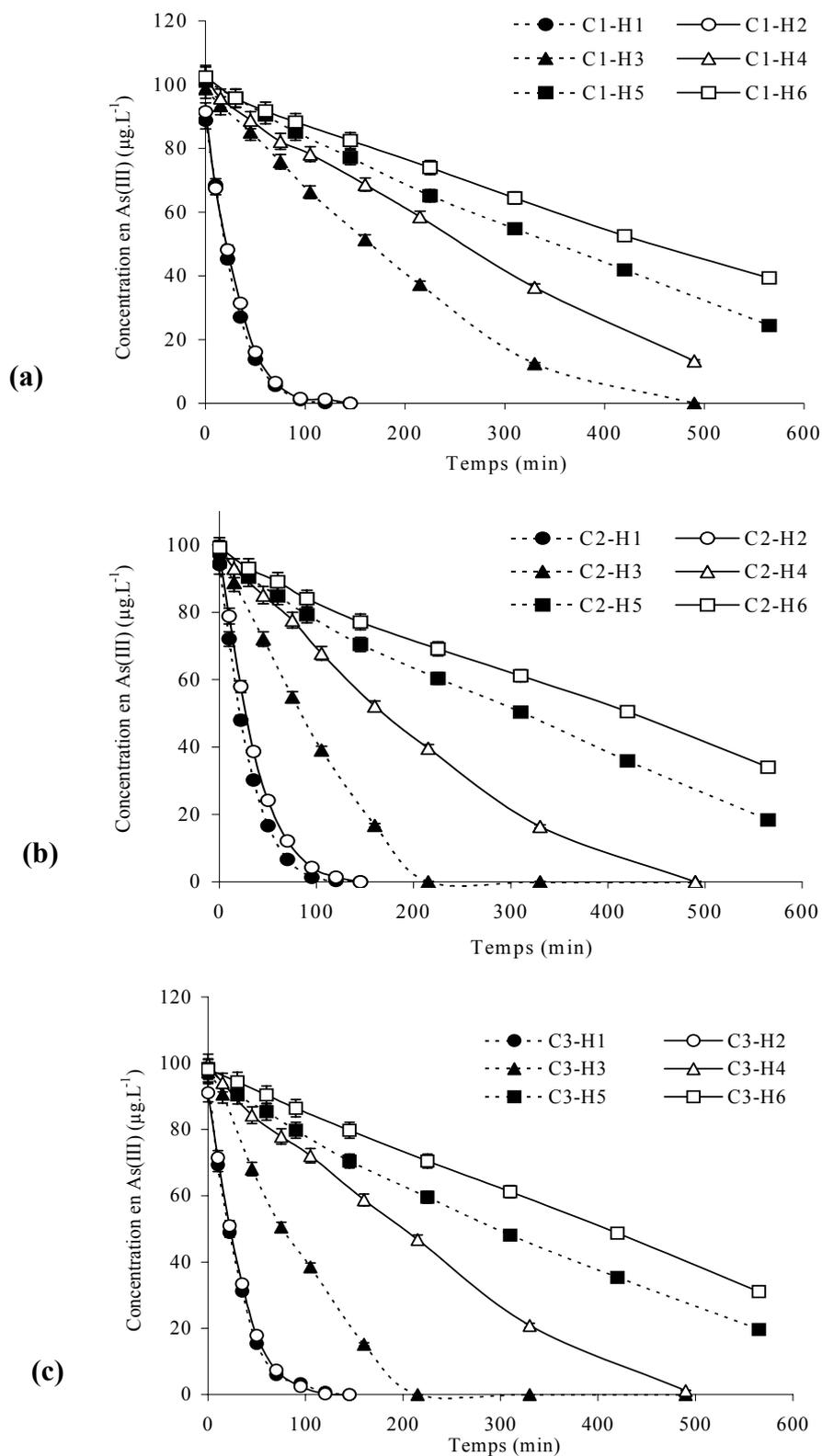


Figure 47 : Cinétiques d'oxydation obtenues avec le support "Pouzzolane + Biofilm" collecté dans les bioréacteurs C1 (a), C2 (b), C3 (c) lors des tests d'activité réalisés à 22°C et 10% en masse de support dans l'eau synthétique enrichie à 100 µg.L⁻¹ en As(III)

De plus, si la Figure 47 montre que les cinétiques pour chacun des trois bioréacteurs ont les mêmes allures, l'oxydation au sein d'un bioréacteur est très hétérogène : As(III) est plus vite oxydé en As(V) pour les points proches de l'alimentation (H1, H2) que pour ceux qui sont les plus éloignés (H5, H6), prouvant ainsi que la cinétique d'oxydation est proportionnelle à la concentration d'As(III) à oxyder, ce qui a été mis en évidence ci-dessus lors des essais réalisés avec des concentrations en As(III) variables en entrée de bioréacteur.

A partir des cinétiques d'oxydation obtenues pour les trois bioréacteurs, un calcul de la vitesse de l'oxydation d'As(III) en As(V) pour les différents échantillons est réalisé. Les résultats obtenus sont présentés dans le Tableau 34.

Tableau 34 : Cinétique d'oxydation ($\mu\text{gAs(III)}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$), obtenues pour les bioréacteurs C1, C2 et C3, en fonction de la zone de prélèvement du support "Pouzzolane + Biofilm" dans les différents bioréacteurs

Point de Prélèvement	C1	C2	C3
H1(0 mm)	1,94	1,84	1,85
H2 (150 mm)	1,70	1,68	1,65
H3 (300 mm)	0,29	0,55	0,53
H4 (450 mm)	0,18	0,25	0,24
H5 (725 mm)	0,13	0,15	0,14
H6 (1000 mm)	0,11	0,10	0,11

Les cinétiques d'oxydation sont de plus en plus lentes lorsqu'on s'éloigne de l'alimentation : la vitesse d'oxydation d'As(III) par le support "Pouzzolane + Biofilm" est près de 20 fois plus lente en sortie de bioréacteur qu'en entrée.

De plus, la comparaison des bioréacteurs, montre que les cinétiques obtenues pour les deux points de prélèvements situés à proximité de l'alimentation (H1 et H2) sont similaires, quel que soit le mode d'alimentation (1,94 et 1,70 en $\mu\text{gAs(III)}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ dans le cas du bioréacteur alimenté par voie ascendante et 1,84 et 1,68 en $\mu\text{gAs(III)}\cdot\text{L}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ dans le cas des bioréacteurs alimentés gravitairement).

Cette similitude se retrouve en sortie de bioréacteurs où les cinétiques d'oxydations sont identiques en H5 et en H6 dans chacun des bioréacteurs étudiés.

Par contre, dans le 2^{ème} tiers des bioréacteurs, les cinétiques d'oxydation obtenues sont différentes et leurs valeurs varient en fonction du type d'alimentation. En effet, la vitesse d'oxydation des arsénites est 2 fois plus lente, en H3, pour le bioréacteur C1 que pour les bioréacteurs C2 et C3.

Les cinétiques d'oxydation obtenues pour les trois bioréacteurs, montrent que l'activité oxydante dans le bioréacteur C1 est plus hétérogène que dans les bioréacteurs C2 et C3. La colonisation des bactéries semble donc être plus homogène dans les réacteurs alimentés par voie descendante, que dans le bioréacteur alimenté par voie ascendante.

Afin de pouvoir corréler les cinétiques d'oxydation obtenues aux différentes hauteurs de prélèvement et la quantité de biomasse dans les bioréacteurs, des mesures de MVS sont réalisées.

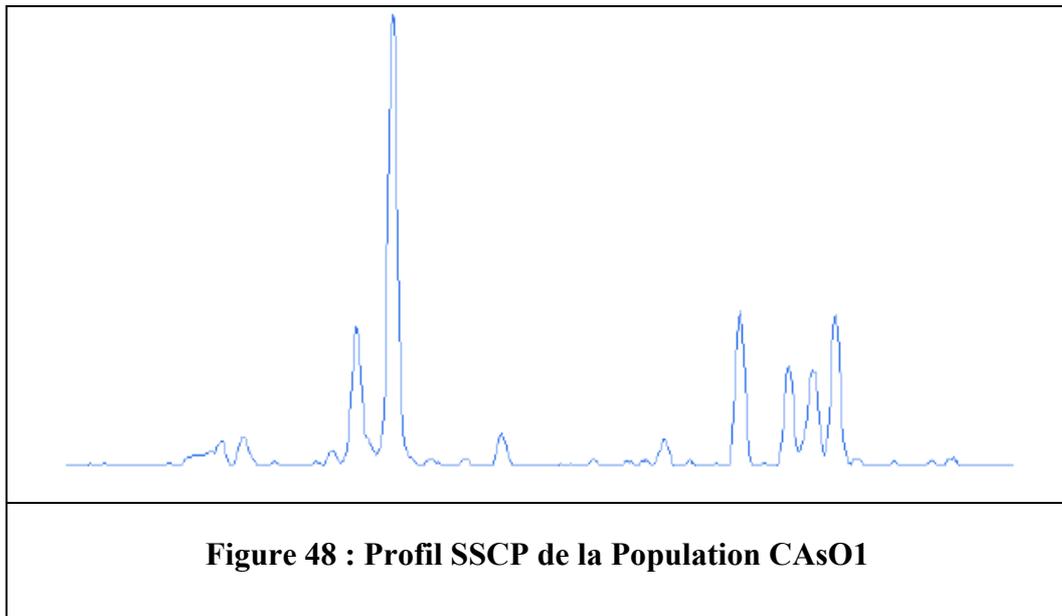
Les pourcentages de MVS des échantillons de pouzzolane prélevés à la fin de la seconde campagne indiquent des pourcentages de MVS similaires au sein des trois bioréacteurs et aux différentes hauteurs ($0,9 \pm 0,3\%$ de MVS par rapport aux MES).

Ainsi, si on tient compte du fait que la quantité de biomasse est homogène sur toute la hauteur du bioréacteur, la capacité oxydante vis-à-vis de l'As(III) de cette biomasse est plus importante en entrée qu'en sortie de bioréacteur. Cette capacité oxydante est donc proportionnelle à la concentration en As(III) initiale.

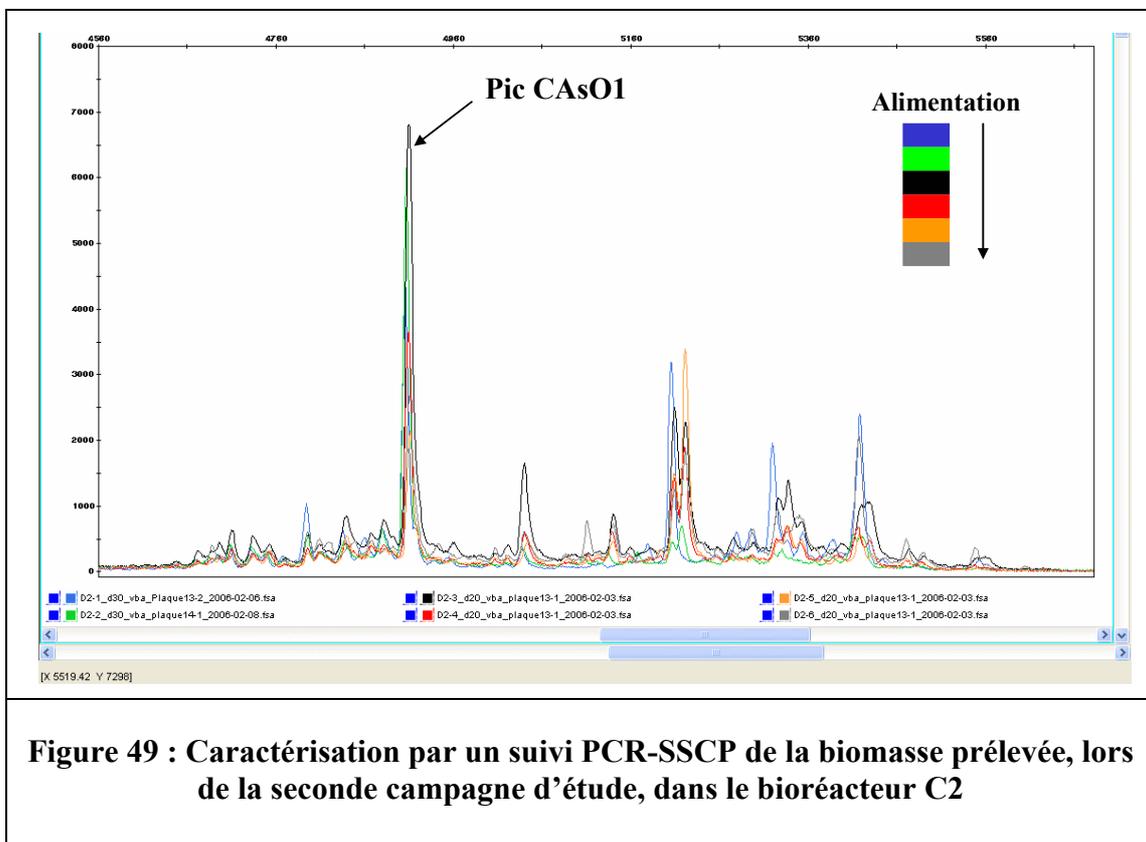
II.2. Caractérisation de l'évolution potentielle du consortium bactérien CAsO1 par PRC-SSCP

Lors du démontage des bioréacteurs, les suivis qualitatifs de la biomasse du consortium CAsO1 sont effectués par la méthode d'amplification des séquences nucléiques (PCR) et caractérisés par SSCP (Cf "Matériel et Méthodes"- chapitre VII) afin de visualiser la présence, le maintien et la répartition de la population CAsO1 dans les bioréacteurs. Les analyses sont réalisées avec le support prélevé en fin de campagne, à différentes hauteurs dans les bioréacteurs.

La Figure 48 présente le profil SSCP de la population CAsO1.



