

nated soil : comparison between batch and unsaturated columns studies. *Journal of Contaminant Hydrology*, 42, 99-111.

Perrodin, Y., Méhu, J., Grelier-Volatiér, L., Charbonnier, P., Baranger, P. and Thoraval, L. *Methodological approach towards the definition of new storage conditions for inert wastes*. *Waste Management (International Journal of Industrial, Hazardous and Radioactive Waste Management, Science and Technology)*, N°22/2 (2001), 229-234.

Porebski L.M., Doe K.G., Zajdlík B.A., Lee D., Pocklington P. and Osborne J.M. 1999. *Evaluating the techniques for a tiered testing approach to dredged sediment assessment - a study over a metal concentration gradient*. *Environ. Toxicol. Chem.*, 18, 2600-2610.

Riviere J. L. (1998). *Évaluation des risques écologiques des sols pollués*. Association Record. Lavoisier, Tec & Doc, Paris, 230 p.

Singh N.P., McCoy M.T., Tice R.R. and Schneider E.L. (1988). *A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells*. *Experimental Cell Research* 175, 184-191.

Shugart L.R. and Theodorakis C. (1996). *Genetic ecotoxicology: the genotypic diversity approach*. *Comp. Biochem. Physiol.*, 113C, 273-276.

Theodorakis C.W. 2001. *Integration of genotoxic and population genetic endpoints in biomonitoring and risk assessment*. *Ecotoxicology*, 10, 245-256.

Tice R.R., Agurell E., Anderson D., Burlinson B., Hartmann A., Kobayashi H., Miyamae Y., Rojas E., Ryu J.-C. and Sasaki Y. F. (2000). *Single cell gel/comet assay: guidelines for in vitro and in vivo genetic toxicology testing*. *Environ. Molec. Mutagen.*, 35, 206-221.

US-EPA, USACE, 1994. *Evaluation of dredged material proposed for discharge in waters of the United States*. Testing Manual (Draft) Report. U.S. Environment Protection Agency, US Army Corps of Engineers., Duluth, USA, EPA-823/B-94/002, 172.

US-EPA, USACE, 1998a. *Evaluation of dredged material proposed for discharge in waters of the United States*. Testing manual Report. U.S. Environment Protection Agency - U.S. Army Corps of Engineers, Washington, D.C., USA, EPA-823/B-98/004.

US-EPA, USACE, 1998b. *Great Lakes dredged material testing and evaluation manual*. Report. U.S. Environmental Protection Agency / U.S. Army Corps of Engineers, 62.

Würgler F.E. and Kramers P.G.N. (1992). *Environmental effects of genotoxins (ecogenotoxicology)*. *Mutagenesis*, 7, 321-327.

CARACTÉRISATION DE LA MATIÈRE ORGANIQUE NATURELLE ET DE SON ÉVOLUTION DANS LES SOLS ET LES SÉDIMENTS À L'AIDE DU COUPLAGE US/UV

Junqua G., Touraud E., Thomas O.

Laboratoire Génie de l'environnement industriel, Ecole des Mines d'Alès

La matière organique naturelle présente dans les sols et les sédiments subit des transformations, essentiellement par voie biologique, qui sont susceptibles d'avoir un impact sur la qualité des eaux de surface ou souterraines. Une caractérisation globale de cette matière organique naturelle est proposée à l'aide du couplage US/UV consistant en une extraction sélective par solvant, assistée par ultrasons, suivie d'une détection par spectrophotométrie UV-Visible. Les échantillons étudiés sont des humus de résineux et de feuillus, une tourbe et des sédiments provenant d'un marais. Un indice d'oxydation et un indice d'humification, calculés à partir de l'exploitation de la longueur d'onde du spectre UV-Visible des différents extraits aqueux et alcalins, respectivement A_{220nm} / A_{280nm} et A_{465nm} / A_{665nm} , permettent d'estimer le degré d'évolution de la matière organique par minéralisation et/ou humification.

Natural organic matter in soils and sediments is transformed mainly by biological processes which may have an impact on surface and groundwater quality. A global characterization of this organic matter is proposed with the use of UV-Visible spectrophotometry after selective solvent extraction. Studied samples are pine and leafy humus, peat and sediments coming from a marsh. Oxidation index and humification index, calculated from UV-Visible spectra exploitation, respectively A_{220nm} / A_{280nm} and A_{465nm} / A_{665nm}

allow to estimate the evolution level of organic matter by mineralization and/or humification.

