



24612 RM



U.F.R. S.T.M.P.
Ecole doctorale : RP2E



THÈSE

présentée pour l'obtention du titre de

Docteur de l'université Henri Poincaré – Nancy I

en Science du Sol - Géomicrobiologie

par **Cécile QUANTIN**

INCIDENCE DE LA BIODEGRADATION DES MATIERES ORGANIQUES SUR LE DEVENIR DES METAUX ET DES CONTAMINANTS ORGANIQUES DANS UN SOL NICKELIFERE ET UN SEDIMENT DE RIVIERE

Soutenue publiquement le 03 Mai 2001

Membres du Jury :

Michel JAUZEIN	Professeur, Université Henri-Poincaré Nancy I	Président
Jean-Charles MUNCH	Professeur, GSF, Neuherberg (Allemagne)	Rapporteur
Michel ROBERT	Directeur de Recherche, INRA Versailles	Rapporteur
Jacques BERTHELIN	Directeur de Recherche, CPB-CNRS Nancy	Directeur
Thierry BECQUER	Chargé de Recherche à l'IRD Nancy	Examineur
Marc BENEDETTI	Chargé de Recherche, CNRS Univ. Paris 7	Examineur
Claire RIOU	Ingénieur, Agence de l'Eau Rhin-Meuse	Invitée



C.N.R.S. Centre de Pédologie Biologique
FRE 2111 associée à l'université
Henri Poincaré – Nancy I
17, rue Notre Dame des Pauvres – BP 5
54501 Vandoeuvre-lès-Nancy

**Institut de Recherche pour
le Développement**
32, avenue Henri Varagnat
93143 Bondy Cedex



TABLE DES MATIERES

INTRODUCTION GENERALE	1
PARTIE I : LES CONTAMINATIONS METALLIQUES ET ORGANIQUES DANS LES SOLS ET LES SEDIMENTS DE RIVIERES : ETAT DES CONNAISSANCES	7
I.- ORIGINES	9
1.- Métaux et Cléments en traces métalliques	10
2.- Hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	10
II.- PHASES PORTEUSES DES ETM	13
1.- Les oxydes de fer et manganèse	13
<i>a.- Les oxydes de fer</i>	13
<i>b.- Les oxydes de manganèse</i>	15
2.- Les sulfures	16
3.- Les carbonates	17
4.- Les phosphates de calcium	18
5.- Les matières organiques	19
III.- DYNAMIQUE DES POLLUANTS : DEVENIR DANS LE SOL ET LES SEDIMENTS	20
1.- Métaux	20
11.- Mécanismes abiotiques de mobilisation	20
<i>a.- Salinité, force ionique</i>	22
<i>b.- Variations du pH : conditions acido-basiques</i>	22
<i>c.- Le potentiel d'oxydo-réduction Eh</i>	23
<i>d.- Ligands</i>	23
12.- Mécanismes biotiques de mobilisation : rôle des micro-organismes	23
<i>a.- Réduction bactérienne des oxydes de fer et manganèse</i>	24
<i>b.- Oxydation des sulfures</i>	25
<i>c.- Réduction des sulfates</i>	25
<i>d.- Bioaccumulation et biosorption</i>	26
2.- Hydrocarbures aromatiques polycycliques	26
21.- Processus abiotiques	28
22.- Processus biotiques : biodégradation	28
111.- RISQUES ENVIRONNEMENTAUX	30
1.- Micro-organismes	31
2.- Plantes	31
3.- Santé humaine	32
IV.- CONCLUSION	33
PARTIE II : MATERIEL ET METHODES	35
I.- ECHANTILLONNAGE	31
II.- DISPOSITIFS EXPERIMENTAUX	37
III.- SUIVI DE L'ACTIVITE MICROBIENNE	38
1.- Activité respirométrique : minéralisation des matières organiques et CO ₂ dégagé	38
2.- Dosage des protéines totales	38
3.- Dénombrement sur milieu solide	38
IV.- ANALYSES DE LA SOLUTION	39
1.- Eh et pH	39
2.- Dosage des éléments minéraux	39
21.- Teneurs métalliques totales	39
22.- Dosages colorimétriques de Fe ²⁺ et Mn ²⁺	40
23.- Dosage des anions par chromatographie ionique	40
3.- Dosage du carbone et des composts organiques	40
31.- Carbone dissous	40
32.- Recherche et dosage des produits du métabolisme carboné en HPLC	40

