

Chapitre II : Matériels et méthodes

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 bidistillée. Les réactifs utilisés sont de qualité analytique compatible avec l'analyse des métaux traces. L'ensemble du matériel (verrerie, flacons ...) est systématiquement décontaminé au moyen d'acide nitrique à 10 %, afin d'éviter toute contamination.

II-1- Origine des échantillons

II-1-1- Sol de Bab EL ASSA (B)

Le premier échantillon sélectionné pour cette étude est un sol provenant d'un site localisé sur la route nationale N° 07, à proximité d'une station naftal « Bouaisame » de la ville Bab El Assa, sur la rive west d'oued Malha, à 100 mètres environ (fig. 8), et de 2 Km environ de la ville de Bab El Assa. Supporte un trafic moyen journalier de l'ordre de 24768 véhicules pour l'ensemble des deux sens de circulation.

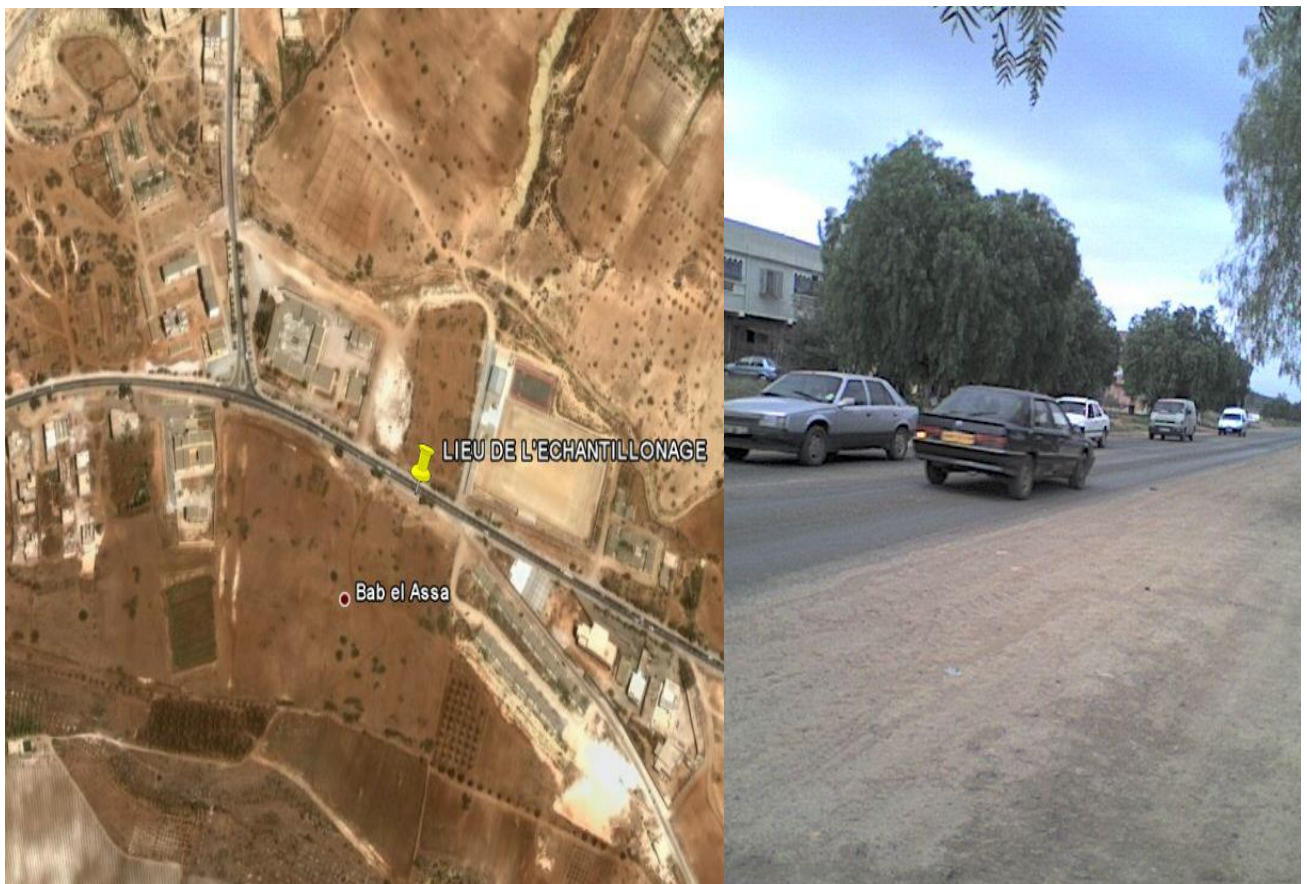


Figure 8 : Lieu d'échantillonnage pour le sol de Bab El Assa (B).

Les sols (M et B) ont été prélevés à 0,5 m du bord de la chaussée. Trois prélèvements élémentaires de la couche de surface (0-2 cm) ont été effectués à 5 mètres d'intervalle à l'aide d'une pelle en acier inoxydable.

Ils ont été mélangés pour constituer un échantillon moyen représentatif du sol en place. Puis, les échantillons ont été stockés dans des sacs en polyéthylène et les conservés avant préparation pour analyses selon les normes françaises [90].

II-1-2- Sol de Maghnia (M)

Le deuxième échantillon sélectionné pour cette étude est un sol provenant d'un site localisé sur la route nationale N° 35, à proximité de la ville de Maghnia, sur la rive west d'oued Ouerdeffou, à environ 320 m mètres de la station d'épuration (fig. 7), et de 3 Km environ de la ville de Maghnia. Ce site (M) supporte un trafic moyen journalier de l'ordre de 24960 véhicules pour l'ensemble des deux sens de circulation.



Figure 7 : Lieu d'échantillonnage pour le sol de Maghnia (M).

II-2- Caractérisation physico-chimique des échantillons

Un travail de caractérisation a été effectué en utilisant des protocoles normalisés par l'AFNOR (pH, humidité, masse volumique, ...) et des protocoles issus de la littérature [91]. Le but de cette caractérisation est d'approfondir la connaissance du milieu ainsi que de ses constituants afin de faciliter une plus correcte interprétation des résultats.

L'analyse en laboratoire des éléments métalliques dans les sols nécessite une phase de préparation de l'échantillon (séchage, tamisage, etc.).