INTRODUCTION

La matière organique naturelle résulte de cycles biogéochimiques naturels, en particulier celui du carbone. Les végétaux transforment généralement le dioxyde de carbone de l'atmosphère en matériau organique par synthèse chlorophyllienne. Des organismes plus évolués élaborent ensuite d'autres molécules biologiques (carbohydrates, lipides, protéines, lignines, tanins, vitamines). À leur mort, ces molécules sont dégradées essentiellement par voie biologique (bactéries, champignons...), mais aussi chimique (oxydation) en molécules plus simples et en minéraux [Mustin, 1987, Sigg et al, 1992, Kögel Knabner, 2002]. Néanmoins, une partie échappe à ce recyclage et, selon les conditions du milieu, ces molécules se recombinaient pour créer des entités plus complexes connues sous le nom de substances humiques [Thurman, 1985, Stevenson, 1994, Duhaufour, 1997]. En terme d'impact environnemental, la minéralisation des molécules permet la production de nutriments (azote, phosphore) qui ont un rôle positif sur l'activité bactérienne des sols et sur la croissance des végétaux. Ceci peut ainsi favoriser la dégradation de certains polluants par des micro-organismes ou

leur fixation par des végétaux. De plus, les substances humiques formées par humification sont capables de fixer dans le sol certains polluants organiques ou métalliques dans les sols, limitant ainsi leur diffusion [Stevenson, 1994].

Cependant, un excédent de nutriments est susceptible d'être lessivé et d'influencer la qualité des eaux souterraines et de rivière [Robert, 1996], conduisant en particulier à des phénomènes d'eutrophisation. De plus, les substances humiques présentes dans l'eau peuvent influencer les procédés de potabilisation de l'eau [Cardot et al, 2001].

Ainsi, une meilleure connaissance de la matière organique naturelle et/ou anthropique et de son évolution dans des matrices solides est nécessaire, en particulier en estimant les degrés de minéralisation et d'humification de cette matière organique. Cette approche pourrait ainsi permettre le suivi temporel de traitements de valorisation de déchets tels que le compostage (estimation de la maturité) ou de traitements de décontamination de sols incluant l'atténuation naturelle (estimation de la qualité d'un sol après décontamination).

Les protocoles actuels de caractérisation de la matière organique dans les matrices solides sont souvent inadaptés au terrain. Ils mettent en œuvre des techniques d'extraction longues (méthodes à reflux, Soxhlet). De nouveaux procédés (Soxtec, ASE, microondes, SFE) ont permis de réduire le temps d'extraction et le volume de solvant utilisé ainsi que de traiter plusieurs échantillons simultanément. Cependant, l'appareillage utilisé est souvent onéreux et complexe, nécessitant une main d'œuvre qualifiée [Afnor, 1994, Pansu et al, 1998, Kögel Knabner, 2000]. Par ailleurs, les techniques de détection couramment utilisées (RMN, pyrolyse, CPG, analyse isotopique) peuvent être longues et onéreuses. En outre, elles ne caractérisent souvent que des familles (fonctions chimiques par IR, RMN) ou des composés spécifiques (CPG) [Afnor, 1994, Pansu et al, 1998].

C'est pourquoi une méthodologie de caractérisation globale de la matière organique dans les sols, facilement transposable sur le terrain et utilisant le couplage US/UV a été développée. Des mesures non paramétriques [Baurès et al, 2002], basées sur l'exploitation des spectres UV-Visible sont également proposées pour caractériser l'évolution de cette matière organique naturelle.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Afin de caractériser la matière organique et son évolution, différents matériaux naturels (humus, tourbe, terre) ont été étudiés. Des extractions à l'eau et avec une solution aqueuse de soude 0,1 N ont été menées. La solution basique extrait préférentiellement les substances humiques. L'eau, solvant très polaire, solubilise les composés de type phénols, acides carboxyliques, sucres. La figure 1 présente la méthodologie développée.