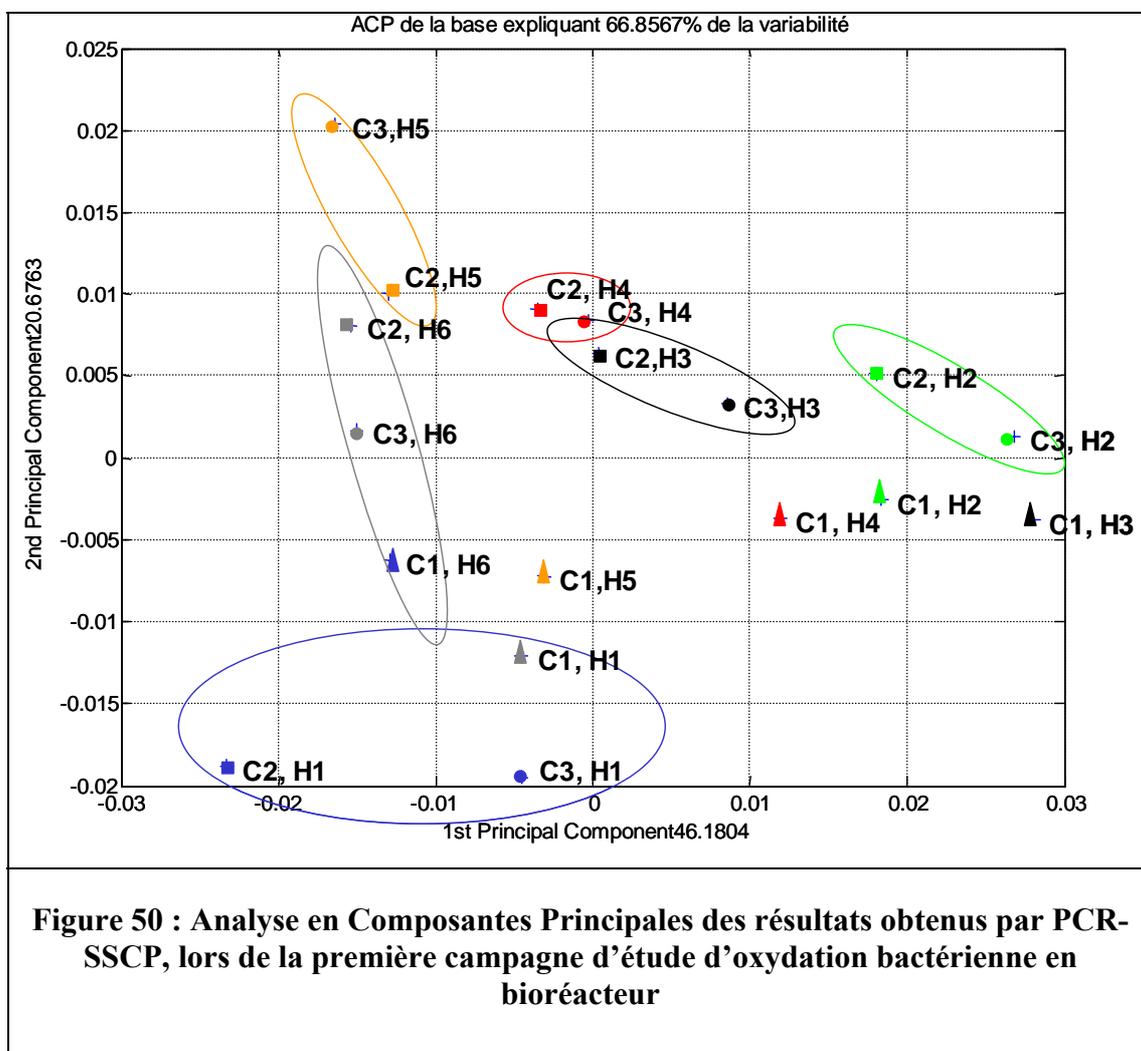
La Figure 49 suivante présente un exemple de résultats obtenus par une analyse PCR-SSCP d'un échantillon de support prélevé lors de la seconde campagne et relatif au bioréacteur C2.



Le profil SSCP de l'ensemble des échantillons pour les deux campagnes montre une diversité microbienne avec certaines espèces majoritaires. Le même pic est dominant dans tous les bioréacteurs et à toutes les hauteurs. On retrouve la signature de la population CAsO1, dans tous les échantillons, le pic principal étant identifié comme caractéristique du consortium CAsO1.

Les résultats obtenus pour les bioréacteurs C2 et C3 sont similaires et se distinguent du bioréacteur C1, comme le montre les Analyses en Composantes Principales obtenues lors de la 1^{ère} campagne de mesure (Figure 50).

On note une évolution de la diversité bactérienne en fonction de la distance par rapport au point d'alimentation, chaque niveau étant comparable d'un bioréacteur à l'autre.



De même, l'extraction d'ADN, même si elle n'est pas quantitative, montre une forte concentration d'ADN pour les niveaux d'entrée dans chaque bioréacteur. Une teneur moyenne d'ADN, pour les hauteurs intermédiaires est obtenue alors qu'une faible concentration est observée en sortie de bioréacteur.

La méthode PCR-SSCP fournit donc des informations précieuses sur la composition du biofilm. En effet, les résultats des analyses de la biomasse récoltée en fin de campagne prouvent la persistance du consortium bactérien au sein des bioréacteurs, dans le cas des deux modes d'alimentation, et confirment également l'oxydation bactérienne de l'As(III) en As(V) par CAsO1. Les résultats obtenus par les deux techniques de caractérisation montrent également que les réacteurs semblent être surdimensionnés puisque l'activité oxydante en sortie de bioréacteur est très faible.

III - SUIVI DE L'OXYDATION BACTERIENNE DE As(III) EN
BIOREACTEUR PAR LE CONSORTIUM CAsO1 A L'ECHELLE
INDUSTRIELLE

CONFIDENTIEL

CONFIDENTIEL

PARTIE D :
CONCLUSION ET PERSPECTIVES

La toxicité reconnue de l'arsenic et sa présence d'origine naturelle ou anthropique dans l'environnement, la protection sanitaire de la population, le respect des législations en matière d'eau potable et de rejets d'effluents industriels, la décontamination de sites pollués, la mise au point de procédés « sobres et sûrs », sont à l'origine du programme de recherche As-Thiox (Programme Riteau) associant le BRGM d'Orléans, l'Université de Limoges, l'INRA de Narbonne et la société ACTREAD Environnement, programme dont l'objectif est le développement d'un procédé de traitement d'eau à potabiliser, d'exhaures miniers ou de rejets industriels. L'orientation prise par ce groupe de recherche, associant les compétences en géologie, chimie, microbiologie et procédé, est la mise au point d'un procédé biologique de détoxification d'eaux arsénisées à l'aide d'un consortium bactérien CASO1 préalablement identifié par le BRGM comme particulièrement efficace pour l'oxydation de l'As(III) en As(V).

L'élaboration du système de traitement a nécessité la partition du travail dans deux directions principales : l'approfondissement préalable des méthodes d'analyse de l'arsenic et la mise en œuvre *stricto sensu* du procédé biologique.

ANALYSE DE L'ARSENIC

Afin de proposer d'une part des techniques relativement simples et à coût raisonnable par rapport à celles généralement mises en œuvre pour l'analyse d'eaux arsénisées, et d'autre part de quantifier spécifiquement l'As(III) sans interférences avec l'As(V) ou avec d'autres composés, deux techniques ont été proposées et optimisées.

Une méthode par Spectrométrie d'Absorption Atomique Four (GF-AAS) a été validée dans ce travail, méthode de dosage dont les performances ont été démontrées. Simple de mise en œuvre, la technique a été optimisée par l'utilisation d'une lampe à cathode creuse boostée et d'un programme thermique adapté, réalisé avec le logiciel ATOM[®]. Ainsi, des concentrations de l'ordre du $\mu\text{g.L}^{-1}$ en arsenic total peuvent être détectées avec une excellente fiabilité.

La deuxième méthode élaborée dans ce travail utilise la Spectrométrie d'Absorption Atomique couplée à la Génération d'Hydrures (HG-AAS) et permet le dosage de l'As(Tot) et de discriminer l'As(III) au sein du mélange de composés arsénisés, dans des domaines de concentrations extrêmement faibles, de 0,2 à 20 $\mu\text{g.L}^{-1}$ avec une erreur relative inférieure à 3% et une très bonne sensibilité. Cette technique, telle qu'elle est proposée, ne nécessite pas de traitement préalable des échantillons (préconcentration, séparation...) et n'est pas sensible

aux interférences potentielles liées à la présence d'As(V) grâce à l'utilisation d'acide citrique, de borohydrure de sodium, et d'une injection en continu de ces deux réactifs.

Les méthodes de dosage mises au point dans ce travail sont rapides : 60 et 20 échantillons par heure, respectivement pour l'analyse par HG-AAS et GF-AAS. Leur validité a été vérifiée par l'analyse de l'arsenic dans des échantillons réels dopés en arsenic et par la comparaison des résultats avec un autre laboratoire, utilisant une technique plus élaborée : HPLC-HG-AFS.

Les méthodes spectrométriques développées sont donc applicables au dosage de l'arsenic en routine dans la plupart des laboratoires d'analyse des eaux ; elles sont d'un coût raisonnable, et sont donc ainsi bien adaptées au cahier des charges préalable.

DETOXICATION PAR OXYDATION BIOLOGIQUE D'EFFLUENTS ARSENIÉS

Suite à la découverte par le BRGM et à la caractérisation en laboratoire d'un consortium bactérien à haute capacité oxydante, un pilote de traitement par lit à garnissage a été élaboré afin de mettre en œuvre l'oxydation bactérienne de l'As(III) en As(V).

La conception du pilote a nécessité préalablement le choix d'un garnissage, le dimensionnement des réacteurs et le choix du mode d'écoulement.

Les résultats présentés montrent que la pouzzolane peut être un matériau à privilégier, permettant à la fois sa colonisation par les microorganismes et n'ayant que de faibles capacités d'adsorption vis-à-vis de l'arsenic. Ce garnissage a donc été proposé pour la suite des études et trois réacteurs à écoulement ascendant ou descendant ont été conçus. Ces réacteurs mis en place ont été caractérisés à la fois au niveau de leur capacité de rétention, de l'écoulement en leur sein, et de leur capacité de transfert d'oxygène. Dans tous les cas, nous montrons que les écoulements sont de type piston faiblement dispersif, favorisant ainsi les cinétiques de réactions.

Après inoculation des réacteurs, il est démontré que les bioréacteurs sont bien le siège de l'oxydation d'As(III), phénomène strictement d'origine bactérienne. Les interférences potentielles, liées à l'oxydation d'As(III) par l'oxygène de l'air ou le matériau support ont été écartées par une série d'expérimentations simples. Les cinétiques d'oxydation déterminées en fonction de différentes conditions expérimentales (température, lumière, conductivité, temps de séjour, types d'écoulement...) ont démontré la rapidité de l'oxydation biologique ($k=0,11 \text{ min}^{-1}$). Celle-ci peut intervenir même avec des temps de séjour hydraulique voisin de une heure, résultat fondamental pour définir les potentialités de traitement du procédé proposé.

De plus, nous avons montré les capacités du consortium CAsO1 à traiter des concentrations inférieures à $100 \mu\text{g.L}^{-1}$, résultats qui est un nouvel apport aux connaissances de l'oxydation biologique, les résultats de la littérature décrivant généralement des expérimentations menées à des concentrations en As(III) supérieures au mg.L^{-1} .

Si nous démontrons également qu'une alimentation ascendante semble avoir un meilleur rendement d'oxydation, la circulation gravitaire, dont les résultats sont également probants, est technologiquement et économiquement plus simple à installer.

Nous avons également prouvé dans ce travail la persistance du consortium bactérien par la méthode PCR-SSCP, résultats confrontés à des analyses de MVS et d'activité oxydante par tranche de réacteurs. L'hétérogénéité de la capacité d'oxydation au sein des bioréacteurs a été confirmée par le suivi de l'oxydation d'As(III) au sein du garnissage, par les cinétiques d'oxydation réalisées sur le support prélevé après le démontage des pilotes et enfin par les analyses PCR-SSCP.

Bien que prometteurs, les résultats restent toutefois à confirmer sur des cycles de fonctionnement plus longs.

Un réacteur de type industriel a été installé pour traiter les eaux arséniés d'exhaure de mine. Les premiers résultats de traitement de ces effluents miniers ne permettent cependant pas de caractériser les propriétés oxydantes de la population CAsO1, étant données les variations simultanées de différents paramètres (concentrations en As(III) et en Fe, température).

PERSPECTIVES

Les perspectives émanant de ce travail sont nombreuses :

D'un point de vue analytique tout d'abord, il serait nécessaire de quantifier l'arsenic organique (MMA, DMA) afin de s'assurer qu'aucun relargage d'arsenic organique n'a lieu au cours des processus bactériens. Cela nécessite la mise en place d'analyse par chromatographie liquide haute performance (HPLC-HG-AAS, HPLC-SM).

Les résultats cinétiques liés au métabolisme du consortium bactérien devront être affinés. L'optimisation du procédé passe obligatoirement par une meilleure connaissance des vitesses et des rendements spécifiques à CAsO1. Ces études pourront être couplées avec les méthodes d'identification par PCR-SSCP. Il serait ainsi intéressant de pouvoir échantillonner au cours du temps les colonnes des bioréacteurs. Cela pourra déboucher sur une

représentation mathématique du fonctionnement et ainsi à des méthodes de dimensionnement des réacteurs et d'extrapolation du système.

Parallèlement, il est nécessaire de suivre pendant une période longue le fonctionnement du pilote semi-industriel détoxifiant les effluents miniers. L'impact des conditions environnementales et de qualité d'effluent devra être étudié. D'ores et déjà des études sont menées au laboratoire sur l'impact des inhibiteurs potentiels contenus dans des eaux de type industriel. Des expérimentations similaires à celles menées sur le pilote devront être menées sur le pilote industriel afin de vérifier le maintien de la population CA_{SO_4} .

Enfin, la filière complète d'élimination de l'arsenic par couplage oxydation de l'As(III) et adsorption de l'As(V) par un matériau inerte et robuste devra être élaborée, testée, optimisée et mise en place.

La filière de traitement ainsi conçue est une avancée dans la proposition d'un système de traitement « rustique » susceptible de convenir à la réhabilitation de sites contaminés par l'arsenic.

Références Bibliographiques

- Abdrashitova S.A., Mynbaeva B.N., Ilyaletdinov A.N. - 1981 - Oxydation of arsenic by the heterotrophic bacteria *Pseudomonas putida* and *Alcaligenes eutrophus* - *Mikrobiologiya*, 50, 41-45.
- AFNOR - 2001 - NF T 90-105. Qualité de l'eau, Tome 2^{ième} Edition.
- Aggett J., Aspell A.C. - 1976 - The determination of arsenic(III) and total arsenic by atomic-absorption spectroscopy - *Analyst*, 101, 341-347.
- Ahn J.S., Chon C.M., Moon H.S., Kim K.W. - 2003 - Arsenic removal using steel manufacturing byproducts as permeable reactive materials in mine tailing containment systems - *Water Research*, 37, 2478-2488.
- Akter K.F., Chen Z., Smith L., Davey D., Naidu R. - 2005 - Speciation of arsenic in ground water samples: A comparative study of CE-UV, HG-AAS and LC-ICP-MS - *Talanta*, 68, 406-415.
- Anawar H.M., Akai J., Komaki K., Terao H., Yoshioka T., Ishizuka T., Safiullah S., Kato K. - 2003 - Geochemical occurrence of arsenic in groundwater of Bangladesh: sources and mobilization processes - *Journal of Geochemical Exploration*, 77, 109-131.
- Anderson G.L., Love M., Zeider B.K. - 2003 - Metabolic energy from arsenite oxidation in *Alcaligenes faecalis* - *Journal de Physique IV*, 107, 49-52.
- Anderson G.L., Williams J., Hille R. - 1992 - The purification and characterization of arsenite oxidase from *Alcaligenes faecalis*, a molybdenum-containing hydroxylase - *The Journal of Biological Chemistry*, 267, 23674-23682.
- Anezaki K., Nukatsuka I., Ohzeki K. - 1999 - Determination of arsenic(III) and total arsenic(III,V) in water samples by resin suspension graphite furnace atomic absorption - *Analytical Sciences*, 15, 829-834.
- Badjpai S., Chaudhuri M. - 1999 - Removal of arsenic from ground water by manganese dioxide-coated sand - *Journal of Environmental Engineering*, 125, 782-784.
- Balasubramanian N., Madhavan K. - 2001 - Arsenic removal from industrial effluent through electrocoagulation - *Chemical Engineering and Technology*, 24, 519-521.
- Bang S., Johnston M.D., Korfiatis G.P., Meng X. - 2005 - Chemical reactions between arsenic and zero-valent iron in water - *Water Research*, 39, 763-770.
- Battaglia-Brunet F., Dictor M.C., Garrido F., Crouzet C., Morin D., Dekeyser K., Clarens M., Baranger P. - 2002 - An As(III)-oxidizing bacterial populations: selection, characterization, and performance in reactors - *Journal of Applied Microbiology*, 93, 656-667.
- Battaglia-Brunet F., Duquesne K., Dictor M.C., Garrido F., Bonnefoy V., Baranger P., Morin D. - 2003 - Arsenite oxidizing Thiomonas strains isolated from different mining sites - *Geophysical Research Abstracts*, 5, 11069.
- Battaglia-Brunet F., Itard Y., Garrido F., Delorme F., Crouzet C., Greffié C., Joulian C. - 2006b - A simple biogeochemical process removing arsenic from a mine drainage water - *Geomicrobiology Journal*, 23, 201-211.