II-2-1- Granulométrie

L'analyse granulométrique a pour but de caractériser la distribution de tailles des particules du sol. En effet, la taille des particules a une influence sur de nombreuses caractéristiques du sol (surface spécifique, perméabilité...) et donc sur le comportement des polluants par les phénomènes d'infiltration et de rétention des éléments traces métalliques.

a- Préparation des échantillons

L'objectif de la préparation de l'échantillon avant analyse est d'obtenir un échantillon représentatif dans lequel la concentration en polluants est aussi proche que celle présente dans le sol. C'est souvent l'étape la plus longue et celle qui génère le plus de sources d'erreur dans la chaîne analytique. Elle comprend :

a-1- Le séchage : à une température compatible avec les caractéristiques des composants recherchés. Pour les métaux, le séchage des échantillons de sol est le plus souvent réalisé à l'air libre, puis à l'étuve à une température inférieure à 40°C.

a-2- Le quartage : L'échantillon est divisé en quatre parties égales dont on ne retient que la moitié en réunissant deux quarts opposés. Cette sélection est homogénéisée et un nouveau quartage est effectué, l'opération pouvant se répéter trois ou quatre fois. On obtient ainsi un échantillon représentatif du matériau initial (fig. 9).

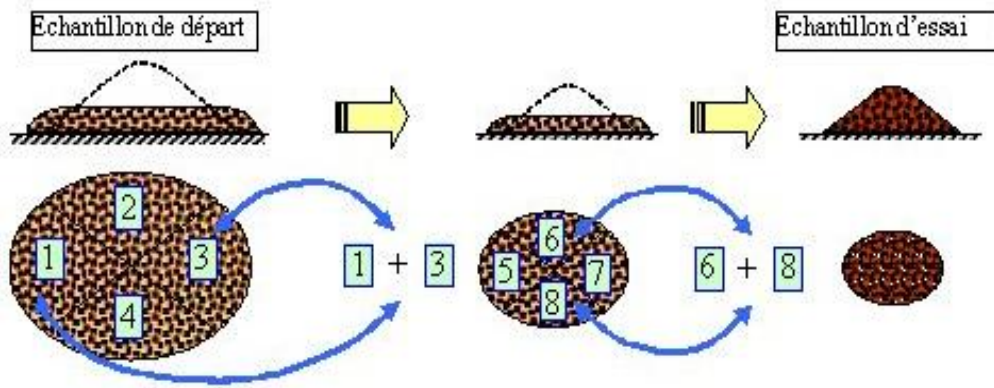


Figure 9 : Opération de quartage.

a-3- Le tamisage : Pour éventuellement éliminer les gros fragments solides qui ne sont habituellement pas considérés comme faisant partie du sol. La fraction conservée pour analyse est généralement celle inférieure à 2 mm [92].

Le tamisage par voie sèche pour les sols dont les éléments sont supérieurs à 80 µm et par sédimentation pour les éléments inférieurs ou égaux à 80µm.

L'analyse granulométrique du sol jusqu'au diamètre de 80 µm se fait en utilisant une série de tamis (fig. 10).



Figure 10 : Refus dans les différents tamis.

L'analyse granulométrique du sol pour les particules de sol inférieures ou égales à 80 µm se fait par sédimentation.

La méthode utilise le fait que dans un milieu liquide au repos, la vitesse de décantation des particules fines est fonction de leur dimension. C'est une hypothèse forte puisque les particules d'argile se présentent sous forme de plaquettes et non pas sous forme de grains sphériques.

- La texture du sol est déterminée selon le diagramme des textures (fig. 11).

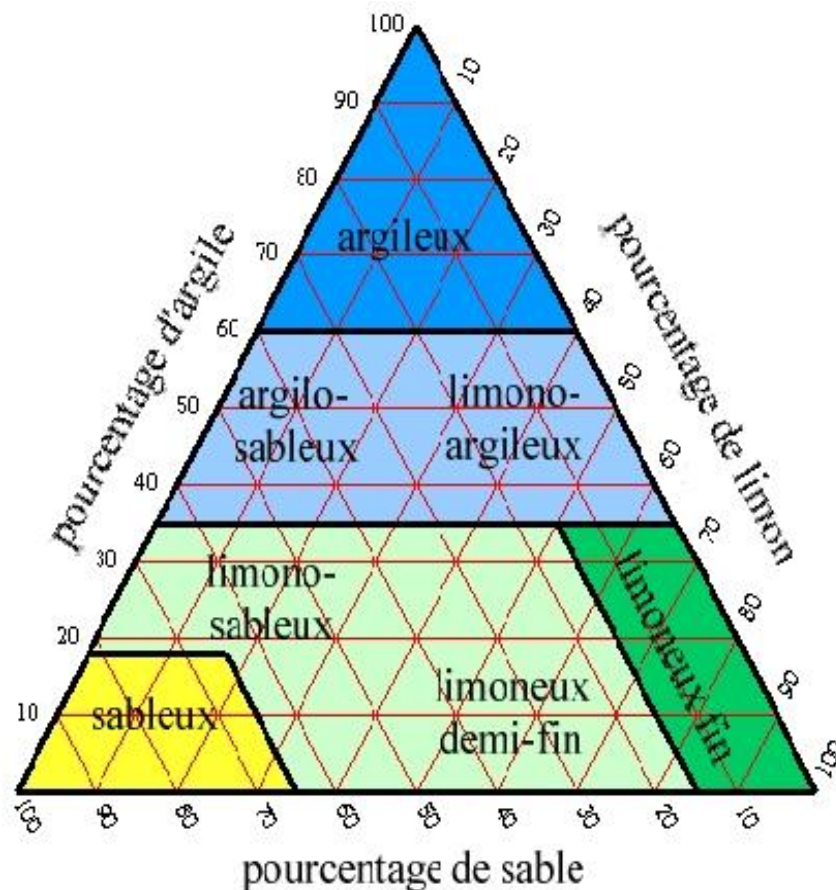


Figure 11 : Le diagramme de texture du sol.

II-2-2- Acidité du sol

a- pH : Le pH fait partie d'une des plus importantes caractéristiques physico-chimiques des sols, car la spéciation, et donc la mobilité et la biodisponibilité des éléments traces métalliques sont liées à sa valeur.

Le pH est défini par la relation :

$$\text{pH} = - \log a_{H^+}$$

a-1- pH_{eau}, pH_{KCl}, et pH_{CaCl2}

Les mesures de pH_{eau} et pH_{KCl} sont effectuées selon AFNOR [91].

- Principe

La mesure du pH s'effectue sur une suspension de terre fine.

Le pH_{eau} mesure l'acidité réelle et prend en compte les ions H₃O⁺ libres dans la solution du sol.

Le pH_{KCl} mesure l'acidité potentielle qui prend en compte les ions H₃O⁺ libres dans la solution du sol et ceux déplacés par le KCl ou CaCl₂.

- Mode opératoire

10 g de sol sont mis en suspension dans 25 mL d'eau distillée / ou de chlorure de potassium KCl (1 mol.L⁻¹) / ou de chlorure de calcium CaCl₂ (0.01M), agités pendant 1 heure sur une plaque d'agitation de type orbital (Magnetic Stirrer with hot plate - 150 tr.mn⁻¹), puis laissés au repos pendant 2 heures.

