

UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté des Sciences et Techniques

Ecole Doctorale Sciences - Technologie - Santé

Groupement de Recherche Eau Sol Environnement

N° 34 / 2007

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : Chimie et Microbiologie de l'Eau

Présentée et soutenue par

Liliane JEAN

Le 4 octobre 2007

Mobilisation du chrome et du nickel à partir de sols
contaminés, en présence de complexants :
Transfert et accumulation de ces métaux chez *Datura innoxia*

Directeurs de Thèse : Jean-Claude BOLLINGER

François BORDAS

Jury

Rapporteurs :

Bernd NOWACK Senior Researcher, EMPA, St Gallen (Suisse)

Guillaume ECHEVARRIA Maître de conférences-HDR, ENSAIA-INPL Nancy

Examineurs :

Hubert BRIL Professeur, Université de Limoges (Président)

Adnane HITMI Maître de conférences-HDR, Université d'Auvergne

François BORDAS Maître de conférences, Université de Limoges

Jean-Claude BOLLINGER Professeur, Université de Limoges

UNIVERSITE DE LIMOGES

Faculté des Sciences et Techniques

Ecole Doctorale Sciences - Technologie - Santé

Groupement de Recherche Eau Sol Environnement

N° 34 / 2007

THESE

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITE DE LIMOGES

Discipline : Chimie et Microbiologie de l'Eau

Présentée et soutenue par

Liliane JEAN

Le 4 octobre 2007

Mobilisation du chrome et du nickel à partir de sols
contaminés, en présence de complexants :
Transfert et accumulation de ces métaux chez *Datura innoxia*

Directeurs de Thèse : Jean-Claude BOLLINGER

François BORDAS

Jury

Rapporteurs :

Bernd NOWACK Senior Researcher, EMPA, St Gallen (Suisse)

Guillaume ECHEVARRIA Maître de conférences-HDR, ENSAIA-INPL Nancy

Examineurs :

Hubert BRIL Professeur, Université de Limoges (Président)

Adnane HITMI Maître de conférences-HDR, Université d'Auvergne

François BORDAS Maître de conférences, Université de Limoges

Jean-Claude BOLLINGER Professeur, Université de Limoges

A Julien

A mes parents

A mes frères et sœurs

A tous ceux qui me sont chers

REMERCIEMENTS

La présente étude a été réalisée au sein du Groupement de Recherche Eau Sol Environnement de Limoges (GRESE) et a bénéficiée du soutien financier de la Région Limousin ainsi que du Contrat de Plan Massif Central.

J'exprime ma reconnaissance au Professeur Michel BAUDU pour la confiance qu'il m'a témoignée en m'accueillant au sein de son laboratoire d'abord dans le cadre du DEA puis de la thèse.

Je prie Monsieur Jean-Claude BOLLINGER, Professeur, et Monsieur François BORDAS, Maître de conférences, à Limoges, de trouver ici l'expression de mes sincères remerciements pour m'avoir accordée leur confiance depuis le DEA et tout au long de ce travail. Je les remercie également pour la bienveillance avec laquelle ils ont guidé mes travaux, pour leur soutien, ainsi que pour les précieux conseils qu'ils m'ont prodiguée.

Je remercie Monsieur Hubert BRIL pour avoir accepté d'examiner ce travail et présider mon jury de thèse.

Je suis sensible à l'honneur que m'ont fait Monsieur Bernd NOWACK, Senior Researcher à l'EMPA de St Gallen (Suisse) et Monsieur Guillaume ECHEVARRIA, Maître de conférences-HDR à l'ENSAIA-INPL de Nancy, de juger de ce travail. Qu'ils trouvent ici l'expression de ma sincère gratitude.

Mes remerciements s'adressent également à Monsieur Adnane HITMI, Maître de conférences-HDR à l'Université d'Auvergne pour avoir accepté d'examiner ce travail.

Une partie des travaux présentés dans ce mémoire a été réalisée avec la collaboration du Laboratoire de Physiologie et Biotechnologies Végétales à Aurillac. Je tiens à remercier à nouveau Monsieur Adnane HITMI pour son accueil et ses conseils. Je remercie également Philippe VERNAY et Cécile GAUTHIER-MOUSSARD pour leurs aides précieuses et ainsi que leurs conseils.

J'associe à ces remerciements tous les membres du GRESE avec qui j'ai eu le plaisir de travailler.

Enfin, j'adresse un très grand merci à mes amis, compagnons de laboratoire et voisins de bureau pour avoir apporté de la bonne humeur dans le travail.

Une pensée à mes parents, frères et sœurs ainsi que tous les membres de ma famille qui ont suivi de loin mon évolution.

Cette dernière pensée s'adresse à mon cher et tendre époux Julien SORO qui a partagé tous les moments de joie et également les moments plus difficiles, pour son soutien indéfectible et ses encouragements.

SOMMAIRE GÉNÉRAL

SOMMAIRE GENERAL

Introduction générale.....	3
-----------------------------------	----------

CHAPITRE I

I Les métaux dans les sols	9
---	----------

I.1 Origines des métaux dans les sols : cas du chrome et du nickel	9
---	----------

I.1.1 Le chrome.....	10
I.1.1.1 Chrome (III)	11
I.1.1.2 Chrome (VI)	11
I.1.1.3 Toxicité de Cr chez l'homme	11
I.1.1.4 Toxicité de Cr vis-à-vis des plantes	12
I.1.2 Le nickel.....	13
I.1.2.1 Toxicité de Ni chez l'homme	14
I.1.2.2 Toxicité de Ni vis-à-vis des plantes	14

I.2 Mécanismes de fixation et de relargage des métaux dans le sol 15	
---	--

I.2.1 Adsorption non spécifique	15
I.2.2 Adsorption spécifique	16
I.2.3 Précipitation et co-précipitation	17

I.3 Mobilité et biodisponibilité	18
---	-----------

I.3.1 Phases constitutives du sol impliquées dans l'interaction sol-métal..	18
I.3.1.1 Les oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium	18
I.3.1.2 La matière organique.....	19
I.3.1.3 Les argiles	19
I.3.1.4 Les carbonates	19
I.3.1.5 La silice	19
I.3.2 Facteurs influençant la mobilité.....	20
I.3.2.1 Influence du pH.....	20
I.3.2.2 Influence des conditions d'oxydo-réduction	21
I.3.2.3 Influence des micro-organismes.....	21
I.3.3 Transferts des métaux	22
I.3.3.1 Processus pédologiques de transferts	22
I.3.3.1.1 Transferts vers les milieux aquatiques.....	22
I.3.3.1.2 Transferts vers les plantes	23

I.4 Evaluation de la mobilité et de la biodisponibilité des métaux dans les sols.....	23
--	-----------

I.4.1	Spéciation fonctionnelle : extraction simple.....	24
I.4.2	Spéciation opérationnelle : extractions séquentielles - fractionnement	24
I.5	Sites et sols pollués.....	26
I.5.1	La réglementation.....	26
I.5.2	Inventaire des sites pollués en France.....	28
I.5.3	Les techniques de réhabilitation.....	29
I.6	La phytoréhabilitation	30
I.6.1	Définition	30
I.6.2	La phytoextraction	31
I.6.2.1	Utilisation de plantes hyperaccumulatrices seules	33
I.6.2.2	Utilisation de plantes tolérantes en présence de complexants.....	34
I.7	Les complexants.....	37
I.7.1	Définition d'un complexe métallique	37
I.7.1.1	Les différents types de complexes et de complexants.....	37
I.7.2	Les complexants utilisés	38
I.7.2.1	Acide citrique	38
I.7.2.2	Histidine	39
I.7.2.3	EDTA	40
I.7.3	Réactions entre les sites de surface des solides et les complexants...	42

CHAPITRE II

II Les sols étudiés – Matériels et protocoles

expérimentaux 47

II.1 Les sols étudiés47

II.1.1 Sol modèle non contaminé 47

II.1.1.1 Echantillonnage 47

II.1.1.2 Contamination artificielle 47

II.1.2 Sol contaminé par l'activité industrielle 49

II.1.2.1 Echantillonnage 49

II.2 Matériels et protocoles expérimentaux50

II.2.1 Analyses physico-chimiques 50

II.2.1.1 pH_{eau} et pH_{KCl} 50

II.2.1.2 Granulométrie 50

II.2.1.3 Capacité d'échange cationique (CEC) 51

II.2.1.4 Teneur en carbone organique 51

II.2.1.5 Teneur en azote total 51

II.2.1.6 Teneur en phosphore soluble 52

II.2.1.7 Teneur en potassium échangeable 52

II.2.2 Analyses des métaux 52

II.2.2.1 Appareillages 52

II.2.2.2 Détermination des teneurs totales 53

II.2.2.3 Spéciation du chrome (VI) 53

II.2.3 Evaluation de la mobilité et de la biodisponibilité des métaux 54

II.2.3.1 Spéciation fonctionnelle - Extraction simple 54

II.2.3.2 Spéciation opérationnelle - Extractions séquentielles 54

II.2.4 Analyse du solide - Identification de phases solides 55

II.2.5 Mobilisation des métaux en présence de chélatants 56

II.2.5.1 Etude en milieu statique : expériences en flacons 56

II.2.5.1.1 Cinétique d'extraction 56

II.2.5.1.2 Mobilisation des métaux 57

II.2.5.2 Etude en milieu dynamique : expériences en colonnes 57

II.2.5.2.1 Montage expérimental 57

II.2.5.2.2 Préparation des colonnes de sol et caractéristiques hydrauliques 59

II.2.5.2.3 Détermination d'un état stable 59

II.2.5.2.4 Etude de l'hydrodynamique de la colonne 60

II.2.5.2.5 Mobilisation des métaux 62

II.2.6 Phytoextraction 63

II.2.6.1 Présentation de *Datura innoxia* 63

II.2.6.2 Protocole de culture 64

II.2.6.3 Détermination des teneurs en métaux 67

CHAPITRE III

III Interactions sol-métal 71

III.1 Caractérisation des sols étudiés71

III.1.1 Caractérisation du sol modèle 71

III.1.1.1 Propriétés physico-chimiques et détermination des teneurs en éléments métalliques 71

III.1.1.1.1 Propriétés physico-chimiques 71

III.1.1.1.2 Teneurs totales en métal..... 72

III.1.1.2 Optimisation des conditions de contamination 73

III.1.1.2.1 Evolution de la biodisponibilité 73

III.1.1.2.2 Evolution de la répartition du chrome et du nickel..... 74

III.1.1.2.3 Analyse minéralogique 76

III.1.1.3 Contamination du sol destiné aux cultures et aux expériences de mobilisation 79

III.1.1.3.1 Choix de la teneur en chrome et en nickel à appliquer..... 79

III.1.1.3.2 Mobilité et biodisponibilité 80

III.1.2 Caractérisation du sol contaminé par l'activité industrielle..... 81

III.1.2.1 Propriétés physico-chimiques 81

III.1.2.2 Détermination des teneurs en éléments métalliques 82

III.1.2.2.1 Teneurs totales en métal..... 82

III.1.2.2.2 Profils de contamination de Cr et Ni 83

III.1.2.3 Mobilité et biodisponibilité des métaux 84

III.1.2.4 Analyse minéralogique..... 88

III.2 Mobilisation des métaux en présence de complexants...89

III.2.1 Sol modèle contaminé 89

III.2.1.1 Cinétique d'extraction 89

III.2.1.2 Mobilisation en flacon..... 93

III.2.1.2.1 Mobilisation des métaux par les complexants..... 93

III.2.2 Sol contaminé par l'activité industrielle 102

III.2.2.1 Cinétique d'extraction 102

III.2.2.1.1 Détermination d'un temps de contact 102

III.2.2.1.2 Aspect microbiologique..... 104

III.2.2.2 Mobilisation en flacon..... 109

III.2.2.2.1 Mobilisation des métaux par les complexants..... 109

III.2.2.2.2 Extractions répétées 115

III.2.2.2.3 Extractions séquentielles après mobilisation..... 119

III.3 Conclusion 121

CHAPITRE IV

IV Interactions sol-métal-plante125

IV.1 Culture de *Datura innoxia* sur le sol modèle contaminé et mûré125

IV.1.1	Effet de l'EDTA et de l'acide citrique sur <i>Datura innoxia</i>	125
IV.1.1.1	Effet sur la croissance	125
IV.1.1.2	Effet sur la photosynthèse	130
IV.1.1.3	Effets sur l'absorption d'éléments essentiels	131
IV.1.1.3.1	Au niveau des racines	131
IV.1.1.3.2	Au niveau des tiges	131
IV.1.1.3.3	Au niveau des feuilles	132
IV.1.1.4	Conclusion.....	136
IV.1.2	Effet de l'acide citrique sur l'absorption du chrome et du nickel....	137
IV.1.2.1	Effet sur l'absorption de Cr.....	137
IV.1.2.2	Effet sur l'absorption de Ni.....	139
IV.1.3	Effet de l'EDTA sur l'absorption du chrome et du nickel.....	140
IV.1.3.1	Effet sur l'absorption de Cr.....	140
IV.1.3.2	Effet sur l'absorption de Ni.....	140
IV.1.4	Efficacité d'absorption et d'accumulation	140
IV.1.4.1	Evaluation de l'accumulation et de la translocation.....	143
IV.1.4.1.1	Efficacité de l'acide citrique vis-à-vis de Cr.....	144
IV.1.4.1.2	Efficacité de l'acide citrique vis-à-vis de Ni	145
IV.1.4.1.3	Efficacité de l'EDTA vis-à-vis de Cr.....	146
IV.1.4.1.4	Efficacité de l'EDTA vis-à-vis de Ni	146

IV.2 Culture de *Datura innoxia* sur le sol contaminé par l'activité industrielle147

IV.2.1	Effet de l'EDTA et de l'acide citrique sur <i>Datura innoxia</i>	147
IV.2.1.1	Effet sur la croissance	147
IV.2.1.2	Effet sur la photosynthèse nette	152
IV.2.1.3	Effets sur l'absorption d'éléments essentiels	153
IV.2.1.3.1	Au niveau des racines	153
IV.2.1.3.2	Au niveau des tiges	154
IV.2.1.3.3	Au niveau des feuilles	155
IV.2.1.4	Conclusion.....	159
IV.2.2	Effet de l'acide citrique sur l'absorption du chrome et du nickel....	160
IV.2.2.1	Effet sur l'absorption de Cr.....	160
IV.2.2.2	Effet sur l'absorption de Ni.....	162
IV.2.3	Effet de l'EDTA sur l'absorption du chrome et du nickel.....	163
IV.2.3.1	Effet sur l'absorption de Cr.....	163
IV.2.3.2	Effet sur l'absorption de Ni.....	164
IV.2.4	Efficacité d'absorption et d'accumulation	164
IV.2.4.1	Evaluation de l'accumulation et de la translocation.....	166
IV.2.4.1.1	Efficacité de l'acide citrique vis-à-vis de Cr.....	166
IV.2.4.1.2	Efficacité de l'acide citrique vis-à-vis de Ni	167
IV.2.4.1.3	Efficacité de l'EDTA vis-à-vis de Cr.....	168
IV.2.4.1.4	Efficacité de l'EDTA vis-à-vis de Ni	169

IV.3	Conclusion	170
-------------	-------------------------	------------

CHAPITRE V

V Evaluation du lessivage des métaux en mode dynamique175

V.1 Détermination d'un état initial stable.....175

V.2 Elution des métaux par les complexants178

V.2.1 Percolation en continu d'une solution de complexant 178

V.2.1.1 Percolation de la solution d'EDTA 179

V.2.1.2 Percolation de la solution d'acide citrique 181

V.2.2 Percolations successives d'une solution de complexant et d'EUP.. 184

V.2.2.1 Percolation de la solution d'EDTA 185

V.2.2.2 Percolation de la solution d'acide citrique 188

V.2.3 Flux de métal lessivé en fonction du complexant et du mode d'injection..... 192

V.3 Conclusion193

Conclusion générale197

Références bibliographiques205

ANNEXES225

ANNEXE 1 Teneurs en métal total dans l'échantillon certifié "poplar leaves, DC 73350"225

ANNEXE 2 Séparation granulométrique226

ANNEXE 3 Constantes utilisées dans MINEQL+ version 4.5..227

ANNEXE 4 Test respirométrique234

ANNEXE 5 Dénombrement : dilution-étalement.....235

ANNEXE 6 Mesure de la photosynthèse nette (Pn).....236

ANNEXE 7 Article 1.....237

ANNEXE 8 Article 2.....247

ANNEXE 9 Article 3.....257

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GENERALE

L'industrie métallurgique est à l'origine des principales contaminations métalliques de l'environnement. Déversés dans l'environnement, les métaux s'accumulent principalement dans les sols. Les sols se comportent alors comme des réservoirs de polluants constituant ainsi une source potentielle de pollution au gré des changements de certains paramètres physico-chimiques du milieu (pH, potentiel rédox,...). Il en résulte alors de réels problèmes d'ordre environnemental. En effet, leur lessivage peut être à l'origine de leur accumulation le long des chaînes alimentaires et ainsi entraîner des problèmes de santé publique. Il est, par conséquent, nécessaire, d'une part d'identifier et de caractériser les sites pollués, et d'autre part de mettre en place des stratégies de dépollution.

La politique française en matière de sols pollués, ne bénéficie pas encore d'un cadre juridique spécifique. De par l'origine industrielle de la pollution, la législation relative aux installations classées est la réglementation la plus souvent utilisée pour traiter les questions soulevées par ces sites. L'inventaire des sites pollués montre qu'à ce jour 3905 sites pollués ont été répertoriés par le Ministère chargé de l'Environnement (basol.ecologie.gouv.fr).

Actuellement, la politique de réhabilitation et de traitement des sites s'oriente vers une politique de gestion des risques en fonction de l'usage. Elle est fondée sur l'examen et la gestion du risque plus que sur la valeur du niveau de pollution intrinsèque. Pour une situation donnée, plusieurs techniques de dépollution peuvent être envisagées.

Un certain nombre de techniques de dépollution, telles que l'excavation, le lavage acide, sont utilisées pour la réhabilitation des sites industriels. Ces techniques apparaissent adaptée à des cas de pollutions fortes et de faible étendue. Cependant, il est nécessaire de développer des méthodes moins destructives vis-à-vis des sols tout en étant extensives et de coût modéré.

La phytoréhabilitation regroupe un ensemble de techniques, basées sur l'utilisation des plantes pour la réhabilitation des sites contaminés. Elle se définit comme étant l'utilisation de plantes pour éliminer ou rendre moins mobiles et moins toxiques les contaminants environnementaux. Ces techniques sont peu agressives pour l'environnement et relativement peu coûteuses. Elles peuvent être appliquées à des polluants organiques ou inorganiques. Parmi ces techniques, la phytoextraction concerne principalement l'absorption des métaux du sol par les plantes. Les plantes peuvent accumuler les métaux nécessaires à leur bon développement, mais sont également capables d'accumuler des métaux qui, eux, ne sont pas nécessaires au niveau physiologique. Cette tolérance et cette bioaccumulation sont rendues

possibles par une adaptation de la plante, avec la mise en place au niveau cellulaire de capacités physiologiques nouvelles.

La plante idéale pour la phytoextraction doit être capable d'accumuler et de tolérer de fortes teneurs en métaux dans ses parties récoltables, tout en ayant une croissance rapide et une forte biomasse. Certaines plantes sont naturellement capables d'accumuler de fortes teneurs en métaux : ce sont des plantes dites accumulatrices ou hyperaccumulatrices. Cependant, ces plantes sont généralement de petites tailles et ont une croissance lente. Parallèlement, d'autres plantes sont dites tolérantes aux métaux. Elles présentent une accumulation modérée des métaux qui peut être associée au développement rapide d'une forte biomasse. Les capacités d'absorption et d'accumulation de telles plantes peuvent être augmentées, en modifiant la biodisponibilité des métaux, en appliquant sur le sol des réactifs complexants.

Le GRESE (Groupement de Recherche Eau Sol Environnement), à l'Université de Limoges, conduit depuis plus de 10 ans des travaux sur les sites pollués par les industries métallurgiques (*e.g.* Davranche et al., 2003 ; Pénilla et al., 2007).

Un programme de recherche a donc été entrepris au sein du GRESE pour étudier l'influence de réactifs complexants sur la mobilisation du chrome et du nickel, contenus dans un sol contaminé par une activité industrielle, en vue d'améliorer leur extraction par *Datura innoxia* et les conséquences de telles pratiques. Des travaux antérieurs, au sein du Laboratoire de Physiologie et Biotechnologies Végétales d'Aurillac, ont montré que *Datura innoxia* possède des capacités intéressantes en terme d'utilisation pour l'extraction des métaux contenus dans un sol. En effet, datura est capable de se développer en présence d'éléments métalliques, notamment chrome et nickel. Elle est communément retrouvée sur les talus de mines abandonnées. *Datura innoxia* a donc été sélectionnée comme plante modèle pour l'étude de son comportement sur sol.

Après une revue de la bibliographie, il est apparu important :

- de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors de l'extraction du chrome et du nickel, notamment le cas du chrome qui a été peu étudié

Nous avons alors contaminé artificiellement un échantillon de sol dit "modèle". Nous avons suivi le vieillissement de cette contamination et contrôlé ainsi l'évolution de la répartition des métaux dans les différentes phases solides. En effet, cette étape de maturation du sol contaminé modifie fortement la disponibilité des métaux. A partir du sol modèle contaminé, des paramètres optimums, pour extraire le chrome et le nickel, ont été déterminés. Ces paramètres ont été ensuite appliqués à un sol contaminé,

principalement en chrome et en nickel, par une activité industrielle durant plusieurs décennies. Nous avons ainsi identifié des complexants efficaces et précisé les conditions d'applications de ces complexants pour une extraction optimale du chrome et du nickel.

- d'évaluer les modifications des capacités d'accumulation de *Datura innoxia* suite à l'application des complexants sélectionnés précédemment sur les sols contaminés ainsi que sa tolérance aux complexants sélectionnés

Nous avons alors vérifié les effets des complexants sur le développement de la plante ainsi que sur l'accumulation des métaux, dans les différentes parties de la plante, en fonction de la concentration appliquée et du mode d'apport des complexants.

- d'étudier le lessivage du chrome et du nickel suite à l'application des complexants

Pour cela, nous avons suivi le lessivage des métaux à partir de sol contaminé par l'activité industrielle en fonction du mode d'application du complexant en système dynamique. Différents cycles de percolation d'une solution complexante, alternés avec de l'eau afin de simuler une pluviométrie de référence, ont été étudiés en colonne de sol.

Le manuscrit se termine par la synthèse des résultats de ce travail et des études complémentaires à envisager.

CHAPITRE I :
LES MÉTAUX DANS LES SOLS : ORIGINE,
MOBILITÉ, EXTRACTION

I LES METAUX DANS LES SOLS

I.1 Origines des métaux dans les sols : cas du chrome et du nickel

Les éléments métalliques dans les sols ont deux origines, une naturelle issue de l'altération de la roche-mère et une liée à l'activité humaine.

Un sol développé sur une roche riche en un élément donné sera obligatoirement riche en cet élément (**Figure I.1**). Les métaux issus de cet **héritage** constituent le **fond pédogéochimique**, qui correspond aux teneurs en éléments, résultant de phénomènes géologiques, pédogénétiques, en l'absence de toutes contaminations liées à l'activité humaine (Baize, 1997). La gamme des valeurs couramment observées dans les sols non contaminés est présentée dans le **Tableau I.1**.

Tableau I.1 : Teneurs en éléments métalliques (mg.kg^{-1}) dans des sols (horizons divers de sols) (Baize, 1997).

	Sols "ordinaires" de toutes granulométries	Anomalies naturelles modérées	Fortes anomalies naturelles
Zn	10 - 100	100 - 250	250 - 3800
Pb	9 - 50	60 - 90	100 - 3000
Co	2 - 23	23 - 90	105 - 148
Cu	2 - 20	20 - 62	-
Cr	10 - 90	90 - 150	150 - 534
Ni	2 - 60	60 - 130	130 - 480

Les modes d'apport des métaux dans les sols liés à l'activité humaine peuvent être regroupés en 3 catégories (**Figure I.1**) :

- les **pratiques agricoles** : il s'agit d'impuretés présentes dans les engrais, les amendements calcaires, les produits de traitement phytosanitaires (par exemple, sels de cuivre ou arséniate de plomb), ou les boues de station d'épuration ;
- la **diffusion aérienne** : il s'agit de poussières et aérosols provenant notamment des activités industrielles ;
- les apports **massifs localisés** : il s'agit d'apports accidentels ou résultant d'activités de longue durée sans protection contre la dispersion (fuites, lessivage, ...) dans l'environnement.

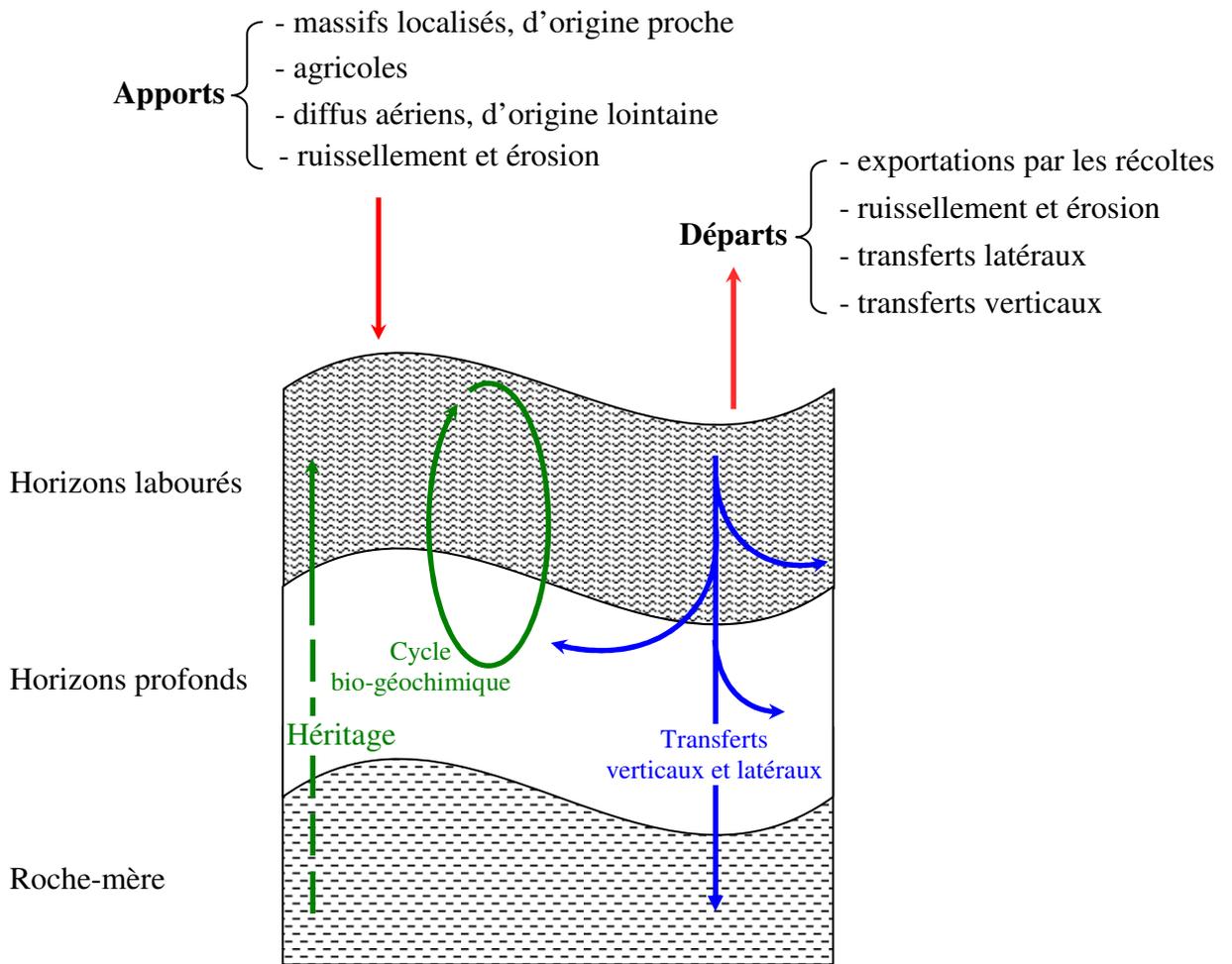


Figure I.1 : Processus de transferts des éléments métalliques dans les sols (d'après Baize, 1997)

I.1.1 Le chrome

Le chrome est présent dans l'environnement de manière ubiquitaire. Le principal minéral de chrome est la chromite (FeCr_2O_4). La concentration moyenne en chrome dans les sols est de 50 mg.kg^{-1} (Pichard et al., 2005a). Cette concentration varie selon le type de sol. Ainsi, les roches magmatiques ultrabasiques (serpentinites, péridotites) présentent des teneurs en chrome de l'ordre de 1500 à 3000 mg.kg^{-1} (Baize, 1997).

Dans les sols, aux pH et potentiels redox de l'environnement le chrome est sous les formes **Cr(III)** et **Cr(VI)** (Bartlett et James, 1993 ; Fendorf, 1995). Le chrome issu de la roche-mère est principalement sous forme trivalente. La forme hexavalente est la plupart du temps introduite dans l'environnement par les activités anthropiques.

En effet, le chrome entre dans la composition d'aciers inoxydables, d'aciers spéciaux et d'alliages car il améliore la dureté des métaux et leur résistance à la corrosion. Il sert à fabriquer des produits de conservation du bois, des vitamines K, de la cire, Il est employé pour la finition de l'état de surface des métaux (chromage électrolytique) et dans le

mordançage des textiles. Il sert à fabriquer des catalyseurs, des teintures, des agents colorants pour céramiques. Il est utilisé dans la fabrication de bandes magnétiques, de pigments. Le chrome peut alors être émis dans l'atmosphère, sous forme particulaire, ou rejeté dans les milieux aquatiques. Une fois dans l'environnement, la spéciation de Cr peut changer sous l'effet de paramètres, tels que la présence de matière organique, d'oxydes métalliques, le potentiel rédox et le pH.

I.1.1.1 Chrome (III)

Le chrome (III) se présente, en solution, sous les formes suivantes : Cr^{3+} , $\text{Cr}(\text{OH})^{2+}$, $\text{Cr}(\text{OH})_2^+$, $\text{Cr}(\text{OH})_3^0$, $\text{Cr}(\text{OH})_4^-$. $\text{Cr}(\text{OH})_3(\text{s})$ présente une solubilité très faible. Il peut être également inclus dans des hydroxydes de la forme, $\text{Cr}_x\text{Fe}_{1-x}(\text{OH})_3$, il peut se substituer au fer dans des oxydes tel que la magnétite et dans une moindre mesure à l'aluminium dans les argiles (Bartlett et James, 1993). Il peut former des complexes avec la matière organique, car elle possède de nombreux groupements fonctionnels. La mobilité de Cr(III) dépend alors de la solubilité de la matière organique, qui est fonction du pH.

Dans le milieu naturel, seul les oxydes de manganèse (MnOOH) et l'oxygène moléculaire sont capables d'oxyder Cr(III) en Cr(VI) (Fendorf, 1995).

I.1.1.2 Chrome (VI)

Dans le milieu naturel, Cr(VI) est fortement mobile. Il est essentiellement sous la forme d'oxyanions : CrO_4^{2-} et $\text{Cr}_2\text{O}_7^{2-}$. Du fait de sa forme anionique, Cr(VI) a alors une faible affinité pour les charges négatives des colloïdes du sol (Fendorf, 1995). L'adsorption de Cr(VI) dépend du pH. Aux pH compris entre 2 et 7, les hydroxydes de Fe et de Al présentent une affinité potentielle pour Cr (VI) (Zachara et al., 1987 ; Fendorf, 1995).

La réduction de Cr(VI) en Cr(III) est possible en présence de matière organique, de Fe(II) et de sulfites (Fendorf, 1995).

I.1.1.3 Toxicité de Cr chez l'homme

Le chrome trivalent est connu comme étant un élément essentiel dans le métabolisme protéique, lipidique et glucidique des mammifères (Pantsar-Kallio et al., 2001). Les carences en Cr(III) induisent une augmentation des concentrations d'insuline circulante, une hyperglycémie, une hypercholestérolémie, une augmentation des graisses corporelles, une diminution de la numération spermatique, une diminution de la fertilité, un raccourcissement de l'espérance de vie (Pichard et al., 2005a).

Le principal mécanisme de défense de l'organisme vis-à-vis des effets de Cr(VI) est la réduction de celui-ci en Cr(III). Dans ces conditions, des doses élevées de Cr(VI) sont

nécessaires pour saturer les capacités de réduction de l'estomac, induisant ainsi des effets toxicologiques significatifs. Ces effets peuvent être de natures différentes qu'il s'agisse d'une intoxication aiguë ou chronique (**Tableau I.2**).

Tableau I.2 : Effets toxiques de Cr chez l'homme (Pichard et al., 2005a)

Modes d'absorption	Toxicologie aiguë	Toxicologie chronique	
		Effets systémiques	Effets cancérogènes
Inhalation	-	- asthme (effet sensibilisant) - atrophie de la muqueuse nasale, ulcérations puis perforations (pour une exposition $\leq 2 \mu\text{g de Cr(VI).m}^{-3}$)	- cancer du poumon - cancers localisés dans la cavité nasale, le larynx ou l'estomac - cancers situés dans les os, l'estomac, la prostate, les organes génitaux, les reins, la vessie, le sang
Ingestion	- inflammation massive du tube digestif suivie d'une nécrose - vertiges, sensation de soif, douleurs abdominales, diarrhées hémorragiques et dans les cas les plus sévères un coma et la mort - syndrome hépato-rénal, coagulopathie sévère ou hémolyse intravasculaire - dose létale de CrO_3 par voie orale entre : 1 et 3 g.kg^{-1} de poids corporel - dose létale de chromates par voie orale : 50 à 70 mg.kg^{-1} de poids corporel	douleurs stomacales, crampes, ulcères gastroduodénaux, gastrites (pour une exposition à $4 \mu\text{g de Cr(VI).m}^{-3}$ pendant 7,5 ans ou $\geq 10 \mu\text{g Cr(VI).m}^{-3}$ pendant 1 an)	-
Cutanée	-	ulcérations ou dermatites (effet sensibilisant)	-

I.1.1.4 Toxicité de Cr vis-à-vis des plantes

Le Cr est un élément non essentiel et toxique pour les plantes (Zayed et Terry, 2003 ; Shanker et al., 2005). Son effet toxique dépend de son degré d'oxydation, Cr(III) ou Cr(VI). En effet, Kleiman et Cogliatti (1998) ont mis en évidence, lors de culture en hydroponie, que Cr(III) est toxique pour la navette (*Brassica napus*), le blé et le sarrasin uniquement à forte

concentration, soit 26 mg.L^{-1} , tandis que Cr(VI) est toxique à des concentrations plus faibles, soit $0,52 \text{ mg.L}^{-1}$.

La toxicité de Cr(VI) est due à son pouvoir oxydant mais aussi à la formation de radicaux libres lors de sa réduction en Cr(III) dans les cellules (Chatterjee et Chatterjee, 2000 ; Shanker et al., 2005). La toxicité de Cr(III), à forte concentration, est due essentiellement à sa capacité à se lier avec des composés organiques, ce qui conduit à une altération du métabolisme (inhibition de l'activité enzymatique). Cr(III) a également la capacité de générer des espèces possédant un oxygène actif, ce qui conduit alors à un stress oxydatif (Mei et al., 2002). Cette phytotoxicité peut être à l'origine de dommages au niveau des racines, d'une diminution de la croissance, d'une chlorose.

I.1.2 Le nickel

Le nickel représente $80 \text{ à } 90 \text{ mg.kg}^{-1}$ de la croûte terrestre. Il est présent à de fortes concentrations dans les roches-mères ferromagnésiennes où il se substitue partiellement au fer ou au magnésium. Il est particulièrement abondant dans les minéraux des roches magmatiques basiques et ultrabasiqes et dans les minéraux de type serpentine, où il présente des teneurs de l'ordre de $10\,000 \text{ mg.kg}^{-1}$ (Baize, 1997).

Le nickel existe dans le sol principalement sous la forme **Ni(II)**. Il peut se présenter sous les formes suivantes : Ni^{2+} , NiOH^+ , $\text{Ni(OH)}_2(\text{aq})$, Ni(OH)_3^- , Ni(OH)_4^{2-} , $\text{Ni(OH)}_2(\text{s})$, $\text{NiCO}_3(\text{aq})$, NiHCO_3^+ . Il peut être adsorbé par la matière organique et minérale (oxydes de Al, Mn, Fe et composés argileux). Cette adsorption dépend du pH.

Comme Cr, la présence de Ni dans le milieu naturel résulte de l'érosion de minéraux (chalcopyrite, pentlandite, garniérine et secondairement niccolite et millerite), mais aussi pour une grande part, de l'industrie. Le nickel est utilisé dans la production d'aciers inoxydables et d'aciers spéciaux. Il est associé au cuivre, au fer et au manganèse pour fabriquer du monel, au fer et au chrome pour donner des aciers inoxydables et du chromel, à l'aluminium, au chrome et au soufre pour obtenir l'alumel, au cuivre et au zinc pour fabriquer du maillechort. Il est également employé dans la production d'alliages non ferreux (pièces de monnaie, outils, ustensiles de cuisine...). Il est utilisé dans les batteries nickel-cadmium et comme catalyseur en chimie organique. Il entre dans la fabrication de pigments minéraux pour métaux et céramiques. Il est employé en solution pour le nickelage électrolytique. Il est utilisé comme mordant pour les textiles.

I.1.2.1 Toxicité de Ni chez l'homme

Le nickel joue un rôle essentiel dans de nombreux processus biologiques. Il intervient notamment comme cofacteur de l'uréase.

Trois modes d'absorption sont possibles, avec des effets qui peuvent être de natures différentes (**Tableau I.3**).

Tableau I.3 : Effets toxiques de Ni chez l'homme (Pichard et al., 2005b)

Modes d'absorption	Toxicologie aiguë	Toxicologie chronique	
		Effets systémiques	Effets cancérigènes
Inhalation	maux de tête, vertiges, nausées, vomissements, insomnie et irritabilité suivie de douleurs constrictives dans la poitrine, de toux sèches, de dyspnée, de cyanose, de tachycardie, de symptômes gastro-intestinaux occasionnels, de sudation, de perturbations visuelles et de débilité LOAEL = 382 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$	- bronchite chronique, emphysème, diminution de la capacité vitale (pour une exposition > 40 $\mu\text{g}\cdot\text{m}^{-3}$) - asthme - stimulation du système immunitaire	cancer des poumons et du nez
Ingestion	- arrêt cardiaque - nausées, vomissements, diarrhées, crampes abdominales, maux de tête, sensations d'ébriété (pour une exposition estimée entre 7 et 36 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)	-	-
Cutanée	dermatite de contact LOAEL = 9 $\mu\text{g}\cdot\text{kg}^{-1}$	allergie de contact	-

LOAEL : Lowest-Observed-Adverse-Effect Level

I.1.2.2 Toxicité de Ni vis-à-vis des plantes

La teneur en Ni dans les plantes dépend de sa biodisponibilité dans le sol, du type de plante, des parties de la plante analysées. La teneur en Ni, dans une plante se développant sur un sol non contaminé, est de l'ordre de 0,05 à 5 $\text{mg}\cdot(\text{kg MS})^{-1}$ (matière sèche) (Brown et al., 1987). Certaines plantes sont capables de se développer sur des sols contaminés ou de type serpentine. Elles peuvent alors accumuler plus de 1000 $\text{mg}\cdot(\text{kg MS})^{-1}$, notamment dans leurs feuilles (Reeves, 2003).

L'assimilation (et la toxicité) du nickel vis-à-vis des plantes dépend beaucoup de la forme chimique sous laquelle il se trouve; dans le cas de l'orge, Molas et Baran (2004) indiquent l'ordre suivant : $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} > \text{Ni(II)-citrate} > \text{Ni(II)-glutamate} > \text{Ni(II)-EDTA}$.

A faible concentration (0,01 à 5 mg.kg^{-1} de MS), Ni est considéré comme un élément essentiel. En effet, il intervient notamment dans la structure de l'uréase, responsable de l'hydrolyse de l'urée au niveau des feuilles (Gerendás et al., 1999 ; Seregin et Kozhevnikova, 2006). Eskew et al. (1983, 1984) ont mis en évidence le rôle essentiel du nickel chez les plantes supérieures ; il préserve des nécroses dues à l'accumulation d'uréase.

A forte concentration, il devient toxique : soit plus de 10 mg.kg^{-1} pour les plantes sensibles et plus de 50 mg.kg^{-1} pour les plantes tolérantes (Krämer et al., 1996 ; Gerendás et al., 1999). Cette phytotoxicité est à l'origine d'une chlorose, d'une diminution de la croissance et d'un désordre dans le métabolisme. Rooney et al. (2007) ont aussi montré que l'ajout de Ni sur des sols, inhibe la croissance des racines de l'orge et des feuilles de la tomate.

I.2 Mécanismes de fixation et de relargage des métaux dans le sol

Les processus chimiques affectant la mobilité des métaux dans les sols sont les transferts des phases liquides vers les phases solides et inversement. Plusieurs mécanismes physico-chimiques interviennent au cours de ces transferts : les échanges d'ions (adsorption non spécifique), la complexation de surface (adsorption spécifique), la précipitation et la co-précipitation.

I.2.1 Adsorption non spécifique

La surface du sol présente généralement une charge négative qui a pour origine soit la substitution isomorphique au sein du réseau cristallin (remplacement d'un cation trivalent par un cation divalent, par exemple), soit l'hydratation de surface des oxydes, à l'origine des groupements hydroxyles (OH) de surface :



$\equiv \text{S}$ représentant la surface solide.

Les cations métalliques en solution sont attirés par des interactions électrostatiques ou de type Van der Waals, vers les charges négatives. Une quantité équivalente de charges positives viennent compenser les charges négatives. C'est la double couche électrique.

Le cation qui n'est pas lié à la surface solide par une liaison covalente forme, avec sa sphère d'hydratation, un **complexe de sphère externe**. Ce processus est appelé physisorption. C'est une réaction réversible contrôlée par la diffusion, la stoechiométrie et l'affinité de l'ion pour l'adsorbant. Les liaisons impliquées sont des liaisons de faible énergie. De ce fait, les cations sont facilement mobilisables lors de changements physico-chimiques dans le milieu. Ils peuvent être mis en solution suite à l'apport d'ions compétiteurs présentant une plus grande affinité pour le sol.

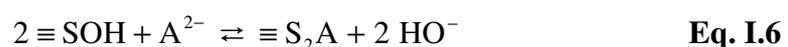
I.2.2 Adsorption spécifique

Cette réaction met en jeu des liaisons covalentes qui sont plus stables que les liaisons de faibles énergies vues précédemment. Ces liaisons covalentes s'établissent entre le groupement de surface et l'ion, sans qu'une molécule d'eau vienne s'interposer entre eux. Cela aboutit à la formation de **complexes de sphère interne**. On parle dans ce cas d'adsorption spécifique ou chimisorption, car les liaisons mises en jeu dépendent des groupes de surface et de l'ion considéré (Sigg et al., 2000).

Les réactions d'adsorption spécifique font intervenir principalement les groupements OH (**Eq. I.1** et **Eq. I.2**). Ces sites de surface peuvent jouer le rôle de ligands vis-à-vis d'un cation métallique (M^{2+} , par exemple) (**Eq. I.3** et **Eq. I.4**). Le mécanisme mis en jeu, en présence de cations, est le même qu'une réaction de complexation en solution, avec échange de protons :



Dans le cas de l'adsorption d'un anion (A^{2-} , par exemple), le mécanisme se traduit par un échange d'ions HO^- :



Il est actuellement établi que les (oxy)hydroxydes métalliques, tout comme les aluminosilicates amorphes, sont les principaux constituants du sol qui interviennent dans les réactions d'adsorption spécifique (Mason et al., 1999). Les (oxy)hydroxydes de manganèse ont également une grande affinité pour certains ions métalliques comme Pb^{2+} , Cu^{2+} et Ni^{2+} .

La part organique du sol possède également une grande affinité pour les cations métalliques par la présence de ligands ou de groupements fonctionnels qui peuvent former des complexes avec les métaux : groupes carboxyles, phénols, alcools et carbonyles.

Ce processus dépend fortement du pH. Les complexes formés, entre cations et ligands, sont d'autant plus stables que le pH augmente et inversement dans le cas des anions (Sigg et al., 2000). Les métaux complexés sur les phases solides peuvent ainsi être remis en solution lorsque les conditions du milieu sont modifiées, car les réactions mises en jeu sont réversibles.

I.2.3 Précipitation et co-précipitation

Les mécanismes de précipitation et de co-précipitation correspondent au passage d'une espèce de l'état dissous à l'état solide.

La précipitation se produit lorsque le produit de solubilité est dépassé. Les phénomènes de précipitation peuvent avoir lieu soit à la surface des phases solides du sol soit dans la solution du sol. Cela se traduit soit par un accroissement de la surface du solide, soit par la néoformation d'un solide à l'interface solide - liquide. La précipitation est contrôlée à la fois par le pH de la solution du sol et par la concentration des éléments en solution.

La co-précipitation est définie comme la précipitation simultanée de plusieurs espèces chimiques (Alloway, 1995). C'est par exemple le cas lorsque les aluminosilicates précipitent et incorporent du zinc dans leurs structures pour remplacer l'aluminium. En règle générale, cette substitution est favorisée si la taille et la valence de l'élément substituant sont comparables à l'élément substitué.

La précipitation et la co-précipitation sont réversibles et peuvent à la fois intervenir dans les processus de rétention ou de désorption des éléments métalliques. Le phénomène de précipitation peut devenir majoritaire dans des cas particuliers. Les métaux précipitent principalement sous forme de carbonates, de sulfures, de phosphates ou d'hydroxydes. Le pH du sol, celui de la solution de sol, la concentration en soluté ainsi que la température et le potentiel d'oxydo-réduction sont des facteurs importants dans le contrôle de la précipitation.

I.3 Mobilité et biodisponibilité

La **mobilité** par définition désigne l'aptitude d'un élément à passer d'un compartiment du sol à un autre. La **biodisponibilité** désigne la capacité d'un élément présent dans le sol, à être absorbé par un être vivant. Lorsqu'il s'agit des plantes, on parle de phytodisponibilité (Baize et Tercé, 2002).

La mobilité d'un métal donné dépend du type de sol, de sa texture, et des paramètres qui affectent les interactions des métaux avec ce sol. Il s'agit principalement du pH, de la teneur en carbonates, de la teneur en matière organique et du potentiel rédox. Elle dépend également de la nature de la contamination et des conditions environnementales (Sahuquillo et al., 2003).

Il est donc nécessaire de comprendre les interactions possibles entre les métaux et le sol de manière à estimer leur mobilité et leur biodisponibilité vis-à-vis des plantes.

I.3.1 Phases constitutives du sol impliquées dans l'interaction sol-métal

Un sol est un système complexe, composé schématiquement d'une phase solide (constituée de plusieurs éléments), d'une phase aqueuse (la solution du sol) et de gaz (Pansu et Gautheyrou, 2003). Les métaux présents dans la phase solide, se répartissent entre la fraction organique et la fraction minérale. Les oxydes métalliques, la matière organique, les argiles, les carbonates et la silice sont impliqués dans la rétention des métaux.

I.3.1.1 Les oxydes de fer, de manganèse et d'aluminium

Les oxydes, les hydroxydes et les (oxy)hydroxydes de fer, sont présents en abondance dans les sols et existent sous forme amorphe ou cristalline, les oxydes de manganèse étant plus généralement sous forme amorphe. Ils interviennent dans les réactions d'oxydo-réduction mais aussi dans les réactions d'échange cationique. Ils possèdent une surface spécifique importante et une forte densité de sites de surface qui leur confère une forte réactivité. De ce fait, ils possèdent une forte capacité d'adsorption et jouent alors un rôle prépondérant dans la sorption des ions métalliques. Les mécanismes pouvant intervenir sont principalement la chimisorption (cf. § I.2.2), et dans une moindre mesure la physisorption et la précipitation de surface.

I.3.1.2 La matière organique

Elle se compose :

- d'une fraction organique vivante (microflore du sol, faune et racines des plantes supérieures) non évoluée,
- d'une fraction organique morte (débris d'origine animale ou végétale), plus ou moins décomposée.

Dans la première fraction on retrouve des molécules bien définies : amidon, lignine, cellulose, Dans la deuxième fraction les molécules sont complexes et moins bien définies. Les substances humiques (acides humiques et acides fulviques qui se définissent de façon opérationnelle, selon la méthode d'extraction appliquée) se caractérisent par leurs nombreux groupements fonctionnels, tels que les fonctions carboxyliques $-\text{COOH}$, phénoliques $\text{O}-\text{OH}$, amines $-\text{NH}_2$, ..., qui sont susceptibles de fixer les ions métalliques par complexation en formant des complexes de sphère interne.

I.3.1.3 Les argiles

Ce sont des aluminosilicates formés par la superposition de feuillets octaédriques et tétraédriques. Ces feuillets sont plus ou moins espacés et entre eux s'intercalent des cations tels que K^+ , Ca^{2+} et Na^+ . Les particules d'argile sont de taille inférieure à $2 \mu\text{m}$. Cela leur confère une importante surface de contact et par conséquent une forte réactivité. Elles peuvent ainsi développer d'importantes surfaces spécifiques et possèdent alors des propriétés d'absorption et d'adsorption importantes. Les trois mécanismes de fixation des ions métalliques sur les argiles sont l'adsorption physique et chimique de surface.

I.3.1.4 Les carbonates

Ils jouent un rôle important dans les sols car leurs équilibres de dissolution contrôlent partiellement le pH. Les différents horizons de sol en sont plus ou moins enrichis du fait de la dissolution du CO_2 atmosphérique, de la minéralisation du carbone organique (CO_2 issu du métabolisme racinaire et de l'activité des micro-organismes) et de la nature de la roche mère. La surface des carbonates peut être le siège de phénomènes de sorption des ions métalliques par précipitation, absorption et adsorption.

I.3.1.5 La silice

Elle est présente dans les sols, à l'état cristallin ou amorphe. Par hydratation, des groupements hydroxyles de surface se forment et peuvent permettre la fixation des cations métalliques, par adsorption physique et chimique. Cependant, sous forme cristalline, elle

présente une surface spécifique nettement plus faible que les autres composants du sol, tels que les argiles ou les oxydes de fer, manganèse et aluminium, ce qui minimise son rôle dans les phénomènes de rétention des éléments métalliques.

I.3.2 Facteurs influençant la mobilité

La mobilité jouant un rôle majeur dans le comportement et les transferts des métaux dans les sols, il est primordial de connaître les paramètres pouvant l'influencer. La distribution des éléments métalliques entre les phases constitutives du sol peut être modifiée par un certain nombre de facteurs et par les conditions du milieu : les conditions acido-basiques, la présence de complexants, l'état d'oxydation mais aussi l'action des micro-organismes.

I.3.2.1 Influence du pH

Les protons présents dans un sol proviennent essentiellement de la dissolution du CO₂ atmosphérique et du CO₂ du métabolisme racinaire et de l'activité de la microflore (Bourrelier et Berthelin, 1998).

Les variations de pH ont pour effet la modification de la spéciation des éléments métalliques. Lorsque les éléments métalliques sont en solution, des mécanismes physico-chimiques peuvent conduire à la formation d'(oxy)hydroxydes. Du point de vue de leur mobilité, ce phénomène constitue la première étape de la germination d'une phase solide et donc de l'immobilisation. En effet, l'augmentation du pH favorise la déprotonation des complexes aqueux et des groupements fonctionnels de surface des phases solides. Du fait de la diminution des quantités de protons, la compétition entre protons et cations métalliques est plus faible et donc les répulsions diminuent, ce qui accélère alors la formation de nouvelles phases. Ainsi, la solubilité des cations métalliques diminue lorsque le pH augmente.

Dans le cas des anions (Cr(VI), As, Se), la diminution du pH favorise la libération des ions HO⁻. Cela entraîne alors une diminution de la compétition entre anions et ions HO⁻, ce qui accélère alors la formation de nouvelles phases. Ainsi, la solubilité des anions diminue lorsque le pH diminue.

Les formes chimiques en solution sont déterminées par les conditions du milieu et par la nature de l'élément métallique. De nombreux chercheurs tels que Schindler et al. (1976) ou Buffle (1981) ont mis en évidence et modélisé l'influence du pH sur la modification de la mobilité des métaux dans les sols.

I.3.2.2 Influence des conditions d'oxydo-réduction

Il existe trois voies par lesquelles les conditions d'oxydo-réduction peuvent influencer la mobilité des éléments métalliques (Bourrelier et Berthelin, 1998) :

- un changement du degré d'oxydation de l'élément métallique,
- un changement d'état d'oxydation des éléments se liant avec l'élément métallique pour former un complexe soluble,
- la formation ou la dissolution de phases porteuses de l'élément métallique.

Ainsi, outre l'influence directe du potentiel d'oxydo-réduction du milieu sur l'état d'oxydation des éléments métalliques et donc sur leur mobilité, ce facteur intervient également sur les composants du sol qui fixent les métaux (principalement les oxydes de fer et de manganèse) (Stumm et Sulzberger, 1992). Lorsque le sol est aéré, les composés ferriques et manganiques sont très peu solubles et immobilisent les métaux qui leur sont associés. A l'inverse, en conditions d'aérations limitantes, lors d'inondations ou de battement de nappe par exemple, les éléments fer et manganèse sont réduits et solubilisés, et libèrent ainsi les éléments métalliques qui leur sont associés (Davranche et Bollinger, 2000 ; Pénilla et al., 2007).

I.3.2.3 Influence des micro-organismes

Tous les groupes de micro-organismes (bactéries, champignons, algues) sont largement représentés dans les sols (Calvet, 2003). De nombreuses populations bactériennes et fongiques interviennent directement ou indirectement dans la transformation des minéraux (dissolution, altération, insolubilisation, néoformation) et modifient ainsi l'état des divers éléments présents (solubilité, état rédox...) (Schlieker et al., 2001).

De nombreux mécanismes microbiens peuvent intervenir sur la mobilité des éléments métalliques dans les sols :

- par solubilisation,
- par insolubilisation,
- par volatilisation.

La solubilisation se traduit par une dissolution d'(oxy)hydroxydes de fer et de manganèse et des sulfures ainsi que des éléments qui leur sont associés, ou par modification des conditions de milieu (pH, Eh). Ceci peut s'observer sur d'anciens sites miniers (drainages miniers acides - AMD). Sur ces sites, l'oxydation de sulfures, tels que la pyrite (FeS_2),

l'arsénopyrite (FeAsS) ou la galène (PbS) par des bactéries, libère les métaux associés et acidifie l'eau par production d'acide sulfurique concentré.

L'insolubilisation se traduit par la formation de sulfures métalliques insolubles ou par la précipitation du métal par biodégradation de complexes organo-métalliques solubles.

La volatilisation se traduit par la méthylation (As, Hg, Se, Sb) ou par la réduction (Hg).

I.3.3 Transferts des métaux

La mobilité et donc le transfert des métaux dans les sols est la résultante de plusieurs processus pédologiques, physico-chimiques et microbiologiques, et sont contrôlés par un vecteur principal : l'eau.

I.3.3.1 Processus pédologiques de transferts

L'ensemble des transferts possibles pour les éléments métalliques dans les sols est représenté sur la **Figure I.1**.

Des **transferts verticaux** sont initiés par les eaux météoriques qui conduisent à un processus pédologique d'illuviation d'argile et de fer (entraînement des horizons de surface vers des horizons plus profonds par suspension dans l'eau du sol). Les éléments métalliques, associés aux particules d'argiles et de fer, peuvent alors migrer vers les horizons profonds. Les formes solubles ou colloïdales peuvent migrer plus profondément vers les nappes phréatiques.

Des **transferts latéraux** peuvent également modifier la mobilité des métaux et les redistribuer dans les sols. Les éléments métalliques sont associés à des particules argileuses et des (oxy)hydroxydes de fer. Des transferts latéraux à la surface du sol entraînent les éléments métalliques par **ruissellement ou érosion**.

I.3.3.1.1 Transferts vers les milieux aquatiques

Les eaux météoriques et l'irrigation sont les principales sources d'eau dans les sols. Une partie est évacuée par évaporation ou ruissellement de surface. L'autre partie pénètre dans le sol et est alors absorbée par les racines des plantes ou se dirige vers les horizons profonds et les nappes phréatiques. L'importance relative de ces transferts est très variable et dépend d'un ensemble de paramètres, parmi lesquels le type de sols (argileux, sableux, limoneux), l'emplacement sur le bassin versant (crête ou talweg), les propriétés chimiques

(pH, Eh) et le métal (nature, forme chimique). Au cours de ces transports, l'eau se charge en éléments dissous.

Les transferts des éléments métalliques vers les milieux aquatiques posent surtout un problème de toxicité vis-à-vis de l'ensemble des écosystèmes aquatiques, d'autant plus qu'une fois dans les eaux, ces métaux peuvent avoir une mobilité accrue. Dans les eaux souterraines par exemple, les colloïdes jouent un rôle prépondérant dans le transport des éléments métalliques (Honeyman, 1999).

I.3.3.1.2 Transferts vers les plantes

L'absorption des éléments métalliques par les plantes et donc le transfert vers les plantes sont régis par différents facteurs liés au sol, à la plante elle-même, aux interactions entre les éléments ou encore au climat. Les principaux facteurs liés au sol sont le pH, le potentiel d'oxydo-réduction, la CEC et la teneur en matière organique. La capacité d'accumulation des plantes varie d'une plante à une autre suivant son génotype.

Quand elles se développent sur des sols pollués, les plantes peuvent assimiler des éléments métalliques. Les plantes cultivées pour la consommation représentent un danger potentiel pour la santé publique du fait de l'accumulation possible de ces éléments dans leurs tissus. Les risques associés aux sols pollués (contamination de la chaîne alimentaire) sont en effet étroitement liés à la biodisponibilité des éléments métalliques. Une fois absorbés, ces éléments métalliques peuvent retourner dans le sol (cycle bio-géochimique), s'il n'y a pas d'exportations.

I.4 Evaluation de la mobilité et de la biodisponibilité des métaux dans les sols

L'évaluation des risques associés à la pollution des sols nécessite, non seulement une connaissance de la teneur totale en métal, mais aussi de la teneur en métal dans les différents compartiments constitutifs du sol. La teneur totale d'un élément métallique dans un sol comprend toutes les formes de l'élément y compris celles intégrées dans les réseaux cristallins des minéraux (argiles, silicates, carbonates, oxydes, etc.). Evaluer le stock total d'un élément constitue une bonne approche pour étudier le degré et l'ampleur de la contamination d'un sol par un élément métallique. Cependant, dans la majorité des cas, ce type d'analyse ne donne que peu d'informations sur la mobilité de cet élément ainsi que sur sa biodisponibilité (Li et Thornton, 2001). C'est en cela que la notion de **spéciation** est importante. La spéciation définit les différentes espèces chimiques, les différentes formes sous lesquelles se trouvent un

élément ou la phase à laquelle il est fixé. Elle est également définie comme étant le processus d'identification et de quantification des différentes espèces, formes ou phases dans lesquelles se trouvent un élément. La spéciation peut être évaluée à partir d'extractions réalisées en présence de réactifs sélectionnés ; elle sera alors définies de façon **fonctionnelle** ou **opérationnelle** (Ure et al., 1993).

I.4.1 Spéciation fonctionnelle : extraction simple

Dans ce cas, on utilise un réactif unique qui permet de déterminer les formes mobiles ou les cations échangeables, ou encore les espèces biodisponibles pour les plantes.

Il existe de nombreux réactifs d'extraction : eau, acide acétique, chlorure de calcium, réactifs complexants, etc. Cependant, il existe peu d'études dans la littérature mettant en évidence l'efficacité d'un réactif par rapport aux autres pour représenter la part de métal réellement absorbé par les plantes (Menzies et al., 2007). Toutefois, les deux réactifs classiquement utilisés pour évaluer la disponibilité des métaux sont l'acide éthylènediaminetétraacétique (EDTA) et l'acide diéthylènetriaminepentaacétique (DTPA). L'utilisation de ces deux réactifs a fait l'objet de norme : NF X 31-120 pour l'EDTA et ISO 14870 pour le DTPA. De plus, Echevarria et al. (2006) ont montré que le nickel isotopique absorbé par les plantes et que le nickel extrait par le DTPA provenaient du même "pool". Par conséquent, le DTPA est un bon outil pour l'estimation de la part de métal biodisponible pour les plantes.

Toutefois, ces réactifs solubilisent aussi d'autres éléments et chaque plante présente un comportement qui lui est propre. De ce fait, il reste difficile de simuler un ensemble de phénomènes biologiques par de simples réactions chimiques.

I.4.2 Spéciation opérationnelle : extractions séquentielles - fractionnement

Par une procédure d'extractions séquentielles, opérationnellement définies, on effectue une quantification des éléments dans les différentes phases du sol. Ainsi, on peut apprécier la répartition des métaux dans un sol et donc prévoir leur mobilité, en fonction des conditions imposées par des réactifs chimiques. L'un des premiers protocoles élaboré de façon systématique pour la détermination de la répartition des métaux dans les différentes phases d'un sédiment a été réalisé par Tessier et al. (1979). Cette méthode a été adaptée et appliquée à divers sols au cours de nombreuses études (Kersten et Förstner, 1995) et de nombreux réactifs ont été testés (**Tableau I.4**). Il est alors difficile de faire des comparaisons entre différentes études et d'en tirer des conclusions. De plus, la méthodologie a été largement

critiquée du fait de la complexité et de la difficulté d'interprétation, de problèmes liés au manque de sélectivité des extractants et de la réadsorption des métaux durant l'extraction. Ces limites font que le métal extrait ne peut être attribué à une phase géochimique spécifique. Cette méthode permet d'obtenir uniquement des informations sur la distribution des métaux dans des réservoirs donnés (Rapin et al., 1986 ; Martin et al., 1987 ; Nirel et Morel, 1990, Tessier et Campbell, 1991).

Par conséquent, la standardisation d'une procédure a été mise en place par le BCR (Bureau Communautaire de Référence, Community Bureau of Reference, maintenant Standards, Measurements and Testing Programme - SMTP) de la Commission Européenne (Ure et al., 1993 ; Rauret et al., 1998). L'intérêt d'un tel protocole réside dans le fait d'avoir une méthode standardisée dont la reproductibilité et la répétabilité ont été confirmées par de nombreuses études (entre autres : Whalley et Grant, 1994 ; Sahuquillo et al., 1998 ; Davidson et al., 2006).

Tableau I.4 : Réactifs couramment utilisés au cours d'extractions séquentielles

Fractions opérationnellement définies	Réactifs
Echangeable	0,05 M CaCl ₂ 0,1 M NH ₄ NO ₃ 0,1 M Ca(NO ₃) ₂ 0,1 M NaNO ₃ 1 M MgCl ₂
Sensible à l'acidification	0,11 M CH ₃ COOH 1 M CH ₃ COONa
Réductible	0,1 NH ₂ OH.HCl 0,1 M (NH ₄) ₂ C ₂ O ₄ /H ₂ C ₂ O ₄
Oxydable	8,8 M H ₂ O ₂ + 1 M CH ₃ COONH ₄ 0,7 M NaClO 0,1 M K ₄ P ₂ O ₇ ou Na ₄ P ₂ O ₇
Résiduelle	HF HCl + HNO ₃

I.5 Sites et sols pollués

Les questions liées à la pollution des sols par les activités industrielles font l'objet d'une prise de conscience récente, une vingtaine d'années tout au plus. Dans le cadre de la législation des installations classées, une politique s'est développée en France sur cette problématique.

I.5.1 La réglementation

Un site pollué est un site qui, du fait d'anciens dépôts de déchets ou d'infiltration de substances polluantes, présente une pollution susceptible de provoquer une nuisance ou un risque pérenne pour les personnes ou pour l'environnement. Ces situations sont le plus souvent dues à d'anciennes pratiques sommaires d'élimination des déchets, mais aussi à des fuites ou des épandages de produits chimiques, accidentels ou pas. Il existe également autour de certains sites des contaminations dues à des retombées atmosphériques accumulées au cours de plusieurs décennies. Ce type de pollution présente un caractère concentré, c'est à dire que les teneurs sont souvent élevées et cela sur une surface réduite (quelques dizaines d'hectares au maximum). Elle se différencie des pollutions diffuses, comme celles dues à certaines pratiques agricoles ou aux retombées de la pollution automobile près des grands axes routiers.

En France, le sol ne bénéficie pas encore d'un cadre juridique spécifique. De par l'origine industrielle de la pollution, **la législation relative aux installations classées** est la réglementation la plus souvent utilisée pour traiter les questions soulevées par ces sites. Elle constitue le cadre juridique des actions permettant la prévention des risques industriels, la prévention de la pollution des eaux, la réduction des rejets atmosphériques, la réduction de la production des déchets. Le cadre légal résulte en fait d'un ensemble de dispositions législatives parmi lesquelles plusieurs lois constituent les piliers du système législatif dans ce domaine :

- la loi n° 75-633 du 15 juillet 1975 relative à l'élimination des déchets et à la récupération des matériaux,
- la loi n° 76-663 du 19 juillet 1976 relative aux ICPE, modifiée par la loi n° 92-646 du 13 juillet 1992 relative à l'élimination des déchets et aux installations classées pour la protection de l'environnement,
- la loi sur l'eau n° 92-3 du 3 janvier 1992 qui instaure l'obligation de prévention pour éviter la pollution des eaux superficielles ou souterraines,

- la loi n° 95-101 du 2 février 1995 sur le renforcement de la protection de la nature, qui instaure le principe de précaution,
- la loi constitutionnelle n° 2005-205 du 1^{er} mars 2005 relative à la Charte de l'Environnement : "toute personne doit [...] prévenir les atteintes qu'elle est susceptible de porter à l'environnement ou, à défaut, en limiter les conséquences", et aussi "contribuer à la réparation des dommages qu'elle cause à l'environnement".

La politique de réhabilitation et de traitement des sites s'est orientée à la fin des années 1990 vers une politique de **gestion des risques en fonction de l'usage**. A cet effet, plusieurs textes d'application ont été présentés :

- la circulaire du 3 décembre 1993, fonde les grandes lignes de la politique nationale en matière de sites et sols pollués,
- les circulaires du 3 et 18 avril 1996, prévoient la réalisation d'un diagnostic initial et d'évaluations simplifiées des risques (ESR),
- la circulaire du 10 décembre 1999, a introduit le diagnostic approfondi et les évaluations détaillées des risques (EDR).
- au niveau Européen, la Commission des Communautés Européennes a proposé, le 22 septembre 2006, une directive définissant un cadre pour la protection des sols et modifiant la directive 2004/35/CE. Cette directive prévoit des mesures de prévention des processus de contamination des sols et entre autre, la remise en état et l'assainissement des sols contaminés de manière à leur restituer un niveau de fonctionnalité compatible au moins avec leur utilisation effective et leur utilisation future.

Cependant, l'application de ces circulaires présente certaines limites. En effet, il apparaît que le diagnostic approfondi, étape essentielle pour pouvoir apprécier les risques, est souvent négligé. Dès lors, de nouveaux textes et outils méthodologiques relatifs à la prévention de la pollution des sols et à la gestion des sols pollués ont été présentés le 14 février 2007. La gestion des risques suivant l'usage a été pérennisée mais les guides méthodologiques existants ont été complétés et actualisés. Deux démarches de gestion sont désormais définies. On distingue :

- **la démarche d'interprétation de l'état des milieux (IEM)** ; il s'agit de s'assurer que l'état des milieux est compatible avec les usages constatés,
- **le plan de gestion**, lorsque la situation permet d'agir aussi bien sur l'état du site (par des aménagements ou des mesures de dépollution) que sur les usages qui peuvent être choisis ou adaptés.

Ces deux démarches ne sont pas nécessairement exclusives l'une de l'autre. Selon le cas, elles peuvent être mises en oeuvre indépendamment l'une de l'autre, simultanément ou successivement.

Avant toute démarche de gestion, que ce soit une IEM ou un plan de gestion, un bilan factuel de l'état du milieu ou du site étudié doit être réalisé. Il s'agit du **schéma conceptuel**. La construction du schéma conceptuel repose sur une collecte d'informations pouvant nécessiter des recherches documentaires, des enquêtes auprès des utilisateurs du site ou du milieu, et/ou des campagnes réalisées sur place.

I.5.2 Inventaire des sites pollués en France

L'inventaire des sites pollués par les activités industrielles entraînant une action des pouvoirs publics, à titre préventif ou curatif, a été réalisé et publié en 1994 et 1997. À ce jour 3905 sites pollués ont été répertoriés par le Ministère chargé de l'Environnement (**Figure I.2**). Les 10 principaux polluants constatés sont présentés dans le **Tableau I.5** (basol.ecologie.gouv.fr).



Figure I.2 : Répartition géographique des sites pollués en France

Tableau I.5 : Principaux polluants (seuls ou en mélange) des sites répertoriés (Février 2007)

Polluants	%
Hydrocarbures	40
H.A.P	18
Solvants halogénés	14
Pb	18
Zn	10
Cr	16
Cu	15
As	12
Ni	10
Cd	6

I.5.3 Les techniques de réhabilitation

Aujourd'hui, l'arrêt de toute activité devrait être suivi de la remise en l'état du site de manière à ce qu'il ne soit plus un danger pour la santé publique et l'environnement. Suite à l'évaluation des risques, les opérations de réhabilitation sont choisies en fonction de l'usage actuel ou futur. Les techniques de traitement (**Tableau I.6**) des sols pollués varient selon les pollutions (organiques ou métalliques) rencontrées et sont classées en 4 grandes catégories :

- les procédés physico-chimiques,
- les procédés thermiques,
- les procédés biologiques,
- le confinement.

Les principes d'application des différentes méthodes se regroupent en 3 modes de fonctionnement :

- traitement "in situ", cette méthode permet de traiter les déchets et les matières polluées sans qu'il ne soit nécessaire d'effectuer une excavation,
- traitement hors site, les déchets et les matières polluées sont emmenés hors du site, transportés jusqu'à un centre spécialisé pour y être traités,
- traitement sur site ou "on site", dans ce cas une excavation est effectuée, mais le traitement se fait sur place.

Tableau I.6 : Les techniques de dépollution des sols

Techniques de dépollution		Exemples de traitements pour des pollutions métalliques
méthodes physiques	extraire par voie physique la pollution du milieu où elle se trouve	excavation, tri, broyage
méthodes géochimiques	immobiliser physiquement sur place la pollution, soit en la confinant, soit en la stabilisant, afin d'empêcher qu'elle ne s'étende davantage	confinement par encapsulation, barrières actives
méthodes chimiques et électrochimiques	réaction d'un solvant, d'un acide, d'une base, électrolyse, ... pour enlever ou transformer la contamination	lessivage et extraction chimique, stabilisation/solidification, électromigration
méthodes thermiques	porter à haute température le matériau pour extraire ou au contraire immobiliser le polluant	désorption thermique (mercure), vitrification
méthodes biologiques	utiliser des organismes vivants pour réduire, voire éliminer la pollution	phytoextraction, phytostabilisation

I.6 La phytoréhabilitation

I.6.1 Définition

La phytoréhabilitation est définie comme l'utilisation de plantes pour éliminer ou rendre moins mobiles et moins toxiques les contaminants environnementaux. Cette technique peut être appliquée à des polluants organiques ou inorganiques présents dans le sol ou dans l'eau (Salt et al., 1995 ; Chaney et al., 1997 ; Raskin et al., 1997 ; Alkorta et al., 2004a, b ; Krämer, 2005).

La capacité à accumuler les polluants varie de manière significative d'une espèce à l'autre et varie en fonction du type de culture pour une espèce donnée.

La phytoréhabilitation inclut (**Figure I.3**) :

- la phytoextraction :

C'est l'utilisation de plantes pour extraire des polluants du sol. Ces plantes transportent et concentrent les polluants du sol dans les parties récoltables. Suivant l'espèce de la plante et la nature du métal, les teneurs les plus élevées sont observées, soit au niveau des parties souterraines, soit au niveau des parties aériennes.

- la phytostabilisation :

C'est l'utilisation de plantes pour réduire la biodisponibilité des polluants de l'environnement. Les plantes stabilisent les polluants du sol les rendant ainsi moins dangereux. Les risques de dégradation de l'environnement par lessivage de ces polluants ou par l'envolée de poussière sont diminués. Pour une telle technique, le risque sur le long terme serait une remobilisation et un départ dans l'environnement des éléments polluants, suite à des modifications des conditions physico-chimiques du milieu.

- la phytovolatilisation :

C'est l'utilisation de plantes pour volatiliser les polluants. Les plantes extraient des polluants volatils du sol et la volatilisation se fait au niveau du feuillage. Cette technique ne peut être mise en place que pour très peu d'éléments, par exemple le sélénium ou encore le mercure. Cependant, les composés extraits ne sont pas contenus mais dispersés dans l'atmosphère. Le devenir des polluants n'est alors plus maîtrisé.