- Battaglia-Brunet F., Joulian C., Garrido F., Dictor M.C., Morin D., Coupland K., Johnson D.B., Hallberg K.B., Baranger P. - 2006a - Oxidation of arsenite by *Thiomonas* strains and characterization of *Thiomonas arsenivorans* sp. nov - Antonie van Leeuwenhoek, 89, 99-108.
- Bednar A.J., Garbarino J.R., Ranville J.F., Wildeman T.R. - 2002 - Preserving the distribution of inorganic arsenic species in groundwater and acid mine drainage samples - Environmental Science and Technology, 36, 2213-2218.
- Bezur L. - 1998 - Analytical performance of arsenic and selenium boosted hollow cathode lamps - Microchemical journal, 59, 107-116.
- Bissen M., Frimmel F.H. - 2003a - Arsenic - a Review. Part I: Occurrence, toxicity, speciation, mobility - Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 31, 9-18.
- Bissen M., Frimmel F.H. - 2003b - Arsenic - a Review. Part II: Oxidation of arsenic and its removal in water treatment - Acta Hydrochimica et Hydrobiologica, 31, 97-107.
- Bissen M., Viellard-Baron M.M., Schindelin A.J., Frimmel F.H. - 2001 - TiO₂-catalyzed photooxidation of arsenite to arsenate in aqueous samples - Chemosphere, 44, 751-757.
- Bode A.M., Dong Z. - 2000 - Apoptosis induction by arsenic: mechanisms of action and possible clinical applications for treating therapy-resistant cancers - Drug Resistance Updates, 3, 21-29.
- Bode A.M., Dong Z. - 2002 - The paradox of arsenic: molecular mechanisms of cell transformation and chemotherapeutic effects - Critical Reviews in Oncology/Hematology, 42, 5-24.
- Bohari Y., Astruc A., Astruc M., Cloud J. - 2001 - Improvements of hydride generation for the speciation of arsenic in natural freshwater samples by HPLC-HG-AFS - Journal of Analytical Atomic Spectrometry, 16, 774-778.
- Bohro M., Widerer P. - 1996 - Optimized removal of arsenate(III) by adaptation of oxidation and precipitation processes to the filtration step - Water Science and Technology, 34, 25-31.
- Bostick B.C., Fendorf S. - 2003 - Arsenite sorption on troilite (FeS) and pyrite (FeS₂) - Geochimica et Cosmochimica Acta, 67, 909-921.
- Brandhuber P., Amy G. - 1998 - Alternative methods for membrane filtration of arsenic from drinking water - Desalination, 117, 1-10.
- Brandhuber P., Amy G. - 2001 - Arsenic removal by a charged ultrafiltration membrane - influence of membrane operating conditions and water quality on arsenic rejection - Desalination, 140, 1-14.
- Brandstetter A., Lombi E., Wenzel W.W., Adriano D.C. - 2000 - Arsenic-contaminated soils: I. Risk assessment, chap 33, in Remediation engineering of contaminated soils, D.L. Wise, D.J. Trantolo, E.J. Clichon, H.I. Inyang and U. Stottmeister editors, Dekker, New York.p. 715-738.
- Brewster M.D., Laschinger M.N. - 1992 - Arsenic removal using electrochemically generated iron in conjunction with hydrogen peroxide addition, 46th Purdue Industrial Waste Conference Proceedings, pp. 339-346.

- Brown K.G., Ross G.L. - 2002 - Arsenic, drinking water, and health: a position paper of the American council on science and health - *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 36, 162-174.
- Bruneel O., Personné J.C., Casiot C., Leblanc M., Elbaz-Poulichet F., Mahler B.J., Le Flèche A., Grimont P.A.D. - 2004 - Mediation of arsenic oxidation by *Thiomonas* sp. in acid-mine drainage (Carnoulès, France) - *Journal of Applied Microbiology*, 95, 492-499.
- Burguera J.L., Burguera M., Rivas C., Carrero P. - 1998 - On-line cryogenic trapping with microwave heating for the determination and speciation of arsenic by flow injection/hydride generation/atomic absorption spectrometry - *Talanta*, 45, 531-542.
- Burguera M., Burguera J.L. - 1997 - Analytical methodology for speciation of arsenic in environmental and biological samples - *Talanta*, 44, 1581-1604.
- Cameron I., Bourguine F. - 1999 - New frontier - biological iron and manganese removal from drinking water. National IPWEA Conference in Sydney, Australia.
- Carbonell-Barrachina A.A., Jugsujinda A., Burlo F., Delaune R.D., Patrick W.H. - 2000 - Arsenic chemistry in municipal sewage sludge as affected by redox potential and pH - *Water Research*, 34, 216-224.
- Casiot C., Morin G., Juillot F., Bruneel O., Personné J.C., Leblanc M., Duquesne K., Bonnefoy V., Elbaz-Poulichet F. - 2003 - Bacterial immobilization and oxidation of arsenic in acid mine drainage (Carnoulès creek, France) - *Water Research*, 37, 2929-2936.
- Casiot C., Pedron V., Bruneel O., Duran R., Personné J.C., Grapin G., Drakidès C., Elbaz-Poulichet F. - 2006 - A new bacterial strain mediating As oxidation in the Fe-rich biofilm naturally growing in a groundwater Fe treatment pilot unit - *Chemosphere*, 64, 492-496.
- Chakraborti D., Rahman M.M., Paul K., Chowdhury U.K., Sengupta M.K., Lodh D., Chanda C.R., Saha K.C., Mukherjee S.C. - 2002 - Arsenic calamity in the Indian subcontinent. What lessons have been learned? - *Talanta*, 58, 3-22.
- Chakravarty S., Dureja V., Bhattacharyya G., Maity S., Bhattacharjee S. - 2002 - Removal of arsenic from groundwater using low cost ferruginous manganese ore - *Water Research*, 36, 625-632.
- Chen X., Chen G., Yue P.L. - 2002 - Investigation on the electrolysis voltage of electrocoagulation - *Chemical Engineering Science*, 57, 2449-2455.
- Cheng R.C., Liang S., Wang H.C., Beuhler M.D. - 1994 - Enhanced coagulation for arsenic removal - *Journal of the American Water Works Association*, 86, 79-90.
- Cherry J.A., Shaikh A.U., Tallman D.E., Nicholson R.V. - 1979 - Arsenic species as an indicator of redox conditions in groundwater - *Journal of Hydrology*, 43, 373-392.
- Childress A.E., Elimelech M. - 1996 - Effect of solution chemistry on the surface charge of polymeric reverse osmosis and nanofiltration membranes - *Journal of Membrane Science*, 119, 253-268.

- Chiu V.Q., Hering J.G. - 2000 - Arsenic adsorption and oxidation at manganite surfaces. Method for simultaneous determination of adsorbed and dissolved arsenic species - *Environmental Science and Technology*, 34, 2029-2034.
- Clarke W.A., Konhauser K.O., Thomas J.C., Botrell S.H. - 1997 - Ferric hydroxide and ferric hydroxysulfate precipitation by bacteria in acid mine drainage lagoon - *FEMS Microbiology Reviews*, 20, 351-361.
- Clifford D., Lin C.C. - 1991 - Arsenic(III) and arsenic(V) removal from drinking water in San Ysidro, New Mexico. EPA/600/S2 - 91/011. Cincinnati, Ohio.
- Coelho N.M.M., da Silva A.C., da Silva C.M. - 2002 - Determination of As(III) and total inorganic arsenic by flow injection hydride generation atomic absorption spectrometry - *Analytica Chimica Acta*, 460, 227-233
- Coupland K., Battaglia-Brunet F., Hallberg K.B., Dictor M.C., Garrido F., Johnson D.B. - 2004 - Oxidation of iron, sulfur and arsenic in mine waters and mine waste: an important role for novel *Thiomonas* spp., In: Tsezos M., Hatzikioseyan A., and Remouchi E. (Eds), *Biohydrometallurgy; a sustainable technology in evolution*, National technical university of Athens, Zografou, Greece, pp. 639-646.
- Currie L.A. - 1999 - Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities: (IUPAC recommendations 1995) - *Analytica Chimica Acta*, 391, 105-126
- Dabert P., Delgenes J.P., Godon J.J. - 2004 - Monitoring the impact of bioaugmentation on the start up of biological phosphorus removal in a laboratory scale activated sludge ecosystem - *Environmental Biotechnology*, 66, 575-588.
- Daus B., Mattusch J., Paschke A., Wennrich R., Weiss H. - 2000 - Kinetics of the arsenite oxidation in seepage water from a tin mill tailings pond - *Talanta*, 58, 153-164.
- Daus B., Weiss H., Mattusch J., Wennrich R. - 2006 - Preservation of arsenic species in water samples using phosphoric acid - Limitations and long-term stability - *Talanta*, 69, 430-434.
- Davranche M., Lacour S., Bordas F., Bollinger J.C. - 2003 - An easy determination of the surface chemical properties of simple and natural solids - *Journal of Chemical Education*, 80, 76-78.
- Dedina J., Tsalev D.L. - 1995 - Hydride generation atomic absorption spectrometry - John Wiley and Sons, Chichester.
- Dennisson F., Sen A.M., Hallberg K.B., Johnston D.B. - 2001 - Biological versus abiotic oxidation of iron in acid mine drainage waters: an important role for moderately acidophilic, iron-oxidizing bacteria, In: Ciminelli V.S.T. and Garcia O. Jr (Eds.), *Biohydrometallurgy: fundamentals, technology and sustainable development*, part B, Elsevier, Amsterdam, pp. 493-501.
- Deshmukh S.S., Childress A.E. - 2001 - Zeta potential of commercial RO membranes: influence of source water type and chemistry - *Desalination*, 140, 87-95.

- Diamadopoulos E., Ioannidis S., Sakerllaropoulos G.P. - 1993 - As(V) removal from aqueous solutions by fly ash - *Water Research*, 27, 1773-1777.
- Dictor M.C., Battaglia-Brunet F., Garrido F., Baranger P. - 2003 - Arsenic oxydation capabilities of chemoautotrophic bacterial population: use for the treatment of an arsenic contaminated wastewater - *Journal de Physique IV*, 107, 377-380.
- Dimitrakos G., Martinez Nieva J., Vayenas D., Lyberatos G. - 1997 - Removal of iron from potable water using a trickling filter - *Water Research*, 31, 991-996.
- Ding Z., Zheng B., Long J., Belkin H.E., Finkelman R.B., Chen C., Zhou D., Zhou Y. - 2001 - Geological and geochemical characteristics of high arsenic coals from endemic arsenosis areas in southwestern Guizhou Province, China - *Applied Geochemistry*, 16, 1353-1360.
- Dixit S., Hering J.G. - 2003 - Comparison of arsenic (V) and arsenic (III) sorption onto oxide minerals: implications for arsenic mobility - *Environmental Science and Technology*, 37, 4182-4189.
- Dixon H.F.B. - 1997 - The biochemical action of arsonic acids especially as phosphate analogues - *Advances in Inorganic Chemistry*, 44, 191-227.
- Dopp E., Hartmann L.M., Florea A.M., von Recklinghausen U., Pieper R., Shokouhi B., Rettenmeier A.W., Hirner A.V., Obe G. - 2004 - Uptake of inorganic and organic derivatives of arsenic associated with induced cytotoxic and genotoxic effects in Chinese hamster ovary (CHO) cells - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 201, 156-165.
- Driehaus W., Jekel M., Hildebrandt U. - 1998 - Granular ferric hydroxide, a new adsorbent for the removal of arsenic from natural water - *Journal of Water Supply: Research and Technology - Aqua*, 47, 30-35.
- Driehaus W., Seith R., Jekel M. - 1995 - Oxidation of arsenate(III) with manganese oxides in water treatment - *Water Research*, 29, 297-305.
- Duchène P., Cotteux E. - 2002 - Insufflation d'air fines bulles. Application aux stations d'épuration en boues activées de petites collectivités - *Ministère de l'Agriculture et de la Pêche, FNDAE n°26*.
- Duker A.A., Carranza E.J.M., Hale M. - 2005 - Arsenic geochemistry and health - *Environment International*, 31, 631-641.
- Duquesne K. - 2004 - Rôle des bactéries dans la bioremédiation de l'arsenic dans les eaux acides de drainage de la mine de Carnoulès. Thèse de doctorat d'université - Université de Aix-Marseille II.
- Duquesne K., Lebrun S., Casiot C., Bruneel O., Personné J.C., Leblanc M., Elbaz-Poulichet F., Morin G., Bonnefoy V. - 2003 - Immobilization of arsenite and ferric iron by *Acidithiobacillus ferrooxidans* and its relevance in acid mine drainage - *Applied and Environmental Microbiology*, 69, 6165-6173.
- EAWAG - 1999 - SODIS et SORAS,
http://www.eawag.ch/publications/eawagnews/www_en48/en48f_pdf/en48f_weg.pdf.