Le pH est ensuite mesuré à l'aide d'un pH-mètre de type RADIOMETER M 220.

II-2-3- Humidité résiduelle

L'humidité résiduelle est définie comme la masse perdue après séchage à 105 °C d'un échantillon dont la masse est constante à 40 °C. Sa mesure permet de déterminer la masse sèche d'un échantillon du sol. La méthode de détermination est normalisée par AFNOR.

L'humidité résiduelle H est exprimée en pourcentage massique et elle est calculée par la relation suivante :

$$H = 100 * (m_1 / m_0)$$

m₀ : étant la masse initiale d'échantillon séché à 40 °C et m₁ sa masse finale, après séchage à 105 °C et refroidissement.

II-2-4- La surface spécifique totale (SST)

Pour identifier la fraction argileuse, des essais simples ont été développés :

- l'essai au bleu de méthylène VBS, essai nouveau, utilisable pour les sols grenus et les sols fins, mesure l'argilosité globale du sol.

L'influence de l'argile sur le comportement des sols dépend de sa proportion dans l'échantillon mais aussi de sa nature minéralogique. Un bon essai doit répondre à ces deux critères :

- la grandeur mesurée doit être proportionnelle à la quantité d'argile du sol,
- la grandeur mesurée, pour une quantité d'argile donnée, doit caractériser la nature des argiles.

II-2-5- Activité argileuse (Valeur au bleu VBS)

Elle est d'usage courant en géotechnique pour évaluer la fraction argileuse d'un sol ou d'un granulat, mais également dans l'industrie des bentonites. Le résultat de l'essai dépend directement de la nature minéralogique des argiles et de leur quantité dans le sol. Cette mesure permet d'évaluer rapidement l'activité colloïdale des matériaux argileux. La quantité de bleu de méthylène adsorbé par un échantillon augmente lorsque sa surface spécifique augmente.

La valeur de bleu de méthylène VBS représente la quantité de bleu de méthylène pouvant s'adsorber sur les surfaces externes et internes des particules de sol. Etant donné que dans un sol c'est avant tout, la surface spécifique des particules argileuses qui détermine sa surface spécifique totale, on peut considérer que la VBS exprime globalement la quantité et l'activité de l'argile contenue dans ce sol.

La VBS se détermine à partir de l'essai au bleu de méthylène à la tache sur la fraction 0/5 mm. Le dosage s'effectue en ajoutant successivement différentes quantités de bleu de méthylène. A chaque ajout on contrôle l'adsorption en prélevant une goutte de la suspension que l'on dépose sur un papier filtre normalisé pour faire une tache.

La valeur du bleu du sol est :

$$\mathbf{VBS = V / M}$$

Avec :

V : volume du bleu ajouté en cm³.

M : la prise d'essai.

La surface spécifique totale (SST) de la prise d'essai est donnée par la relation suivante :

$$\mathbf{SST (m^2.g^{-1}) = 20.93 * VBS}$$

L'adsorption maximale est atteinte quand une auréole bleu clair se produit à la périphérie de la tache (Fig. 12).

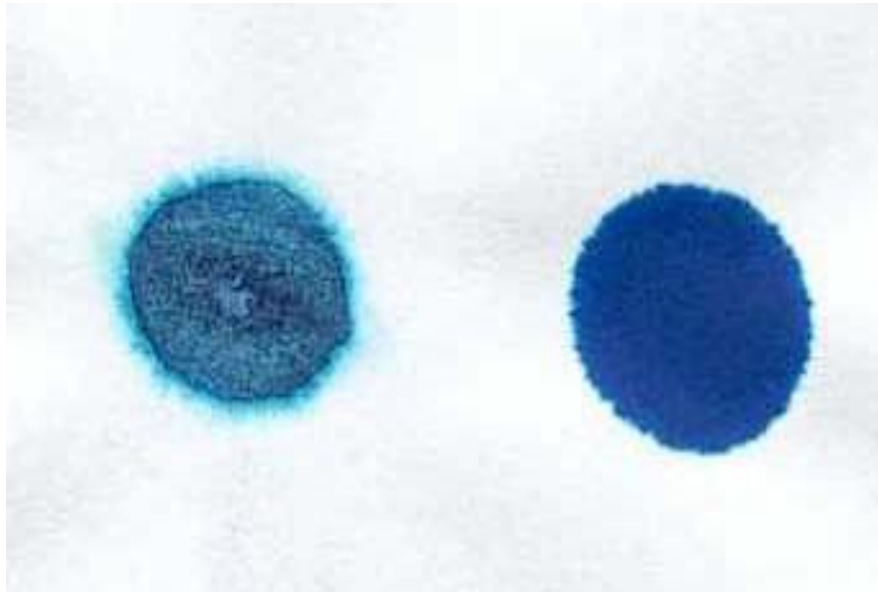


Figure 12 : Essai au bleu de méthylène.

II-2-6- Détermination de la densité des grains solides (argilosité)

L'objet de la manipulation est la détermination de la masse volumique, du poids volumique ou la densité des grains solides.

Cette manipulation utilise le principe du pycnomètre. Ce procédé consiste à peser un pycnomètre vide, puis rempli d'eau et contenant en même temps une certaine quantité du sol. Par comparaison avec la densité de l'eau, on arrive à déterminer la densité des grains formant le sol.

Il faut quatre (4) pesées :

- pesée du pycnomètre vide : m_1
- pesée du pycnomètre contenant le sol préalablement séché : m_2
- le pycnomètre contenant le sol et remplie d'eau jusqu'à la graduation 250 cm^3 , et le placer le tous sur la plaque chauffante jusqu'à l'ébullition, le refroidir, puis peser le pycnomètre de nouveau : m_3 .
- pesée du pycnomètre contenant uniquement l'eau jusqu'à la graduation 250 cm^3 : m_4 .

La densité des grains solides du sol est donnée par :

$$d = (\rho_s / \rho_w) = (m_2 - m_1) / (m_4 - m_1 - m_3 + m_2)$$

ρ_s : masse volumique du sol.

ρ_w : la masse volumique d'eau.

II-2-7- Masse volumique des granulats

La masse volumique vraie est définie comme le rapport entre la masse et le volume du solide réel [93].

La masse volumique ou masse volumique apparente est la masse d'un corps par unité de volume totale y compris les vides entre les grains de ce corps (volume apparent).