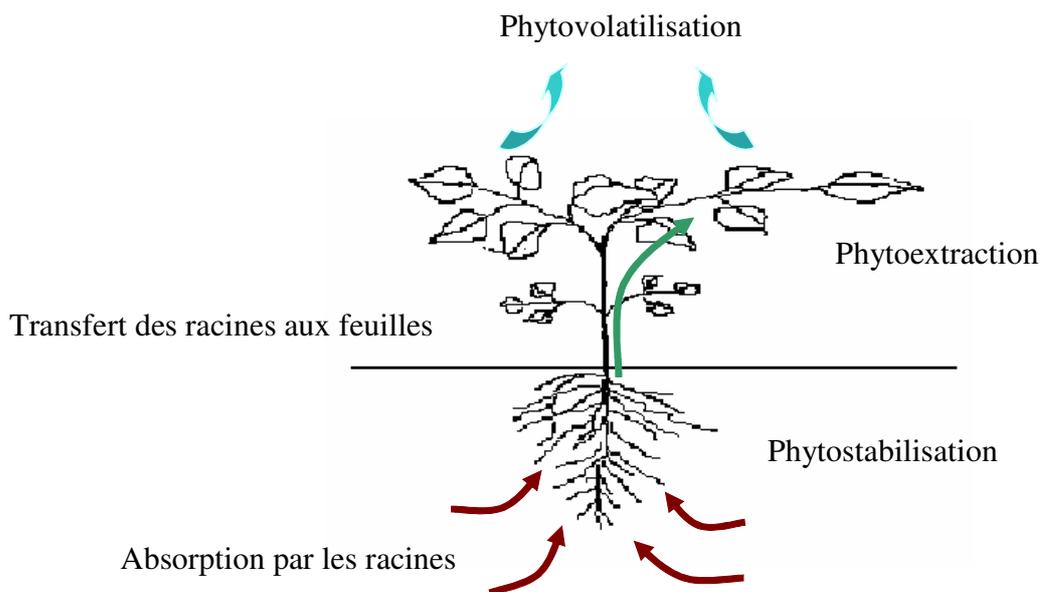


Figure I.3 : La phytoréhabilitation

I.6.2 La phytoextraction

La phytoextraction est une technique attractive car elle est peu agressive pour l'environnement et relativement peu coûteuse. En effet, les méthodes traditionnelles (**Tableau I.6**), de par leurs mises en œuvre, perturbent les écosystèmes. De plus, elles présentent un coût de traitement beaucoup plus élevé que la phytoextraction.

Tableau I.7 : Coût des méthodes de dépollution (d'après Lasat, 2000)

Traitement	Coût (\$ / tonne)
Vitrification	75 - 425
Méthodes mécaniques	100 - 500
Méthodes chimiques	100 - 500
Electromigration	20 - 200
<i>Phytoextraction</i>	5 - 40

Le terme de phytoextraction concerne principalement l'absorption des métaux du sol par les plantes. Les plantes peuvent accumuler les métaux, tels que : Fe, Mn, Zn, Cu, Mg, Mo, nécessaires à leur bon développement, mais sont également capables d'accumuler des métaux, tels que : Cd, Cr, Pb, Co, Ag, Se, Hg, qui, eux, ne sont pas nécessaires au niveau physiologique.

La tolérance de ces plantes vient du fait qu'elles mettent en place un ensemble de mécanismes qui permettent l'absorption et l'accumulation des métaux. Cette tolérance et cette bioaccumulation sont rendues possibles par une adaptation de la plante, avec la mise en place au niveau cellulaire de capacités physiologiques nouvelles (Mejare et Bulow, 2001 ; Clemens et al., 2002) :

- rejet de molécules complexantes,
- fixation dans la paroi cellulaire,
- transport réduit à travers la membrane plasmique,
- activité enzymatique modifiée,
- complexation dans le cytoplasme et compartimentation dans des vacuoles.

La plante idéale pour la phytoextraction doit être capable d'accumuler et de tolérer de fortes teneurs en métaux dans ses parties récoltables, tout en ayant une croissance rapide et une forte biomasse (Chaney et al., 1997).

Certaines plantes sont naturellement capables d'accumuler de fortes teneurs en métaux (**Figure I.4**) : ce sont des plantes **accumulatrices**, les teneurs accumulées sont supérieures à celles présentes dans le sol. Certaines sont dites **hyperaccumulatrices**, si elles sont capables d'accumuler plus de 10 000 mg.kg⁻¹ de Mn ou Zn, plus de 1000 mg.kg⁻¹ de Cu, Co, Ni, Pb, Cr, ou plus de 50 mg.kg⁻¹ de Cd dans leurs feuilles. Cependant, ces plantes sont généralement de petites tailles et ont une croissance lente.

Parallèlement d'autres plantes sont **tolérantes** aux métaux et présentent une biomasse plus importante (**Figure I.4**) :

- les plantes **excluantes** empêchent le transport des métaux vers les parties aériennes en sécrétant au niveau des racines des molécules complexantes. Ce comportement s'atténue quand la teneur en métal présent dans le sol devient trop importante. Cependant, elles sont capables d'accumuler de fortes teneurs en métaux dans leurs racines.
- les plantes **indicatrices** accumulent les métaux dans leurs parties aériennes en fonction de la teneur en métal présent dans le sol.

Deux approches sont alors possibles pour la phytoextraction : soit **l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices seules**, soit **la phytoextraction couplée à l'utilisation de complexants** (utilisation de plantes tolérantes en présence de complexants).

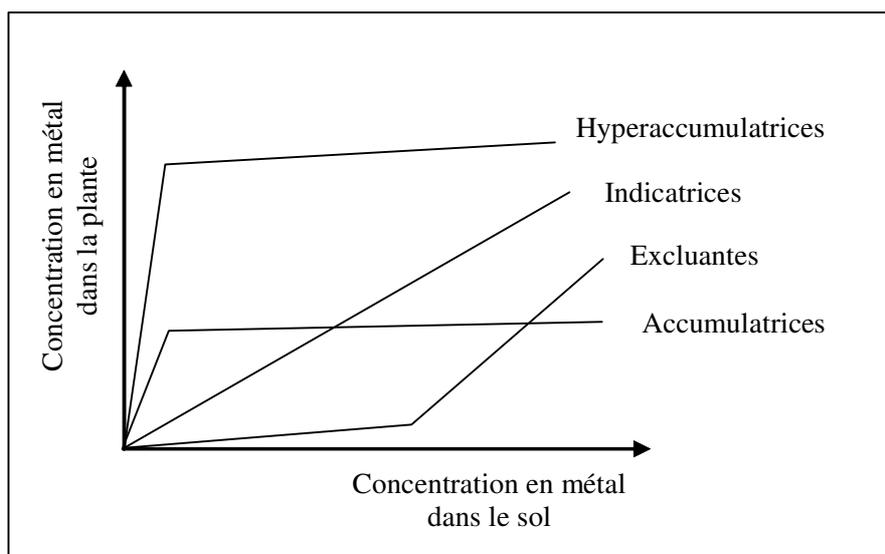


Figure I.4 : Comportement des plantes en fonction de la concentration en métal dans le sol (d'après Baker, 1981)

I.6.2.1 Utilisation de plantes hyperaccumulatrices seules

Cette stratégie de phytoextraction dépend de la plante utilisée, c'est-à-dire de sa capacité d'extraction, d'accumulation, de translocation (transfert du polluant des racines vers les feuilles) ainsi que sa capacité à résister à de fortes teneurs en métaux. Les hyperaccumulatrices sont les plus appropriées pour répondre à ces différents points. La

plupart des hyperaccumulatrices connues poussent sur des sols contenant de fortes teneurs en métaux. Ces plantes sont souvent issues de milieux endémiques.

Certaines études ont porté uniquement sur la phytoextraction sans ajout de complexants et sur l'utilisation de plantes hyperaccumulatrices. Ces études donnent des résultats prometteurs. Lombi et al., 2001 ont mis en évidence l'accumulation de $8,3 \text{ mg.kg}^{-1}$ de Cd et 200 mg.kg^{-1} de Zn par *Thlaspi caerulescens*, cette plante s'étant développée sur un sol contenant 19 mg.kg^{-1} de Cd et 2920 mg.kg^{-1} de Zn.

Cependant, ces plantes ont une croissance lente et possèdent une faible biomasse. Par conséquent, un temps assez long serait nécessaire pour décontaminer un site. De plus, l'accumulation d'un métal peut être modifiée quand on est en présence d'un sol contenant une pollution polymétallique.

Keeling et al. (2003) ont réalisé des travaux sur une plante hyperaccumulatrice du nickel, *Berkheya coddii*, en présence de nickel et de cobalt. Ils ont observé une rapide accumulation de Co avec ou sans ajout de Ni dans le milieu de culture. A l'inverse, en présence de Co, l'accumulation de Ni est inhibée. De plus, le facteur de bioaccumulation ($\frac{[\text{métal dans la plante}]}{[\text{métal dans le milieu de culture}]}$) est diminué quand *Berkheya coddii* se développe en présence des deux métaux. Il est divisé par 2 pour Co et par 5 pour Ni. Par conséquent, son efficacité est limitée sur un sol contenant ces deux métaux.

I.6.2.2 Utilisation de plantes tolérantes en présence de complexants

Le succès de la réhabilitation d'un sol dépend du génotype de la plante mais également des interactions existantes, au niveau de la rhizosphère, entre le métal, la matière organique et les oxydes. Il s'est avéré que l'excrétion, au niveau des racines, de molécules organiques de faible poids moléculaire, telles que les acides acétique, oxalique, fumarique, citrique, permet la formation de complexes solubles entre ces molécules et le métal. Cela a pour conséquence de modifier la fixation et la mobilité du métal dans les sols (Römkens et al., 2002 ; Chen et al., 2003). L'utilisation de complexants pour améliorer la phytoextraction se base sur ce constat. Par conséquent, les complexants utilisés comme extractants solubilisent les métaux et les rendent plus biodisponibles, améliorant ainsi leur absorption par les plantes.

De nombreuses études ont porté sur l'influence que pouvaient avoir des complexants naturels (tels que les acides organiques) ou des complexants de synthèse sur l'absorption et l'accumulation de métaux par les plantes. Des complexants tels que l'acide citrique, l'EDTA, le DTPA, etc., ont été utilisés pour mobiliser et augmenter l'accumulation de métaux dans

différentes espèces. Différents métaux, tels que Pb, Cu, Cd, Ni, Cr et Zn ont été étudiés (Blaylock et al., 1997 ; Lombi et al., 2001 ; Wu et al., 2004 ; Luo et al., 2006 ; Evangelou et al., 2007 ; Komárek et al., 2007a, c).

Blaylock et al., 1997 ont montré que l'application d'EDTA permettait d'augmenter la concentration en Pb au niveau des feuilles de la moutarde indienne (*Brassica juncea*). Lombi et al., 2001 ont mis en évidence une accumulation plus importante de Zn et de Cd dans le maïs (*Zea mays* L.).

Divers auteurs ont observé des résultats variables, qui dépendent du métal étudié, du complexant et de la plante utilisée (**Tableau I.8**). Certaines de ces études montrent de bons résultats. On obtient alors une extraction du métal mais aussi une accumulation de ce métal au niveau des feuilles. Dans d'autres cas, cette accumulation est présente mais entraîne une perte de biomasse ou des lésions chez la plante.

En dépit du fait qu'il doit y avoir translocation du métal et une accumulation dans les parties qui peuvent être récoltées, une espèce doit combiner la capacité d'accumuler de fortes concentrations en métaux comme *Thlaspi caerulescens* et celle de produire une forte biomasse rapidement comme *Brassica juncea* (Brooks, 1998 ; Mejare et Bulow, 2001). Ainsi se développe de plus en plus une approche génétique. Ces études portent sur l'introduction de gènes responsables de la production de protéines et de peptides permettant d'améliorer l'accumulation et la tolérance pour un métal dans des plantes ayant une croissance rapide et une biomasse importante (Brooks, 1998 ; Mejare et Bulow, 2001).

L'application de complexants sur un sol entraîne une augmentation de la mobilité des métaux présents dans ce sol (Peters, 1999 ; Madrid et al., 2003 ; Hauser et al., 2005). En effet, les complexants forment avec les métaux des complexes solubles stables, les rendant ainsi plus mobiles. Komárek et al. (2007a) ont évalué les risques associés à l'extraction de Pb par le peuplier, après l'application d'EDTA. Il apparaît, après deux ans d'étude, que l'application de la solution d'EDTA maintient les métaux Pb et Cu sous des formes fortement mobiles.

Ces métaux plus mobiles sont alors disponibles pour les plantes utilisées pour la phytoextraction. Ils peuvent alors être absorbés au niveau de leurs racines. Cependant, du fait de leur fort pouvoir complexant et de leur persistance dans l'environnement, due à leur faible biodégradabilité, les complexants synthétiques (type EDTA) peuvent entraîner une migration massive des métaux vers les eaux souterraines. Ces métaux peuvent alors être absorbés par des animaux ou d'autres plantes et ainsi contaminer des chaînes alimentaires. Cette migration à travers le sol a également des effets toxiques sur les microorganismes présent dans le sol (Grčman et al., 2001).

Tableau I.8: Synthèse des principales études de phytoextraction assistée par l'ajout de complexants

Réactifs utilisés	Métaux étudiés	Plantes utilisées	Observations	Références bibliographiques
EDTA, HEDTA, DTPA, EGTA, EDDHA	Pb	<i>Zea mays</i> (maïs), <i>Pisum sativum</i> (pois)	Ordre d'efficacité : EDTA > HEDTA > DTPA > EGTA > EDDHA. Amélioration de la translocation vers les feuilles	Huang et al., 1997
EDTA	Pb, Zn, Cd	<i>Brassica rapa</i> (chou chinois)	Augmentation des concentrations en métal dans les feuilles. EDTA permet l'absorption et améliore la translocation à travers la plante	Grčman et al., 2001
EDDS, EDTA	Pb		Accumulation de Pb dans les feuilles, mais capacités insuffisantes pour une réelle application	Kos et Leštan, 2003
EDTA	Pb	<i>Brassica juncea</i> (moutarde indienne)	Augmentation de la concentration de Pb dans les feuilles, cependant diminution de la biomasse	Epstein et al., 1999
EDTA	Cu, Zn, Pb, Cd		Faible accumulation des métaux	Wu et al., 2004
EDTA, HEDTA	Cr, Cd, Ni	<i>Helianthus annuus</i> (tournesol)	Augmentation des concentrations dans les tissus (Ni et Cd dans les feuilles, Cr dans les racines), cependant diminution de la biomasse. L'EDTA est plus efficace	Chen et Cutright, 2001
EDTA	Cd, Cr, Ni		Augmentation de l'absorption et du transport des racines aux feuilles Diminution de la biomasse	Turgut et al., 2004
Acide citrique	Cd, Cr, Ni		Stimulation du transport jusqu'aux feuilles dans le cas de Cr Possible diminution de la biomasse due à une forte remobilisation des métaux	
Acide citrique	Cd, Cu, Pb, Zn	<i>Sinapis alba</i> (moutarde jaune), <i>Lolium perenne</i> L (graminée), <i>Lupinus hartwegii</i> (lupin)	Absorption plus importante des métaux par <i>Sinapis alba</i> , qui est un hyperaccumulateur Faible absorption par <i>Lolium perenne</i> et <i>Lupinus hartwegii</i>	Römken et al., 2002
Acide citrique	Pb, Cd	Radis	Diminution de la toxicité de Pb et de Cd Stimulation du transport jusqu'aux feuilles dans le cas de Cd Accumulation de Pb dans les racines	Chen et al., 2003

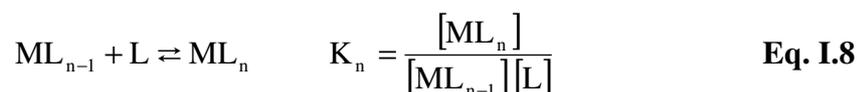
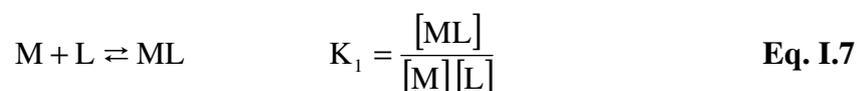
HEDTA : acide hydroxyéthyle éthylènediaminetriacétique ; EDDS : acide [S, S] – éthylène diaminedisuccinique ; EGTA : acide éthylène glycol tétraacétique ; EDDHA : acide éthylène (dihydroxyphényl) acétique.

I.7 Les complexants

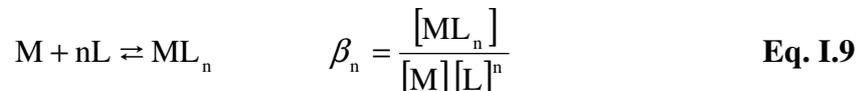
I.7.1 Définition d'un complexe métallique

Un **complexe métallique** est constitué d'un ion métallique central sur lequel viennent se fixer par liaisons covalentes des molécules neutres ou des ions, appelés **ligands**. Plus précisément le ligand est le **site de fixation** de la molécule ou de l'ion. Lorsqu'un ion s'entoure de ligands pour former un complexe, on parle de **réaction de complexation**.

Soit le cas général d'un complexe dans lequel n ligands L, identiques, se lient à un ion central M :



Les K_n sont les constantes successives de formation. Si l'on écrit directement la formation d'un complexe ML_n , l'équilibre correspondant est qualifié de global :



Dans les tables de données, on reporte les $\log K$ ou les $\log \beta$.

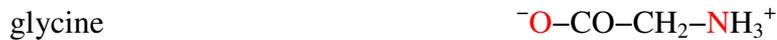
I.7.1.1 Les différents types de complexes et de complexants

La classification des complexes se base sur le nombre d'ions ou d'atomes centraux qu'ils comportent. Les complexes organisés autour d'un seul ion central sont des complexes monométalliques (mononucléaires). Si le complexe comporte deux, trois ou plusieurs ions métalliques on le désigne par les termes bimétallique (binucléaire), trimétallique (trinucléaire), polymétallique (polynucléaire).

Les **complexants** sont classés selon leur structure et le nombre de ligands. On les désigne par les termes monodentates, bidentates, polydentates.

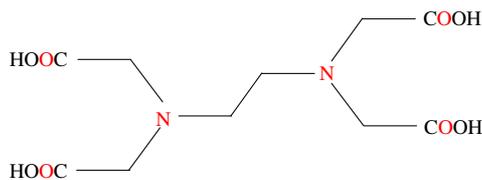
- Monodentates, 1 ligand : H_2O , NH_3 , CH_3OH , Cl^- , ...

- Bidentates, 2 ligands (identiques ou différents) :



- Polydentates, plusieurs ligands :

acide éthylènediamine tétraacétique (EDTA), il s'agit d'un complexant hexadentate



Les complexants bi- ou poly- dentates sont désignés comme étant des **chélatants** car ils forment au moins deux liaisons avec l'ion central.

I.7.2 Les complexants utilisés

Au cours de notre étude, nous avons utilisé trois complexants : l'acide citrique, l'histidine et l'EDTA.

I.7.2.1 Acide citrique

L'acide citrique est un triacide (**Tableau I.9**) que l'on retrouve naturellement dans les exsudats racinaires et dans le sol (Jones, 1998 ; Dakora et Phillips, 2002). C'est un complexant tridentate (groupements carboxyle et hydroxyle) (Strathmann et Myneni, 2004). Il est utilisé comme : additif de poudre à lever (E330), acidifiant, antioxydant, anticoagulant sanguin, détartrant pour les appareils électro-ménagers remplaçant les polyphosphates, fongicide, bactéricide,

Il forme des complexes stables avec les métaux (Brooks et Herman, 1998 ; Poulsen et Hansen, 2000 ; Nigam et al., 2001). Il a donc été utilisé dans des études portant sur l'extraction des métaux dans les sols, ainsi que pour l'amélioration de la phytoextraction (Bassi et al., 2000 ; Turgut et al., 2004 ; do Nascimento, 2006 ; do Nascimento et al., 2006). Par exemple, Poulsen et Hansen (2000) montrent que, sur un sol de type sable-limoneux, 5 mmol.L⁻¹ d'acide citrique diminuent l'adsorption de Ni sur le sol de 50%, à pH 7,5, et de 90 %, à pH 5, le rendant ainsi plus accessible par les plantes.

L'acide citrique étant une molécule organique naturellement présente dans l'environnement, il est facilement biodégradable (Römken et al., 2002). Des travaux effectués par Brynhildsen et Rosswall (1997) sur des extraits de sol ou sur des sols montrent que l'acide citrique possède un temps de demi-vie proche de 8 jours. L'acide citrique est en fait un intermédiaire du métabolisme des organismes aérobies. Il intervient dans le cycle de Krebs (ou cycle de l'acide citrique) qui permet la production d'énergie.

Les complexes métal-citrate peuvent eux aussi être dégradés (Francis et al., 1992 ; Renella et al., 2004). Francis et al. (1992) ont mis en évidence l'influence de la forme du complexe sur le taux de dégradation. Les complexes (mononucléaire bidentate) formés avec Ni, Ca, ou Fe(III) sont rapidement dégradés alors que les complexes (mononucléaire tridentate) formés avec Cd, Pb ou Fe(II) ne le sont pas.

I.7.2.2 Histidine

L'histidine (acide 2-amino, 3-(4'-imidazolyl) propanoïque) est un des 20 acides aminés codés génétiquement par l'ADN. Sa chaîne latérale a un caractère basique et comporte un cycle imidazole (**Tableau I.9**).

L'histidine est un complexant tridentate (groupements amine et carboxyle). Elle intervient dans la plupart des centres actifs des enzymes où elle sert soit de donneur, soit d'accepteur de proton. En tant qu'acide aminé, elle va également entrer dans la composition de protéines ou être un précurseur d'autres molécules.

Elle a également la capacité de complexer les ions métalliques (**Tableau I.10**). De nombreuses études ont mis en évidence le rôle de l'histidine dans la mobilisation et l'accumulation des métaux par des plantes. Krämer et al. (1996) ont montré que l'histidine intervient comme complexant de Ni chez la plante hyperaccumulatrice *Alyssum lesbiacum*. En effet, une analyse EXAFS de feuilles et de racines montre une coordination entre un azote du cycle imidazole et le nickel. De même, Salt et al. (1999) ont montré que l'histidine joue le rôle de complexant pour le Zn intracellulaire présent dans les racines, chez *Thlaspi caerulescens*.

Comme l'acide citrique, l'histidine est un composé naturellement synthétisé et donc biodégradable. Des travaux effectués par Brynhildsen et Rosswall (1997) montrent qu'après 36 jours d'incubation, 55 % d'histidine sont dégradés dans un sol cultivé et que 30 % seulement sont dégradés dans un sol de forêt.

I.7.2.3 EDTA

L'EDTA est un complexant hexadentate (groupements amine et carboxyle) (**Tableau I.9**), largement utilisé pour des applications industrielles, par exemple dans l'industrie du textile et du papier, l'industrie métallurgique, l'industrie de la photo, comme inhibiteur de corrosion dans les systèmes de refroidissement, comme agent complexant dans les lessives. Il est utilisé pour éviter la formation de précipités, pour extraire un métal d'un système, pour garder un métal disponible en solution (Bucheli-Witschel et Egli, 2001).

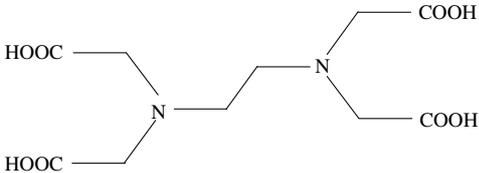
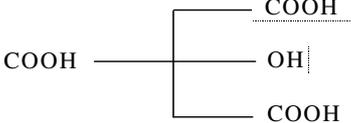
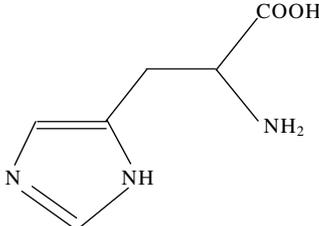
Les fortes capacités complexantes de l'EDTA vis-à-vis des métaux (**Tableau I.10**) sont largement utilisées dans des études sur l'extraction, par des complexants, des métaux présents dans les sols (Wasay et al., 2001 ; Kim et al., 2003 ; Tandy et al., 2004 ; Luo et al., 2005 ; Di Palma et Ferrantelli, 2005 ; Leštan et Kos, 2005).

Dans un système contrôlé, l'EDTA peut être utilisé par les microorganismes comme source de carbone. La dégradation dépend pour beaucoup du type de microorganismes, du substrat et de la spéciation de l'EDTA (Kari et Giger, 1996 ; Egli, 2001). En effet, d'après Witschel et al. (1999) seul l'EDTA libre ou les complexes Me-EDTA ayant une constante de complexation inférieure à 10^{14} sont assimilés par les micro-organismes alors que les complexes plus stables doivent être d'abord dissociés.

Dans le milieu naturel, le principal processus de dégradation est la photodégradation du complexe Fe(III)EDTA (Kari et Giger, 1995, Bucheli-Witschel and Egli, 2001).

L'EDTA reste tout de même persistant dans l'environnement (Bucheli-Witschel et Egli, 2001) et sa présence peut entraîner des lessivages incontrôlés des métaux (Nowack et al., 2006 ; Komárek et al., 2007a).

Tableau I.9 : Constantes d'acidité

Complexant	Structure	pKa ^a (T=25°C, I=0,1 M)
EDTA		10,17 . 6,11 . 2,68 . 2
Acide citrique		5,66 . 4,34 . 2,90
Histidine		9,08 . 6,02 . 1,7

(a Smith et Martell, 1974, 1982)

Tableau I.10 : Constantes de complexation avec Cr³⁺ et Ni²⁺

Complexant	Cr ³⁺	Log K ^b (T = 25°C, I = 0,1 M)	Ni ²⁺	Log K ^b (T = 25°C, I = 0,1 M)
EDTA	CrH(EDTA) ⁰ Cr(EDTA) ⁻	25,35 23,4	NiH(EDTA) ⁻ Ni(EDTA) ²⁻	23,6 20,10
Acide citrique	Cr(citrate) ⁰	8,73 ^c	NiH(citrate) ⁰ NiH ₂ (citrate) ⁺ NiH(citrate) ₂ ³⁻ Ni(citrate) ₂ ⁴⁻ Ni(citrate) ⁻	10,5 13,3 14,9 8,77 6,59
Histidine	-	-	Ni(histidine) ⁺ Ni(histidine) ₂	9,3 16,6

(b Pettit et Powell, 2001 ; c Schecher et McAvoy, 2001)

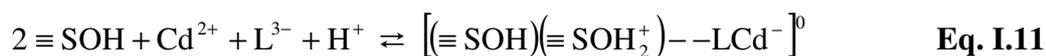
I.7.3 Réactions entre les sites de surface des solides et les complexants

➤ Acide citrique

L'ion citrate (L^{3-}) s'adsorbe en formant un complexe de sphère interne avec la surface en tant que complexant bidentate (**Eq. I.10**). Des liaisons hydrogène peuvent se former entre les sites de surface et les groupements carboxyles restants (Filius et al., 1997 ; Lackovic et al. 2003).



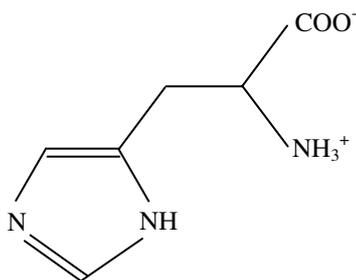
En présence d'éléments métalliques, tels que Cd^{2+} , l'ion citrate peut s'adsorber sur les sites de surface de la goethite (**Eq. I.11**, **Eq. I.12**), en formant des complexes de sphère externe (Lackovic et al., 2004) :



Dans le cas d'une réaction entre l'ion citrate et un élément métallique de type M^{3+} , le complexe formé possède une charge nulle et reste alors en solution ou précipite.

➤ Histidine

Très peu d'études portent sur l'utilisation de l'histidine en tant que réactif complexant pour extraire les métaux des sols. Aux pH compris entre 6 et 9, l'histidine est sous la forme d'un zwitterion :



Grâce à ses trois centres donneurs, l'histidine est capable de former des complexes en se comportant comme un complexant mono- ou bidentate (la forme tridentate est peu probable).

➤ EDTA

L'EDTA libre (Y^{4-}) s'adsorbe sous la forme d'un complexe de sphère interne (**Eq. I.13**) (libération de HO^-). A pH acide (jusqu'à pH = 6,5), il forme un complexe binucléaire, tandis qu'à pH basique, il forme un complexe mononucléaire. Son adsorption sur les sites de surface est suivie d'une réaction de dissolution des oxydes, cette dissolution est limitée à faible pH (Nowack et Sigg, 1996).



Le complexe, MeY^{2-} , formé entre l'EDTA et un élément métallique de type Me^{2+} , peut réagir avec les sites de surface de la goethite (**Eq. I.14**). Il s'adsorbe sous la forme d'un complexe de sphère interne grâce au groupement $COOH$ resté libre (Nowack et Sigg, 1996) :



L'adsorption du complexe MeY^{2-} , influence la mobilisation des métaux. En effet, l'adsorption se fait comme pour l'EDTA libre (**Eq. I.13**, **Eq. I.14**). L'EDTA joue le rôle de lien entre le site de surface et le métal, qui est alors fortement fixé aux sites de surface. Par conséquent, la mobilisation des métaux peut s'en trouver diminuée.

Dans le cas, d'une réaction entre l'EDTA et un élément métallique de type Me^{3+} , le complexe formé est un complexe de sphère externe, faiblement adsorbé aux sites de surface. Les liaisons mises en jeu sont des liaisons de type électrostatique. Le métal pourra, par un changement des conditions, être remobilisé (Nowack et Sigg, 1996 ; Güçlü et Apak, 2003).

Les hydroxydes de Fe et de Al présentant des charges de surface positives (Zachara et al, 1987), les complexants, sous leur forme libre, peuvent s'adsorber sur ces sites de surface, qui vont alors présenter une charge de surface négative. Le complexe formé entre le complexant et le métal, chargé négativement, ne peut alors se réadsorber. Par conséquent, le métal mobilisé reste en solution. L'étude de Poulsen et Hansen (2000) a montré qu'à une forte concentration en acide citrique (5 mmol.L^{-1}) et à pH compris entre 5,5 et 7,5, l'espèce majoritaire est $Ni(\text{citrate})^-$ (d'après MINTEQA2), qui ne peut s'adsorber sur les sites de surface. En effet, les sites de surfaces étant composés d'hydroxydes de fer et d'aluminium, ces derniers sont chargés négativement après l'adsorption du citrate libre. Ainsi, l'adsorption des complexants, sous leur forme libre peut modifier la mobilisation des métaux.

En conclusion, les réactions entre les complexants et les sites de surface peuvent avoir une influence sur la mobilisation des éléments métalliques.

Après cette revue de la bibliographie, nous contaminerons artificiellement un échantillon de sol dit "modèle" qui constituera un système d'étude simplifié afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors de l'extraction du chrome et du nickel. Nous suivrons le vieillissement de cette contamination et contrôlerons l'évolution de la répartition de ces métaux dans les différentes phases solides.

Nous comparerons l'efficacité de deux complexants facilement biodégradables (acide citrique et histidine) avec un autre qui est peu biodégradable (EDTA), d'abord sur le sol modèle contaminé puis sur un sol contaminé par une activité industrielle. Nous identifierons alors le ou les complexants efficaces et déterminerons des conditions d'applications de ces complexants pour une extraction optimale du chrome et du nickel.

Nous vérifierons les effets de l'application des complexants sur le développement de *Datura innoxia* ainsi que sur l'accumulation des métaux en fonction de la concentration appliquée et du mode d'arrosage du complexant.

Puis nous suivrons les effets du mode d'application de la solution complexante sur le lessivage des métaux, en faisant percoler cette solution à travers une colonne de sol.

CHAPITRE II :
LES SOLS ÉTUDIÉS - MATÉRIELS ET PROTOCOLES
EXPÉRIMENTAUX

II LES SOLS ETUDIÉS – MATÉRIELS ET PROTOCOLES EXPÉRIMENTAUX

Ce chapitre décrit, d'une part les échantillons de sols étudiés, leurs origines et les différents pré-traitements qu'ils ont subi, et d'autre part, l'ensemble des techniques et des protocoles expérimentaux utilisés au cours de cette étude.

II.1 Les sols étudiés

Notre objectif, en utilisant des complexants, est d'évaluer la mobilité de deux métaux, (le chrome et le nickel) dans un sol pollué par une activité industrielle. Toutefois, nous avons dans un premier temps contaminé artificiellement un sol avec les métaux, Cr(III) et Ni(II), afin de mieux comprendre les mécanismes mis en jeu lors de leur extraction et d'optimiser certains paramètres d'extraction (choix du complexant, concentration, rapport liquide/solide). Dans un deuxième temps, les paramètres ainsi déterminés seront alors appliqués à un échantillon de sol industriel, contaminé par Ni et Cr, mais aussi par d'autres éléments.

L'ensemble des échantillons de sols étudiés a été traité selon la norme ISO 11 464. Ils sont séchés à l'air libre ($20 \pm 2^\circ\text{C}$), désagglomérés et tamisés sur un tamis en nylon de maille de 2 mm, puis conservés à 4°C .

II.1.1 Sol modèle non contaminé

II.1.1.1 Échantillonnage

Le sol choisi comme modèle d'étude provient de la commune de Saint Paul, près de Limoges, en Haute-Vienne. Les échantillons de sol ont été prélevés à une profondeur de 5-10 cm. Le site de prélèvement se trouve dans une zone de pâturage éloignée de toutes routes et de toutes activités industrielles et n'ayant pas connu d'activité agricole ou industrielle dans le passé. De plus, il s'est développé sur des gneiss, formation géologique majoritaire qui va conditionner la teneur naturelle en métaux.

II.1.1.2 Contamination artificielle

Une solution bimétallique de Cr(III) ($\text{Cr}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$) et de Ni(II) ($\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) est préparée de sorte que l'on ait théoriquement dans le sol après ajout $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ de Cr(III)

et 300 mg.kg⁻¹ de Ni(II). La concentration de la solution bimétallique est choisie de sorte que l'apport en métal dans le sol ne modifie pas de façon importante la CEC (elle représente 26 % de la CEC) par une saturation des sites de fixation mais aussi pour éviter de masquer des informations concernant la spéciation.

Deux méthodes de contamination sont réalisées :

- en appliquant la solution contenant les métaux à la surface du sol. 36 L de solution ont été appliqués sur 95 kg de sol, ce qui correspond à 90 % de la saturation en eau. L'ensemble (sol / solution) est homogénéisé par agitation, quotidiennement pendant une semaine, mis à maturer, à température ambiante (20 ± 2°C). Le sol est ensuite séché à l'air libre pendant une semaine.
- l'application de la solution bimétallique se fait par une humidification progressive du sol par capillarité. Pour cela, le sol est mis en contact avec la solution bimétallique (**Figure II.1**) et est ainsi maintenu, pendant 24 h à température ambiante, jusqu'à l'absorption complète de la solution. 96 kg de sol sont mis en contact avec 39 L de solution, cela correspond à une saturation totale en eau du sol. Le sol est alors placé dans un récipient hermétique ce qui permet de s'affranchir des variations de teneurs en eau, car ces modifications en un point donné peuvent entraîner des variations de la répartition du métal en ce point. Après maturation le sol est séché à l'air libre. Au cours de ces différentes étapes, aucune homogénéisation n'a été effectuée, ceci afin de limiter la déstructuration du sol, qui conduit après réhumidification à un sol plus compact. Ainsi, la manipulation du sol a été limitée au strict minimum. Après maturation, à température ambiante (20 ± 2°C), le sol est séché à l'air libre pendant une semaine.

La **maturation** (ou **vieillessement**) est une étape importante et nécessaire. En effet, des tests (biodisponibilité, écotoxicité) effectués juste après la contamination du sol peuvent être sur-estimés (Davies et al., 2003 ; Lock et Janssen, 2003 ; Lai et Chen, 2005).

Lors de la contamination d'un sol par des métaux, ceux-ci se répartissent entre la solution du sol et la phase solide. Ils entrent d'abord en contact avec la surface des phases constitutives du sol, puis, avec le temps, migrent à l'intérieur de celles-ci. La migration de ces éléments métalliques à travers le sol est donc fortement influencée par des mécanismes de sorption à l'interface solide-liquide. Au cours du temps, ces éléments sont amenés à diffuser dans les micropores ou à être incorporés dans des phases solides par co-précipitation (Ma et

al., 2006a, b). Il est donc possible d'observer des modifications dans la répartition des métaux, entre des fractions où ils sont facilement mobilisables jusqu'à des fractions où ils seront fortement liés (Lim et al, 2002 ; Arias-Estévez et al., 2007).

Par conséquent, il nous a semblé nécessaire de laisser vieillir (ou mûrir) le sol, cela pour se rapprocher d'une contamination "ancienne". Ainsi durant cette étape, nous suivrons l'évolution du métal dans les différentes phases du sol.

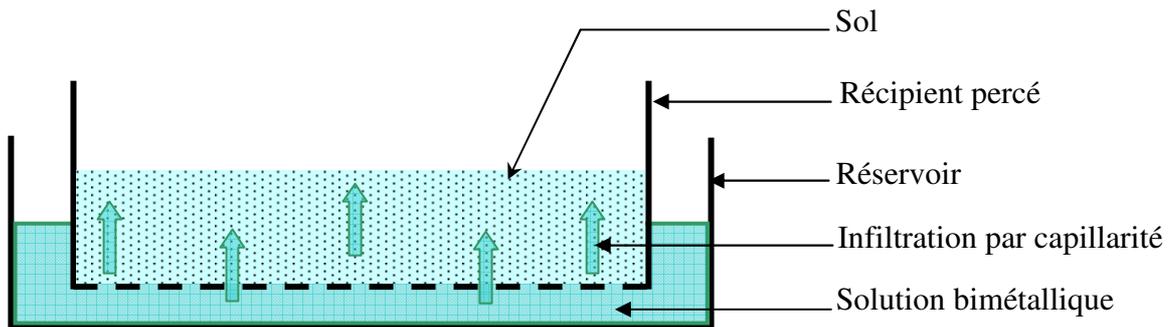


Figure II.1 : Mode de contamination du sol

II.1.2 Sol contaminé par l'activité industrielle

II.1.2.1 Echantillonnage

Le sol étudié a été prélevé en Auvergne, près de Clermont-Ferrand sur le site d'une fonderie d'alliages produisant des aciers spéciaux, des superalliages, des alliages d'aluminium et alliages de titane.

Les prélèvements ont été réalisés à proximité d'un stockage de battitures. Après élimination de la couche 0-5 cm contenant les battitures et la litière végétale, la couche 5-10 cm a été prélevée. Deux carottages ont été effectués de part et d'autre de cette zone à l'aide d'une tarière manuelle sur 60 cm (profil 1) et sur 55 cm (profil 2) de profondeur. Ces carottages ont été réalisés dans le but de vérifier si la contamination a bien une origine superficielle et non une origine géologique.

II.2 Matériels et protocoles expérimentaux

L'ensemble des expériences de laboratoire ont été réalisées à température ambiante : $20 \pm 2^\circ\text{C}$. Les solutions ont été préparées avec de l'eau ultra pure (EUP) produite par un système Millipore "Milli-Q Gard[®]", qui présente une résistivité de $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$ et une concentration en carbone organique inférieure à $10 \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$. Les réactifs utilisés sont de qualité analytique compatibles avec l'analyse des métaux traces. L'ensemble du matériel (verrerie, flacons en polyéthylène...) est systématiquement décontaminé au moyen d'acide nitrique à 10 % pendant 48 h puis rincé à l'EUP, afin d'éviter toute contamination. De plus, pour chaque expérimentation, l'ajout de blancs (réactifs sans échantillon de sol) a été systématique afin de vérifier l'absence de contamination.

II.2.1 Analyses physico-chimiques

II.2.1.1 pH_{eau} et pH_{KCl}

Les mesures de pH_{eau} et pH_{KCl} sont effectuées selon la norme ISO 10390. 10 g de sol sont mis en suspension dans 25 mL d'EUP (ou de chlorure de potassium, KCl à $1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), agités pendant 1h sur une table d'agitation de type orbital (IKA Labortechnik KS501 digital model - $150 \text{ tr}\cdot\text{mn}^{-1}$), puis laissés au repos pendant 2h. Le pH est ensuite mesuré à l'aide d'un pH-mètre de type CRISON GLP 22.

Le pH_{eau} mesure l'acidité réelle et prend en compte les ions H_3O^+ libres dans la solution du sol. Le pH_{KCl} mesure l'acidité potentielle qui prend en compte les ions H_3O^+ libres dans la solution du sol et ceux déplacés par le KCl.

II.2.1.2 Granulométrie

La granulométrie a été déterminée en suivant la norme NF X 31-107 (AFNOR, 2004) par le Laboratoire d'analyses des sols de l'INRA (Arras, 62). Cette norme permet une détermination de la distribution granulométrique en cinq fractions. Il s'agit des argiles (0 à $2 \mu\text{m}$), des limons fins (de 2 à $20 \mu\text{m}$), des limons grossiers (de 20 à $50 \mu\text{m}$), des sables fins (de 50 à $200 \mu\text{m}$) et des sables grossiers (de 200 à $2000 \mu\text{m}$).

II.2.1.3 Capacité d'échange cationique (CEC)

La CEC représente la quantité totale de cations échangeables que le sol peut adsorber. La CEC a été déterminée par la méthode au chlorure de cobalthexammine ($\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$) selon la norme NF X 31-130 (AFNOR, 2004). Le principe de cette méthode repose sur le fait que les ions cobalthexammine ($\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$) s'adsorbent à la surface du sol et déplacent ainsi les cations retenus par le sol. Pour cela, 5 g de sol sont mis en suspension dans 25 mL d'une solution de $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$ à $0,016 \text{ mol.L}^{-1}$, agités pendant 3 h, sur une table d'agitation de type orbital (IKA Labortechnik KS501 digital model - 150 tr.mn^{-1}), centrifugés (15 mn à $3000g$ - Bioblock Scientific de type Sigma 2-15), puis filtrés ($0,45 \mu\text{m}$, filtre en nitrate de cellulose - Sartorius). Les ions $\text{Co}(\text{NH}_3)_6^{3+}$ restés, en excès, dans la solution sont ensuite déterminés par colorimétrie à 470 nm, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible Varian Cary 50. La CEC est exprimée en $\text{m}\ddot{\text{e}}\text{q}/100 \text{ g}$ de sol.

II.2.1.4 Teneur en carbone organique

La teneur en carbone organique a été déterminée selon la norme ISO 14235. Il s'agit d'une oxydation du carbone organique du sol par le bichromate de potassium ($\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$) en excès, en milieu acide (H_2SO_4), et à chaud. Le chrome VI est réduit par le carbone organique en chrome III. Le Cr(VI) restant est ensuite dosé. Pour cela, 150 mg de sol sont mélangés à 5 mL d'une solution de bichromate de potassium à $0,27 \text{ mol.L}^{-1}$ et à 7,5 mL d'acide sulfurique concentré. Après centrifugation (10 mn à $3000g$ - Bioblock Scientific de type Sigma 2-15) et filtration ($0,45 \mu\text{m}$, filtre en nitrate de cellulose - Sartorius), le Cr(VI) est dosé à 580 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible Varian Cary 50. Le dosage se fait grâce à une courbe d'étalonnage établie à partir de glucose, qui subit le même protocole que le sol.

II.2.1.5 Teneur en azote total

La teneur en azote total a été déterminée selon la norme ISO 11261. Il s'agit d'une méthode Kjeldahl modifiée qui permet de doser l'azote sous ses formes ammonium, nitrate, nitrite et organique. Le sol est minéralisé en présence d'acide salicylique (25 g.L^{-1} dans H_2SO_4), de thiosulfate de sodium, d'un mélange catalytique ($\text{K}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} + \text{Se}$). Le minéralisat est distillé, puis le distillat récupéré est titré avec de l'acide sulfurique.

II.2.1.6 Teneur en phosphore soluble

La teneur en phosphore soluble a été déterminée selon la norme NF X31-161 (AFNOR, 2004) qui consiste en une extraction partielle du phosphore. 2 g de sol sont mis en suspension dans 50 mL d'une solution d'oxalate d'ammonium à $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, ajustée à $\text{pH} = 7$ à l'aide d'une solution d'ammoniaque à $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$. Le mélange est agité pendant 2 h, sur une table d'agitation de type orbital (IKA Labortechnik KS501 digital model - 150 tr.mn^{-1}), centrifugé (10 mn à $3000g$ - Bioblock Scientific de type Sigma 2-15) puis filtré ($0,45 \mu\text{m}$, filtre en nitrate de cellulose - Sartorius). Le dosage a été réalisé à l'aide d'un kit Dr Lange LCK 349.

II.2.1.7 Teneur en potassium échangeable

La teneur en potassium échangeable a été déterminée selon la norme NF X31-161 (AFNOR, 2004). 5 g de sol sont mis en suspension dans 100 mL d'une solution d'acétate d'ammonium à 1 mol.L^{-1} , ajustée à $\text{pH} = 7$ à l'aide d'acide acétique à 1 mol.L^{-1} ou d'ammoniaque à 1 mol.L^{-1} . Le mélange est agité pendant 1h, sur une table d'agitation, de type orbital (IKA Labortechnik KS501 digital model - 150 tr.mn^{-1}), centrifugé (10 mn à $3000g$ - Bioblock Scientific de type Sigma 2-15) puis filtré ($0,45 \mu\text{m}$, filtre en nitrate de cellulose - Sartorius). Le dosage a été réalisé par spectroscopie d'émission atomique flamme (spectrophotomètre Varian SpectrAA 220).

II.2.2 Analyses des métaux

II.2.2.1 Appareillages

La quantification des métaux en solution est réalisée par spectroscopie d'absorption atomique flamme (FAAS) ou four graphite (GFAAS).

En FAAS, les analyses sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre Varian SpectrAA 220 (correction du bruit de fond par lampe au Deutérium). La flamme produite est une flamme air / acétylène. Dans le cas de Cr, elle est réductrice et dans les autres cas, elle est oxydante. Pour les éléments Ca, Al, la flamme produite est une flamme protoxyde d'azote / acétylène. Du chlorure de lanthane, à 1 g.L^{-1} , est ajouté aux échantillons comme modificateur pour l'analyse des éléments Ca, Al, Mg.

En GFAAS, les analyses sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre Varian SpectrAA 880 Z (avec correction d'effet Zeeman).

II.2.2.2 Détermination des teneurs totales

La quantification de la teneur en métal "total" nécessite une mise en solution du sol. Deux protocoles ont été testés, l'un utilisant de l'acide fluorhydrique, l'autre utilisant de l'"eau régale inversée". Les teneurs en métaux obtenues sont similaires à 5 % d'erreurs près. Larner et al. (2006) ont également mis en évidence l'efficacité d'une minéralisation à l'eau régale. De plus, pour une étude purement environnementale, il n'est pas nécessaire de rechercher le métal fixé dans les réseaux primaires car ce n'est pas cette part de métal qui sera mobilisée dans l'environnement. Nous avons donc choisi le protocole utilisant de l'eau régale.

0,5 g de sol sont introduits dans des réacteurs en PolyTétra FluoroÉthylène (PTFE) avec 9 mL HNO₃ (69 %) et 3 mL HCl (37 %). La minéralisation est réalisée à l'aide d'un four micro-ondes Anton Paar - Multiwave 3000. La mise en solution se fait en suivant un programme en puissance : une montée à 1400 W en 5 mn, suivie d'un palier de 20 mn puis du refroidissement. Les minéralisats sont ensuite amenés à un volume final de 50 mL, avec de l'EUP. Les métaux sont analysés par FAAS.

II.2.2.3 Spéciation du chrome (VI)

La teneur en Cr(VI) a été déterminée selon la méthode MA. 200-CrHex 1.0 (Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec, 2003). L'extraction se fait en milieu très basique et à chaud (90°C).

Des interférences pouvant modifier la spéciation et donc modifier les résultats des dosages sont possibles. Au cours de l'extraction, il y a une mise en solution de la matière organique, qui peut alors réduire Cr(VI) en Cr(III). De même, la présence de Fe(II) peut entraîner une réduction de Cr(VI) en Cr(III). Ce mode d'extraction permet tout de même d'atteindre un rendement de 80%, en limitant les modifications de la spéciation du chrome extrait (James et al, 1995 ; Pettine et Capri, 2005). De plus, nous avons effectué des tests sur du chromate de plomb (PbCrO₄), du bichromate de potassium (K₂Cr₂O₇), du nitrate de chrome (Cr(NO₃)₃) en présence et en absence de sol. Ils ont permis de vérifier la conservation de la spéciation. On obtient un pourcentage de récupération de 85 ± 4%, et de 85 ± 3 %, respectivement pour PbCrO₄ et K₂Cr₂O₇ en présence de sol. En présence de Cr(NO₃)₃, la teneur en Cr(VI) mesurée n'est pas augmentée.

1 g de sol est introduit dans un Becher avec 40 mL d'une solution de NaOH (0,5 mol.L⁻¹) et de Na₂CO₃ (0,28 mol.L⁻¹). Le mélange est chauffé pendant 1h à 90°C. Après filtration lente (filtres Whatman n° 40), le filtrat est ramené à un pH compris entre 7 et 8.

Après une nouvelle filtration, 5 mL de filtrat sont mélangés à 4 mL de H_2SO_4 à 1 mol.L^{-1} , 800 μL d'EUP et 200 μL de 1,5-diphénylcarbazide (DPC) à 0,5 % (préparé dans de l'acétone). Un temps d'attente de 5 mn est nécessaire au développement de la couleur. En milieu acide, le Cr(VI) forme un complexe avec la DPC, qui présente une coloration rose-violet. L'intensité de la couleur formée est proportionnelle à la concentration en Cr(VI). L'analyse se fait ensuite par colorimétrie, le complexe formé est dosé à 540 nm. Le dosage se fait grâce à une courbe d'étalonnage établie à partir du bichromate de potassium (0,2 à 1 mg.L^{-1}). La teneur en Cr(III) est déterminée par simple différence entre Cr total et Cr(VI).

II.2.3 Evaluation de la mobilité et de la biodisponibilité des métaux

La teneur en métal total est l'un des premiers paramètres à déterminer, pour étudier le degré et l'ampleur de la contamination. Par ailleurs, une connaissance de la teneur en métal dans les différents compartiments constitutifs du sol est nécessaire pour évaluer la mobilité et la biodisponibilité des métaux.

Ainsi, nous avons utilisé l'extraction simple pour évaluer la biodisponibilité et les extractions séquentielles pour évaluer la mobilité.

II.2.3.1 Spéciation fonctionnelle - Extraction simple

Les métaux biodisponibles sont extraits suivant la norme ISO 14870.

La solution d'extraction est une solution mixte, de triéthanolamine à $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, de chlorure de calcium à $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$ et d'acide diéthylènetriamine pentaacétique (DTPA) à $0,005 \text{ mol.L}^{-1}$, ajustée à pH 7,3 avec HCl. 10 g de sol sont mis en suspension dans 20 mL de la solution d'extraction et agités pendant 2h, sur une table d'agitation, de type orbital (IKA Labortechnik KS501 digital model - 150 tr.mn^{-1}), puis centrifugés à 3000g (Bioblock Scientific de type Sigma 2-15). Après filtration ($0,45 \mu\text{m}$, filtre en nitrate de cellulose - Sartorius), l'analyse est faite en GFAAS.

II.2.3.2 Spéciation opérationnelle - Extractions séquentielles

Le protocole utilisé (**Tableau II.1**) est celui validé par le BCR et accéléré par ultrasons (Pérez-Cid et al., 1998).

L'extraction a été réalisée à l'aide d'une sonde à sonication de 60 W (Bandelin, modèle HD 70). La prise d'échantillon est de 0,5 g.

Tableau II.1 : Protocole des extractions séquentielles accélérées par ultrasons

Fractions	Réactifs utilisés	Temps et puissance de sonication
R1 : fraction échangeable	20 mL AcOH à 0,11 mol.L ⁻¹	7 mn à 20 W
R2 : fraction réductible	20 mL NH ₂ OH-HCl à 0,1 mol.L ⁻¹ (ajusté à pH = 2 avec HNO ₃)	7 mn à 20 W
R3 : fraction oxydable	10 mL H ₂ O ₂ (30 %) 25 mL AcONH ₄ à 1 mol.L ⁻¹ (ajusté à pH = 2 avec HNO ₃)	2 mn à 20 W 6 mn à 20 W
R4 : fraction résiduelle	9 mL de HNO ₃ (69 %) et 3 mL de HCl (37 %)	Digestion par micro-ondes

II.2.4 Analyse du solide - Identification de phases solides

Nous avons utilisé la diffraction des rayons X pour effectuer la recherche de phases solides.

La méthode consiste à bombarder l'échantillon avec un rayonnement monochromatique incident. Les cristaux dans l'échantillon diffractent le rayonnement et le détecteur enregistre les intensités des rayons diffractés en fonction de l'angle de déviation 2θ ("deux-thêta") du faisceau. Le diagramme de diffraction obtenu forme une signature des phases cristallines présentes.

L'analyse a été faite à l'aide d'un diffractomètre de type Debye-Sherrer équipé d'un détecteur courbe à localisation (INEL CPS 120°). Le rayonnement monochromatique incident de travail est $K_{\alpha 1(\text{Cu})}$ du cuivre ($\lambda = 1,54056 \text{ \AA}$). L'échantillon de sol finement broyé est étalé sur un porte-échantillon et placé au centre du détecteur pour une acquisition de 30 mn. Les phases sont ensuite identifiées par comparaison du diffractogramme obtenu avec ceux de la base de données JCPDS (Joint Committee Powder Diffraction Standard).

II.2.5 Mobilisation des métaux en présence de chélatants

Dans cette partie, nous abordons la mobilité des métaux en présence de complexants. Le but est de comparer l'efficacité de deux complexants facilement biodégradables, l'acide citrique et l'histidine (L-histidine) et un autre qui l'est moins, l'EDTA (Na₂-EDTA). Deux approches sont présentées : une en milieu statique et l'autre en milieu dynamique.

II.2.5.1 Etude en milieu statique : expériences en flacons

L'ensemble des expériences en flacons est réalisé à température ambiante ($20 \pm 2^\circ\text{C}$).

Le rapport solide:liquide utilisé est de 1:10 : 5 g de sol sont mis en suspension dans 50 mL de solution de complexant. Les suspensions de sol sont agitées sur une table d'agitation de type orbital (IKA Labortechnik KS501 digital model - 150 tr.mn^{-1}). L'ensemble des échantillons récupérés est filtré sur des filtres en nitrate de cellulose de $0,45 \mu\text{m}$ (Sartorius).

Trois réplicats sont effectués pour chaque point ou concentration.

II.2.5.1.1 Cinétique d'extraction

Nous avons, dans un premier temps, déterminé le temps au bout duquel le maximum de métal peut être extrait pour un complexant donné. Pour cela, chaque complexant a été utilisé à une concentration de $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$, sans ajustement de pH. Les variations de pH sont présentées dans le **Tableau II.2**.

Tableau II.2 : Variations de pH dans les suspensions de sol au cours des cinétiques d'extraction des métaux

Complexants	pH initial	pH final
Acide citrique	$3,2 \pm 0,1$	$5,2 \pm 0,2$
EDTA	$4,7 \pm 0,1$	$5,7 \pm 0,1$
Histidine	$7,2 \pm 0,2$	$7,9 \pm 0,2$

A des intervalles de temps réguliers, des échantillons sont prélevés, filtrés ($0,45 \mu\text{m}$, filtre en nitrate de cellulose - Sartorius) et analysés, jusqu'à atteindre une concentration en métal extrait qui n'augmente plus quelle que soit la durée du contact sol/solution.

II.2.5.1.2 Mobilisation des métaux

Nous avons, dans un deuxième temps, étudié l'effet des complexants sur la solubilisation des métaux. Afin de ne pas modifier de manière importante les propriétés du sol et de ne voir que l'effet complexant des réactifs, le pH des solutions complexantes est ajusté, avec HNO₃ ou NaOH, à celui du sol ($\text{pH}_{\text{eau}} = 6,3 \pm 0,2$). Au cours de l'expérience, l'évolution du pH est suivie. Les concentrations des solutions utilisées varient de 0,001 mol.L⁻¹ à 0,2 mol.L⁻¹.

Suite à cette expérience, le sol est récupéré, rincé avec 50 mL d'EUP et séché à l'air libre, afin de réaliser des extractions séquentielles dans le but de déterminer d'éventuelles variations dans la répartition des métaux dans les différentes fractions du sol.

II.2.5.2 Etude en milieu dynamique : expériences en colonnes

Les expériences en colonne ont pour objectif d'étudier les processus de lixiviation des métaux en présence d'un complexant, en tenant compte des paramètres hydrauliques du milieu. Ce système a l'avantage d'être plus proche des conditions réelles. En effet, au cours de l'écoulement, selon que l'on se trouve en tête ou en sortie de colonne, l'environnement physico-chimique de l'élément métallique subit des variations. Les inconvénients majeurs de ces expérimentations sont la difficulté de mettre en place des colonnes afin qu'elles soient reproductibles, sans création de chemins préférentiels.

II.2.5.2.1 Montage expérimental

La cellule de percolation est une colonne en polychlorure de vinyle (PVC) de 1,5 cm de diamètre et de 5 cm de long. Un filtre GF/D (porosité 2,7 μm - Whatman), en fibre de verre, est placé en entrée de colonne pour empêcher les pertes de particules. Une couche de fibres de verre puis un filtre GF/D et un filtre GF/A (porosité 1,6 μm - Whatman), en fibre de verre, sont placés en sortie de colonne (**Figure II.2**). L'ensemble fibres de verre et filtre GF/D permet de limiter le colmatage du filtre GF/A. Afin d'éviter que ceux-ci ne se déchirent, ils sont retenus sur des grilles perforées en PVC.

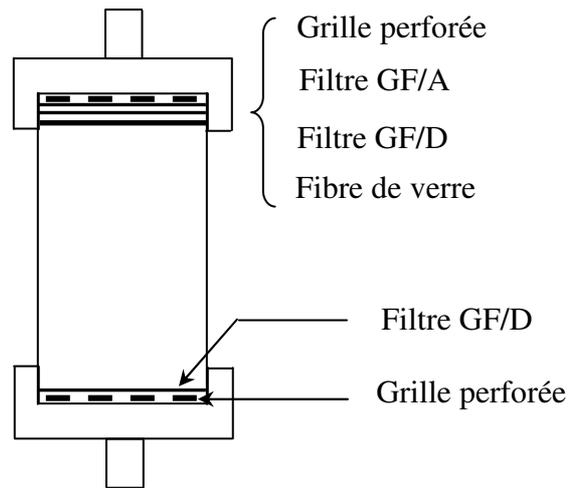


Figure II.2 : Présentation d'une colonne

Les colonnes sont orientées verticalement et l'alimentation se fait en mode ascendant à l'aide d'une pompe péristaltique (ISMATEC reglo) (**Figure II.3**). L'injection par le bas permet une diffusion régulière des solutions de percolation dans le sol et permet une meilleure élimination des gaz. Cela permet également de limiter la formation de chemins préférentiels.

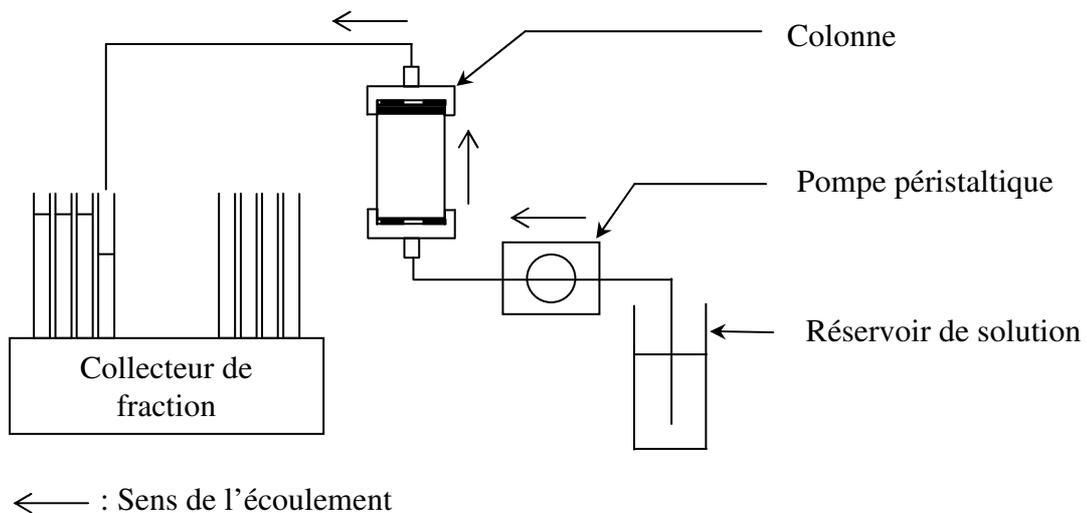


Figure II.3 : Dispositif expérimental

L'éluat est recueilli grâce à un collecteur de fractions automatique (Spectra/Chrom® CF-1 Fraction Collector) (**Figure II.3**). Le collecteur est programmé en fonction du temps, ce temps étant fonction du volume d'éluat souhaité dans chaque tube, soit 20 mL (3,3 volume de pore - V_p). La solution de percolation et l'éluat circulent dans des tubes capillaires en PTFE ou en Tygon®.

II.2.5.2.2 Préparation des colonnes de sol et caractéristiques hydrauliques

Toutes les colonnes de sol sont préparées en suivant la même démarche car la reproductibilité des résultats dépend de cette préparation. La procédure de remplissage de la colonne est inspirée de la méthode décrite par Martel et Gélinas (1996). Les colonnes sont remplies avec du sol sec. Le sol est compacté par couches de 3 à 4 mm et chaque couche est striée afin d'éviter une stratification du sol dans la colonne. La compaction est assurée par la chute, à une hauteur donnée, d'une masse.

La densité apparente (ρ) est le rapport de la masse de sol (m_s) sur le volume total de la colonne (V_T) :

$$\rho = \frac{m_s}{V_T} \quad \text{Eq. II.1}$$

La porosité (ε) constitue un indice du volume relatif des vides dans le sol. Elle représente le volume des pores (V_p) remplis d'air ou d'eau dans lesquels s'effectue l'écoulement, divisé par le volume total de sol (V_T). La porosité se détermine par différence de pesée du sol sec et du sol après saturation.

$$\varepsilon = \frac{V_p}{V_T} \quad \text{Eq. II.2}$$

II.2.5.2.3 Détermination d'un état stable

Avant toutes expérimentations, les colonnes de sol sont saturées avec de l'EUP jusqu'à atteindre un état stable. Pour établir cet état de stabilité, nous avons suivi la matière organique en sortie, en mesurant l'absorbance (UV-Visible Varian Cary 50) à 254 nm (longueur d'onde caractéristique des cycles aromatiques). Nous avons également suivi la conductivité et l'élution de différents éléments (Ca, Fe, Al, Mn, Mg, Zn, Cr, Ni). Cet état de stabilité est atteint lorsque les différents paramètres mesurés restent stables.

II.2.5.2.4 Etude de l'hydrodynamique de la colonne

Le débit appliqué peut avoir une influence sur le type de transport dans la colonne. Pour vérifier cela, nous avons effectué un traçage au même débit que celui utilisé lors des expérimentations (20 mL.h^{-1}). Le but du traceur est d'étudier les conditions d'écoulement et particulièrement de vérifier l'absence de volumes morts et de chemins préférentiels. La **Figure II.4** présente les différents types de courbes d'élution possibles après une injection en créneau.

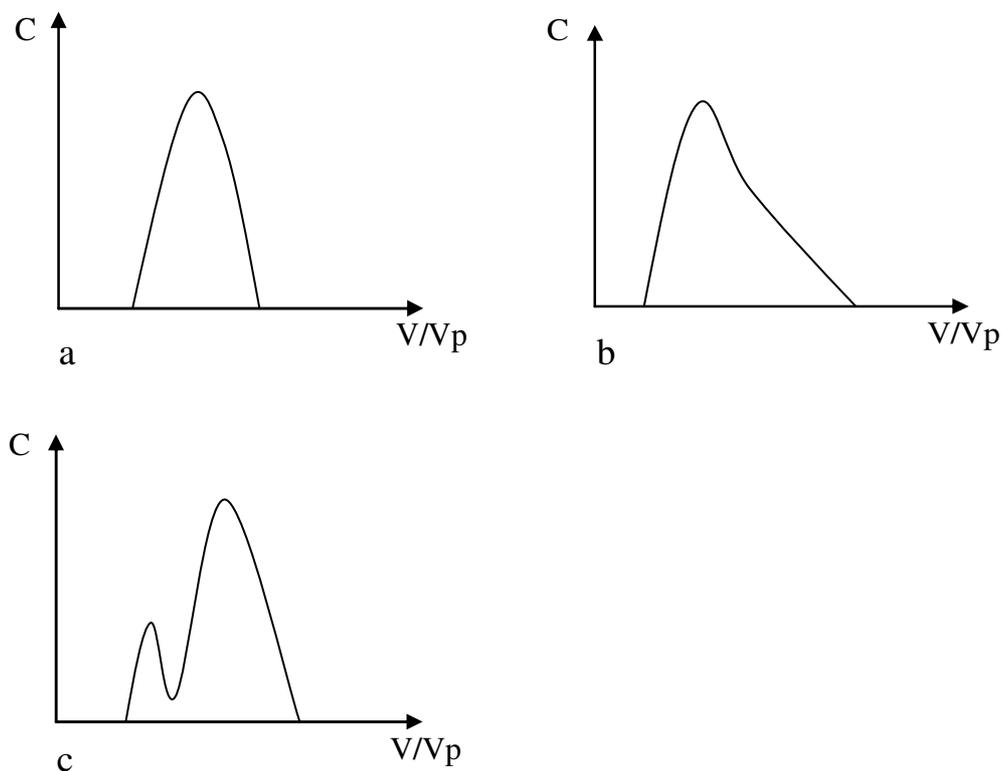


Figure II.4 : Différents types de courbe d'élution obtenus après une injection en créneau

a : courbe d'élution symétrique : l'écoulement se déroule dans un système homogène sans zones mortes, ni chemins préférentiels.

b : courbe d'élution asymétrique : l'écoulement se déroule dans un système qui présente des volumes morts.

c : courbe d'élution présentant deux pics : l'écoulement se déroule dans un système qui présente des chemins préférentiels.

Un traceur non réactif, c'est-à-dire qui ne réagit pas avec la matrice solide et qui n'est pas dégradé, a été utilisé. Il en existe deux grands groupes : les anioniques et les isotopiques ; le meilleur traceur en solution aqueuse étant l'eau tritiée. Les traceurs anioniques les plus souvent utilisés sont l'ion bromure (Br^-) et l'ion chlorure (Cl^-). Pour cette étude, nous avons choisi l'ion chlorure (KCl), dosé par la suite en chromatographie ionique.

Le traçage est effectué en faisant percoler une solution de KCl à $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$. Après stabilisation de la colonne, 1 Vp de la solution de KCl est injecté (injection créneau). Ensuite, le traceur est élué en faisant percoler 7 Vp d'EUP.

Les colonnes de sol présentent les caractéristiques suivantes (**Tableau II.3**).

Tableau II.3 : Caractéristiques d'une colonne de sol

Masse de sol (g)	Densité (g.cm^{-3})	Volume de pore (Vp) (mL)	Débit moyen (mL.h^{-1})	Vitesse de pore (cm.mn^{-1})
$12,7 \pm 0,7$	$1,43 \pm 0,08$	$5,7 \pm 0,3$	$18,2 \pm 0,2$	$0,27 \pm 0,02$

La courbe d'éluion obtenue présente la distribution des temps de séjour (**Figure II.5**). La courbe est symétrique et de type gaussien. De plus, la totalité du KCl injectée est éluée (le bilan massique est de 0,98). Par conséquent, l'écoulement à l'intérieur de la colonne se fait avec peu de zones mortes et de chemins préférentiels.

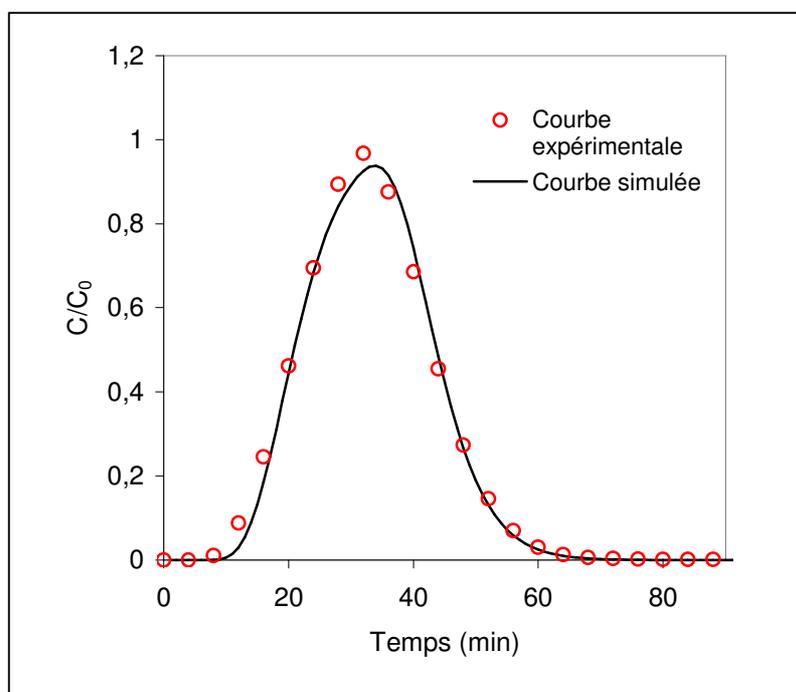


Figure II.5 : Simulation de l'écoulement à travers une colonne de sol

Nous avons également simulé l'écoulement à travers la colonne de sol en utilisant la solution analytique de l'équation de transport en milieu poreux (code de calcul Solute, Banton et Bangoy, 1997). Le calage du modèle avec les points expérimentaux (**Figure II.5**) permet alors de déterminer la vitesse dynamique au sein de la colonne et le coefficient de dispersion. Les paramètres ainsi déterminés sont présentés dans le **Tableau II.4**.

Tableau II.4 : Paramètres déterminés après simulation

Vitesse dynamique (cm.mn^{-1})	Coefficient de dispersion	Facteur retard
0,24	0,22	1

Le facteur retard de 1 nous confirme que l'on est bien en présence d'un traceur non réactif. La vitesse de pore ($0,27 \text{ cm.mn}^{-1}$) est légèrement supérieure à la vitesse dynamique. En effet, cette vitesse dynamique représente la vitesse réelle à l'intérieur de la colonne. Elle prend en compte le déplacement de la solution à travers des pores de dimensions variables.

L'écoulement à l'intérieur de la colonne se fait sans zones mortes et sans chemins préférentiels à **une vitesse de $0,24 \text{ cm.mn}^{-1}$** .

II.2.5.2.5 Mobilisation des métaux

Une fois l'état stable atteint, les solutions de complexants sont injectées. Le pH des solutions est fixé au pH_{eau} du sol (6,3).

Une première expérience consiste à injecter en continu la solution complexante et à déterminer les quantités de métal remobilisées.

Une deuxième expérience consiste à effectuer plusieurs injections de la solution complexante, chaque injection étant séparée par l'élution d'EUP. La quantité d'EUP injectée correspond à la pluviométrie mensuelle moyenne de la région Limousin, soit 80 mm.m^{-2} (www.meteociel.fr).

II.2.6 Phytoextraction

II.2.6.1 Présentation de *Datura innoxia*

Datura est une plante herbacée pérenne appartenant à la famille des *Solanaceae* (comme la pomme de terre ou le tabac), originaire du Mexique et du sud-ouest des Etats-Unis. Elle est largement présente dans les régions chaudes de la terre (Drake et al., 1996). Il existe différentes espèces de *Datura* (*Datura metel*, *Datura innoxia*, *Datura sanguinea*, *Datura tatula*). Elles sont généralement cultivées pour la production de métabolites secondaires, car les feuilles de *Datura* sont une source importante d'alcaloïdes (hyoscyamine / atropine et scopolamine). Ces molécules trouvent une application dans le domaine pharmaceutique et médical, car elles ont la capacité de supprimer l'activité du système nerveux parasympathique et sont des antidotes aux inhibiteurs de la cholinestérase.



a



b

Figure II.6 : *Datura innoxia*

Datura innoxia (**Figure II.6**) est capable de se développer en présence d'éléments métalliques (Lin et Rayson, 1998 ; Lin et al., 2002 ; Bhattacharjee et al., 2004 ; Ghosh et Singh, 2005 a, b). Elle est communément retrouvée sur les talus de mines abandonnées, ce qui démontre encore sa tolérance aux métaux. De plus, différentes études menées au sein du Laboratoire de Physiologie et Biotechnologie Végétales, à Aurillac, ont montré que *Datura*

innoxia est tolérante au zinc, au nickel et au chrome. En effet, Vaillant et al. (2005) ont montré qu'il faut 5 mmol.L⁻¹ de Zn (ZnSO₄), dans une solution nutritive pour inhiber 43 % de la photosynthèse. *Datura innoxia* tolère jusqu'à 2,4 mmol.L⁻¹ de Ni présent dans une solution nutritive (Silvent, 2003). De plus, elle est capable d'accumuler jusqu'à 10 mg.kg⁻¹ de Cr dans ses feuilles sans présenter de signes de toxicité (Vernay et al., 2007).