33.- Extraction des hydrocarbures aromatiques polycycliques en phase aqueuse	41
V.- ANALYSE DES ECHANTILLONS SOLIDES	41
1.- Analyses du carbone et de l'azote	41
2.- Granulométrie	41
3.- Analyse des éléments minéraux	42
4.- Analyse des hydrocarbures aromatiques polycycliques	42
5.- Spéciation du solide	43
51.- Minéralogie : diffraction des rayons X (DRX)	43
52.- Compartimentation chimique	43
53.- Microscopie électronique à transmission et microanalyse	44
VI.- EXPRESSION DES RESULTATS, ANALYSE DES DONNEES	45

PARTIE III : COMPORTEMENT DES METAUX AU COURS DE LA BIODEGRADATION DES MATIERES ORGANIQUES DANS UN FERRALSOL NICKELIFERE 47

CHAPITRE 1 : PRESENTATION GENERALE 51

I.- SITUATION DE L'ETUDE	51
II.- TOPOSEQUENCE DE OUE 42	52
III.- DESCRIPTION DU SOLEU 4	54
IV.- CARACTERISTIQUES DE L'ECHANTILLON OUE 42	56
V. CARACTERISTIQUES MICROBIOLOGIQUES GENERALES	58

CHAPITRE 2 : ETUDES PRELIMINAIRES : CHOIX DES CONDITIONS EXPERIMENTALES 61

I.- BIODEGRADABILITE DES MATIERES ORGANIQUES	61
1.- Biodégradation des matières organiques naturelles de l'échantillon OUE 42	61
2.- Biodégradation des matières organiques naturelles et ajoutées de l'échantillon OUE 42	62
II.- EVOLUTION DES PARAMETRES DU MILIEU : pH ET Eh	63
III.- MOBILISATION DES METAUX	63
1.- Elements majeurs	63
2.- Eléments en traces métalliques	65
IV.- DISCUSSION	65

CHAPITRE 3 : SOLUBILISATION ET STATUT DES METAUX AU COURS DE LA BIODEGRADATION ANAEROBIE DE LA MATIERE ORGANIQUE 69

I.- INTRODUCTION	69
II.- BIODEGRADATION ET MINERALISATION DES MATIERES ORGANIQUES	69
III.- EVOLUTION DES PARAMETRES DU MILIEU : Eh ET pH	73
IV.- MOBILISATION DES METAUX	75
1.- Solubilisation du fer et du manganèse	75
2.- Solubilisation des métaux Ni, Co et Cr	81
V.- RELATIONS ENTRE LES DIFFERENTS PARAMETRES	84
VI.- EVOLUTION (CARACTERISATION ET SPECIATION) DES PHASES SOLIDES	85
1.- Distribution du fer (Figure III.20a)	86
2.- Distribution du manganèse (Figure III.20b)	86
3.- Distribution du nickel (Figure III.20c)	88
4.- Distribution du cobalt (Figure III.20d)	88
5.- Distribution du chrome (Figure III.20e)	88
6.- Distribution de l'aluminium (Figure III.20f)	89
7.- Distribution du silicium	89
8.- Modifications majeures de la phase solide	89
VII.- CARACTERISATION EN MICROSCOPIE ELECTRONIQUE (MET) DES ECHANTILLONS AVANT ET APRES INCUBATION	90
1.- Echantillon initial OUE 42	90
2.- Echantillon du traitement GLU (planche 2)	90
3.- Echantillon du traitement CEL (planche 3)	93

VIII.- DISCUSSION	93
1.- Activité minéralisatrice	93
2.- Réduction bactérienne	95
3.- Solubilisation de Co et Ni	97
4.- Evolution de la répartition des métaux dans les phases minérales et organo-minérales	98
IX.- CONCLUSION	100

PARTIE IV : BIODEGRADATION DES MATIERES ORGANIQUES ET DEVENIR DES POLLUANTS ORGANIQUES ET MINERAUX DANS LE SEDIMENT DE LA FENSCH 101

CHAPITRE 1: PRESENTATION GENERALE DU SEDIMENT DE LA FENSCH 105

I.- MINERALOGIE ET OBSERVATIONS MICROSCOPIQUES	105
II.- CARACTERISTIQUES PHYSICO-CHIMIQUES	108
III.- CARACTERISTIQUES MICROBIOLOGIQUES GLOBALES	110
IV.- CONCLUSION	110