La masse spécifique ou masse volumique absolue est la masse d'un corps par unité de volume de matière pleine sans aucun vide entre les grains (volume absolu).

a- Masses volumiques apparentes

- Prendre le granulat dans les deux mains formant un entonnoir,
- Placer les deux mains à 10 cm environ au dessus d'une mesure d'un litre ($V_{app} = 1 \text{ l}$) et laisser tomber ce granulat, ni trop vite, ni trop lentement,
- Verser le granulat au centre de la mesure jusqu'à ce qu'il déborde en formant un cône,
- Araser à la règle,
- Peser le contenu, soit M.

La masse volumique apparente est donnée par :

$$\rho_{app} = M / V_{app}$$

b- Masses volumiques absolues (Méthode de l'éprouvette graduée)

- Principe

C'est une méthode simple, rapide et qui utilise un matériel simple. Mais son inconvénient est qu'elle n'est pas très précise.

- mode opératoire

Mettre dans une éprouvette graduée un volume V_1 d'eau. Peser une masse M du corps

(300 g) et l'introduire dans l'éprouvette. Bien éliminer les bulles d'air, noter le volume V_2 .

Le volume absolu recherché est :

$$V_{\text{abs}} = V_2 - V_1$$

La masse volumique absolue est :

$$\rho_{\text{app}} = M / V_{\text{abs}}$$

II-2-8- Détermination de la teneur en carbonate (Méthode du calcimètre)

La teneur massique en carbonates d'un sol (ou roche) est, par convention, le rapport entre la masse de carbonate CaCO_3 contenue dans le sol (ou roche) et la masse du sol sec (ou roche sèche). La détermination se fait par décomposition du carbonate de calcium contenu dans le sol (la roche) par l'acide chlorhydrique. L'essai se réalise au calcimètre BERNARD avec support (Ref : 545-023. DAL TALAB. 38340 VOREPPE – France.).

- Principe

La mesure du dioxyde de carbone produite par action de l'acide chlorhydrique sur une masse de terre connue (1 g) permettra la détermination de la masse de calcaire ayant réagi et donc la teneur en calcaire de l'échantillon analysé.



Soit M la masse de calcaire ayant réagi :

À 20 °C :

$$M = 1.226 * 10^{-3} * V_p$$

La teneur en calcaire du sol (échantillon de 1 g) :

$$C = M * 100$$

II-2-9- La conductivité et la salinité

La conductivité varie en fonction de la température. Elle est reliée à la concentration et à la nature des substances dissoutes. En général, les sels minéraux sont de bons conducteurs par opposition à la matière organique et colloïdale, qui conduit peu.

La conductivité d'une solution est la mesure de la capacité des ions à transporter le courant électrique. Ce passage du courant électrique s'effectue par la migration des ions dans un champ électrique produit par un courant alternatif.

- La conductivité d'une solution est définie comme l'inverse de la résistance d'un volume de 1,0 cm³ de solution. Sa mesure s'effectue par l'utilisation d'une cellule de conductivité couplée à un conductimètre et la conductivité s'exprime en $\mu\text{S}/\text{cm}$.

- La salinité est la quantité en grammes de sels dans un kilo d'eau. La seule méthode fiable pour mesurer la salinité est d'évaporer l'eau et de mesurer le poids des sels restants. On mesure les sels avec un conductimètre. A pour unité les ppt (parts per thousand, ou parts pour mille). La salinité est indépendante de la température.

- Mode opératoire

- Calibrer le conductimètre.

- Plonger la cellule de conductivité et la sonde de température après le rinçage dans les solutions qui doivent être analysées.

- Noter la température à laquelle la lecture est prise.

Le conductimètre possède une sonde de température qui corrige la conductivité à 18 °C, les résultats sont lus directement sur le cadran.

II-3- Caractérisation de la pollution métalliques des sols B et M

La connaissance des teneurs totales en métaux est insuffisante pour évaluer les risques : la disponibilité, la mobilité et le devenir à long terme des polluants métalliques dépendent des formes physico-chimiques sous lesquelles ils sont associés avec les particules de sol [94].

A l'heure actuelle, l'information disponible sur ces aspects est faible : de nombreuses études ont déterminé les teneurs totales en polluants traces des sols en milieu routier, mais peu ont évalué le risque environnemental potentiel. Pour disposer d'éléments de réponse sur ces points, des méthodes chimiques de spéciation fonctionnelle ou opérationnelle sont utilisées (extractions simples et séquentielles). Elles permettent d'étudier la répartition géochimique des polluants métalliques et de simuler l'influence de différentes conditions physico-chimiques sur leur disponibilité.

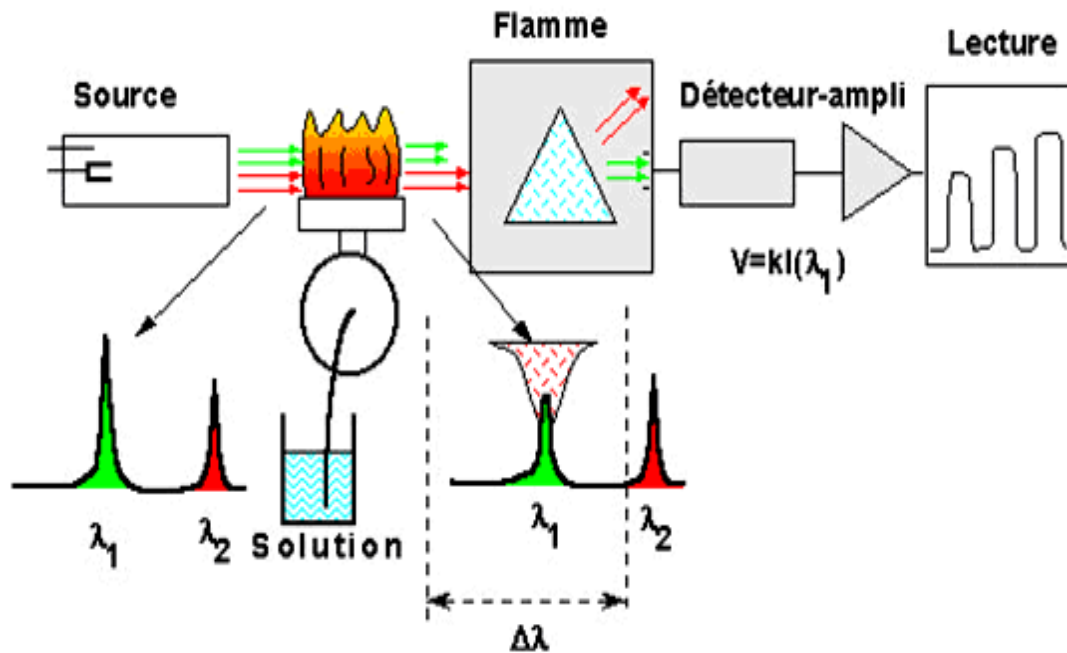
II-3-1- Appareillages

La spectroscopie se base sur l'analyse des rayonnements électromagnétiques se traduisant par un spectre d'absorption du gaz dans des longueurs d'onde spécifiques. Ces méthodes utilisent l'absorption dans le visible, l'ultraviolet et l'infrarouge, mesurée grâce au spectromètre, souvent appelé spectrophotomètre dans les articles. La spectrométrie d'absorption atomique (SAA) est une des méthodes de spectroscopie.