- Edwards M. - 1994 - Chemistry of arsenic removal during coagulation and Fe - Mn oxidation - *Journal of the American Water Works Association*, 86, 103-113.
- Elizades-Gonzales M.P., Mattusch J., Einicke W.D., Wennrich R. - 2001 - Sorption on natural solids for arsenic removal - *Chemical Engineering Journal*, 87, 187-195.
- Elson C., Davies D., Hayes E. - 1980 - Removal of arsenic from contaminated drinking water by a chitosan/chitin mixture - *Water Research*, 14, 1307-1311.
- Emett M.T., Khoe G.H. - 2001- Photochemical oxidation of arsenic by oxygen and iron in acidic solutions - *Water Research*, 35, 649-656.
- European Commission. - 2001 - Ambient air pollution by As, Cd and Ni compounds. Position paper, working group on arsenic, cadmium and nickel compounds - DG Environment, 315.
- European Council Directive - 1975 - Official Journal, 194, 26-31.
- European Council Directive - 1998 - Official Journal, 330, 32-54.
- Farrell J., Wang J.P., O'Day P., Conklin M. - 2001 - Electrochemical and spectroscopic study of arsenate from water using zero-valent iron media - *Environmental Science and Technology*, 35, 2026-2032.
- Ferguson J.F., Gavis J. - 1972 - A review of the arsenic cycle in natural waters - *Water Research*, 16, 1259-1274.
- Ferreira M.A., Barros A.A. - 2002 - Determination of As(III) and arsenic(V) in natural waters by cathodic stripping voltammetry at a hanging mercury drop electrode - *Analytica Chimica Acta*, 459, 151-159.
- Fox K.R. - 1989 - Field experience with point-of-use treatment systems for arsenic removal - *Journal of the American Water Works Association*, 81, 94-101.
- Francesconi K.A., Kuehnelt D. - 2004 - Determination of arsenic species: A critical review of methods and applications, 2000-2003 - *Analyst*, 129, 373-395
- Gage B., O'Dowd D.H., Williams P. - 2001 - Biological iron and manganese removal pilot and full scale applications. Presented at the Ontario Water Works Association conference.
- Gaid K. - 2005 - The removal of arsenic from drinking water - *European Journal of Water Quality*, 36, 145-165.
- Ghiorse W.C. - 1984 - Biology of iron-and manganese-depositing bacteria - *Annual Review of Microbiology*, 38, 515-550.
- Ghurye G., Clifford D. - 2001 - Laboratory study on the oxidation of arsenic III to arsenic V. EPA/600/R-01/021. Cincinnati, Ohio.
- Ghurye G., Clifford D., Tripp A. - 1999 - Combined arsenic and nitrate removal by ion exchange - *Journal of the American Water Works Association*, 91, 85-96.

- Gihring T.M., Banfield J.F. - 2001 - Arsenite oxidation and arsenate respiration by a new *Thermus* isolate - *FEMS Microbiology Letters*, 204, 335-340.
- Gihring T.M., Druschel G.K., McCleskey R.B., Hamers R.J., Banfield J.F. - 2001 - Rapid arsenite oxidation by *Thermus aquaticus* and *Thermus thermophilus*: field and laboratory investigations - *Environmental Science and Technology*, 35, 3857-3862.
- Goering P.L., Aposhian H.V., Mass M.J., Cebrian M., Beck B.D., Waalkes M.P. - 1999 - The enigma of arsenic carcinogenesis: role of metabolism - *Toxicological Sciences*, 49, 5-14.
- Gomez-Ariza J.L., Sanchez-Rodaz D., Beltran R., Coms W., Stockwell P. - 1998 - Evaluation of atomic fluorescence spectrometry as a sensitive detection technique for arsenic speciation - *Applied Organometallic Chemistry*, 12, 439-447.
- Gong Z., Lu X., Ma M., Watt C., Le X.C. - 2002 - Arsenic speciation analysis - *Talanta*, 58, 77-96.
- Gong Z., Lu X., Watt C., Wen B., He B., Mumford J., Ning Z., Xia Y., Le X.C. - 2006 - Speciation analysis of arsenic in groundwater from Inner Mongolia with an emphasis on acid-leachable particulate arsenic - *Analytica Chimica Acta*, 555, 181-187.
- Gonzales J.C., Lavilla I., Bendicho C. - 2003 - Evaluation of non-chromatographic approaches for speciation of extractable As(III) and As(V) in environmental solid sample by FE-HGAAS - *Talanta*, 59, 525-534.
- Gouzinis A., Kosmidis N., Vayenas D., Lyberatos G. - 1998 - Removal of Mn and simultaneous removal of NH₃ and Mn from potable water using a trickling filter - *Water Research*, 32, 2442-2450.
- Goyer R.A., Clarkson T.W. - 2001 - Toxic effects of metals. Casaret and Doull's Toxicology, McGraw-Hill, New York, pp. 818-820.
- Grabinsky A.A. - 1981 - Determination of arsenic(III), arsenic(V), monomethylarsonate, and dimethylarsinate by ion-exchange chromatography with flameless absorption spectrometric detection - *Analytical chemistry*, 53, 966-974.
- Grafé M., Eick M.J., Grossl P.R. - 2001 - Adsorption of arsenate(V) and arsenite(III) on goethite in the presence and absence of dissolved organic carbon - *Soil Science Society of America Journal*, 65, 1680-1687.
- Grapin G., Soyer H., Cayrou M. - 2002 - Norme arsenic : un traitement alternatif pour les petites unités de production d'eau potable - *Techniques Sciences et Méthodes*, 10, 49-54.
- Green H.H. - 1918 - Description of a bacterium that oxidizes arsenite to arsenate, and one which reduces arsenate to arsenite, isolated from a cattle-dipping tank - *South African Journal of Science*, 14, 465-467.
- Gregor J. - 2001 - Arsenic removal during conventional aluminium-based drinking-water treatment - *Water Research*, 35, 1659-1664.
- Gregus Z., Némethi B. - 2002 - Purine nucleoside phosphorylase as a cytosolic arsenate reductase - *Toxicological Sciences*, 70, 13-19.

- Grossier P., Ledrans M. - 1999 - Contamination par l'arsenic des eaux de distribution en France : une première approche de l'exposition de la population - *Techniques Sciences et Méthodes*, 2, 27-32.
- Guenegou T., Tambute A., Jardy A., Caude M. - 1998 - Elimination of arsenic traces contained in liquid effluents by chromatographic treatment - *Analysis*, 26, 352-357.
- Gupta S., Chen K. - 1978 - Arsenic removal by adsorption - *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 50, 493-506.
- Gupta V.K., Saini V.K., Jain N. - 2005 - Adsorption of As(III) from aqueous solutions by iron oxide-coated sand - *Journal of Colloid and Interface Science*, 288, 55-60.
- Hall G.E.M., Pelchat J.C., Gauthier G. - 1998 - Stability of inorganic arsenic (III) and arsenic (V) in water samples - *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 14, 205-213
- Hamsch B., Raue B., Brauch H.J. - 1995 - Determination of arsenic(III) for the investigation of the microbial oxidation of arsenic(III) to arsenic(V) - *Acta Hydrochimica et Hydrobiologica*, 23, 166-172.
- Han B.B., Runnells T., Zimbron J., Wickramasinghe R. - 2002 - Arsenic removal from drinking water by flocculation and microfiltration - *Desalination*, 145, 293-298.
- Hansen H.K., Nunez P., Grandon R. - 2006 - Electrocoagulation as a remediation tool for wastewaters containing arsenic - *Minerals Engineering*, 19, 521-524.
- Hathaway S.W., Rubel F. - 1987 - Removing arsenic from drinking water - *Journal of the American Water Works Association*, 79, 61-65.
- Hering J.C., Chen P.Y., Wilkie J.A., Elimelech M. - 1997 - Arsenic removal from drinking water during coagulation - *Journal of Environmental Engineering*, 123, 800-807.
- Hindmarsh J.T. - 2000 - Arsenic, its clinical and environmental significance - *Journal of Trace Elements in Experimental Medicine*, 13, 165-172.
- Hirano S., Kobayashi Y., Cui X., Kanno S., Hayakawa T., Shraim A. - 2004 - The accumulation and toxicity of methylated arsenicals in endothelial cells : important roles of thiol compounds - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198, 458-467.
- Holak W. - 1969 - Gas-sampling technique for arsenic determination by atomic absorption spectrophotometry - *Analytical Chemistry*, 41, 1712-1718.
- Holt P.K., Barton G.W., Mitchell C.A. - 2005 - The future for electrocoagulation as a localised water treatment technology - *Chemosphere*, 59, 355-367.
- Hsiang M.C., Sung Y.H., Huang S.D. - 2004 - Direct and simultaneous determination of arsenic, manganese, cobalt and nickel in urine with a multi-element graphite furnace atomic absorption spectrometer - *Talanta*, 62, 791-799
- Huang C.P., Fu P.L.K. - 1984 - Treatment of arsenic (V)-containing water by the activated carbon process - *Journal of the Water Pollution Control Federation*, 56, 233-242.

- Huber H, Stetter K.O. - 1990 - *Thiobacillus cuprinus* sp. nov., a novel facultatively organotrophic metal-mobilizing bacterium - *Applied and Environmental Microbiology*, 56, 315-322.
- Hug S.J., Canonica L., Wegelin M., Gechter D., Von Gunten U. - 2001 - Solar oxidation and removal of arsenic at circumneutral pH in iron containing waters - *Environmental Science and Technology*, 35, 2114-2121.
- Hug S.J., Leupin O.X. - 2003 - Iron-catalysed oxidation of arsenic(III) by oxygen and by hydrogen peroxide: pH-dependent formation of oxidants in the Fenton reaction - *Environmental Science and Technology*, 37, 2734-2742.
- Hughes M.F. - 2002 - Arsenic toxicity and potential mechanisms of actions - *Toxicology Letters*, 133,1-16.
- Hung D.Q., Nekrassova O., Compton R.G. - 2004 - Analytical methods for inorganic arsenic in water: a review – *Talanta*, 64, 269-277.
- IARC - International Agency for Research on Cancer - 1987 - Arsenic. In overall evaluations of carcinofeneticity; an updating of IARC monographs volumes 1 to 42. IARC monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans - Lyon Suppl. 7, pp. 100-106.
- Ilyaletdinov A.N., Abdrashitova S.A. - 1981 - Autotrophic oxidation of arsenic by a culture of *Pseudomonas arsenitoxidans* - *Mikrobiologiya*, 50, 197-204.
- Jain C.K., Ali I. - 2000 - Arsenic: occurrence, toxicity and speciation techniques - *Water Research*, 34, 4304-4312.
- Janjic J., Conkic L.J., Kiurski J., Benak J. - 1997 - A method for arsenic level determination and a device for arsenic reduction in drinking water - *Water Research*, 31, 419-428.
- Jiang J.Q. - 2001 - Removing arsenic from groundwater for the developing world, a review - *Water Science and Technology*, 44, 89-98.
- Johnson D.B., Hallberg K.B. - 2005 - Biogeochemistry of the compost bioreactor components of a composite acid mine drainage passive remediation system - *Science of the Total Environment*, 338, 81-93.
- Johnston R., Heijnen H. - 2001 - Safe technology for arsenic removal, In: Ahmed M.F., Ali M.A. and Edeel Z. (Eds.), *Technologies for arsenic removal from drinking water*, Bangladesh university of engineering and technology and United Nations university, pp. 1-22.
- Joshi A., Chaudhuri M. - 1996 - Removal of arsenic from groundwater by iron oxide-coated sand - *Journal of Environmental Engineering*, 122, 769-771.
- Jubinka L., Rajakovic V., Mitrovic M.M. - 1992 - Arsenic removal from water by chimiosorption filters - *Environmental Pollution*, 75, 279-287.
- Kaltreider R.C., Hamilton J.W. - 2001 - Arsenic alters the function of the glucocorticoid receptor as a transcription factor - *Environmental Health Perspectives*, 109, 245-251.

- Kang M., Kawasaki M., Tamada S., Kamei T., Magara Y. - 2000 - Effect of pH on the removal of arsenic and antimony using reverse osmosis membranes - *Desalination*, 131, 293-298.
- Kanzawa T., Kondo Y., Ito H., Kondo S., Germano I. - 2003 - Induction of autophagic cell death in malignant glioma cells by arsenic trioxide - *Cancer Research*, 63, 2103-2108.
- Kartinen E., Martin J.C.J. - 1995 - An overview of arsenic removal processes - *Desalination*, 103, 79-88.
- Katsoyiannis I., Zouboulis A., Althoff H., Bartel H. - 2002 - As(III) removal from groundwaters using fixed-bed upflow bioreactors - *Chemosphere*, 47, 325-332.
- Katsoyiannis I.A., Zouboulis A.I. - 2004 - Application of biological processes for the removal of arsenic from groundwaters - *Water Research*, 38, 17-26.
- Katsoyiannis I.A., Zouboulis A.I., Jekel M. - 2004 - Kinetics of bacterial As(III) oxidation and subsequent As(V) removal by sorption onto biogenic manganese oxides during groundwater treatment - *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 43, 486-493.
- Kim M.J., Nriagu J. - 2000 - Oxidation of arsenite in groundwater using ozone and oxygen - *Science of the Total Environment*, 247, 71-79.
- Kim M.J., Nriagu J., Haack S. - 2002 - Arsenic species and chemistry in groundwater of southeast Michigan - *Environmental Pollution*, 120, 379-390.
- Konhauser K.O. - 1998 - Diversity of bacterial iron mineralization-Earth - *Science Reviews*, 43, 91-121.
- Korngold E., Belayev N., Aronov L. - 2001 - Removal of arsenic from drinking water by anion exchangers - *Desalination*, 141, 81-84.
- Kraepiel A.M.L., Keller K., Morel F.M.M. - 1998 - On the acid-base chemistry of permanently charged minerals - *Environmental Science and Technology*, 32, 2829-2838.
- Kumar P.R., Chaudhari S., Khilar K.C., Mahajan S.P. - 2004 - Removal of arsenic from water by electrocoagulation - *Chemosphere*, 55, 1245-1252.
- Kummert R., Stumm W. - 1980 - The surface complexation of organic acids on hydrous α -Al₂O₃ - *Journal of Colloid and Interface Science*, 75, 373-385.
- Lackovic J.A., Nikolaidis N.P., Dobbs G.M. - 2000 - Inorganic arsenic removal by zero-valent iron - *Environmental Engineering Science*, 17, 29-39.
- Langner H.W., Jackson C.R., McDermott T.R., Inskeep W. - 2001 - Rapid oxidation of arsenite in a hot spring ecosystem, Yellowstone National Park - *Environmental Science and Technology*, 35, 3302-3309.
- Latva S., Hurttä M., Peräniemi S., Ahlgrén M. - 2000 - Separation of arsenic species in aqueous solutions and optimization of determination by graphite furnace atomic absorption spectrometry - *Analytica Chimica Acta*, 418, 11-17.