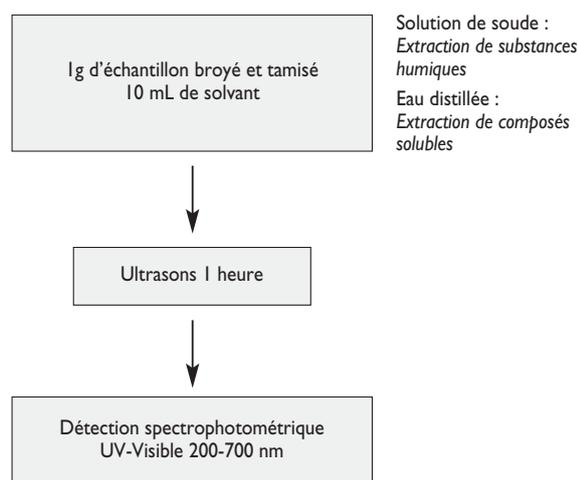


Figure 1 : Méthodologie de caractérisation de la matière organique des sols

Préparation des échantillons

Les échantillons, préalablement séchés à l'air et tamisés à 2 mm (norme de tamisage : NF X 11 501), sont broyés avec un pilon en porcelaine. Les échantillons broyés sont ensuite tamisés à 500 µm par un tamis Fischer Scientific inox, maille 0,5 mm (NF X 11 504).

Extraction par solvant

L'appareillage d'extraction choisi est un bain à ultrasons Branson 2210 (Branson, 47 kHz, 70 W). Les dimensions de la cuve (240*140*100 mm) permettent le traitement de 8 à 10 échantillons simultanément (flacons de verre bouchés de 60 mL).

Le système de filtration, permettant la séparation de la phase solide et de la phase liquide est un module de filtration Wheaton, avec des filtres GF/C Whatman préalablement lavés trois fois à l'eau bipermutée.

Détection par spectrophotométrie UV-Visible

La détection s'effectue par spectrophotométrie UV-Visible, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Visible Anthélie Junior, avec une bande passante de 5 nm et une vitesse de balayage de 1800 nm.min⁻¹, et dans une fenêtre de 200 à 700 nm. Le trajet optique de la cuve est de 10 mm.

Echantillons étudiés

Ont été prélevés :

- des échantillons issus de basse montagne (1 000 m), sur la commune de Sarrancolin (Hautes Pyrénées). La végétation est de deux types, une végétation de résineux (épicéas) et une végétation de feuillus (hêtres). Les prélèvements ont été effectués en surface (humus sapinière et humus hêtraie) et à 30 cm de profondeur (terre sous sapinière),
- un échantillon de tourbe d'Irlande.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Indice d'oxydation

Les spectres UV-Visible des extraits aqueux des échantillons étudiés sont regroupés dans la figure 2. A l'exception de l'humus sapinière pour lequel on note un épaulement marqué à 280 nm, ces spectres sont globalement peu structurés.

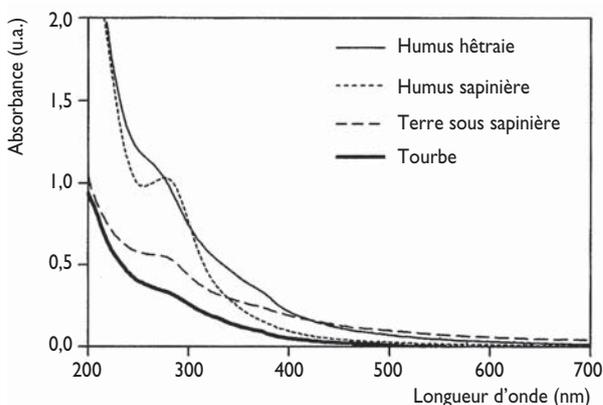
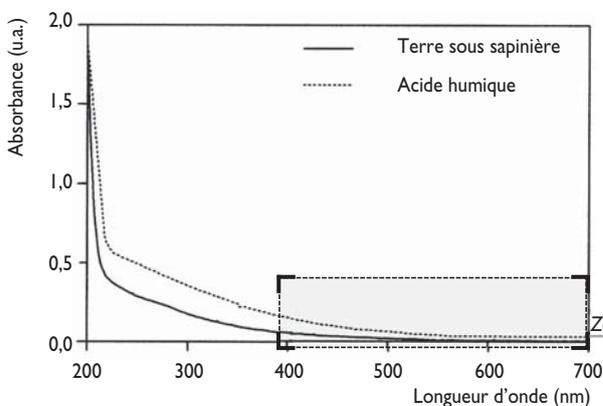