La quantification des métaux traces en solution est réalisée par spectroscopie d'absorption atomique flamme (FAAS).

a- Principe

L'appareil est schématisé ci-dessous :



La SAA est fondée sur le principe que les atomes libres peuvent absorber la lumière d'une certaine longueur d'ondes. L'absorption de chaque élément est spécifique, aucun autre élément n'absorbe sa longueur d'ondes. L'absorption de lumière par les atomes fournit ainsi un puissant instrument analytique à la fois pour l'analyse quantitative et qualitative.

L'élément à doser doit être en solution diluée. La spectrométrie permet en effet un dosage d'élément sous forme de traces (parties par million ou mg/l). La lampe à utiliser doit émettre des photons dont l'énergie correspond à l'excitation d'un atome (lampe à cathode creuse mono-élément).

La détermination spectroscopique d'espèces atomiques peut seulement être réalisée à partir d'un échantillon à l'état gazeux, dans lequel les atomes individuels comme l'Ag, l'Al, l'Au, le Fe et le Mg sont nettement séparés les uns des autres.

La chaleur nécessaire pour faire passer l'échantillon à l'état gazeux et placer l'élément à doser dans un état « fondamental » est généré par une flamme ou un four de graphite. La SAA de flamme analyse seulement les solutions, tandis que la SAA de four de graphite analyse les solutions, les boues liquides et les échantillons à l'état solide.

Le spectromètre doit être préalablement étalonné : l'absorption est convertie par l'appareil en absorbance (ABS) qui est proportionnelle à la concentration de l'élément à doser. On trace donc une droite d'étalonnage ABS en fonction de la concentration connue de solutions étalonnées. On reporte ensuite sur cette droite l'ABS obtenue pour la solution étudiée, ce qui permet d'en déterminer la concentration.

- SAA flamme

Un atomiseur de flamme consiste en un nébuliseur qui convertit l'échantillon en un aérosol, qui est alimenté dans le brûleur. L'atomisation se produit dans la flamme qui est habituellement alimentée par de l'acétylène et de l'oxygène.

- SAA four

Un atomiseur électrothermique fournit une grande sensibilité parce qu'il atomise l'échantillon rapidement. L'atomisation se produit dans un four de graphite cylindrique, ouvert aux deux extrémités et qui contient un trou au centre pour la présentation des échantillons. Une fois que l'élément à doser est dissocié, on mesure alors son absorption sur des longueurs d'onde caractéristiques.

En FAAS, les analyses sont effectuées à l'aide d'un spectrophotomètre d'absorption atomique à flamme « Perkin Elmer, Instrument Analyst 300, Atomic Adsorption spectrometer, Lamp : cathodique HCl » (Fig. 8). La flamme produite est une flamme air / acétylène. Dans le cas de Cr, elle est réductrice et dans les autres cas, elle est oxydante.



Figure 8 : spectrométrie d'absorption atomique à flamme (FAAS).

b- Composés détectables

Pratiquement tous les métaux et métalloïdes, à l'exception du soufre, du carbone, des halogènes et des gaz sont détectés.

c- Limites de quantification

La limite de quantification est donnée en fonction de l'appareil et du métal analysé. Cette valeur est également liée aux paramètres de mise en solution et notamment au rapport volume/masse (volume du jaugé, prise d'essai) cité plus haut, généralement de l'ordre de 200 (100 ml/0,5 g ou 50 ml/0,25 g) quelle que soit la méthode de minéralisation (attaque par HClO_4 ou attaque à l'eau régale et sauf exception).

d- La limite de détection

La limite de détection des polluants dans le sol (en mg.kg^{-1} matière sèche) selon la méthode utilisée, et donnée dans le tableau 25 :

Tableau 25 : la limite de détection des principaux éléments traces métalliques (ppm).

métaux	SAA Flamme	SAA Four
Cd	0.4	0.004
Pb	1.2	0.06
Zn	0.4	0.004

La méthode analytique varie également selon le métal et la concentration à déterminer.

Les métaux les plus couramment dosés sont le cadmium (Cd), le plomb (Pb) et le zinc (Zn), classiquement analysés dans le cas d'étude d'impact de projets routiers. Les autres métaux [le cuivre (Cu), le cobalt (Co), le chrome (Cr), et le fer (Fe)] sont plus souvent recherchés dans le cas d'étude de sols de type friche industrielle.

II-3-2- Détermination des teneurs totales en éléments traces

La détermination des teneurs totales en éléments métalliques des sols nécessite une mise en solution. Elle se fait par attaque acide des phases solides, après ébullition par une plaque chauffante pendant trois heures, à l'aide d'un mélange d'acide.

Larner et al. ont également mis en évidence l'efficacité d'une minéralisation à l'eau régale.

Les teneurs en métaux obtenues sont similaires à 5 % d'erreurs près [95].

- Mode opératoire

La mise en solution en vue du dosages des métaux lourds à été réalisée par attaque acide d'une quantité de 1g d'échantillon du sol (B et M) par 10 ml d'eau régale (un mélange de HCl et HNO₃ (3 :1)), le tout est porté à ébullition sur une plaque chauffante pendant 3 heures à reflux. Après refroidissement, on filtre dans une fiole jaugée de 25 ml puis on complète avec de l'eau distillée au trait de jauge.

II-3-3- 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 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.

La mobilité des ETM, aussi bien que leur biodisponibilité, dépend fortement de leur spéciation chimique dans les sols. En réalité, la détermination exacte de la spéciation chimique est souvent difficile et dans la plupart des cas impossible [96]. Par conséquent, la détermination des formes plus larges, basées sur les extractions chimiques, se sont montrées comme un bon compromis pour fournir des informations sur la spéciation des métaux dans les sols et donc sur le risque de contamination de l'environnement.