- Leblanc M., Achard B., Ben Othman D., Luck J.M. - 1996 - Accumulation of arsenic from acidic mine waters by ferruginous bacterial accretions (stromatolites) - *Applied Geochemistry*, 11, 541-549.
- Lebrun S. - 2005 - Minéralogie des précipités Fe-As dans un drainage minier acide : rôle des micro-organismes acidophiles. Thèse de doctorat d'université - Institut de Minéralogie et de Physique des Milieux Condensés, Université de Paris VI.
- Leist M., Casey R.J., Caridi D. - 2000 - The management of arsenic wastes: problem and prospects - *Journal of Hazardous Materials*, B76, 125-138.
- 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 d'université - Laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement, Université de Limoges.
- Lenoble V., Chabrouillet C., Al-Shukry R., Serpaud B., Deluchat V., Bollinger J.C. - 2004 - Dynamic arsenic removal on a Mn-O₂-loaded resin - *Journal of Colloid and Interface Science*, 280, 62-67.
- Lenoble V., Laclautre C., Deluchat V., Serpaud B., Bollinger J.C. - 2005 - Arsenic removal by adsorption on iron(III) phosphate - *Journal of Hazardous Materials*, 123, 262-268.
- Leupin O.X., Hug S.J. - 2005 - Oxidation and removal of arsenic (III) from aerated groundwater by filtration through sand and zero-valent iron - *Water Research*, 39, 1729-1740.
- Li H., Smart R.B. - 1996 - Determination of sub-nanomolar concentration of arsenic(III) in natural waters by square wave cathodic stripping voltammetry - *Analytica Chimica Acta*, 325, 25-32.
- Liao X.Y., Chen T.B, Xie H., Liu Y.R. - 2005 - Soil As contamination and its risk assessment in areas near the industrial districts of Chenzhou City, Southern China - *Environment Internationnal*, 31, 791-798.
- Lien H.L., Wilkin R. - 2005 - High-level arsenite removal from groundwater by zero-valent iron - *Chemosphere*, 59, 377-386.
- Lièvreumont D., N'Negue M.A., Behra P., Lett M.C. - 2003 - Biological oxidation of arsenite: batch reactors experiments in presence of kutnahorite and chabazite - *Chemosphere*, 51, 419-428.
- Lima E.C., Brasil J.L., Vaghetti J.C.P. - 2003 - Evaluation of different permanent modifiers for the determination of arsenic in environmental samples by electrothermal atomic absorption spectrometry - *Talanta*, 60, 103-113
- Lobenstein J.R. - 1994 - The materials flow of arsenic in the United states-U.S. Bureau of Mines, U.S. Department of the interior, IC 9382, pp. 12.
- Lombi E., Wenzel W.W., Adriano D.C. - 2000 - Arsenic-contaminated soils: II. Remedial action, chap 33, in Remediation engineering of contaminated soils, D.L. Wise, D.J. Trantolo, E.J. Clichon, H.I. Inyang and U. Stottmeister editors, Dekker, New York, pp. 739-758.
- Lombi E., Wenzel W.W., Sletten R.S. - 1999 - Arsenic adsorption by soils and iron-oxide-coated sand: kinetics and reversibility - *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 162, 451-456.

- London J. - 1963 - *Thiobacillus intermedius* nov. sp., a novel type of facultative autotroph - *Archives of Microbiology*, 46, 329-227.
- Macur R.E., Jackson C.R., Botero L.M., Mcdermott T.R., Inskip W.P. - 2004 - Bacterial populations associated with the oxidation and reduction of arsenic in a unsaturated soil - *Environmental Science and Technology*, 38, 104-111.
- Maity S., Chakravarty S., Thakur P., Gupta K.K., Bhattacharjee S., Roy B.C. - 2004 - Evaluation and standardisation of a simple HG-AAS method for rapid speciation of AS(III) and As(V) in some contaminated groundwater samples of west Bengal, India - *Chemosphere*, 54, 1199-1206.
- Mandal B.K., Suzuki K.T. - 2002 - Arsenic round the world: a review - *Talanta*, 36, 976-981.
- Manju G.N., Raji C., Anhirhudan T.S. - 1998 - Evaluation of coconuts husks carbon for the removal of arsenic from water - *Water Research*, 32, 3062-3070.
- Manning B.A., Fendorf S.E., Bostick B., Suarez D.L. - 2002b - Arsenic(III) oxidation and arsenic(V) reactions on synthetic birnessite - *Environmental Science and Technology*, 36, 976-981.
- Manning B.A., Hunt M.L., Amrhein C., Yarmoff J.A. - 2002a - Arsenic(III) and arsenic(V) reactions with zerovalent iron corrosion products - *Environmental Science and Technology*, 36, 5455-5461.
- Masscheleyn P.H., Delaune R.D., Patrick W.H. - 1991 - Effect of redox potential and pH on arsenic determination and solubility in a contaminated soil - *Environmental Science and Technology*, 25, 1414-1419.
- Matschullat J. - 2000 - Arsenic in the geosphere - a review - *Science of the Total Environment*, 249, 297-312.
- Matthess G. - 1981 - In situ treatment of arsenic contaminated groundwater - *Science of the Total Environment*, 21, 99-104.
- McCleskey R.B., Nordstrom D.K., Maest A.S. - 2004 - Preservation of water samples for arsenic (III/V) determinations: an evaluation of the literature and new analytical results - *Applied Geochemistry*, 19, 995-1009.
- McMullin M., Winchester E., Hoyer W. - 1995 - Arsenic removal from ground water using a simple oxidation/filtration process, American Water Works Association, 112th Annual Conference in Anaheim, Californnie, pp. 937-945, ISSN: 0360-814X.
- McNeill L.S., Edwards M. - 1997a - Predicting As removal during metal hydroxide precipitation - *Journal of the American Water Works Association*, 89, 75-86.
- McNeill L.S., Edwards M. - 1997b - Arsenic removal during precipitative softening - *Journal of Environmental Engineering*, 123, 453-460.
- Melitas N., Conklin M., Farrell J. - 2002 - Electrochemical study of arsenate and water reduction on iron media used for arsenic removal from potable water - *Environmental Science and Technology*, 36, 3188-3193.

- Meng X., Bang S., Korfiatis G.P.- 2000 - Effects of silicate, sulfate and carbonate on arsenic removal by ferric chloride - *Water Research*, 34, 1255-1261.
- Meng X., Korfiatis G.P., Bang S., Bang K.W. - 2002 - Combined effects of anions on arsenic removal by iron hydroxides - *Toxicology Letters*, 133, 103-11.
- Merrill D.T., Manzione M.A., Parker D.S., Petersen J.I., Chow W., Hobbs A.O. - 1987 - Field evaluation of As and Se. Removal by iron coprecipitation - *Environmental Progress*, 6, 82-96.
- Mester Z., Fodor P., - 1987 - Characteristics of the atomic fluorescence signals of arsenic in speciation studies - *Spectrochimica Acta Part B*, 52, 1763-1771.
- Metcalf, Eddy. - 2003 - Wasterwater engineering: treatment and reuse - 4ed, Mc Graw-hild, New York, USA.
- Mohammedi M. - 1998 - Etude de matériaux de garnissage en vue d'une réduction géométrique des filtres biologiques dans le cadre de l'assainissement autonome. Thèse de doctorat d'université - Laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement, Université de Limoges.
- Molénat N., Astruc M., Holeman M., Maury G., Pinel R. - 1999 - Arsenic speciation by hydride generation-quartz furnace atomic absorption spectrometry. Optimization of analytical parameters and application to environmental samples - *Analyst*, 27, 795-803.
- Molénat N., Holeman M., Pinel R. - 2000 - L'arsenic, polluant de l'environnement : origines, distribution, biotransformation - *L'actualité Chimique*, 12-23.
- Moles J., Dupont F., Koenig M. - 2004 - Le procédé GEH : un procédé innovant et sûr pour l'élimination de l'arsenic en production d'eau potable - *Techniques Sciences et Méthodes*, 12, 87-97.
- Molnar L., Vircikova E., Lech P. - 1994 - Experimental study of As (III) oxidation by H₂O₂ - *Hydrometallurgy*, 35, 1-9.
- Mondal P., Majumder C.B., Mohanty B - 2006 - Laboratory based approaches for arsenic remediation from contaminated water : recent developments - *Journal of Hazardous Materials*, In press.
- Moore J.N., Ficklin W.H., Johns C. - 1988 - Partitioning of arsenic and metals in reducing sulfidic sediments - *Environmental Science and Technology*, 22, 432-437.
- Moore J.N., Walkers J.R., Hayes T.H. - 1990 - Reaction scheme for the oxidation of As(III) to As(V) by birnessite - *Clays and Clay Minerals*, 38, 549-555.
- Moreira D., Amils R. - 1997 - Phylogeny of Thiobacillus cuprinus and other mixotrophic Thiobacilli: proposal for Thiomonas gen. nov - *International Journal of Systematic Bacteriology*, 47, 522-528.
- Mouchet P. - 1992 - From conventional to biological removal of iron and manganese in France - *Journal of the American Water Works Association*, 84, 158-167.

- Muller D., Lièvreumont D., Simeonova D.D., Hubert J.C., Lett M.C. - 2003 - Arsenite oxidase genes from a metal-resistant β -Proteobacterium - *Journal of Bacteriology*, 185, 135-141.
- Muller D., Simeonova D.D., Riegel P., Mangenot S., Koechler S., Lièvreumont D., Bertin P.N., Lett M.C. - 2006 - *Herminiimonas arsenicoxydans* sp. nov., a metalloresistant bacterium - *International Journal of Systematic and Evolution Microbiology*, 56, 1765-1769.
- Nakazato T., Tao H., Taniguchi T., Isshiki K. - 2002 - Determination of arsenite, arsenate, and monomethylarsonic acid in seawater by ion-exclusion chromatography combined with inductively coupled plasma mass spectrometry using reaction cell and hydride generation techniques - *Talanta*, 58, 121-132.
- Nenov V., Zouboulis A.J., Dimitrova M., Dobreusky I. - 1994 - As removal from aqueous solutions using non stoichiometric coprecipitation with iron III sulphate and filtration or flotation - *Environmental Pollution*, 83, 283-289.
- Nesbitt H.W., Canning G.W., Bancroft G.M. - 1998 - XPS study of reductive dissolution of 7A-birnessite by H_3AsO_3 , with constraints on reaction mechanism - *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 62, 2097-2110.
- Ng J.C., Wang J., Shraim A. - 2003 - A global health problem caused by arsenic from natural sources - *Chemosphere*, 52, 1353-1359.
- Nikolaidis N.P., Dobbs G.M., Lackovic J.A. - 2003 - Arsenic removal by zero-valent iron: field, laboratory and modeling studies - *Water Research*, 37, 1417-1425.
- NRC - National Research Council - 1999 - Arsenic in drinking water. Washington D.C: National Academic Press. <http://www.nap.edu/books/03090663337/html/R1.html>.
- Oh J.I., Lee S.H., Yamamoto K. - 2004 - Relationship between molar volume and rejection of arsenic species in groundwater by low-pressure nanofiltration process - *Journal of Membrane Science*, 234, 167-175
- Oh J.I., Urase T., Kitawaki H., Rahman M.M., Raha M.H., Yamamoto K. - 2000 - Modeling of arsenic rejection considering affinity and steric hindrance effect in nanofiltration membranes - *Water Science and Technology*, 42, 173-180.
- Oketani M., Kohara K., Tuvdendorj D., Ishitsuka K., Komorizono Y., Ishibashi K., Arima T. - 2002 - Inhibition by arsenic trioxide of human hepatoma cell growth - *Cancer Letters*, 183, 147-153.
- O'Reilly S.E., Strawn D.G., Sparks D.L. - 2001 - Residence time effects on arsenate adsorption/desorption mechanisms on goethite - *Soil Science Society of America Journal*, 65, 67-77.
- Oremland R.S., Hoefl S.E., Santini J.M., Bano N., Hollibaugh R.A., Hollibaugh J.T. - 2002 - Anaerobic oxidation of arsenite in Mono lake water and by a facultative, arsenite-oxidizing chemoautotroph strain MLHE-1 - *Applied and Environmental Microbiology*, 68, 4795-4802.
- Osborne F.H., Ehrlich H.L. - 1976 - Oxidation of arsenite by a soil isolate of *Alcaligenes* - *Journal of Applied Bacteriology*, 41, 295-305.

- Oscarson D.W., Huang P.M., Defosse C., Herbillon A. - 1981a - Oxidative power of Mn(IV) and Fe(III) oxides with respect to As(III) in terrestrial and aquatic environments - *Nature*, 291, 50-51.
- Oscarson D.W., Huang P.M., Liaw W.K. - 1981b - Role of manganese in the oxidation of arsenite by freshwater lake sediments - *Clays and Clay Minerals*, 29, 219-225.
- Oscarson D.W., Huang P.M., Liaw W.K., Hammer U.T. - 1983 - Kinetics of oxidation of arsenite by various manganese dioxides - *Soil Science Society of America Journal*, 47, 644-648.
- Ouvrard S., Simonot M.O., de Otano P., Sardin M. - 2002 - Diffusion-controlled adsorption of arsenate on a natural manganese oxide - *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 41, 6194-6199.
- Pal T., Mukherjee P.K., Sengupta S., Bhattacharyya A.K., Shome S. - 2002 - Arsenic pollution in groundwater of West Bengal, India. An insight into the problem by subsurface sediment analysis - *Gondwana Research*, 5, 501-512.
- Parga J.R., Cocke D., Valenzuela J.L., Gomes J.A., Kesmez M., Irwin G., Moreno H., Weir M. - 2005 - Arsenic removal via electrocoagulation from heavy metal contaminated groundwater in La Comarca Lagunera México - *Journal of Hazardous Materials*, B124, 247-254.
- Pattanayak J., Mondal K., Mathew S., Lalvani S.B. - 2000 - A parametric evaluation of the removal of As (V) and As (III) by carbon-based adsorbents - *Carbon*, 38, 589-596.
- Petit G. - 2005 - Contribution à l'étude expérimentale et numérique du comportement des phases gaz et solide dans un lit fluidisé circulant : application aux procédés FCC. Thèse de doctorat d'université - Laboratoire Institut National Polytechnique, Université de Toulouse.
- Petrick J.S., Ayala-Fierro F., Cullen W.R., Carter D.E., Aposhian H.V. - 2000 - Monomethylarsonous acid (MMAIII) is more toxic than arsenite in Chang human hepatocytes - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 163, 203-207.
- Philips S.E., Taylor M.L. - 1976 - Oxidation of arsenite to arsenate by *Alcaligenes faecalis* - *Applied and Environmental Microbiology*, 32, 392-399.
- Phommavong T., Viraragavan T., Subramanian K.S. - 1996 - Removal of arsenic with KMnO₄ oxidation and manganese Greensand filtration, Western Canada Water and Wastewater Association, 48th Annual Conference in Saskatchewan, Canada, pp. 173-192.
- Piamphongsant T. - 1999 - Chronic environmental arsenic poisoning - *International Journal Of Chromatography*, 38, 401-410.
- Pichard A., Bisson M., Houeix N., Hulot C., Lacroix G., Lefevre J.P., Leveque S., Magaud H., Morin A., Cornu L., Gillet C. - 2005 - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques : Arsenic et ses dérivés. Inéris, 2^{ème} version, 3 février 2005.
- Pourbaix. - 1963 - Atlas des équilibres électrochimiques à 25°C, Gautier-Villars, Paris.
- Peyll U., Dworschak A., Nitschke F., Neidhart B. - 1999 - Flow injection electrochemical hydride generation atomic absorption spectrometry (FI-HG-AAS) as a simple device for the speciation of inorganic arsenic and selenium - *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 363, 495-498.