Figure 2 : Spectres UV-Visible des extraits aqueux d'humus, de tourbe et de terre (eau, trajet optique : 10 mm)

L'absorbance à 280 nm a été choisie pour estimer un indice d'aromaticité de la matière organique. Les produits d'oxydation, molécules de plus petite taille, résultent essentiellement de l'ouverture des cycles aromatiques. De nature organique (petits acides carboxyliques, ...) ou minérale (ion nitrate, ...) ils absorbent en début de spectre. Le ratio d'absorbance $A_{220\text{nm}} / A_{280\text{nm}}$ a été considéré comme un indice d'oxydation susceptible de renseigner sur le processus de minéralisation de la matière organique. Pour les sols étudiés, il a été calculé et reporté dans le tableau 1. Cet indice est sensiblement plus élevé pour l'humus hêtre et la tourbe. Pour la terre sous sapinière, il est voisin de celui de l'acide humique de synthèse.



Echantillon	$A_{220\text{nm}} / A_{280\text{nm}}$
Humus hêtre	1,93
Humus sapinière	1,64
Tourbe	1,90
Terre sous sapinière	1,41
Acide humique	1,44

Indice d'humification

Les acides humiques et les acides fulviques absorbent à 465 nm alors que seuls les acides humiques absorbent à 665 nm. Le ratio d'absorbance $A_{465\text{nm}} / A_{665\text{nm}}$, considéré comme un indice d'humification [Chen et al., 1977, Orlov, 1986, Stevenson, 1994] a été mesuré sur les extraits à la soude pour les échantillons étudiés. Il est donné dans le tableau 2.

Il indique que le taux d'humification est plus avancé pour la terre que pour les humus, et, au sein des humus, sensiblement plus avancé pour les feuillus par rapport aux résineux. Le spectre UV-Visible de l'extrait à la soude de la terre, proche de celui de l'acide humique de synthèse corrobore cette observation (figure 3). La dilution préalable de l'extrait est adaptée à une mesure d'absorbance significative aux longueurs d'onde étudiées.

Les deux mesures non paramétriques que constituent les indices d'oxydation et d'humification apparaissent donc comme des outils simples de caractérisation du degré d'évolution (minéralisation / humification) de la matière organique dans les sols naturels. Ils permettent d'estimer le degré de maturité de la matière organique naturelle qui sera susceptible de fixer ou non des composés organiques ou minéraux [Schnitzer, 1978].

Application à des sédiments

Des échantillons de sédiments, référencés de 1 à 6 selon leur lieu de collecte, ont été prélevés dans une zone humide de l'estuaire de la Seine, le Marais Vernier. Les annexes convergent vers la Grand-Mare qui est reliée à la Seine par un canal localisé au nord du schéma

Tableau 2 : Indice d'humidification A_{465nm} / A_{665nm}

Echantillon	A_{465nm} / A_{665nm}
Humus hêtre	7,05
Humus sapinière	8,26
Tourbe	8,60
Terre sous sapinière	5,24
Acide humique	2,04

(figure 4). Les échantillons 1, 2 et 3 sont situés dans une zone d'accumulation de la matière organique alors que les échantillons 4, 5 et 6 sont localisés dans un milieu bien oxygéné, propice à une transformation rapide de la matière organique.

La méthodologie de caractérisation de la matière organique présentée dans la figure 1 a été appliquée à ces échantillons de sédiments. Les spectres UV-Visible des extraits aqueux et des extraits à la soude sont présentés respectivement dans les figures 5 et 6. D'un point de vue qualitatif, on peut noter des différences d'allure de spectres entre les deux groupes 1, 2, 3 et 4, 5, 6 témoignant de conditions environnementales différentes.

Les indices d'oxydation et d'humification ont été calculés pour chacun des échantillons de sédiments et sont reportés dans le tableau 3.