L'extractibilité d'une espèce contenue dans un sol (solide) donné est définie comme la faculté d'un élément à passer en solution. Elle est fonction de la solution d'extraction (nature et concentration) et des conditions opératoires imposées (rapport L/S, durée et mode d'agitation, température, etc.). Pour des raisons pratiques, deux types d'extraction ont été définies : l'extraction séquentielle (TESSIER et al., 1979) et l'extraction simple encore appelée extraction sélective [97-98].

a- Extraction séquentielle « spéciation » des ETM

Par l'emploi d'une procédure séquentielle, les ETM présents dans le sol peuvent se distribuer dans les différentes fractions suivant leur solubilité et leur mobilité, définissant ainsi leur spéciation [99]. La spéciation est la caractérisation de la répartition d'un élément dans les différents compartiments du sol et de l'état chimique dans lequel il se trouve dans ces différents compartiments (ionique, complexé, lié par covalence, etc.). Dans les schémas séquentiels, l'utilisation des extractants avec une capacité d'extraction croissante peut être intéressante pour déterminer les distributions chimiques des ETM. Les réactifs sont choisis en fonction de leur sélectivité vis-à-vis de certaines formes physico-chimiques particulières [100]. Ainsi, on peut accéder à la compréhension de la transformation des différentes formes et des mécanismes de biodisponibilité et mobilité dans le sol.

Plusieurs protocoles d'extraction sélective ont été mis au point dans de nombreux travaux qui comprennent généralement cinq à six fractions (Tableau 24).

Tableau 24 : Les différents procédures d'extractions séquentielles les plus utilisés.

Référence	Extractant utilisé	Forme extraite
Tessier et al. 1979	MgCl ₂ 1 M pH 7	Echangeable.
	NaOAc 1 M pH 5 HOAc	Liée aux carbonates.
	NH ₂ OH.HCl 0,04M 25% HOAc	Oxydes de Fe et Mn.
Gomez Ariza et al. 2000	H ₂ O ₂ 8,8 M HNO ₃ /NH ₄ OAc	Liée à la matière organique et aux sulfures.
	HF/HClO ₄	Résiduelle, phase de silicate.
Sposito et al. 1982	KNO ₃ (0,5 M)	Echangeable.
Sims et Sklin, 1991	H ₂ O distillée	Soluble
Pichtel et Anderson, 1997	NaOH (0,5 M)	Liée à la matière organique.
	EDTA (0,05 M)	Liée aux carbonates.
	HNO ₃ (4 M)	Liée aux sulfures.
Elenbogen et al. 1993	H ₂ O distillée	Soluble.
	KNO ₃ (1M)	Facilement échangeable.
	Na ₄ P ₂ O ₇ (0,1 M)	Liée à la matière organique.
Granato et al. 1993	EDTA (0,1 M)	Liée aux carbonates.
	HNO ₃ (1M)	Liée aux sulfures.
	HNO ₃ concentré	Résiduelle.
	H ₂ O	Soluble.
	NaNO ₃ 0,1 M	Echangeable.
	KNO ₃ 0,1 M	
	MgCl ₂ 1 M CaCl ₂ 0,05 mol l ⁻¹	
	Ca (NO ₃) ₂ 0,1 M	
	NH ₄ OAc 1 M pH = 7	
Ure et al. 1993	HOAc 0,5 M	Liée aux carbonates.
	HOAc/NaOAc 1 M pH = 5	

	$\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ 0,04 M Dans l'acide acétique ou nitrique NH_4O_x Ditionite, citrate ou bicarbonate de sodium H_2O_2 NaOCl	Oxydes et hydroxydes de Fe et Mn. Liée à la matière organique.
Rareut et al. (1989) Ramos et al. (1994) Rauret (1998) Bacon et al. (2005) , Procédure BCR, Standard CE	MgCl_2 1 M NaOAc/ HOAc , pH 5 $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ 0,1 mol l ⁻¹ Ac. Acétique (25 %) H_2O_2 (30%) pH = 2 avec HNO_3 $\text{HClO}_4 + \text{HNO}_3$ HOAc , 0,11 M $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ 0,1 mol l ⁻¹ (pH = 2 avec HNO_3) H_2O_2 8,8 mol l ⁻¹ (pH = 2–3 avec HNO_3)	Echangeable. Liée aux carbonates. Oxydes de Fe et Mn. Liée à la matière organique et aux sulfures. Résiduelle. Soluble. Réductible. Oxydable.

a-1- Validité des méthodes d'extraction séquentielles

Ces méthodes séquentielles représentent seulement une division arbitraire entre les différentes formes chimiques des métaux, leur principe de fonctionnement physico-chimique reste contesté et sujet à controverse pour leur validité lors de l'expérimentation et/ou l'extrapolation [101].

a-2- Validité expérimentale

En absence d'un échantillon de référence, les différents protocoles d'extraction n'ont pas pu être évalués sur les critères suivants :

- Spécificité : plusieurs chercheurs ont démontré qu'une solution d'extraction est susceptible d'agir sur plusieurs fractions de la matrice étudiée et non plus sélectivement [102]. Le problème est de trouver des réactifs assez sélectifs pour dissoudre une phase sans attaquer les autres phases.
- Redistribution éventuelle des ETM : l'ETM extrait dans une phase peut se réadsorber sur une ou plusieurs phases présentes du fait de réactions concurrentielles [103-104].

- Possibilité d'une sursaturation du système extractant-ETM si la quantité de ETM est très importante.
- Formes chimiques non prises en compte comme certains complexes organo-minéraux [104-105].

Cependant, certains auteurs comme Belzile et al. et Tessier et Campbell, suggèrent que l'erreur ainsi introduite serait négligeable dans la plupart des cas [106-107].

a-3- Validité d'extrapolation

Comme les différents protocoles d'extraction peuvent conduire à des résultats différents pour un même échantillon, les extrapolations réalisées sur ces résultats peuvent être divergentes.

Pour un même extractant, des études de corrélation ont mis en évidence des domaines de validité portant soit sur les teneurs en ETM considérés et soit sur les plages de pH [108]. Ne disposant pas de méthodes consistantes pour les mesures ou pour les formes chimiques des ETM concernés, les distributions de ceux-ci ne peuvent être correctement simulées par des modèles en vertu de la complexité d'un milieu comme le sol [109].