CHAPITRE 2 : BIODEGRADATION DES MATIERES ORGANIQUES NATURELLES ET ANTHROPIQUES D'UN SEDIMENT DE LA FENSCH - Incidence sur la mobilisation des métaux 113

I.- INTRODUCTION	113
II.- BIODEGRADATION ET MINERALISATION DES MATIERES ORGANIQUES	114
III.- EVOLUTION DES PARAMETRES DU MILIEU : Eh et pH	116
IV.- EVOLUTION DES ANIONS MINERAUX EN SOLUTION	118
V.- SOLUBILISATION DES CATIONS	120
1.- Eléments majeurs	120
2.- Eléments en traces	122
VI.- EVOLUTION DES MATIERES ORGANIQUES DANS LA PHASE SOLIDE	124
1.- Evolution des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP)	124
2.- Bilan carbone	128
VII.- EVOLUTION DU STATUT DES METAUX DU SEDIMENT	128
1.- Distribution du calcium dans la phase solide (figure IV.12a)	129
2.- Distribution du magnésium dans la phase solide (figure IV.12b)	129
3.- Distribution du manganèse dans la phase solide (figure IV.12c)	129
4.- Distribution du fer dans la phase solide (figure IV.12d)	131
5.- Distribution de l'aluminium dans le solide (figure IV.12e)	131
6.- Distribution du soufre dans la phase solide	131
7.- Distribution du plomb dans la phase solide (figure IV.12f)	132
8.- Distribution du zinc dans la phase solide (figure IV.12g)	132
9.- Distribution du nickel dans la phase solide (figure IV.12h)	133
10.- Distribution du chrome dans la phase solide (figure IV.12i)	133
11.- Distribution du cuivre dans le sédiment	133
12.- Considérations sur l'évolution des phases solides	134
VIII.- DISCUSSION	134
1.- Activité minéralisatrice	134
2.- Oxydation et réduction bactériennes	136
3.- Solubilisation des ETM et redistribution dans la phase solide	139
IX.- CONCLUSION	140

CONCLUSION GENERALE 143

BIBLIOGRAPHIE 149

ANNEXES

CONCLUSION GENERALE

L'ensemble de ce travail montre que l'étude et la définition des activités microbiennes est indispensable à la compréhension du comportement des contaminants organiques et inorganiques dans les sols et que les approches mises en œuvre et les phénomènes observés s'appliquent aux sédiments de rivières, avec lesquels des comparaisons et analogies peuvent être établies. Plutôt que d'étudier une ou quelques populations très précises, nous avons abordé ces systèmes sols et sédiments dans leur complexité en choisissant de suivre et de quantifier des processus microbiens (minéralisation du carbone, ferri-réduction, sulfato-réduction, sulfo-oxydation) correspondant à des activités particulièrement importantes de la microflore autochtone dans des dispositifs en cuves. Cette approche permet en effet d'étudier de façon simple les processus dominants, mettant en jeu des donneurs et des accepteurs finaux d'électrons très variés présents dans ces milieux. Ces processus sont suivis par l'apparition et l'accumulation dans le milieu de composés dissous ou gazeux caractéristiques (CO_2 , Fe^{2+} , Mn^{2+} , SO_4^{2-} , ...). Les incubations en cuves qui sont des systèmes fermés permettent d'observer divers paramètres du milieu et d'étudier le couplage du cycle du carbone (minéralisation, biodégradation) avec ceux du fer, du manganèse, du soufre et des Cléments en traces. Elles ont été utilisées pour définir les mécanismes et les paramètres majeurs intervenant dans la mobilité, le statut, la disponibilité et le devenir de contaminants minéraux et organiques de systèmes naturel (sol de Nouvelle-Calédonie) et très anthropisé (sédiment de rivière). Ces deux types d'échantillons : l'horizon de sub-surface du sol de Ouénarou (OUE 4), et le sédiment de rivière prélevé dans la Fensch à Florange sont de véritables réservoirs de micro-organismes. Les communautés microbiennes présentes sont très variées (aérobies, cellulolytiques, fermentatives, ferri- et mangani-réductrices, sulfato-réductrices, sulfo-oxydantes) et mettent en œuvre des stratégies métaboliques diverses et variées. On observe donc l'exploitation de toutes les sources énergétiques présentes et donc de tous les accepteurs potentiels d'électrons présents. Le relais entre les communautés microbiennes est un phénomène important qui apparaît par exemple pour les communautés cellulolytiques, fermentatives et réductrices.