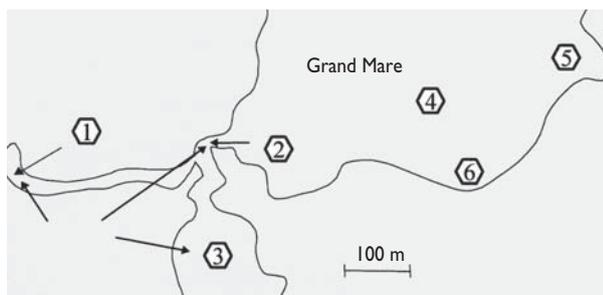
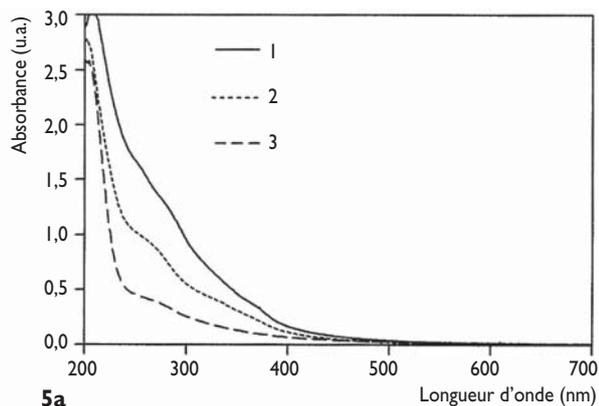
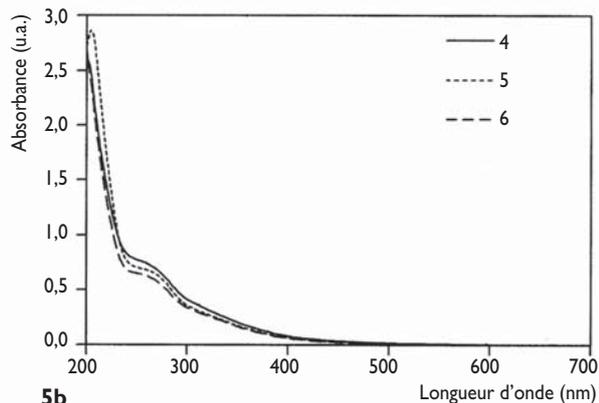
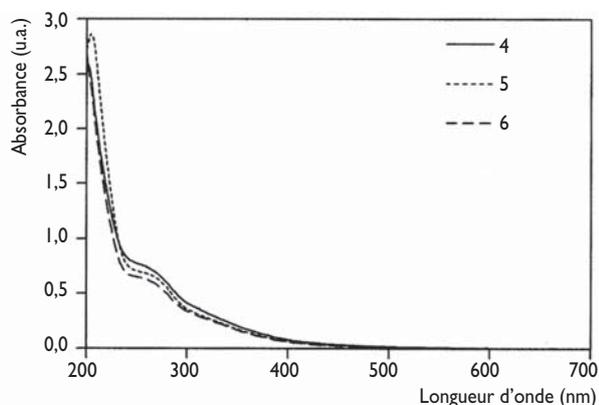
Tableau 3 : Indices d'oxydation A_{220nm} / A_{280nm} et d'humification A_{465nm} / A_{665nm} des sédiments

Sédiments	A_{220nm} / A_{280nm}	A_{465nm} / A_{665nm}
1	2,02	16
2	2,38	17
3	4,01	21
4	2,42	10
5	3,08	11
6	2,64	12

Les indices d'oxydation des sédiments sont du même ordre de grandeur pour les 2 groupes (à l'exception de l'échantillon 3) et légèrement supérieurs à ceux trouvés pour les sols, ce qui laisse penser que le processus de minéralisation est relativement avancé au sein des sédiments étudiés. L'indice d'humification, lui, différencie de manière nette les 2 familles mettant en évidence une humification plus poussée pour les échantillons 4, 5, 6. Cependant, ces valeurs sont nettement plus élevées que celles obtenues pour les sols naturels, ce qui correspond à un degré d'humification assez faible.

CONCLUSION

La méthodologie proposée, basée sur le couplage US/UV, permet de caractériser de manière globale la matière organique des sols et son degré d'évolution. Ainsi, deux indices, l'indice d'oxydation (A_{220nm} / A_{280nm}) et l'indice d'humification (A_{465nm} / A_{665nm}) sont proposés.