Datura montre des capacités à accumuler des métaux tout en développant une forte biomasse. Elle a donc été choisie comme **modèle d'étude de plante tolérante et accumulatrice** des métaux.

II.2.6.2 Protocole de culture

Datura innoxia a été cultivée en serre, sous lumière naturelle (de janvier à avril), les graines utilisées provenant du Jardin Botanique de Montpellier. Des plantules sont transférées sur perlite. Il s'agit d'un silicate d'aluminium, largement utilisé en horticulture, qui assure une aération et une humidité optimale. Pendant cette phase de croissance, les plantes sont arrosées avec une solution nutritive (**Tableau II.5**).

Tableau II.5 : Composition (dans la solution finale) de la solution nutritive (Coïc et Lessaint, 1973)

Composition	Concentration	
	g.L ⁻¹	mmol.L ⁻¹
Ca(NO ₃), 4H ₂ O	0,4	2,29
KNO ₃	0,4	3,96
FeNaEDTA	0,05	0,13
K ₂ HPO ₄	6,45 x 10 ⁻³	0,037
NaCl	0,02	0,34
KH ₂ PO ₄	0,1	0,74
MgSO ₄	0,2	1,66
NH ₄ NO ₃	0,2	2,50
MnSO ₄ , 1H ₂ O	1,69 x 10 ⁻³	0,01
CuSO ₄ , 5H ₂ O	2,4 x 10 ⁻⁴	0,96 x 10 ⁻³
ZnSO ₄ , 7H ₂ O	3,3 x 10 ⁻⁴	1,15 x 10 ⁻³
H ₃ BO ₃	1,86 x 10 ⁻³	0,03
Mo ₇ O ₂₄ (NH ₄) ₆	3,4 x 10 ⁻⁵	0,029 x 10 ⁻³

Au stade fleur, ce qui correspond à 3 mois de croissance sur perlite, les plantes sont transférées sur le sol étudié. Chaque pot contient 1,5 kg de sol sec (une plante par pot). Un groupe témoin est transféré sur un terreau d'origine commerciale. Il présente un pH_{eau} de 6,5 et un rapport N/P/K de 14/14/14. Les teneurs totales en différents éléments ainsi que les teneurs extraites par le DTPA (méthode ISO 14 870) sont présentées dans le **Tableau II.6**.

Tableau II.6 : Teneurs totales en différents éléments et teneurs extraites par le DTPA dans le terreau commercial utilisé

Eléments		Teneurs totales	Biodisponibilité (mg.kg ⁻¹)
Al	g.kg ⁻¹	10,0 ± 0,7	0,8 ± 0,1
Fe		6,7 ± 0,4	118 ± 6
Mg		3,3 ± 0,1	239 ± 13
Ca		615 ± 78	-
Mn	mg.kg ⁻¹	266 ± 10	54 ± 3
Zn		71 ± 5	26 ± 2
Cu		16,5 ± 0,5	1,7 ± 0,2
Pb		3,3 ± 0,5	0,71 ± 0,04
Co		2,6 ± 0,5	0,19 ± 0,01
Cr / Cr(VI)		10,6 ± 0,5 / <LD	0,0116 ± 0,0001 / ND
Ni		4,6 ± 0,7	0,47 ± 0,03

Le terreau présente une forte teneur en Ca. Les teneurs en Al, Fe, Mg sont moyennes, tandis que Mn présente une faible teneur (**Tableau II.6**). Les teneurs des autres éléments (Zn, Cu, Pb, Co, Cr et Ni) se trouvent dans la gamme des valeurs couramment observées dans les sols non contaminés (cf. **Chap. I, Tableau I.1**).

Les résultats des extractions au DTPA (**Tableau II.6**) montrent que les divers éléments sont faiblement biodisponibles. Fe, Mg, Mn, Zn, Cu, Pb, Co et Ni, extraits à quelques pourcent, sont les éléments les plus biodisponibles. Les autres éléments, Al, Cr présentent une part biodisponible inférieure à 1 %.

➤ **Mode d'application des complexants sur les sols**

Deux complexants ont été utilisés : l'acide citrique et l'EDTA (Na₂-EDTA). Ils sont appliqués sous forme de solution à la surface du sol. Le pH des solutions est ajusté au pH du sol, avec une solution de NaOH, de manière à pouvoir observer uniquement l'effet complexant des molécules. Les concentrations des solutions de complexants sont 2,5 ; 12,5 et 25 mmol.L⁻¹, ce qui correspond à des concentrations en complexants dans le sol de 1 ; 5 et 10 mmol.kg⁻¹ de sol. Dans chaque cas, 4 réplicats sont effectués.

Les solutions de complexants sont appliquées selon deux modes :

- une seule application de 1 ; 5 et 10 mmol.kg⁻¹ d'acide citrique ou d'EDTA au moment du transfert sur le sol,
- deux applications de 1 ; 5 et 10 mmol.kg⁻¹ d'acide citrique ou d'EDTA, la première au moment du transfert sur le sol et la deuxième après 7 jours de culture.

Le volume de solution ajouté est fonction de la capacité de rétention en eau du sol et du besoin en eau de la plante pour une bonne reprise sans stress hydrique. Lors du premier ajout, 600 mL de solution sont apportés lors du transfert sur sol. Le volume de solution, lors du deuxième ajout est fonction de la perte en eau par évaporation ou évapotranspiration. Durant les 15 jours de culture toutes les plantes sont arrosées avec de l'EUP. La quantité d'eau à ajouter est déterminée après pesée de l'ensemble pot + sol + plante.

Toutes les plantes sont récoltées après 15 jours de culture (sur sol et sur terreau). La partie racinaire est séparée de la partie aérienne en sectionnant la plante au niveau du bulbe racinaire. La partie aérienne est séparée en tiges et feuilles. Le matériel végétal est séché à l'air libre puis broyé au mortier (porcelaine).

II.2.6.3 Détermination des teneurs en métaux

La teneur en métal dans les différentes parties de la plante (racine, tige, feuille) est déterminée après digestion acide par micro-ondes (Multiwave 3000, Anton Paar). On introduit dans les réacteurs en PTFE 100 mg de matériel végétal sec et 5 mL de HNO₃ à 69%. La mise en solution se fait en suivant un programme en température : une montée à 200°C en 20 mn, suivie d'un palier de 10 mn avant le refroidissement. Les minéralisats sont ensuite ramenés à un volume final de 25 mL, avec de l'EUP. Les métaux sont analysés par GFAAS. Ce protocole a été validé à l'aide d'un matériau de référence certifié (NCS Certified Reference Material, poplar leaves, DC 73350) (**Annexe 1**).

Une étude statistique a été réalisée en effectuant le test non-paramétrique de Mann et Whitney (P < 0,05).

CHAPITRE III :
INTERACTIONS SOL-MÉTAL

III INTERACTIONS SOL-MÉTAL

III.1 Caractérisation des sols étudiés

Dans cette partie sont présentées, les caractéristiques physico-chimiques du sol modèle d'une part et celles du sol contaminé par l'activité industrielle d'autre part. Concernant le sol modèle, il y a eu tout d'abord une étape de contamination suivie d'une étape de maturation au cours de laquelle la biodisponibilité ainsi que la répartition des métaux ont été suivies.

III.1.1 Caractérisation du sol modèle

III.1.1.1 Propriétés physico-chimiques et détermination des teneurs en éléments métalliques

III.1.1.1.1 Propriétés physico-chimiques

La caractérisation physico-chimique a été effectuée sur l'échantillon de sol pré-traité en suivant les protocoles normalisés décrits dans le **Chap. II, § II.2**. Des analyses supplémentaires ont également été réalisées par le Laboratoire d'analyses des sols de l'INRA (Arras, 62) : la granulométrie et la teneur en Si. L'ensemble de ces résultats est présenté dans le **Tableau III.1**.

Les résultats de granulométrie mettent en évidence que l'échantillon de sol est principalement composé de sables. Si l'on se réfère à un diagramme de texture (Baize, 2000), il est classé sable argileux.

Il présente un pH peu acide (Baize, 2000), une teneur en carbone organique et une CEC faible. La CEC représente la quantité de cations que peut retenir le complexe adsorbant d'un sol. La matière organique étant impliquée dans l'échange de cations, la CEC est d'autant plus faible que la teneur en CO est faible.

Tableau III.1 : Propriétés physico-chimiques de l'échantillon de sol modèle non contaminé

Paramètres	Unités	Sol non contaminé
Argile (< 2 µm)	g.kg ⁻¹	178
Limon fin (2/20 µm)		157
Limon grossier (20/50 µm)		83
Sable fin (50/200 µm)		231
Sable grossier (200/2000 µm)		351
pH _{eau}	-	5,5 ± 0,1
pH _{KCl}		4,0 ± 0,1
CEC	méq/100g	6,7 ± 0,2
Carbone organique (CO)	g.kg ⁻¹	9,0 ± 0,7
N total		2,47 ± 0,09
K soluble		0,271 ± 0,003
P soluble	mg.kg ⁻¹	1,10 ± 0,05
Si	g.kg ⁻¹	24,9

III.1.1.1.2 Teneurs totales en métal

Tableau III.2 : Teneurs en éléments métalliques

Eléments	Unités	Sol non contaminé
Al	g.kg ⁻¹	36,6 ± 7
Fe		32 ± 1
Mg		5,6 ± 0,5
Ca		0,9 ± 0,1
Mn		0,9 ± 0,1
Zn	mg.kg ⁻¹	69 ± 5
Cu		17 ± 4
Pb		3 ± 1
Co		10 ± 3
Cr / Cr(VI)		19 ± 1 / < LD
Ni		13 ± 1

Les teneurs en éléments métalliques (**Tableau III.2**) sont déterminées par absorption atomique après minéralisation dans l'eau régale, par micro-ondes (cf. **Chap. II, § II.2.2**).

Le sol non contaminé présente de fortes teneurs en éléments majeurs, Al et Fe et une faible teneur en Mn (**Tableau III.2**). Cela permet de prévoir la présence des oxydes correspondant à ces éléments dans l'échantillon de sol.

Les teneurs des autres éléments métalliques (Zn, Cu, Pb, Co, Cr et Ni) se trouvent dans la gamme des valeurs couramment observées dans les sols non contaminés (cf. **Chap. I, Tableau I.1**).

Nous vérifions ainsi que, conformément aux raisons du choix du site de prélèvement, cet échantillon de sol n'a pas été contaminé par des apports anthropiques.

III.1.1.2 Optimisation des conditions de contamination

La teneur en Cr et en Ni, après l'application de la solution bimétallique de Cr(III) et de Ni(II) (cf. **Chap. II, § II.1.1.2**), est $117 \pm 1 \text{ mg.kg}^{-1}$ et $369 \pm 12 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectivement.

III.1.1.2.1 Evolution de la biodisponibilité

La biodisponibilité a été évaluée en suivant la norme ISO 14870 (cf. **Chap. I, § I.4** et **Chap. II, § II.2.3**).

La **Figure III.1** présente l'évolution de la biodisponibilité de Cr et Ni au cours du temps. Nous pouvons observer que le chrome et le nickel deviennent de moins en moins biodisponibles au cours du temps. Entre 0 et 3 mois, le pourcentage de Cr diminue de $0,56 \pm 0,02 \%$ à $0,38 \pm 0,01\%$. Dans le cas de Ni, le pourcentage diminue, entre 0 et 2 mois, de $70 \pm 1 \%$ à $27,2 \pm 0,1 \%$. L'évolution se fait essentiellement au cours des deux premiers mois, au delà, les deux éléments présentent une biodisponibilité constante. Toutefois, la biodisponibilité de Ni reste beaucoup plus importante que celle de Cr.

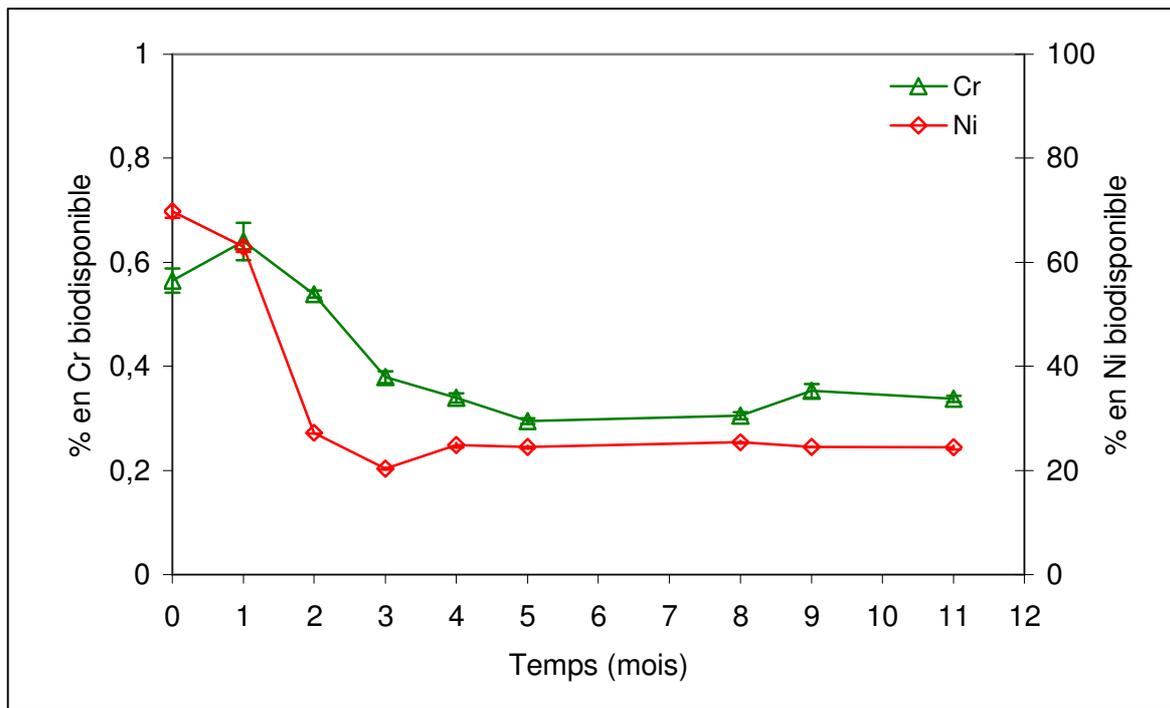


Figure III.1 : Evolution de la biodisponibilité en fonction du temps

III.1.1.2.2 Evolution de la répartition du chrome et du nickel

Les extractions séquentielles ont été effectuées en suivant le protocole validé par le BCR (cf. **Chap. I**, § I.4 et **Chap. II**, § II.2.3). Les quantités de métaux présents dans chaque fraction sont exprimées en pourcentages par rapport au métal total contenu dans l'échantillon de sol. Les taux de recouvrement classiquement trouvés varient entre 80 et 120 % (Whalley et Grant, 1994 ; Davidson et al., 1998).

Les **Figure III.2** et **Figure III.3** présentent l'évolution de la répartition du chrome et du nickel dans les différentes fractions du sol.

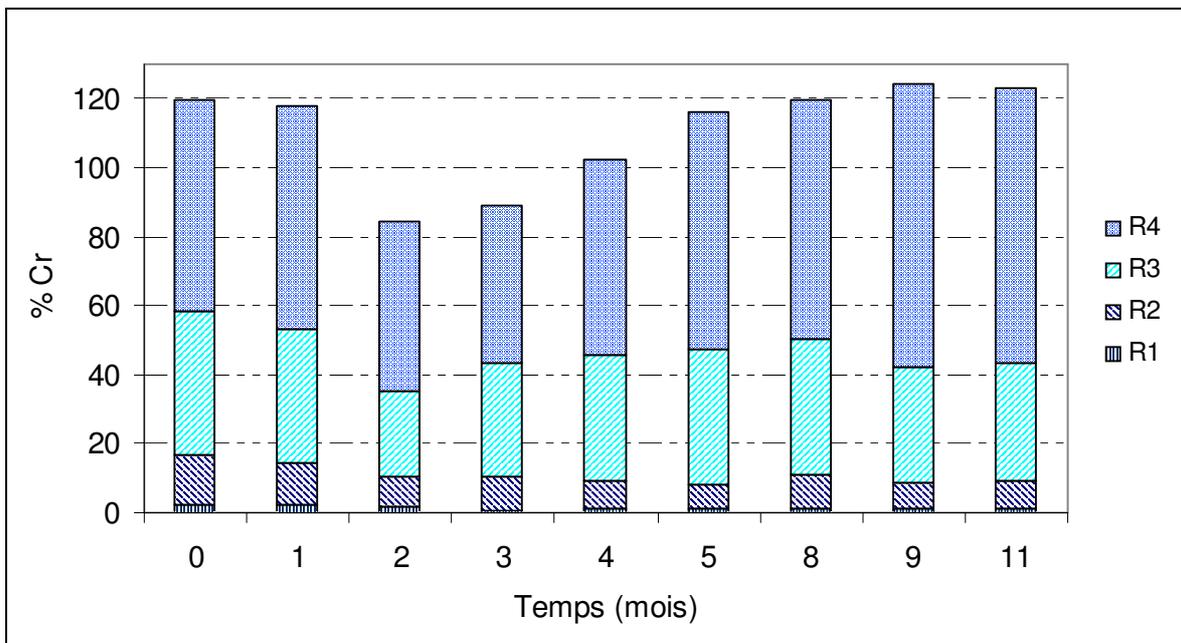


Figure III.2 : Evolution de la répartition de Cr en fonction du temps
 R1 : fraction échangeable, R2 : fraction réductible, R3 : fraction oxydable, R4 : fraction résiduelle

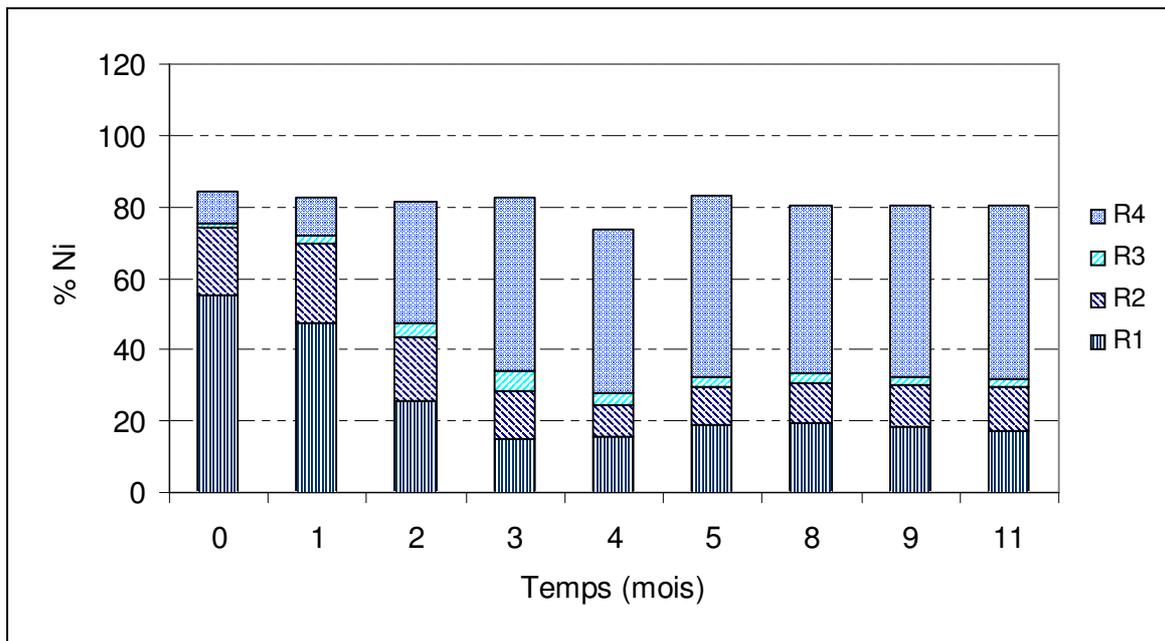


Figure III.3 : Evolution de la répartition de Ni en fonction du temps
 R1 : fraction échangeable, R2 : fraction réductible, R3 : fraction oxydable, R4 : fraction résiduelle

Au cours du vieillissement, l'évolution de Cr est très faible (**Figure III.2**). Dès la contamination, il se trouve principalement dans la phase dite résiduelle (R4). Durant les trois premiers mois, les teneurs en Cr dans R1, R2 et R3 diminuent au profit de R4.

Au cours du vieillissement, l'évolution de Ni est plus importante que celle de Cr (**Figure III.3**), tout en suivant la même tendance. Ni passe progressivement des phases facilement mobilisables (R1, R2, R3) vers la phase dite résiduelle (R4). Les fractions R1 et R2 diminuent tandis que les fractions R3 et R4 augmentent. De 0 à 2 mois, R1 passe de $55 \pm 0,7 \%$ à $25,8 \pm 0,8 \%$ tandis que R2 et R3 restent stables. Après 2 mois, la teneur en Ni se stabilise dans les différentes fractions. Ni est alors présent dans la phase résiduelle à 50 % contre 35% dans les trois premières phases.

De même, Arias-Estévez et al. (2007) ont étudié, de 1 à 500 jours, la contamination d'un sol agricole peu acide par du cuivre - $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$. Le sol a été maintenu à $15 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, l'humidité étant équivalente à la capacité au champ. Ils ont mis en évidence la migration du cuivre vers la fraction dite résiduelle, au cours du vieillissement de l'échantillon artificiellement contaminé.

III.1.1.2.3 Analyse minéralogique

La **Figure III.4** présente les diagrammes de diffraction des rayons X du sol modèle après différents temps de maturation.

Les diagrammes de diffraction des rayons X (**Figure III.4**) mettent en évidence la présence de quartz, de feldspaths, d'oxyde de fer de type ferrihydrite et de phases argileuses : chlorite, interstratifié illite-smectite, kaolinite et micas. Quelques variations minéralogiques sont observées au cours du vieillissement (par exemple T3) et sont attribuées à l'hétérogénéité de l'échantillon. Ces phases sont des pyroxènes et/ou des amphiboles et ne peuvent pas provenir de la précipitation des métaux ou du vieillissement du sol avec le temps.

Par conséquent, nous pouvons dire que l'apparition de ces pics correspond probablement à l'incorporation des éléments chrome et nickel dans certaines phases du sol et à leur migration dans ces phases.

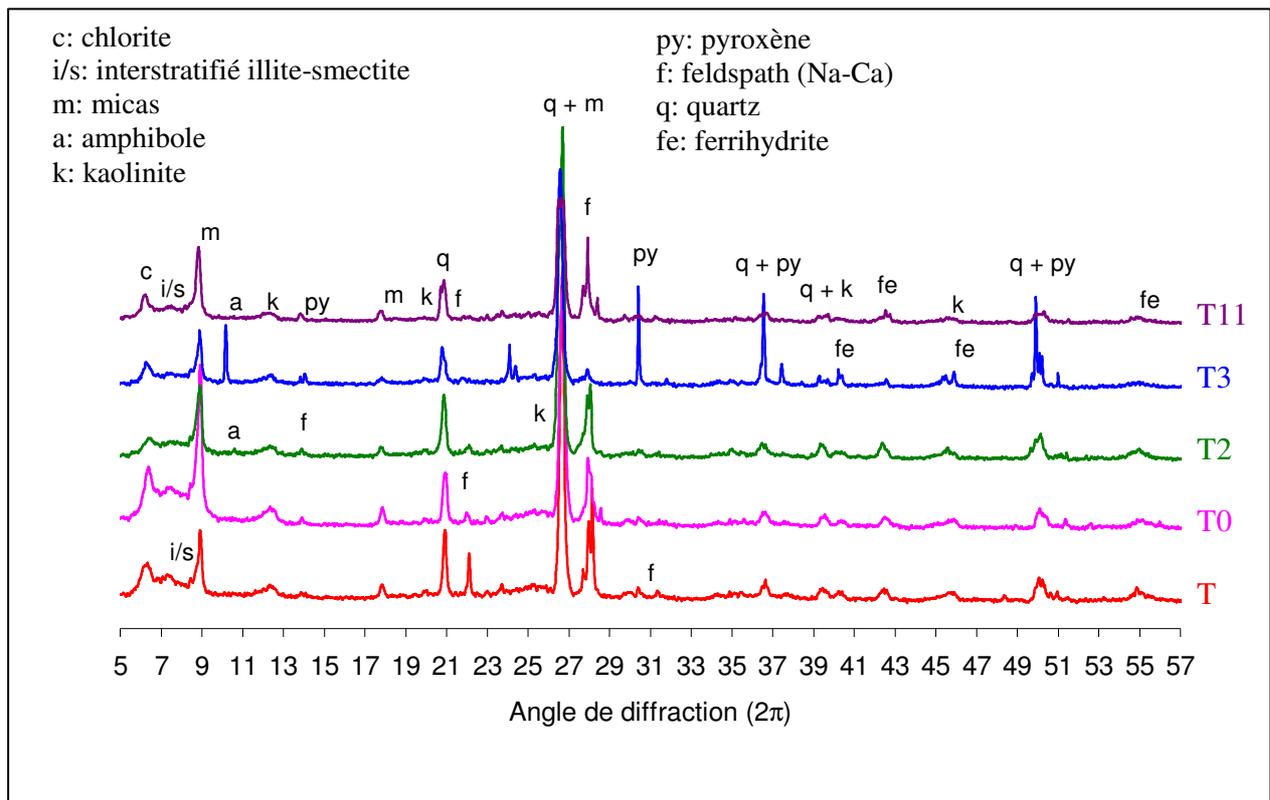


Figure III.4 : Diagramme de diffraction des rayons X sur poudre obtenu pour l'échantillon de sol (<2 mm) non contaminé (T) et pour des échantillons de sol contaminés à différents temps de vieillissement (T0, T2 = 2 mois, T3 = 3mois, T11 = 11 mois)

Afin de déterminer les fractions dans lesquelles se sont réparti le chrome et le nickel, nous avons effectué une séparation granulométrique (**Annexe 2**) et dans chaque fraction, nous avons déterminé la part de chrome et de nickel accumulée. Cette concentration en métal a été ramenée au fractionnement granulométrique présenté dans le **Tableau III.1**.

Tableau III.3 : Concentration en métal ramenée au fractionnement granulométrique pour l'échantillon de sol non contaminé (T) et pour des échantillons de sol contaminés à différents temps de vieillissement (T0, T2 = 2 mois, T3 = 3mois, T11 = 11 mois)

		T	T0	T2	T3	T11
< 2 µm	Cr (mg.kg ⁻¹)	19	111	74	92	79
2 à 50 µm		11	68	65	68	71
50 à 2 mm		8	44	33	36	33
< 2 µm	Ni (mg.kg ⁻¹)	12	400	153	175	166
2 à 50 µm		10	132	160	157	146
50 à 2 mm		5	98	111	100	122

Nous pouvons constater que la fraction la plus concentrée en Cr ou Ni est la fraction < 2 μm (**Tableau III.3**). Cette fraction est par définition constituée essentiellement d'argiles (chlorite, interstratifiés illite/smectite, illite et kaolinite). Les phases argileuses sont formées par la superposition de feuillets octaédriques et tétraédriques. Un espace interfoliaire pouvant accepter des cations est présent entre chaque feuillet des minéraux 2:1 de type smectite, illite ou interstratifiés illite/smectite (cf. **Chap. I, § I.3.1.3**). Les phyllosilicates possèdent également des charges produites par des liaisons interrompues (silanols et/ou aluminols), situées sur les bordures et les surfaces basales. Les éléments chrome et nickel ont ainsi la possibilité de s'intercaler entre ces feuillets, ou bien de se fixer sur les surfaces. De plus, de par leur petite taille (< 2 μm), les phases argileuses présentent une importante surface spécifique et par conséquent une forte réactivité, d'où la fixation importante sur ces minéraux. De plus, comme les argiles, les oxydes présentent une forte réactivité vis-à-vis des métaux (cf. **Chap. I, § I.3.1.1**). Leur présence dans ces fractions fines expliquerait également la concentration du chrome et du nickel dans cette fraction. En ce qui concerne la répartition des métaux entre les fractions, aucune évolution n'est observée au cours de temps. Il apparaît alors que les métaux incorporent directement les fractions les plus réactives.

Ainsi, nous avons observé une diminution de la biodisponibilité du chrome et du nickel au cours du temps. Cette baisse de biodisponibilité est due à la migration des métaux des fractions échangeables vers des fractions de moins en moins mobilisables. Cette évolution se fait majoritairement durant les trois premiers mois, notamment pour le nickel. Le fractionnement granulométrique a montré une plus forte réactivité des fractions les plus fines dans lesquelles se concentrent les métaux. Cette répartition n'évolue pas durant la phase de maturation du sol. De même les analyses en diffraction X n'ont pas mis en évidence la formation de nouvelles phases cristallisées au cours de la maturation.

La phase d'optimisation de la contamination pour la culture des plantes et les expériences de mobilisation confirme que le chrome et le nickel présentent des différences en terme de biodisponibilité et de répartition géochimique. En effet, le nickel présente une biodisponibilité plus importante que le chrome. Le chrome est fortement lié au sol et donc peu mobile tandis que le nickel est essentiellement présent dans les fractions mobilisables. Par conséquent, le chrome présente une part mobilisable qui peut être libérée suite à des modifications des conditions physico-chimiques tandis que le nickel est fortement mobile et présente alors un risque immédiat plus grand.

III.1.1.3 Contamination du sol destiné aux cultures et aux expériences de mobilisation

III.1.1.3.1 Choix de la teneur en chrome et en nickel à appliquer

Diverses concentrations en chrome et en nickel ont été testées sur la croissance de *Datura innoxia*, en se basant sur des seuils de toxicité déterminés en hydroponie, au Laboratoire de Physiologie et Biotechnologies Végétales d'Aurillac. Les travaux effectués ont montré que *Datura innoxia* ne présente une diminution de la biomasse qu'à partir de 0,2 mmol.L⁻¹ de Cr(III) et 1,2 mmol.L⁻¹ de Ni, dans le milieu nutritif.

Comme nous l'avons vu (cf. § III.1.1.2), le chrome présente dans le sol, après contamination et maturation, une faible biodisponibilité tandis que le nickel présente une biodisponibilité plus élevée. Par conséquent, la teneur en Cr appliquée a été fixée à 90 mg.kg⁻¹, afin d'avoir une valeur proche de celle du sol contaminé par l'activité industrielle. Pour le nickel, différentes concentrations ont été testées (**Tableau III.4**). Nous avons cherché à établir dans les pots, par une extraction au DTPA, une biodisponibilité allant de 0,2 à 1 mmol.L⁻¹.

Tableau III.4 : Teneurs et biodisponibilité de Ni dans le sol contaminé et comportement correspondant de *Datura innoxia*

Teneur en Ni (mg.kg ⁻¹)	Biodisponibilité (%)	Biodisponibilité (mmol.L ⁻¹)	Développement des plantes
149 ± 3	75,6 ± 0,7	0,974 ± 0,005	Mortes
109 ± 3	76,7 ± 0,5	0,701 ± 0,008	Mortes
77 ± 9	66,5 ± 0,5	0,445 ± 0,007	1 morte, 1 quasi sèche, 2 très stressées
69 ± 4	77,6 ± 0,9	0,445 ± 0,004	Pas de signes apparents de stress
57 ± 2	69,9 ± 0,6	0,338 ± 0,005	Pas de signes apparents de stress
38 ± 1	64,5 ± 0,6	0,211 ± 0,002	Pas de signes apparents de stress

L'application de la solution bimétallique se fait par une humidification progressive du sol par capillarité, comme décrit dans le **Chap. II, § II.1.1.2**. L'ensemble a été mis à maturer pendant trois semaines. En effet, l'essentiel de l'évolution se fait durant ces trois semaines (cf. § **III.1.1.2**). De plus, cela permet de surestimer les risques pour les plantes. Le sol a ensuite été séché à l'air libre pendant une semaine.

Des plantules de *Datura innoxia*, au stade huit feuilles, ont été transférées sur le sol contaminé. Pour chaque concentration, deux réplicats ont été effectués, un réplicat étant constitué de deux plantes par pot. Leur développement a été suivi pendant huit semaines. Au bout de ces huit semaines, certaines plantes sont mortes et d'autres ont montré des signes de stress (**Tableau III.4**). En effet, les teneurs en Ni de 149 mg.kg^{-1} et de 109 mg.kg^{-1} entraînent la mort de toutes les plantes. Une teneur en Ni de 77 mg.kg^{-1} entraîne un stress important ou la mort des plantes. A partir de 69 mg.kg^{-1} , les plantes présentent un développement normal. La biodisponibilité correspondante ($0,445 \text{ mmol.L}^{-1}$) est inférieure à la valeur seuil déterminée en hydroponie. Cela met en évidence la diminution de la biodisponibilité de Ni en présence du sol.

Dans le cas de Cr, quelle que soit la concentration appliquée, la biodisponibilité est de $0,09 \pm 0,01 \text{ } \mu\text{mol.L}^{-1}$.

Par conséquent, pour réaliser les expériences de culture de *Datura innoxia* sur sol contaminé, des teneurs de **90 mg.kg^{-1} de Cr** et de **70 mg.kg^{-1} de Ni** ont été choisies.

III.1.1.3.2 Mobilité et biodisponibilité

Après deux mois de maturation, un échantillon de sol a été prélevé afin d'effectuer les expériences de mobilisation. La teneur en chrome et en nickel est de $80 \pm 5 \text{ mg.kg}^{-1}$ et $70 \pm 5 \text{ mg.kg}^{-1}$, respectivement.

➤ Extraction simple

Le chrome et le nickel, comme précédemment (cf. **Chap. III, § III.1.1.2**), présentent une biodisponibilité différentes. Le nickel présente une biodisponibilité plus importante que le chrome, soit $78 \pm 1 \%$ contre $0,16 \pm 0,02 \%$ respectivement.

➤ Extraction séquentielle

Comme nous l'avons vu dans la phase d'optimisation, Cr et Ni ont une répartition différente. Cr est majoritairement présent dans la fraction dite résiduelle (R4) tandis que Ni reste présent dans les fractions facilement mobilisables (R1 + R2 + R3).

III.1.2 Caractérisation du sol contaminé par l'activité industrielle

III.1.2.1 Propriétés physico-chimiques

La caractérisation physico-chimique est effectuée sur l'échantillon de sol pré-traité en suivant les protocoles normalisés décrits dans le **Chap. II, § II.2**. Des analyses supplémentaires ont également été réalisées par le Laboratoire d'analyses des sols de l'INRA (Arras, 62) : la granulométrie, la teneur en K totale, ainsi que la teneur en Si. L'ensemble de ces résultats est présenté dans le **Tableau III.5**.

Tableau III.5 : Propriétés physico-chimiques de l'échantillon de sol contaminé par l'activité industrielle

Paramètres	Unités	Sol contaminé par l'activité industrielle
Argile (< 2 µm)	g.kg ⁻¹	177
Limon fin (2/20 µm)		161
Limon grossier (20/50 µm)		63
Sable fin (50/200µm)		119
Sable grossier (200/2000 µm)		480
pH _{eau}	-	6,3 ± 0,1
pH _{KCl}		5,3 ± 0,1
CEC	még/100g	12,3 ± 0,1
Carbone organique (CO)	g.kg ⁻¹	29,0 ± 0,8
N total		2,5 ± 0,2
K total / K soluble		25,3 / 0,44 ± 0,04
P soluble	mg.kg ⁻¹	0,85 ± 0,07
Si	g.kg ⁻¹	292

Les résultats de granulométrie montrent que l'échantillon de sol est principalement composé de sables. Si l'on se réfère au diagramme de texture (Baize, 2000), il est classé sable argileux, comme le sol modèle (cf. **Chap. III, § III.1.1.1**).

Il présente un pH peu acide (Baize, 2000) et diffère du sol modèle par les valeurs de la CEC et de la teneur en CO. Ainsi, il présente une CEC deux fois plus élevée que celle du sol modèle, soit 12,3 contre 6,7 $\text{m}\ddot{\text{e}}\text{q}.\text{L}^{-1}$, et une teneur en CO beaucoup plus élevée, soit 29,0 contre 9,0 $\text{g}.\text{kg}^{-1}$. La différence en CO s'explique par la présence d'un couvert végétal sur le site de prélèvement du sol contaminé par l'activité industrielle.

III.1.2.2 Détermination des teneurs en éléments métalliques

III.1.2.2.1 Teneurs totales en métal

Les teneurs en éléments métalliques sont déterminées par absorption atomique après minéralisation par micro-ondes (cf. **Chap. II, § II.2.2**). L'ensemble de ces résultats est présenté dans le **Tableau III.6**.

Tableau III.6 : Teneurs en éléments métalliques

Eléments	Unités	Sol contaminé par l'activité industrielle
Al	$\text{g}.\text{kg}^{-1}$	$43,1 \pm 0,9$
Fe		$33,6 \pm 0,8$
Mg		$2,6 \pm 0,1$
Ca		$2,2 \pm 0,1$
Mn		$0,9 \pm 0,1$
Zn	$\text{mg}.\text{kg}^{-1}$	138 ± 4
Pb		87 ± 3
Co		40 ± 2
Cu		29 ± 2
Cr / Cr(VI)		$113 \pm 10 / 9 \pm 1$
Ni		280 ± 20

Le sol présente des teneurs en éléments majeurs très proches de celles trouvées dans le sol modèle (**Tableau III.2**). La différence de CEC est alors très certainement due à la différence de teneur en CO.

Les teneurs des autres éléments métalliques (Zn, Cu, Pb, Co, Cr et Ni) se trouvent au-dessus de la gamme des valeurs couramment observées dans les sols non contaminés (cf. **Chap. I, Tableau I.1**). Les métaux majoritaires sont **Ni**, **Zn** et **Cr**. Le Cr(VI) représente 8 % du Cr total.

III.1.2.2.2 Profils de contamination de Cr et Ni

Les teneurs en Cr et en Ni ont été également déterminées pour un ensemble d'échantillons reconstituant le profil du sol (**Figure III.5, Figure III.6**).

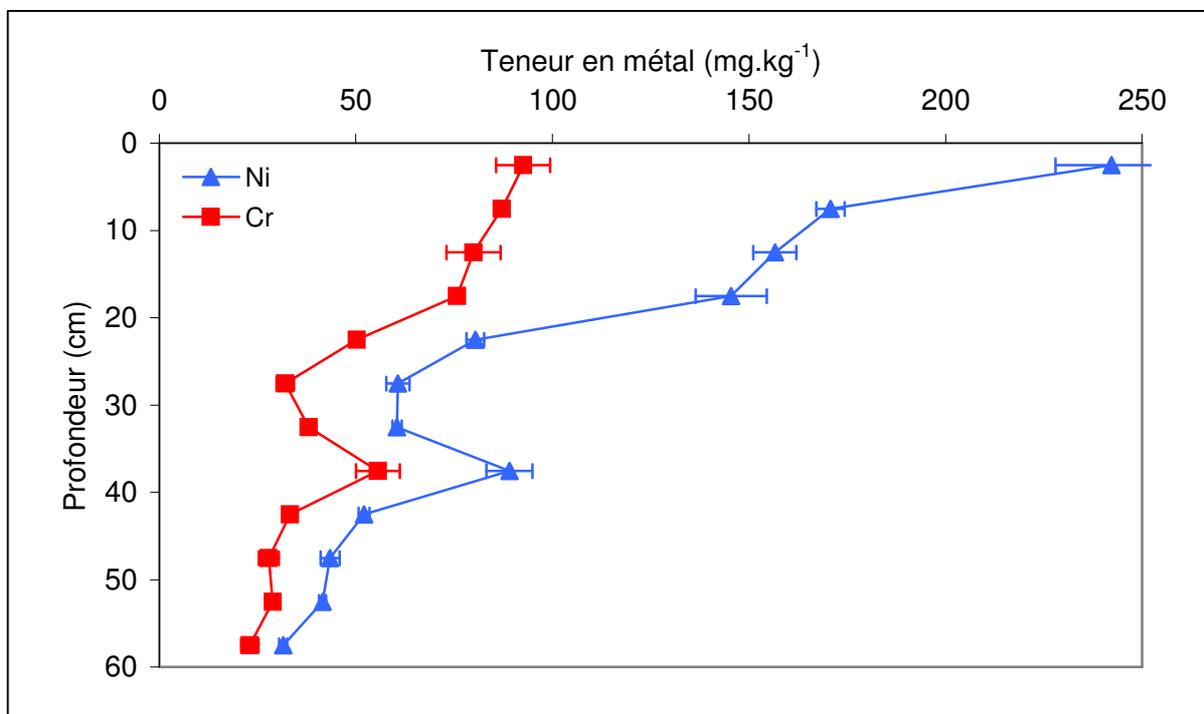


Figure III.5 : Profil 1 des concentrations en Cr et en Ni

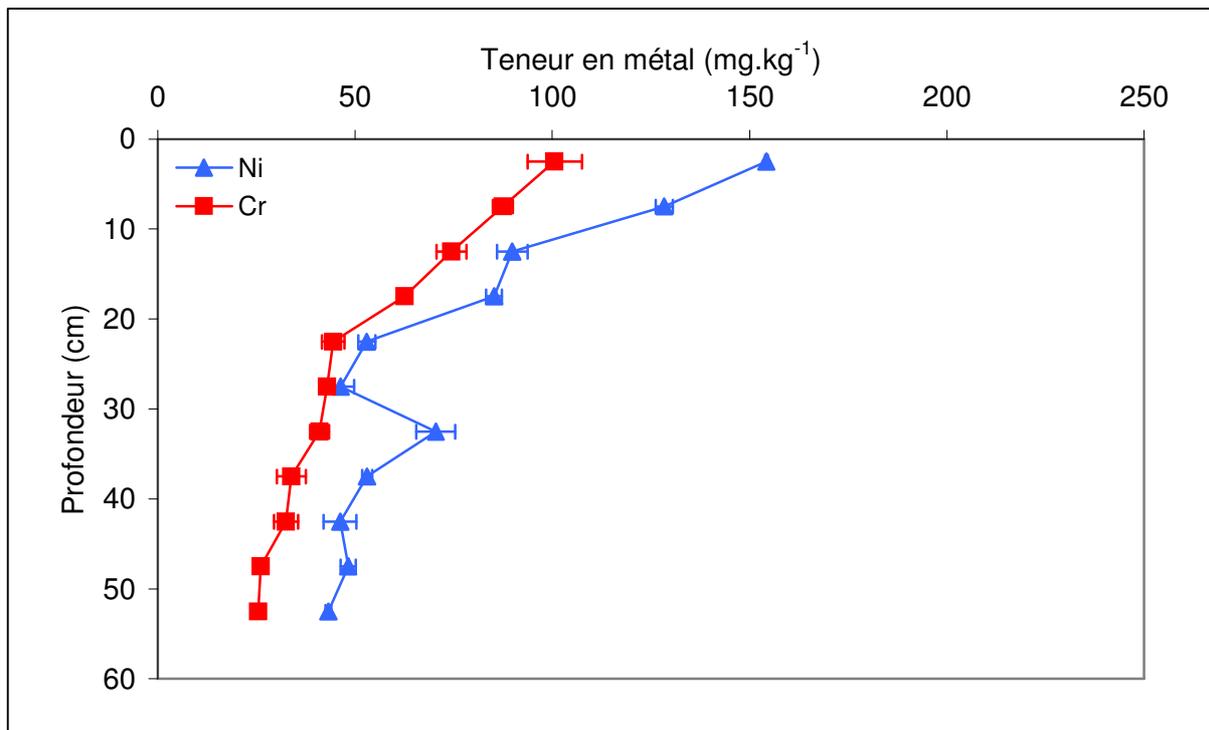


Figure III.6 : Profil 2 des concentrations en Cr et en Ni

La contamination en Cr et en Ni se retrouve principalement dans la couche de 0-20 cm. La teneur moyenne en Cr dans l'échantillon de sol, c'est-à-dire la couche 5-10 cm (113 mg.kg⁻¹) est proche de celle observée dans la couche superficielle des profils, environ 100 mg.kg⁻¹. En ce qui concerne la teneur en Ni, des différences apparaissent (150 et 250 mg.kg⁻¹). Elles peuvent être dues à la contamination de l'échantillon de sol par des microparticules de battitures. On observe une forte diminution de la teneur en métal de la surface vers la profondeur avec une zone d'accumulation autour de 35 cm. Cette diminution est due à une migration en profondeur des métaux. Par conséquent, l'origine de cette pollution provient bien d'une contamination superficielle qui résulte du lessivage des métaux à partir du stockage de battitures à travers le sol. Les valeurs obtenues en profondeur (25 à 35 mg.kg⁻¹ pour Cr et Ni) se rapprochent du fond pédo-géochimique (cf. § III.1.1, Tableau III.2) pour ces éléments.

III.1.2.3 Mobilité et biodisponibilité des métaux

Mesurer la teneur totale en élément constitue une bonne approche pour évaluer le degré et l'ampleur (en concentration et en superficie) de la contamination d'un sol. Pour

apporter d'avantage d'informations, la biodisponibilité et la répartition des métaux (Cr et Ni) dans le sol ont été étudiées par des extractions simples et des extractions séquentielles.

➤ **Extraction simple**

Les métaux biodisponibles sont extraits suivant la norme ISO 14870 (cf. **Chap. I, § I.4** et **Chap. II, § II.2.3**).

Les résultats de ces extractions (**Tableau III.7**) montrent que les éléments sont faiblement biodisponibles. Pb, Ni, Zn, Mg et Mn, extraits à quelques pourcent, sont les éléments les plus biodisponibles. Les autres éléments (Cu, Co, Cr, Al et Fe) présentent une part biodisponible inférieure à 1 %. Dans le cas de Cr, la part de Cr(VI) biodisponible n'est pas déterminée car le protocole utilisé n'est pas adapté pour l'étude des éléments sous leur forme anionique.

Tableau III.7 : Biodisponibilité des éléments dans l'échantillon de sol contaminé par l'activité industrielle (extraction au DTPA)

Eléments extraits	Valeurs (mg.kg ⁻¹)
Al	81,2 ± 0,2
Fe	43 ± 2
Mg	55 ± 1
Mn	13,3 ± 0,3
Zn	1,78 ± 0,09
Cu	0,25 ± 0,01
Pb	4,76 ± 0,08
Co	0,156 ± 0,005
Cr	0,013 ± 0,001
Ni	5,86 ± 0,08

➤ **Extraction séquentielle**

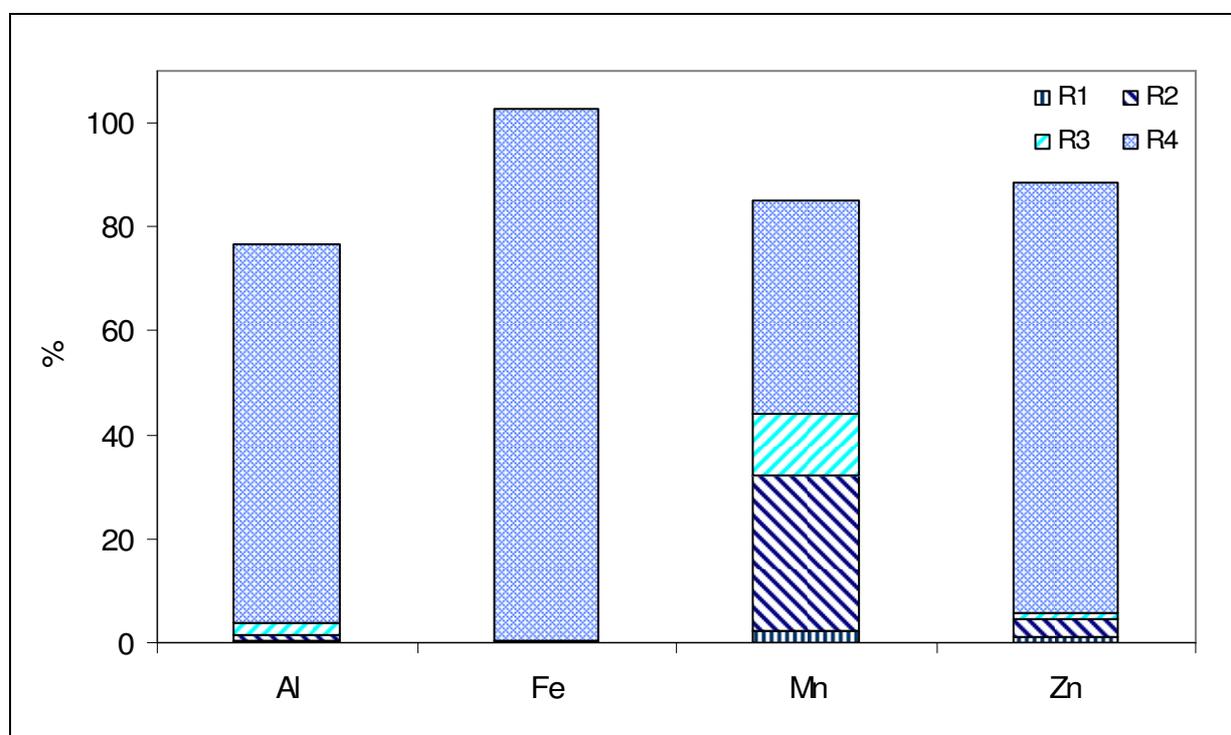


Figure III.7 : Fractionnement de Al, Fe, Mn, et Zn dans l'échantillon de sol contaminé par l'activité industrielle

Les résultats des extractions (**Figure III.7**), pour les éléments Al, Fe, et Zn, montrent qu'ils sont majoritairement présents dans la fraction résiduelle. Par contre, Mn se répartit entre les fractions mobilisables (R1, R2, R3) et la fraction résiduelle.

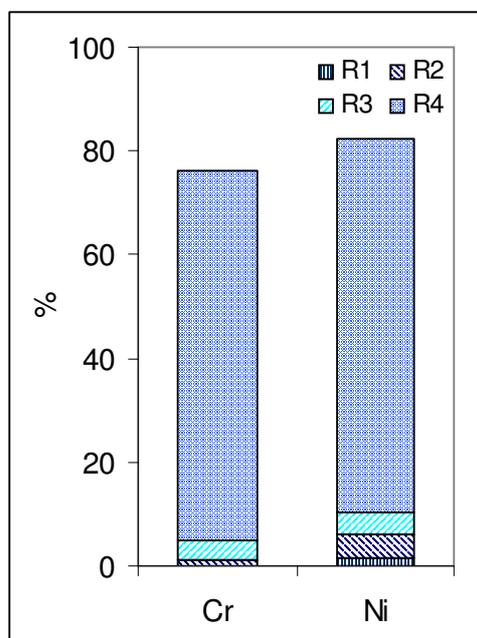


Figure III.8 : Fractionnement de Cr et Ni dans l'échantillon de sol contaminé par l'activité industrielle

Les résultats des extractions (**Figure III.8**) donnent une information sur la mobilité potentielle de Cr et Ni. Cr et Ni sont majoritairement présents dans la fraction résiduelle. La part de métal fortement lié au sol est plus importante dans le cas de Cr. En effet, dans le cas de Ni, les fractions facilement mobilisables (R1, R2, R3) représentent 10 % contre 5 % pour Cr. Dans ces fractions facilement mobilisables, Cr se trouve principalement dans la fraction R3 tandis que Ni se répartit entre R2 et R3.

III.1.2.4 Analyse minéralogique

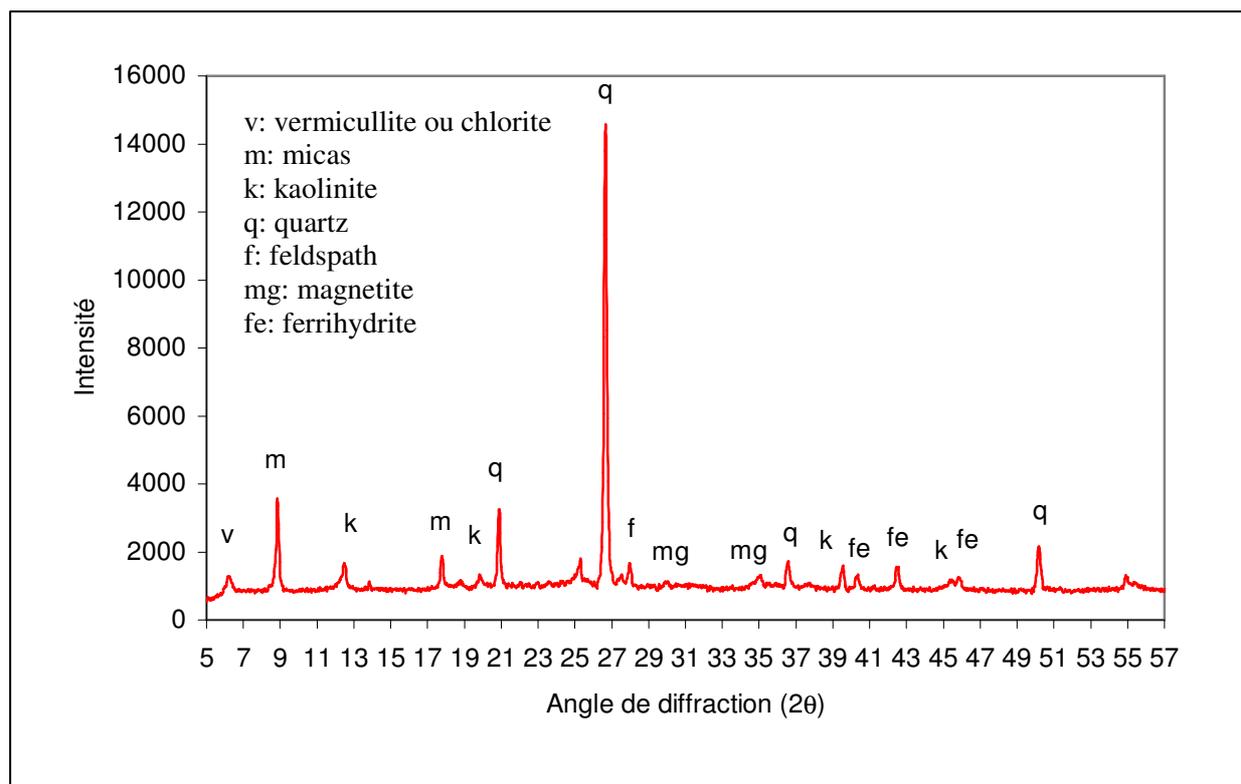


Figure III.9 : Diagramme de diffraction des rayons X sur poudre obtenu pour l'échantillon de sol contaminé par l'activité industrielle (< 2 mm)

Le diffractogramme des rayons X sur poudre (**Figure III.9**) met en évidence la présence de quartz, de feldspath, d'oxydes de type ferrihydrite et magnétite, et de phases argileuses (chlorite, micas, kaolinite). Les phases argileuses et les oxydes présentent une réactivité importante vis-à-vis des éléments de type chrome et nickel.

En conclusion, nous avons donc un sol contaminé en chrome et en nickel. Les teneurs des autres éléments métalliques (Zn, Pb, ...) montrent une contamination polymétallique. De plus, la diminution de cette contamination de la surface vers la profondeur confirme ainsi que la contamination de cet échantillon est bien due à un apport anthropique.

Dans cet échantillon de sol, le chrome et le nickel sont fortement liés au sol et sont donc très peu mobiles. Cependant, le nickel a une part mobilisable plus importante que le chrome. Par conséquent, le nickel présente un risque immédiat plus grand que le chrome lors d'une libération suite à des modifications des conditions physico-chimiques environnantes, car cette part mobilisable peut alors migrer.

III.2 Mobilisation des métaux en présence de complexants

Dans cette partie, nous avons effectué des expériences de mobilisation en flacon afin d'identifier le ou les complexants les plus efficaces pour la mobilisation du chrome et du nickel, dans une optique de phytoextraction. Pour cela nous avons mis en présence des complexants (EDTA, acide citrique et histidine) et l'échantillon de sol modèle contaminé d'une part et un sol contaminé par l'activité industrielle d'autre part.

III.2.1 Sol modèle contaminé

III.2.1.1 Cinétique d'extraction

Cette étape a été effectuée afin de déterminer le temps de contact optimum correspondant à un maximum d'extraction des métaux.

Les cinétiques d'extraction (**Figure III.10**, **Figure III.11**) présentent deux étapes, ce qui est généralement observé dans la littérature (Bordas et Bourg, 1998 ; Bermond et al., 2005) :

- de 0 à 1 h, la courbe de cinétique présente une forte pente, ce qui caractérise une extraction rapide. L'acide citrique extrait jusqu'à $1,35 \pm 0,06$ % de Cr et l'EDTA près de 87 ± 2 % de Ni.
- au delà de 1h, la courbe de cinétique présente une pente plus faible, ce qui est caractéristique d'une extraction plus lente. L'acide citrique extrait jusqu'à $16,5 \pm 0,7$ % de Cr et l'EDTA près de 96 ± 1 % de Ni, au bout de 48 h et de 8 h respectivement.

L'étape rapide correspond à la mobilisation des métaux facilement accessibles, c'est à dire les métaux échangeables et faiblement adsorbés. Pendant cette étape, Ni est mobilisé plus rapidement que Cr. Ceci est en accord avec les résultats de fractionnement qui montrent que Ni se retrouve de façon plus importante dans R1 comparativement à Cr, qui est principalement dans R4 et R3 (cf. **Chap. III**, § **III.1.1.3**).

L'étape lente correspond à la solubilisation des métaux moins accessibles et moins mobiles, par exemple les métaux liés aux oxydes (Cornell et Schwertmann, 1996 ; Nowack et al., 2001). La dissolution de ces oxydes permet la libération des métaux qui leur sont liés. Par

ailleurs, des processus physiques, telle que la diffusion dans les microporosités, peuvent intervenir. Mais leur cinétique lente peut limiter l'extraction des éléments faiblement retenus à l'intérieur de microporosités.

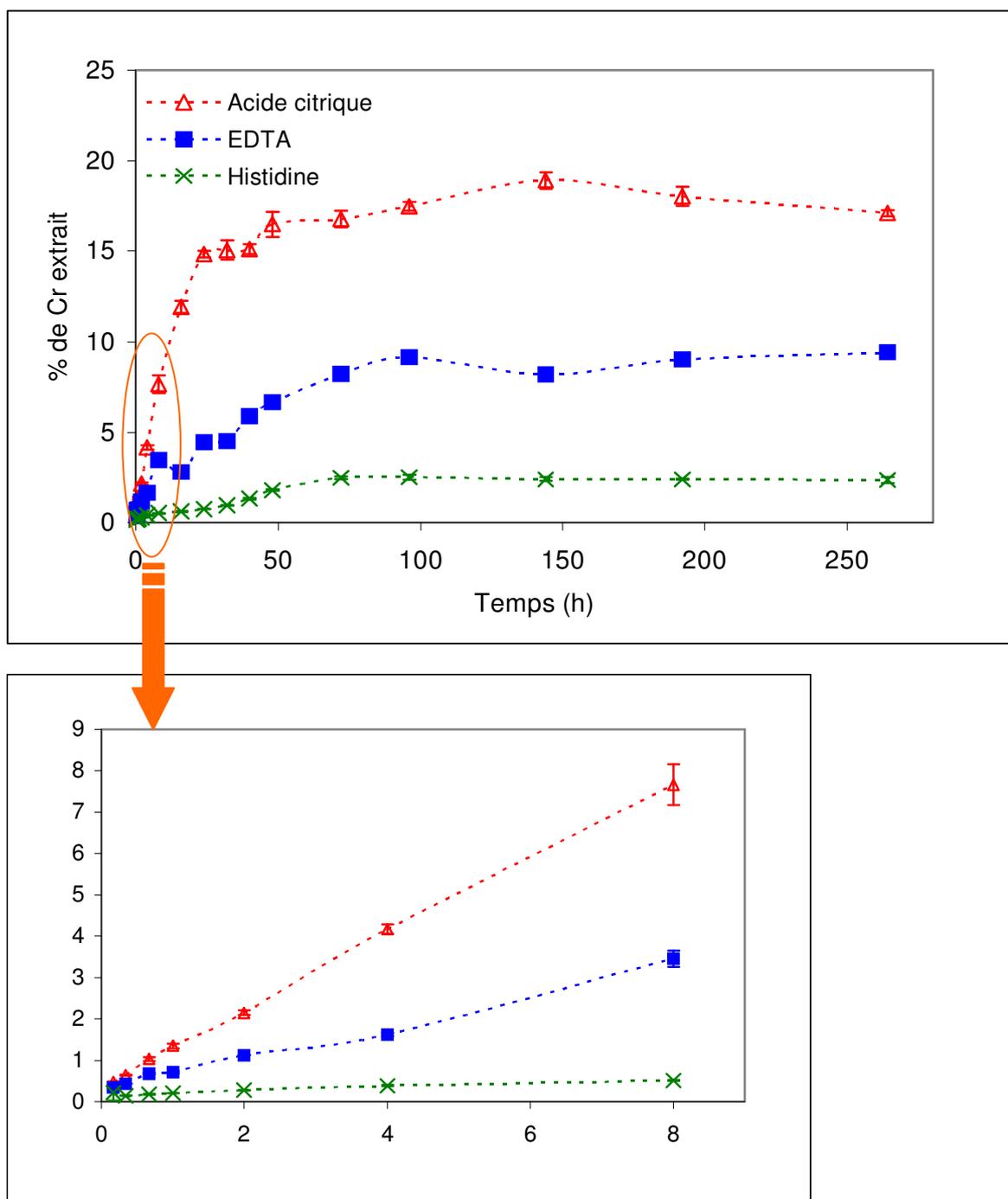


Figure III.10 : Extraction de Cr en fonction du temps (concentration en complexant $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; 5 g de sol dans 50 mL) ; % Cr est calculé par rapport à Cr_T

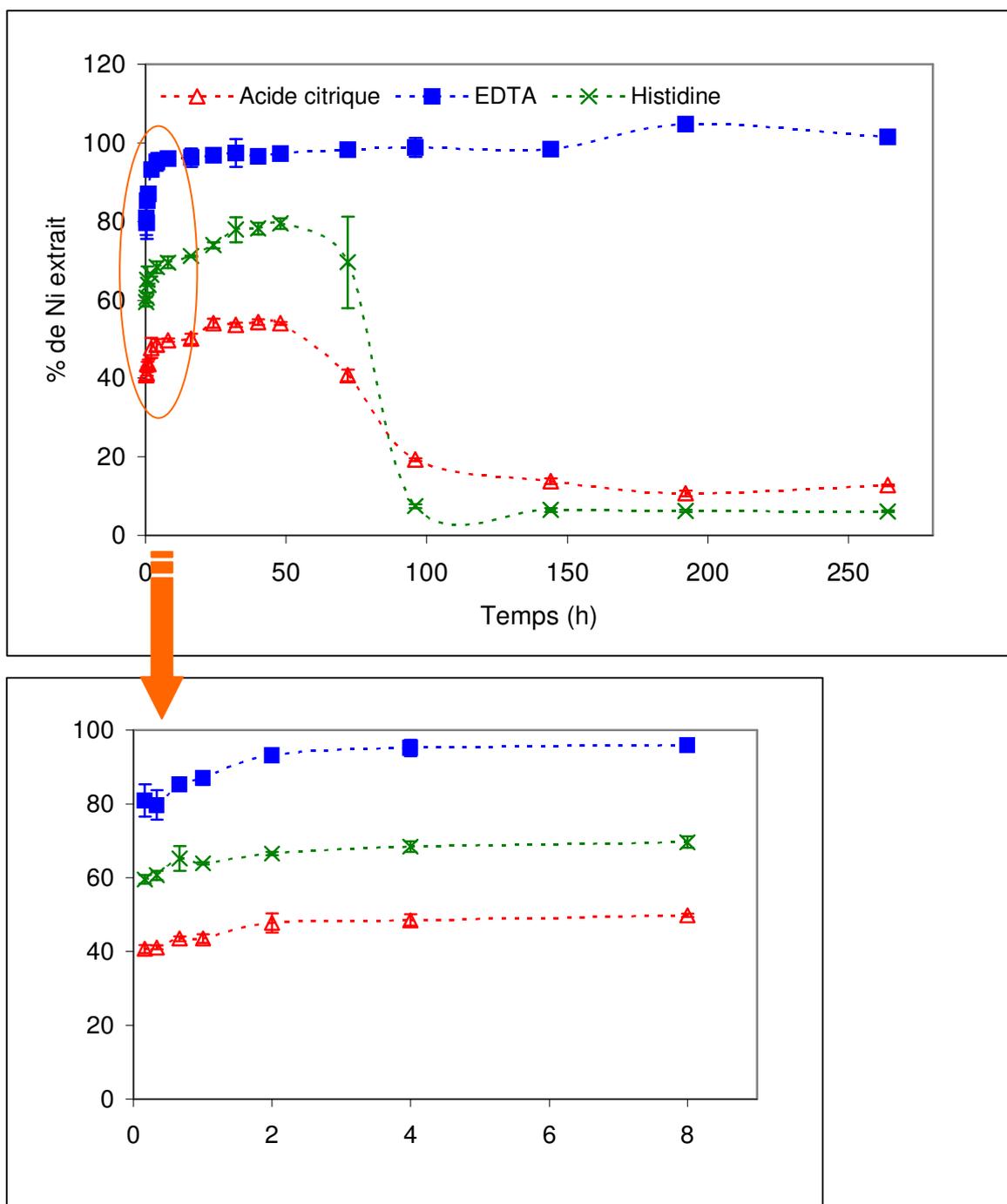


Figure III.11 : Extraction de Ni en fonction du temps (concentration en complexant $0,01 \text{ mol.L}^{-1}$; 5 g de sol dans 50 mL)

Dans le cas de l'EDTA, le maximum d'extraction est atteint en 8 h pour Ni, soit $96 \pm 6\%$, et 72 h pour Cr, soit $8,2 \pm 0,2 \%$. Il est maintenu au delà de ce temps de contact.

En présence d'acide citrique et d'histidine l'extraction de Cr atteint un maximum en 48 h, soit respectivement $16,5 \pm 0,7 \%$ et $2,47 \pm 0,08 \%$. Pour Ni, le maximum d'extraction est atteint en 2 h et en 32 h, respectivement en présence d'acide citrique et d'histidine. En présence de ces deux complexants, le maximum d'extraction pour Ni est maintenu pendant 24 h.

En présence d'acide citrique et d'histidine, nous pouvons observer, au delà de 50 h, une diminution de l'extraction de Ni jusqu'à 100 h, suivie d'une stabilisation. L'acide citrique et l'histidine sont des molécules organiques facilement assimilables par les micro-organismes (Brynhildsen et Rosswall, 1997; Römkens et al., 2002). Leur biodégradation partielle peut être à l'origine de la diminution de l'extraction. Le métal peut alors être assimilé et bloqué dans les bactéries puis éliminé lors de la filtration ou être réadsorbé.

L'EDTA est une molécule difficilement assimilable par les microorganismes et persistante dans l'environnement (Witschel et al., 1999 ; Bucheli-Witschel et Egli, 2001), d'où l'absence de diminution de l'extraction de Cr et Ni.

Avec un temps de contact de 48 h, un maximum d'extraction est atteint pour l'ensemble des complexants vis-à-vis du nickel. Dans le cas du chrome, en présence d'EDTA, seul 80% de l'équilibre est atteint. De plus, la biodégradation de l'acide citrique et de l'histidine à ce stade est très faible. Par conséquent, nous avons choisi de travailler avec un **temps de contact de 48 h** pour la suite de l'étude, quel que soit le complexant.

III.2.1.2 Mobilisation en flacon

III.2.1.2.1 Mobilisation des métaux par les complexants

Les concentrations en complexant utilisées sont comprises entre 0,001 et 0,2 mol.L⁻¹ et le pH des suspensions de sol a été suivi tout au long de l'expérience.

Tableau III.8 : Variation de pH dans la suspension de sol

Complexants	pH initial	pH final
Acide citrique	6,4 ± 0,1	7,3 ± 0,2
EDTA		6,2 ± 0,1
Histidine		6,3 ± 0,1

Au bout de 48 h, on observe une nette augmentation du pH en présence d'acide citrique et une stabilité en présence d'EDTA et d'histidine (**Tableau III.8**).

Cette augmentation est due à une consommation des protons H⁺ présents dans la solution. Par conséquent, l'acide citrique se fixe probablement sur les sites de surface, en formant un complexe de sphère interne. Lackovic et al. (2004) ont modélisé l'adsorption de l'acide citrique sur la goethite puis mis en évidence, par des mesures d'adsorption et des données spectroscopiques (ATR-FTIR), l'existence du complexe de sphère interne $\equiv \text{SCitH}^-$ (**Eq. III.1**).



Dans le cas de l'EDTA et de l'histidine, le pH reste constant. L'EDTA et l'histidine se fixent alors probablement sur les sites de surface par un mécanisme d'adsorption non spécifique (formation d'un complexe de sphère externe), qui induit l'absence de relargage d'ions HO⁻. Ce mécanisme se superposant à un mécanisme spécifique de formation de complexe de sphère interne (Nowack et Sigg, 1996), la variation de pH n'est alors pas suffisante pour être observée.

Les pourcentages de Cr et de Ni extraits ont été déterminés pour chaque concentration appliquée. Dans le cas de Cr (**Figure III.12 a**), il augmente avec la concentration en complexant jusqu'à une valeur de 0,05 mol.L⁻¹ pour l'acide citrique et l'EDTA. Dans le cas de Ni (**Figure III.12 b**), la valeur maximale est de 0,025 mol.L⁻¹ pour l'acide citrique et 0,01

mol.L⁻¹ pour l'histidine ; en présence d'EDTA, le pourcentage reste le même quelle que soit la concentration appliquée.

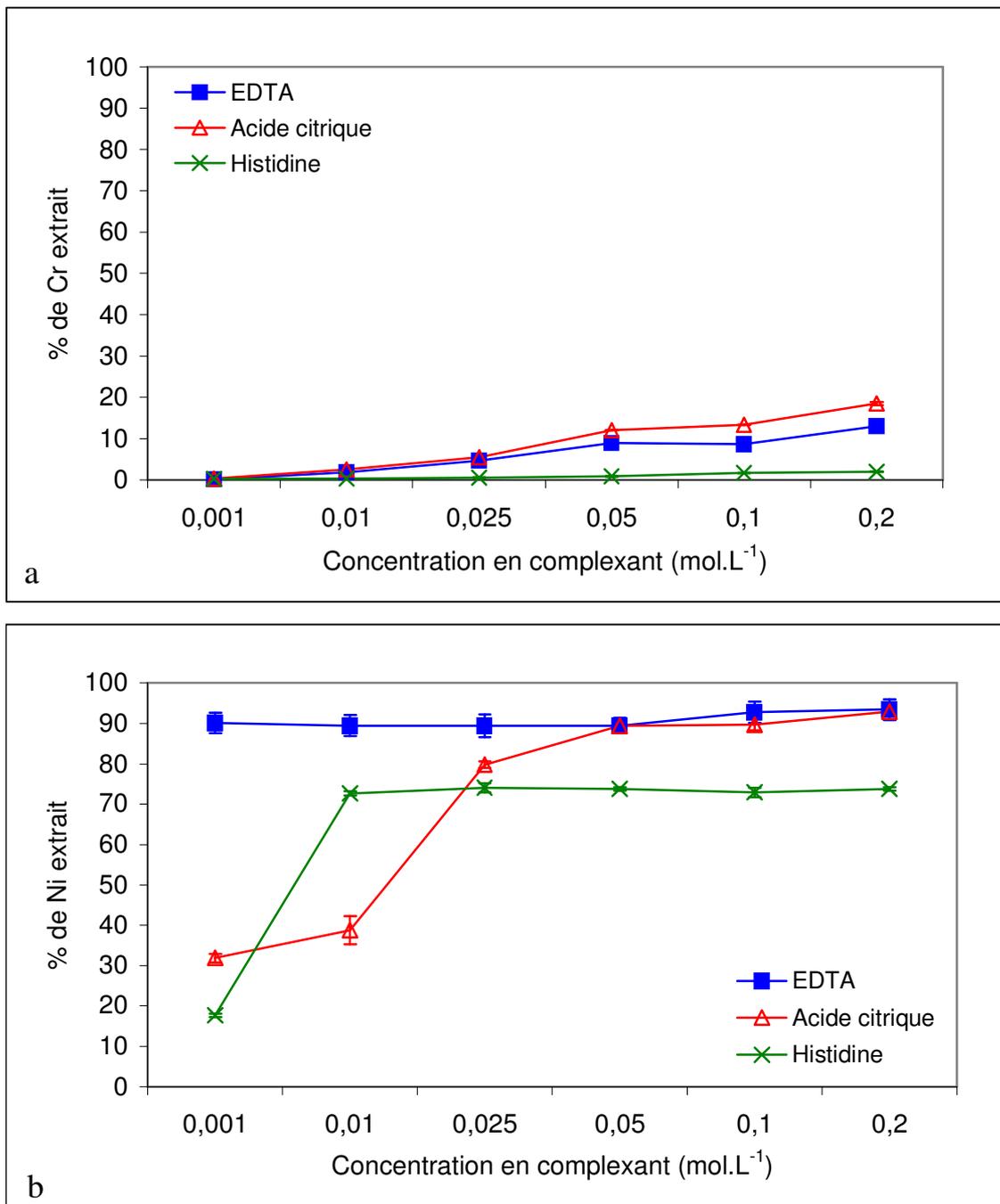


Figure III.12 : Pourcentage de Cr (a) et de Ni (b) extrait en fonction de la concentration en complexant après une seule extraction (% Cr est calculé par rapport à Cr_T)

Dans le cas du chrome, l'efficacité des complexants peut être classée de la manière suivante : acide citrique > EDTA >> histidine.