Néanmoins, les extractions sélectives restent informatives pour comprendre les transitions des espèces métalliques observées en fonction des conditions du milieu. De plus, les formes chimiques des métaux lourds et leurs associations avec les différentes phases constitutives du sol conditionnent leur biodisponibilité pour les végétaux, ce malgré qu'il n'y ait pas de relation directe avec les proportions des métaux assimilées par les plantes ou par les autres organismes.

a-4- Principe et objectif

Le principe général des extractions séquentielles repose sur la réalisation d'attaques chimiques successives, chacune étant supposée détruire la liaison entre les éléments inorganiques étudiés et une fraction solide spécifique du sol. Les concentrations en espèces chimiques libérées sont ensuite mesurées par FAAS après chaque étape d'extraction. Ces procédures visent ainsi à apprécier qualitativement la capacité de différents compartiments du sol à accumuler des éléments minéraux en traces (et donc, de fait, ces extractions offrent la possibilité d'estimer la mobilisation potentielle de ces éléments dans l'environnement).

a-5- Protocole d'extractions séquentielles de Tessier et al.,

La procédure de Tessier et al. (1979) est l'une des procédures d'extractions séquentielles couramment utilisée pour l'analyse des éléments traces à comportement cationique présents dans les sols et sédiments. A partir de cinq extractions successives (Tableau 11), cette procédure permet de distinguer quatre fractions (ou compartiments) plus une résiduelle :

- la fraction échangeable (F1)

Elle regroupe les métaux adsorbés non spécifiquement et facilement mobilisables par échange d'ions. Les réactifs utilisés pour extraire les métaux de cette phase sont des sels neutres tels que le chlorure de magnésium, le chlorure de baryum ou l'acétate d'ammonium. Cette fraction est potentiellement la plus mobile et disponible.

- la fraction associée aux carbonates ou fraction acido-soluble (F2)

Elle concerne les métaux précipités ou co-précipités avec les carbonates naturels. Les métaux liés à cette fraction seront libérés lors d'une acidification du milieu. Les réactifs recommandés pour dissoudre les carbonates sélectivement sont l'acétate de sodium et/ou l'acide acétique, à pH acide.

- la fraction associée aux oxydes de fer et de manganèse ou fraction réductible (F3)

Les oxydes de fer et manganèse, présents sous formes de nodules entre les particules ou de revêtements à la surface des particules, sont d'excellents pièges à métaux. Ces oxydes sont thermodynamiquement instables sous des conditions anoxiques ou réductrices. Pour extraire les métaux de cette fraction, des combinaisons d'agents réducteurs et d'agents capables de maintenir les métaux en solution sont utilisés. Les couples de réactifs les plus employés sont le chlorhydrate d'hydroxylamine et l'acide acétique ou le dithionite de sodium et le citrate de sodium.

- la fraction organique ou fraction oxydable (F4)

Les métaux peuvent s'associer à différentes formes de matières organiques : organismes vivants, détritiques, pellicules organiques à la surface des particules.... Sous des conditions oxydantes ou en présence de microorganismes, la matière organique peut se dégrader et libérer les métaux piégés. On accède généralement à cette fraction à l'aide d'eau oxygénée.

- la fraction résiduelle (F5)

Cette fraction contient tous les métaux qui n'ont pas été libérés lors des attaques précédentes. Ces métaux sont associés aux minéraux primaires et secondaires, naturellement ou suite à des substitutions isomorphiques. Ils ne sont pas susceptibles d'être relargués en solution, pour des conditions normalement rencontrées dans le milieu naturel. Pour dissoudre les minéraux, des

fusions alcalines ou des digestions acides utilisant de l'acide fluorhydrique en mélange avec d'autres acides forts (nitrique ou perchlorique) sont utilisés. Cependant, pour pouvoir comparer les quantités de métaux extraites lors de la procédure à la teneur totale présente initialement, il est souhaitable de sélectionner les mêmes réactifs que pour la minéralisation totale, on à remplacer l'acide fluorhydrique par l'acide nitrique concentré. .

Le schéma d'extraction retenu dans le cadre de notre étude est celui proposé par Tessier et al. [1979] (Tableau 25).

Tableau 25 : Protocole d'extraction séquentielle, selon Tessier et al. [1979], pour 1 g d'échantillon [110].

Fractions extraites	Réactif(s)	Mode opératoire (Volume, Durée, Température)
F1 : Fraction échangeable	MgCl ₂ (1 mol.L ⁻¹), pH = 7	8 mL, 1 h agitation continue, température ambiante
F2 : Fraction acido-soluble	CH ₃ COONa (1 mol.L ⁻¹) / CH ₃ COOH pur, pH = 5	8 mL, 5 h agitation continue, température ambiante
F3 : Fraction réductible	NH ₂ OH.HCl (0,04 mol.L ⁻¹) dans CH ₃ COOH 25 %, pH = 2	20 mL, 6h agitation intermittente, bain-marie à 96°C
F4 : Fraction oxydable	HNO ₃ (0,02 mol.L ⁻¹) / H ₂ O ₂ (30 %, pH = 2 avec HNO ₃)	3 mL HNO ₃ + 5 mL H ₂ O ₂ , 2 h agitation intermittente, bain-marie à 85°C
	H ₂ O ₂ (30 %, pH = 2)	3 mL, 3 h agitation intermittente, bain-marie à 85°C
	CH ₃ COONH ₄ (3,2 mol.L ⁻¹) dans HNO ₃ 20 %	5 mL 1/2 h agitation continue + eau distillée pour volume final de 25 mL
F5 : Fraction résiduelle	HNO ₃ + HClO ₄ (2 :1)	10 ml 180°C, laisser refroidir, Filtrer, laver et compléter à 25 mL.

Après chaque extraction les culots de centrifugation sont lavés avec 10 ml d'eau distillée, et les eaux de rinçages sont ajoutées au surnageant pour analyse des teneurs en éléments dans chaque phase.

La comparaison de la spéciation des métaux obtenue par l'application d'un schéma d'extraction séquentielle, avant et après des extractions simples permet de limiter les problèmes de désorption et/ou de réadsorption des métaux associés aux autres fractions [111], soit de diminuer la non-sélectivité et la non-spécificité des réactifs, principales limites de ce schéma. La comparaison des quantités présentes pour chaque étape est une mesure de la quantité extraite ou adsorbée par le compartiment géochimique lors de la réaction [112].

- Limites de la méthode

Si les méthodes des extractions séquentielles sont largement utilisées, elles sont en même temps beaucoup critiquées pour leur non-sélectivité. En effet, chaque solution d'extraction est susceptible d'agir sur plusieurs fractions géochimiques du sol [113].

De plus, lors de la mobilisation d'une forme chimique d'un métal, il se produirait une redistribution de ce métal dans les divers fractions du sol, ce qui biaiserait les résultats escomptés [98, 103]. C'est pourquoi, aujourd'hui, il est généralement admis que ces protocoles ne permettent au mieux qu'une estimation opérationnelle de la localisation des éléments traces (l'acide acétique extrait la phase « extractible par l'acide acétique »), dépendant fortement du protocole utilisé [112].