- Quastel J.H., Scholefield P.G. - 1953 - Arsenite oxidation in soil - *Soil Science*, 75, 279-285.
- Raven K.P., Jain A., Loeppert R.H. - 1998 - Arsenite and arsenate adsorption on ferrihydrite: kinetics, equilibrium and adsorption envelopes - *Environmental Science and Technology*, 36, 344-349.
- Reese Jr. G.R. - 2000 - Arsenic. U.S Geological Survey.
<http://minerals.usps.gov/minerals/pubs/commodity/arsenic/160301.pdf>.
- Rodriguez R., Ramos J.A., Armienta A. - 2004 - Groundwater arsenic variations: the role of local geology and rainfall - *Applied Geochemistry*, 19, 245-250.
- Rodriguez V.M., Jiménez-Capdeville M.E., Giordano M. - 2003 - The effects of arsenic exposure on the nervous system - *Toxicology Letters*, 145, 1-18.
- Rossman T.G. - 2003 - Review: Mechanism of arsenic carcinogenesis: an integrated approach - *Mutation Research*, 533, 37-65.
- Rossman T.G. Uddin A.N., Burns F.J. - 2004 - Evidence that arsenite acts as a cocarcinogen in skin cancer - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198, 394-404.
- Rubel F. - 2003 - Design material - Removal of arsenic from drinking water supplies by adsorptive media. EPA 600-R-03-019. Cincinnati, Ohio.
- Sadiq M. - 1997 - Arsenic chemistry in soils: an overview of thermodynamic predictions and fields observations - *Water, Air, and Soil Pollution*, 93, 117-136.
- Sadiq M., Zaidi T.H., Mian A.A. - 1983 - Environmental behavior of arsenic in soils: theoretical - *Water, Air, and Soil Pollution*, 20, 369-377.
- Salmassi T.M., Venkateswaren K., Satomi M., Nealson K.H., Newman D.K., Hering J.G. - 2002 - Oxidation of arsenite by *Agrobacterium albertimagni*, AOL15, sp. nov., isolated from Hot Creek, California - *Geomicrobiology Journal*, 19, 53-66.
- Samary C. - 2005 - Optimisation des conditions d'oxydation biologique de l'arsenic(III) par $CaSO_4$ dans les eaux. Master recherche d'université - Laboratoire des Sciences de l'Eau et de l'Environnement, Université de Limoges.
- Sancha A.M., O'Ryan R., Perez O. - 2000 - The removal of arsenic from drinking water and associated costs: The Chilean cas. Interdisciplinary perspectives on drinking water risk assessment and management, (Proceedings of the Santiago Symposium, September 1998), IAHS publ.260, pp. 17-25.
- Sand W., Rhode K., Zenneck C. - 1992 - Evaluation of *Leptospirillum ferrooxidans* for leaching - *Applied and Environmental Microbiology*, 58, 85-92.
- Sandstrom A., Mattsson E. - 2001 - Bacterial ferrous iron oxidation of acide mine drainage as pre-treatment for subsequent metal recovery - *International Journal of Mineral Processing*, 62, 309-320.

- Santini J.M., Sly L.I., Wen A., Comrie P., De Wulf-Durand P., Macy J.M. - 2002 - New arsenite-oxidizing bacteria isolated from Australian gold mining environments - phylogenetic relationships - *Geomicrobiology Journal*, 19, 67-76.
- Santini J.M., Van den Hoven R.N. - 2004 - Molybdenum-containing arsenite oxidase of the chemolithoautotrophic arsenite oxidizer NT-26 - *Journal of Bacteriology*, 186, 1614-1619.
- Sato Y., Kang M., Kamei T., Magara Y. - 2002 - Performance of nanofiltration for arsenic removal - *Water Research*, 36, 3371-3377.
- Schoen A., Beck B., Sharma R., Dubé E. - 2004 - Arsenic toxicity at low doses: epidemiological and mode of action considerations - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198, 253-267.
- Schrenk M.O., Edwards K.J., Goodman R.M., Hamers R.J., Banfield J.F. - 1998 - Distribution of *Thiobacillus ferrooxidans* and *Leptospirillum ferrooxidans*: implications for generations of acid mine drainage - *Science*, 279, 1519-1522.
- Scott K.N., Green J.F., Do H.D., McLean S.J. - 1995 - Arsenic removal by coagulation - *Journal of the American Water Works Association*, 87, 114-126.
- Scott M.J., Morgan J.J. - 1995 - Oxidation of AS(III) by synthetic birnessite - *Environmental Science and Technology*, 29, 1898-1905
- Scudlark J.R., Jonhston D.L. - 1982 - Biological oxidation of arsenite in seawater - *Estuarine, Coastal and Shelf Science*, 14, 693-706.
- Sehlin H.M., Lindström E.B. - 1992 - Oxidation and reduction of arsenic by *Sulfolobus acidocaldarius* strain BC - *FEMS Microbiology Letters*, 93, 87-92.
- Seidel A., Waypa J.J., Elimelech M. - 2001 - Role of charge (Donnan) exclusion in removal of arsenic from water by a negatively charged porous nanofiltration membrane - *Environmental Engineering Science*, 18, 105-113.
- Seith R., Jekel M. - 1997 - Biooxidation of As(III) in fixed bed reactors - *Wom Wasser*, 89, 283-296.
- Shemirani F., Baghdadi M., Ramezani M. - 2005 - Preconcentration and determination of ultra trace amounts of arsenic(III) and arsenic(V) in tap water and total arsenic in biological samples by cloud point extraction and electrothermal atomic absorption spectrometry - *Talanta*, 65, 882-887.
- Shih M.C. - 2005 - An overview of arsenic removal by pressure-driven membrane processes - *Desalination*, 172, 85-97.
- Shraim A., Chriswell B., Olszowy H. - 2000 - Use of perchloric acid as a reaction medium for speciation of arsenic by hydride generation-atomic absorption spectrometry - *Analyst*, 125, 949-953.
- Sigg L., Stumm W. - 1981 - The interaction of anion and weak acids with the hydrous goethite (α -FeOOH) surface - *Colloids Surfaces*, 2, 101-107.

- Silver S., Phung L.T. - 2005 - Genes and enzymes involved in bacterial oxidation and reduction of inorganic arsenic - *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 599-608.
- Simeonova D.D. - 2004 - Arsenic oxidation of *Cenibacterium arsenoxidans*: Potential application in bioremediation of arsenic contaminated water. Thèse de doctorat d'Université - Université Louis Pasteur de Strasbourg et Université de Sofia.
- Simeonova D.D., Micheva K., Muller D.A.E., Lagarde F., Lett M.C., Groudeva V.I., Lièvreumont D. - 2005 - Arsenic oxidation in batch reactors with alginate-immobilized ULPAs1 strain - *Biotechnology and Bioengineering*, 91, 441-446.
- Singh T.S., Pant K.K. - 2004 - Equilibrium, kinetics and thermodynamic studies for adsorption of As(III) on activated alumina - *Separation and Purification Technology*, 36, 139-147.
- Smedley P.L., Kinniburgh D.G. - 2002 - A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters - *Applied Geochemistry*, 17, 517-569.
- Smith R.M., Davison W., Hamilton-Taylor J. - 2002 - Methods for preparing synthetic freshwaters - *Water Research*, 36, 1286-1296.
- Smith R.M., Martell A.E. - 1976-1982 - Critical Stability Constants, Vol. 3-5, Plenum Press, New York and London.
- Snow E.T., Sykora P., Durham T.R., Klein C.B. - 2005 - Arsenic, mode of action at biological plausible doses : What are the implications for low dose cancer risk? - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 207, 557-564.
- Sorg T.J., Logsdon G.S. - 1978 - Treatment technology to meet the interim primary drinking water regulations for inorganics: part 2 - *Journal of the American Water Works Association*, 70, 379-393.
- Squibb, K.S., Fowler, B.A. - 1983 - The toxicity of arsenic and its compounds. In: Fowler B.A. (Ed.), Biological and Environmental Effects of Arsenic. Elsevier, Amsterdam, pp. 233-269.
- Sracek O., Bhattacharya P., Jacks G., Gustafson J.P., Brömssen M. - 2004 - Behavior of arsenic and geochemical modeling of arsenic enrichment in aqueous environments - *Applied Geochemistry*, 19, 169-180.
- Sterling R.O., Helble J.J. - 2003 - Reaction of arsenic vapor species with fly ash compounds: kinetics and speciation of the reaction with calcium silicates - *Chemosphere*, 51, 1111-1119.
- Stumm W. - 1992 - Chemistry of Solid - Water Interface, Wiley Interscience, New York.
- Styblo M., Del Razo L.M., Vega L., Germolec D.R., Lecluyse E.L., Hamilton G.A., Wang C., Cullen W.R., Thomas D.J. - 2000 - Comparative toxicity of trivalent and pentavalent inorganic and methylated arsenicals in rat and human cells - *Archives of Toxicology*, 74, 289-299.
- Su C.M., Puls R.W. - 2001a - Arsenate and arsenite removal by zero-valent iron: kinetics, redox transformation, and applications for in situ groundwater remediation - *Environmental Science and Technology*, 35, 1487-1492.

- Su C.M., Puls R.W. - 2001b - Arsenate and arsenite removal by zero-valent iron: effects of phosphate, silicate, carbonate, borate, sulfate, chromate, molybdate, and nitrate, relative to chloride - *Environmental Science and Technology*, 35, 4562-4568.
- Su C.M., Puls R.W. - 2004 - Significance of iron (II,III) hydroxy-carbonate green rust in arsenic using zerovalent iron in laboratory column test - *Environmental Science and Technology*, 38, 5224-5231.
- Subramanian K.S., Viraragavan T., Phommavong T., Tanjore S. - 1997 - Manganese Greensand for removal of arsenic in drinking water - *Water Quality Research Journal of Canada*, 32, 551-561.
- Sun H., Wang L., Zhang R., Sui J., Xu G. - 2006 - Treatment of groundwater polluted by arsenic compounds by zero-valent iron - *Journal of Hazardous Materials*, B129, 297-303.
- Swedlund P.J., Webster J.G. - 1999 - Adsorption and polymerisation of silicic acid on ferrihydrite, and its effect on arsenic adsorption - *Water Research*, 33, 3413-3422.
- Tamaki S., Frankenberger W.T. - 1992 - Environmental biochemistry of arsenic - *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 124, 79-110
- Teixera L.A., Monteiro A.G., Kohler H.M. - 1990 - The detoxification of effluents containing arsenic with iron sulfate and hydrogen peroxide, EPD Congress, pp. 189-207.
- Thirunavukkarasu O.S., Viraghavan T., Subramanian K.S. - 2002 - Arsenic removal from drinking water using iron-coated sand - *Water, Air, and Soil Pollution*, 142, 95-111.
- Thomas P. - 2002 - Les micropolluants minéraux dans les eaux de distribution. L'arsenic : Méthodes d'analyses - *Techniques Sciences et Méthodes*, 5, 26-33.
- Tipping E. - 1981 - The adsorption of aquatic humic substances by iron oxides - *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 45, 191-199.
- Tokunaga S., Yokoyama S., Wasay S.A. - 1999 - Removal of arsenic (III) and Arsenic (V) from aqueous solutions with lanthanum (III) salt and comparison with aluminium (III), calcium (III), and iron (III) salts - *Water Environment Research*, 71, 299-306.
- Tournassat C., Charlet L., Bosbach D., Manceau A. - 2002 - Arsenic(III) oxidation by birnessite and precipitation of manganese(II) arsenate - *Environmental Science and Technology*, 36, 493-500.
- Tozawa K., Nishimura T. - 1984 - Oxidation of As (III) to As (V) in aqueous solutions - *Metallurgical review of the Mining and Metallurgical Institute of Japan*, 1, 76-77.
- Tupeinen R., Pansar-Kallio M., Kairesalo T. - 2002 - Role of microbes in controlling the speciation and production of arsines in contaminated soils - *The Science of the Total Environment*, 285, 133-145.
- Uruse T., Oh J.I., Yamamoto K. - 1998 - Effect of pH on rejection of different species of arsenic by nanofiltration - *Desalination*, 117, 11-18.

- US EPA. - 2000a - Arsenic removal from drinking by ion exchange and activated alumina plants, EPA/600/R-00/088. Cincinnati, Ohio.
- US EPA. - 2000b - Technologies and costs for removal of arsenic from drinking water. EPA/815/R-00/028. Cincinnati, Ohio.
- US EPA. - 2003 - Arsenic treatment technology evaluation handbook for small units. EPA/816/R-03/014. Cincinnati, Ohio-Office of Water (4606M).
- Vahter M. - 1999 - Methylation of inorganic arsenic in different mammalian species and population groups - *Science Progress*, 82, 69-88.
- Vahter M., Concha G., Nermell B., Nilsson R., Dulout F., Natarajan A.T. - 1995 - A unique metabolism of inorganic arsenic in native Andean women - *European Journal of Pharmacology: Environmental Toxicology and Pharmacology*, 293, 455-462.
- Van Elteren J.T., Slejkovec Z. - 1997 - Ion-exchange separation of eight arsenic compounds by HPLC-UV-HG-AFS and stability tests for food treatment procedures - *Journal of Chromatography A*, 789, 339-348.
- Vega L., Stylbo M., Patterson R., Cullen W.R., Wang G., Germolec D. - 2001 - Differential effects of trivalent and pentavalent arsenicals on cell proliferation and cytokine in normal human epidermal keratinocytes - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 172, 225-232.
- Villiermaux J. - 1993 - Génie de la réaction chimique-conception et fonctionnement des réacteurs- 2^{ème} Edition Ed.Tec&Doc, Lavoisier.
- Vrijenhoek E.M., Waypa J.J. - 2000 - Arsenic removal from drinking water by a "loose" nanofiltration membrane - *Desalination*, 130, 265-277.
- Wakao N., Koyatsu H., Komai Y., Shimokawara H., Sakurai Y., Shiota H. - 1988 - Microbial oxidation of arsenic and occurrence of arsenic oxidizing bacteria in acid mine water from a sulfur pyrite mine - *Geomicrobiology Journal*, 6, 11-24.
- Waltham C.A., Eick M.J. - 2002 - Kinetics of arsenic adsorption on goethite in the presence of sorbed silicic acid - *Soil Science Society of America Journal*, 66, 818-825.
- Wang L. Chen A., Fields K. - 2000 - Arsenic removal from drinking water by ion exchange and activated alumina plants. EPA/600/R-00/088. Cincinnati, Ohio.
- Wang L., Chen A.S.C., Sorg T.J., Fields K.A. - 2002 - Field evaluation of As removal by IX and AA - *Journal of the American Water Works Association*, 94, 161-173.
- Wang S., Mulligan C.N. - 2006 - Occurrence of arsenic contamination in Canada: sources, behaviour and distribution - *Science of the Total Environment*, 366, 701-721.
- Wang Y., Reardon E.J. - 2001 - A siderite/limestone reactor to remove arsenic and cadmium from wastewaters - *Applied Geochemistry*, 16, 1241-1249.
- Welté B. - 2002 - Les micropolluants minéraux dans les eaux de distribution. L'arsenic : Traitement - *Techniques Sciences et Méthodes*, 5, 36-42.