Dans le cas du nickel, l'efficacité des complexants peut être classée de la manière suivante : EDTA = acide citrique > histidine.

➤ Modélisation du système à l'équilibre

Les principales réactions de complexation entrant en jeu dans la phase liquide ont été estimées en utilisant un logiciel de modélisation des systèmes à l'équilibre (MINEQL+ ; Schecher et McAvoy, 2001). La simulation se fait à 20°C, la force ionique et le pH sont calculés par MINEQL+. Elle prend en compte :

- les éléments métalliques solubilisés : Al, Fe, Mg, Ca, Mn, Cr(III) et Ni (**Tableau III.9**)
- les constantes (**Annexe 3**) fournies par MINEQL+ et des constantes issues d'autres bases de données (Schecher et McAvoy, 2001 ; Pettit et Powell, 2001)

Le complexe Cr(histidine)²⁺ et le complexe Cr(citrate)₂³⁻, quoique déjà décrits (Quiros et al. 1992 ; Hamada et al. 2003), n'ont pu être pris en compte dans la modélisation car aucune constante de complexation correspondante n'est disponible dans la littérature.

Tableau III.9 : Eléments solubilisés par les complexants après une extraction (48 h) ; concentration en complexant 0,05 mol.L⁻¹

Métaux solubilisés	Concentration (µmol.L ⁻¹)		
	EDTA	Acide citrique	Histidine
Al	1683 ± 36	2433 ± 126	17,2 ± 0,2
Fe	1193 ± 17	1140 ± 10	9,8 ± 0,9
Mg	542 ± 10	502 ± 5	286 ± 95
Ca	2140 ± 31	1983 ± 38	538 ± 39
Mn	491 ± 13	413 ± 4	40 ± 0,4
Cr	25,3 ± 0,1	33,9 ± 0,6	2,5 ± 0,3
Ni	108 ± 2	106 ± 2	89,1 ± 0,5

Ainsi, au pH de l'étude (pH = 6,4), le Cr(III) est totalement complexé à l'EDTA et à l'acide citrique, sous la forme Cr(EDTA)⁻ (**Figure III.13 a**) et Cr(citrate)⁰ (**Figure III.13 b**). Ni(II) est totalement complexé à l'EDTA et à l'histidine, respectivement sous la forme Ni(EDTA)²⁻ (**Figure III.13 c**) et Ni(histidine)₂ (**Figure III.13 e**). Dans le cas de l'acide

citrique, il se forme : 10 % de $\text{Ni}(\text{citrate})^-$, 30 % de $\text{NiH}(\text{citrate})_2^{3-}$ et 60 % $\text{Ni}(\text{citrate})_2^{4-}$ (Figure III.13 d).

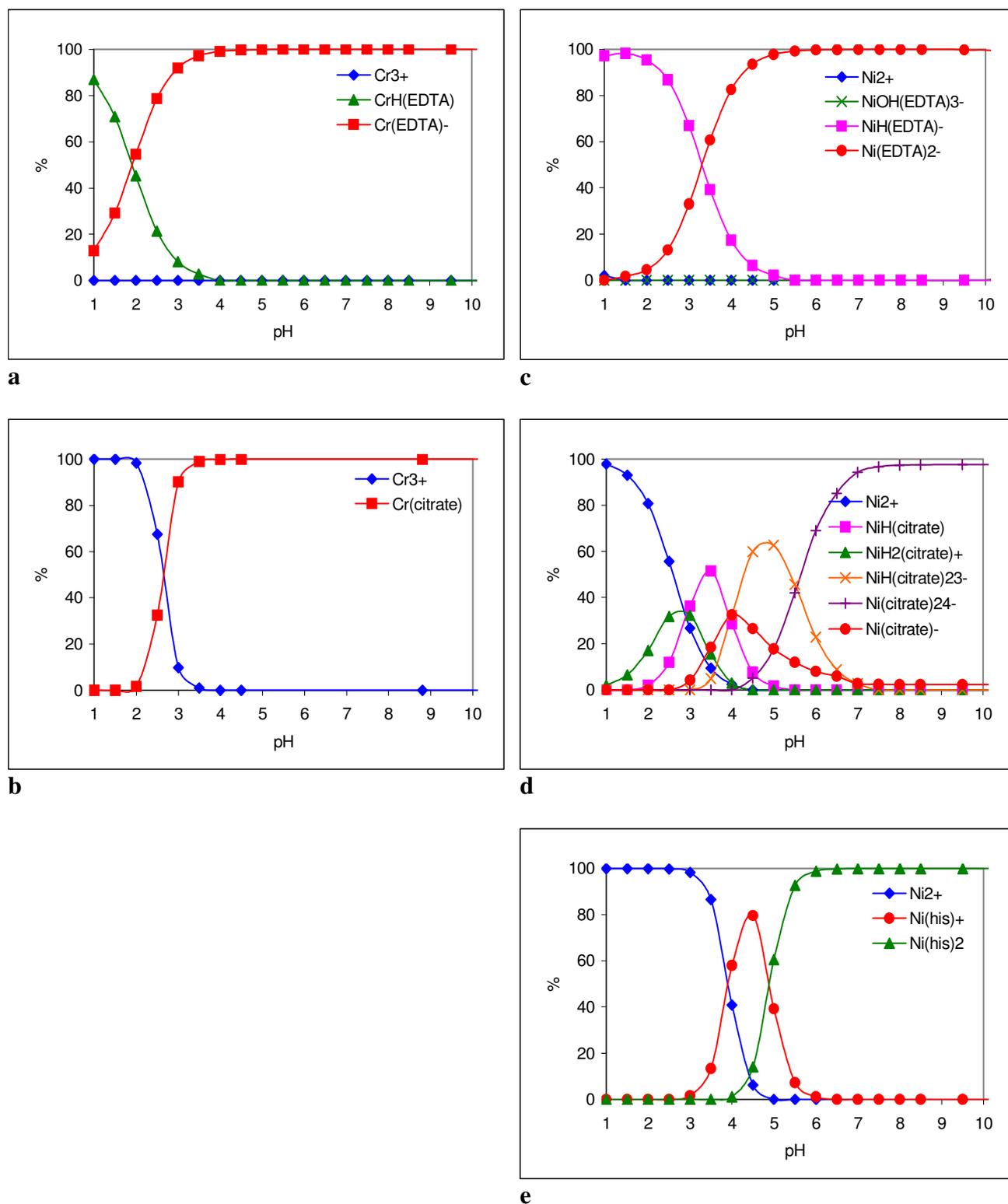
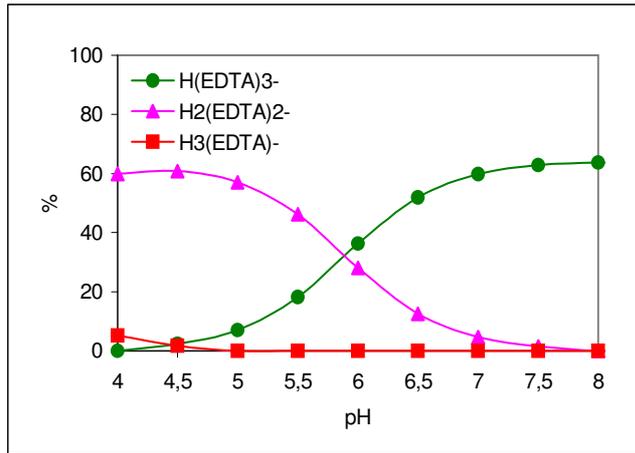


Figure III.13 : Diagrammes de spéciation de Cr(III) et Ni(II) en présence d'EDTA, d'acide citrique et d'histidine (modélisation par MINEQL+) ; **a** Cr-EDTA, **b** Cr-citrate, **c** Ni-EDTA, **d** Ni-citrate, **e** Ni-histidine

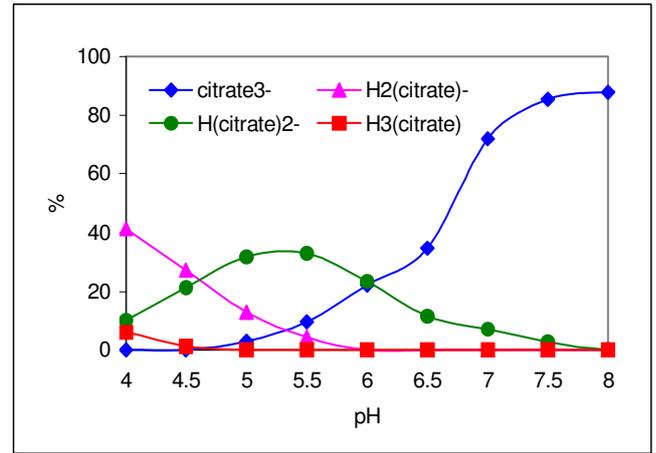
A pH acide (pH = 6,4), la mobilité des métaux devrait être plus grande, mais le pouvoir complexant de l'EDTA se trouve diminué (**Figure III.14 a**), d'où une diminution du pourcentage de métal extrait. A pH basique (pH = 7,3), la mobilité des métaux devrait être plus réduite. Mais, à ce pH, l'acide citrique est complètement déprotoné (**Figure III.14 b**) et joue alors pleinement son rôle de complexant vis-à-vis de Cr, mais peu vis-à-vis de Ni. Par conséquent, l'ordre d'efficacité des complexants ne peut s'expliquer uniquement par la différence de pH au cours de l'expérience.

Au cours de l'expérience, les éléments majeurs tels que Ca, Fe, Mn, Al et Mg (**Figure III.15**) sont mobilisés en même temps que les éléments cibles Cr et Ni. Bien que les courbes Fe[citrate] ou FeHis^{2+} soient proches de 0 sur les diagrammes de spéciation (**Figure III.15**), Fe est mobilisé. Il est possible qu'il soit mobilisé non pas par le complexant sous sa forme libre, mais par un complexe métal-complexant (Tandy et al. 2004).

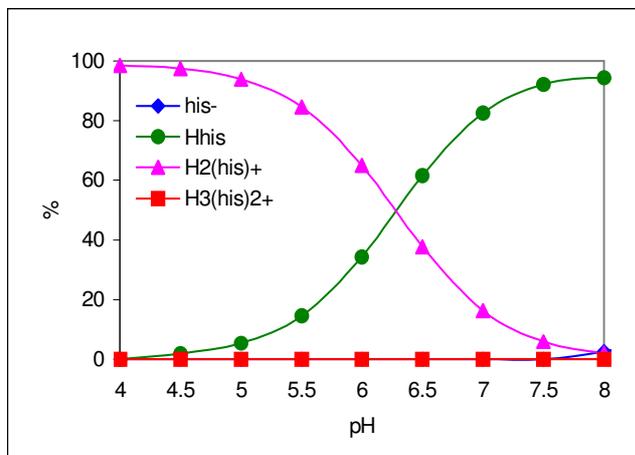
Des phénomènes de compétition entre les éléments vis-à-vis des complexants peuvent alors avoir lieu, limitant ainsi la mobilisation de Cr et Ni. Toutefois, les complexants restent en excès par rapport à tous ces éléments mobilisés. En effet, 85 % de l'acide citrique est sous forme libre, 87 % de l'EDTA et plus de 95 % de l'histidine (**Figure III.15**). Ils restent donc disponibles pour mobiliser Cr et Ni. Il apparaît alors que la spéciation des complexants n'explique pas cette différence d'efficacité.



a

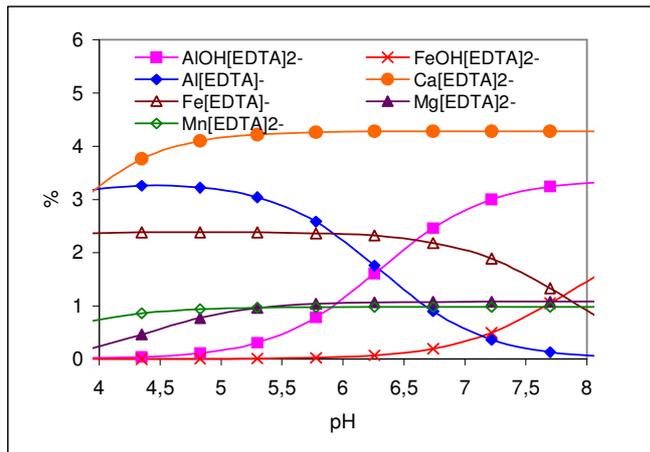


b

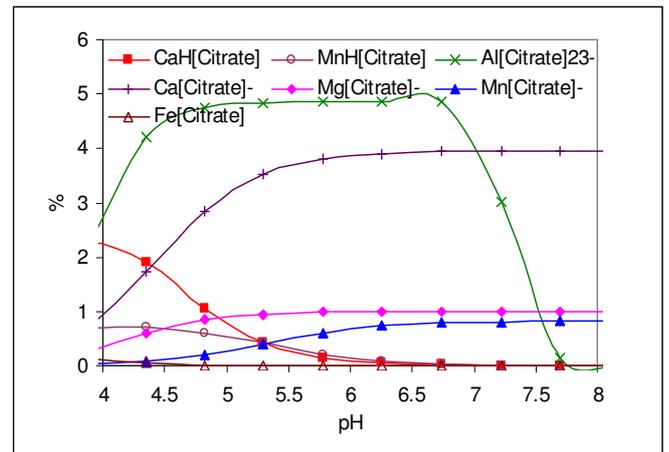


c

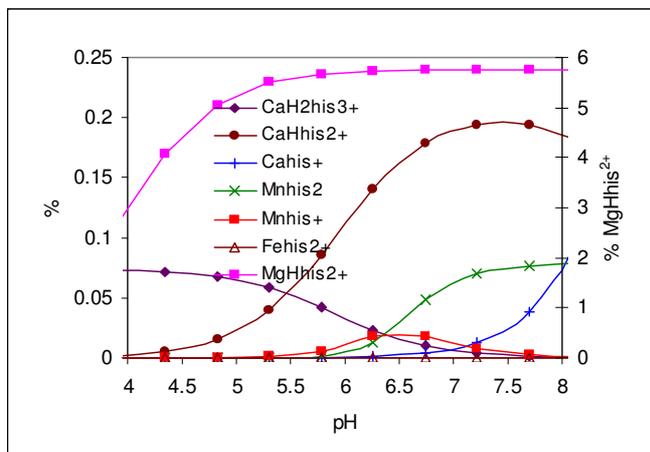
Figure III.14 : Diagrammes de spéciation des complexants, EDTA **a**, acide citrique **b**, histidine **c** (modélisation par MINEQL+) (les complexes formés avec les autres éléments métalliques, pris en compte dans la modélisation, ont été omis pour simplification)



a



b



c

Figure III.15 : Diagrammes de spéciation de l'EDTA (a), de l'acide citrique (b) et de l'histidine (c) (modélisation par MINEQL+) avec les différents éléments métalliques présents dans le sol modèle contaminé

➤ Détermination des teneurs en Cr(VI) à l'équilibre

Après une extraction durant 48 h, en présence de complexant à $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, un dosage de Cr(VI) extrait a été réalisé et les quantités de Cr(III) déterminées par différences (**Tableau III.10**).

Tableau III.10 : Spéciation de Cr mobilisé après une extraction (48 h) ; concentration en complexant $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$

Complexant	Cr(VI) ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Cr(VI) (%) ^a
Acide citrique	90 ± 4	$1,6 \pm 0,2$
EDTA	25 ± 5	$0,5 \pm 0,1$
Histidine	5 ± 1	$0,09 \pm 0,01$
Eau	<LD ^b	-

a : % Cr est calculé à partir du chrome total

b : limite de détection

Le Cr étant sous deux formes, la mobilisation de Cr(III) se fait par complexation et celle de Cr(VI) par échange d'ions. Le Cr(VI) est davantage mobilisé par l'acide citrique (1,6 %) que par l'EDTA (0,5 %) ou l'histidine (0,09 %) (**Tableau III.10**). En effet, l'acide citrique, complètement déprotoné (**Figure III.14 b**), se présente sous la forme Cit^{3-} . Ainsi, de par sa charge, il peut se substituer à Cr(VI) (CrO_4^{2-} ou HCrO_4^-) au niveau des sites de surface. En se fixant sur les sites de surface, l'acide citrique libèrerait alors le Cr(VI) dans la solution (16 %). Ce type de mobilisation a été mis en évidence pour des systèmes phosphate / ascorbate, citrate ou EDTA (Nowack et Sigg, 1996; Geelhoed et al., 1998; Hu et al., 2001 ; Mikutta et al., 2006). Il a également été mis en évidence lors de fertilisations phosphatées des latérites ultramafiques (Becquer et al., 2005).

L'EDTA se présente sous la forme HY^{3-} et H_2Y^{2-} (**Figure III.14 a**). Il est donc capable d'entrer en compétition avec le Cr(VI), mais compte tenu de sa taille, la densité de charge en un point, est moins importante que celle de Cit^{3-} , d'où une compétition moins importante (5 %).

Aux pH compris entre 6 et 9, l'histidine est sous la forme de zwitterion (cf. **Chap. I, § I.7.3**). L'histidine, avec son unique charge négative, ne peut entrer que faiblement en compétition avec Cr(VI) (0,9 %).

L'acide citrique est alors plus efficace que l'EDTA et l'histidine pour solubiliser Cr. La mobilisation de Cr se ferait donc par deux mécanismes : la compétition au niveau des sites de surface et les réactions de complexation.

D'après le **Tableau III.9**, des éléments tels que Fe, Al et Ca sont fortement mobilisés par l'acide citrique et l'EDTA. Cela correspondrait à une dissolution partielle des phases porteuses. En effet, il a déjà été montré que la formation d'un complexe entre l'EDTA et les groupements fonctionnels de surface peut entraîner une dissolution des oxydes de fer, par exemple (Cornell et Schwertmann, 1996). La réaction qui se produit peut s'écrire de la façon suivante :



Certaines phases porteuses des sols (en particulier les oxydes) peuvent alors être dissoutes en présence de complexant et ainsi libérer les métaux qui leur sont liés (Kedziorek et Bourg, 2000 ; Sun et al., 2001 ; Tandy et al., 2004). De même, l'acide citrique est capable de dissoudre des phases solides (Wang et Stone, 2006). De plus, il solubilise l'aluminium d'avantage que l'EDTA et l'histidine. Ceci pourrait, par conséquent, expliquer la forte mobilisation de Cr.

Le Ni, étant sous la forme Ni^{2+} , la mobilisation se fait par des réactions de complexation. L'efficacité de la mobilisation ne dépendra alors que des constantes de complexation. Cependant, à partir de $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, l'acide citrique devient aussi efficace que l'EDTA pour mobiliser Ni, car il solubilise les phases porteuses autant que l'EDTA et dans le cas de l'Al, ce dernier est plus mobilisé par l'acide citrique.

En conclusion, l'efficacité des complexants dépend à la fois des réactions de **complexation**, de la **compétition** au niveau des sites de surface et de la **dissolution des phases porteuses** du sol, ce qui peut entraîner un appauvrissement de la CEC. Pour les deux complexants les plus efficaces, **l'acide citrique** et **l'EDTA**, une concentration de **$0,05 \text{ mol.L}^{-1}$** semble être un bon compromis entre la mobilisation de Cr et Ni et la solubilisation des phases porteuses.

III.2.2 Sol contaminé par l'activité industrielle

Cette partie fait l'objet d'une publication (Jean et al., 2007a) reproduite en **Annexe 7**.

III.2.2.1 Cinétique d'extraction

III.2.2.1.1 Détermination d'un temps de contact

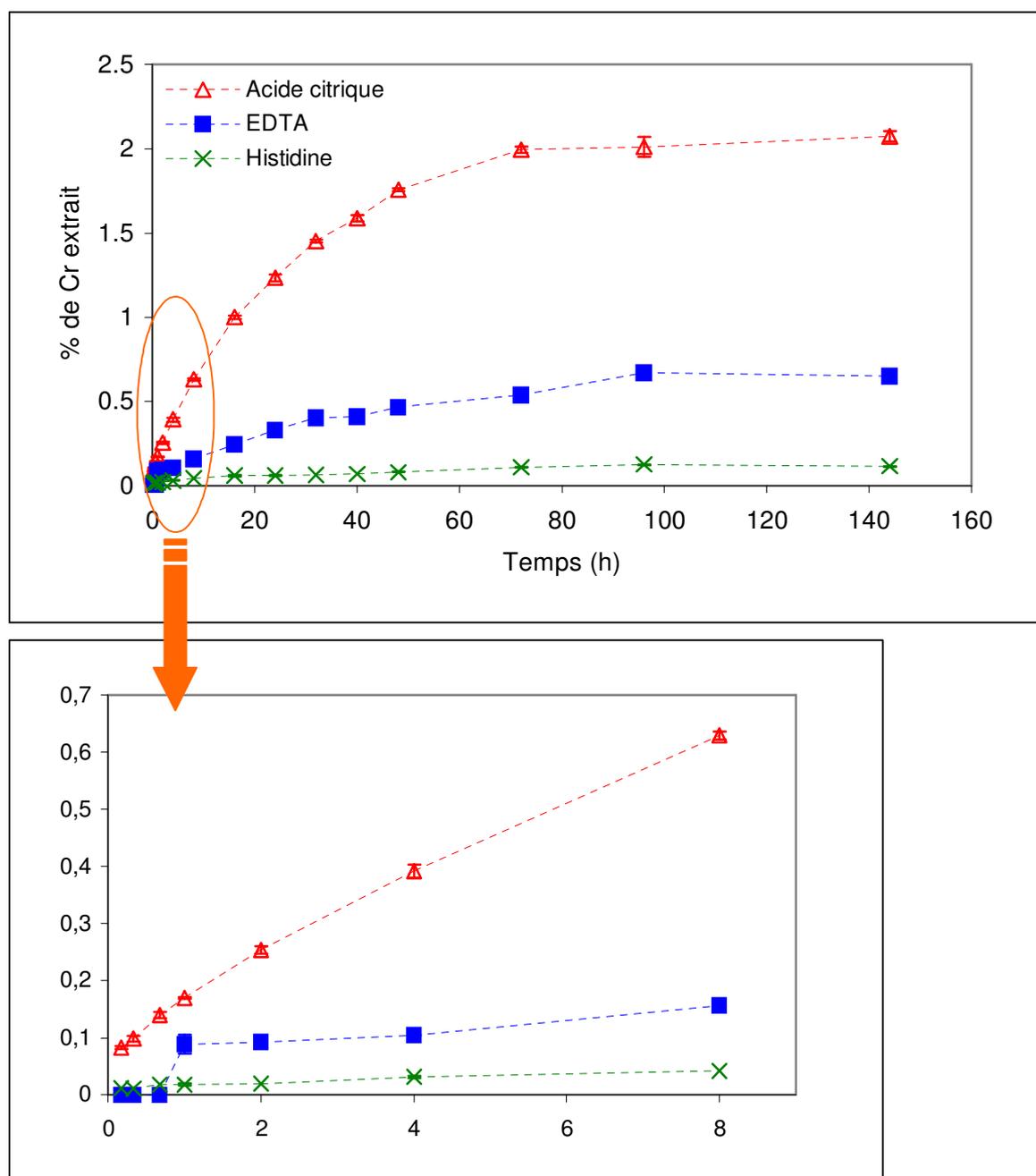


Figure III.16 : Extraction de Cr en fonction du temps (concentration en complexant 0,01 mol.L⁻¹ ; 5 g de sol dans 50 mL) ; % Cr est calculé par rapport à Cr_T

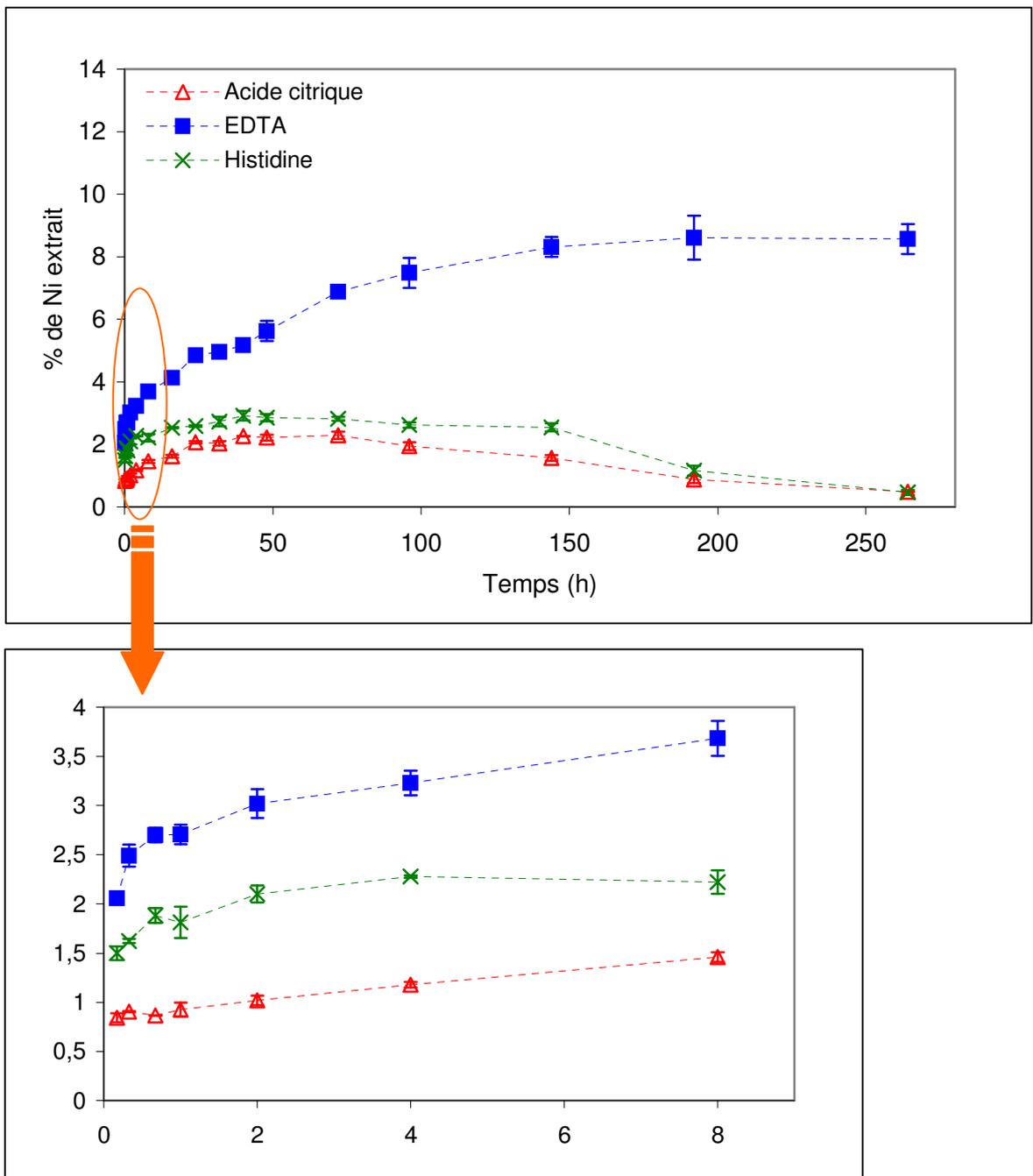


Figure III.17 : Extraction de Ni en fonction du temps (concentration en complexant 0,01 mol.L⁻¹ ; 5 g de sol dans 50 mL)

Comme dans le cas du sol modèle (cf § III.2.1.1, **Figure III.10** et **Figure III.11**), les cinétiques d'extraction (**Figure III.16**, **Figure III.17**) présentent deux étapes :

- de 0 à 1 h, l'acide citrique extrait jusqu'à $0,17 \pm 0,01$ % de Cr et l'EDTA près de $2,71 \pm 0,09$ % de Ni.
- au delà de 1h, l'acide citrique extrait jusqu'à 2 % de Cr et l'EDTA près de 8 % de Ni, au bout de 72 h et de 144 h respectivement.

Comme précédemment (cf § III.2.1.1, **Figure III.10** et **Figure III.11**), durant l'étape rapide, Ni est mobilisé plus rapidement que Cr. Nous nous retrouvons également en présence d'un échantillon de sol où Ni se retrouve de façon plus importante dans R1 comparativement à Cr (cf. **Chap. III**, § III.1.2.3).

L'étape lente correspond à la solubilisation des métaux moins accessibles et moins mobiles.

Après un temps de contact de 144 h, l'EDTA extrait 8,3 % de Ni et 0,67 % de Cr. Ces pourcentages sont maintenus au delà de ce temps de contact. Comme précédemment, aucune diminution n'est observée en présence d'EDTA.

En présence d'acide citrique et d'histidine l'extraction de Cr atteint un maximum en 96 h, soit respectivement $2,01 \pm 0,06$ % et $0,124 \pm 0,001$ %. Pour Ni, le maximum d'extraction est atteint en 48 h. En présence de ces deux complexants, le maximum d'extraction pour Ni est maintenu pendant 24 h. Au delà de 96 h, nous pouvons observer une diminution de l'extraction de Ni. Cette diminution est plus lente et apparaît plus tardivement que celle observée précédemment pour le sol modèle (cf. § III.2.1.1). Comme précédemment, elle peut être attribuée à l'assimilation de l'acide citrique et de l'histidine, la diminution plus tardive pouvant être due à un effet toxique du sol contaminé par l'activité industrielle, limitant ainsi la population bactérienne.

III.2.2.1.2 Aspect microbiologique

Nous avons observé précédemment (cf § III.2.1.1) que l'extraction de Ni diminue, en 50 h environ, en présence d'acide citrique et d'histidine. Or, Brynhildsen et Rosswall (1997) ont montré qu'en 14 jours, 80 % de l'acide citrique est dégradé sur un sol de culture. L'histidine est elle aussi dégradée dans l'environnement, mais de façon plus lente ; soit 55 % en 36 jours sur un sol de culture (Brynhildsen et Rosswall, 1997).

Par conséquent, nous avons cherché à estimer la dégradation de l'acide citrique, au cours des expériences de mobilisation sur le sol contaminé par l'activité industrielle, en effectuant une étude microbiologique. Cette étude consiste à mettre en présence les microorganismes du sol et une solution d'acide citrique dans une suspension de sol (les conditions de concentrations et de rapport solide:liquide restant les mêmes) et à suivre à la fois la respiration (**Annexe 4**), le dénombrement (**Annexe 5**) et la production de sucres et de protéines par les microorganismes (**Figure III.18**). Le dosage des sucres et des protéines a été effectué en suivant les protocoles développés par Dubois et al. (1956) et par Lowry et al. (1951), respectivement.

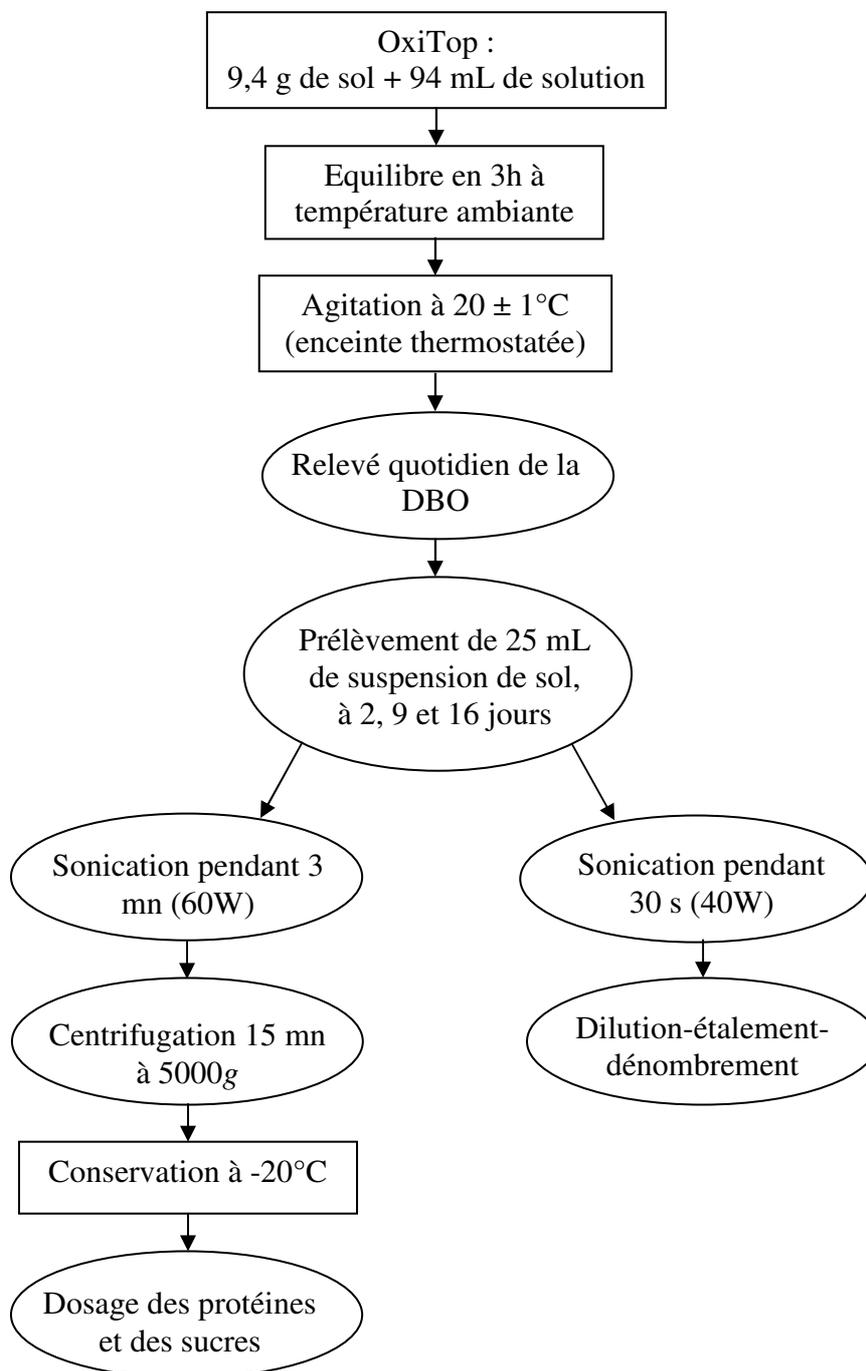


Figure III.18 : Organigramme de l'étude microbiologique

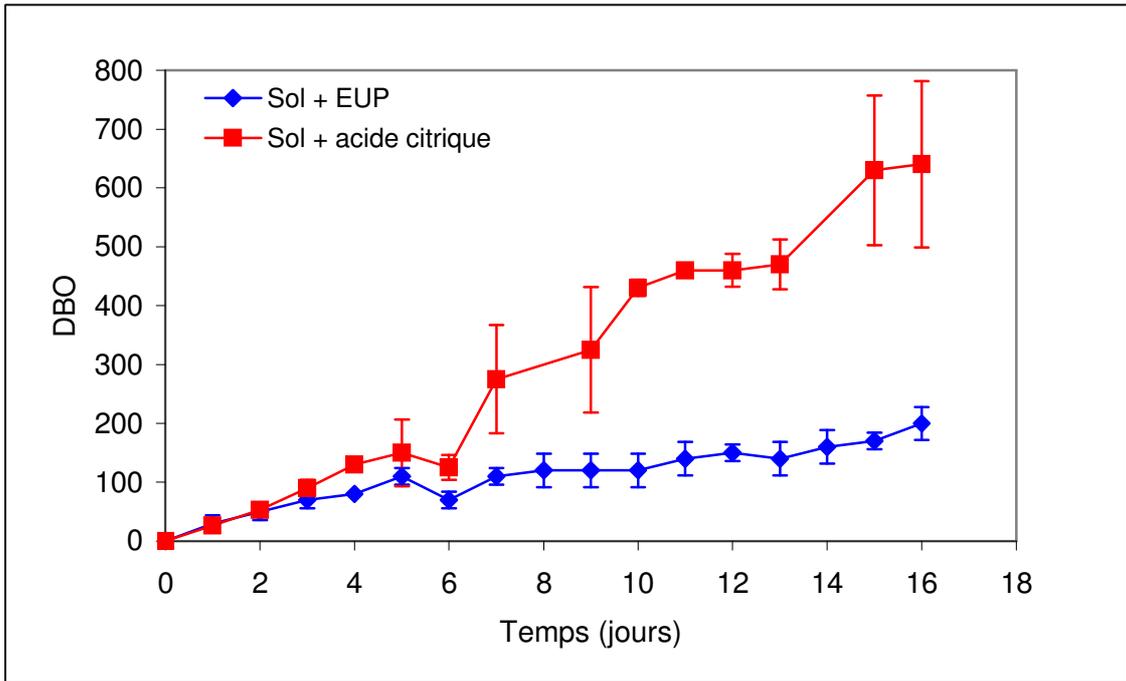


Figure III.19 : Demande biochimique en oxygène en fonction du temps

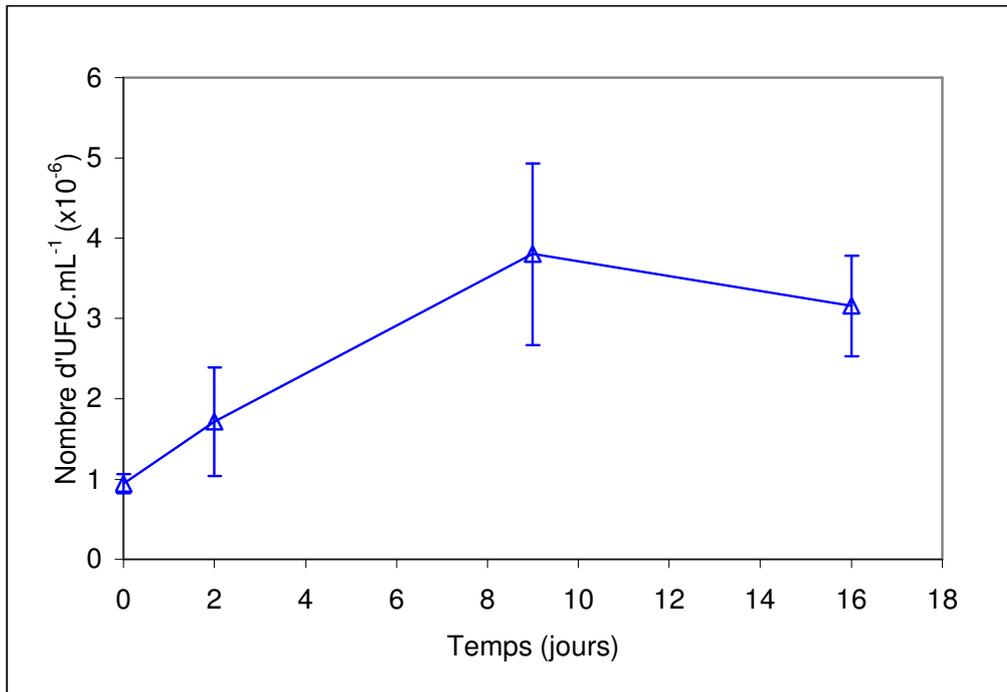


Figure III.20 : Nombre d'UFC en fonction du temps

La **Figure III.19** présente l'évolution de la demande biochimique en oxygène (DBO). Les valeurs de DBO permettent d'évaluer la respiration de la population microbienne. La DBO témoin (Sol + EUP) augmente de 0 à 200, en 16 jours. La DBO en présence d'acide citrique augmente de 0 à 600, en 16 jours. Cette augmentation est plus importante en présence d'acide citrique. L'augmentation de la DBO indique qu'il y a respiration. Cela signifie donc que la flore bactérienne s'est adaptée au milieu et qu'il y a croissance.

La **Figure III.20** présente l'évolution du nombre d'unités formant colonies (UFC) en fonction du temps. De 0 à 9 jours, le nombre d'UFC.mL⁻¹ augmente de 1 à 4. A partir du 9^{ème} jour, on observe une stabilisation du nombre d'UFC.mL⁻¹.

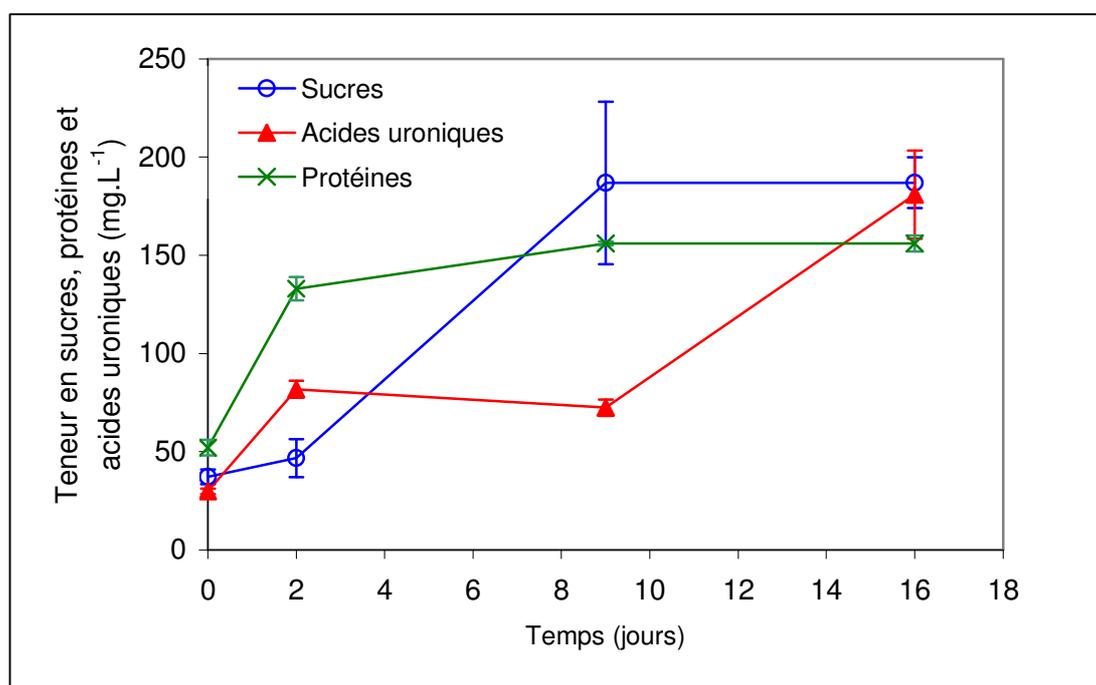


Figure III.21 : Teneur en protéines, en sucres et en acides uroniques en fonction du temps

La **Figure III.21** présente l'évolution des taux de sucres, de protéines et d'acides uroniques en fonction du temps. De 0 à 9 jours, on observe une augmentation des teneurs en sucres et en protéines. La teneur en protéines augmente de 50 à 150 mg.L⁻¹ et la teneur en sucres augmente de 35 à 200 mg.L⁻¹. A partir du 9^{ème} jour, on observe une stabilisation de ces teneurs. La teneur en acides uroniques augmente tout au long du suivi, de 25 à 175 mg.L⁻¹. Entre le 9^{ème} et le 16^{ème} jour, la teneur en acides uroniques est multipliée par deux.

Les tests respirométriques montrent une nette augmentation de l'activité microbienne à partir du 7^{ième} jour. La production de protéines est effective au cours des six premiers jours tandis que la production de sucres et d'acides uroniques est lente.

D'après Francis et al., 1992, la biodégradabilité de l'acide citrique dépend de la forme du complexe formé avec le métal et non de la toxicité du métal. En effet, Les complexes (mononucléaire bidentate) formés avec Ni, Ca, ou Fe(III) sont rapidement dégradés alors que les complexes (mononucléaire tridentate) formés avec Cd, Pb ou Fe(II) ne le sont pas.

De même, Witschel et al. (1999) ont montré que l'incorporation du complexe EDTA-métal, à l'intérieur de la cellule, dépend de la constante de complexation ; plus le complexe entre l'EDTA et le métal est stable et plus il est difficilement incorporé et dégradé. L'EDTA forme généralement des complexes stables avec les métaux, cela explique alors qu'il soit difficilement assimilé et donc persistant. Cela explique également l'absence de diminution de l'extraction de Cr et Ni en présence d'EDTA.

En conclusion, les résultats de DBO et de dilution-étalement indiquent qu'on est en présence d'une population bactérienne viable et capable de se diviser. La croissance des micro-organismes, en présence d'acide citrique, est confirmée par l'augmentation de la production des sucres, des acides uroniques et des protéines. Par conséquent, il apparaît que l'acide citrique ne subit qu'une très faible biodégradation pendant les 7 premiers jours. Par contre, à partir du 7^{ième} jour, la dégradation de l'acide citrique devient effective, ce qui peut alors justifier la diminution de la quantité de métal extrait du sol contaminé par l'activité industrielle, en présence d'acide citrique.

A partir de 120 h, le maximum d'extraction est atteint pour l'ensemble des complexants vis-à-vis du chrome. Dans le cas du nickel en présence d'EDTA, le maximum d'extraction est atteint à partir de 140 h. Vis-à-vis de l'acide citrique et de l'histidine la diminution observée est faible. La biodégradation de l'acide citrique et de l'histidine à ce stade est très faible. Par conséquent, nous avons choisi de travailler avec **un temps de contact de 140 h** pour la suite de l'étude, quel que soit le complexant.

III.2.2.2 Mobilisation en flacon

III.2.2.2.1 Mobilisation des métaux par les complexants

Les concentrations en complexant utilisées sont comprises entre 0,001 et 0,2 mol.L⁻¹ et le pH des suspensions de sol a été suivi tout au long de l'expérience.

Tableau III.11 : Variation de pH dans la suspension de sol

Complexants	pH initial	pH final
Acide citrique	6,3 ± 0,01	7,7 ± 0,03
EDTA		6,3 ± 0,02
Histidine		7,2 ± 0,01

Au bout de 140 h, nous observons une nette augmentation du pH en présence d'acide citrique et d'histidine, et une stabilité en présence d'EDTA (**Tableau III.11**). Cette augmentation a été observée précédemment (cf. § **III.2.1.2**) mais uniquement pour l'acide citrique ; elle correspond à une consommation des protons H⁺ présents dans la solution. Par conséquent, l'acide citrique et l'histidine se fixent probablement sur les sites de surface, en formant un complexe de sphère interne. Dans le cas de l'EDTA, le pH reste constant : il se fixe alors probablement sur les sites de surface par un mécanisme d'adsorption non spécifique (formation d'un complexe de sphère externe), qui induit l'absence de relargage d'ion HO⁻.

Les pourcentages de Cr et de Ni mobilisés ont été déterminés pour chaque concentration appliquée. Il augmente avec la concentration en complexant jusqu'à une valeur maximale de 0,1 mol.L⁻¹ pour les trois complexants, dans le cas de Cr (**Figure III.22 a**). Dans le cas de Ni, la valeur maximale est de 0,1 mol.L⁻¹ pour l'acide citrique, 0,01 mol.L⁻¹ pour l'EDTA et 0,05 mol.L⁻¹ pour l'histidine (**Figure III.22 b**).

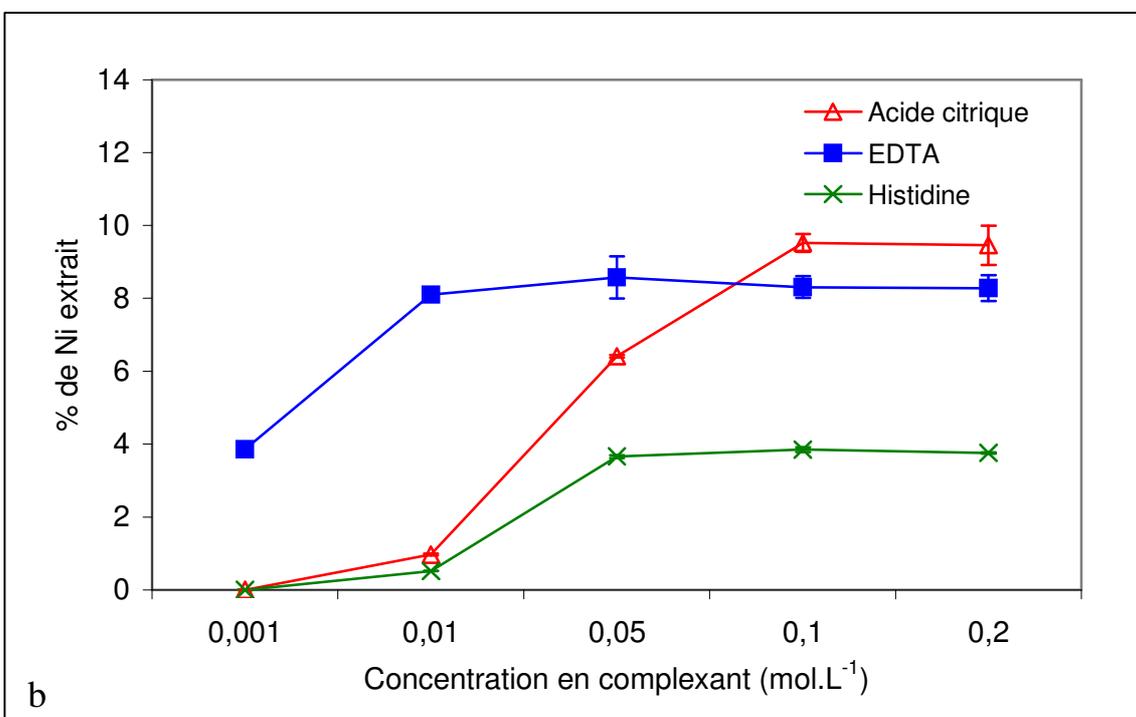
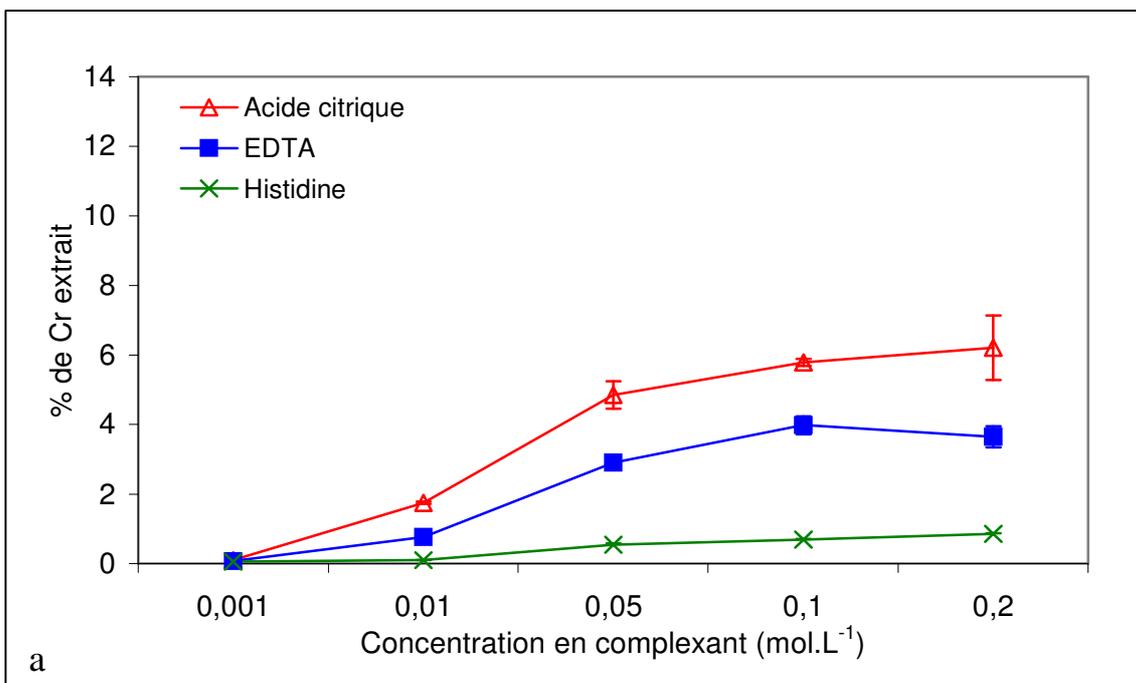


Figure III.22 : Pourcentage de Cr (a) et de Ni (b) extrait en fonction de la concentration en complexant après une seule extraction (% Cr est calculé par rapport à Cr_T)

Dans le cas du chrome, l'efficacité des complexants peut être classée de la manière suivante : acide citrique > EDTA >> histidine.

Dans le cas du nickel, l'efficacité des complexants peut être classée de la manière suivante : acide citrique > EDTA > histidine.

➤ Modélisation du système à l'équilibre

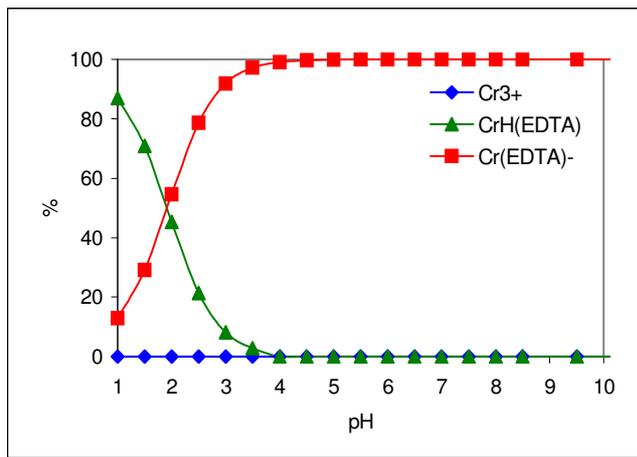
Les principales réactions de complexation entrant en jeu dans le système ont été estimées en utilisant le logiciel de modélisation MINEQL+. Les conditions appliquées ont été décrites précédemment (cf. § III.2.1.2). Les éléments métalliques pris en compte sont présentés dans le **Tableau III.12**.

Tableau III.12 : Eléments solubilisés par les complexants après une extraction (140 h) ; concentration en complexant 0,05 mol.L⁻¹

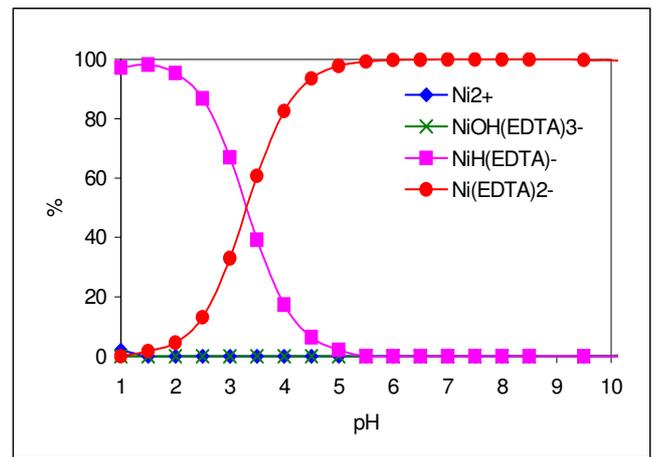
Métaux solubilisés	Concentration (μmol.L ⁻¹)		
	EDTA	Acide citrique	Histidine
Al	7360 ± 82	10579 ± 39	82 ± 4
Fe	4570 ± 76	5850 ± 44	29 ± 2
Mg	564 ± 7	1150 ± 13	218 ± 2
Ca	4360 ± 150	3550 ± 79	788 ± 4
Mn	877 ± 17	909 ± 12	49 ± 2
Co	14,8 ± 0,3	14,1 ± 0,2	4,7 ± 0,2
Cu	14 ± 1	0,94 ± 0,06	4,9 ± 0,9
Zn	13,09 ± 0,05	16,8 ± 0,8	3,6 ± 0,2
Pb	11,8 ± 0,1	1,01 ± 0,05	<LD ^a
Cr	5,3 ± 0,2	8,3 ± 0,1	0,82 ± 0,02
Ni	46 ± 2	25 ± 1	18 ± 1

a : limite de détection

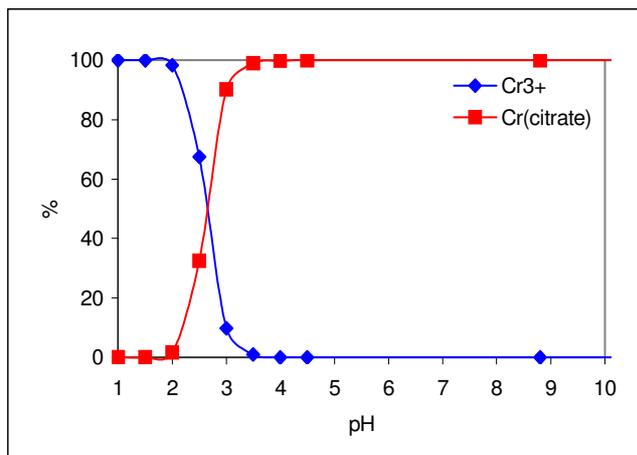
Ainsi, au pH du sol (pH = 6,3), le Cr(III) est totalement complexé à l'EDTA et à l'acide citrique, sous les formes Cr(EDTA)⁻ (**Figure III.23 a**) et Cr(citrate)⁰ (**Figure III.23 b**). Ni(II) est totalement complexé à l'EDTA et à l'histidine, respectivement sous les formes Ni(EDTA)²⁻ (**Figure III.23 c**) et Ni(histidine)₂ (**Figure III.23 e**). Dans le cas de l'acide citrique, il se forme : 10 % de Ni(citrate)⁻, 30 % de NiH(citrate)₂³⁻ et 60 % Ni(citrate)₂⁴⁻ (**Figure III.23 d**).



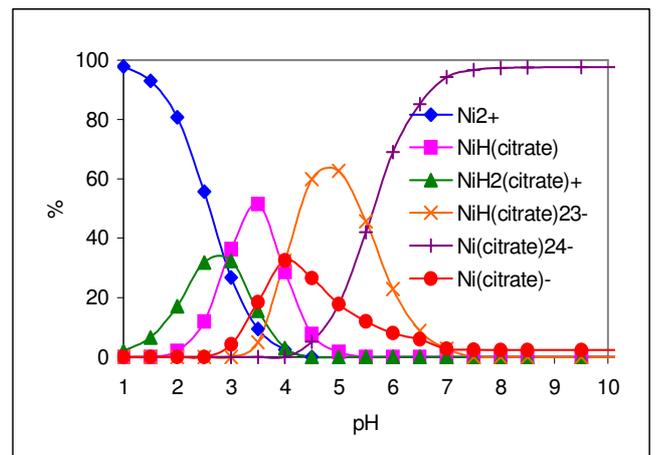
a



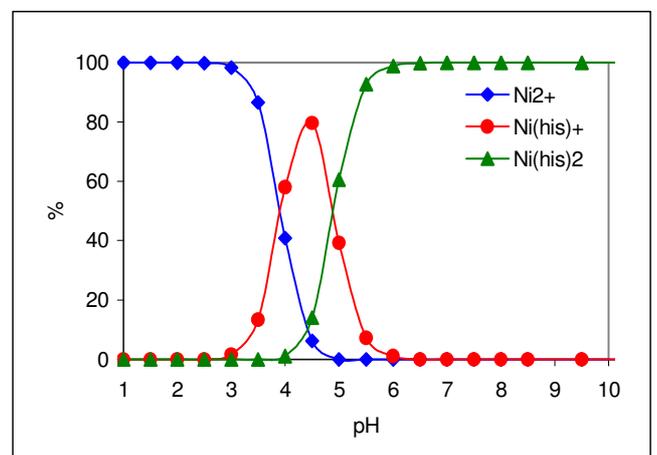
c



b



d



e

Figure III.23 : Diagrammes de spéciation de Cr(III) et Ni(II) en présence d'EDTA, d'acide citrique et d'histidine (modélisation par MINEQL+) ; **a** Cr-EDTA, **b** Cr-citrate, **c** Ni-EDTA, **d** Ni-citrate, **e** Ni-histidine

Comme pour le sol modèle, nous avons observé que le Cr(III) est plus solubilisé par l'acide citrique que par l'EDTA alors que le $\log K(\text{Cr}(\text{EDTA}^-))$ est supérieur au $\log K(\text{Cr}(\text{citrate}^0))$ (cf. **Chap. I, Tableau I.9**). Par conséquent, l'efficacité des complexants observée pour l'extraction de Cr et de Ni n'est pas directement liée aux constantes de complexation.

De même, l'ordre d'efficacité des complexants ne peut s'expliquer uniquement par la différence de pH au cours de l'expérience.

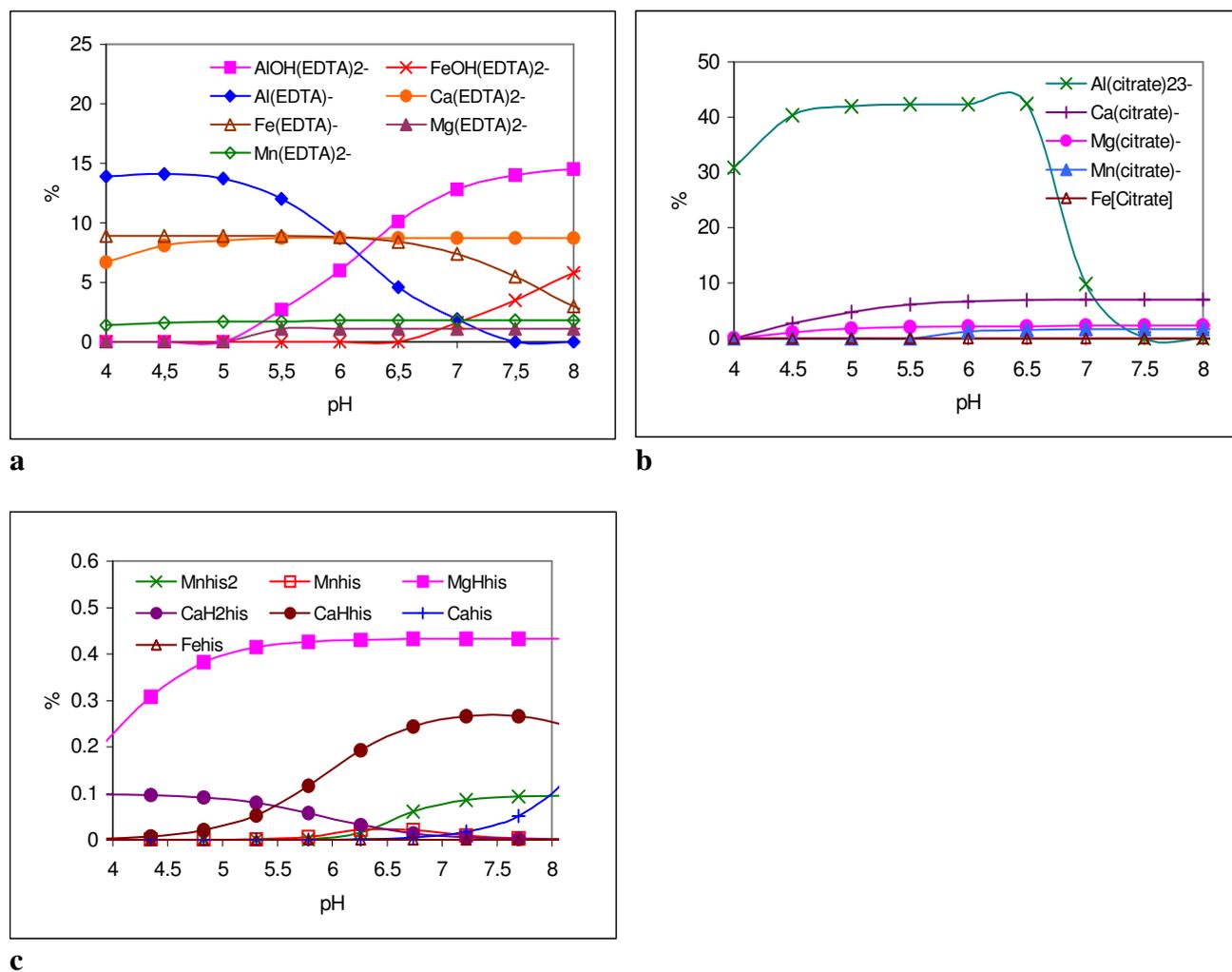


Figure III.24 : Diagrammes de spéciation de l'EDTA (a), de l'acide citrique (b) et de l'histidine (c) (modélisation par MINEQL+) avec les différents éléments métalliques présents dans le sol contaminé par l'activité industrielle

Au cours de l'expérience, les éléments majeurs tels que Ca, Fe, Mn, Al et Mg (**Tableau III.12**) sont mobilisés en même temps que les éléments cibles Cr et Ni. Comme pour le sol modèle contaminé, les courbes Fe[citrate] ou Fehis²⁺ sont proches de 0 sur les diagrammes de spéciation (**Figure III.24**), Fe étant sans doute mobilisé non pas par le complexant sous sa forme libre, mais par un complexe métal-complexant (Tandy et al. 2004).

Malgré la mobilisation de ces autres éléments, les complexants restent en excès. En effet, 60 % de l'acide citrique est sous forme libre, 85 % de l'EDTA et plus de 99 % de l'histidine (**Figure III.24**). Ils restent donc disponibles pour mobiliser Cr et Ni. Il apparaît alors que la spéciation des complexants n'explique pas cette différence d'efficacité.

➤ Détermination des teneurs en Cr(VI) à l'équilibre

Après une extraction durant 140 h, en présence de complexant à 0,05 mol.L⁻¹, un dosage de Cr(VI) a été réalisé et les quantités de Cr(III) déterminées par différences (**Tableau III.13**).

Tableau III.13 : Spéciation de Cr mobilisé après une extraction (140 h) ; concentration en complexant 0,05 mol.L⁻¹

Complexant	Cr(VI) (µg.L ⁻¹)	Cr(VI) (%) ^a
Acide citrique	186 ± 40	1,6 ± 0,3
EDTA	64 ± 10	0,56 ± 0,09
Histidine	15 ± 3	0,1 ± 0,03
Eau	<LD ^b	-

a : % Cr est calculé à partir du chrome total (113 mg.kg⁻¹)

b : limite de détection

Comme nous l'avons observé pour le sol modèle, Cr(VI) est davantage mobilisé par l'acide citrique (1,6) que par l'EDTA (0,6) ou l'histidine (0,1) (**Tableau III.13**).

L'acide citrique est plus efficace que l'EDTA et l'histidine pour solubiliser Cr. La mobilisation de Cr se ferait donc par deux mécanismes : la compétition au niveau des sites de surface et les réactions de complexation.

D'après le **Tableau III.12**, des éléments tels que Fe, Mn et Al sont fortement mobilisés par l'acide citrique et l'EDTA. En effet, l'EDTA et l'acide citrique sont capables de dissoudre des phases porteuses des sols, notamment les oxydes (cf. § III.2.1.2).

D'après la **Figure III.26**, l'acide citrique mobilise plus les éléments que l'EDTA. Par conséquent, en présence d'acide citrique, les phases porteuses du sol sont plus solubilisées

qu'en présence d'EDTA ou d'histidine. Ceci pourrait, par conséquent, expliquer la forte mobilisation de Cr.

Le nickel, étant sous la forme Ni^{2+} , la mobilisation se fait par des réactions de complexation. L'efficacité de mobilisation ne dépendra alors que des constantes de complexation. Cependant, à partir de $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$, l'acide citrique devient aussi efficace que l'EDTA pour mobiliser Ni, car il solubilise les phases porteuses davantage que l'EDTA (**Figure III.26**).

En conclusion, comme pour le sol modèle contaminé, l'efficacité des complexants dépend des réactions de **complexation**, de la **compétition** et de la **dissolution des phases porteuses** du sol. Les deux complexants les plus efficaces sont **l'acide citrique** et **l'EDTA**, à une concentration de **$0,05 \text{ mol.L}^{-1}$** .

III.2.2.2.2 Extractions répétées

Dans le but d'étudier l'extractabilité maximale du chrome et du nickel, dans le cas d'une pollution récalcitrante, nous avons effectué des extractions répétées sur le même échantillon de sol, en renouvelant la solution de complexant ($0,05 \text{ mol.L}^{-1}$), à chaque nouvelle extraction.

Quel que soit le complexant, le pourcentage en Cr extrait durant la première et la deuxième extraction reste constant, soit $4,0 \pm 0,3 \%$ pour l'acide citrique, $2,7 \pm 0,2 \%$ pour l'EDTA et $0,40 \pm 0,03 \%$ pour l'histidine (**Figure III.25**). Lors de la troisième extraction, on observe une diminution pour l'acide citrique (de $4,0 \pm 0,3 \%$ à $0,7 \pm 0,3 \%$) et l'EDTA ($2,7 \pm 0,2 \%$ à $0,45 \pm 0,01 \%$), alors que pour l'histidine, on observe une augmentation (de $0,40 \pm 0,03 \%$ à $0,81 \pm 0,04 \%$).

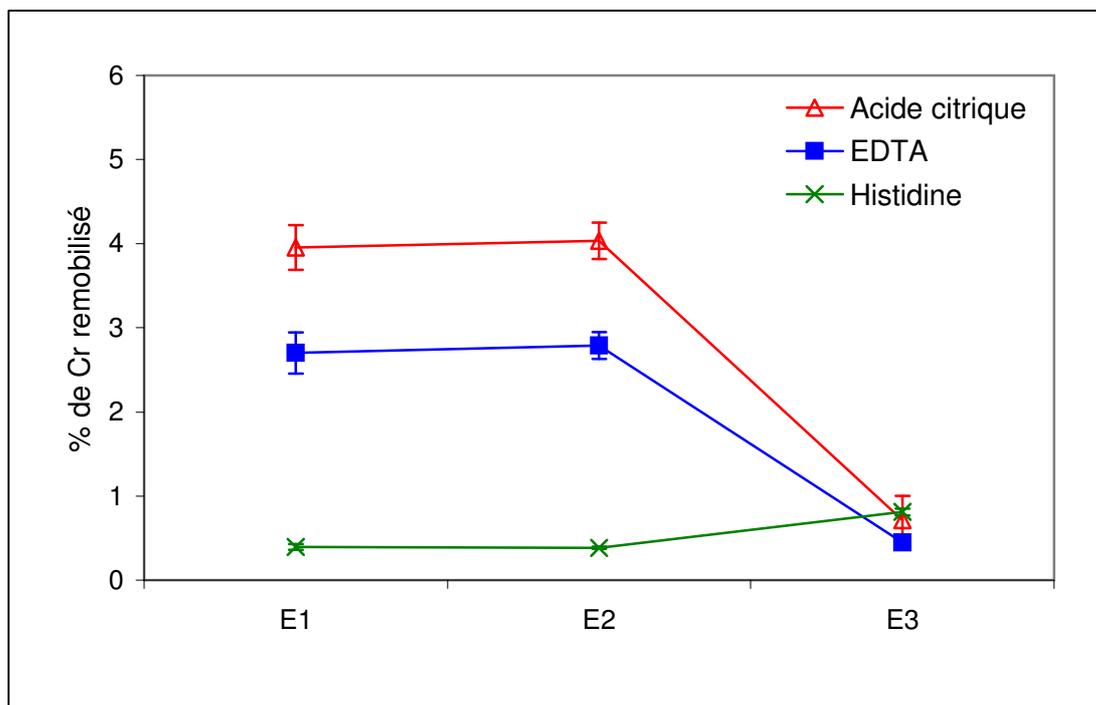


Figure III.25 : Extractions répétées de Cr (E1 : 1^{ière} extraction, E2 : 2^{ième} extraction, E3 : 3^{ième} extraction) ; % Cr est calculé par rapport à Cr_T ; concentrations en complexant 0,05 mol.L⁻¹.

Lors de la deuxième extraction, le pourcentage de Cr extrait reste constant. L'acide citrique et l'EDTA sont capables de solubiliser la matrice du sol (**Figure III.26**). Cette solubilisation permet de maintenir le pourcentage en Cr extrait constant. Lors de la troisième extraction, on observe une diminution de Cr mobilisé, car le "pool" de chrome mobilisable, dans les conditions expérimentales, est épuisé, d'où la diminution du pourcentage de Cr mobilisé. L'histidine extrait Cr de manière moins importante comparée à l'acide citrique et à l'EDTA. Le pourcentage en Cr, tout en étant faible, reste constant au cours des deux premières extractions. Une augmentation à la troisième extraction est observée. Cette augmentation est sans doute due à la dissolution des phases porteuses. En effet, contrairement à l'acide citrique et à l'EDTA, la dissolution des phases porteuses, en présence d'histidine, diminue de manière moins importante (**Figure III.26**).