**Figure 4 : Stations de prélèvements de la zone humide du marais Vernier****5a****5b****Figures 5 : Spectres UV-Visible des extraits aqueux des sédiments du Marais Vernier****Figure 6 : Spectres UV-Visible des extraits à la soude des sédiments du Marais Vernier**

Ils sont susceptibles de renseigner sur l'avancement des processus de minéralisation et d'humification de la matière organique naturelle d'un sol.

Ces informations, obtenues de manière simple et rapide, participent à l'estimation de la qualité d'un milieu naturel. Cette méthodologie devra être appliquée à des sols d'origine différente ainsi qu'à d'autres zones sensibles afin d'être totalement validée et intégrée au sein d'un kit de terrain.

Ces outils pourraient également être utilisés pour discriminer d'un point de vue qualitatif (nature et intensité d'absorbance, structuration du spectre UV-Visible) la matière organique naturelle et la matière organique anthropique. Les indices d'oxydation et d'humification pourraient être appliqués au suivi de traitements de décontamination (traitement en biopiles, ...) ou de valorisation (compostage avec des déchets verts, ...) de terres contaminées, par exemple, par une pollution hydrocarbonée.

En outre, ces outils apparaissent comme susceptibles d'apporter une réponse adéquate à la nouvelle politique de protection des sols de l'Union européenne : en effet, cette protection passe en particulier par la proposition d'outils de contrôle et de gestion des sols et notamment de sa matière organique.

Junqua G., Touraud E., Thomas O.

Laboratoire génie de l'environnement industriel, École des Mines d'Alès
6, avenue de Clavières, 30100 Alès. Evelyne.Touraud@ema.fr

Bibliographie

- Afnor, 1994 : *Qualité des sols, Recueil des Normes Françaises* - Paris, Afnor, 1994, 249 pages
- Baures E., Pouet M-F., Dupuit E., Thomas O., 2002 : *Du concept à l'application de la mesure environnementale non paramétrique : exemple de l'étude d'un réseau d'assainissement industriel* - Déchets, Sciences et Techniques, 25, 28-34
- Cardot C., Lafarge P., Ortega N., Portes G., Vincent D., 2001 : *Génie de l'Environnement, Techniques appliquées au traitement de l'eau, hydraulique, électrotechnique, procédés de traitement, Résumé de cours et problèmes résolus* - Editions Ellipses, Collection Technosup, 248 pages
- Chen Y., Senesi N., Schnitzer M., 1977 : *Information provided on humic substances by E4/E6 ratios* - Soil Sci. Soc. Am. J., 41, 352-358
- Duchaufour P., 1997 : *Abrégé de Pédologie*, 5^e édition - Paris, Editions Masson, 291 pages
- Kögel-Knabner I., 2000 : *Analytical approaches for characterizing soil organic matter* - Organic Geochemistry, 31, 609-625
- Kögel Knabner I., 2002 : *The macromolecular organic composition of plant and microbial residues as inputs to soil organic matter* - Soil Biology and Biochemistry, 34, 139-162
- Pansu M., Gautheyrou J., Loyer J.-Y., 1998 : *L'analyse du sol : échantillonnage, instrumentation et contrôle* - Paris, Editions Masson, 497 pages
- Mustin M., 1987 : *Le compost (gestion de la matière organique)* - Editions Lavoisier, Paris, 954 pages
- Robert M., 1996 : *Le sol : interface dans l'environnement, ressource pour le développement* - Paris Milan Barcelone, Editions Masson, 244 pages
- Schnitzer M., 1978 : *Humic substances : Chemistry and reactions, Soil Organic Matter*. Schnitzer M., Khan S.U. Editors - Amsterdam, Elsevier, 1-58 (Developments in Soil Science)
- Sigg L., Stumm W., Behra P., 1992 : *Chimie des Milieux aquatiques. Chimie des eaux naturelles et des Interfaces dans l'Environnement* - Paris, Editions Masson, 391 pages
- Stevenson F.J., 1994 : *Humus Chemistry. Genese, Composition, Reactions*. Second Edition - New York, John Wiley & Sons, INC, 496 pages
- Thurman E.M., 1985 : *Organic geochemistry of natural waters* - M. Nijhoff et W. Junk Publishers, Dordrecht, 497 pages