- Welz B., Sperling M. - 1999 - Atomic absorption spectrometry-3rd Edition, Wiley-VCH, Weinheim, pp.485-486.
- WHO - 2001 - Environmental Health Criteria, No. 224: Arsenic, second edition
http://whqlibdoc.who.int/ehc/WHO_EHC_224.pdf.
- WHO - 2006 - Guidelines for drinking-water quality, first addendum to third edition
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/gdwq0506.pdf.
- Wickramasinghe S.R., Han B., Zimbron J., Shen Z., Karim M.N. - 2004 - Arsenic removal by coagulation and filtration: comparison of groundwaters from the United States and Bangladesh - *Desalination*, 169, 231-244.
- Yamamura S., Bartram J., Csanady M., Gorchev H.G., Redekopp A. - 2001 - World Health Organization, Draft, Chapter 5: Drinking water guidelines and standards
http://www.who.int/water_sanitation_health/dwq/arsenicun5.pdf.
- Yamauchi H., Aminaka Y., Yoshida K., Sun G., Pi J., Waalkes M.P. - 2004 - Evaluation of DNA damage in patients with arsenic poisoning: urinary 8-hydroxydeoxyguanine - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198, 291-296.
- Yoshida T., Yamauchi H., Sun G.F. - 2004 - Chronic health effects in people exposed to arsenic via the drinking water: dose-response relationships in review - *Toxicology and Applied Pharmacology*, 198, 243-252.
- Zaw M., Emmett M.T. - 2002 - Arsenic removal from water using advanced oxidation processes - *Toxicology Letters*, 133, 113-118.
- Zouboulis A.I., Katsoyiannis I.A. - 2005 - Recent advances in the bioremediation of arsenic-contaminated groundwaters - *Environmental International*, 31, 213-219.

ANNEXES

Annexe 1 : Composition en ions majeurs de l'eau synthétique et de sept échantillons prélevés près de Limoges (87)

Annexe 2 : Protocole de préparation de 200 mL d'eau synthétique

Annexe 3 : Photographies de l'unité pilote

Annexe 4 : Distribution des Temps de Séjour

Annexe 5 : Courbe d'étalonnage du conductimètre utilisé pour la Distribution des Temps de Séjour

Annexe 6 : Principe de la technique SSCP utilisée pour le suivi de la population CAsO1

Annexe 7 : Représentation de la courbe obtenue par ATOM pour le programme optimisé lors du dosage de l'arsenic par GF-AAS

Annexe 8 : Charge de surface - capacité d'échange cationique (CEC)

Annexe 9 : Publications et communications issues de ce travail

Annexe 10 : Optimization of a GFAAS method for determination of total inorganic arsenic in drinking water

Annexe 1 : Composition en ions majeurs de l'eau synthétique et de sept échantillons prélevés près de Limoges (87)

Echantillons	pH	HCO ₃ ⁻ mg l ⁻¹	Na ⁺ mg l ⁻¹	K ⁺ mg l ⁻¹	Mg ²⁺ mg l ⁻¹	Ca ²⁺ mg l ⁻¹	Cl ⁻ mg l ⁻¹	NO ₃ ⁻ mg l ⁻¹	SO ₄ ²⁻ mg l ⁻¹	PO ₄ ³⁻ mg l ⁻¹	SiO ₂ mg l ⁻¹
Eau synthétique	6,0	1,2	6,9	0,8	1,3	3,2	8,1	9,9	3,4	< L.D.	9.0
S.1	5,5	6,9	5,5	1,0	0,8	3,6	5,7	2,0	1,4	< L.D.	10.9
S.2	6,1	23,3	8,4	1,0	0,9	4,1	5,0	3,0	2,0	< L.D.	29.1
S.3	6,3	n.a.	16,0	1,4	9,5	16,5	35,6	17,0	26,7	< L.D.	n.a.
S.4	6,5	n.a.	11,7	13,8	7,1	17,0	35,5	23,7	35,6	< L.D.	n.a.
S.5	6,2	n.a.	25,7	1,8	9,2	29,7	23,4	9,9	16,9	< L.D.	n.a.
S.6	6,0	n.a.	12,9	4,2	6,4	20,0	13,6	21,5	61,1	< L.D.	n.a.
S.7	5,5	n.a.	10,9	10,7	3,0	9,2	24,0	27,2	7,9	< L.D.	n.a.

n.a. : non analysé

< L.D. : concentration inférieure à la limite de détection (0,5 mg.L⁻¹)

Annexe 2 : Protocole de préparation de 200 L d'eau synthétique

	Préparation solutions initiales					Préparation solutions mères				Préparation eau synthétique				
	masse molaire produits commerciaux	pureté	masse à peser en tenant compte de la pureté (g)	volume solution initiale (L)	concentration dans solution initiale (mmol.L ⁻¹)	facteur de dilution	prélèvement solution initiale (mL)	volume solution mère (L)	concentration dans solution mère (mmol.L ⁻¹)	facteur de dilution	prélèvement de solution mère (L)	volume final (L) (S1+S2+S3+S4+S5)	concentration dans solution finale (mmol.L ⁻¹)	
Solution 1														
Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	236,15	98	38,474	1	159,6648	20	0,1	2	7,98324	100	2	200	0,0798	
MgCl ₂ .4H ₂ O	203,3	98	22,185	1	106,9431	20	0,1		5,34715				0,0535	
Solution 2														
KHCO ₃	100,12	100	8,194	1	81,84	20	0,05	1	4,092	200	1			0,0205
Solution 3														
Na ₂ SiO ₃ .5H ₂ O	212,14	97	6,561	0,5	60					400	0,5			0,15
Solution 4														
NH ₄ Cl	53,49	99,5	12,945	1	240,8	20	0,1	2	12,04	100	2			0,1204
(NH ₄) ₂ SO ₄	132,14	99,5	9,429	1	71	20	0,1		3,55				0,0355	
Solution 5														
KH ₂ PO ₄	136,09	99	20,205	1	146,984	20	0,1	2	7,3492	100	2		0,0735	
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	228,23	99	26,472	1	114,83	20	0,1		5,7415			0,0574		

Annexe 3 : Photographies de l'unité pilote





Annexe 4 : Distribution des Temps de Séjour (DTS)

I. Aspect théorique de la DTS

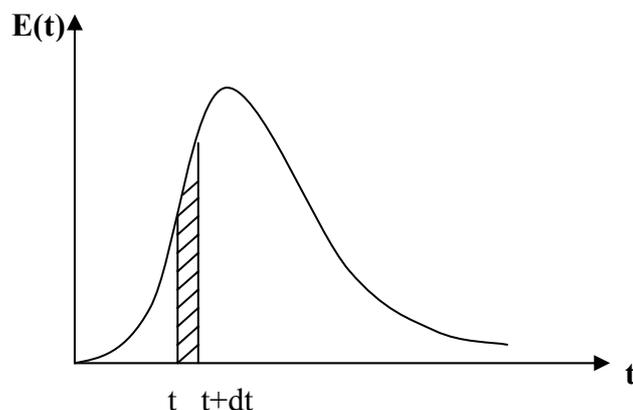
Le concept de la distribution des temps de séjour proposé par Danckwerts (1953) permet une description globale de l'écoulement des paramètres et des fonctions de distribution aisément accessibles par l'expérience. Le contexte expérimental et théorique de la distribution des temps de séjour offre une panoplie d'outils efficaces particulièrement bien adaptés à la compréhension et à la maîtrise des facteurs gouvernant les performances d'un réacteur même si cela ne permet pas d'aboutir à une connaissance détaillée de l'écoulement en chaque point.

Pour modéliser les phénomènes physiques en milieu polyphasique, il est nécessaire d'introduire la notion de "réacteur idéal", qui fait appel à deux types d'écoulements simples dans les réacteurs en régime permanent : le Réacteur à Ecoulement Piston (REP) et le Réacteur Ouvert Parfaitement Agité (ROPA) (Villermaux, 1993).

Dans le cas d'un réacteur réel, en raison de la présence de certains phénomènes tels que la dispersion des molécules du fluide en écoulement, des courts-circuits, des zones de recirculation et des zones stagnantes, les molécules séjournent dans le volume réactionnel pendant des temps t . Ces temps de séjour peuvent s'écarter notablement du temps de séjour moyen τ . Il existe donc une distribution des temps de séjour qui dépend principalement du profil hydrodynamique et de la géométrie du réacteur.

II. Fonctions de Distribution des Temps de Séjour

Dans le cas d'un régime permanent, en supposant que l'écoulement à travers les sections d'entrée et de sortie se fait par convection forcée, à l'exclusion de toute diffusion et de tout mélange en retour, la fonction la plus importante est la *Distribution des Temps de Séjour* $E(t)$ (DTS), telle que $E(t)dt$ est la fraction du débit de sortie contenant des molécules d'âge compris entre t et $t+dt$ (Fig.1).



III. Détermination expérimentale des fonctions de distribution

La détermination expérimentale des courbes de distribution des temps de séjour se fait par la méthode des traceurs qui consiste à marquer les molécules entrant dans le réacteur et à suivre leur évolution en sortie de réacteur en fonction du temps. Les traceurs utilisés sont des substances miscibles au fluide, ne réagissant pas chimiquement avec lui et décelables par une propriété physique caractéristique telle que la radioactivité, la conductivité électrique ou thermique, le spectre d'absorption.

La méthode expérimentale consiste alors à appliquer à l'aide du traceur un signal à l'entrée du système sans perturber l'écoulement et à observer la réponse à la sortie du système. Les signaux injectés dans le système peuvent théoriquement être de sorte que la réponse soit facilement exploitable. Les signaux les plus souvent utilisés sont de type échelon ou impulsion.

Réponse à une injection échelon :

La concentration du traceur passe brusquement de 0 à C_0 dans l'alimentation à l'instant $t=0$. Si $C_s(t)$ est la concentration du traceur dans le courant de sortie, la réponse indicielle du système pour ce type d'injection est donnée par l'expression suivante (1) :

$$F(t) = \frac{C_s(t)}{C_0} \quad (1)$$

Réponse à une injection impulsion :

Le mode impulsion consiste à injecter, à l'entrée du réacteur, une quantité donnée de traceur (n_0 moles) pendant un temps très court (ajout instantané). Cette injection peut être représentée mathématiquement par l'impulsion de Dirac. La réponse impulsionnelle du système est liée à la distribution des temps de séjour $E(t)$ comme suit (2) :

$$\tau.E(t) = \frac{C_s(t)}{C_0} \quad (2)$$

$C_s(t)$: concentration du traceur mesurée en sortie de réacteur

$C_0 = n_0 / V$: concentration qu'aurait le traceur uniformément réparti dans le volume V

IV. Distribution des temps de séjour dans les divers types de réacteurs

- réacteur piston :

Un réacteur à écoulement piston se comporte comme un retard pur. Tous les signaux entrant sont donc transmis sans déformation et se retrouvent à la sortie au bout d'un temps $t = \tau$.

Toutes les molécules ont le même temps de séjour ($\tau = t_p = V_t / Q$).

Pour une injection impulsion, la DTS est un pic très étroit au temps $t = \tau$, alors que la réponse à une injection échelon est un échelon décalé de τ dans le temps.

- réacteur parfaitement agité :

Un réacteur parfaitement agité possède la DTS la plus étalée. Le temps de séjour le plus probable est $\tau = 0$. Ainsi, dans le cas d'une injection impulsion, la concentration monte instantanément à C_0 , puis évolue en diminuant plus ou moins rapidement en fonction du temps. Toutes les molécules présentes dans le réacteur ont une égale probabilité de sortie. Au bout d'un temps égal à 3τ , il reste encore 5% des molécules initialement présentes et il faut monter à 5τ pour que cette fraction soit inférieure à 1% (Villermaux, 1993).

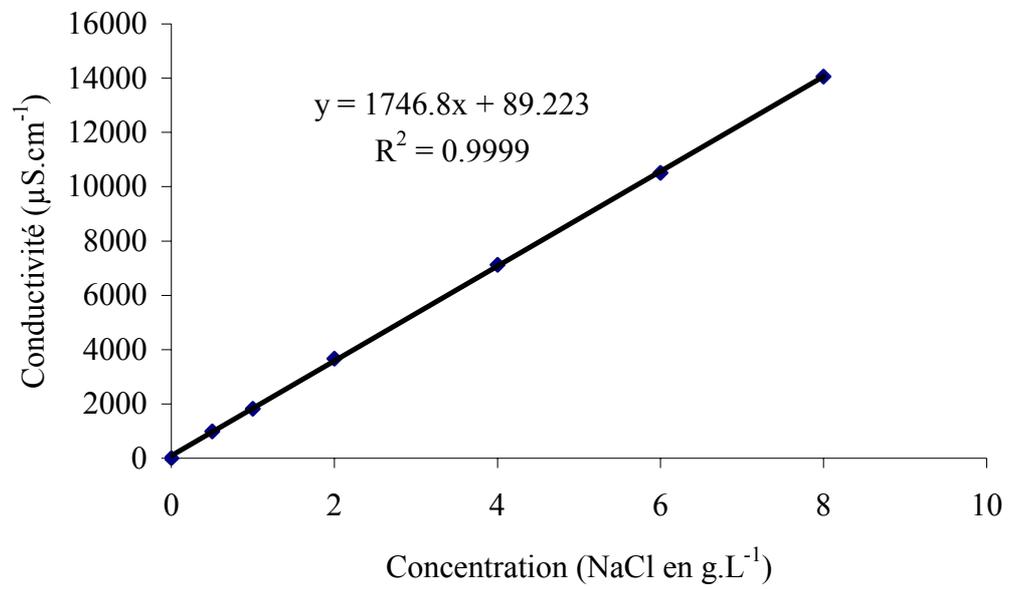
V. Diagnostics de mauvais fonctionnement en DTS

La technique de la distribution des temps de séjour (DTS), au moyen d'un traceur, constitue un moyen de diagnostic pour connaître la structure d'un écoulement dans les systèmes continus. Ainsi, lorsqu'on compare le temps de séjour moyen τ avec les temps de passage $t_p (= V_t / Q)$, plusieurs cas peuvent se présenter :

- $\tau = t_p$: tout le volume interne du réacteur V_t est accessible au fluide
- $\tau < t_p$: il existe un volume mort ou stagnant V_m , qui représente une partie du volume réactionnel inaccessible au fluide
- $\tau > t_p$: il existe un court-circuit, et l'existence d'un pic initial correspond au débit de court-circuit Q_c .

Les mesures de DTS à l'aide de traceur fournissent un bon nombre de renseignements sur l'écoulement des fluides au sein de réacteurs réels. La DTS constitue également un outil de diagnostic très précieux qui donne accès à des paramètres difficiles à mesurer par des méthodes directes (volume mort, débit de court-circuit...).