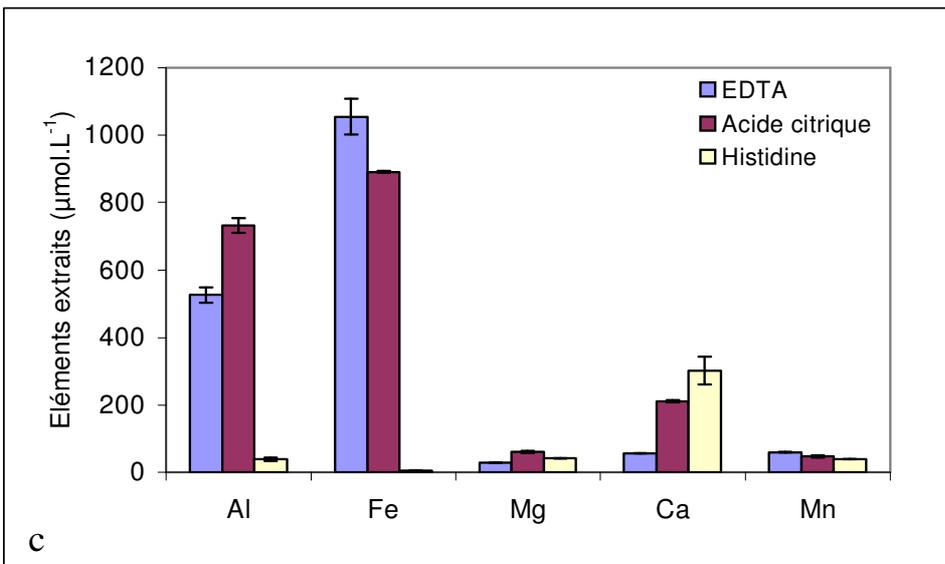
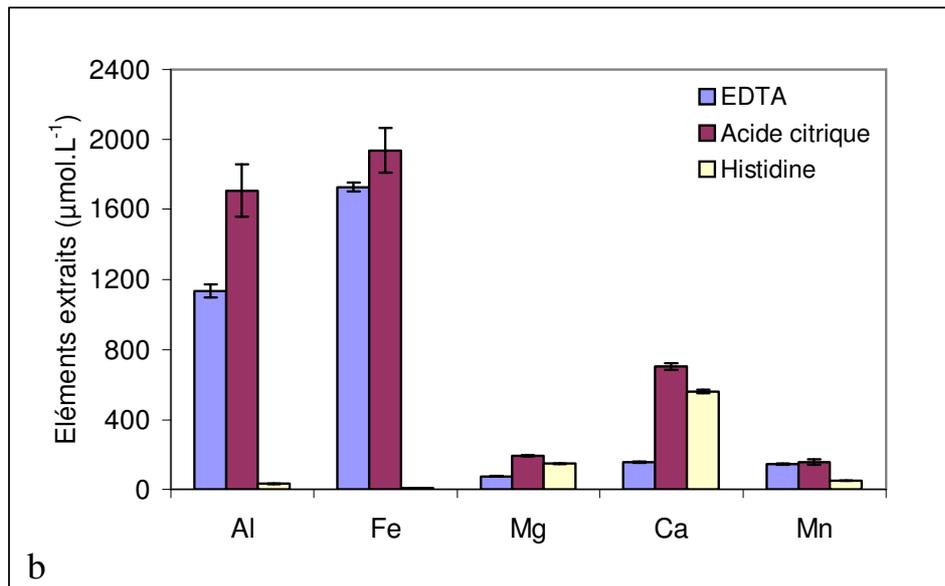
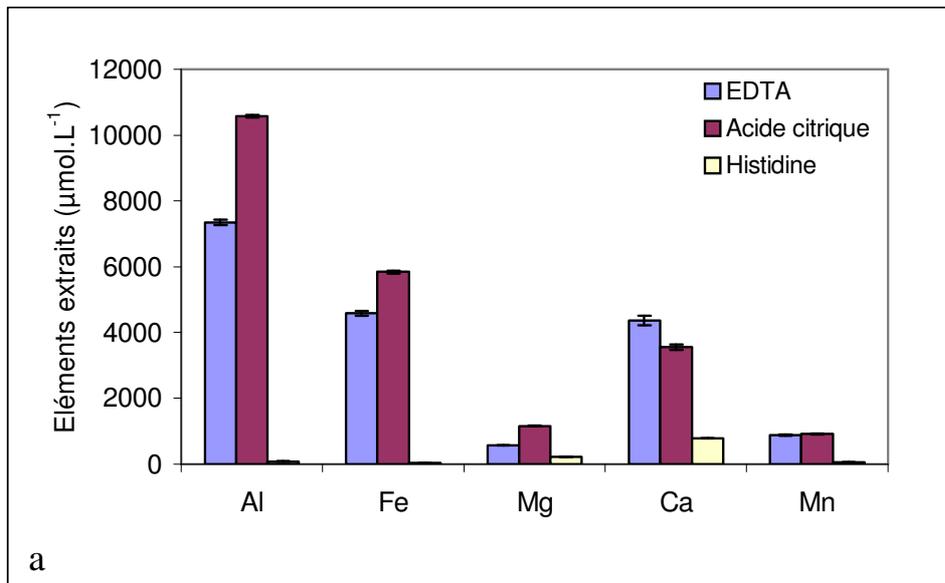


Figure III.26 : Eléments solubilisés par les complexants après une (a), deux (b), et trois (c) extractions (140 h) ; concentration en complexant $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$

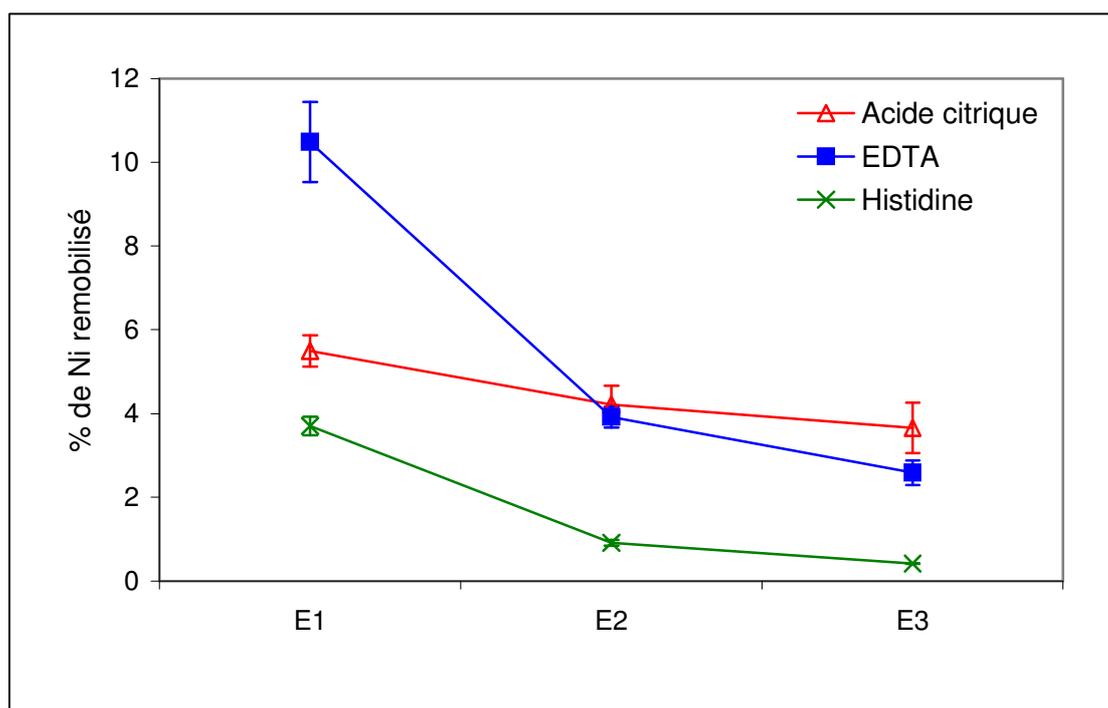


Figure III.27 : Extractions répétées de Ni (E1 : 1^{ière} extraction, E2 : 2^{ième} extraction, E3 : 3^{ième} extraction) ; concentrations en complexant 0,05 mol.L⁻¹.

Dans le cas de Ni, la diminution s'observe dès la deuxième extraction pour les trois complexants (**Figure III.27**). Lors de la première extraction, l'acide citrique mobilise $5,5 \pm 0,4$ % de Ni, $4,2 \pm 0,5$ % lors de la deuxième et $3,7 \pm 0,6$ % lors de la troisième extraction. L'EDTA extrait 10 ± 1 %, $3,9 \pm 0,2$ %, $2,6 \pm 0,3$ % de Ni lors de la première, deuxième et troisième extraction. L'histidine mobilise $3,7 \pm 0,2$ %, $0,9 \pm 0,1$ %, $0,42 \pm 0,01$ % de Ni, lors de la première, deuxième et troisième extraction. Il apparaît que la diminution observée est plus importante pour l'EDTA et l'histidine que pour l'acide citrique. En effet, l'EDTA et l'histidine mobilisent Ni, essentiellement par des mécanismes de complexation. Ainsi, lors de la première extraction, Ni accessible étant extrait par l'EDTA et l'histidine, dans la deuxième et la troisième extraction, il est alors faiblement mobilisé, d'où la diminution du pourcentage extrait. L'acide citrique mobilise Ni par des mécanismes de complexation mais aussi en solubilisant les phases porteuses (**Figure III.26**), d'où la constance du pourcentage extrait après chaque application.

Les résultats montrent qu'une seule application de complexant ne permet pas une extraction maximale des métaux à extraire. De même, Finžgar et Leštan (2005) ont montré que plusieurs applications d'EDTA sont plus efficaces pour l'extraction de métaux.

En présence de complexants, les métaux sont extraits d'un stock mobilisable défini par les conditions expérimentales. Dans le cas de Cr, ce stock est épuisé après la deuxième extraction tandis que Ni est épuisé dès la première extraction. Pour une extractabilité maximale de ces deux métaux, il est nécessaire d'effectuer au moins deux applications de complexant. Par conséquent, pour une extraction optimale par les plantes, deux applications de complexant seraient recommandées.

III.2.2.2.3 Extractions séquentielles après mobilisation

Après 140 h en présence de complexant, les échantillons de sol sont récupérés et la répartition de Cr et Ni dans les différentes phases de ces échantillons est déterminée.

Ainsi, Cr et Ni restent principalement dans la fraction résiduelle (R4) (**Figure III.28**, **Figure III.29**).

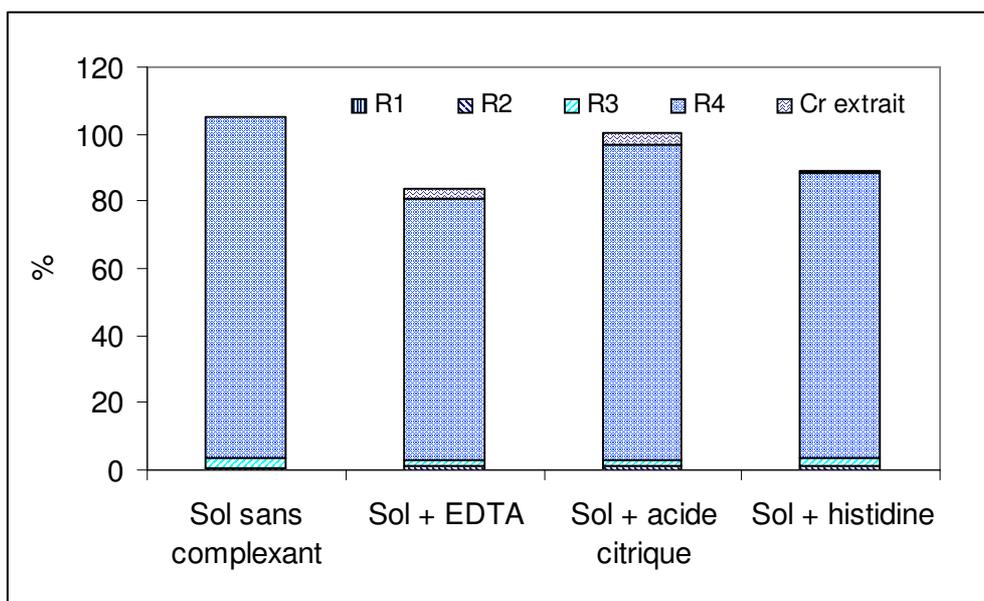


Figure III.28 : Fractionnement de Cr dans l'échantillon de sol avant et après traitement (extraction de 140 h ; concentration en complexant 0,05 mol.L⁻¹)

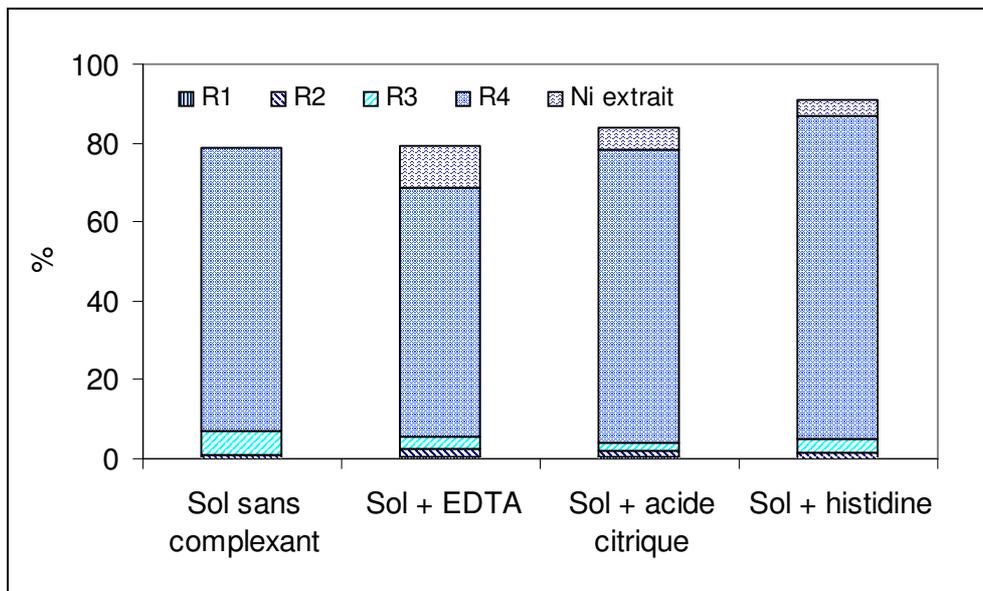


Figure III.29 : Fractionnement de Ni dans l'échantillon de sol avant et après traitement (extraction de 140 h) ; concentration en complexant $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$

La teneur en Ni dans les trois premières fractions (R1 + R2 + R3) passe de $8 \pm 1\%$ à $4,6 \pm 0,7 \%$, quel que soit le complexant. Ni est donc extrait majoritairement de la fraction dite échangeable (R1), fraction facilement accessible aux complexants (**Figure III.29**), mais aussi des fractions réductible (R2) et oxydable (R3).

Dans le cas de Cr, la somme des trois premières fractions reste constante. Elle est de $3,6 \pm 0,2 \%$ et de $3,3 \pm 0,4 \%$, respectivement avant et après l'extraction. Cependant, la teneur en Cr diminue dans la fraction R3 et augmente dans la fraction R2. Elle passe de $3,00 \pm 0,08\%$ à $1,9 \pm 0,2 \%$, dans le cas de R3, et de $0,60 \pm 0,02 \%$ à $1,09 \pm 0,2$ dans le cas de R2.

Une des critiques qui revient dans le cas des extractions séquentielles, est le manque de spécificité des réactifs pour une phase donnée. Donc, même si le chlorure d'hydroxylammonium est le réactif réducteur le plus adapté, il ne permet pas une dissolution complète des oxydes de fer (Xiao-Quan et Bin, 1993; La Force et Fendorf, 2000; Davidson et al., 2004; Neaman et al., 2004). Par conséquent, le chrome lié aux oxydes de fer, extrait en même temps que la fraction résiduelle, durant les extractions séquentielles, se redistribue sur les premières fractions (R1 et R2), au cours des expériences de mobilisation en présence de complexant. Ainsi, Cr serait extrait de R3 et R4 et puis redistribué sur les deux premières fractions (R1 + R2).

Ce comportement peut également expliquer les résultats obtenus précédemment, concernant Cr (cf. **Chap. III, § III.2.2.2.2**). Lors des extractions répétées, le pourcentage en

Cr mobilisé reste constant au cours des deux premières extractions. Ainsi, lors de la première extraction, une part de Cr provenant des fractions R3 et R4 se redistribue sur les fractions R1 et R2. C'est ce Cr redistribué qui est alors mobilisé lors de la deuxième extraction, d'où la constance du pourcentage mobilisé.

En ce qui concerne les deux autres extractions, les modifications de la spéciation n'ont pu être évaluées significativement du fait : des faibles pourcentages d'extractions, des changements possible dans la structure du sol (dissolution des phases minérales) ainsi que du manque de sélectivité des réactifs, conjugué aux risques de réadsorption au cours de l'extraction.

En conclusion, la mobilisation en présence de complexants modifie faiblement la répartition du chrome et du nickel dans les différentes fractions du sol. Les modifications essentielles se sont produites au niveau des fractions facilement mobilisables.

III.3 Conclusion

L'acide citrique et l'EDTA ont été identifiés comme étant les complexants les plus efficaces pour la mobilisation du chrome et du nickel. La mobilisation de ces deux métaux, se fait principalement par trois mécanismes : les réactions de **complexation**, de **compétition** au niveau des sites de surface et la **dissolution** des phases porteuses du sol.

Au cours des extractions, la concentration de $0,05 \text{ mol.L}^{-1}$, en acide citrique et en EDTA, est apparue la plus appropriée pour mobiliser Cr et Ni et limiter la solubilisation des phases porteuses. Cependant, cette concentration reste trop élevée pour une application en présence de plantes. Par conséquent, du fait des risques de phytotoxicité, des concentrations plus faibles sont nécessaires pour les expériences de phytoextraction. De plus, le chrome et le nickel du sol contaminé par l'activité industrielle sont extraits d'un stock mobilisable qui nécessite au moins deux applications de complexant, pour une mobilisation maximale. En présence du sol modèle, ces deux applications sont également nécessaires du fait d'une biodégradation rapide de l'acide citrique. Par conséquent, pour une extraction optimale par les plantes, **deux applications de complexant** seront testées lors des expériences de phytoextraction.

CHAPITRE IV :
INTERACTIONS SOL-MÉTAL-PLANTE

IV INTERACTIONS SOL-MÉTAL-PLANTE

Dans ce chapitre, nous allons présenter les résultats portant sur la phytoextraction. La plante retenue pour cette étude est *Datura innoxia*. Cette espèce a la capacité d'accumuler des métaux tout en développant une forte biomasse (cf. **Chap. II, § II.2.6**).

Les cultures ont été réalisées en serre. Après germination, les plantules ont été cultivées sur de la perlite. Les plantes ont ensuite été transférées d'une part sur le sol modèle contaminé et mûré et d'autre part sur le sol contaminé par l'activité industrielle, avec application des complexants les plus efficaces, identifiés au chapitre précédent (cf. **Chap. III, § III.2.2.2**), en l'occurrence, l'acide citrique et l'EDTA.

Cette partie fait l'objet d'une publication (Jean et al., 2007b) reproduite en **Annexe 8**.

IV.1 Culture de *Datura innoxia* sur le sol modèle contaminé et mûré

IV.1.1 Effet de l'EDTA et de l'acide citrique sur *Datura innoxia*

IV.1.1.1 Effet sur la croissance

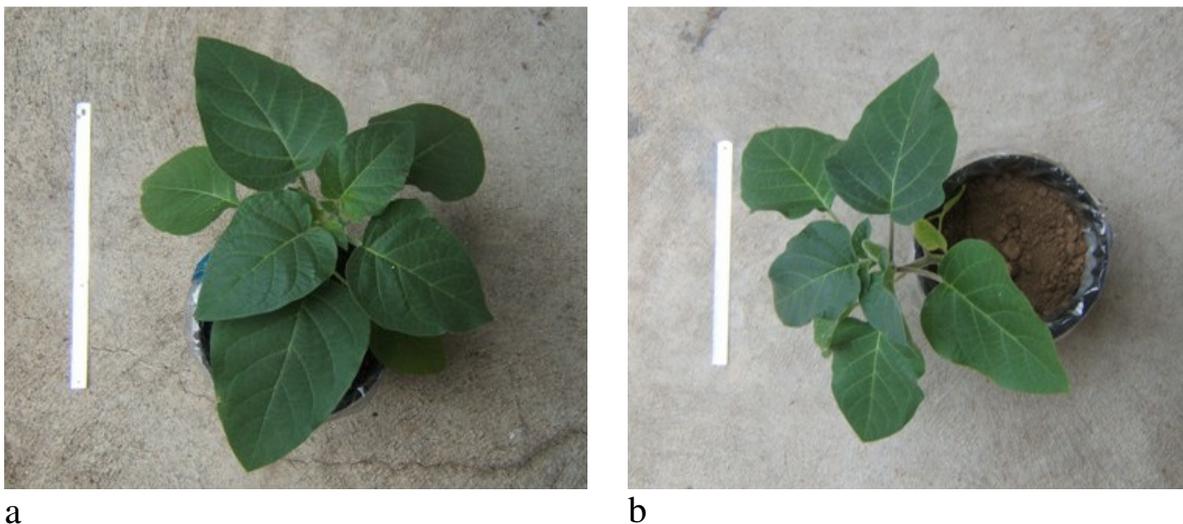


Figure IV.1 : *Datura innoxia* cultivée sur terreau (a) et sol modèle contaminé et mûré (b)

La **Figure IV.1 a** et la **Figure IV.1 b** présentent, respectivement, *Datura innoxia* après 15 jours de culture sur du terreau et sur le sol modèle contaminé et mûré, sans application de complexant. Les plantes sont ensuite récoltées et séchées. Les **Figure IV.2** et **Figure IV.3** présentent la quantité de matière sèche de ces plantes.

Les résultats montrent qu'il n'y a pas de différences apparentes de développement entre les plantes cultivées sur le terreau et celles cultivées sur le sol modèle contaminé. Les masses de chaque partie de la plante présentent des valeurs proches (**Figure IV.2**).

Après 15 jours de culture, *Datura* se développe aussi bien sur le terreau que sur le sol modèle contaminé. Elle ne présente aucun signe de stress. Par conséquent, le sol modèle contaminé n'a pas d'effets négatifs sur la croissance de *Datura innoxia*. Cela montre que *Datura* est tolérante au chrome et au nickel apportés au sol.

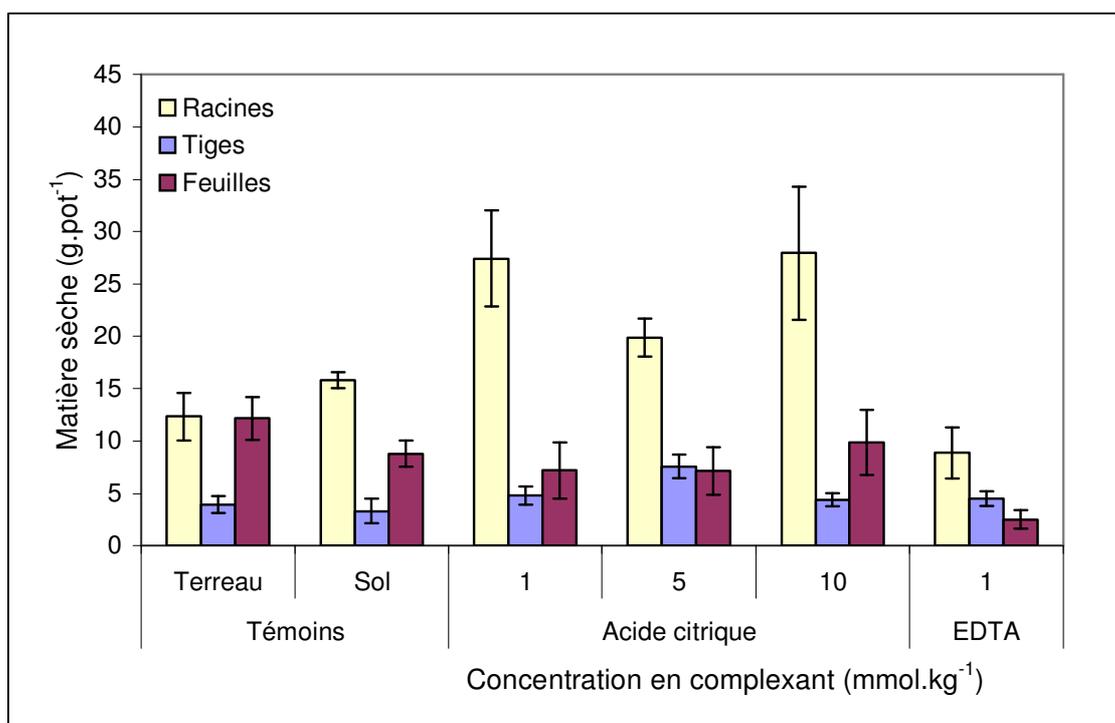


Figure IV.2 : Effet de l'acide citrique et de l'EDTA sur la croissance de *Datura innoxia*, après une application à 1, 5 et 10 mmol.kg⁻¹

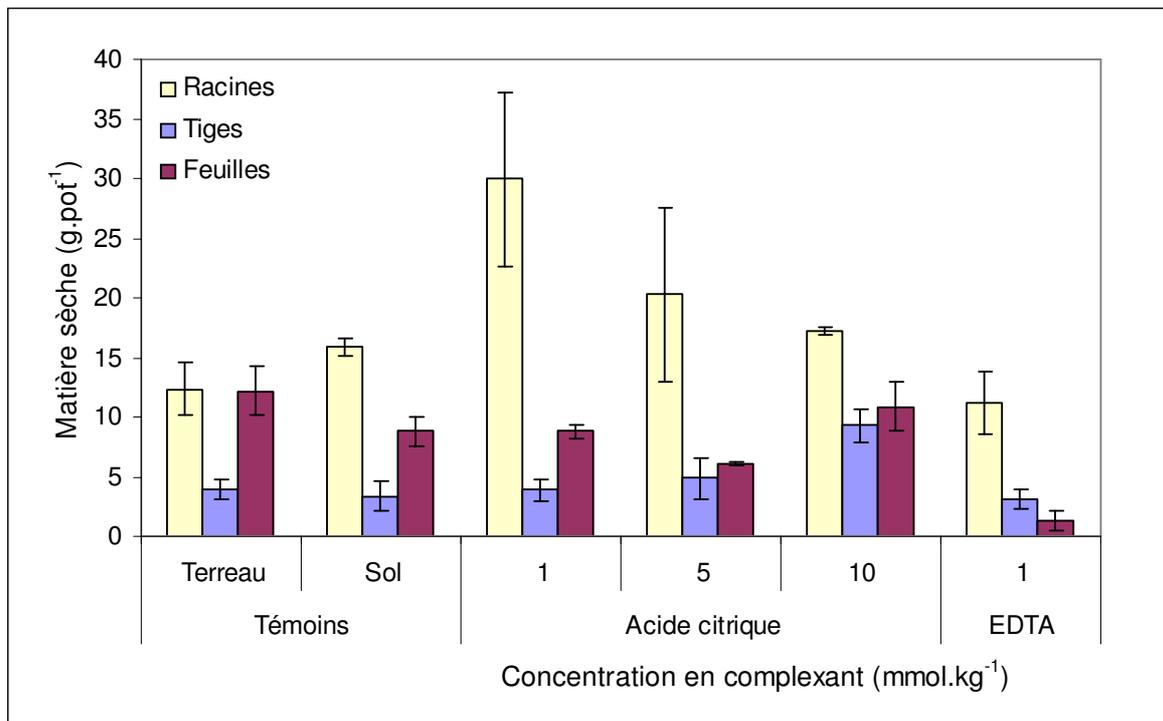


Figure IV.3 : Effet de l'acide citrique et de l'EDTA sur la croissance de *Datura innoxia*, après deux applications à 1, 5 et 10 mmol.kg⁻¹

La **Figure IV.4** présente les plantes cultivées sur le sol modèle contaminé, après une ou deux applications d'acide citrique. Les plantes présentent des signes de chlorose et de nécrose.

Quelle que soit la concentration en acide citrique appliqué, il n'y a pas de différences significatives avec les témoins (**Figure IV.2** et **Figure IV.3**).



a



d



b



e



c



f

Figure IV.4 : *Datura innoxia* après une (a, b, c) ou deux (d, e, f) application d'acide citrique à différentes concentrations (1, 5 et 10 mmol.kg⁻¹)

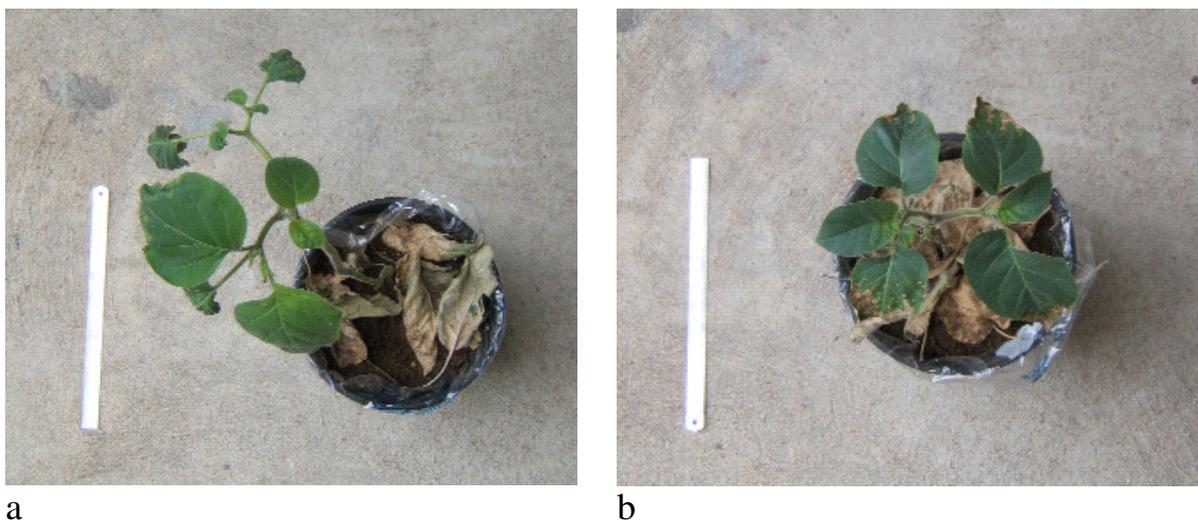


Figure IV.5 : *Datura innoxia* après une (a) ou deux (b) application d'EDTA à 1 mmol.kg^{-1}

Quel que soit le mode d'application et quelle que soit la concentration, *Datura innoxia* présente des signes de phytotoxicité en présence d'EDTA. En effet, après l'application d'EDTA à 1 mmol.kg^{-1} , les plantes présentent des signes de nécrose, notamment après deux applications (**Figure IV.5**). De plus, nous pouvons observer une diminution de la croissance au niveau des racines et des feuilles (**Figure IV.2** et **Figure IV.3**). Après l'application d'EDTA à 5 et 10 mmol.kg^{-1} , les plantes présentent des signes de flétrissement un jour après l'application du complexant. Au bout de 15 jours de culture, les plantes traitées sont mortes (**Figure IV.6**).



Figure IV.6 : *Datura innoxia* après l'application d'EDTA à 5 et 10 mmol.kg^{-1}

IV.1.1.2 Effet sur la photosynthèse

La **Figure IV.7** présente l'effet de l'acide citrique et de l'EDTA sur la photosynthèse nette (Pn) de *Datura innoxia*. La technique de mesure de la photosynthèse nette est présentée en **Annexe 5**.

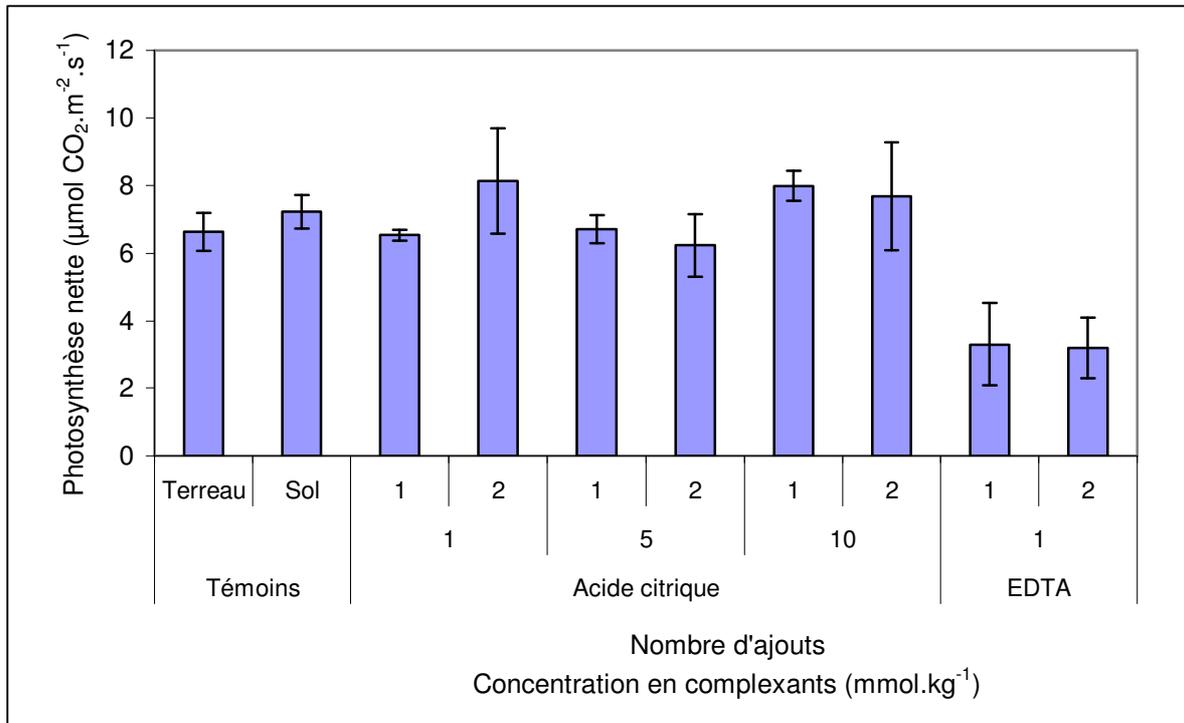


Figure IV.7 : Effet de l'acide citrique et de l'EDTA sur la photosynthèse nette de *Datura innoxia* après une ou deux applications à 1, 5 et 10 mmol.kg⁻¹

Nous pouvons observer que les plantes cultivées sur le sol modèle contaminé, sans ajouts de complexants, présentent le même Pn que celles cultivées sur le terreau (**Figure IV.7**).

Après l'application d'acide citrique, les plantes cultivées sur le sol modèle contaminé présentent en moyenne un Pn de 7 µmol CO₂.m⁻².s⁻¹, cela quelle que soit la concentration et quel que soit le nombre d'application en acide citrique. La concentration en acide citrique appliquée n'a donc pas d'influence sur l'activité photosynthétique de *Datura innoxia*.

Après l'application d'EDTA à 1 mmol.kg⁻¹, les plantes cultivées sur le sol contaminé par l'activité industrielle présentent un Pn moyen de 3 µmol CO₂.m⁻².s⁻¹, quel que soit le mode d'application (**Figure IV.7**). Nous avons observé précédemment que les plantes présentent une perte de biomasse foliaire et des signes de nécroses (**Figure IV.2, Figure IV.3**

et **Figure IV.5**) après l'application d'EDTA, d'où cette diminution de l'activité photosynthétique.

IV.1.1.3 Effets sur l'absorption d'éléments essentiels

IV.1.1.3.1 Au niveau des racines

La **Figure IV.8** présente les teneurs en Fe, Mn, Mg (**Figure IV.8 a**), Zn et Cu (**Figure IV.8 b**) dans les racines de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹.

L'application d'acide citrique entraîne, d'une manière générale une diminution des teneurs en Mn dans les racines (**Figure IV.8 a**). Cette diminution est d'autant plus importante que la concentration en acide citrique appliquée augmente. Dans le cas de Fe, Mg, Zn et Cu, il n'y a pas de modifications significatives de leur accumulation (**Figure IV.8 a** et **Figure IV.8 b**). De même, l'application d'EDTA n'entraîne pas de modifications de l'accumulation de Fe, Mn, Mg et Cu (**Figure IV.8 a** et **Figure IV.8 b**). Cependant, nous pouvons observer une diminution dans le cas de Zn.

En présence de complexant, les teneurs des éléments mesurés n'augmentent pas de manière significative dans la plante. De plus, certains éléments présentent une diminution de leur absorption. L'application des complexants ne semble pas modifier la quantité d'éléments absorbée.

IV.1.1.3.2 Au niveau des tiges

La **Figure IV.9** présente les teneurs en Fe, Mn, Mg (**Figure IV.9 a**), Zn et Cu (**Figure IV.9 b**) dans les tiges de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹.

L'application d'acide citrique entraîne une augmentation de Fe (**Figure IV.9 a**) dans les tiges. Cette augmentation tend à diminuer quand la concentration en acide citrique augmente. Dans le cas de Mn et Cu, nous pouvons observer une diminution quand la concentration en acide citrique augmente. En revanche, il n'a aucun effet significatif sur l'absorption de Mg et Zn.

L'application d'EDTA entraîne une augmentation de Mg (**Figure IV.9 a**) et une diminution de Cu (**Figure IV.9 b**) dans les tiges. Il n'y a pas d'effets significatifs sur l'absorption de Fe, Mn et Zn.

Nous avons vu précédemment qu'en présence de complexant, les teneurs en ces différents éléments n'augmentent pas dans les racines. Toutefois, il y a une augmentation du transfert de Fe vers les tiges.

IV.1.1.3.3 Au niveau des feuilles

La **Figure IV.10** présente les teneurs en Fe, Mn, Mg (**Figure IV.10 a**), Zn et Cu (**Figure IV.10 b**) dans les feuilles de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹.

L'application d'acide citrique entraîne une augmentation de Mn aux faibles concentrations (**Figure IV.10 a**). Nous pouvons observer également une augmentation de Fe et Cu (**Figure IV.10 b**). En revanche, l'application d'acide citrique n'a aucun effet significatif sur l'absorption de Mg et Zn.

L'application d'EDTA entraîne une augmentation de Fe, Mn, Zn. Dans le cas de Cu, nous pouvons observer diminution de l'accumulation.

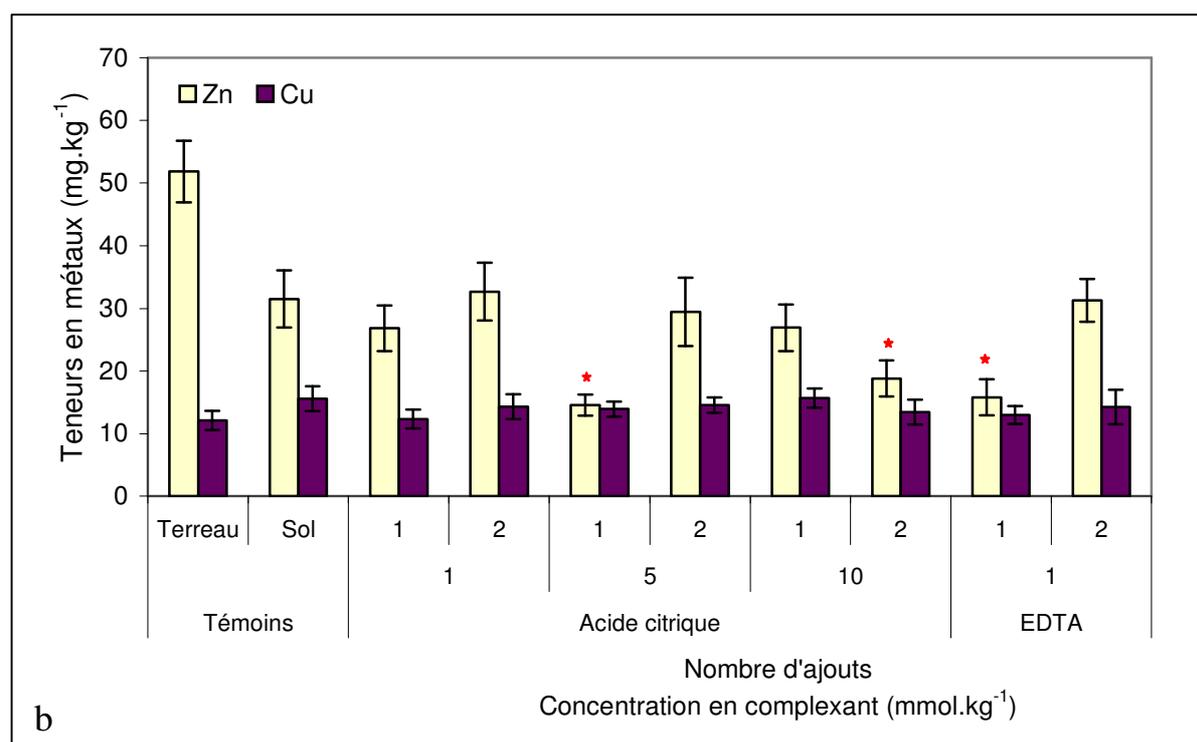
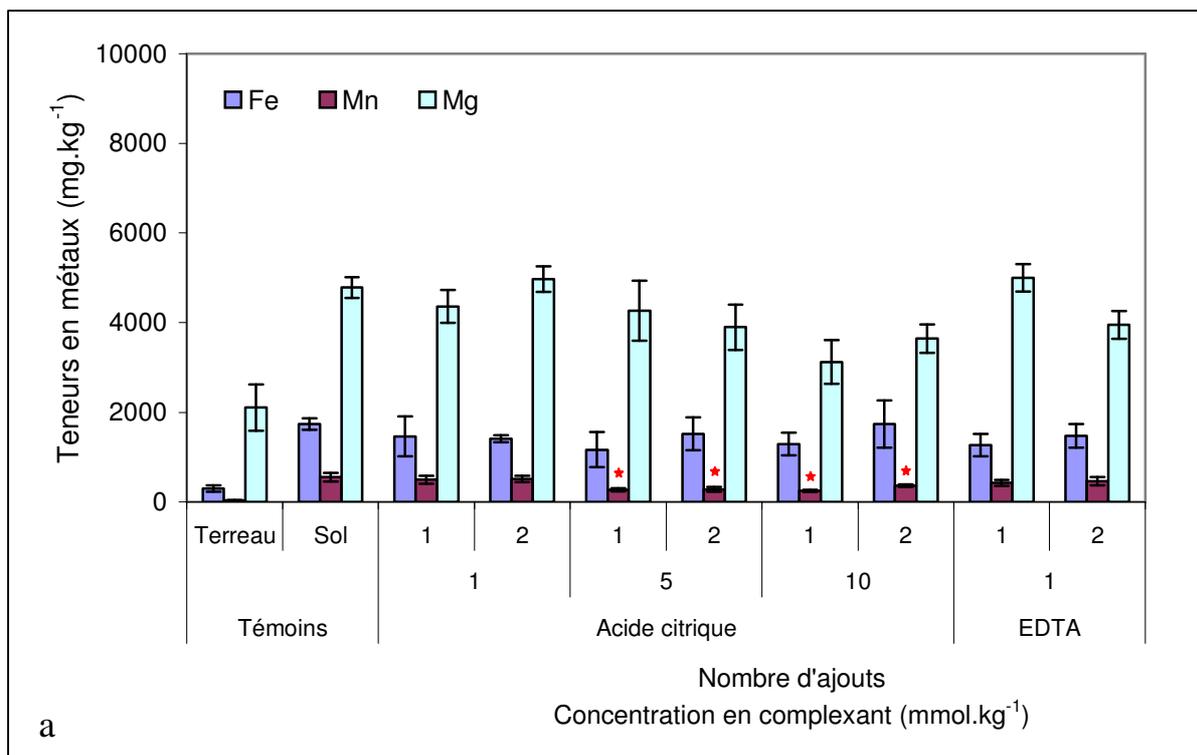


Figure IV.8 : Teneurs en Fe, Mn, Mg (**a**), Zn et Cu (**b**) dans les racines de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (★ = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

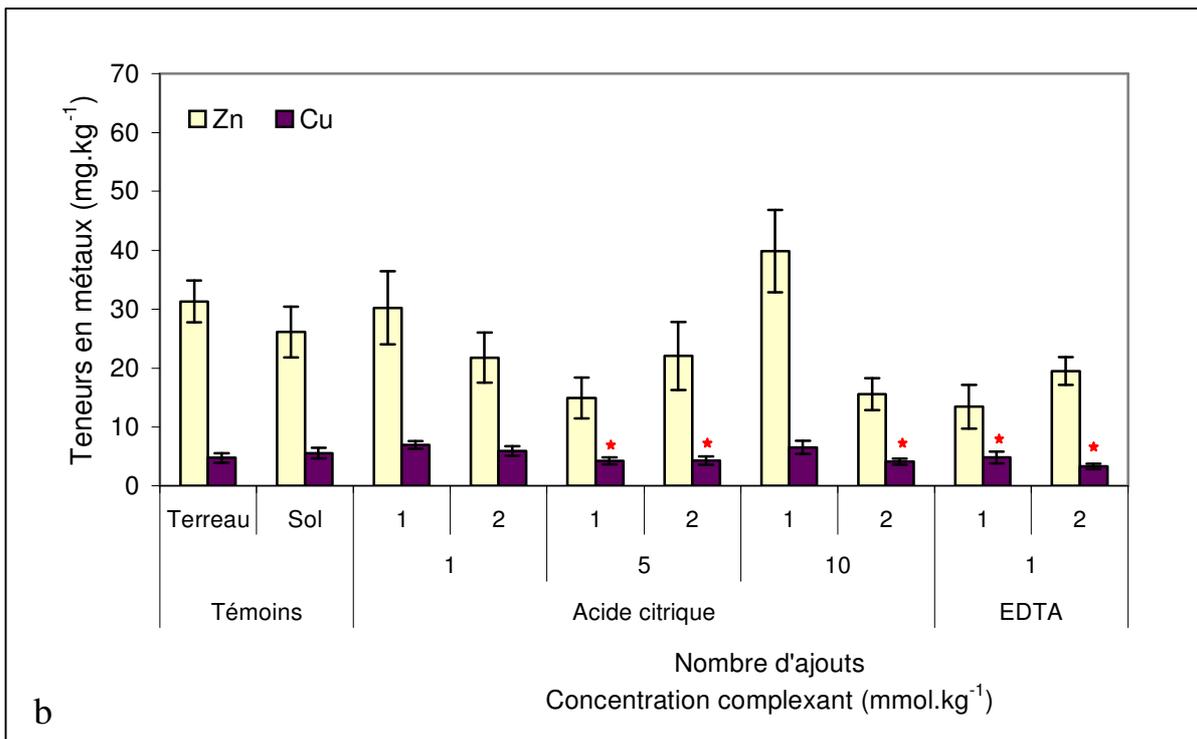
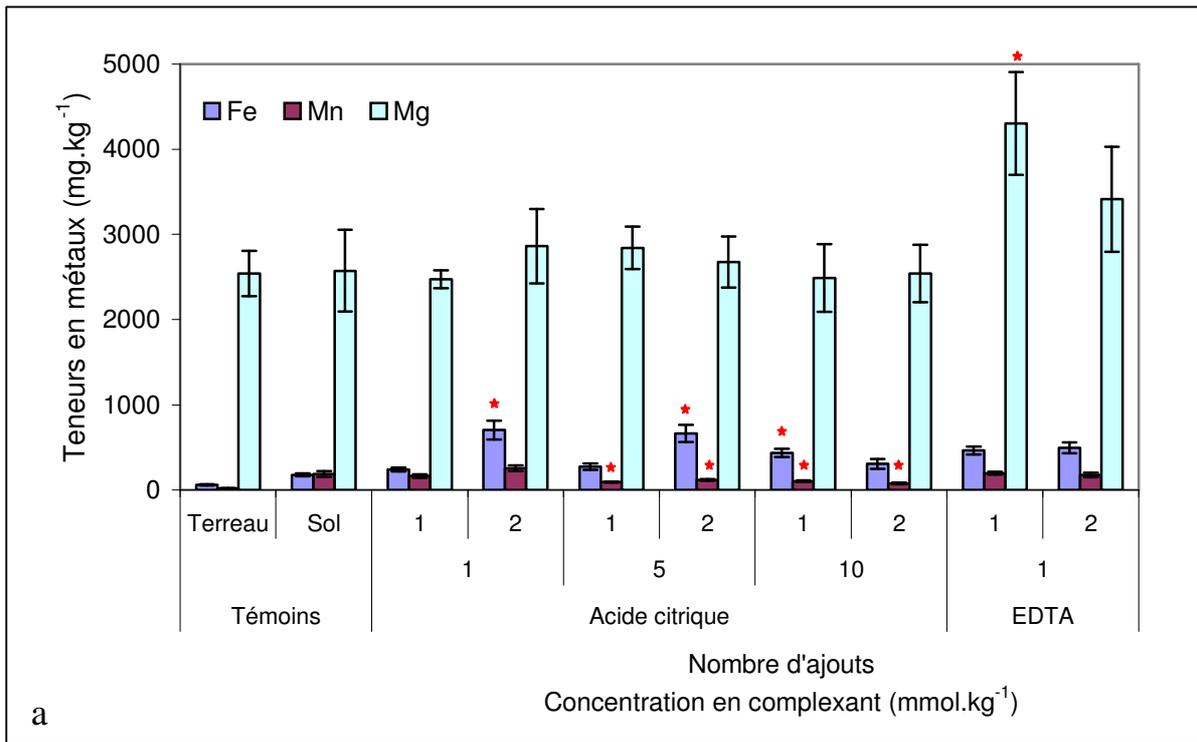


Figure IV.9 : Teneurs en Fe, Mn, Mg (a), Zn et Cu (b) dans les tiges de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (* = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

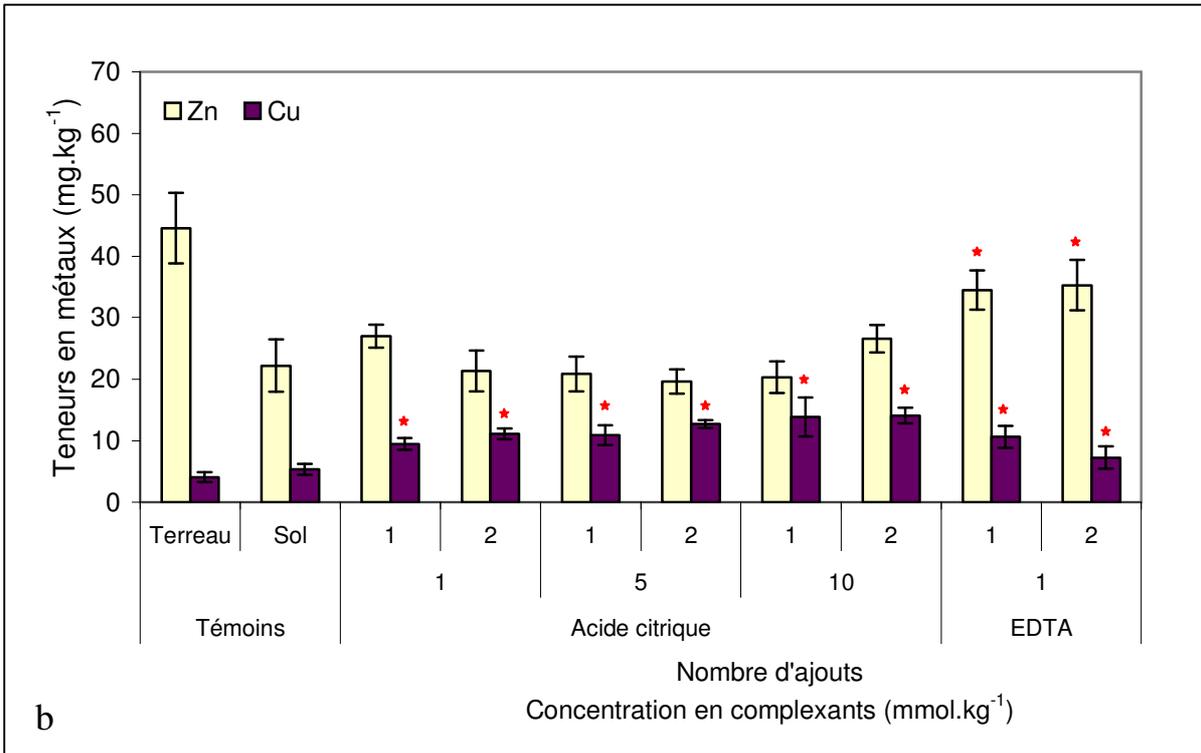
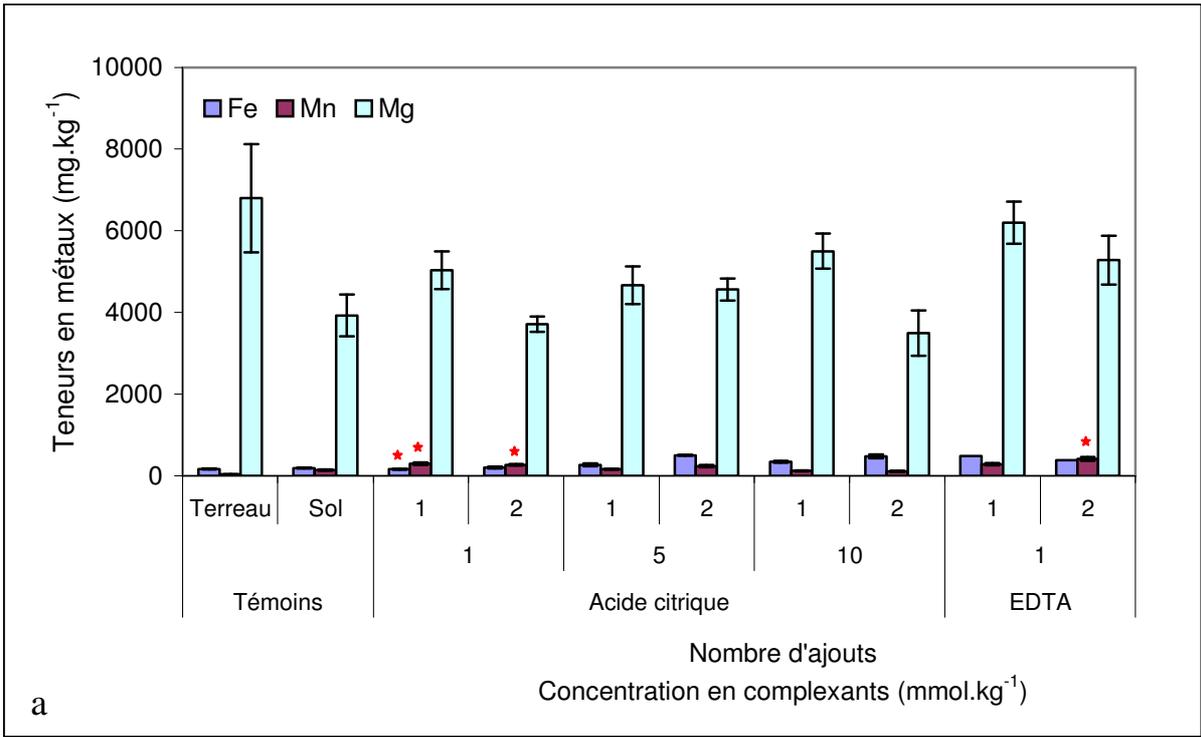


Figure IV.10 : Teneurs en Fe, Mn, Mg (**a**), Zn et Cu (**b**) dans les feuilles de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (★ = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

IV.1.1.4 Conclusion

Après 15 jours de culture, *Datura innoxia* se développe aussi bien sur le terreau que sur le sol modèle contaminé. Elle ne présente aucun signe de stress. Cependant, l'application de complexants a des effets phytotoxiques sur sa croissance. En effet, une diminution de la biomasse est observée, notamment en présence d'EDTA. Aux fortes concentrations, l'acide citrique entraîne des signes de chlorose et de nécrose bien que la photosynthèse nette ne soit pas significativement modifiée, ce qui peut s'expliquer par le fait que les mesures se font sur des feuilles jeunes adaptées au stress. L'EDTA à faible concentration entraîne à la fois une diminution de la biomasse et une diminution de la photosynthèse nette. A forte concentration, il entraîne la mort des plantes.

De même, nous avons observé, en effectuant des ajouts de complexants sur le sol non contaminé, des effets phytotoxiques. Après l'application d'acide citrique, quelques signes de chlorose apparaissent aux fortes concentrations. L'application d'EDTA aux fortes concentrations entraîne la mort des plantes et une perte de biomasse à 1 mmol.kg^{-1} .

Les complexants appliqués sur le sol modifient la solubilité des différents éléments présents dans le sol et augmentent ainsi leur absorption par les plantes. En effet, Komárek et al. (2007b) ont observé une augmentation de l'accumulation de Fe et Mn par le maïs, à la suite d'expériences de phytoextraction assistée par l'EDTA sur des sols pollués par Pb. Ils ont alors mis en évidence le rôle important joué par la dissolution des oxydes de Fe et de Mn par des expériences d'extractions séquentielles et de modélisation. De même, nous avons mis en évidence (cf. **Chap. III, § III.2.1 et III.2.2**) la dissolution des phases porteuses permettant ainsi la mobilisation des métaux qui leur sont liés. Les plantes absorbent ainsi en plus grandes quantités des éléments nutritifs mais aussi des éléments toxiques, modifiant les processus physiologiques. De plus, les complexants sont absorbés par les plantes. Ils se présentent alors sous forme complexée à différents éléments (éléments nutritifs et métaux) mais aussi sous forme libre. Une fois dans la plante, les complexants, sous forme libre, peuvent alors se complexer à d'autres éléments essentiels au bon développement de la plante. Ces éléments, impliqués dans différents processus physiologiques, ne sont plus disponibles pour la plante. Cela entraîne alors des modifications dans les différentes réactions biochimiques qui ont lieu dans la plante. Par conséquent, les différents processus biochimiques ne peuvent plus se mettre en place normalement, ralentissant ainsi la croissance de la plante et entraînant des perturbations à l'origine de signes phytotoxiques tels que la chlorose et les nécroses (Vassil et al., 1998).

Les signes de phytotoxicité ainsi que leur intensité sont différents d'un complexant à l'autre ; ils sont plus importants après l'application d'EDTA. En effet, l'EDTA possède un pouvoir complexant plus fort que l'acide citrique. L'acide citrique solubilise alors moins d'éléments que l'EDTA. De plus, une fois dans la plante, l'acide citrique complexe moins d'éléments essentiels que l'EDTA d'où un effet phytotoxique moins important.

IV.1.2 Effet de l'acide citrique sur l'absorption du chrome et du nickel

Dans le **Chapitre III** (cf. § **III.2**), nous avons mis en évidence une mobilisation efficace du chrome et du nickel par les complexants, l'acide citrique d'une part et l'EDTA d'autre part. Ainsi, l'application de ces complexants sur le sol (cf. **Chap. II, § II.2.6.2**) permet d'augmenter la part de métal accessible pour les plantes.

IV.1.2.1 Effet sur l'absorption de Cr

La **Figure IV.11** présente la teneur en Cr dans les différentes parties de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants. La distribution de Cr, entre la partie racinaire et la partie aérienne, chez *datura* est la même quelle que soit la quantité de métal biodisponible (sol contaminé, sol contaminé + complexant). En effet, Cr est principalement retrouvé dans les racines (**Figure IV.11**).

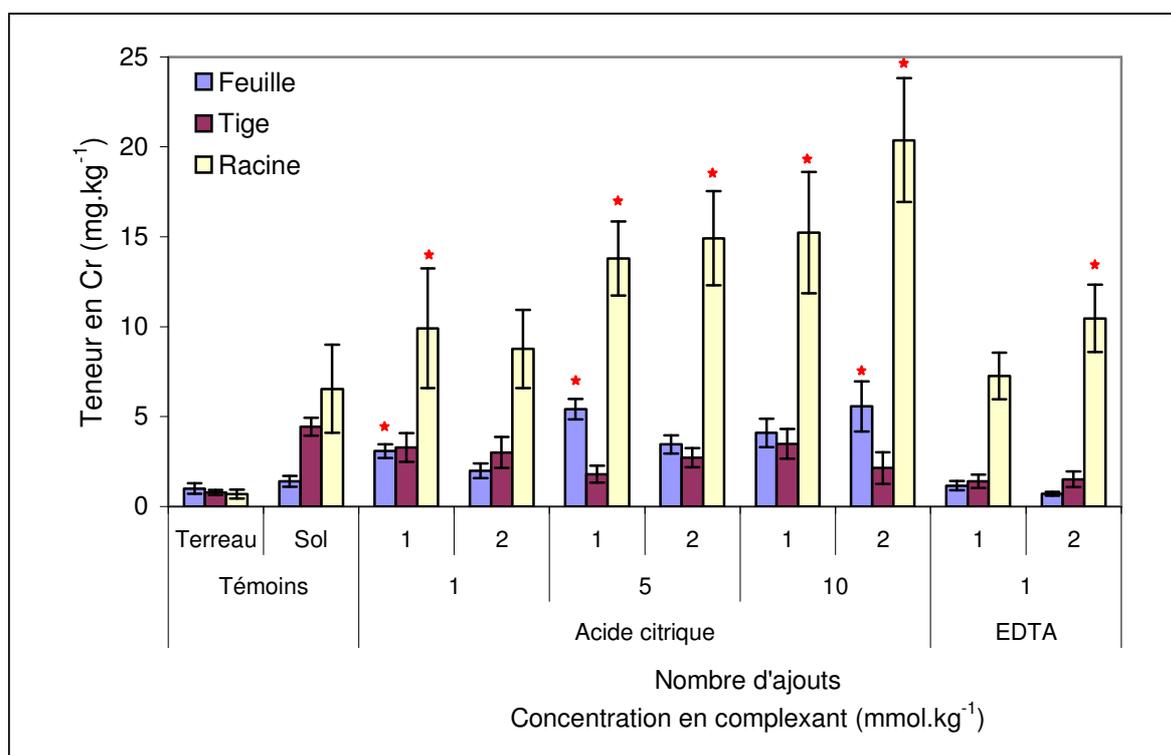


Figure IV.11 : Teneurs en Cr dans les différentes parties de *Datura innoxia* (racine, tige, feuille) après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (★ = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

L'application d'acide citrique entraîne une augmentation des teneurs en Cr dans les racines. Cette augmentation est d'autant plus importante que la concentration en acide citrique augmente. Quel que soit le nombre d'application et quelle que soit la concentration en acide citrique, il n'y a pas de différences significatives dans l'accumulation de Cr dans les tiges. L'application d'acide citrique entraîne une augmentation des teneurs en Cr dans les feuilles. Cette augmentation est d'autant plus importante que la concentration en acide citrique augmente (**Figure IV.11**).

Le chrome est présent principalement dans les racines. Il peut être retenu au niveau des sites d'échanges cationique des cellules du xylème ou être séquestré dans des vacuoles au niveau des racines, d'où les fortes teneurs observées dans les racines. Cela peut être un mécanisme naturel permettant aux plantes de tolérer de fortes concentrations en métal, en le rendant moins toxique (Shanker et al., 2005 ; Mangabeira et al., 2006). Cependant, il peut passer dans la circulation du xylème et être transporté vers les parties aériennes. Cela peut être associé au fait que le chélate formé entre l'acide citrique et le chrome augmente le transport en réduisant l'affinité du chrome pour les sites de fixation se trouvant au niveau des racines (Wenzel et al. 2003; Zayed et Terry, 2003).

IV.1.2.2 Effet sur l'absorption de Ni

La **Figure IV.12** présente la teneur en Ni dans les différentes parties de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants.

Contrairement à Cr, l'application d'acide citrique entraîne une diminution de l'accumulation de Ni dans les racines. Cette diminution est d'autant plus importante que la concentration en acide citrique est importante. De même, nous pouvons observer une diminution des teneurs en Ni dans les tiges.

L'application de l'acide citrique à 1 mmol.kg⁻¹ entraîne une augmentation de la teneur en Ni dans les feuilles. Cependant, à partir de 5 mmol.kg⁻¹, nous pouvons observer une diminution de l'accumulation. Toutefois, elle reste supérieure à celle des témoins.

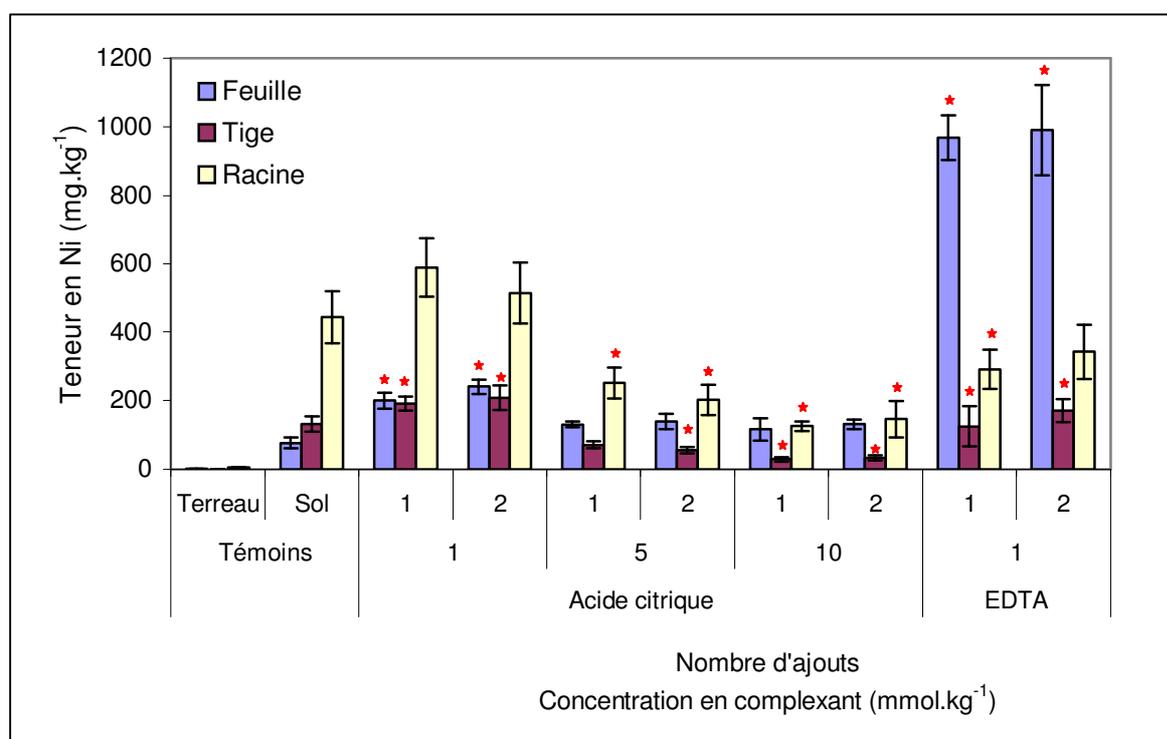


Figure IV.12 : Teneurs en Ni dans les différentes parties de *Datura innoxia* (racine, tige, feuille) après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (★ = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

Le nickel est principalement présent dans la partie racinaire de la plante, pour le témoin sol et la faible concentration en acide citrique. Comme le chrome, il peut être retenu au niveau des sites d'échanges cationique des cellules du xylème ou être séquestré dans des vacuoles au niveau des racines. Nous avons également observé une forte augmentation de l'accumulation au niveau des feuilles. Comme pour le chrome, l'acide citrique améliore le

transport du nickel vers les parties aériennes en réduisant son affinité pour les sites de fixation se trouvant au niveau des racines (Wenzel et al. 2003; Zayed et Terry, 2003). Cependant, aux plus fortes concentrations en acide citrique l'accumulation du nickel n'est plus augmentée. Il semblerait alors que *Datura innoxia* mette en place un mécanisme d'exclusion du nickel lorsqu'il est en trop grande concentration et facilement accessible dans le milieu.

IV.1.3 Effet de l'EDTA sur l'absorption du chrome et du nickel

IV.1.3.1 Effet sur l'absorption de Cr

Après une application de 1 mmol.kg⁻¹ d'EDTA, la teneur en Cr reste constante dans les racines mais diminue dans les tiges et les feuilles (**Figure IV.11**).

Compte tenu des effets négatifs de l'EDTA sur *Datura innoxia* (cf. **Chap. IV, § IV.1.1**). Les plantes présentent une diminution de leur biomasse racinaire et foliaire. Par conséquent, l'absorption au niveau des racines est altérée, d'où la diminution de la teneur en Cr dans les tiges et les feuilles. De plus, d'après Zayed et Terry (2003), le complexe formé entre Cr et l'EDTA ne traverse pas facilement la barrière racinaire.

IV.1.3.2 Effet sur l'absorption de Ni

Quel que soit le nombre d'application, l'EDTA entraîne une diminution des teneurs en Ni dans les racines mais une augmentation dans les feuilles. Dans les tiges, elles restent constantes (**Figure IV.12**).

L'EDTA possède vis-à-vis du nickel une forte constante de complexation (cf. **Chap. I, § I.7.2.3**). Nous avons également observé que Ni est fortement mobilisé par l'EDTA (cf. **Chap. III, § III.2**). Ainsi, l'EDTA mobilise de manière importante Ni, qui est ensuite absorbé massivement puis transféré vers les parties aériennes. Les systèmes de contrôle, tels que la séquestration au niveau des racines ou l'exclusion semblent insuffisants, d'où les teneurs importantes de nickel au niveau des feuilles.

IV.1.4 Efficacité d'absorption et d'accumulation

Les **Figure IV.13** et **Figure IV.14** présentent les teneurs en Cr et Ni dans les différentes parties de *Datura innoxia*. Les teneurs représentées correspondent à des teneurs totales en métal ramenées à la plante entière. Cette présentation permet de prendre en compte de la diminution de la biomasse.

Nous pouvons observer une augmentation de la teneur en Cr dans les racines de *Datura innoxia*. Cette augmentation est d'autant plus importante que la concentration en acide citrique augmente (**Figure IV.13**). Dans les tiges et les feuilles, la teneur en Cr reste constante.

Dans le cas de l'EDTA, nous pouvons observer une diminution des teneurs en Cr dans les différentes parties de la plante. Les quantités totales de Cr dans les racines diminuent bien que les concentrations augmentent ce qui est dû à la diminution de la biomasse racinaire en présence d'EDTA.

Contrairement à Cr, l'application d'acide citrique entraîne une diminution des teneurs en Ni dans les racines, notamment aux fortes concentrations. De même, nous pouvons observer une diminution de la teneur en Ni dans les tiges et les feuilles à partir de 5 mmol.kg^{-1} (**Figure IV.14**). Cette diminution est d'autant plus grande que la concentration en acide citrique appliquée augmente.

Comme dans le cas de Ni, l'application d'EDTA entraîne une diminution de Ni total dans les racines bien que sa concentration augmente dans cette partie de la plante, ce qui est dû à la diminution de la biomasse racinaire. L'accumulation dans les tiges et les feuilles reste constante (**Figure IV.14**).