La dégradation de la matière organique dans le sol de Ouénarou et le sédiment de la Fensch intervient directement ou indirectement **sur** la dynamique d'éléments comme le fer, le manganèse, le soufre et les ETM (Tableau 1). Les micro-organismes hétérotrophes révélés par leur activité ont également une incidence majeure sur le devenir des contaminants organiques de types hydrocarbures aromatiques polycycliques présents dans le sédiment pollué de la Fensch, notamment en conditions aérobies. Dans ce même sédiment, des communautés bactériennes autotrophes ont également été mises en évidence, notamment des communautés sulfo-oxydantes (Tableau 1). Des bactéries ferro-oxydantes peuvent toutefois se manifester.

Résumé

Les sols et les sédiments de rivières sont à la fois sources et réceptacles de polluants issus du fond géochimique ou de pollutions anthropiques. Ils contiennent différentes phases minérales et organiques porteuses d'éléments en traces métalliques (ETM) et de polluants organiques variés. L'activité microbienne joue un rôle majeur dans les cycles biogéochimiques de ces composés, par le jeu des interactions micro-organismes-minéraux-matières organiques. L'influence de la biodégradation des matières organiques (MO) complexes sur le devenir des métaux et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) est étudiée dans deux systèmes continentaux contrastés : un Ferralsol de Nouvelle-Calédonie et un sédiment de rivière de Lorraine.

Des incubations permettent le suivi et la quantification de l'activité microbienne ainsi que la définition des mécanismes et paramètres impliqués dans l'évolution des polluants au cours de la biodégradation des MO. L'accent est mis sur le couplage de certaines étapes du cycle du carbone avec les cycles des métaux.

Les résultats montrent que la nature des MO et la quantité d'accepteurs d'électrons disponibles dans le milieu contrôlent l'activité microbienne aérobie et anaérobie. En aérobiose, la dégradation des composés organiques s'accompagne de la dissolution des carbonates et des sulfures présents dans le milieu. La réduction bactérienne de Fe et Mn entraîne la solubilisation des ETM associés à leurs oxydes, notamment lorsque l'activité microbienne est stimulée par l'apport d'un substrat organique facilement métabolisable. La réduction des sulfates contribue à la précipitation de certains ETM. L'étude du statut des métaux dans la phase solide montre une réorganisation de ceux-ci au profit de compartiments plus réactifs et plus labiles au cours de l'altération microbienne. Enfin, l'activité microbienne entraîne la dissipation des HAP du sédiment, même des plus lourds, en aérobiose et dans une moindre mesure en anaérobiose.

Mots-cles : biodégradation, matières organiques, minéraux, métaux, hydrocarbures aromatiques polycycliques, activité microbienne, sol, sédiment de rivière

Abstract

Soils and river sediments are sources and recipients of pollutants coming from geochemical sources and anthropogenic activities. They contain various mineral and organic phases that are associated to metals and organic pollutants. Microbial activity plays a major role in the biogeochemical cycles of these compounds by the microorganism-mineral-organic matter interactions. The impact of organic matter (OM) biodegradation on the fate of metals and polycyclic aromatic hydrocarbons (PAH) was studied in two contrasting continental systems: a New Caledonia Ferralsol and a Lorraine river sediment.

Incubation experiments were used to follow and quantify the microbial activity, and to define the mechanisms involved in pollutant evolution during OM biodegradation. The linkage between carbon and metal cycling was studied in detail.

The results show that the nature of OM and the quantity of electron acceptors available in the medium control aerobic and anaerobic microbial activity. Under aerobiosis, OM biodegradation results in the carbonate and sulfide dissolution. Bacterial reduction of Fe and Mn induces the release of associated metals, particularly when microbial activity is stimulated by the input of an readily available organic substrate. Sulfate reduction leads to the precipitation of some metals. A metal redistribution occurs in the solid phase during microbial weathering to the most labile compartments. In the sediment, microbial activity leads to a dissipation of PAH under aerobiosis and to a lesser extent under anaerobiosis.

Keywords: biodegradation, organic matter, minerals, metals, polycyclic aromatic hydrocarbons, microbial activity, soil, river sediment