L'extraction séquentielle reste cependant à ce jour la seule approche chimique relativement simple de caractérisation des différentes formes d'un métal dans un sol ou un sédiment.

a-6- Protocole d'extractions séquentielles de Tessier et al., modifier

Nous avons suivi le même mode opératoire de Tessier et al., tout en ajoutant à chaque étape du protocole le complexe NH_4NO_3 .

b- Extraction simple – Spéciation fonctionnelle

b-1- Introduction

La teneur totale en ETM d'un sol ne permet pas de prévoir précisément celle des végétaux qui s'y développent. Pour améliorer les prédictions, on a emprunté à la nutrition

minérale les concepts de biodisponibilité des éléments du sol et les méthodes de quantification de cette variable. On a ainsi essayé d'estimer la quantité d'ET susceptible d'être absorbée par une plante à l'aide d'un réactif sélectif. La pertinence de celui-ci est le plus souvent jugée par le degré de la corrélation entre l'extraction chimique et celle de la plante pour un même sol contaminé à des degrés variables, voire pour des sols différents [98].

b-2- Méthodes chimiques et isotopiques d'évaluation de la phytodisponibilité des éléments en traces

Dans la littérature, quatre types de solutions d'extraction sont principalement citées : les acides dilués, les complexants organiques, les solutions salines et l'eau pure [98].

Dans les procédures avec un seul extractant, seule la fraction potentiellement disponible aux plantes est ciblée. Différents réactifs d'extraction ont été utilisés, soit des complexants (EDTA, ...) soit des sels ($MgCl_2$, $BaCl_2$, $CaCl_2$, KNO_3 , $NaNO_3$, ...) ou des acides dilués (HCl dilué, CH_3COOH , ...) [114]. Plusieurs chercheurs ont démontré que les teneurs extraites par ces électrolytes présentent une bonne corrélation avec la quantité assimilée par les plantes tests [115-117].

Cependant, l'utilisation d'extractants seuls ne peut être utile que pour évaluer la biodisponibilité de l'ETM, et elle ne fournit pas les informations nécessaires pour comprendre les mécanismes responsables des augmentations ou des diminutions de l'extractabilité de l'ETM.

- Les acides dilués, comme HNO_3 ou HCl à $0,1 \text{ mol.L}^{-1}$ se montrent trop agressifs et peu discriminants vis-à-vis des formes sous lesquelles les ET sont présents dans les sols ; de ce fait, ils conduisent plutôt à une surestimation de la biodisponibilité.

- Les complexants organiques sont surtout représentés par l'EDTA utilisés à des concentrations variables, sous forme de sel ou d'acide, éventuellement en mélange avec des acides et sels divers (acétate d'ammonium, acide acétique, $CaCl_2$...), certains servant de tampon de pH. Les solutions d'EDTA dont l'emploi a été assez tôt normalisé dans différents pays dans le but de formuler des diagnostics agronomiques de carence, se montrent rarement adaptées à l'évaluation des teneurs en métaux biodisponibles sur les sols pollués. En effet, ce complexant a tendance à surestimer les teneurs assimilables et de ce fait, conduit rarement à des corrélations entre les teneurs extraites chimiquement et celles dans la plante.

- Les solutions salines non tamponnées, comme celles de chlorures ou nitrates de barium, calcium, potassium, magnésium, ou ammonium à des concentrations souvent $\leq 1 \text{ mol.L}^{-1}$, qui conduisent le plus fréquemment à des corrélations entre les extractions chimiques et les teneurs dans les plantes, notamment pour Cd, Cu ou Zn dans les sols assez contaminés [118].

Nous avons retenu quelques solutions qui semblaient parmi les plus performantes en matière de prédiction de la biodisponibilité : KNO_3 ($0,1 \text{ mol.L}^{-1}$), NH_4NO_3 (1 mol.L^{-1}), ... (Tableau 26).

Tableau 26 : les modes opératoires pour la phytodisponibilité des ETM.

Agents extractants	Prise d'essai	Volume de solution	Agitation
KNO_3 0.1 mole.L^{-1}	1 g	05 ml	Agitation continue pendant 1 h.
NH_4NO_3 1 mole.L^{-1}	1 g	06 ml	Agitation continue pendant 1 h.30 mn.
MgCl_2 1 mole.L^{-1}	1 g	10 ml	Agitation continue pendant 1 h.
BaCl_2 1 mole.L^{-1}	1 g	10 ml	Agitation continue pendant 2 h.
HNO_3 0.1 mole.L^{-1}	1 g	25 ml	Agitation continue pendant 1 h.
HCL 0.1 mole.L^{-1}	1 g	05 ml	Agitation continue pendant 1 h.30 mn.

d- Biodisponibilité des ETM retenue sur le milieu

Deux extractions simples ont été réalisées avec l'objectif d'évaluer la biodisponibilité des éléments traces retenus sur le milieu. Les solutions extractantes choisies sont le chlorure de calcium et l'EDTA (Éthylène Diamine Tétracétique Acide).

L'extraction avec la solution de chlorure de calcium vise à quantifier la fraction mobile (ou active), c'est-à-dire la fraction d'éléments bio-disponible et facilement lixiviable à l'eau.

Cette extraction représente au mieux les conditions intrinsèques de la solution de sol à

l'équilibre en termes de force ionique. Elle est souvent employée pour établir des corrélations sol-plante et définir ainsi la fraction biodisponible de la pollution.

L'extraction à l'EDTA vise à mesurer la fraction mobilisable, comprenant à la fois la partie active (ou mobile) de la pollution mais également une partie potentiellement active. Cette fraction peut ainsi être considérée en quelque sorte comme la fraction maximale extractible du sol.

En effet, l'EDTA est un agent chélatant ayant une capacité d'extraction des métaux présents dans les phases non liées à la silice, y compris les métaux complexés à des ligands organiques. Le choix du pH de 7,5 constitue un compromis entre le maximum de solubilité de nombreux anions en milieu acide et l'augmentation de la chélation des cations optimale en milieu basique.

d-1- Extraction au CaCl₂

Dans ce cas là, 10 ml de solution de CaCl₂ à 0,01 M sont ajoutés à 1g de chaque échantillon. L'ensemble est agité en continue pendant 2 heures. La suspension est filtrée et la solution est séparée et analysée.

d-2- Extraction à l'EDTA

La solution d'EDTA est préparée selon la procédure du Bureau Communautaire des références [96].

La solution d'extraction est obtenue par dissolution à froid de 3,723 g d'EDTA et 77 g d'acétate d'ammonium dans une fiole jaugée de 1000 ml contenant 400 ml d'eau. Après dissolution à température ambiante ajouter 450 ml d'eau. Mesurer le pH et si nécessaire l'ajustée à pH 7 à l'aide d'une solution d'ammoniaque ou d'acide acétique puis compléter à 1000 ml avec l'eau.

d-3- Mode opératoire

Une prise d'essai de 1g de terre fine est introduite dans un flacon, additionner 10 ml de la solution d'extrait, est filtrée, la solution finale est jaugée à 25 ml.