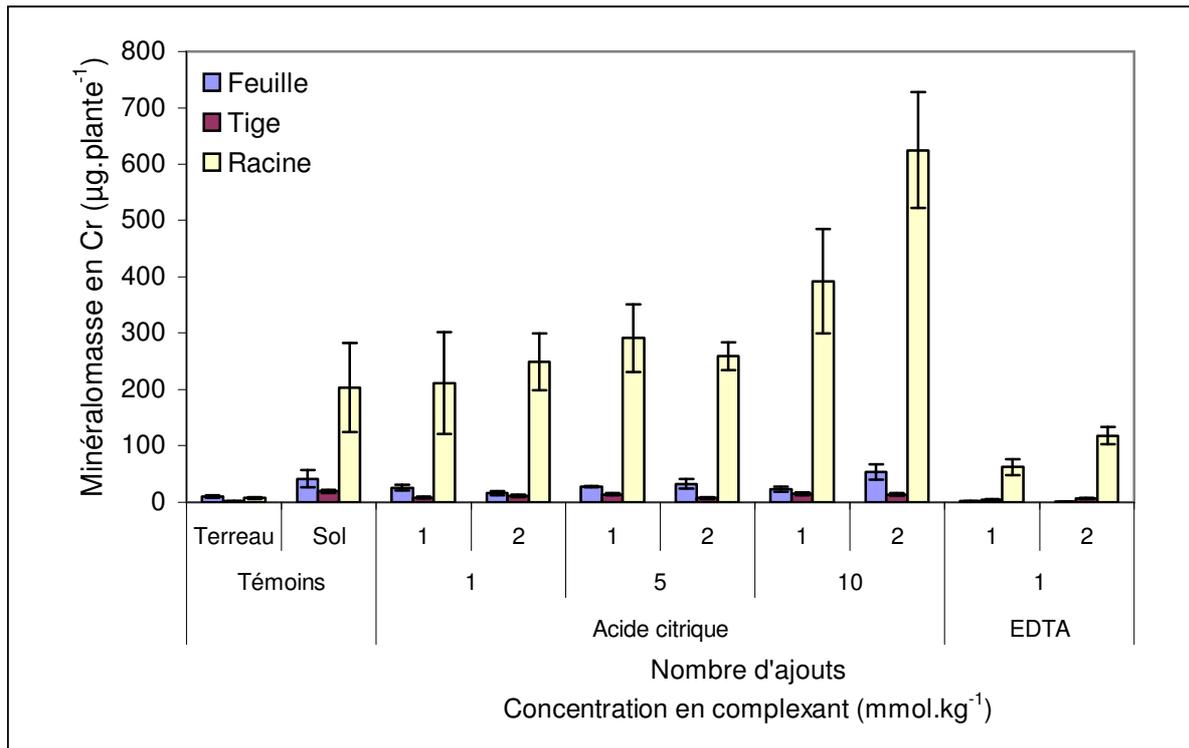


Figure IV.13 : Minéralomasses en Cr dans les différentes parties de *Datura innoxia* (racine, tige, feuille) après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹

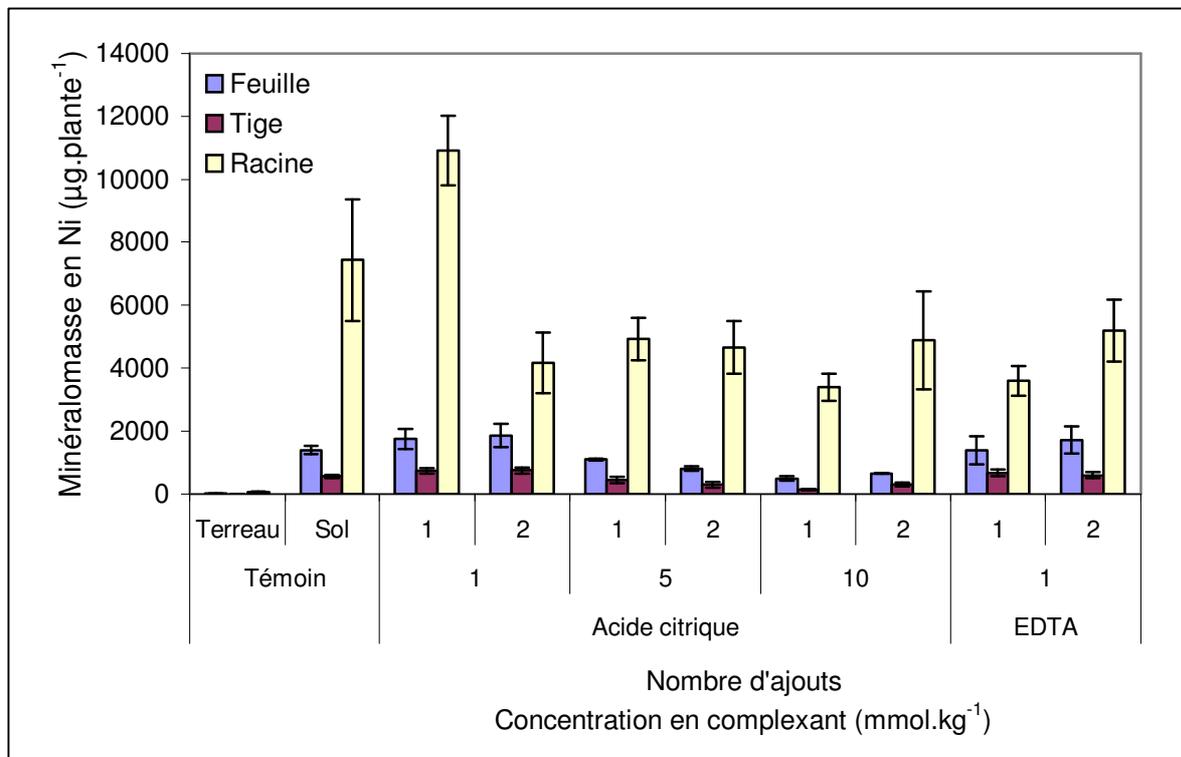


Figure IV.14 : Minéralomasses en Ni dans les différentes parties de *Datura innoxia* (racine, tige, feuille) après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹

Nous avons observé précédemment que l'application de complexant a des effets négatifs sur les plantes (diminution de la biomasse, nécrose). Cette perte de biomasse a une influence sur l'accumulation, notamment lors de l'application de l'EDTA. Cette diminution de biomasse est à l'origine de la diminution observée pour l'accumulation de Cr et de la constance observée pour celle de Ni.

En présence d'acide citrique, le chrome et le nickel présentent une accumulation différente. Nous avons observé que l'acide citrique, aux concentrations appliquées, augmente la part de métal solubilisé (cf. **Chap. III, § III.2.1**) et donc la part de métal accessible à la plante. En effet, l'accumulation du chrome, notamment au niveau des racines et des feuilles, augmente avec l'application d'acide citrique. Or, ce n'est pas le cas pour le nickel. Cela semble confirmer la mise en place d'un mécanisme d'exclusion du nickel lorsqu'il devient fortement biodisponible.

L'accumulation des métaux dans la plante, en présence de complexants, est alors la résultante entre l'augmentation de la part de métal solubilisé et biodisponible, les effets phytotoxiques qu'entraîne l'application des complexants, mais aussi les mécanismes de protection qui peuvent être mis en place par la plante.

IV.1.4.1 Evaluation de l'accumulation et de la translocation

La présence de métaux dans les différentes parties de la plante indique qu'il y a accumulation mais aussi **translocation** vers les parties aériennes, c'est-à-dire transport de ces éléments des racines vers les parties aériennes. L'accumulation et la translocation peuvent être évaluées par deux paramètres : le facteur de translocation et le facteur de bioaccumulation.

Le **facteur de translocation** (FT) est utilisé pour évaluer les capacités de phytoextraction des plantes, plus particulièrement leurs capacités à transporter les métaux des racines vers les feuilles :

$$FT = \frac{T_{PA}}{T_{PR}} \quad \text{Eq. IV.1}$$

T_{PA} : teneur en métal dans les parties aériennes (mg.kg^{-1})

T_{PR} : teneur en métal dans les parties racinaires (mg.kg^{-1})

Le **facteur de bioaccumulation** (FB) est utilisé pour évaluer les capacités des plantes à accumuler un métal en prenant en compte la quantité de métal présent dans le sol :

$$FB = \frac{T_{\text{plante}}}{T_{\text{sol}}} \quad \text{Eq. IV.2}$$

T_{plante} : teneur en métal dans la plante (mg.kg^{-1})

T_{sol} : teneur en métal dans le sol (mg.kg^{-1})

IV.1.4.1.1 Efficacité de l'acide citrique vis-à-vis de Cr

➤ Effet sur la translocation

Tableau IV.1 : Facteur de translocation de Cr

Concentration en complexant (mmol.kg^{-1})		1	5	10
Témoin		1,1 ± 0,5		
Une application	Acide citrique	0,6 ± 0,3	0,5 ± 0,1	0,5 ± 0,1
	EDTA	0,32 ± 0,01	-	-
Deux applications	Acide citrique	0,6 ± 0,2	0,4 ± 0,1	0,4 ± 0,1
	EDTA	0,20 ± 0,01	-	-

Quelle que soit la concentration et quel que soit le nombre d'application d'acide citrique le FT de Cr diminue (**Tableau IV.1**). Après l'application d'acide citrique, il y a une augmentation de Cr dans les racines et dans les feuilles (**Figure IV.11**). Cependant, ces teneurs en Cr dans les feuilles ne permettent pas d'augmenter de manière significative le Cr dans les parties aériennes, d'où la diminution de FT.

➤ **Effet sur la bioaccumulation**

Tableau IV.2 : Facteur de bioaccumulation de Cr

Concentration en complexant (mmol.kg ⁻¹)		1	5	10
Témoin		0,18 ± 0,01		
Une application	Acide citrique	0,18 ± 0,06	0,25 ± 0,02	0,28 ± 0,03
	EDTA	0,029 ± 0,009	-	-
Deux applications	Acide citrique	0,18 ± 0,03	0,25 ± 0,05	0,32 ± 0,07
	EDTA	0,17 ± 0,02	-	-

Quel que soit le nombre d'application, l'acide citrique entraîne une augmentation du FB (Tableau IV.2).

IV.1.4.1.2 Efficacité de l'acide citrique vis-à-vis de Ni

➤ **Effet sur la translocation**

Tableau IV.3 : Facteur de translocation de Ni

Concentration en complexant (mmol.kg ⁻¹)		1	5	10
Témoin		0,42 ± 0,07		
Une application	Acide citrique	0,34 ± 0,06	0,7 ± 0,2	1,1 ± 0,4
	EDTA	4 ± 1	-	-
Deux applications	Acide citrique	0,8 ± 0,2	0,9 ± 0,3	1,2 ± 0,5
	EDTA	4 ± 1	-	-

L'application d'acide citrique entraîne une augmentation du FT de Ni (Tableau IV.3). Cette augmentation est d'autant plus importante que la concentration en acide citrique augmente. De même, nous avons observé précédemment une diminution des teneurs en Ni dans les racines et les tiges et une constance dans les feuilles (Figure IV.12). Par conséquent, l'augmentation du FT n'est pas due à une meilleure translocation mais à la diminution de Ni dans les racines.

➤ **Effet sur la bioaccumulation**

Tableau IV.4 : Facteur de bioaccumulation de Ni

Concentration en complexant (mmol.kg ⁻¹)		1	5	10
Témoïn		9,0 ± 0,6		
Une application	Acide citrique	13 ± 2	6,3 ± 0,8	3,7 ± 0,6
	EDTA	19 ± 3	-	-
Deux applications	Acide citrique	13 ± 2	6 ± 1	4,5 ± 0,7
	EDTA	20 ± 2	-	-

Quel que soit le nombre d'application, après 1 mmol.kg⁻¹ d'acide citrique le FB observé présente une légère augmentation. En revanche, à partir de 5 mmol.kg⁻¹ et quel que soit le nombre d'application, l'acide citrique entraîne une diminution du FB (**Tableau IV.4**). En effet, l'application d'acide citrique entraîne une diminution de Ni dans la plante.

IV.1.4.1.3 Efficacité de l'EDTA vis-à-vis de Cr

➤ **Effet sur la translocation**

Après l'application d'EDTA, le FT de Cr diminue (**Tableau IV.1**). L'application d'EDTA entraîne une diminution des teneurs en Cr dans la plante, notamment dans les tiges (**Figure IV.11**). La teneur en Cr de la partie aérienne est diminuée, d'où la diminution du FT.

➤ **Effet sur la bioaccumulation**

Quel que soit le nombre d'application, 1 mmol.kg⁻¹ d'EDTA entraîne une diminution du FB (**Tableau IV.6**). En effet, l'application d'EDTA entraîne une diminution des teneurs en Cr dans la plante.

IV.1.4.1.4 Efficacité de l'EDTA vis-à-vis de Ni

➤ **Effet sur la translocation**

Après l'application de l'EDTA, le FT de Ni augmente (**Tableau IV.3**). L'application d'EDTA entraîne une augmentation des teneurs en Ni dans les feuilles (**Figure IV.12**). Par conséquent, les teneurs en Ni dans la partie aérienne sont augmentées, d'où l'augmentation du FT de Ni. Cela est probablement dû au fait que le complexe EDTA-Ni franchisse toutes les barrières physiologiques et donc favorise le passage racines-feuilles.

➤ Effet sur la bioaccumulation

Quel que soit le nombre d'application, après 1 mmol.kg^{-1} d'EDTA, le FB observé est nettement supérieur à celui du témoin (**Tableau IV.8**).

L'application des complexants a des effets phytotoxiques sur la croissance de *Datura innoxia*. Ces effets phytotoxiques ont une influence sur l'accumulation des métaux.

L'acide citrique permet d'augmenter l'accumulation du chrome, notamment au niveau des racines. Cette accumulation s'accompagne d'une faible translocation vers les parties aériennes. Dans le cas du nickel, l'acide citrique entraîne une diminution de l'accumulation.

L'EDTA entraîne une diminution de l'accumulation du chrome tandis qu'il permet une augmentation de l'accumulation et de la translocation du nickel.

IV.2 Culture de *Datura innoxia* sur le sol contaminé par l'activité industrielle

IV.2.1 Effet de l'EDTA et de l'acide citrique sur *Datura innoxia*

IV.2.1.1 Effet sur la croissance



a



b

Figure IV.15 : *Datura innoxia* cultivée sur terreau (a) et sol contaminé par l'activité industrielle (b)

La **Figure IV.15 a** et la **Figure IV.15 b** présentent, respectivement, *Datura innoxia* après 15 jours de culture sur du terreau et sur le sol contaminé par l'activité industrielle, sans application de complexant. Les **Figure IV.16** et **Figure IV.17** présentent la quantité de matière sèche de ces plantes. Comme observé précédemment avec le sol modèle contaminé (cf. § **IV.1.1**), il n'y a pas de différences apparentes de développement entre les plantes cultivées sur le terreau et celles cultivées sur le sol contaminé par l'activité industrielle.

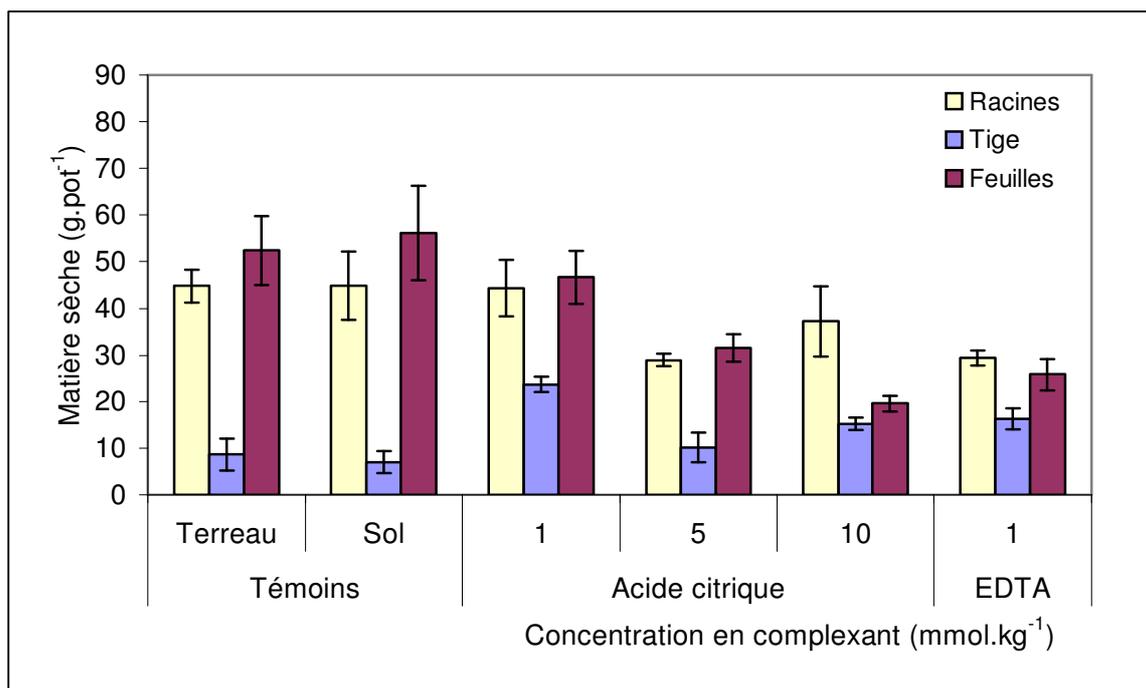


Figure IV.16 : Effet de l'acide citrique et de l'EDTA sur la croissance de *Datura innoxia*, après une application à 1, 5 et 10 mmol.kg⁻¹

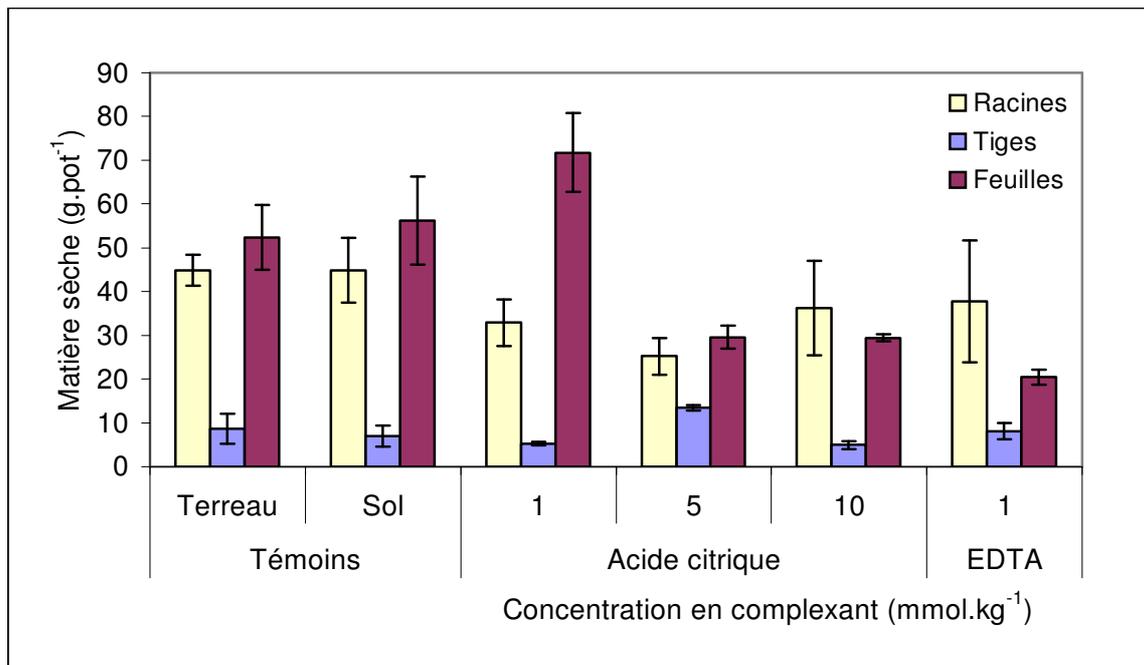


Figure IV.17 : Effet de l'acide citrique et de l'EDTA sur la croissance de *Datura innoxia*, après deux applications à 1, 5 et 10 mmol.kg⁻¹

Après 15 jours de culture, *Datura* se développe aussi bien sur le terreau que sur le sol contaminé par l'activité industrielle. Elle ne présente aucun signe de stress. Par conséquent, le sol contaminé par l'activité industrielle n'a pas d'effets négatifs sur la croissance de *Datura innoxia*. Cela montre que *Datura* est tolérante aux métaux présents dans le sol contaminé par l'activité industrielle.



a 1 mmol.kg⁻¹



d 1 mmol.kg⁻¹



b 5 mmol.kg⁻¹



e 5 mmol.kg⁻¹



c 10 mmol.kg⁻¹



f 10 mmol.kg⁻¹

Figure IV.18 : *Datura innoxia* après une (a, b, c) ou deux (d, e, f) application d'acide citrique à différentes concentrations (1, 5 et 10 mmol.kg⁻¹)

La **Figure IV.18** présente les plantes cultivées sur le sol contaminé par l'activité industrielle, après une ou deux applications d'acide citrique. Les plantes présentent des signes de chlorose et de nécrose.

Quel que soit le mode d'application de 1 mmol.kg^{-1} d'acide citrique, il n'y a pas de différences significatives avec les témoins (**Figure IV.16** et **Figure IV.17**). Par conséquent, une ou deux applications d'acide citrique à 1 mmol.kg^{-1} n'a pas d'influence apparente sur la croissance de *Datura innoxia*.

A partir de 5 mmol.kg^{-1} et quel que soit le mode d'application, nous pouvons observer une diminution de la croissance des racines et des feuilles. Cette diminution est d'autant plus importante que la concentration appliquée augmente (**Figure IV.16** et **Figure IV.17**). L'application d'acide citrique à 5 et 10 mmol.kg^{-1} a une influence sur la croissance de *Datura innoxia*.

Comme précédemment, après l'application d'EDTA, *Datura innoxia* présente des signes de phytotoxicité. En effet, après l'application d'EDTA à 1 mmol.kg^{-1} , les plantes présentent des signes de nécrose (**Figure IV.19**). De plus, nous pouvons observer une diminution de la croissance au niveau des racines et des feuilles (**Figure IV.16** et **Figure IV.17**).

Après l'application d'EDTA à 5 et 10 mmol.kg^{-1} , au bout de 15 jours de culture, les plantes traitées perdent leurs feuilles et meurent (**Figure IV.20**).

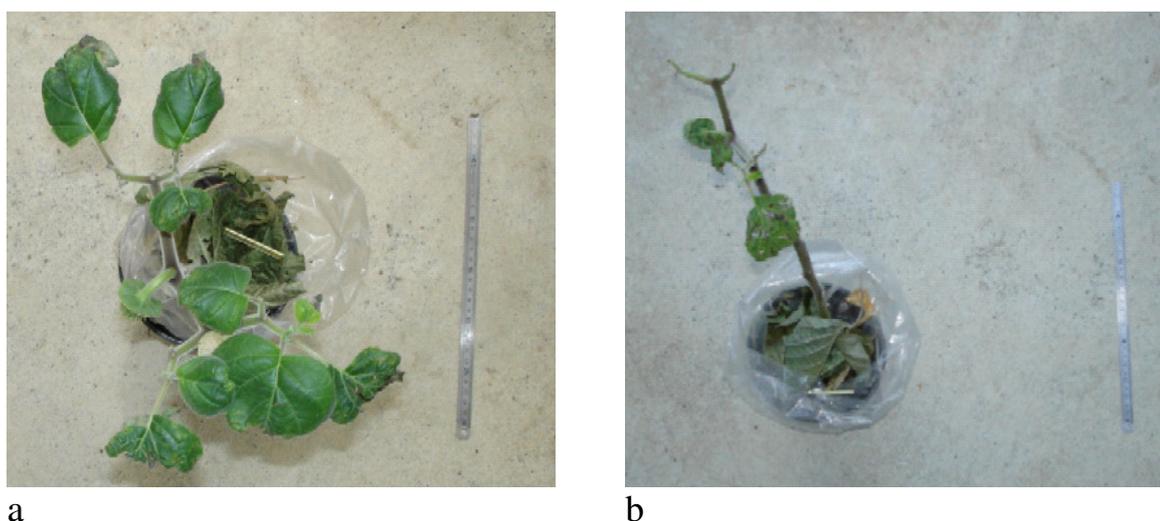


Figure IV.19 : *Datura innoxia* après une (a) ou deux (b) application d'EDTA à 1 mmol.kg^{-1}



Figure IV.20 : *Datura innoxia* après l'application d'EDTA à 5 et 10 mmol.kg⁻¹

IV.2.1.2 Effet sur la photosynthèse nette

La **Figure IV.21** présente l'effet de l'acide citrique et de l'EDTA sur la photosynthèse nette (Pn) (**Annexe 6**) de *Datura innoxia*. Nous pouvons observer que les plantes cultivées sur le sol contaminé par l'activité industrielle, sans ajouts de complexants, présentent le même Pn que celles cultivées sur le terreau (**Figure IV.21**).

Après l'application d'acide citrique, les plantes cultivées sur le sol contaminé par l'activité industrielle présentent un Pn moyen de $15 \pm 2 \mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, cela quelle que soit la concentration et quel que soit le nombre d'application en acide citrique. La concentration en acide citrique appliquée n'a donc pas d'influence sur l'activité photosynthétique de *Datura innoxia*.

Après l'application d'EDTA à 1 mmol.kg⁻¹, les plantes cultivées sur le sol contaminé par l'activité industrielle présentent un Pn proche de $0 \mu\text{mol CO}_2.\text{m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ quel que soit le mode d'application. Nous avons observé précédemment que les plantes présentent des signes de nécroses (**Figure IV.19**) après l'application d'EDTA, d'où cette activité photosynthétique quasi nulle.

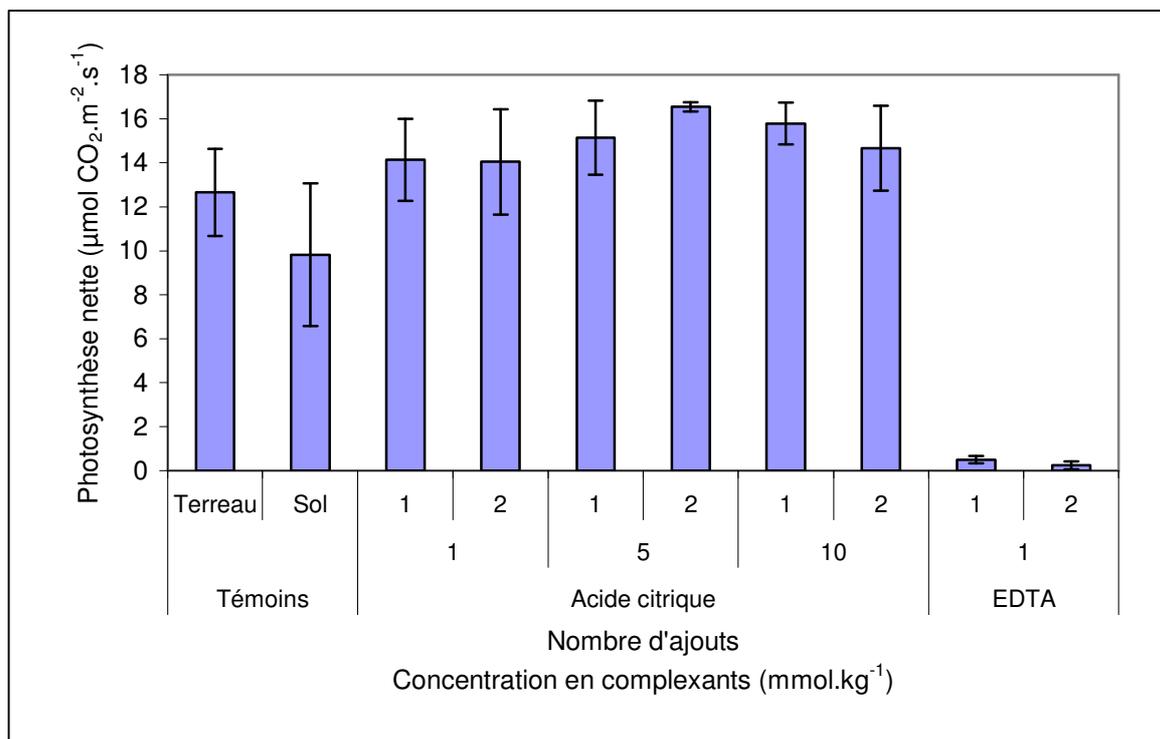


Figure IV.21 : Effet de l'acide citrique et de l'EDTA sur la photosynthèse nette de *Datura innoxia* après une ou deux applications à 1, 5 et 10 mmol.kg⁻¹

IV.2.1.3 Effets sur l'absorption d'éléments essentiels

IV.2.1.3.1 Au niveau des racines

La **Figure IV.22** présente les teneurs en Fe, Mn, Mg (**Figure IV.22 a**), Zn et Cu (**Figure IV.22 b**) dans les racines de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹.

L'application d'acide citrique entraîne, d'une manière générale une augmentation des teneurs en Mg, Mn dans les racines (**Figure IV.22 a**). Cette augmentation est d'autant plus importante que la concentration en acide citrique appliquée augmente. Dans le cas de Fe, Zn et Cu, nous pouvons observer une diminution (**Figure IV.22 a** et **Figure IV.22 b**).

L'application d'EDTA entraîne une augmentation de Mn, Mg (**Figure IV.22 a**), Zn et Cu (**Figure IV.22 b**) et une diminution de Fe dans les racines.

Les plantes développées sur le terreau présentent des teneurs en Mg, Zn plus élevées que celle développées sur le sol contaminé par l'activité industrielle. En effet, les éléments présentent une biodisponibilité plus élevée dans le terreau comparé au sol contaminé par

l'activité industrielle (cf. **Chap. II, Tableau II.4** et cf. **Chap. III, Tableau III.6**). En présence de complexant, les teneurs en ces différents éléments augmentent dans la plante, notamment en présence d'EDTA. Les complexants modifient le complexe adsorbant du sol, augmentant ainsi la biodisponibilité des métaux. Par conséquent, l'assimilation des éléments en présence de complexant est modifiée.

D'une manière générale, en présence d'EDTA l'augmentation observée est supérieure à celle en présence d'acide citrique. L'EDTA possède des propriétés complexantes beaucoup plus grandes que l'acide citrique. Par conséquent, l'assimilation des éléments est d'autant plus importante que les propriétés complexantes sont grandes, d'où l'augmentation de l'absorption de ces différents éléments. Cependant, certains éléments présentent une diminution de leur absorption.

IV.2.1.3.2 Au niveau des tiges

La **Figure IV.23** présente les teneurs en Fe, Mn, Mg (**Figure IV.23 a**), Zn et Cu (**Figure IV.23 b**) dans les tiges de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹.

L'application d'acide citrique entraîne une augmentation de Fe (**Figure IV.23 a**) Zn (**Figure IV.23 b**) dans les tiges. En revanche, il n'a aucun effet significatif sur l'absorption de Mn, Mg et Cu.

L'application d'EDTA entraîne une augmentation de Fe, Mg (**Figure IV.23 a**), Zn et Cu (**Figure IV.23 b**) dans les tiges. Il n'y a pas d'effets significatifs sur l'absorption de Mn.

Nous avons vu précédemment qu'en présence de complexant, les teneurs en ces différents éléments augmentent dans les racines, notamment en présence d'EDTA.

Toutefois, malgré l'effet observé au niveau des racines, en présence d'acide citrique, le transfert de ces éléments vers les tiges est faible voir nul, pour Mg, Mn et Cu. Dans le cas de Fe et Zn, la translocation est d'autant plus forte que la concentration en acide citrique appliquée augmente, d'où la diminution observée au niveau des racines.

En présence d'EDTA, la translocation est effective pour Fe, Mg, Zn et Cu. Son pouvoir complexant plus fort permet d'augmenter la solubilité et la biodisponibilité de ces éléments au niveau du sol et donc d'augmenter leur assimilation, d'où l'augmentation au niveau des tiges. Comme Fe et Zn vis-à-vis de l'acide citrique, l'augmentation de Fe au niveau des tiges pourrait expliquer la diminution au niveau des racines.

IV.2.1.3.3 Au niveau des feuilles

La **Figure IV.24** présente les teneurs en Fe, Mn, Mg (**Figure IV.24 a**), Zn et Cu (**Figure IV.24 b**) dans les feuilles de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹.

L'application d'acide citrique entraîne une augmentation de Mn (**Figure IV.24 a**) et Cu (**Figure IV.24 b**) dans les feuilles. Nous pouvons observer également une augmentation de Fe aux faibles concentrations et une diminution aux fortes concentrations. En revanche, l'application d'acide citrique n'a aucun effet significatif sur l'absorption de Mg et Zn.

L'application d'EDTA entraîne une augmentation de Fe, Mn, Mg (**Figure IV.24 a**), Zn et Cu (**Figure IV.24 b**).

Nous avons vu précédemment qu'en présence de complexant, les teneurs en ces différents éléments augmentent dans les racines, notamment en présence d'EDTA. De plus, l'application de complexant permet une translocation effective vis-à-vis de certains éléments. Elle l'est d'autant plus que la concentration appliquée est importante ou que le pouvoir complexant du réactif est grand.

Toutefois, le transfert vers les feuilles est limité voir nul, en présence d'acide citrique. De plus, dans le cas de Fe, nous observons une diminution des teneurs aux fortes concentrations. Il semblerait qu'il soit mis en place un mécanisme d'exclusion de ces éléments, comme nous l'avons observé avec le nickel (cf. § IV.1.2).

En présence d'EDTA, l'augmentation est générale. Son pouvoir complexant lui permet d'augmenter fortement la quantité de métal accessible dans le milieu et donc la quantité de métal absorbé et ainsi d'augmenter le transfert vers les tiges puis vers les feuilles, d'où les augmentations observées.

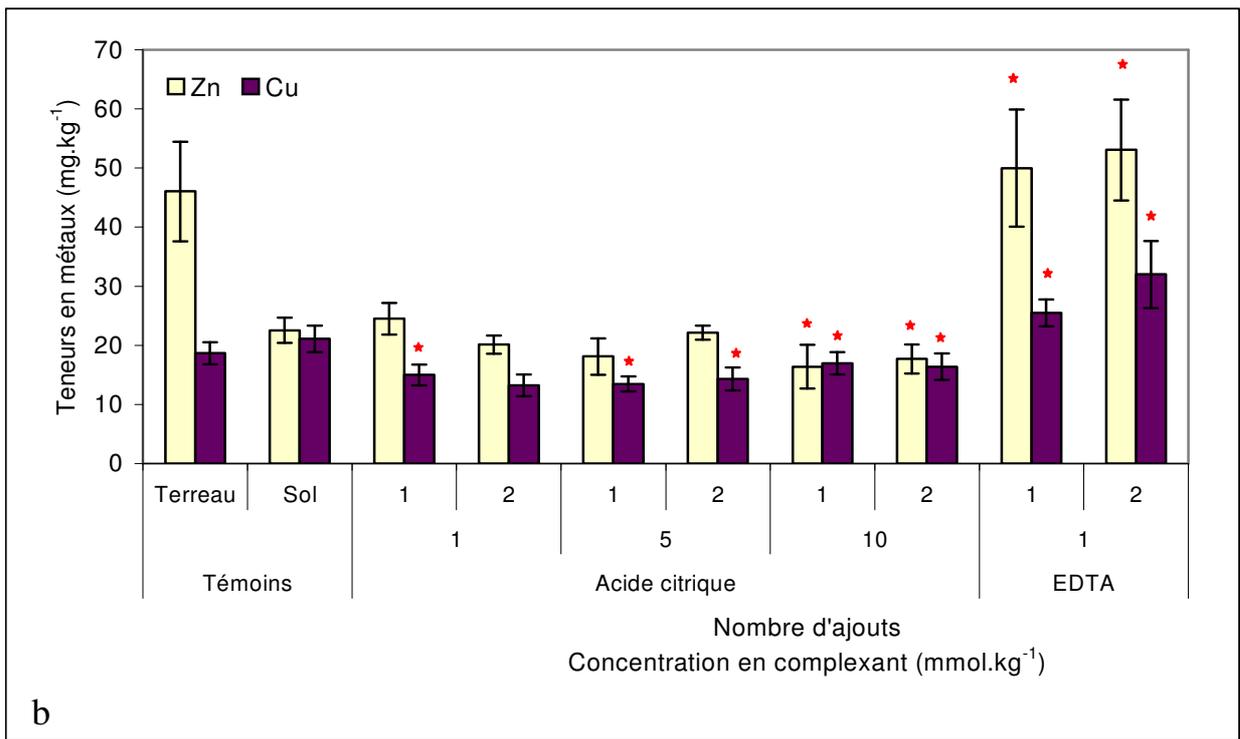
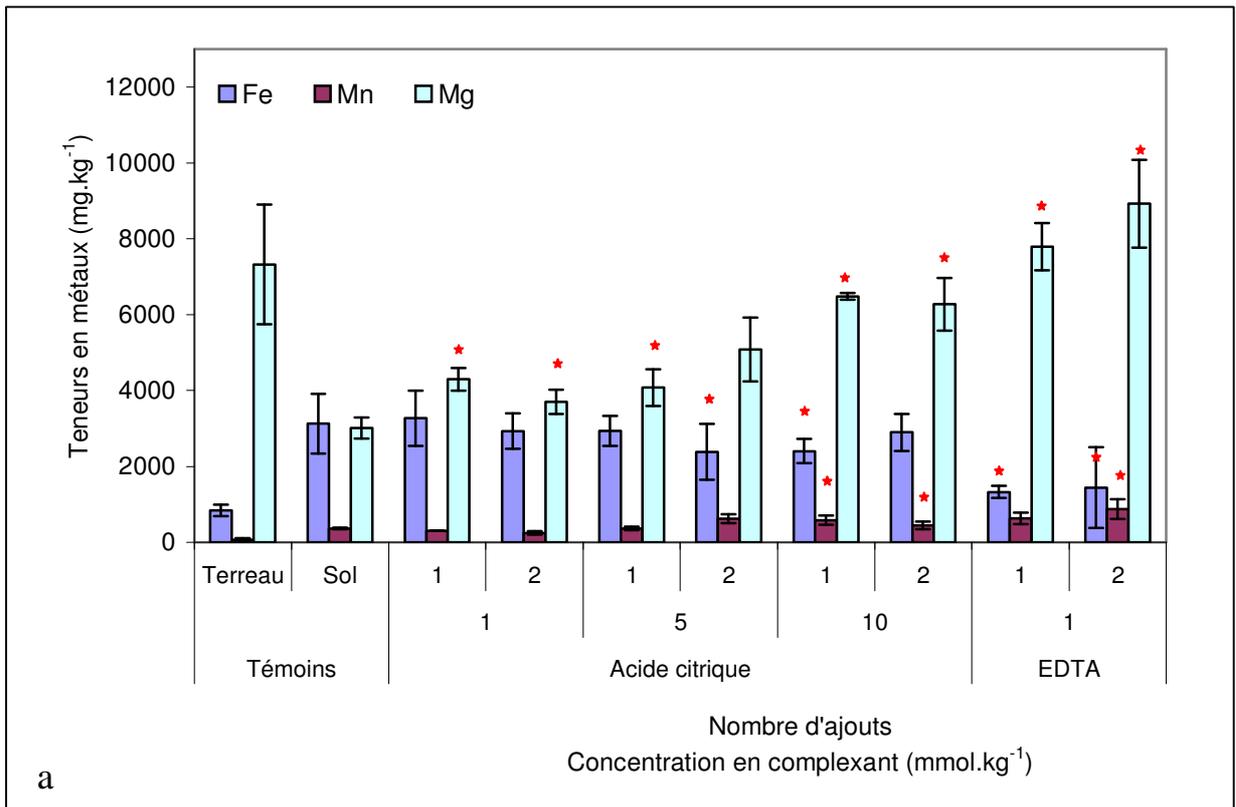


Figure IV.22 : Teneurs en Fe, Mn, Mg (a), Zn et Cu (b) dans les racines de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (★ = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

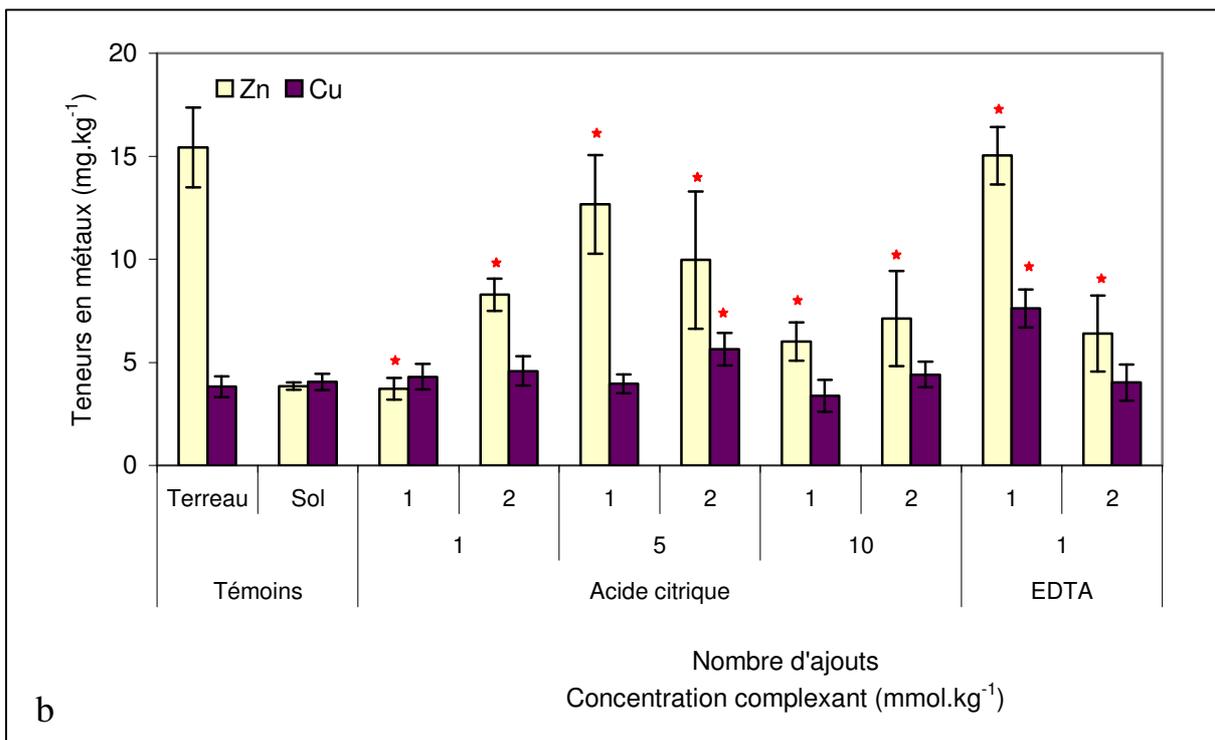
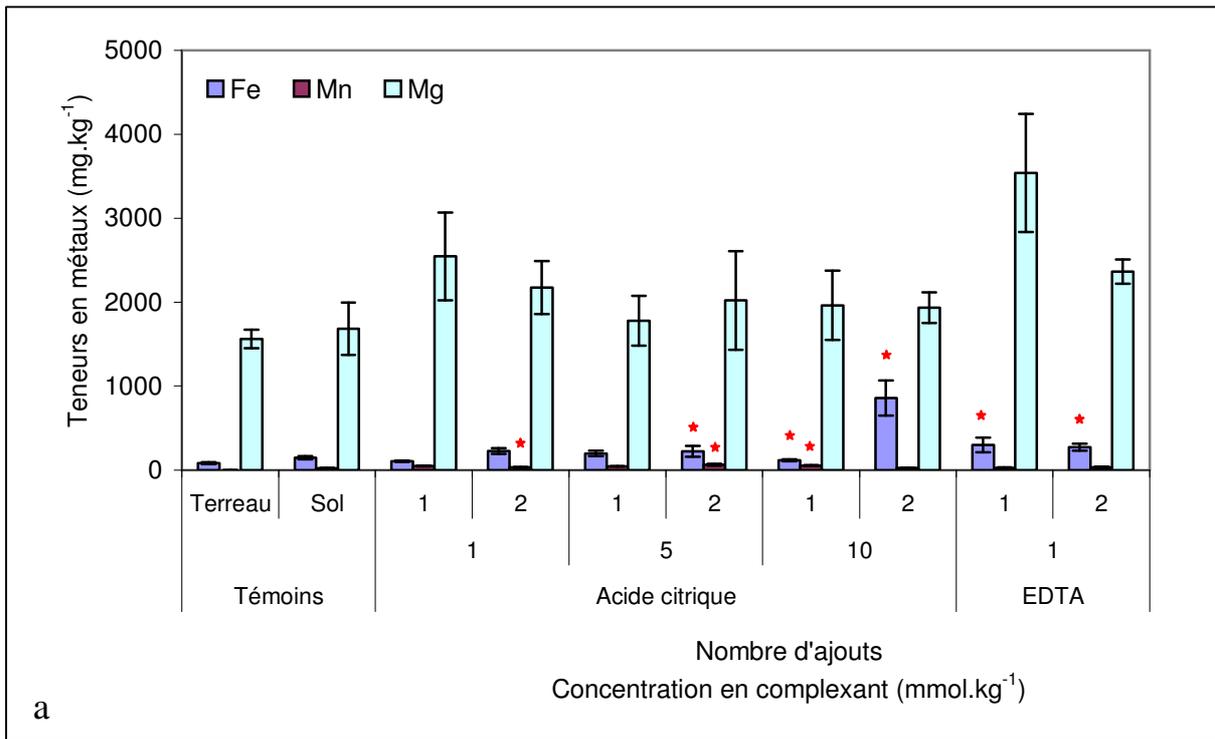


Figure IV.23 : Teneurs en Fe, Mn, Mg (a), Zn et Cu (b) dans les tiges de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (★ = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

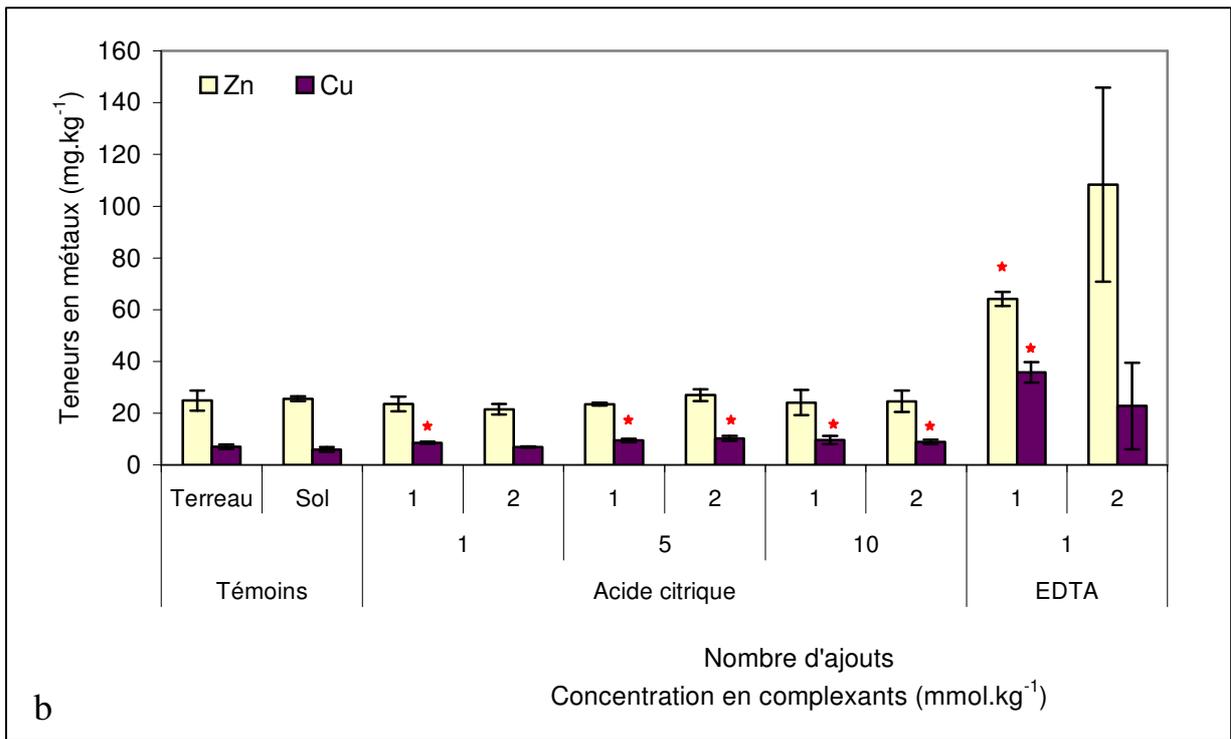
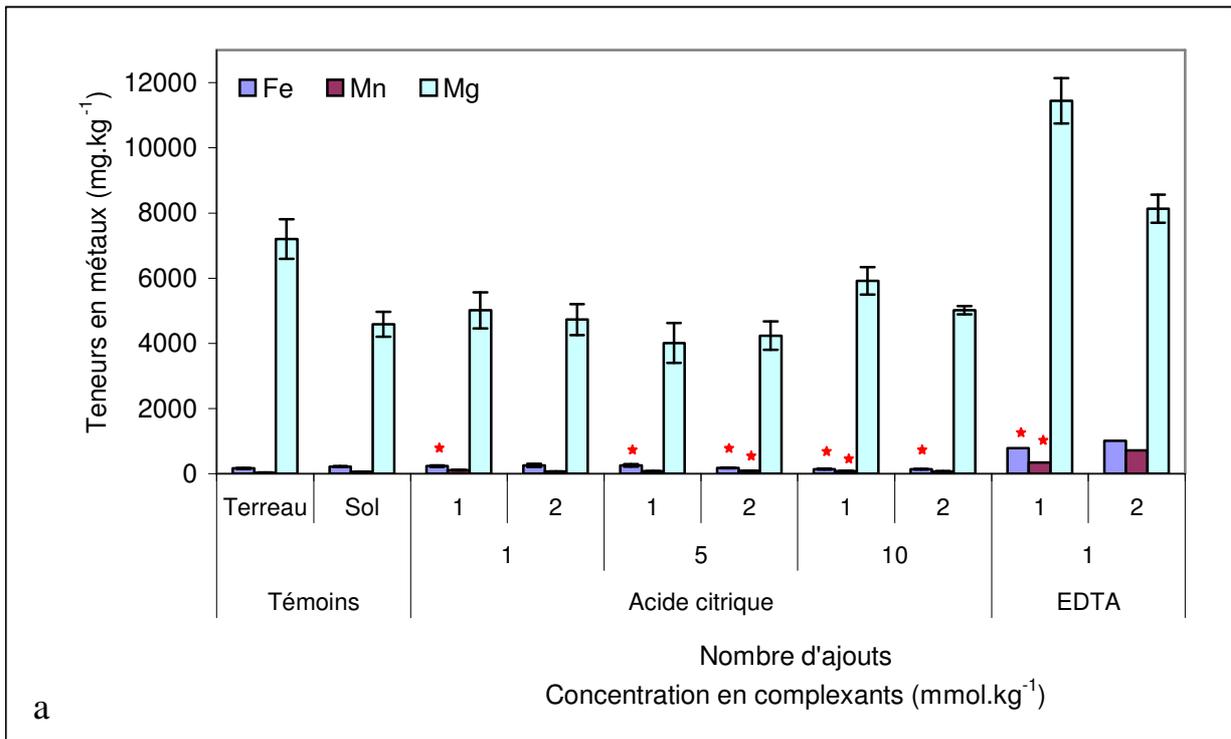


Figure IV.24 : Teneurs en Fe, Mn, Mg (a), Zn et Cu (b) dans les feuilles de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (★ = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

IV.2.1.4 Conclusion

Après 15 jours de culture, *Datura innoxia* se développe aussi bien sur le terreau que sur le sol contaminé par l'activité industrielle, comme observé pour la culture sur le sol modèle contaminé. Elle ne présente aucun signe de stress, ce qui confirme qu'il s'agit d'une plante tolérante vis-à-vis des métaux. Cependant, comme nous l'avons observé avec la culture sur le sol modèle contaminé, l'application de complexants a des effets phytotoxiques sur la croissance. En effet, une diminution de la biomasse est observée. L'acide citrique entraîne une diminution de la biomasse sans modification de la photosynthèse nette. En revanche, l'EDTA à faible concentration entraîne à la fois une diminution de la biomasse et une diminution de la photosynthèse nette. A forte concentration, il entraîne la mort des plantes.

Nous avons vu que les complexants appliqués sur le sol modifient la solubilité des différents éléments présents dans le sol et augmentent ainsi leur absorption par les plantes. L'absorption de ces éléments (essentiels ou toxiques), mais aussi celle des complexants, modifie la mise en place des différentes réactions biochimiques qui ont lieu dans la plante, ralentissant ainsi la croissance et entraînant des perturbations à l'origine de signes phytotoxiques tels que la chlorose et les nécroses (Vassil et al., 1998).

De même, les signes de phytotoxicité ainsi que leur intensité sont différents d'un complexant à l'autre. Cela confirme donc que le pouvoir complexant du réactif utilisé doit être pris en compte pour limiter les effets toxiques.

IV.2.2 Effet de l'acide citrique sur l'absorption du chrome et du nickel

IV.2.2.1 Effet sur l'absorption de Cr

La **Figure IV.25** présente la teneur en Cr dans les différentes parties de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants. La distribution de Cr, entre la partie racinaire et la partie aérienne, chez *Datura* est la même que celle observée précédemment. En effet, Cr est principalement retrouvé dans les racines (**Figure IV.25**).

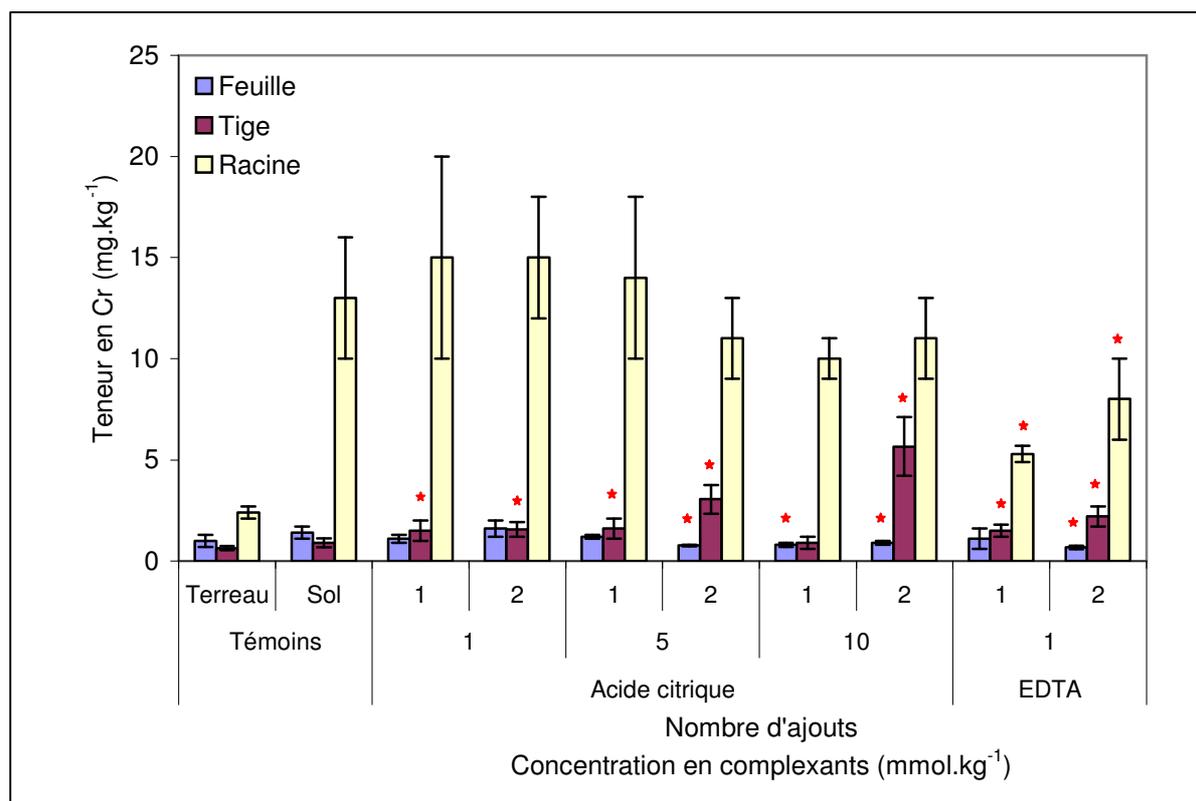


Figure IV.25 : Teneurs en Cr dans les différentes parties de *Datura innoxia* (racine, tige, feuille) après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (* = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

Quelle que soit la concentration, une ou deux applications d'acide citrique n'ont aucun effet significatif sur l'accumulation de Cr dans les racines. La diminution observée aux fortes concentrations est sans doute due à la diminution de biomasse observée précédemment (**Figure IV.16, Figure IV.17**).

Après une application de 1 et 5 mmol.kg⁻¹, Cr augmente dans les tiges. Deux applications d'acide citrique entraînent une augmentation de Cr dans les tiges, quelle que soit la concentration (**Figure IV.25**).

Dans le cas des feuilles, il n'y a pas de différences significatives après une ou deux applications de 1 mmol.kg⁻¹. De même, après une application de 5 mmol.kg⁻¹, il n'y a pas de différences significatives. La teneur en Cr dans les feuilles après l'ajout d'acide citrique est en moyenne de $1,3 \pm 0,3 \mu\text{g.g}^{-1}$.

Deux applications de 5 mmol.kg⁻¹, une et deux applications de 10 mmol.kg⁻¹ entraînent une diminution de Cr. La teneur moyenne dans les feuilles est de $0,82 \pm 0,07 \mu\text{g.g}^{-1}$.

Le chrome est présent principalement dans les racines. Cependant, ces résultats sont différents de ceux observés précédemment (cf. § IV.1.2). En effet, nous avons observé une augmentation de l'accumulation de Cr avec la concentration en acide citrique appliqué. Il semblerait que Cr soit sous une forme beaucoup plus facilement accessible dans le sol modèle. En effet, les résultats des expériences en batch (cf. **Chap. III., § III.2.1 et III.2.2**) montrent que la part de Cr mobilisable est plus grande dans le cas du sol modèle. Par conséquent, *Datura innoxia* accumule le chrome fortement biodisponible.

Le chrome est retenu au niveau des sites d'échanges cationique des cellules du xylème ou séquestré dans des vacuoles au niveau des racines (Shanker et al., 2005, Mangabeira et al., 2006). Après l'ajout d'acide citrique les teneurs en chrome augmentent dans les tiges mais pas dans les feuilles. Au niveau du xylème, il existe un équilibre entre les acides organiques, le métal libre, le complexe métal-acide organique et les sites de fixation des cellules qui composent les vaisseaux du xylème (Senden et Wolterbeek, 1990 ; Clemens et al, 2002). Le chrome, n'étant pas fortement absorbé, peut alors être piégé au niveau des tiges, dans les parois du xylème, d'où cette accumulation au niveau des tiges. La tige joue alors un rôle dans la détoxification, limitant son transport vers les feuilles (Clemens et al, 2002).

IV.2.2.2 Effet sur l'absorption de Ni

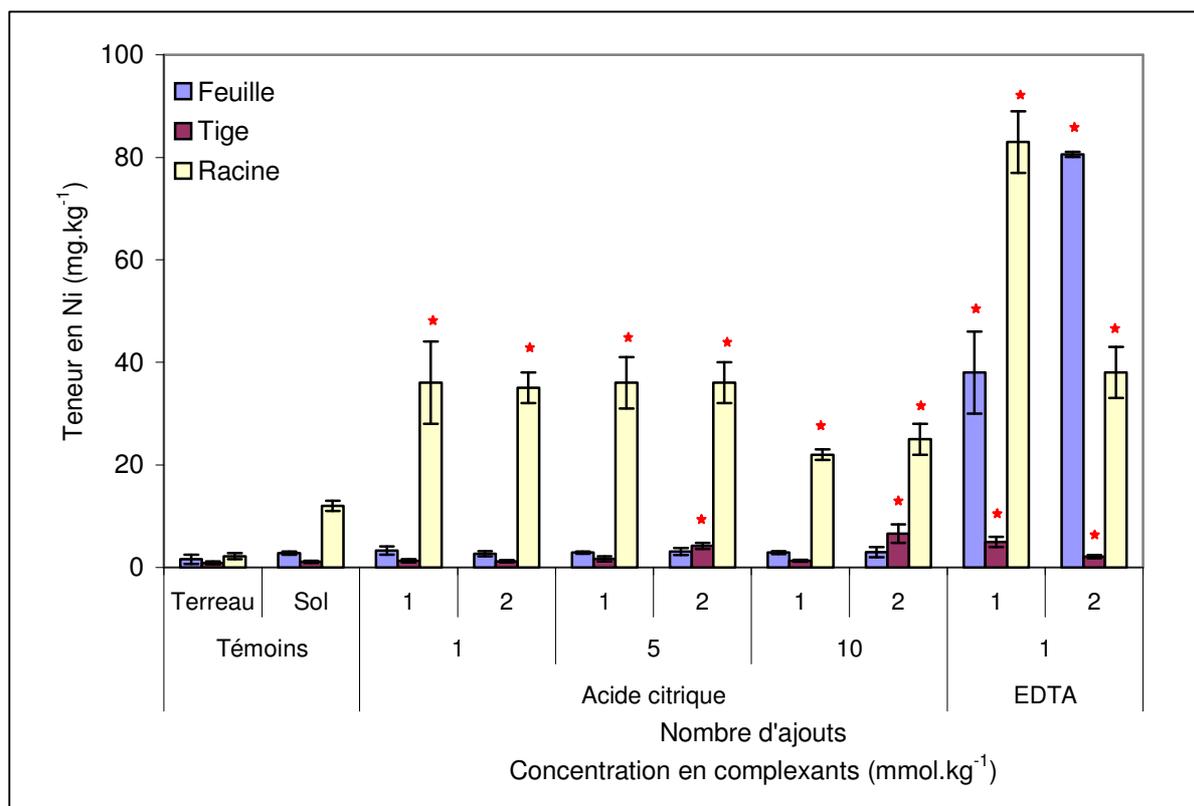


Figure IV.26 : Teneurs en Ni dans les différentes parties de *Datura innoxia* (racine, tige, feuille) après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹ (★ = statistiquement différent du témoin sol, P<0,05)

La **Figure IV.26** présente la teneur en Ni dans les différentes parties de *Datura innoxia* après une ou deux applications de complexants. Quelle que soit la concentration, une ou deux applications d'acide citrique entraînent une augmentation de l'absorption et de l'accumulation de Ni dans les racines (**Figure IV.26**).

Ces résultats sont différents de ceux obtenus précédemment (cf. § IV.1.2). En effet, nous avons observé une diminution de l'accumulation de Ni avec la concentration en acide citrique appliqué. Le ratio entre l'absorption par un mécanisme passif et un mécanisme actif dépend de la concentration en nickel présent dans le milieu. Le mécanisme actif est majoritaire à faible concentration tandis que le mécanisme passif prend une part plus importante à forte concentration (Seregin et Kozhevnikova, 2006). Les résultats des expériences en batch (cf. **Chap. III.**, § III.2.1 et III.2.2) montrent que la part de Ni mobilisable est plus faible dans le cas du sol contaminé par l'activité industrielle. Par

conséquent, dans cette expérience, Ni entre dans la plante par un mécanisme passif, mécanisme qui ne contrôle pas son entrée et qui est fonction de la concentration dans le milieu, d'où l'augmentation de la teneur en Ni dans les racines.

Une application d'acide citrique de 1, 5 et 10 mmol.kg⁻¹ n'a aucun effet significatif sur l'accumulation de Ni dans les tiges. De même, deux applications d'acide citrique de 1 mmol.kg⁻¹ n'ont aucun effet significatif sur l'accumulation de Ni. La teneur en Ni dans les tiges est en moyenne de 1,2 ± 0,2 µg.g⁻¹. Après deux applications de 5 et 10 mmol.kg⁻¹, Ni augmente dans les tiges (**Figure IV.26**).

Quelle que soit la concentration en acide citrique et quel que soit le nombre d'application, il n'y a pas de différences significatives pour l'accumulation de Ni dans les feuilles (**Figure IV.26**).

Le nickel est un élément essentiel au bon fonctionnement des plantes à de faibles concentrations, mais à de fortes concentrations, il devient toxique (Seregin et Kozhevnikova, 2006). Dans notre cas, la quantité de Ni absorbée par la plante est augmentée après l'ajout d'acide citrique. Mais comme le chrome, il est piégé dans les tiges, d'où l'augmentation des teneurs en Ni à 5 et 10 mmol.kg⁻¹ d'acide citrique.

Le nickel est principalement présent dans la partie racinaire de la plante. Comme le chrome, il peut être retenu au niveau des sites d'échange cationique des cellules du xylème ou séquestré dans des vacuoles au niveau des racines (Seregin et Kozhevnikova, 2006). Les équilibres existant au niveau du xylème permettent de retenir Ni dans les tiges et donc d'augmenter son accumulation.

IV.2.3 Effet de l'EDTA sur l'absorption du chrome et du nickel

IV.2.3.1 Effet sur l'absorption de Cr

Après une application de 1 mmol.kg⁻¹ d'EDTA, Cr diminue dans les racines. La teneur en Cr augmente dans les tiges. L'accumulation de Cr dans les feuilles ne présente pas de différences significatives (**Figure IV.25**).

Après deux applications de 1 mmol.kg⁻¹ d'EDTA, l'accumulation de Cr, dans les différentes parties de la plante, présente des différences significatives. Nous pouvons observer une diminution de Cr dans les racines et dans les feuilles et une augmentation dans les tiges (**Figure IV.25**).

L'EDTA a des effets négatifs chez *Datura innoxia*. Elle présente une diminution de sa biomasse racinaire et foliaire. Par conséquent, l'absorption au niveau des racines est altérée, d'où la diminution de la teneur en Cr dans les racines et dans les feuilles. De plus, d'après Zayed et Terry (2003), le complexe formé entre Cr et l'EDTA ne traverse pas facilement la barrière racinaire. Une fois dans la plante, il est fixé au niveau de la tige, d'où l'augmentation des teneurs en Cr dans les tiges.

IV.2.3.2 Effet sur l'absorption de Ni

Quel que soit le nombre d'applications de 1 mmol.kg^{-1} d'EDTA, nous pouvons observer une augmentation des teneurs en Ni dans toutes les parties de la plante (**Figure IV.26**).

L'EDTA possède vis-à-vis du nickel une forte constante de complexation (cf. **Chap. I, § I.7.2.3**). Ainsi, il mobilise de manière importante Ni, qui est ensuite absorbé de manière passive au niveau des racines. Ni pénètre alors massivement dans la plante. Les systèmes de contrôle, tels que la fixation au niveau des racines et au niveau des tiges sont dépassés, d'où les teneurs importantes de nickel au niveau des différentes parties de la plante, notamment au niveau des feuilles.

IV.2.4 Efficacité d'absorption et d'accumulation

Les **Figure IV.27** et **Figure IV.28** présentent les teneurs en Cr et Ni dans les différentes parties de *Datura innoxia*. Les teneurs représentées correspondent à des teneurs totales en métal ramenées à la plante entière.

Nous pouvons observer une diminution de la teneur en Cr dans les différentes parties de la plante. Cette diminution est d'autant plus importante que la concentration en acide citrique appliquée augmente. De même, l'application d'EDTA entraîne une diminution de Cr dans la plante (**Figure IV.27**).

Nous pouvons observer une diminution de la teneur en Ni dans les racines et elle est d'autant plus importante que la concentration en acide citrique appliquée augmente. En revanche, l'application d'EDTA entraîne une augmentation de Ni dans les différentes parties la plante (**Figure IV.28**).

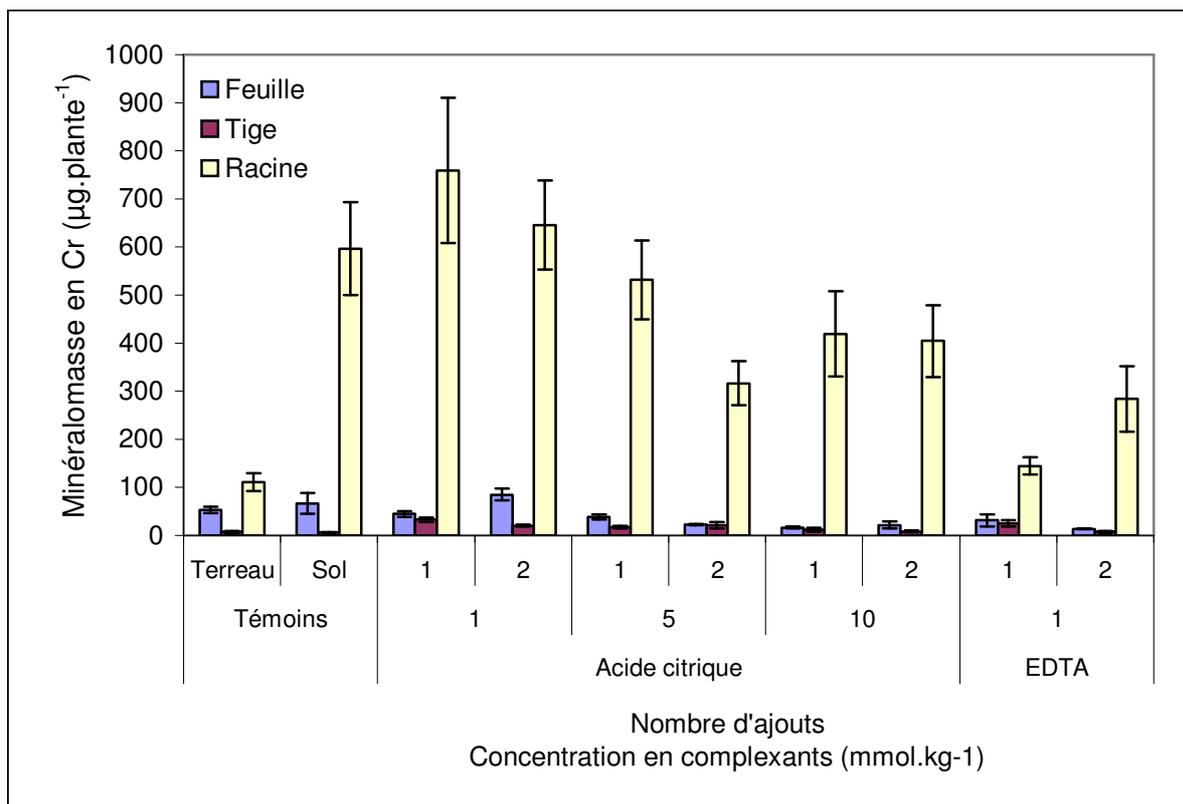


Figure IV.27 : Minéralomasses en Cr dans les différentes parties de *Datura innoxia* (racine, tige, feuille) après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹

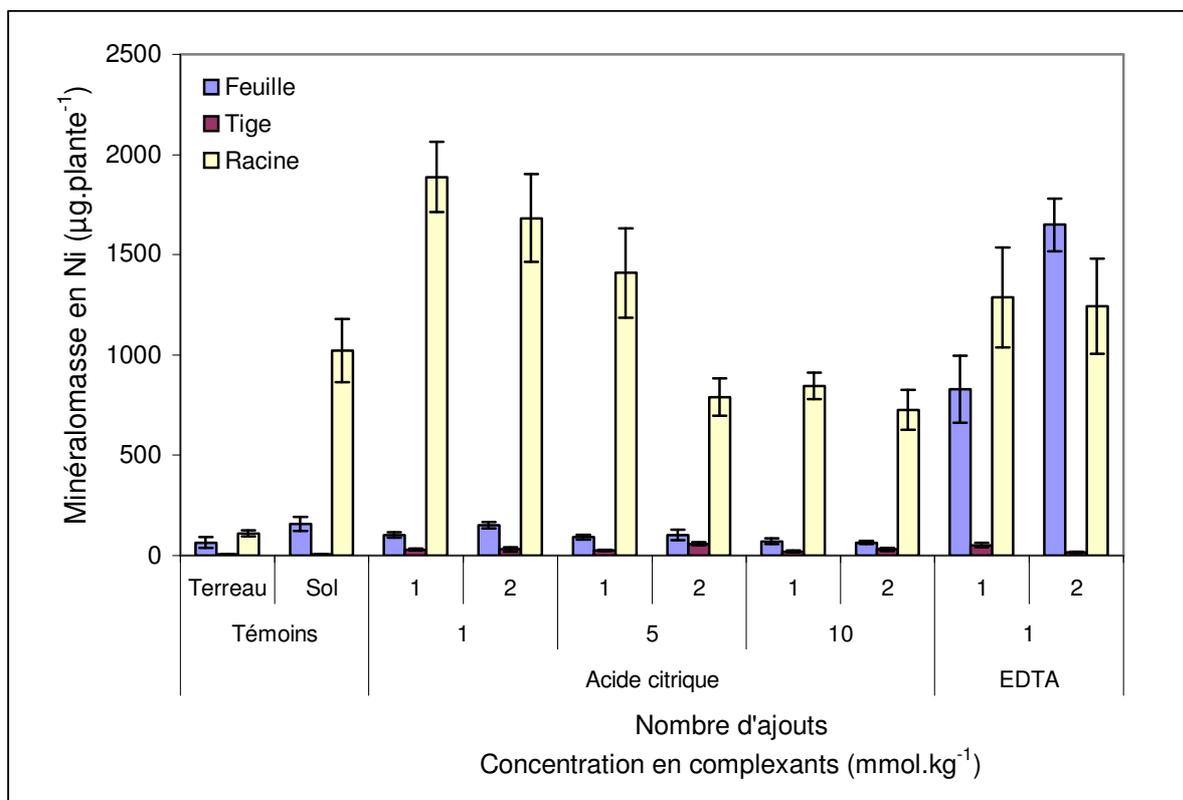


Figure IV.28 : Minéralomasses en Ni dans les différentes parties de *Datura innoxia* (racine, tige, feuille) après une ou deux applications de complexants à 1, 5, 10 mmol.kg⁻¹

IV.2.4.1 Evaluation de l'accumulation et de la translocation

IV.2.4.1.1 Efficacité de l'acide citrique vis-à-vis de Cr

➤ Effet sur la translocation

Tableau IV.5 : Facteur de translocation de Cr

Concentration en complexant (mmol.kg ⁻¹)		1	5	10
Témoin		0,17 ± 0,05		
Une application	Acide citrique	0,17 ± 0,07	0,20 ± 0,07	0,17 ± 0,03
	EDTA	0,5 ± 0,1	-	-
Deux applications	Acide citrique	0,21 ± 0,05	0,35 ± 0,09	0,6 ± 0,2
	EDTA	0,4 ± 0,1	-	-

Après une application d'acide citrique et quelle que soit la concentration, le FT de Cr ne présente pas de différences significatives avec les plantes témoins c'est-à-dire sans ajout d'acide citrique (**Tableau IV.5**). Après l'application d'acide citrique, il n'y a pas de modifications significatives dans l'accumulation de Cr dans les racines et dans les feuilles (**Figure IV.25**). Les teneurs en Cr dans les tiges ne permettent pas d'augmenter de manière significative le Cr dans les parties aériennes, d'où la constance de FT.