Annexe 5 : Courbe d'étalonnage du conductimètre utilisée pour la DTS

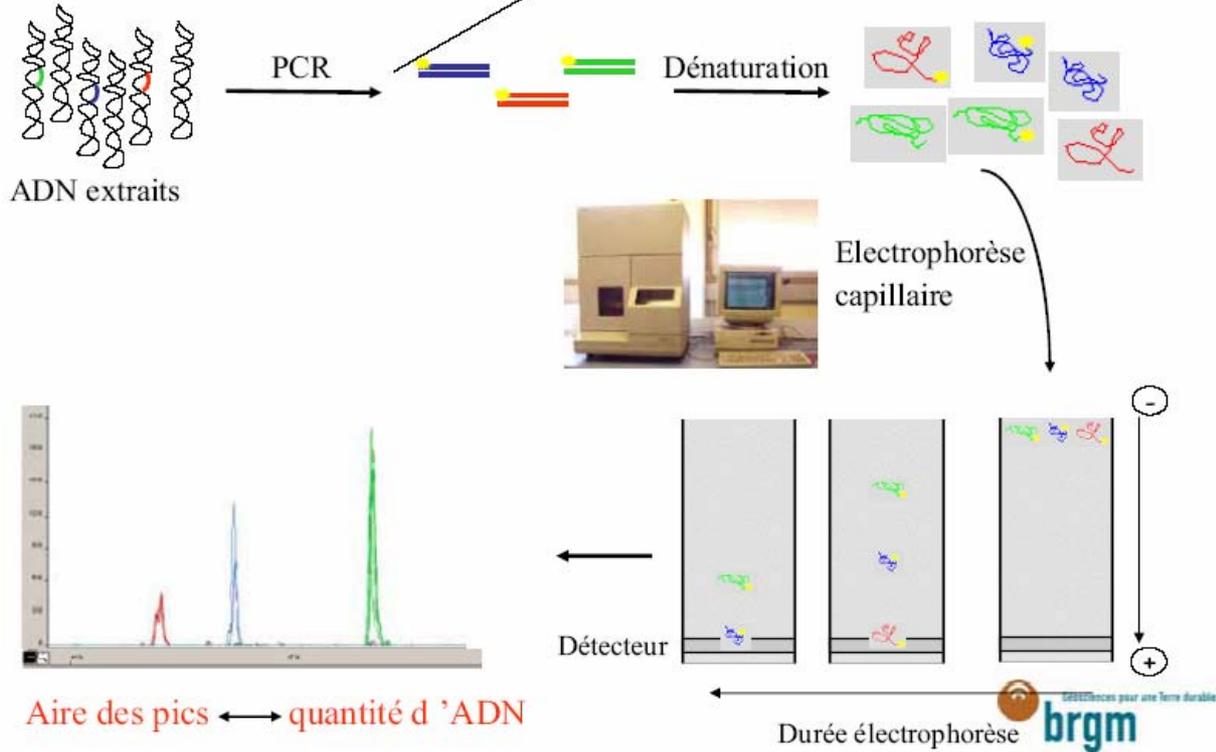


Annexe 6 : Principe de la technique SSCP utilisé pour le suivi de la population $CAsO_1$

Journées Thématiques du Réseau National Biofilms 2006

Principe de la SSCP

Une amorce fluorescente : détection

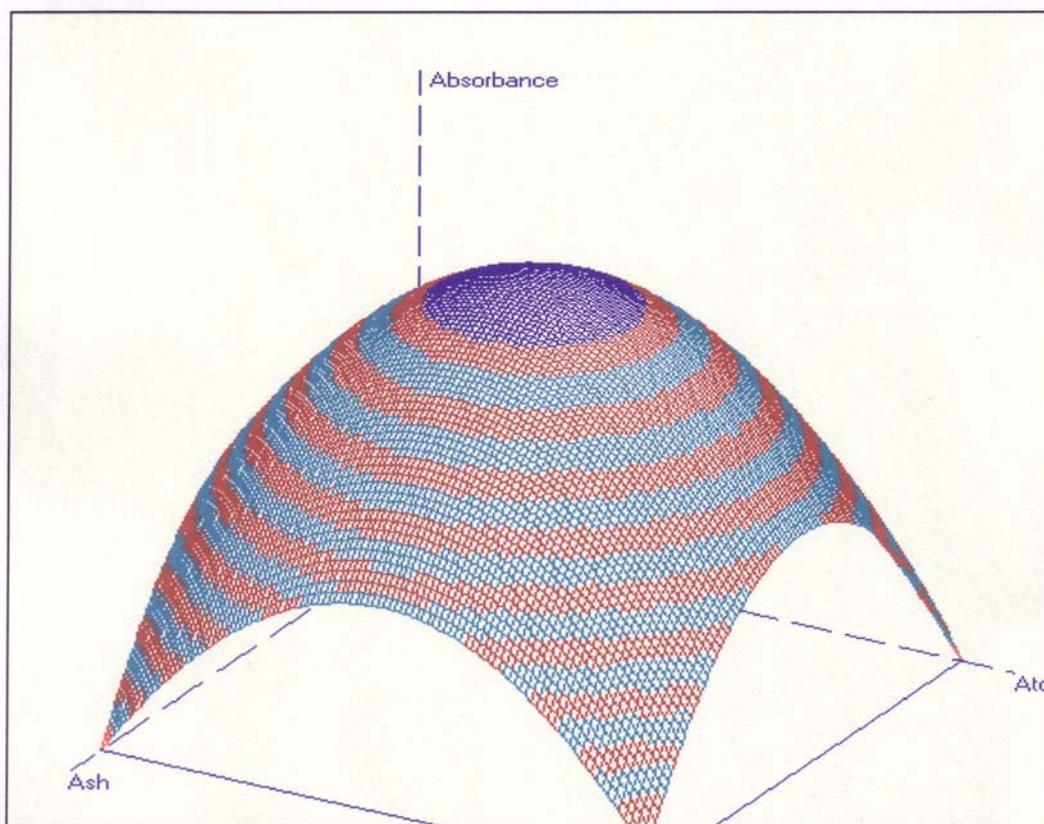


Annexe 7 : Représentation de la courbe obtenue par ATOM pour le programme optimisé lors du dosage de l'arsenic par GF-AAS

Test Results

Optimum Ash temperature 1178 °C
 Optimum Atomize temperature 2395 °C

Surface Shape Elliptic



Experiment conditions

Ash (°C)	Atomize (°C)	Absorbance
900	2150	0,1392
1500	2150	0,1016
900	2650	0,1175
1500	2650	0,0964
1200	2400	0,1560
1200	2400	0,1550
776	2400	0,1455
1624	2400	0,0530
1200	2046	0,1429
1200	2754	0,1366
1200	2400	0,1523
1200	2400	1,1615

Working hypothesis

Ash
 Temperature 1200°C
 Step 300°C

Atomize
 Temperature 2400°C
 Step 250°C

Graph Properties

X view angle 60°
 Z view angle 330°
 Water Level None
 Magnification X 0,6
 Magnification Z 0,6

Annexe 8 : Charge de surface – Capacité d'Echange Cationique (CEC)

I. Détermination de la charge de surface et des constantes d'acidité

Les propriétés acido-basiques de surface des différents solides sont déterminées par titrage potentiométrique selon le procédé de Kummert et Stumm (1980) et Sigg et Stumm (1981). Les dosages sont réalisés avec des solutions contenant 100 g.L⁻¹ de pouzzolane, à l'aide de HNO₃ et NaOH 0,01M. Les essais sont réalisés à trois forces ioniques différentes, NaNO₃ variant de 0,01 à 1 M. Les mesures sont effectuées avec une électrode de verre combinée (Ag/AgCl/KCl 3M) Metrohm 6.0233.100 et un pH-mètre PHM 250 (Meterlab).

Les constantes d'acidité de surface sont déterminées selon le modèle de complexation de surface de Stumm (1992). Ce modèle, basé sur la théorie de la double couche de Gouy et Chapman, suppose que la charge électrostatique de surface du solide résulte de réactions acide-base de surface. Ces réactions sont décrites uniquement par l'équation de conservation de la matière (Kraepiel *et al.*, 1998), basée sur les réactions des groupements hydroxyles de surface, déterminées par analogie avec des composés amphotères (1) et (2) :



Les constantes d'acidités correspondantes sont (3) et (4) :

$$K_{a2}^S = [\text{H}^+] \times [\text{SOH}] / [\text{S-OH}_2^+] \quad (3)$$

$$K_{a1}^S = [\text{H}^+] \times [\text{SO}^-] / [\text{S-OH}] \quad (4)$$

Le nombre total de sites de surface peut s'exprimer par la relation (5) :

$$[\text{S}]_{\text{tot}} = [\text{S-OH}_2^+] + [\text{SOH}] + [\text{SO}^-] \quad (5)$$

Pour chaque point de titrage acido basique, on obtient la charge de surface Q (6) :

$$Q = (\text{Ca} - \text{Cb} + [\text{OH}^-] - [\text{H}^+]) / m \quad (6)$$

Q : charge de surface (mol.g⁻¹)

Ca : quantité d'acide ajouté (mol.L⁻¹)

Cb : quantité de base ajoutée (mol.L⁻¹)

m : prise d'essai (g.L⁻¹)

D'après Davranche *et al.* (2003), les charges de surface du solide peuvent être obtenues en fonction du pH. Le pH pour lequel il n'y a eu ni ajout d'acide et de base est le pH_{zpt} , pH au point de titration zéro.

II. Détermination de la capacité d'échange cationique (CEC)

La CEC représente la somme des cations échangeables d'un solide. La CEC est déterminée selon la norme NF X 31-130 (AFNOR, 1997d) par la méthode au cobalthexamine. Afin de pouvoir estimer les pK_a^{S} de la pouzzolane, la CEC sera assimilée dans cette étude au nombre total de sites de surface $\{S\}_{\text{tot}}$.

Annexe 9 : Communications et publications issues de ce travail

Publications

Revue internationale avec comité de lecture :

« Optimization of a GFAAS method for determination of total inorganic arsenic in drinking water »
Michon J., Deluchat V., AL Shukry R., Dagot C., Bollinger J.-C. [2007] - *Talanta* – 71, 479-485.
(Impact Factor 2005 : 2,391).

Revue nationale avec comité de lecture :

« Développement of a simple method for rapid determination of As(III) and total As in drinking water »
Michon J., AL Shukry R., Deluchat V., Dagot C. [2005] - *European Journal of Water Quality* - 36(2), 167-178.

Communications orales

CHEMSPEC – Luxembourg (Luxembourg), 6-9 avril 2005

« Développement of a simple HG-AAS method for rapid determination of As(III) and As(V) in drinking water. Preservation of samples »

Michon J., AL Shukry R., Dagot C., Deluchat V.

ASEES – Limoges (France), 12-13 mai 2005

« Conservation d'échantillons d'eaux pour le dosage et la spéciation de l'arsenic »

Michon J., AL Shukry R., Dagot C., Deluchat V.

Journées thématiques du Réseau National Biofilms – Orléans (France), 15–16 juin 2006

« Développement de biofiltres pour le traitement des eaux polluées par de l'arsénite »

Battaglia-Brunet F., Garrido F., Dictor M.-C., Joulian C., Delorme F., Itard Y., Morin D., Deluchat V., Michon J., Godon J.-J.

Communications par affichage

IWA – Marrakech (Maroc), 19–24 septembre 2004

« Arsenic determination in waters by Graphite Atomic Absorption Spectroscopy »

Michon J., AL Shukry R., Deluchat V., Dagot C., Serpaud B., Bollinger J-C.

Journées thématiques du Réseau National Biofilms – Orléans (France), 15–16 juin 2006

« Oxydation biologique de l’Arsenic(III) par CasO1 dans les eaux destinées à la consommation humaine »

Michon J., Mangeret A., Deluchat V., Dagot C., Battaglia-Brunet F., Dictor M-C., Garrido F.,

Salon Pollutec-ADEME Energies 2006 – Lyon (France), 28 novembre – 1 décembre 2006

« Développement de biofiltres pour le traitement des eaux polluées par de l’arsénite* »

Battaglia-Brunet F., Dictor M.-C., Garrido F., Itard Y., Joulian C., Touzé S., Guezennec A.-G., Morin D., Deluchat V., Dagot C., **Michon J.**, Godon J.-J., Bru V., Deloustal J., Royer C.

* *Lauréat du prix des Techniques Innovantes pour l’Environnement 2006, catégorie Eau – Dépollution de l’eau*

RESUME en français

Ces travaux ont porté sur la mise en place et le développement d'un pilote d'oxydation bactérienne de l'As(III) en As(V), pour la potabilisation et le traitement d'effluents contaminés en arsenic. Le procédé d'oxydation biologique de l'arsenic fait appel à un consortium bactérien autotrophe apparenté au genre *Thiomonas*, le consortium CAsO1.

Deux techniques de dosages ont été mises au point : le dosage d'As(total) par Spectrométrie d'Absorption Atomique Four Graphite (GF-AAS), et celui d'As(III), par Spectrométrie d'Absorption Atomique avec Génération d'Hydrures (HG-AAS), pour des domaines de concentration de 0,2 à 20 µg.L⁻¹.

Le pilote de traitement et le matériau support (pouzzolane) ont été caractérisés (DTS, capacité d'adsorption...). Ainsi, les performances d'oxydation de CAsO1 ont été évaluées : pour des temps de séjours supérieurs à 2 heures, 95% de la concentration en As(III) est oxydée, quel que soit le type d'alimentation étudié (ascendante ou descendante) et plus de 80%, pour un temps de séjour de 1 heure.

TITRE en anglais

Study of the As(III) oxidation by a bacterial population, named CAsO1: Development of analytical detection methods and Application to the decontamination of arsenic contaminated waste or groundwater.

RESUME en anglais

This work concerned the evaluation and the development of an arsenic(III)-oxidizing population in reactors, for drinking water production and waste water arsenic contaminated treatment. The process of the biological oxidation of arsenite was carried out with an autotrophic bacterial population named CAsO1. This population was phylogenetically related to *Thiomonas*.

Two easy to handle analytical methods were developed: the determination of total arsenic was carried out by Graphite Furnace Atomic Absorption Spectrometry (GF-AAS), and that concerning As(III), by Hydride Generation Atomic Absorption Spectrometry (HG-AAS), for concentration range from 0,2 to 20 µg.L⁻¹.

The treatment pilot and the support material (pozzolana) were characterized (RTD, adsorption capacity...). Thus, performances of oxidation of CAsO1 were evaluated: for residence times higher than 2 hours, 95% of As(III) was oxidized, whatever the type of circulation (up- or down-flow) and more than 80%, for a residence time of 1 hour.

DISCIPLINE

Chimie – Microbiologie de l'Eau

MOTS-CLES

Arsenic, oxydation biologique, traitement de l'eau, spectrométrie d'absorption atomique, générations d'hydrures, unité pilote de traitement