Après deux applications d'acide citrique à 5 et 10 mmol.kg⁻¹, le FT de Cr augmente (**Tableau IV.5**). D'une part, les teneurs en Cr dans les racines restent inchangées après les ajouts d'acide citrique. D'autre part, les teneurs en Cr dans les tiges sont multipliées par 3 et par 6, respectivement pour 5 et 10 mmol.kg⁻¹ (**Figure IV.25**). Par conséquent après deux applications d'acide citrique à 5 et 10 mmol.kg⁻¹, les teneurs en Cr dans la partie aérienne sont augmentées de manière significative, d'où l'augmentation du FT.

➤ **Effet sur la bioaccumulation**

Tableau IV.6 : Facteur de bioaccumulation de Cr

Concentration en complexant (mmol.kg ⁻¹)		1	5	10
Témoin		0,13 ± 0,01		
Une application	Acide citrique	0,10 ± 0,01	0,15 ± 0,05	0,10 ± 0,01
	EDTA	0,07 ± 0,01	-	-
Deux applications	Acide citrique	0,15 ± 0,02	0,11 ± 0,02	0,13 ± 0,02
	EDTA	0,08 ± 0,01	-	-

Quel que soit le nombre d'application et quelle que soit la concentration d'acide citrique appliquée, le FB est du même ordre que celui du témoin (**Tableau IV.6**).

IV.2.4.1.2 Efficacité de l'acide citrique vis-à-vis de Ni

➤ **Effet sur la translocation**

Tableau IV.7 : Facteur de translocation de Ni

Concentration en complexant (mmol.kg ⁻¹)		1	5	10
Témoin		0,33 ± 0,09		
Une application	Acide citrique	0,13 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,19 ± 0,02
	EDTA	0,5 ± 0,1	-	-
Deux applications	Acide citrique	0,11 ± 0,02	0,20 ± 0,03	0,4 ± 0,1
	EDTA	2,2 ± 0,1	-	-

Après une application d'acide citrique et quelle que soit la concentration, le FT de Ni est inférieur à celui des témoins (**Tableau IV.7**). D'une part, l'ajout d'acide citrique entraîne une augmentation des teneurs en Ni dans les racines, mais d'autre part, il n'y a pas d'augmentation des teneurs en Ni dans les tiges et dans les feuilles (**Figure IV.26**), d'où la diminution du FT.

Après deux applications d'acide citrique à 5 et 10 mmol.kg⁻¹, le FT de Ni augmente mais reste inférieur ou égal à celui des témoins (**Tableau IV.7**). D'une part, l'ajout d'acide citrique entraîne une augmentation des teneurs en Ni dans les racines, et d'autre part, il y a une augmentation des teneurs en Ni dans les tiges qui sont respectivement multipliées par 4 et par 6 (**Figure IV.26**). Par conséquent, la teneur en Ni dans les parties aériennes augmente sans permettre une augmentation du FT par rapport à celui des témoins.

➤ **Effet sur la bioaccumulation**

Tableau IV.8 : Facteur de bioaccumulation de Ni

Concentration en complexant (mmol.kg ⁻¹)		1	5	10
Témoin		0,7 ± 0,1		
Une application	Acide citrique	1,27 ± 0,06	0,8 ± 0,1	0,44 ± 0,01
	EDTA	1,9 ± 0,3	-	-
Deux applications	Acide citrique	1,3 ± 0,1	0,70 ± 0,01	0,59 ± 0,03
	EDTA	1,9 ± 0,4	-	-

Comme pour Cr, quel que soit le nombre d'application, 1 mmol.kg⁻¹ d'acide citrique entraîne une augmentation du FB (**Tableau IV.8**). Quel que soit le nombre d'application, pour une concentration de 5 mmol.kg⁻¹ d'acide citrique, le FB est équivalent à celui du témoin tandis que 10 mmol.kg⁻¹ entraîne une diminution du FB.

IV.2.4.1.3 Efficacité de l'EDTA vis-à-vis de Cr

➤ **Effet sur la translocation**

Après l'application de l'EDTA, le FT de Cr augmente (**Tableau IV.5**). D'une part, l'ajout d'EDTA entraîne une diminution des teneurs en Cr dans les racines, et d'autre part, les teneurs en Cr dans les tiges sont multipliées par 2 et 3, respectivement pour une et deux applications (**Figure IV.25**). Par conséquent, après une application d'EDTA, les teneurs en Cr dans la partie aérienne sont augmentées, d'où l'augmentation du FT.

➤ **Effet sur la bioaccumulation**

Quelle que soit le nombre d'application, 1 mmol.kg⁻¹ d'EDTA entraîne une diminution du FB (**Tableau IV.6**). Bien que l'ajout d'EDTA permette d'augmenter les

teneurs en Cr dans les tiges, il entraîne une diminution des teneurs en Cr dans les racines (**Figure IV.25**). Ainsi, la teneur totale en Cr n'est pas augmentée, d'où la diminution du FB.

IV.2.4.1.4 Efficacité de l'EDTA vis-à-vis de Ni

➤ **Effet sur la translocation**

Après l'application de l'EDTA, le FT de Ni augmente (**Tableau IV.7**). D'une part, l'ajout d'EDTA entraîne une augmentation des teneurs en Ni dans les racines, et d'autre part, les teneurs en Ni dans les feuilles sont multipliées par 13 et 29, respectivement pour une et deux applications (**Figure IV.26**). Dans les tiges, les teneurs en Ni sont multipliées par 5 et 2, respectivement pour une et deux applications. Par conséquent, après une application d'EDTA, les teneurs en Ni dans la partie aérienne sont augmentées, d'où l'augmentation du FT de Ni.

➤ **Effet sur la bioaccumulation**

Quelle que soit le nombre d'application, 1 mmol.kg⁻¹ d'EDTA entraîne une augmentation du FB (**Tableau IV.8**). Les teneurs en Ni sont augmentées dans les différentes parties de la plante (**Figure IV.26**), d'où l'augmentation du FB.

Lors de l'étude du sol modèle, nous avons vu que l'acide citrique permet d'augmenter l'accumulation du chrome, notamment au niveau des racines, et que cette accumulation s'accompagne d'une faible translocation vers les parties aériennes. Dans le cas du sol contaminé par l'activité industrielle, l'acide citrique ne modifie ni l'accumulation ni la translocation du chrome. En revanche, il permet d'augmenter l'accumulation du nickel, notamment au niveau des racines, contrairement à ce qui a été observé pour le sol modèle.

Comme pour le sol modèle, l'EDTA entraîne une diminution de l'accumulation du chrome tandis qu'il permet une augmentation de l'accumulation et de la translocation du nickel ; cette augmentation étant probablement due au fait que le complexe EDTA-Ni franchisse toutes les barrières physiologiques et donc favorise le passage racines-feuilles.

IV.3 Conclusion

Datura innoxia cultivée sur les sols contaminés étudiés ne présente pas de signes apparents de stress, et montre ainsi qu'elle est tolérante au chrome et au nickel. Elle possède donc les transporteurs nécessaires au passage vers le xylème, mais également ceux permettant le transport le long du xylème.

L'acide citrique et l'EDTA permettent d'augmenter la quantité de métal en solution dans le sol, ainsi que l'absorption des métaux par les plantes. Dans le **Chapitre III**, nous avons mis en évidence que l'acide citrique est plus efficace pour mobiliser le chrome, et l'EDTA pour le nickel. Ces résultats présentent des similitudes avec ceux qui ont été observés au niveau du transfert sol-plante. D'une manière générale, l'EDTA permet d'améliorer l'accumulation du nickel par *Datura innoxia* tandis que l'acide citrique permet d'améliorer l'accumulation du chrome.

Toutefois, d'un sol à l'autre, des différences apparaissent dans l'accumulation du chrome et du nickel. En effet, nous avons observé, sur le sol modèle contaminé, que l'application de l'acide citrique entraîne une augmentation de l'accumulation du chrome et une diminution de celle du nickel chez *Datura innoxia*. Sur le sol contaminé par l'activité industrielle, l'accumulation du chrome n'est pas modifiée tandis que celle du nickel augmente lors de l'application de l'acide citrique.

Les différences entre les deux sols peuvent justifier ces différences d'accumulation. Tout d'abord, le sol modèle n'est contaminé que par du nickel et du chrome, alors que le sol industriel supporte une contamination polymétallique, d'où des effets de compétition. Par ailleurs, la teneur totale en métaux est différente, notamment pour le nickel (70 mg.kg^{-1} pour le sol modèle contaminé contre 280 mg.kg^{-1} pour le sol contaminé par l'activité industrielle).

De plus, les expériences en flacons ont montré une plus grande part de métal mobilisé dans le cas du sol modèle contaminé. En effet, la biodisponibilité et la spéciation des métaux diffèrent d'un sol à l'autre. Les métaux présentent dans le sol modèle contaminé une grande part de métal dans les fractions mobilisables, notamment dans le cas du nickel (cf. **Chap III, § III.1.1.2**). En revanche, dans le sol contaminé par l'activité industrielle, le chrome et le nickel présentent une part de métal de 5 % et 10 %, respectivement, dans les fractions mobilisables. Par conséquent, la quantité de métal mobilisée suite à l'application des complexants, en présence de *Datura innoxia*, est différente d'un sol à l'autre. Ainsi, la quantité de métal assimilable est différente d'où cette différence d'accumulation.

L'accumulation des métaux dans la plante étant la résultante entre l'augmentation de la part de métal biodisponible, les pertes de biomasse, mais aussi les mécanismes de protection qui peuvent être mis en place par la plante, il est donc nécessaire de tenir compte des effets phytotoxiques qu'entraîne l'application des complexants. Par conséquent, le choix de la concentration en complexant doit alors faire l'objet d'une attention particulière. Cette concentration doit permettre une accumulation des métaux tout en évitant les effets phytotoxiques et la mobilisation massive des métaux afin d'éviter, par exemple, une contamination des eaux souterraines.

Nous avons alors étudié, dans le Chapitre V, le lessivage du chrome et du nickel à travers une colonne de sol (sol contaminé par l'activité industrielle) après percolation d'une solution de complexant à la concentration de $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$.

CHAPITRE V :
ÉVALUATION DU LESSIVAGE DES MÉTAUX
EN MODE DYNAMIQUE

V EVALUATION DU LESSIVAGE DES METAUX EN MODE DYNAMIQUE

Dans ce chapitre, nous allons présenter les résultats portant sur la mobilité du chrome et du nickel, en mode dynamique, afin d'évaluer les risques liés à l'application et au mode d'application de complexants sur un sol. Pour cela, nous avons étudié le lessivage du chrome et du nickel à travers une colonne de sol (le sol contaminé par l'activité industrielle) après percolation, à 20 mL.h^{-1} , d'une solution de complexant à la concentration de $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$, et selon deux modes d'injection (en continu et successif).

V.1 Détermination d'un état initial stable

Avant chaque injection de solution complexante, les colonnes de sol sont saturées avec de l'EUP jusqu'à atteindre un état initial stable. Pour établir cet état de stabilité, nous avons suivi en sortie la matière organique, la conductivité, le pH et l'élution de différents éléments (Ca, Fe, Al, Mn, Mg, Zn, Cr, Ni).

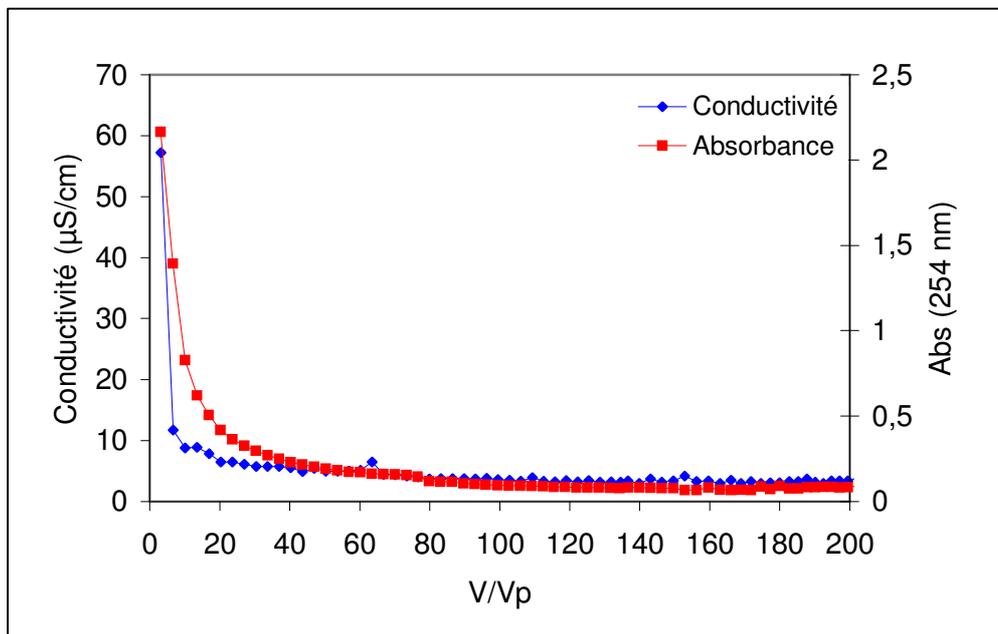


Figure V.1 : Evolution de la matière organique et de la conductivité dans les éluats

La **Figure V.1** présente la conductivité et l'absorbance en fonction du nombre de volume de pore percolés. L'absorbance ainsi que la conductivité diminuent rapidement de 0 à 20 Vp, puis progressivement avant de se stabiliser à partir de 120 Vp. Simultanément, le pH augmente de 0 à 20 Vp ; le pH de départ est 6,3 (pH du sol) puis il se stabilise à pH = 6,8 (**Figure V.2**). Cette augmentation du pH peut être due à l'éluion des protons échangeables au cours de l'injection des 20 premiers volumes de pore.

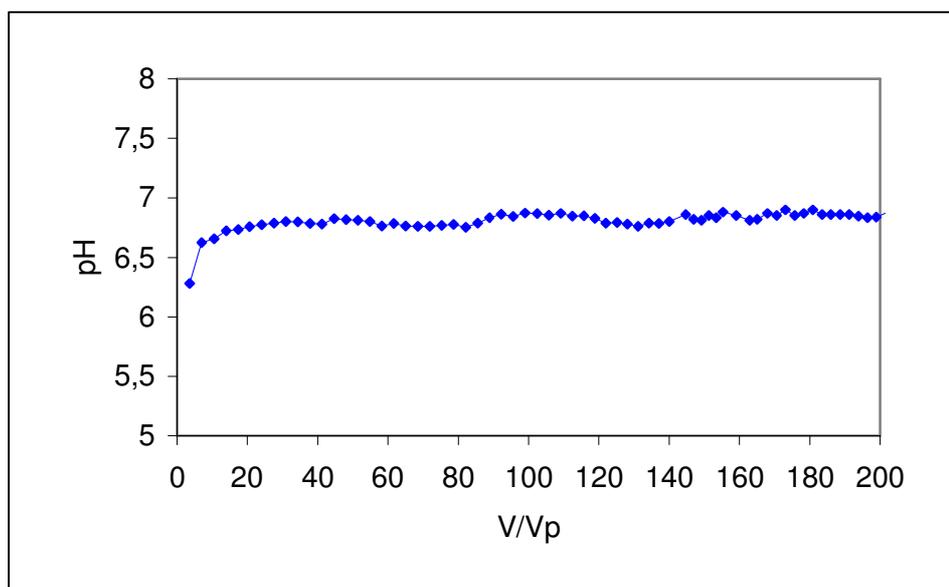


Figure V.2 : Evolution du pH dans les éluats

La **Figure V.3** présente l'éluion des principaux éléments présents dans le sol contaminé par l'activité industrielle. La concentration en éléments élués diminue rapidement, en 20 Vp, puis progressivement avant de se stabiliser. Il s'agit de l'éluion d'une fraction facilement échangeable des éléments concernés. Les courbes d'éluion des éléments et de la matière organique présentent certaines similitudes (**Figure V.1**). Par conséquent, il s'agit probablement aussi de l'éluion d'une fraction liée à la matière organique.

Ainsi, toutes les expériences menées en colonne seront précédées d'une **phase de stabilisation de 120 Vp**, soit environ une durée d'éluion de 40 h.

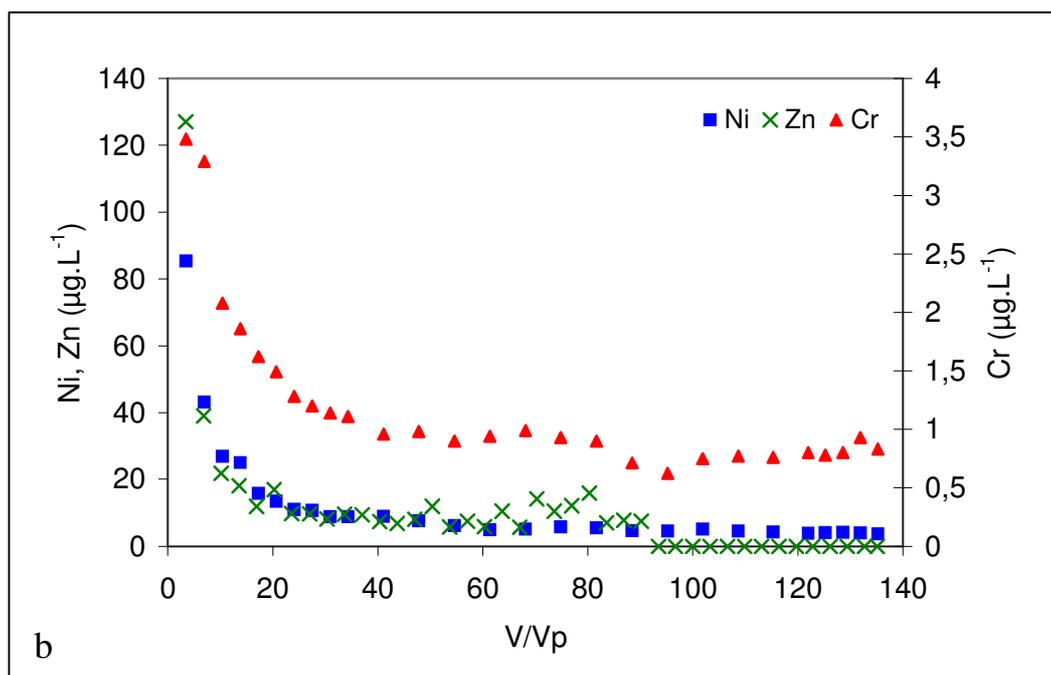
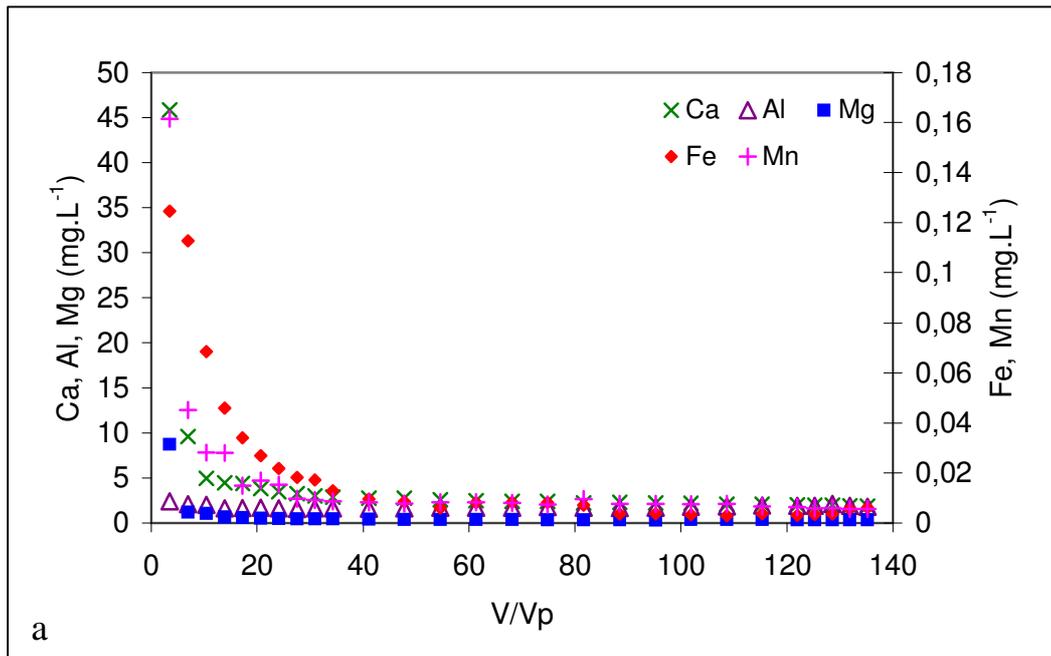


Figure V.3 : Elution de Ca, Al, Mg, Fe, Mn (a) et Zn, Cr, Ni (b) par de l'EUP

V.2 Elution des métaux par les complexants

V.2.1 Percolation en continu d'une solution de complexant

Dans le chapitre précédent, nous avons appliqué sur le sol, en présence de plantes, des solutions d'acide citrique et d'EDTA à des concentrations croissantes (2,5 - 12,5 - 25 mmol.L⁻¹). La concentration de 2,5 mmol.L⁻¹ s'est révélée être un compromis entre l'augmentation de l'accumulation des métaux dans la plante et des effets phytotoxiques limités.

Afin d'évaluer le lessivage des métaux en présence de complexants, nous avons fait percoler une solution complexante d'EDTA ou d'acide citrique à 2,5 mmol.L⁻¹ à travers une colonne de sol puis nous avons déterminé les quantités de métal mobilisées (cf. **Chap. II, § II.5.2**). Dans ces expériences, les concentrations en Cr(VI) n'ont pu être déterminées car inférieures à la limite de détection, soit 5 µg.L⁻¹.

V.2.1.1 Percolation de la solution d'EDTA

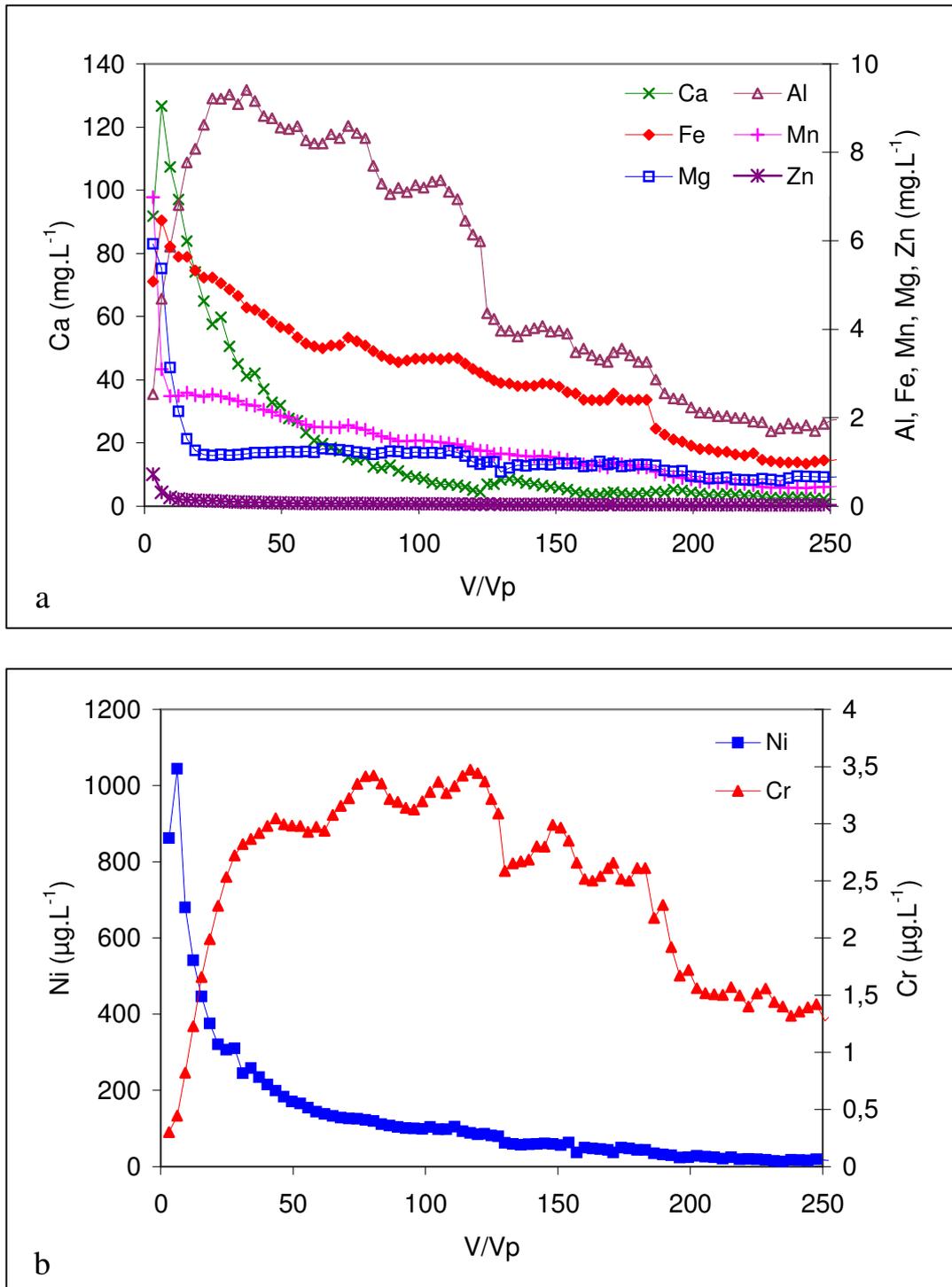


Figure V.4 : Elution de Ca, Al, Mg, Fe, Mn, Zn (a) et, Cr, Ni (b) par de l'EDTA à 2,5 mmol.L⁻¹

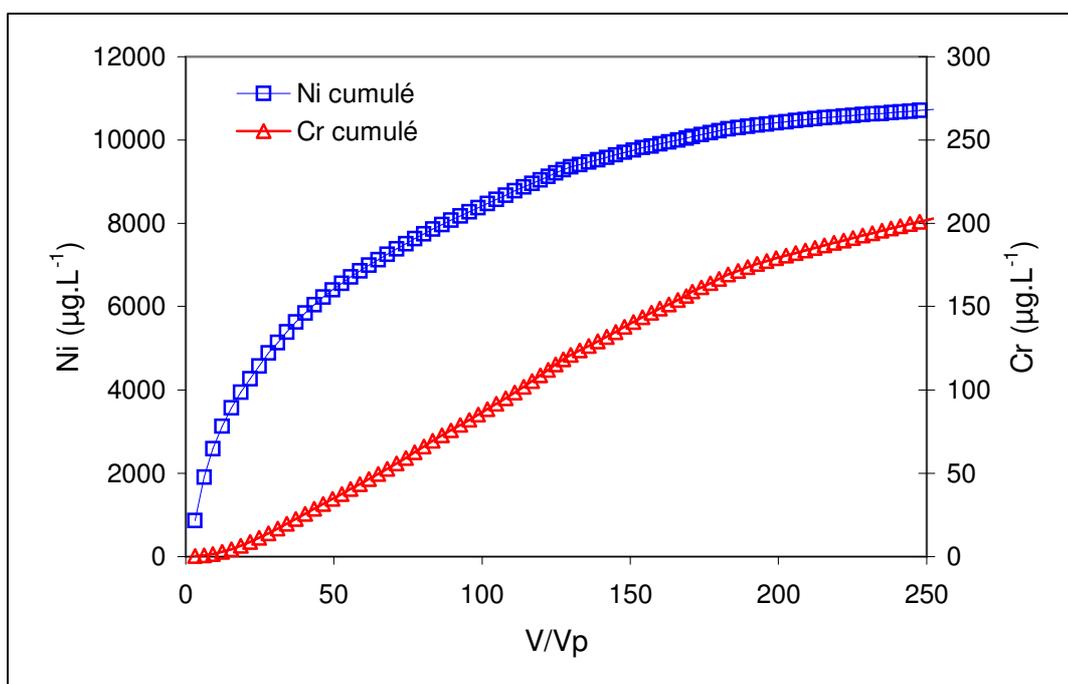


Figure V.5 : Elution cumulée de Cr et Ni par de l'EDTA à 2,5 mmol.L⁻¹

La **Figure V.4** présente l'élution de Ca, Al, Mg, Fe, Mn, Zn (**a**) et, Cr, Ni (**b**) par de l'EDTA à 2,5 mmol.L⁻¹. Nous pouvons observer l'apparition d'un pic d'élution pour les éléments Ca, Fe, Mg, Mn, Zn et Ni après l'injection de 6 Vp d'EDTA. Cela montre que l'on a une élution rapide de ces éléments. La quantité de Mg et de Zn éluée diminue rapidement avant d'atteindre un palier. Dans les cas de Ni, Ca, Fe et Mn, la diminution est plus lente. Un palier est atteint à partir de 200 Vp percolés.

Dans le cas de Al et Cr, nous pouvons observer un comportement totalement différent. En effet, il n'y a pas de pic d'élution. Pour l'aluminium, l'élution maximale est atteinte après 25 Vp percolés. Nous pouvons ensuite observer un palier de 25 à 40 Vp, suivi d'une diminution progressive jusqu'à un nouveau palier à partir de 200 Vp. Dans le cas du chrome, l'élution maximale est atteinte après 35 Vp percolés. Ce maximum est maintenu pendant 95 Vp. Il est suivi d'une diminution progressive jusqu'à un palier à partir de 200 Vp.

La **Figure V.5** présente les quantités cumulées de Cr et de Ni élués. Cette représentation montre que l'élution de Ni semble atteindre un palier. Le maximum de nickel mobilisable dans les conditions expérimentales étudiées est alors atteint. Dans le cas de Cr, la quantité éluee continue d'augmenter en fin d'expérience, une partie du chrome reste alors mobilisable.

V.2.1.2 Percolation de la solution d'acide citrique

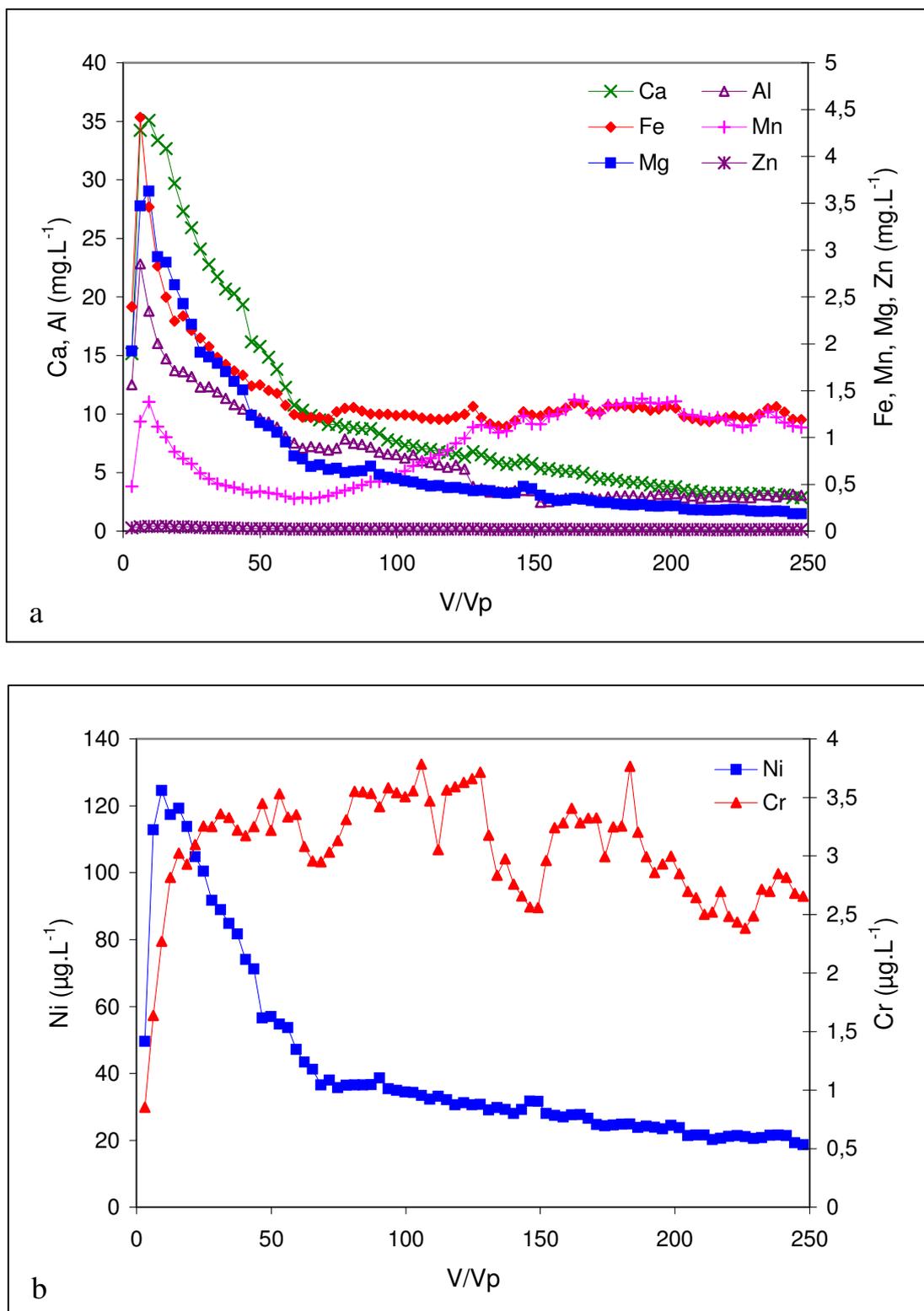


Figure V.6 : Elution de Ca, Al, Mg, Fe, Mn, Zn (a) et, Cr, Ni (b) par de l'acide citrique à 2,5 mmol.L⁻¹

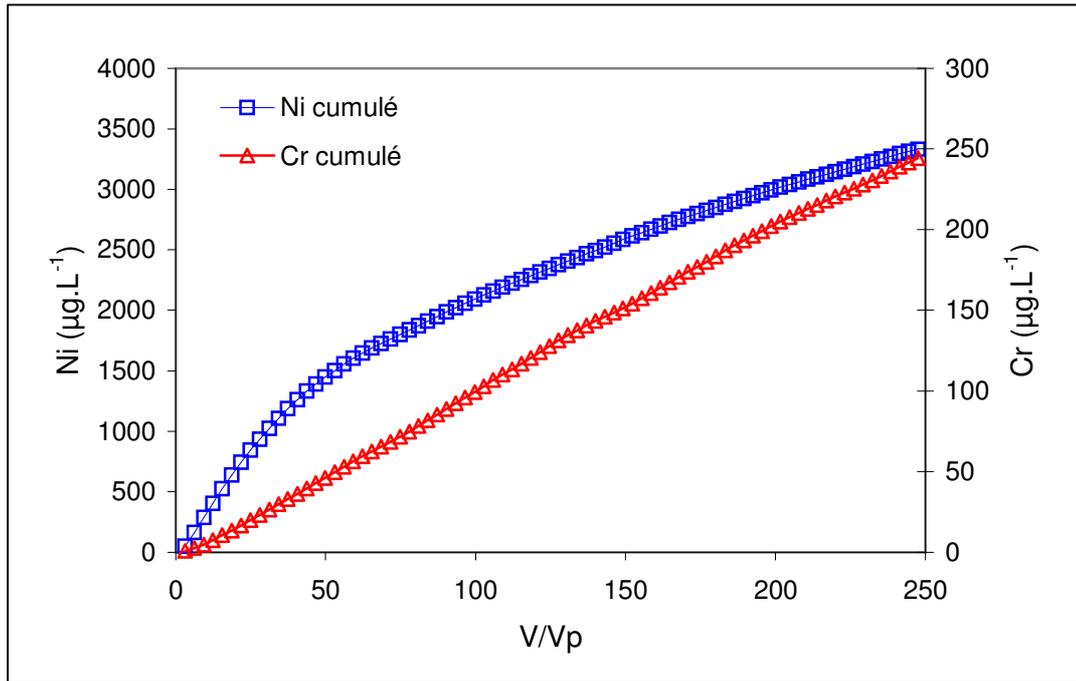


Figure V.7 : Elution cumulée de Cr et Ni par de l'acide citrique à $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$

La **Figure V.6** présente l'élution de Ca, Al, Mg, Fe, Mn, Zn (**a**) et, Cr, Ni (**b**) par de l'acide citrique à $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$. Nous pouvons observer l'apparition d'un pic d'élution pour les éléments Ca, Fe, Mg, Mn, Al, Zn et Ni après l'injection de 9 Vp d'acide citrique. Les quantités éluées diminuent ensuite progressivement avant d'atteindre un palier à partir de 200 Vp percolés.

Dans le cas de Mn, après le pic d'élution, la quantité de Mn éluée diminue progressivement jusqu'à 60 Vp avant d'augmenter et d'atteindre un palier à partir de 160 Vp. Dans le cas de Cr, l'élution maximale est atteinte après 25 Vp percolés.

Les quantités cumulées de Cr et Ni élués (**Figure V.7**) montrent qu'en fin d'expérience, le chrome et le nickel mobilisables ne sont pas épuisés.

D'une manière générale, le lessivage d'un sol contaminé par une solution de complexant permet d'extraire une partie des éléments métalliques présent dans ce sol, et ce grâce à la formation de complexes solubles métal-complexant très stables (Bordas et Bourg, 1998 ; Barona et al., 2001 ; Tandy et al., 2004). Cependant, le complexant peut également complexer simultanément les autres éléments métalliques participant à la constitution des phases porteuses du sol : (oxy)hydroxydes de Fe, Mn et Al, alumino-silicates et carbonates.

Cela conduit alors à leur dissolution et la libération des éléments qui leur sont liés (Ghestem et Bermond, 1998 ; Tandy et al., 2004).

De même, lors des expériences en batch (cf. **Chap. III, § III.2.2.2**), nous avons mis en évidence la dissolution des phases porteuses en présence de complexant. Nous avons également montré que l'acide citrique est plus efficace que l'EDTA en ce qui concerne la dissolution de ces phases porteuses. Nous retrouvons, cette tendance lors des expériences en colonnes. Cependant, l'élution de ces éléments est moins importante en présence d'acide citrique, notamment dans le cas de Al.

L'élution du manganèse est différente en présence d'acide citrique. La dissolution des oxydes peut être le résultat de réactions de protonation, de complexation (cf. **Chap. III, § III.2.2.2**) ou de dissolution réductrice (Cornell et Schwertmann, 1996). La dissolution réductrice fait intervenir un réducteur qui s'adsorbe sur les groupements de surface et qui réduit le Fe(III) en Fe(II), ce qui déstabilise la structure et entraîne la désorption de Fe (Cornell et Schwertmann, 1996). De plus, Wang et Stone (2006) ont observé l'oxydation du citrate par $Mn^{III, IV}$ entraînant la libération de Mn^{II} mettant ainsi en évidence la mise en solution du manganèse par une réaction de dissolution réductrice. Par conséquent, l'acide citrique agit dans un premier temps comme un complexant vis-à-vis de Mn. Dans un deuxième temps, Mn est mobilisé par dissolution réductrice.

Cr et Ni présentent une élution différente. En effet, comme nous l'avons observé dans les résultats de cinétique (cf. **Chap III, § III.2**), Ni est mobilisé plus rapidement que Cr. L'élution de Cr présente une allure analogue à celle de Al, Fe et Mn tandis que Ni présente une élution analogue à celle de Ca et Mg. Les oxydes constituent des phases porteuses pour les métaux. Leur dissolution permet de libérer les métaux qui leurs sont liés. Ces éluions analogues indiqueraient une association entre Cr et Al, Fe ou Mn, d'une part et une association entre Ni et Ca ou Mg, d'autre part, sachant que le fer, le manganèse et l'aluminium peuvent être substitués par le chrome et le nickel dans les oxydes (Cornell et Schwertmann, 1996). L'élution rapide de Ni, proche de celle de Ca et Mg montre que Ni est faiblement lié à la surface solide et qu'il est mobilisé principalement par désorption. L'élution lente de Cr, proche de celle de Al, Fe et Mn montre que Cr est fortement lié à la surface solide et qu'il est mobilisé principalement par dissolution.

Les courbes cumulées montrent que l'EDTA est plus efficace pour l'élution de Ni et l'acide citrique légèrement plus pour Cr. En fin d'expérience, une part de Cr reste mobilisable. Le Cr est présent sous deux formes : Cr(III) et Cr(VI). Lors des expériences en

batch (cf. **Chap. III., § III.2.2.2**), nous avons mis en évidence que l'acide citrique est plus efficace que l'EDTA en ce qui concerne la mobilisation de Cr(VI). De plus, la dissolution réductrice des oxydes de manganèse en fin d'expérience pourrait mobiliser le Cr lié à ces oxydes et ainsi maintenir la quantité de Cr éluee.

En conclusion, le chrome et le nickel sont mobilisés de façons différentes. Leur mobilité est fonction d'une fraction facilement mobilisable mais aussi de celle des éléments majeurs auxquels ils sont liés. Le choix du réactif est un élément important qui doit être pris en compte pour limiter les risques de lessivage. En effet, la persistance des complexants dans le sol peut augmenter et prolonger le lessivage des métaux.

Dans notre étude, les quantités de nickel lessivées restent faibles et diminuent rapidement. Les quantités de chrome lessivées sont faibles mais elles restent constantes pendant une période donnée. La persistance des métaux en solution après l'application des complexants devient un facteur limitant pour une application en phytoréhabilitation.

V.2.2 Percolations successives d'une solution de complexant et d'EUP

Dans le **Chapitre IV**, nous avons testé l'efficacité de deux applications successives de complexants sur le sol lors de la culture des plantes.

Afin d'évaluer le stock de métal mobilisable en conditions dynamiques ainsi que les risques de lessivage liés au mode d'application, nous avons effectué deux injections successives de solutions complexantes à $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$.

Dans une première expérience (cycle 1), nous avons fait percoler deux fois $3,5 \text{ Vp}$ de la solution de complexant puis $3,5 \text{ Vp}$ d'EUP. Ce volume d'EUP injecté, entre chaque application de complexant, correspond à la pluviométrie mensuelle moyenne de la région Limousin (80 mm.m^{-2}). Ce cycle a été répété huit fois.

Dans une deuxième expérience (cycle 2), nous avons fait percoler la solution de complexant à deux reprises, soit deux fois $3,5 \text{ Vp}$ de solution complexante, séparés par $3,5 \text{ Vp}$ d'EUP. Après ces deux injections, nous avons fait percoler uniquement 90 Vp d'EUP.

V.2.2.1 Percolation de la solution d'EDTA

➤ Elution de Cr

Au cours du cycle 1, nous pouvons observer une augmentation de la quantité de Cr éluee, à partir de la 3^{ème} injection d'EDTA, suivie d'une stabilisation au cours des injections suivantes (**Figure V.8 a**). Les quantités de Cr éluees par l'EUP augmentent entre la 1^{ère} et la 2^{ème} injection de solution complexante puis se stabilisent. Elles sont supérieures à celles éluees par l'EDTA et présentent une moyenne de $2,7 \pm 0,3 \mu\text{g.L}^{-1}$ contre $1,7 \pm 0,2 \mu\text{g.L}^{-1}$ pour l'EDTA. Des modifications des conditions physico-chimiques à l'intérieur de la colonne lors de l'injection de l'eau peuvent entraîner une dispersion des colloïdes. Le Cr se retrouverait alors mobilisé sous forme colloïdale et donc non éliminé par la filtration sur $0,45 \mu\text{m}$, d'où l'augmentation observée après l'injection de l'eau.

Au cours du cycle 2, la quantité de Cr éluee augmente après les deux injections (**Figure V.8 b**). A l'arrêt de l'injection de la solution d'EDTA, nous pouvons observer une fuite importante de la quantité de Cr éluee, durant 30 Vp.

➤ Elution de Ni

Au cours du cycle 1, nous pouvons observer une augmentation de la quantité de Ni éluee, dès la 1^{ère} injection (**Figure V.9 a**). Au cours des injections suivantes, la quantité de Ni éluee diminue progressivement de $927 \pm 55 \mu\text{g.L}^{-1}$ à $116 \pm 34 \mu\text{g.L}^{-1}$. De même, les quantités de Ni éluees au cours de la percolation de l'EUP diminuent progressivement de $332 \pm 5 \mu\text{g.L}^{-1}$ à $58 \pm 1 \mu\text{g.L}^{-1}$.

Au cours du cycle 2, la quantité de Ni éluee augmente dès la première injection (**Figure V.9 b**). A l'arrêt de l'injection de la solution d'EDTA, les quantités de Ni éluees par l'EUP diminuent rapidement. Comme pour Cr, nous pouvons observer une fuite importante de la quantité de Ni éluee, durant 25 Vp.

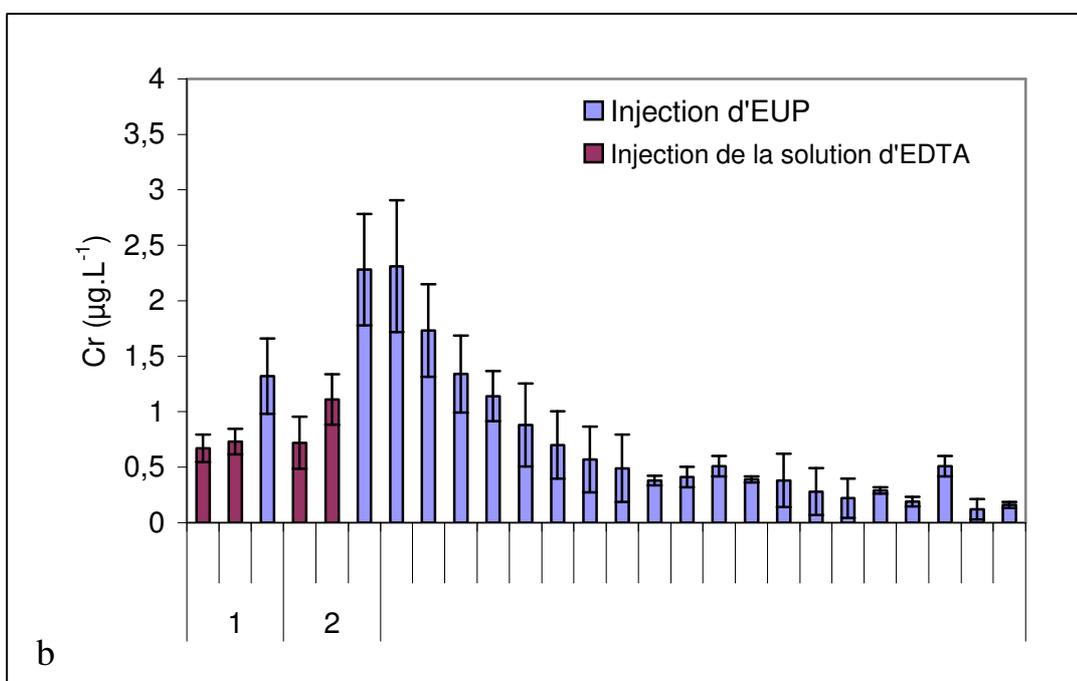
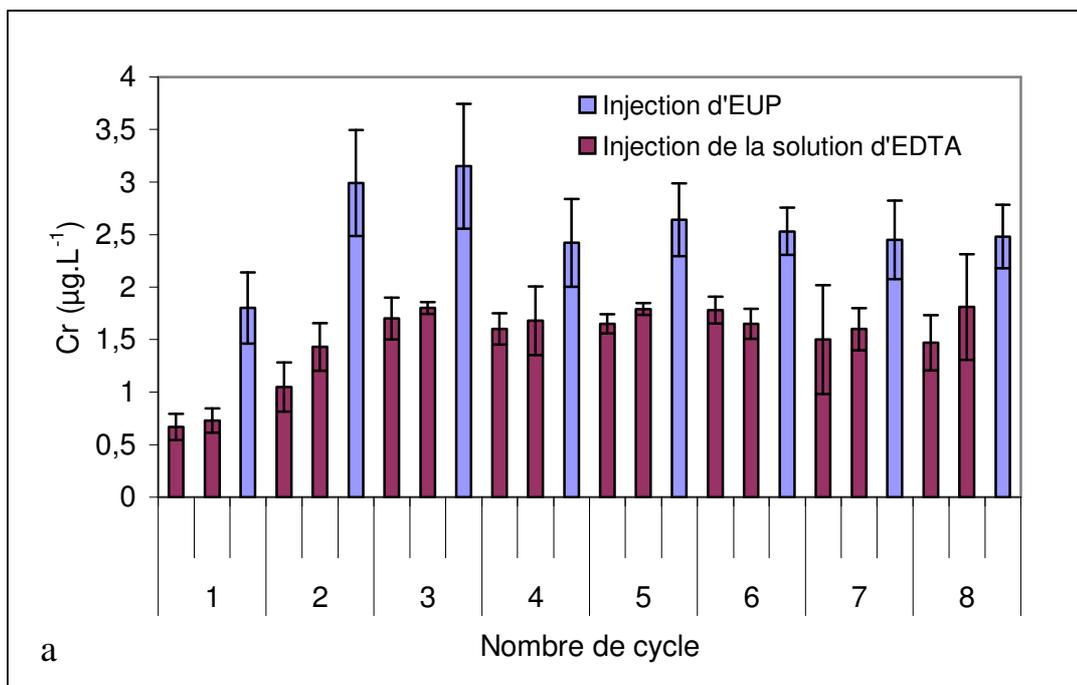


Figure V.8 : Elution de Cr par une solution d'EDTA à $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ et par l'EUP (cycle 1) (a) et par l'EUP après deux injections d'une solution d'EDTA à $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ (cycle 2) (b)

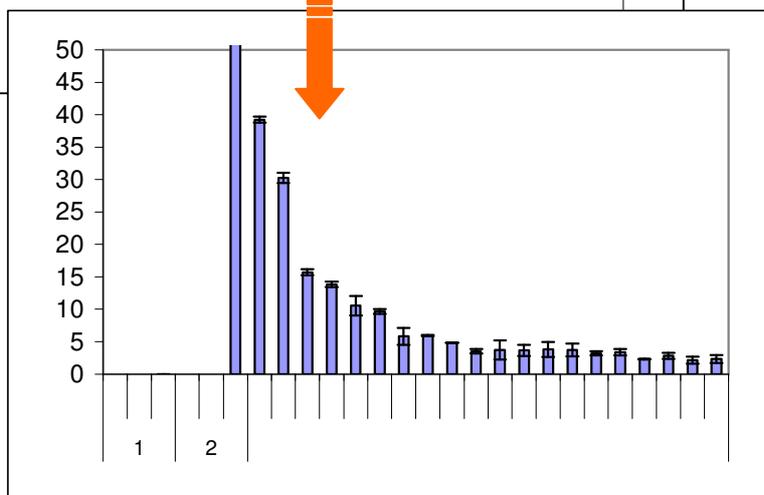
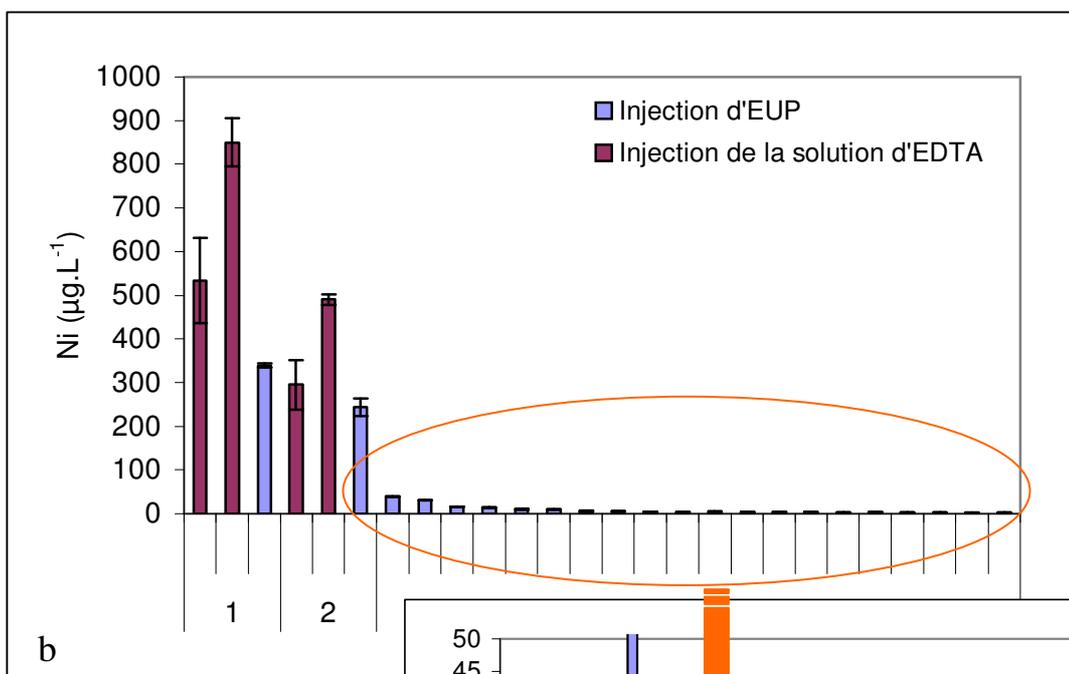
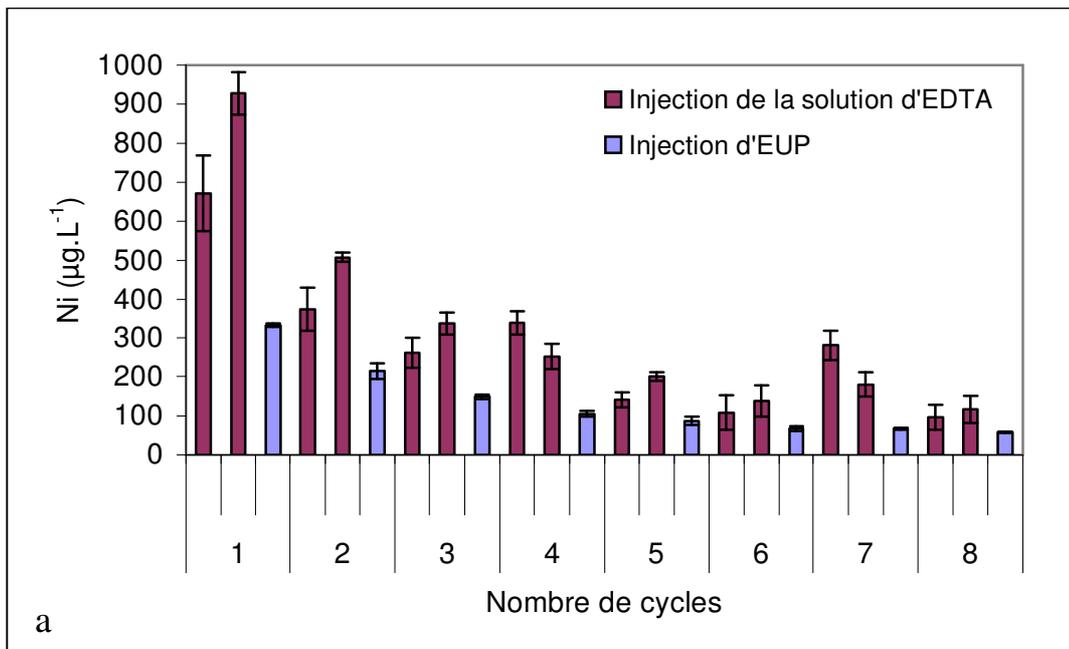


Figure V.9 : Elution de Ni par une solution d'EDTA à $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ et par l'EUP (cycle 1) (a) et par l'EUP après deux injections d'une solution d'EDTA à $2,5 \text{ mmol.L}^{-1}$ (cycle 2) (b)

Lors du cycle 1, les percolations successives d'EDTA entraînent l'éluion d'une forte quantité de Ni dès la première injection de complexant puis cette quantité de métal diminue progressivement. Cela confirme l'épuisement progressif de la fraction mobilisable comme montré précédemment. Dans le cas de Cr, la percolation de l'EDTA permet de maintenir constante la quantité de métal solubilisée, le stock mobilisable apparaissant plus long à épuiser. Entre deux injections de solution complexante, l'EUP permet de solubiliser des quantités de Ni légèrement plus faibles que celles solubilisées lors de la dernière injection de complexant, pour le Cr les quantités solubilisées par l'EUP sont supérieures.

Lors du cycle 2, nous pouvons observer une mobilisation importante, en quantité et en durée, des métaux après l'arrêt de l'injection de la solution complexante. Le complexant, de part sa persistance dans le sol et en déstabilisant le complexe adsorbant du sol maintient la solubilisation des métaux lors de l'injection d'EUP.

En effet, la forte mobilité des complexes métal-EDTA peut provoquer la dissolution des phases porteuses, mais aussi la remobilisation des métaux adsorbés (Nowack et al., 2001). De plus, Barona et al. (2001) ont observé qu'après l'application d'EDTA, les éléments métalliques (Pb, Ni et Zn) sont présents dans le sol sous des formes plus mobiles pour les lessivages suivants. De même, Andrade et al. (2007) ont suivi l'éluion d'éléments métalliques au cours de l'injection d'EUP suite à la percolation d'une solution d'EDTA à 3,5 mmol.L⁻¹, sur une colonne de sol. La quantité de Cr et de Ni élués est équivalente à celle éluee par la solution d'EDTA.

V.2.2.2 Percolation de la solution d'acide citrique

➤ Elution de Cr

Le comportement de Cr vis-à-vis de l'acide citrique est proche de celui vis-à-vis de l'EDTA. En effet, l'acide citrique permet de maintenir la quantité de Cr éluee (**Figure V.10 a**). De plus, à l'arrêt de l'injection du complexant, nous pouvons également observer une fuite importante de Cr, pendant 26 Vp (**Figure V.10 b**).

➤ Elution de Ni

Le comportement de Ni vis-à-vis de l'acide citrique est proche de celui de Cr. En effet, l'acide citrique permet de maintenir la quantité de Ni éluee (**Figure V.11 a**). A l'arrêt de l'injection du complexant, nous observons une fuite importante de Ni, durant 20 Vp (**Figure V.11 b**).

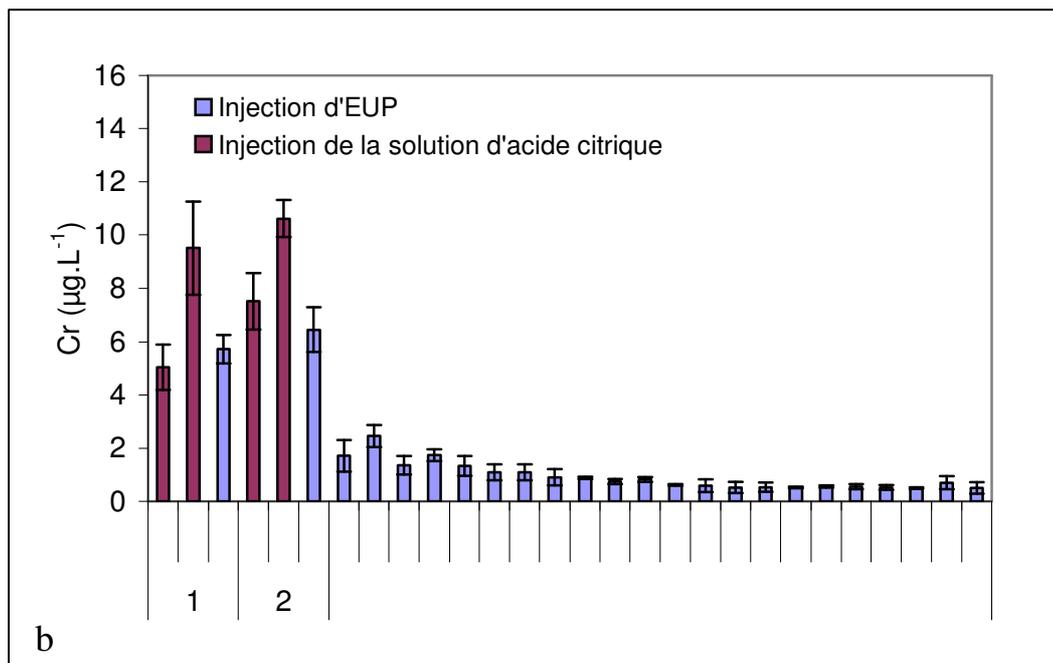
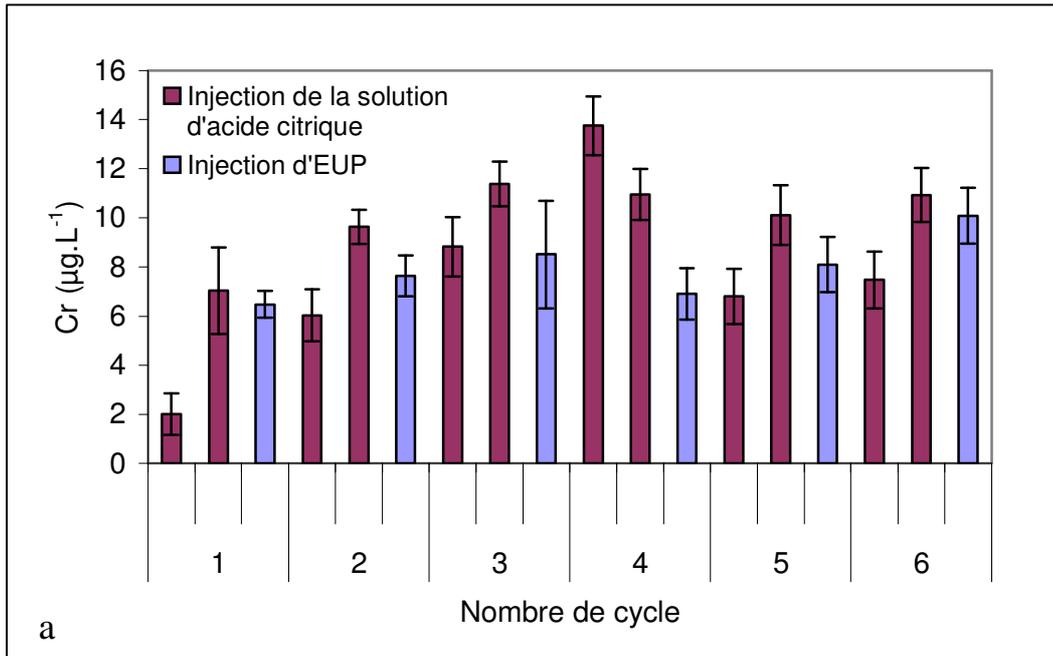


Figure V.10 : Elution de Cr par une solution d'acide citrique à 2,5 mmol.L⁻¹ et par l'EUP (cycle 1) (a) et par l'EUP après deux injections d'une solution d'acide citrique à 2,5 mmol.L⁻¹ (cycle 2) (b)

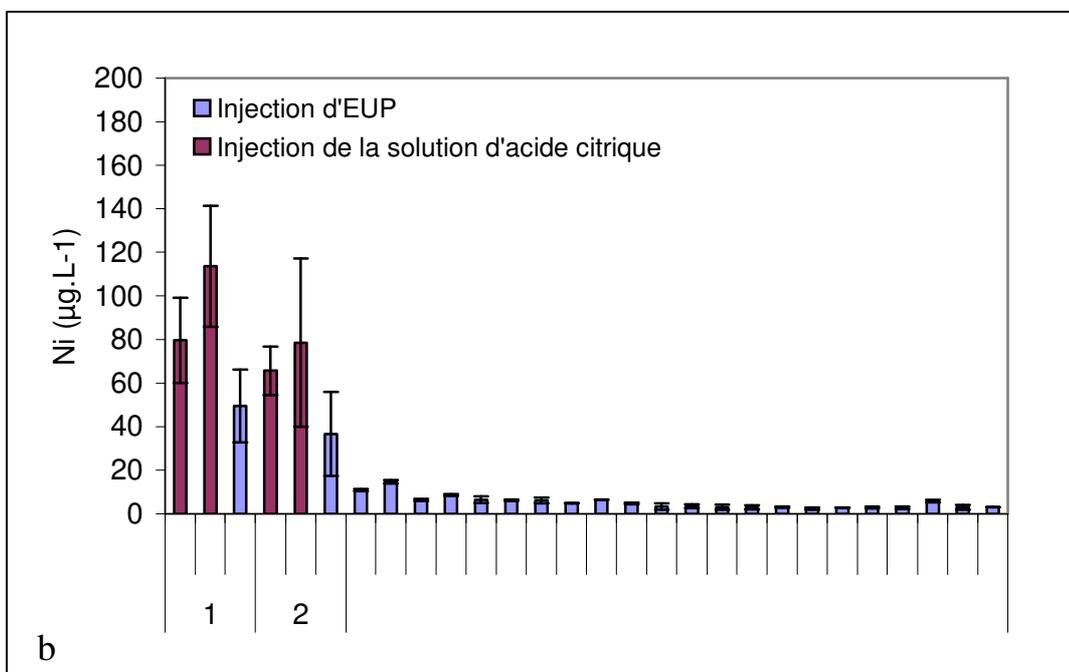
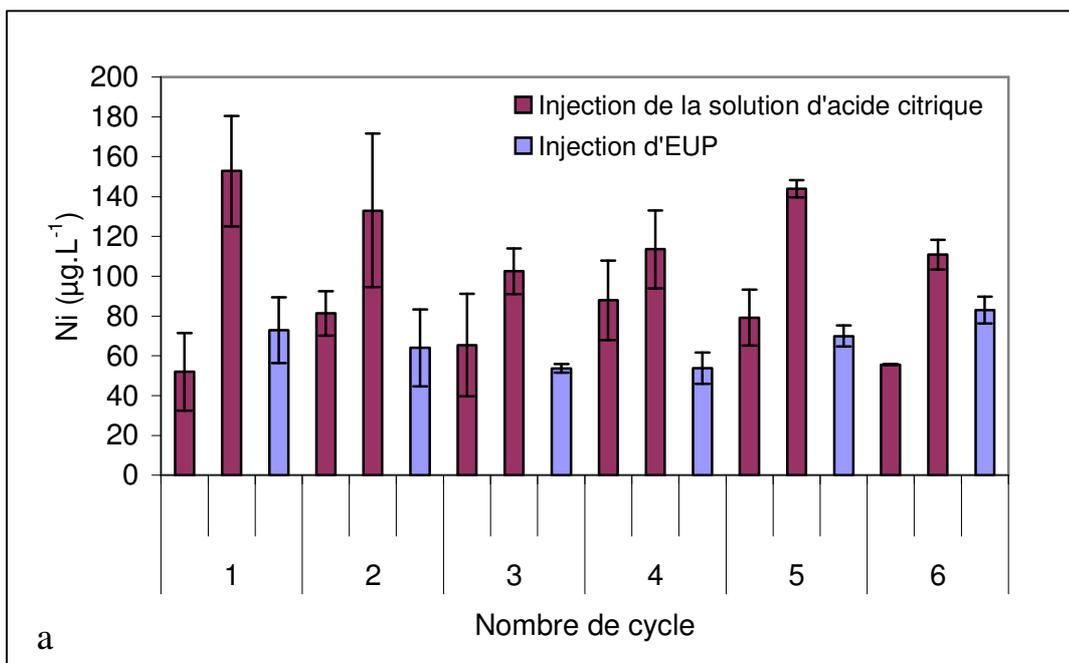


Figure V.11 : Elution de Ni par une solution d'acide citrique à 2,5 mmol.L⁻¹ et par l'EUP (cycle 1) (a) et par l'EUP après deux injections d'une solution d'acide citrique à 2,5 mmol.L⁻¹ (cycle 2) (b)

Le chrome et le nickel ont des comportements différents vis-à-vis de l'EDTA. En effet, Cr reste très mobile au cours des différentes injections de la solution complexante tandis que Ni présente une mobilité qui diminue progressivement. De plus, l'injection d'EUP entre les injections de la solution complexante suffit à maintenir la mobilisation de Cr. Le deuxième mode d'injection confirme la différence de comportement. En effet, nous pouvons observer une fuite de Cr à l'arrêt de l'injection de la solution complexante tandis que les quantités de Ni éluées diminuent plus rapidement. En revanche, vis-à-vis de l'acide citrique, le chrome et le nickel présentent des comportements proches. En effet, Cr et Ni restent très mobiles au cours des différentes injections de la solution complexante. De plus, l'injection d'EUP entre les injections de la solution complexante maintient leur mobilisation. Cependant, au cours du deuxième mode d'injection nous pouvons observer que les quantités de Ni éluées par l'EUP diminuent plus rapidement que les quantités de Cr.

En présence d'un complexant fort tel que l'EDTA, la part de nickel mobilisable est lessivée rapidement et de manière massive tandis qu'avec un complexant moins fort comme l'acide citrique, il est élué de manière plus progressive. Le lessivage du chrome se fait de manière progressive à la fois avec l'EDTA et l'acide citrique, ce dernier étant néanmoins plus efficace. A l'arrêt de l'apport en complexant, la simple percolation d'EUP permet de mobiliser des quantités importantes de nickel et de chrome, cette mobilisation pouvant durer dans le temps.

V.2.3 Flux de métal lessivé en fonction du complexant et du mode d'injection

Dans notre étude, trois modes d'injections sont réalisés. Le nombre de Vp percolés, en totalité, en fin d'expérience étant différents, nous avons effectué le calcul de flux en nous basant sur le même nombre de Vp percolés, soit 60 Vp.

Tableau V.1 : Flux de métal cumulé après la percolation en continu d'une solution complexante à 2,5 mmol.L⁻¹

Eléments	Flux (g/m ³ sol/h)	
	EDTA	Acide citrique
Al	3,5	6,0
Fe	2,1	1,0
Mg	0,8	1,0
Ca	26,7	10,9
Mn	1,1	0,3
Zn	0,1	0,068
Cr (mg/m³/h)	0,9	1,4
Ni (mg/m³/h)	163	40

En plus du lessivage des métaux cibles, les éléments majeurs sont également lessivés, notamment le calcium et l'aluminium. L'EDTA lessive, de manière générale, davantage de métal que l'acide citrique (**Tableau V.1**). La dissolution des phases porteuses par l'acide citrique est moins importante, comparée aux résultats obtenus en batch (cf. **Chap. III, § III.2**).

Tableau V.2 : Flux de métal cumulé après la percolation successive d'une solution de complexant et d'EUP (cycle 1 = élution par une solution complexante et par l'EUP, cycle 2 = élution par l'EUP après deux injections d'une solution complexante)

	Eléments	Flux (mg/m ³ sol/h)	
		EDTA	Acide citrique
Cycle 1	Cr	4,8	17,8
	Ni	648	186
Cycle2	Cr	1,3	4,8
	Ni	235	41,1

Les résultats présentés dans le **Tableau V.2** sont similaires à ceux obtenus au cours des expériences de mobilisation en flacons (cf. **Chap. III, § III.2**) ; l'EDTA est plus efficace pour la mobilisation du nickel et l'acide citrique pour celle du chrome.

Le mode d'injection a une influence sur le flux de métal lessivé. Les injections successives lessivent plus de métal que les injections en continu (**Tableau V.1** et **Tableau V.2**). En effet, au cours de l'injection en continu, la plus grande part de métal est éluée au début de l'injection (cf. **§ V.2.1**) alors que les injections successives permettent de maintenir la quantité de métal éluée, notamment dans le cas de l'acide citrique (cf. **§ V.2.2**).

Par conséquent, les risques de lessivage des métaux dépendent du complexant appliqué mais aussi du mode d'injection. Il semblerait que le second mode d'injections successives (cycle 2) soit le mieux adapté. En effet, il mobilise légèrement plus de métal qu'une injection en continu mais cette quantité de métal est moins importante que les injections successives de type cycle 1. De ce fait, dans une optique de phytoréhabilitation, le mode d'injections successives de type cycle 2 (élution par l'eau après deux injections d'une solution complexante) permettrait d'augmenter la part de métal facilement accessible aux plantes tout en limitant le risque de lessivage et de dispersion de ces métaux dans l'environnement.

V.3 Conclusion

L'application d'une solution complexante entraîne le lessivage de l'ensemble des métaux présents dans le sol. Ils sont mobilisés avec des cinétiques différentes mais aussi en quantités différentes selon le complexant appliqué. Par conséquent, le choix du réactif est un élément important qui doit être pris en compte pour limiter les risques de lessivage.

Le chrome et le nickel ont des comportements différents en fonction du complexant appliqué. Le lessivage du chrome est faible mais reste constant, notamment en présence d'EDTA. Dans le cas du nickel, le lessivage est très lié à la nature du complexant utilisé. En effet, en présence d'acide citrique, la quantité de nickel lessivée est modérée et constante tandis qu'en présence d'EDTA, la quantité lessivée est massive. Cependant, elle diminue progressivement.

Entre chaque application de complexant, nous avons fait percoler de l'EUP. Cette percolation est choisie comme équivalente à la pluviométrie mensuelle moyenne de la région

Limousin. Nous pouvons observer qu'il persiste, après chaque application de complexant, un stock de métal pouvant être mobilisé. Cette quantité de métal, chrome et nickel, reste constante après chaque application d'acide citrique. En revanche, si l'on effectue une à deux applications de complexant suivie de l'application d'EUP uniquement, les quantités de chrome et de nickel lessivées présentent une fuite dans le temps avant de revenir à leurs valeurs initiales. Par conséquent, l'effet du complexant se maintient dans le temps du fait de la déstabilisation du complexe adsorbant.

Par conséquent, dans une optique de phytoréhabilitation, le type de complexant ainsi que le mode d'application doivent être deux paramètres à prendre en compte pour permettre une mobilisation modérée et progressive du métal permettant ainsi son assimilation par les plantes et limitant ainsi les risques de lessivage. Des injections modérées et successives doivent être préférées à une injection massive de complexant. De plus, les injections successives permettent d'atteindre un stock plus important de métaux mobilisables. Lors des cycles d'injection, les phases de simple percolation d'eau ne sont pas à négliger compte tenu de leur efficacité à poursuivre la mobilisation des métaux. De plus, la mobilisation des métaux persiste bien au-delà de la dernière injection de complexant ce qui n'est pas sans risque pour l'environnement.

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION GENERALE

L'objectif de ce travail a donc été d'étudier l'influence de réactifs complexants sur la mobilisation du chrome et du nickel, contenus dans un sol contaminé par l'activité industrielle, en vue d'améliorer leur extraction par *Datura innoxia*, choisie ici comme plante modèle car à la fois tolérante et accumulatrice des métaux.

La contamination artificielle d'un sol modèle par du chrome et du nickel a montré que les métaux anthropogènes interagissent principalement avec les fractions les plus fines. En effet, le chrome et le nickel s'accumulent principalement dans la fraction granulométrique inférieure à 2 mm.

De plus, le suivi de cette contamination a permis d'observer une diminution de la biodisponibilité du chrome et du nickel au cours du temps, cette diminution étant due à une migration de ces éléments des fractions échangeables vers des fractions de moins en moins mobilisables. En conditions de laboratoire, ces modifications ont lieu principalement durant les 3 premiers mois de la maturation.

Cependant, dans le cas d'apports d'origine anthropique (accidentel ou non) dans l'environnement, les métaux se retrouvent sous des formes chimiques en constante évolution, au gré des changements des conditions physico-chimiques du milieu. La mobilité des métaux évoluant au gré de ces changements, les sols se comportent alors comme des réservoirs de polluants constituant ainsi une source permanente de pollution.

Nous avons ensuite étudié, par des expériences en flacons, la mobilité du chrome et du nickel en présence de complexants. L'étude a porté à la fois sur un échantillon de sol artificiellement contaminé et sur un échantillon de sol contaminé par une activité industrielle. Nous avons comparé l'efficacité de deux complexants facilement biodégradables, l'acide citrique et l'histidine et d'un autre qui l'est moins, l'EDTA. L'EDTA est apparu le complexant le plus efficace pour la mobilisation du nickel et l'acide citrique pour celle du chrome. Nous avons mis en évidence que la mobilisation de ces deux métaux, se fait principalement par trois mécanismes : les réactions de complexation, la dissolution des phases porteuses du sol et les réactions de compétition au niveau des sites de surface. Ce dernier mécanisme intervient dans la mobilisation du chrome. Contrairement aux métaux

habituellement étudiés, le chrome est présent dans le sol sous deux formes Cr(III) et Cr(VI) ; Cr(VI) étant chargé négativement, il peut alors être substitué par les complexants sous forme anionique.

Cependant, suivant le sol, le métal et l'état de la contamination (faible ou forte biodisponibilité du métal - contamination polymétallique ou non), le complexant et la concentration à appliquer, pour la mobilisation d'un métal donné, peuvent varier. De plus, nous avons vu que la mobilisation des métaux se fait également par dissolution des phases porteuses du sol. Il est par conséquent, important de tenir compte de ce point afin de ne pas provoquer de modifications importantes dans la structure du sol.

L'EDTA et l'acide citrique, identifiés comme étant les plus efficaces, ont été appliqués sur le sol artificiellement contaminé ainsi que sur le sol contaminé par l'activité industrielle, en présence de *Datura innoxia*.

L'application des complexants permet d'augmenter la quantité de métal en solution dans le sol et dans une certaine mesure, elle permet d'augmenter le transfert des métaux par *Datura innoxia*. L'EDTA permet à la fois d'améliorer l'accumulation du nickel et d'augmenter son transport vers les parties aériennes tandis qu'il diminue l'accumulation du chrome. L'acide citrique permet d'améliorer l'accumulation du chrome par *Datura innoxia*. Il permet également d'augmenter son transport vers les parties aériennes.

Nous avons mis en évidence au cours des expériences de mobilisation que l'EDTA est plus efficace pour la mobilisation du nickel et l'acide citrique pour celle du chrome. L'application des complexants sur le sol modifie la mobilité de ces deux métaux qui sont alors plus accessibles pour les plantes, d'où une efficacité parallèle d'une étude à l'autre.

Cependant, l'application des complexants a entraîné également des effets phytotoxiques chez *Datura innoxia*. Dans le cas de l'acide citrique, notamment aux fortes concentrations, nous avons observé une perte de biomasse ainsi que des chloroses et des nécroses. L'EDTA présente une toxicité beaucoup plus importante. En effet, aux fortes concentrations son application entraîne la mort des plantes. A faible concentration, son application entraîne une perte de biomasse très importante ainsi que des signes de nécroses.

L'accumulation des métaux dans la plante dépend alors de l'augmentation de la part de métal mobilisé et biodisponible, des pertes de biomasse, mais aussi des mécanismes de protection qui peuvent être mis en place par la plante. Par conséquent, il est nécessaire d'apporter un soin tout particulier au choix du complexant à appliquer afin de limiter les effets

phytotoxiques. Le choix de la concentration à appliquer est tout aussi important. En effet, cette concentration doit permettre une augmentation de l'accumulation des métaux tout en évitant les effets phytotoxiques mais aussi une mobilisation massive des métaux pouvant entraîner une contamination des eaux souterraines. Nous avons également observé que le mode d'application des complexants (un ou deux ajouts) modifie l'accumulation des métaux. En effet, deux applications d'acide citrique permettent d'augmenter la quantité de métal au niveau des tiges, dans le cas du sol contaminé par l'activité industrielle.

Dans notre étude, il apparaît que chaque complexant est adapté pour un métal. De même, *Datura innoxia* réagit différemment pour chaque métal. Par conséquent, pour une pollution polymétallique, le couplage de plusieurs complexants, voire de plusieurs plantes, pourrait être à envisager.

Lors des expériences en flacons, nous avons mis en évidence trois mécanismes intervenant dans la mobilisation du chrome et du nickel. Il s'agit de réactions de complexation, de compétition au niveau des sites de surface et de la dissolution des phases porteuses du sol. Des éléments tels que Fe, Al et Mn sont fortement mobilisés par l'acide citrique et l'EDTA. La formation d'un complexe entre les groupements fonctionnels de surface et le complexant peut entraîner une dissolution des oxydes et ainsi mobiliser les éléments constitutifs des phases porteuses du sol et les métaux cibles qui leurs sont liés.

Dans notre étude, nous avons comparé l'efficacité de complexants peu biodégradables, d'une part, et celle de complexants facilement biodégradables, d'autre part. La persistance de l'EDTA dans l'environnement lui confère la possibilité de prolonger son efficacité en ce qui concerne la mobilisation des métaux. Nous avons alors étudié le lessivage des éléments à travers une colonne de sol (sol contaminé par l'activité industrielle) après percolation d'une solution de complexant.

L'application en continu d'une solution complexante entraîne le lessivage de l'ensemble des éléments présents dans le sol.

Nous avons étudié le lessivage du chrome et du nickel en fonction du mode d'application du complexant. Dans une première expérience, nous avons effectué plusieurs applications de complexant, chaque application étant séparée par une injection d'eau. Le chrome et le nickel ont montré des comportements différents en fonction du complexant appliqué. Le lessivage du chrome est faible mais reste constant, notamment en présence d'EDTA. Dans le cas du nickel, le lessivage est très lié à la nature du complexant utilisé. En

effet, en présence d'acide citrique, la quantité de nickel lessivée est modérée et constante tandis qu'en présence d'EDTA, la quantité lessivée est massive lors de l'injection puis diminue progressivement. Entre chaque application de complexant, nous avons fait percoler de l'eau et nous avons observé qu'il persiste, après chaque application de complexant, un stock important de métal pouvant être mobilisé.

Dans une deuxième expérience, nous avons effectué deux applications de complexant. A l'arrêt de l'application du complexant, nous avons effectué une percolation en continu d'eau. Nous avons observé une fuite importante des métaux. Ainsi, nous avons mis en évidence que les effets des complexants durent dans le temps. L'application du complexant entraîne une déstabilisation du complexe adsorbant permettant le maintien des effets du complexant.

Ces résultats confirment que le choix du réactif est un élément important qui doit être pris en compte pour limiter les risques de lessivage. De plus, nous avons mis en évidence que le mode d'application intervient sur le lessivage des métaux.

En tenant compte de ces résultats, il semblerait qu'il serait plus judicieux de choisir un réactif possédant un pouvoir complexant peu important et fortement biodégradable. Cela permet, d'une part, de limiter les effets phytotoxiques dus à la complexation des éléments essentiels aux différents processus physiologiques et d'autre part, de limiter le lessivage des éléments en limitant la déstabilisation du complexe adsorbant. De plus, il apparaît que des applications discontinues sont préférables à des applications permanentes ou rapprochées. En effet, l'efficacité des complexants se maintient après l'arrêt de leur application.

Par conséquent, le complexant choisi doit permettre une mobilisation modérée et progressive du métal permettant ainsi une assimilation optimale du métal par les plantes.

La phytoréhabilitation est une technique de dépollution très intéressante d'un point de vue environnemental (technique peu agressive) et économique (faible coût). Toutefois, il apparaît dans le cadre de notre étude que cette technique présente un certain nombre de limites. *Datura innoxia* sur les sols contaminés étudiés, sans ajout de complexant, présente de faibles capacités d'accumulation. L'application des complexants a permis d'augmenter les teneurs en métal chez *Datura*. Cependant, l'application de ces complexants a entraîné chez *Datura* des signes de phytotoxicité mais également le lessivage des métaux, même en présence d'un complexant biodégradable, comme l'acide citrique. Il apparaît donc que dans notre cas la

mise en œuvre d'une dépollution basée sur l'application de la phytoextraction améliorée par l'application de complexant sera très difficile. Il faudrait alors se contenter de la faible accumulation de *Datura innoxia*, sans ajout de complexant, de manière à ne pas effectuer un transfert des polluants vers les ressources en eau et ainsi limiter les risques environnementaux.

Toutefois, l'implantation de telles cultures de plantes nécessite de se soucier du devenir des polluants, tant en terme de dispersion de la matière végétale face aux aléas climatiques qu'en terme de traitement de la matière végétale récoltée. En effet, il est nécessaire d'introduire des filières prenant en charge la matière végétale produite et les polluants qui leur sont associés, par exemple une valorisation des métaux après calcination de la matière végétale.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

AFNOR, 2004. Evaluation de la qualité des sols, Volume 1. AFNOR Editions, Paris, 461 p.

Alkorta I., Hernández-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I., Garbisu C., 2004 a. Recent findings on the phytoremediation of soils contaminated with environmentally toxic heavy metals and metalloids such as zinc, cadmium, lead, and arsenic. *Reviews in Environmental Sciences and Bio/Technology* 3, 71-90.

Alkorta I., Hernández-Allica J., Becerril J.M., Amezaga I., Albizu I., Onaindia M., Garbisu C., 2004 b. Chelate-enhanced phytoremediation of soils polluted with heavy metals. *Reviews in Environmental Sciences and Bio/Technology* 3, 55-70.

Alloway B.J., 1995. Heavy metals in soils, Blackie, New York, 368 p.

Andrade M.D., Prasher S.O., Hendershot W.H., 2007. Optimizing the molarity of a EDTA washing solution for saturated-soil remediation of trace metal contaminated soils, *Environmental Pollution* 147, 781-790.

Arias-Estévez M., Nóvoa-Muñoz J.C., Pateiro M., López-Periago E., 2007. Influence of aging on copper fractionation in an acid soil, *Soil Science* 172, 225-232.

Baize D., 1997. Teneurs en éléments traces métalliques dans les sols (France), INRA Editions, Paris, 408 p.

Baize D., 2000. Guide des analyses en pédologie, INRA Editions, Paris, 257 p.

Baize D., Tercé M., 2002. Les éléments traces métalliques dans les sols (France), INRA Editions, Paris, 565 p.

Baker A.J.M., 1981. Accumulators and excluders: strategies in the response of plants to heavy metals, *Journal of Plant Nutrition* 3, 643-654.

Banton O., Bangoy L.M., 1997. Hydrogéologie : Multiscience environnementale des eaux souterraines. Presses de l'Université du Québec, Québec, 460 p.

Barona A., Aranguiz I., Elías A., 2001. Metal associations in soils before and after EDTA extractive decontamination: implications for the effectiveness of further clean-up procedures, *Environmental Pollution* 113, 79-85.

Bartlett R.J., James J.M., 1993. Redox chemistry in soils, *Advances in Agronomy* 50, 151-159.

Bassi R., Prasher S.O., Simpson B.K., 2000. Extraction of metals from a contaminated sandy soil using citric acid, *Environmental Progress* 19, 275-282.

Becquer T., Quantin C., Sicot M., Boudot J.P., 2005. Chromium availability in ultramafic soils from New Caledonia, *The Science of the Total Environment* 301, 251-261.

Bellir K., Bencheikh-Lehocine M., Meniai A.-H., Gherbi N., 2005. Study of the retention of heavy metals by natural material used as liners in landfills, *Desalination* 185, 111-119.

Bermond A., Varrault G., Sappin-Didier V., Mench M., 2005. A kinetic approach to predict soil trace metal bioavailability: preliminary results, *Plant and Soil* 275, 21-29.

Bhattacharjee S., Kar S., Chakravarty S., 2004. Mineral compositions of Datura: a traditional tropical medicinal plant, *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 35, 937-946.

Blaylock M.J., Salt D.E., Dushenkov S., Zakharova O., Gussman C., Kapulnik Y., Ensley B.D., Raskin I., 1997. Enhanced accumulation of Pb in *Indian mustard* by soil-applied chelating agents, *Environmental Science and Technology* 31, 860-865.

Bordas F., Bourg A.C.M., 1998. Effect of complexing agents (EDTA and ATMP) on the remobilization of heavy metals from a polluted river sediment, *Aquatic Geochemistry* 4, 201-214.

Bourelrier P.-H., Berthelin J., 1998. Contamination des sols par les éléments en trace : les risques et leur gestion, Rapport N° 42 de l'Académie des Sciences, Lavoisier Editions, Paris, 440 p.

Bradl H.B., 2004. Adsorption of heavy metal ions on soils and soils constituents, *Journal of Colloid and Interface Science* 277, 1-18.

Brooks R.R., 1998. Plants that hyperaccumulate heavy metals. CAB International, Wallingford, UK, 380 p.

Brooks S.C., Herman J.S., 1998. Rate and extent of cobalt sorption to representative aquifer minerals in the presence of a moderately strong organic ligand, *Applied Geochemistry* 13, 77-88.

Brown P.H., Welch R.M., Cary E.E., 1987. Nickel: a micronutrient essential for higher plants, *Plant Physiology* 85, 801-803.

Brynhildsen L., Rosswall T., 1997. Effects of metals on the microbial mineralization of organic acids, *Water, Air and Soil Pollution* 94, 45-57.

Bucheli-Witschel M., Egli T., 2001. Environmental fate and microbial degradation of aminopolycarboxylic acids, *FEMS Microbiology Reviews* 25, 69-106.

Buffle J., 1981. Complexation reactions in aquatic systems: an analytical approach, Ellis Horwood Ltd., Chichester, UK, 692 p.

Calvet R., 2003. Le sol, propriétés et fonctions, Tome 2 : Phénomènes physiques et chimiques, Applications agronomiques et environnementales, France Agricole Editions, Paris, 511 p.

Centre d'expertise en analyse environnementale du Québec. Détermination du Chrome hexavalent : méthode colorimétrique. MA. 200-CrHex 1.0, Ministère de l'Environnement du Québec, 2003, 14 p.

Chaney R.L., Malikz M., Li Y.M., Brown S.L., Brewer E.P., Angle J.S., Baker A.J.M., 1997. Phytoremediation of soil metals, *Current Opinion in Biotechnology* 8, 279-284.

Chatterjee J., Chatterjee C., 2000. Phytotoxicity of cobalt, chromium and copper in cauliflower, *Environmental Pollution* 109, 69-74.

Chen H., Cutright T., 2001. EDTA and HEDTA effects on Cd, Cr, and Ni uptake by *Helianthus annuus*, *Chemosphere* 45, 21-28.

Chen Y.X., Lin Q., Luo Y.M., He Y.F., Zhen S.J., Yu Y.L., Tian G.M., Wong M.H., 2003. The role of citric acid on the phytoremediation of heavy metal contaminated soil, *Chemosphere* 50, 807-811.

Clemens S., Palmgren M.G., Krämer U., 2002. A long way ahead: understanding and engineering plant metal accumulation, *Trends in Plant Science* 7, 309-314.

Coïc Y., Lessaint C., 1973. La nutrition minérale et en eau des plantes en horticulture avancée, *Revue d'Horticulture* 2316, 29-34.

Cornell R.M., Schwertmann U., 1996. The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses, VCH, Weinheim, 573 p

Dakora F.D., Phillips D.A., 2002. Root exudates as mediators of mineral acquisition in low-nutrient environments, *Plant and Soil* 245, 35-47.

Davidson C.M., Duncan A.L., Littlejohn D., Ure M.A., Garden M.L., 1998. A critical evaluation of the three-stage BCR sequential extraction procedure to assess the potential mobility and toxicity of heavy metals in industrially-contaminated land, *Analytica Chimica Acta* 363, 45-55.

Davidson, C.M., Hursthouse, A.S., Tognarelli, D.M., Ure, A.M., Urquhart, G.J., 2004. Should acid ammonium oxalate replace hydroxylammonium chloride in step 2 of the revised BCR sequential extraction protocol for soil and sediment?, *Analytica Chimica Acta* 508, 193-199.

Davidson C.M., Urquhart G.J., Ajmone-Marsan F., Biasioli M., da Costa Duarte A., Díaz-Barrientos E., Grčman H., Hossack I., Hursthouse A.S., Madrid L., Rodrigues S., Zupan M., 2006. Fractionation of potentially toxic elements in urban soils from five European cities by means of a harmonised sequential extraction procedure, *Analytica Chimica Acta* 565, 63-72.

Davies N.A., Hodson M.E., Black S., 2003. The influence of time on lead toxicity and bioaccumulation determined by the OECD earthworm toxicity test, *Environmental Pollution* 121, 55-61.

Davranche M., Bollinger J.-C., 2000. Heavy metals desorption from synthesized and natural iron and manganese oxyhydroxides: effect of reductive conditions, *Journal of Colloid & Interface Science* 227, 531-539.

Davranche M., Bollinger J.C., Bril H., 2003. Effect of reductive conditions on metal mobility from wasteland solids: an example from the Mortagne-du-Nord site, *Applied Geochemistry* 18, 383-394.

Di Palma L., Ferrantelli P., 2005. Copper leaching from a sandy soil: mechanism and parameters affecting EDTA extraction, *Journal of Hazardous Materials* B122, 85-90.

do Nascimento C.W.A., 2006. Organic acids effects on desorption of heavy metals from a contaminated soil, *Scientia Agricola* 63, 276-280.

do Nascimento C.W.A., Amarasiriwardena D., Xing B., 2006. Comparison of natural organic acids and synthetic chelates at enhancing phytoextraction of metals from a multi-metal contaminated soil. *Environmental Pollution* 140, 114-123.

Drake L.R., Lin S., Rayson G.D., Jackson P., 1996. Chemical modification and metal binding studies of *Datura innoxia*, *Environmental Science and Technology* 30, 110-114.

Dubois M., Gilles K.A., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances, *Analytical Chemistry* 28, 350-356.

Echevarria G., Massoura S.T., Sterckeman T., Becquer T., Schwartz C., Morel J.-L., 2006. Assessment and control of the bioavailability of nickel in soils, *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, 643-651.

Egli T., 2001. Biodegradation of metal-complexing aminopolycarboxylic acids, *Journal of Bioscience and bBioengineering* 92, 89-97.

Epstein A.L., Gussman C.D., Blaylock M.J., Yermiyahu U., Huang J.W., Kapulnik Y., Orser C.S., 1999. EDTA and Pb-EDTA accumulation in *Brassica juncea* grown in Pb-amended soil, *Plant and Soil* 208, 87-94.

Eskew D.L., Welch R.M., Cary E.E., 1983. Nickel: an essential micronutrient for legumes and possibly all higher plants, *Science* 222, 621-623.

- Eskew D.L., Welch R.M., Norvell W.A.**, 1984. Nickel in higher plants: further evidence for an essential role, *Plant Physiology* 76, 691-693.
- Evangelou M.W.H., Ebel M., Schaeffer A.**, 2007. Chelate assisted phytoextraction of heavy metals from soil. Effect, mechanism, toxicity, and fate of chelating agents, *Chemosphere* 68, 989-1003.
- Fendorf S.E.**, 1995. Surface reactions of chromium in soils and waters, *Geoderma* 67, 55-71.
- Filius J.D., Hiemstra T., Van Riemsdijk W.H.**, 1997. Adsorption of small weak organic acids on goethite: modeling of mechanisms, *Journal of Colloid and Interface Science* 195, 368-380.
- Finžgar N., Leštan D.**, 2005. Multi-step leaching of Pb and Zn contaminated soils with EDTA, *Chemosphere* 66, 824-832.
- Francis A.J., Dodge C.J., Gillow J.B.**, 1992. Biodegradation of metal citrate complexes and implications for toxic-metal mobility, *Nature* 356, 140-142.
- Geelhoed J.S., Hiemstra T., Van Riemsdijk W.H.**, 1998. Competitive interaction between phosphate and citrate on goethite, *Environmental Science and Technology* 32, 2119-2123.
- Gerendás J., Polacco J.C., Freyermuth S.K., Sattelmacher B.**, 1999. Significance of nickel for plant growth and metabolism, *Journal of Plant Nutrition and Soil Sciences* 162, 241-256.
- Ghestem J.P., Bermond A.**, 1998. EDTA extractability of trace metals in polluted soils: a chemical-physical study, *Environmental Technology* 19, 409-416.
- Ghosh, M., Singh, S.P.**, 2005a. A comparative study of cadmium phytoextraction by accumulator and weed species, *Environmental Pollution* 133, 365-371.
- Ghosh, M., Singh, S.P.**, 2005b. Comparative uptake and phytoextraction study of soil induced chromium by accumulator and high biomass weed species, *Applied Ecology and Environmental Research* 3, 67-79.
- Grčman H., Velikonja-Bolta Š., Vodnik D., Kos B., Leštan D.**, 2001. EDTA enhanced heavy metal phytoextraction: metal accumulation, leaching and toxicity, *Plant and Soil* 235, 105-114.

Güçlü K., Apak R., 2003. Modeling the adsorption of free and heavy metal complex-bound EDTA onto red mud by a nonelectrostatic surface complexation model, *Journal of Colloid and Interface Science* 260, 280-290.

Hamada Y.Z., Carlson B.L., Shank J.T., 2003. Potentiometric and UV-Vis spectroscopy studies of citrate with the hexaquo Fe^{3+} and Cr^{3+} metal ions, *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry* 33, 1425-1440.

Hauser L., Tandy S., Schulin R., Nowack B., 2005. Column extraction of heavy metals from soils using the biodegradable chelating agent EDDS, *Environmental Science and Technology* 39, 6819-6824.

Honeyman B.D., 1999. Colloidal culprits in contamination, *Nature* 397, 23-24.

Hu H.Q., He J.Z., Li X.Y., Liu F., 2001. Effect of several organic acids on phosphate adsorption by variable charge soils of central China, *Environment International* 26, 353-358.

Huang J.W., Chen J., Berti W.R., Cunningham S.D., 1997. Phytoremediation of lead-contaminated soils: role of synthetic chelates in lead phytoextraction, *Environmental Science and Technology* 31, 800-805.

James B.R., Vitale R.J., Mussoline G.R., Petura J.C., 1995. Hexavalent chromium extraction from soils: a comparison of five methods, *Environmental Science and Technology*. 29, 2377-2381.

Jean L., Bordas F., Bollinger J.-C., 2007a. Chromium and nickel mobilization from a contaminated soil using chelants, *Environmental Pollution* 147, 729-736.

Jean L., Bordas F., Gauthier-Moussard C., Vernay P., Hitmi A., Bollinger J.-C., 2007b. Effect of citric acid and EDTA on chromium and nickel uptake and translocation by *Datura innoxia*, *Environmental Pollution*, doi:10.1016/j.envpol.2007.09.013, sous presse.

Jones D.L., 1998. Organic acids in the rhizosphere - a critical review, *Plant and Soil* 205, 25-44.

Kari F.G., Giger W., 1995. Modeling the photochemical degradation of EDTA in the River Glatt, *Environmental Science and Technology* 29, 2817-2827.

Kari F.G., Giger W., 1996. Speciation and fate of EDTA in the municipal wastewater treatment, *Water Research* 30, 122-134.

Kedziorek M.A.M., Bourg A.C.M., 2000. Solubilization of lead and cadmium during the percolation of EDTA through a soil polluted by smelting activities, *Journal of Contaminant Hydrology* 40, 381-392.

Keeling S.M., Stewart R.B., Anderson C.W.N., Robinson B.H., 2003. Nickel and cobalt phytoextraction by the hyperaccumulator *Berkheya coddii*: implications for polymetallic phytomining and phytoremediation, *International Journal of Phytoremediation* 5, 235-244.

Kersten M., Förstner U., 1995. Speciation of trace elements in sediments and combustion wastes. In: Ure A.M., Davidson C.M. (Eds). Chemical speciation in the environment. Blackie Academic and Professional, Glasgow, UK, pp 234-275.

Kim C., Lee Y., Ong S.K., 2003. Factors affecting EDTA extraction of lead from lead-contaminated soils, *Chemosphere* 51, 845-853.

Kleiman I.D., Cogliatti D.H., 1998. Chromium removal from aqueous solutions by different plant species, *Environmental Technology* 19, 1127-1132.

Komárek M., Tlustoš P., Száková J., Chrastný V., 2007a. The use of poplar during a two-year induced phytoextraction of metals from contaminated agricultural soils, *Environmental Pollution*, sous presse (30 Avril 2007).

Komárek M., Tlustoš P., Száková J., Chrastný V., Balík J., 2007b. The role of Fe- and Mn-oxides during EDTA-enhanced phytoextraction of heavy metals, *Plant Soil Environment* 53, 216-224.

Komárek M., Tlustoš P., Száková J., Chrastný V., Ettler V., 2007c. The use of maize and poplar in chelant-enhanced phytoextraction of lead from contaminated agricultural soils, *Chemosphere* 67, 640-651.

Kos B., Leštan D., 2003. Induced phytoextraction/soil washing of lead using biodegradable chelate and permeable barriers, *Environmental Science and Technology* 37, 624-629.

Krämer U., 2005. Phytoremediation: novel approaches to cleaning up polluted soils, *Current Opinion in Biotechnology* 16, 133-141.

Krämer U., Cotter-Howells J.D., Charnock J.M., Baker A.J.M., Smith J.A.C., 1996. Free histidine as a metal chelator in plants that accumulate nickel, *Nature* 379, 635-638.

Lackovic K., Angove M.J., Wells J.D., Johnson B.B., 2004. Modeling the adsorption of Cd(II) onto goethite in the presence of citric acid, *Journal of Colloid and Interface Science* 269, 37-45.

Lackovic K., Johnson B.B., Angove M.J., Wells J.D., 2003. Modeling the adsorption of citric acid onto Mulloorina illite and related clay minerals, *Journal of Colloid and Interface Science* 267, 49-59.

La Force M.J., Fendorf S., 2000. Solid-phase iron characterization during common selective sequential extractions, *Soil Science Society of America Journal* 64, 1608-1615.

Lai H.-Y., Chen Z.-S., 2005. The EDTA effect on phytoextraction of single and combined metals-contaminated soils using rainbow pink (*Dianthus chinensis*), *Chemosphere* 60, 1062-1071.

Larner B.L., Seen A.J., Townsend A.T., 2006. Comparative study of optimised BCR sequential extraction scheme and acid leaching of elements in the certified reference material NIST 2711, *Analytica Chimica Acta* 556, 444-449.

Lasat M.M., 2000. Phytoextraction of metal from contaminated soil: a review of plants / soil / metal interaction and assessment of pertinent agronomic issues, *Journal of Hazardous Substance Research* 2, 1-25.

Leštan D., Kos B., 2005. Soil washing using a biodegradable chelator, dans : Nowack B., VanBriesen J.M., ACS Symposium Series 910, Biogeochemistry of chelating agents, Oxford Uni. Press, Oxford, pp. 383-397.

Li X., Thornton I., 2001. Chemical partitioning of trace and major elements in soils contaminated by mining and smelting activities, *Applied Geochemistry* 16, 1693-1706.

Lim T.-T., Tay J.-H., Teh C.-I., 2002. Contamination time effect on lead and cadmium fractionation in a tropical coastal clay, *Journal of Environmental Quality* 31, 806-812.

Lin S., Drake L.R., Rayson G.D., 2002. Affinity distributions of lead ion binding to an immobilized biomaterial derived from cultured cells of *Datura innoxia*. *Advances in Environmental Research* 6, 523-532.

Lin S., Rayson G.D., 1998. Impact of surface modification on binding affinity distributions of *Datura innoxia* biomass to metal ions, *Environmental Science and Technology* 32, 1488-1493.

Lock K., Janssen C.R., 2003. Influence of ageing on zinc bioavailability in soils, *Environmental Pollution* 126, 371-374.

Lombi E., Zhao F.J., Dunham S.J., McGrath S.P., 2001. Phytoremediation of heavy metal-contaminated soils: natural hyperaccumulation versus chemically enhanced phytoextraction, *Journal of Environmental Quality* 30, 1919-1926.

Lowry O.H., Rothenbourg N.J., Farr A.J., Randall R.J., 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent, *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-275.

Luo C., Shen Z., Li X., 2005. Enhanced phytoextraction of Cu, Pb, Zn and Cd with EDTA and EDDS, *Chemosphere* 59, 1-11.

Luo C., Zhenguo S., Laiqing L., Xiangdong L., 2006. EDDS and EDTA-enhanced phytoextraction of metals from artificially contaminated soil and residual effects of chelant compounds, *Environmental Pollution* 144, 862-871.

Ma Y., Lombi E., Oliver I.W., Nolan A.L., McLaughlin M.J., 2006a. Long-term aging of copper added to soils, *Environmental Science and Technology* 40, 6310-6317.

Ma Y., Lombi E., Nolan A.L., McLaughlin M.J., 2006b. Short-term natural attenuation of copper in soils: effects of time, temperature, and soil characteristics, *Environmental Toxicology and Chemistry* 25, 652-658.

Madrid F., Liphadzi M.S., Kirkham M.B., 2003. Heavy metal displacement in chelate-irrigated soil during phytoremediation. *Journal of Hydrology* 272, 107-119.

Mangabeira P.A., Gavrilov K.L., Furtado de Almeida A.-A., Oliveira A.H., Sever M.I., Rusa T.S., da Costa Silva D., Labejof L., Escaig F., Levi-Setti R., Schramm Mielke M., Loustalot F.G., Galle P., 2006. Chromium localization in plant tissues of *Lycopersicum*

esculentum Mill using ICP-MS and ion microscopy (SIMS), *Applied Surface Sciences* 252, 3488-3501.

Martel R., Gelinas P., 1996. Surfactant solutions developed for NAPL recovery in contaminated aquifers, *Ground Water* 34, 143-154.

Martin J.M., Nirel P., Thomas A.J., 1987. Sequential extraction techniques: promises and problems, *Marine Chemistry* 22, 313-341.

Mason Y., Ammann A.A., Ulrich A., Sigg L., 1999. Behaviour of heavy metals, nutrients, and major components during roof runoff infiltration, *Environmental Science and Technology* 33, 1588-1597.

Mei B., Puryear J.D., Newton R.J., 2002. Assessment of Cr tolerance and accumulation in selected plant species, *Plant and Soil* 247, 223-231.

Mejare M., Bulow L., 2001. Metal-binding proteins and peptides in bioremediation and phytoremediation of heavy metals, *Trends in Biotechnology* 19, 67-73.

Menzies N.W., Donn M.J., Kopittke P.M., 2007. Evaluation of extractants for estimation of phytoavailable trace metals in soils, *Environmental Pollution* 145, 121-130.

Mikutta C., Lang F., Kaupenjohann M., 2006. Citrate impairs the micropore diffusion of phosphate into pure and C-coated goethite, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70, 595-607.

Molas J., Baran S., 2004. Relationship between the chemical form of nickel applied to the soil and its uptake and toxicity to barley plants (*Hordeum vulgare* L.), *Geoderma* 122, 247-255.

Neaman A., Waller B., Mouele F., Trolard F., Bourrie G., 2004. Improved methods for selective dissolution of manganese oxides from soils and rocks, *European Journal of Soil Science* 55, 47-54.

Nigam R., Srivastava S., Prakash S., Srivastava M.M., 2001. Cadmium mobilisation and plant availability - the impact of organic acids commonly exuded from roots, *Plant and Soil* 230, 107-113.

Nirel P.M.V., Morel F.M.M., 1990. Pitfalls of sequential extractions, *Water Research* 24, 1055-1056.

Nowack B., Kari F.G., Krüger H.G., 2001. The remobilization of metals from iron oxides and sediments by metal-EDTA complexes, *Water, Air and Soil Pollution* 125, 243-257.

Nowack B., Schulin R., Robinson B.H., 2006. Critical assessment of chelant-enhanced metal phytoextraction, *Environmental Science and Technology* 40, 5225-5232.

Nowack B., Sigg L., 1996. Adsorption of EDTA and metal-EDTA complexes onto goethite, *Journal of Colloid and Interface Science* 177, 106-121.

Pansu M., Gautheyrou J., 2003. L'analyse du sol : minéralogique, organique et minérale, Springer Editions, Paris, 994 p.

Pantsar-Kallio M., Reinikainen S.-P., Oksanen M., 2001. Interactions of soil components and their effects on speciation of chromium in soils, *Analytica Chimica Acta* 439, 9-17.

Pénilla S., Ozkan N., Bordas F., Bollinger J.-C., 2007. Influence of reductive conditions on metallic elements release from a contaminated soil. Part 1: Introducing the *redox mobilization-edge*, a new concept, *Journal of Colloidal and Interface Science*, soumis (Juillet 2007)

Pérez-Cid B., Lavilla I., Bendicho C., 1998. Speeding up of a three-stage sequential extraction method for metal speciation using focused ultra sound, *Analytica Chimica Acta* 360, 35-41.

Peters R.W., 1999. Chelant extraction of heavy metals from contaminated soils, *Journal of Hazardous Materials* 66, 151-210.

Pettine M., Capri S., 2005. Digestion treatments and risks of Cr(III)-Cr(VI) interconversions during Cr(VI) determination in soils and sediments - a review, *Analytica Chimica Acta* 540, 231-238.

Pettit L.D., Powell H.K.J., 2001. IUPAC stability constants database, Version 5.3. Academic Software, Otley.

Pichard A., Bisson M., Diderich R., Houeix N., Hulot C., Lacroix G., Lefevre J.P., Leveque S., Magaud H., Morin A., Rose M., Pepin G., 2005a. Chrome et ses dérivés, INERIS - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques (www.ineris.fr).

Pichard A., Bisson M., Houeix N., Gay G., Jolibois B., Lacroix G., Lefevre J.P., Magaud H., Morin A., Rose M., Tissot S., 2005b. Nickel et ses dérivés, INERIS - Fiche de données toxicologiques et environnementales des substances chimiques (www.ineris.fr).

Poulsen I.F., Hansen H.C.B., 2000. Soil sorption of nickel in presence of citrate or arginine, *Water, Air, and Soil Pollution* 120, 249-259.

Quiros M., Goodgame D.M.L., Williams D.J., 1992. Crystal structure and EPR spectrum of bispyridinium bis(citrato)chromium(III) tetrahydrate, *Polyhedron* 11, 1343-1348.

Rapin F., Tessier A., Campbell P.G.C., Carignan R., 1986. Potential artifacts in the determination of metal partitioning in sediments by a sequential extraction procedure, *Environmental Science and Technology* 20, 836-40.

Raskin I., Smith R.D., Salt D.E., 1997. Phytoremediation of metals: using plants to remove pollutants from the environment, *Current Opinion in Biotechnology* 8, 221-226.

Rauret G., Lopez-Sanchez J.F., Sahuquillo A., Rubio R., Davidson C., Ure A., Quevauviller P., 1998. Improvement of the BCR three step sequential extraction procedure prior to the certification of new sediment and soil reference materials, *Journal of Environmental Monitoring* 1, 57-61.

Reeves R.D., 2003. Tropical hyperaccumulators of metals and their potential for phytoextraction, *Plant and Soil* 249, 57-65.

Renella G., Landi L., Nannipieri P., 2004. Degradation of low molecular weight organic acids complexed with heavy metals in soil, *Geoderma* 122, 311-315.

Römken P., Bouwman L., Japenga J., Draaisma C., 2002. Potentials and drawbacks of chelate-enhanced phytoremediation of soils, *Environmental Pollution* 116, 109-121.

Rooney C.P., Zhao F.-J., McGrath S.P., 2007. Phytotoxicity of nickel in a range of European soils: influence of soil properties, Ni solubility and speciation, *Environmental Pollution* 145, 596-605.

Sahuquillo A., Lopez-Sanchez J.F., Rubio R., Rauret G., Thomas R.P., Davidson C.M., Ure A.M., 1998. Use of a certified material trace metals to assess sources of uncertainty in the BCR three-stage sequential extraction procedure, *Analytica Chimica Acta*, 382, 317-327.

Sahuquillo A., Rigol A., Rauret G., 2003. Overview of the use of leaching/extraction tests for risk assessment of trace metals in contaminated soils and sediments, *Trends in Analytical Chemistry* 22, 152-159.

Salt D.E., Blaylock M., Kumar P.B.A.N., Dushenkov V., Ensley B.D., Chet L., Raskin L., 1995. Phytoremediation: a novel strategy for the removal of toxic metals from the environment using plants, *Biotechnology* 13, 468-474.

Salt D., Prince R.C., Baker A.J.M., Raskin I., Pickering I.J., 1999. Zinc ligands in the metal hyperaccumulator *Thlaspi caerulescens* as determined using X-ray absorption spectroscopy, *Environmental Science and Technology* 33, 713-717.

Schecher W.D., McAvoy, D.C., 2001. MINEQL+: A Chemical Equilibrium Modeling System, Version 4.5 for Windows, Environmental Research Software, Hallowell, USA.

Schindler P.W., Furst B., Dick R., Wolf P.U., 1976. Ligand properties of surface silanol groups. Surface complex formation with Fe^{3+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} , *Journal of Colloid and Interface Science* 55, 469-475.

Schlieker M., Schüring J., Hencke J., Mai H., Schulz H.D., 2001. The influence of advective transport on redox fronts in column experiments and their numeric modelling (part 2): modelling of the solid phase and secondary redox reactions, *Environmental Geology* 41, 17-24.

Senden M.H.M., Wolterbeek H.A.T., 1990. Effect of citric acid on the transport of cadmium through xylem vessels of excised tomato stem-leaf systems, *Acta Botanica Neerlandica* 39, 297-303.

Seregin I.V., Kozhevnikova A.D., 2006. Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants, *Russian Journal of Plant Physiology* 53, 257-277.

Shanker A.K., Cervantes C., Loza-Tavera H., Avudainayagam S., 2005. Chromium toxicity in plants, *Environment International* 31, 739-753.

Sigg L., Behra P., Stumm W., 2000. Chimie des milieux aquatiques - Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement, 3^{ème} Edition, Dunod, Paris, 592 p.

Silvent M., 2003. Effet du nickel sur la croissance de l'activité photosynthétique, l'état hydrique et la synthèse des métabolites secondaires chez *Datura innoxia*. Rapport pour l'obtention du Diplôme de MST Chimie et Biologie Végétales. Université Claude Bernard Lyon I, 33 p.

Smith R.M., Martell A.E., 1974. Critical Stability Constants, Volume 1. Plenum Press, New-York and London.

Smith R.M., Martell A.E., 1982. Critical Stability Constants, Volume 5. Plenum Press, New-York.

Strathmann T.J., Myneni C.B., 2004. Speciation of aqueous Ni(II)-carboxylate and Ni(II)-fulvic acid solutions: combined ATR-FTIR and XAFS analysis, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 68, 3441-3458.

Stumm W., Sulzberger B., 1992. The cycling of iron in natural environments: considerations based on laboratory studies of heterogeneous redox processes, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 56, 3233-3257.

Sun B., Zhao F.J., Lombi E., McGrath S.P., 2001. Leaching of heavy metals from contaminated soils using EDTA, *Environmental Pollution* 113, 111-120.

Tandy S., Bossart K., Mueller R., Ritschel J., Hauser L., Schulin R., Nowack B., 2004. Extraction of heavy metals from soils using biodegradable chelating agents, *Environmental Science and Technology* 38, 937-944.

Tessier A., Campbell P.G.C., Bisson M., 1979. Sequential extraction procedure for speciation of particulate trace metals, *Analytical Chemistry* 51, 844-851.

Tessier A., Campbell P.G.C., 1991. Comment on "Pitfalls of sequential extractions" par Nirel et Morel, *Water Research* 25, 115-117.

Turgut C., Pepe M.K., Cutright T.J., 2004. The effect of EDTA and citric acid on phytoremediation of Cd, Cr, and Ni from soil using *Helianthus annuus*, *Environmental Pollution* 131, 147-154.

Ure A.M., Quevauviller P., Muntau H., Griepink B., 1993. Improvements in the determination of extractable contents of trace metals in soil and sediment prior to

certification, Commission of the European Communities-BCR information, EUR 14763 EN, Brussels, 84 p.

Vaillant N., Monnet F., Hitmi A., Sallanon H., Coudret A., 2005. Comparative study of responses in four *Datura* species to a zinc stress, *Chemosphere* 59, 1005-1013.

Vassil A.D., Kapulnik Y., Raskin I., Salt D.E., 1998. The role of EDTA in lead transport and accumulation by Indian Mustard. *Plant Physiology* 117, 447-453.

Vernay P., Gauthier-Moussard C., Jean L., Bordas F., Faure O., Ledoigt G., Hitmi A., 2007. Effect of chromium speciation on phytochemical and physiological parameters in *Datura innoxia*. *Chemosphere*, soumis.

Wang Y., Stone A.T., 2006. The citric acid-Mn^{III,IV}O₂(birnessite) reaction. Electron transfer, complex formation, and autocatalytic feedback, *Geochimica et Cosmochimica Acta* 70, 4463-4476.

Wasay S.A., Barrington S., Tokunaga S., 2001. Organic acids for the in situ remediation of soils polluted by heavy metals: soil flushing in columns, *Water, Air and Soil Pollution* 127, 301-314.

Wenzel W.W., Unterbrunner R., Sommer P., Sacco P., 2003. Chelate-assisted phytoextraction using canola (*Brassica napus* L.) in outdoors pot and lysimeter experiments, *Plant and Soil* 249, 83-96.

Whalley C., Grant A., 1994. Assessment of the phase selectivity of the European Community Bureau of Reference (BCR) sequential extraction procedure for metals in sediment, *Analytica Chimica Acta* 291, 287-295.

Witschel M., Egli T., Zehnder A.J.B., Wehrli E., Spycher M., 1999. Transport of EDTA into cells of the EDTA degrading bacterial strain DSM 9103, *Microbiology* 145, 973-983.

Wu L.H., Luo Y.M., Xing X.R., Christie P., 2004. EDTA-enhanced phytoremediation of heavy metal contaminated soil with *Indian mustard* and associated potential leaching risk, *Agriculture, Ecosystems and Environment* 102, 307-318.

Xiao-Quan S., Bin C., 1993. Evaluation of sequential extraction for speciation of trace metals in model soil containing natural minerals and humic acid, *Analytical Chemistry* 65, 802-807.

Zachara J.M., Girvin D.C., Schmidt R.L., Resch C.T., 1987. Chromate adsorption on amorphous iron oxyhydroxide in the presence of major groundwater ions, *Environmental Science and Technology* 21, 589-594.

Zayed A.M., Terry N., 2003. Chromium in the environment: factors affecting biological remediation, *Plant and Soil* 249, 139-156.

ANNEXES

ANNEXES

ANNEXE 1 Teneurs en métal total dans l'échantillon certifié "poplar leaves, DC 73350"

	Valeurs certifiées ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)	Valeurs expérimentales ($\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$)
Fe	274 \pm 17	168 \pm 2
Mg	0,65 % \pm 0,05 %	0,62 % \pm 0,01 %
Mn	45 \pm 4	42,6 \pm 0,3
Zn	37 \pm 3	30 \pm 3
Cu	9,3 \pm 1,0	11,9 \pm 0,1
Cr	<i>0,55 \pm 0,07</i>	<i>0,7 \pm 0,2</i>
Ni	<i>1,9 \pm 0,3</i>	<i>1,79 \pm 0,03</i>

ANNEXE 2 Séparation granulométrique

5 g de sol sont dispersés dans de l'EUP à l'aide d'une sonde à sonication (Bandelin, modèle HD 70) réglée à 5 W. La suspension obtenue est passée sur un tamis en nylon de maille de 50 μm . La fraction de 50 μm à 2 mm est stockée. La suspension contenant la fraction inférieure à 50 μm est introduite dans une allonge puis complétée à 1 L avec de l'EUP. L'ensemble est agité pendant 2 h. Selon la loi de Stokes, un premier prélèvement est effectué après 16 h de repos afin de récupérer la fraction $<2\mu\text{m}$. L'allonge est ensuite complétée à 1 L avec de l'EUP, agitée manuellement puis remise au repos, comme précédemment, et un nouveau prélèvement est effectué. Cela est répété plusieurs fois jusqu'à l'épuisement de la matière en suspension.

Nous avons ainsi obtenu les fractions suivantes :

- Fraction $< 2 \mu\text{m}$
- Fraction 2 à 5 μm
- Fraction 5 à 50 μm
- Fraction 50 μm à 2mm

La teneur en chrome et en nickel a été déterminée dans chaque fraction, après minéralisation acide par micro-ondes.

ANNEXE 3 Constantes utilisées dans MINEQL+ version 4.5

EDTA

Constantes d'acidité

Espèces	Réactions	Log K
$\text{H}(\text{EDTA})^{3-}$	$\text{H}^+ + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}(\text{EDTA})^{3-}$	10,948
$\text{H}_2(\text{EDTA})^{2-}$	$2 \text{H}^+ + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}_2(\text{EDTA})^{2-}$	17,221
$\text{H}_3(\text{EDTA})^-$	$3 \text{H}^+ + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}_3(\text{EDTA})^-$	20,340
$\text{H}_4(\text{EDTA})$	$4 \text{H}^+ + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}_4(\text{EDTA})$	22,500
$\text{H}_5(\text{EDTA})^+$	$5 \text{H}^+ + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}_5(\text{EDTA})^+$	24,000

Constantes de complexation

Espèces	Réactions	Log K
$\text{AlOH}(\text{EDTA})^{2-}$	$\text{H}_2\text{O} + \text{Al}^{3+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{AlOH}(\text{EDTA})^{2-}$	12,800
$\text{CuOH}(\text{EDTA})^{3-}$	$\text{H}_2\text{O} + \text{Cu}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{CuOH}(\text{EDTA})^{3-}$	8,500
$\text{FeOH}(\text{EDTA})^{2-}$	$\text{H}_2\text{O} + \text{Fe}^{3+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{FeOH}(\text{EDTA})^{2-}$	19,900
$\text{Fe}(\text{OH})_2(\text{EDTA})^{3-}$	$2 \text{H}_2\text{O} + \text{Fe}^{3+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons 2 \text{H}^+ + \text{Fe}(\text{OH})_2(\text{EDTA})^{3-}$	9,850
$\text{NiOH}(\text{EDTA})^{3-}$	$\text{H}_2\text{O} + \text{Ni}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{NiOH}(\text{EDTA})^{3-}$	7,600
$\text{ZnOH}(\text{EDTA})^{3-}$	$\text{H}_2\text{O} + \text{Zn}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{ZnOH}(\text{EDTA})^{3-}$	5,800
$\text{AlH}(\text{EDTA})$	$\text{H}^+ + \text{Al}^{3+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{AlH}(\text{EDTA})$	21,800
$\text{CaH}(\text{EDTA})^-$	$\text{H}^+ + \text{Ca}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{CaH}(\text{EDTA})^-$	15,900
$\text{CoH}(\text{EDTA})^-$	$\text{H}^+ + \text{Co}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{CoH}(\text{EDTA})^-$	21,595
$\text{CuH}(\text{EDTA})^-$	$\text{H}^+ + \text{Cu}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{CuH}(\text{EDTA})^-$	24,000
$\text{CuH}_2(\text{EDTA})$	$2 \text{H}^+ + \text{Cu}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{CuH}_2(\text{EDTA})$	26,200
$\text{FeH}(\text{EDTA})$	$\text{H}^+ + \text{Fe}^{3+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{FeH}(\text{EDTA})$	29,200
$\text{MgH}(\text{EDTA})^-$	$\text{H}^+ + \text{Mg}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{MgH}(\text{EDTA})^-$	14,970
$\text{MnH}(\text{EDTA})^-$	$\text{H}^+ + \text{Mn}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{MnH}(\text{EDTA})^-$	19,100
$\text{NiH}(\text{EDTA})^-$	$\text{H}^+ + \text{Ni}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{NiH}(\text{EDTA})^-$	23,600
$\text{PbH}(\text{EDTA})^-$	$\text{H}^+ + \text{Pb}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{PbH}(\text{EDTA})^-$	23,000
$\text{PbH}_2(\text{EDTA})$	$2 \text{H}^+ + \text{Pb}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{PbH}_2(\text{EDTA})$	24,900
$\text{ZnH}(\text{EDTA})^-$	$\text{H}^+ + \text{Zn}^{2+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{ZnH}(\text{EDTA})^-$	21,400
$\text{CrH}(\text{EDTA})^-$	$\text{H}^+ + \text{Cr}^{3+} + \text{EDTA}^{4-} \rightleftharpoons \text{CrH}(\text{EDTA})^-$	25,350

Espèces	Réactions	Log K
Al(EDTA) ⁻	Al ³⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Al(EDTA) ⁻	19,100
Ca(EDTA) ²⁻	Ca ²⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Ca(EDTA) ²⁻	12,420
Co(EDTA) ²⁻	Co ²⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Co(EDTA) ²⁻	18,166
Cu(EDTA) ²⁻	Cu ²⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Cu(EDTA) ²⁻	20,500
Fe(EDTA) ⁻	Fe ³⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Fe(EDTA) ⁻	27,700
Mg(EDTA) ²⁻	Mg ²⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Mg(EDTA) ²⁻	10,570
Mn(EDTA) ²⁻	Mn ²⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Mn(EDTA) ²⁻	15,600
Ni(EDTA) ²⁻	Ni ²⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Ni(EDTA) ²⁻	20,100
Pb(EDTA) ²⁻	Pb ²⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Pb(EDTA) ²⁻	19,800
Zn(EDTA) ²⁻	Zn ²⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Zn(EDTA) ²⁻	18,000
Cr(EDTA) ⁻	Cr ³⁺ + EDTA ⁴⁻ ⇌ Cr(EDTA) ⁻	23,400

Acide citrique

Constantes d'acidité

Espèces	Réactions	Log K
$\text{H}(\text{Citrate})^{2-}$	$\text{H}^+ + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{H}(\text{Citrate})^{2-}$	6,396
$\text{H}_2(\text{Citrate})^-$	$2 \text{H}^+ + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{H}_2(\text{Citrate})^-$	11,157
$\text{H}_3(\text{Citrate})$	$3 \text{H}^+ + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{H}_3(\text{Citrate})$	14,285

Constantes de complexation

Espèces	Réactions	Log K
$\text{AlH}(\text{Citrate})^+$	$\text{H}^+ + \text{Al}^{3+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{AlH}(\text{Citrate})^+$	12,850
$\text{CaH}_2(\text{Citrate})^+$	$2 \text{H}^+ + \text{Ca}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{CaH}_2(\text{Citrate})^+$	12,257
$\text{CaH}(\text{Citrate})$	$\text{H}^+ + \text{Ca}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{CaH}(\text{Citrate})$	9,260
$\text{CuH}(\text{Citrate})$	$\text{H}^+ + \text{Cu}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{CuH}(\text{Citrate})$	10,870
$\text{CuH}_2(\text{Citrate})^+$	$2 \text{H}^+ + \text{Cu}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{CuH}_2(\text{Citrate})^+$	13,230
$\text{FeH}(\text{Citrate})^+$	$\text{H}^+ + \text{Fe}^{3+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{FeH}(\text{Citrate})^+$	14,400
$\text{MgH}_2(\text{Citrate})^+$	$2 \text{H}^+ + \text{Mg}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{MgH}_2(\text{Citrate})^+$	12,200
$\text{MgH}(\text{Citrate})$	$\text{H}^+ + \text{Mg}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{MgH}(\text{Citrate})$	8,910
$\text{MnH}(\text{Citrate})$	$\text{H}^+ + \text{Mn}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{MnH}(\text{Citrate})$	9,600
$\text{NiH}(\text{Citrate})$	$\text{H}^+ + \text{Ni}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{NiH}(\text{Citrate})$	10,500
$\text{NiH}_2(\text{Citrate})^+$	$2 \text{H}^+ + \text{Ni}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{NiH}_2(\text{Citrate})^+$	13,300
$\text{NiH}(\text{Citrate})_2^{3-}$	$\text{H}^+ + \text{Ni}^{2+} + 2 \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{NiH}(\text{Citrate})_2^{3-}$	14,900
$\text{ZnH}(\text{Citrate})$	$\text{H}^+ + \text{Zn}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{ZnH}(\text{Citrate})$	10,200
$\text{ZnH}_2(\text{Citrate})^+$	$2 \text{H}^+ + \text{Zn}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{ZnH}_2(\text{Citrate})^+$	12,840

Espèces	Réactions	Log K
$\text{Al}(\text{Citrate})_2^{3-}$	$\text{Al}^{3+} + 2 \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Al}(\text{Citrate})_2^{3-}$	14,800
$\text{Al}(\text{Citrate})$	$\text{Al}^{3+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Al}(\text{Citrate})$	9,970
$\text{Ca}(\text{Citrate})^-$	$\text{Ca}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Ca}(\text{Citrate})^-$	4,870
$\text{Cu}(\text{Citrate})^-$	$\text{Cu}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{Citrate})^-$	7,570
$\text{Cu}_2(\text{Citrate})_2^{2-}$	$2 \text{Cu}^{2+} + 2 \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Cu}_2(\text{Citrate})_2^{2-}$	16,900
$\text{Cu}(\text{Citrate})_2^{4-}$	$\text{Cu}^{2+} + 2 \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Cu}(\text{Citrate})_2^{4-}$	8,900
$\text{Fe}(\text{Citrate})$	$\text{Fe}^{3+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Fe}(\text{Citrate})$	13,100
$\text{Mg}(\text{Citrate})^-$	$\text{Mg}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Mg}(\text{Citrate})^-$	4,890
$\text{Mn}(\text{Citrate})^-$	$\text{Mn}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Mn}(\text{Citrate})^-$	4,280
$\text{Ni}(\text{Citrate})_2^{4-}$	$\text{Ni}^{2+} + 2 \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Ni}(\text{Citrate})_2^{4-}$	8,770
$\text{Ni}(\text{Citrate})^-$	$\text{Ni}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Ni}(\text{Citrate})^-$	6,590
$\text{Pb}(\text{Citrate})^-$	$\text{Pb}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Pb}(\text{Citrate})^-$	7,270
$\text{Pb}(\text{Citrate})_2^{4-}$	$\text{Pb}^{2+} + 2 \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Pb}(\text{Citrate})_2^{4-}$	6,530
$\text{Zn}(\text{Citrate})^-$	$\text{Zn}^{2+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Zn}(\text{Citrate})^-$	6,210
$\text{Zn}(\text{Citrate})_2^{4-}$	$\text{Zn}^{2+} + 2 \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Zn}(\text{Citrate})_2^{4-}$	7,400
$\text{Cr}(\text{Citrate})$	$\text{Cr}^{3+} + \text{Citrate}^{3-} \rightleftharpoons \text{Cr}(\text{Citrate})$	8,7350

Histidine

Constantes d'acidité

Espèces	Réactions	Log K
H(His)	$H^+ + His^- \rightleftharpoons H(His)$	9,300
H ₂ (His) ⁺	$2 H^+ + His^- \rightleftharpoons H_2(His)^+$	15,300
H ₃ (His) ²⁺	$3 H^+ + His^- \rightleftharpoons H_3(His)^{2+}$	16,700

Constantes de complexation

Espèces	Réactions	Log K
CaH(His) ²⁺	$H^+ + Ca^{2+} + His^- \rightleftharpoons CaH(His)^{2+}$	9,950
CaH ₂ (His) ³⁺	$2 H^+ + Ca^{2+} + His^- \rightleftharpoons CaH_2(His)^{3+}$	15,430
CuH(His) ²⁺	$H^+ + Cu^{2+} + His^- \rightleftharpoons CuH(His)^{2+}$	14,130
MgH(His) ²⁺	$H^+ + Mg^{2+} + His^- \rightleftharpoons MgH(His)^{2+}$	12,650

Espèces	Réactions	Log K
CaHis ⁺	$Ca^{2+} + His^- \rightleftharpoons CaHis^+$	1,550
Cu(His) ₂	$Cu^{2+} + 2 His^- \rightleftharpoons Cu(His)_2$	19,400
CuHis ⁺	$Cu^{2+} + His^- \rightleftharpoons CuHis^+$	11,100
FeHis ²⁺	$Fe^{3+} + His^- \rightleftharpoons FeHis^{2+}$	5,500
Fe(His) ₂ ⁺	$Fe^{3+} + 2 His^- \rightleftharpoons Fe(His)_2^+$	10,430
Mn(His) ₂	$Mn^{2+} + 2 His^- \rightleftharpoons Mn(His)_2$	8,500
MnHis ⁺	$Mn^{2+} + His^- \rightleftharpoons MnHis^+$	4,100
NiHis ⁺	$Ni^{2+} + His^- \rightleftharpoons NiHis^+$	9,300
Ni(His) ₂	$Ni^{2+} + 2 His^- \rightleftharpoons Ni(His)_2$	16,600
PbHis ⁺	$Pb^{2+} + His^- \rightleftharpoons PbHis^+$	7,300
Pb(His) ₃ ⁻	$Pb^{2+} + 3 His^- \rightleftharpoons Pb(His)_3^-$	10,100
Pb(His) ₂ ⁻	$Pb^{2+} + 2 His^- \rightleftharpoons Pb(His)_2^-$	11,470
ZnHis ⁺	$Zn^{2+} + His^- \rightleftharpoons ZnHis^+$	7,300
Zn(His) ₂	$Zn^{2+} + 2 His^- \rightleftharpoons Zn(His)_2$	13,000

Les éléments en solution :

Espèces	Réactions	LogK
HO ⁻	H ₂ O ⇌ HO ⁻ + H ⁺	-13,997
Al(OH) ₂ ⁺	2 H ₂ O + Al ³⁺ ⇌ 2 H ⁺ + Al(OH) ₂ ⁺	-10,094
Al(OH) ₃ (aq)	3 H ₂ O + Al ³⁺ ⇌ 3 H ⁺ + Al(OH) ₃ (aq)	-16,791
Al(OH) ₄ ⁻	4 H ₂ O + Al ³⁺ ⇌ 4 H ⁺ + Al(OH) ₄ ⁻	-22,688
AlOH ²⁺	H ₂ O + Al ³⁺ ⇌ H ⁺ + AlOH ²⁺	-4,997
CaOH ⁺	H ₂ O + Ca ²⁺ ⇌ H ⁺ + CaOH ⁺	-12,697
CoOH ²⁺	H ₂ O + Co ³⁺ ⇌ H ⁺ + CoOH ²⁺	-1,291
Cu ₂ (OH) ₂ ²⁺	2 H ₂ O + 2 Cu ²⁺ ⇌ 2 H ⁺ + Cu ₂ (OH) ₂ ²⁺	-10,594
Cu(OH) ₃ ⁻	3 H ₂ O + Cu ²⁺ ⇌ 3 H ⁺ + Cu(OH) ₃ ⁻	-26,879
Cu(OH) ₄ ²⁻	4 H ₂ O + Cu ²⁺ ⇌ 4 H ⁺ + Cu(OH) ₄ ²⁻	-39,980
CuOH ⁺	H ₂ O + Cu ²⁺ ⇌ H ⁺ + CuOH ⁺	-7,497
Cu(OH) ₂ (aq)	2 H ₂ O + Cu ²⁺ ⇌ 2 H ⁺ + Cu(OH) ₂ (aq)	-16,194
FeOH ²⁺	H ₂ O + Fe ³⁺ ⇌ H ⁺ + FeOH ²⁺	-2,187
Fe(OH) ₂ ⁺	2 H ₂ O + Fe ³⁺ ⇌ 2 H ⁺ + Fe(OH) ₂ ⁺	-4,594
Fe ₂ (OH) ₂ ⁴⁺	2 H ₂ O + 2 Fe ³⁺ ⇌ 2 H ⁺ + Fe ₂ (OH) ₂ ⁴⁺	-2,854
Fe(OH) ₃ (aq)	3 H ₂ O + Fe ³⁺ ⇌ 3 H ⁺ + Fe(OH) ₃ (aq)	-12,560
Fe(OH) ₄ ⁻	4 H ₂ O + Fe ³⁺ ⇌ 4 H ⁺ + Fe(OH) ₄ ⁻	-21,588
Fe ₃ (OH) ₄ ⁵⁺	4 H ₂ O + 3Fe ³⁺ ⇌ 4 H ⁺ + Fe ₃ (OH) ₄ ⁵⁺	-6,288
MgOH ⁺	H ₂ O + Mg ²⁺ ⇌ H ⁺ + MgOH ⁺	-11,397
MnOH ⁺	H ₂ O + Mn ²⁺ ⇌ H ⁺ + MnOH ⁺	10,597
Mn(OH) ₃ ⁻	3 H ₂ O + Mn ²⁺ ⇌ 3 H ⁺ + Mn(OH) ₃ ⁻	-34,800
Mn(OH) ₄ ²⁻	4 H ₂ O + Mn ²⁺ ⇌ 4 H ⁺ + Mn(OH) ₄ ²⁻	-48,288
NiOH ⁺	H ₂ O + Ni ²⁺ ⇌ H ⁺ + NiOH ⁺	-9,897
Ni(OH) ₂ (aq)	2 H ₂ O + Ni ²⁺ ⇌ 2 H ⁺ + Ni(OH) ₂ (aq)	-18,994
Ni(OH) ₃ ⁻	3 H ₂ O + Ni ²⁺ ⇌ 3 H ⁺ + Ni(OH) ₃ ⁻	-29,991
Pb(OH) ₂ (aq)	2 H ₂ O + Pb ²⁺ ⇌ 2 H ⁺ + Pb(OH) ₂ (aq)	-17,094
PbOH ⁺	H ₂ O + Pb ²⁺ ⇌ H ⁺ + PbOH ⁺	-7,597
Pb ₄ (OH) ₄ ⁴⁺	4 H ₂ O + 4 Pb ²⁺ ⇌ 4 H ⁺ + Pb ₄ (OH) ₄ ⁴⁺	-19,988
Pb ₂ OH ³⁺	H ₂ O + 2 Pb ²⁺ ⇌ H ⁺ + Pb ₂ OH ³⁺	-6,397
Pb(OH) ₃ ⁻	3 H ₂ O + Pb ²⁺ ⇌ 3 H ⁺ + Pb(OH) ₃ ⁻	-28,091
Pb(OH) ₄ ²⁻	4 H ₂ O + Pb ²⁺ ⇌ 4 H ⁺ + Pb(OH) ₄ ²⁻	-39,699

Espèces	Réactions	LogK
Zn(OH) ₄ ²⁻	4 H ₂ O + Zn ²⁺ ⇌ 4 H ⁺ + Zn(OH) ₄ ²⁻	-40,488
Zn(OH) ₃ ⁻	3 H ₂ O + Zn ²⁺ ⇌ 3 H ⁺ + Zn(OH) ₃ ⁻	-28,091
ZnOH ⁺	H ₂ O + Zn ²⁺ ⇌ H ⁺ + ZnOH ⁺	-8,997
Zn(OH) ₂ (aq)	2 H ₂ O + Zn ²⁺ ⇌ 2 H ⁺ + Zn(OH) ₂ (aq)	-17,794

ANNEXE 4 Test respirométrique

La méthode respirométrique repose sur l'utilisation d'un système électronique de mesure de la demande biochimique en oxygène (DBO) par OxiTop®. En règle générale, la DBO permet de quantifier la quantité d'oxygène nécessaire aux microorganismes, présents dans l'eau, pour dégrader les substances organiques. Elle est utilisée pour quantifier la charge polluante organique et biodégradable d'une eau. Elle s'exprime en $\text{mg O}_2 \cdot \text{L}^{-1}$.

Le système est composé d'un agitateur magnétique, de flacons en verre opaque (510 mL), de barreaux aimantés, de godets à soude. Chaque flacon se ferme hermétiquement avec un manomètre électronique. Une enceinte thermostatée (WTW, Weilheim, Germany) est utilisée pour maintenir l'ensemble à température constante (20 ± 1 °C), pendant toute la durée des mesures.

Lors de la biodégradation des composés organiques en milieu aérobie, une certaine quantité d'oxygène est consommée. Le CO_2 produit en retour est rapidement absorbé par les pastilles de NaOH.

Cette méthode est basée sur des mesures de pressions. Quand le CO_2 est piégé par NaOH, la pression diminue dans le flacon. C'est cette diminution de pression qui est enregistrée. La DBO est calculée selon l'équation suivante :

$$\text{DBO} = \frac{M(\text{O}_2)}{RT_m} \left(\frac{V_{\text{Total}} - V_{\text{Liquide}}}{V_{\text{Total}}} + \alpha \frac{T_m}{T_0} \right) \Delta p(\text{O}_2)$$

Où :

$M(\text{O}_2)$: la masse molaire de O_2 ($32 \text{ g} \cdot \text{mol}^{-1}$),

R : la constante des gaz parfaits ($83,144 \text{ mbar} \cdot \text{L} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{K}^{-1}$),

T_0 : $273,15$ °K,

T_m : la température d'incubation (°K),

V_{Total} : le volume total du flacon (L),

V_{Liquide} : le volume de liquide (L),

α : le coefficient d'absorption de Bunsen de O_2 (0,03103),

$\Delta p(\text{O}_2)$: la différence de pression partielle en oxygène (mbar).

ANNEXE 5 Dénombrement : dilution-étalement

Il s'agit du dénombrement sur boîtes de Pétri. Cette technique permet uniquement le dénombrement de bactéries vivantes (capables de se multiplier sur un milieu favorable). La numération est basée sur l'hypothèse selon laquelle, chaque bactérie viable se divise jusqu'à l'obtention d'une colonie (amas de cellules issues de cette cellule mère), après incubation sur un milieu gélosé favorable.

Un volume exact (0,1 mL) du produit à étudier ou une dilution de ce produit est étalé sur une boîte de Pétri stérile contenant un milieu gélosé à base de citrate de sodium (milieu au citrate de Christensen). Après incubation, le nombre des colonies développées sur la gélose est compté. Le dénombrement des colonies ramène au nombre de cellules viables déposées. On en déduit une estimation de la population bactérienne du produit originel, exprimée en "unités formant colonies" (UFC).

Un certain nombre de facteurs peuvent influencer les résultats obtenus :

- le choix du milieu,
- la présence de bactéries revivifiables,
- la température d'incubation,
- les conditions d'aéro-anaérobie relatives qui ne sont pas favorables aux anaérobies stricts
- l'antagonisme possible entre des espèces différentes.

Néanmoins, cette méthode simple suffit à fournir un certain nombre de renseignements sur le taux de croissance des micro-organismes.

En milieu stérile, on prélève 1 mL de suspension de sol (sonication pendant 30 s à 40 W) que l'on dilue dans 9 mL d'eau physiologique (NaCl à 8 g.L⁻¹ dans de l'EUP). On prélève ensuite 1 mL du tube 1 que l'on dilue dans 9 mL d'eau physiologique. On procède ainsi à des dilutions successives afin d'assurer une dilution suffisante de la solution étudiée, car on ne prend en compte, après incubation, que les boîtes de Pétri présentant entre 30 et 300 colonies. 0,1 mL de chaque dilution sont étalés sur la gélose, et on laisse ensuite incuber les boîtes de Pétri pendant 7 jours à température ambiante. Au bout de ces 7 jours, un comptage des colonies formées est effectué sur chaque boîte.

ANNEXE 6 Mesure de la photosynthèse nette (Pn)

L'activité photosynthétique a été évaluée en mesurant des paramètres d'échanges gazeux à l'aide d'un appareil portable LI-Cor Model 6400 (Lincoln, NE, USA).

La feuille est enfermée dans une chambre de mesure étanche dans laquelle sont relevés plusieurs paramètres (température de l'air, humidité, éclairage). Les conditions de mesure sont les suivantes : température = 25°C, intensité de la lumière imposée = 500 $\mu\text{mol photon.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, concentration du CO₂ = 400 $\mu\text{mol CO}_2.\text{L}^{-1}$, humidité = 30%.

Une pompe assure la circulation de l'air dans le système et l'amène vers un spectrophotomètre infrarouge. Le CO₂ est dosé par différence entre la cellule de mesure et une cellule de référence où circule un air dépourvu de CO₂, par passage sur du bicarbonate de calcium.

ANNEXE 7 Article 1

Chromium and nickel mobilization from a contaminated soil using chelants

ANNEXE 8 Article 2

Effect of citric acid and EDTA on chromium and nickel uptake and translocation by *Datura innoxia*

ANNEXE 9 Article 3

Effect of chromium speciation on phytochemical and physiological parameters in *Datura innoxia*

RESUME

La contamination des sols par des polluants métalliques issus de l'activité industrielle constitue un problème environnemental majeur. La présente étude porte sur l'un de ces sols, l'objectif étant d'étudier l'influence de réactifs complexants sur la mobilisation du chrome et du nickel afin d'améliorer leur extraction par *Datura innoxia*. L'étude a d'abord été réalisée sur un sol artificiellement contaminé constituant un système d'étude simplifiée, avant d'être étendue au sol contaminé par l'activité industrielle. L'EDTA et l'acide citrique sont les complexants les plus efficaces pour mobiliser, respectivement le nickel et le chrome. La mobilisation se fait par : réaction de complexation, réaction de compétition et dissolution des phases porteuses du sol. Appliqué sur le sol, en présence de *Datura innoxia*, l'EDTA améliore l'accumulation du nickel tandis que l'acide citrique améliore celle du chrome. L'évaluation du lessivage des métaux montre que l'utilisation des complexant doit se faire de façon contrôlée afin d'éviter un départ massif des métaux vers les systèmes aquatiques.

MOTS CLES : sol contaminé, chrome, nickel, complexant, mobilisation, *Datura innoxia*, translocation, accumulation

ABSTRACT

Metal contaminated soils are a serious environmental problem. This study is about an industrial contaminated soil and the aim is to investigate the chelants effects on chromium and nickel mobilization in order to enhance their uptake by *Datura innoxia*. The study is carried out before on an artificial contaminated soil, which represents a simplified system and after the industrial contaminated soil. The mobilization is due to: complexation reaction, competition reaction and solubization of the mineral matrix. EDTA and citric acid are the most efficient chelants to mobilize, respectively nickel and chromium. Chelants were tested to enhance metal uptake by *Datura innoxia*. EDTA enhances nickel uptake and citric acid chromium uptake. The leaching study shows that chelants use must be controlled in order to avoid important metal leaching to the groundwater.

KEYS WORDS: contaminated soil, chromium, nickel, chelant, mobilization, *Datura innoxia*, translocation, accumulation