

Contribution des micro-organismes au transfert du zinc dans un sol calcaire d'un bassin d'infiltration de l'Est lyonnais : approche expérimentale en batchs et en colonnes

Jérôme CROSNIER *

Centre d'études techniques de l'équipement de Lyon

Cécile DELOLME

Laboratoire des sciences de l'environnement de l'École nationale des travaux publics de l'État

■ RÉSUMÉ

Les eaux pluviales sont, après ruissellement, des solutions complexes chargées en contaminants comme les métaux lourds, en particulier le zinc. Les caractéristiques du sol superficiel des bassins d'infiltration de ces eaux évoluent néanmoins au cours du temps sous l'effet de propriétés intrinsèques, comme par exemple l'activité microbienne. Le rôle du compartiment microbien sur la mobilité du zinc (concentrations 5 et 20 mg Zn/l) dans un sol alcalin à texture sableuse a été étudié. Des expériences en réacteurs (ou « batchs ») ont été réalisées. Des expériences sur colonnes ont également permis d'étudier le transfert du métal en conditions dynamiques. On observe que la stimulation de l'activité de la microflore autochtone par un milieu nutritif peu complexant du zinc entraîne une remobilisation du métal. En batch, elle est le résultat de l'acidification provoquée par certains organismes hétérotrophes, dont certains sont responsables d'un processus de nitrification. Dans les expériences sur colonnes, elle semble résulter davantage d'une amplification du transport particulaire biocolloïdal lors de la maturation des biofilms microbiens.

Contribution of microorganisms to the zinc transfer process within a limestone infiltration basin east of Lyon : Experimental approach using batch and column measurements

■ ABSTRACT

Following runoff, rainwater becomes complex solutions charged with contaminants such as heavy metals and zinc in particular. The surface soil characteristics of infiltration basins for such water nonetheless evolve over time, exposed to the effect of intrinsic properties, such as microbial activity. The impact of the microbial compartment on zinc mobility (concentrations of 5 and 20 mg Zn/l) within an alkaline soil with sandy texture has been studied herein. Reactor (or "batch") experiments were carried out as part of this research effort. Additional column-based experiments made it possible to study metal transfer under dynamic conditions. It may be observed that stimulation of indigenous microflora activity by means of a limited zinc-complexing nutritional medium engenders metal remobilization. In batch mode, such stimulation results from the acidification caused by certain heterotrophic organisms, some of which are responsible for a nitrification process. The column-based experiments appear to show greater influence by amplification of biocolloidal particle transport during maturation of microbial biofilms.

* AUTEUR À CONTACTER :

Jérôme CROSNIER

jerome.crosnier@equipement.gouv.fr

INTRODUCTION

■ Bassin d'infiltration : un sol riche en micro-organismes

Les eaux pluviales produites en milieu urbain se chargent, lors de leur ruissellement, en polluants solubles ou retenus sur des particules en suspension. Une synthèse des concentrations en polluants métalliques rencontrées dans les eaux pluviales après ruissellement a été effectuée par Crosnier et Delolme [1]. Le choix de l'infiltration de ces eaux vers la nappe n'est pas sans poser des problèmes pour la préservation de la qualité de l'eau souterraine. Afin de mieux évaluer les risques de contamination de la nappe liés à ces pratiques de gestion, de nombreux travaux ont eu pour objectifs d'étudier l'évolution de certains métaux rencontrés dans les eaux pluviales (zinc, cadmium et cuivre notamment) dans la zone non saturée de sols utilisés pour l'infiltration [2-4]. Ces travaux ont surtout mis en évidence l'influence de facteurs physiques et géochimiques des sols étudiés (granulométrie, teneur en argile, interaction avec les carbonates, etc.) sur la rétention ou la mobilisation des polluants.

La composition de la fraction organique, et plus précisément du compartiment microbien, dans les sols support de l'infiltration des eaux pluviales a été étudiée beaucoup plus récemment. Une campagne d'échantillonnage de la surface d'un bassin d'infiltration ayant fonctionné pendant trente ans a été réalisée. Des analyses des teneurs en polluants (Zn, Pb, Cu, Cd, etc.) et en micro-organismes ont été effectuées jusqu'à quatre mètres de profondeur. Malgré la présence de fortes teneurs en hydrocarbures et en métaux lourds, les micro-organismes sont très nombreux dans les cinquante premiers centimètres du sol : une densité d'environ 10^9 bactéries cultivables/g sol sec a été mesurée dans ces échantillons jusqu'à 50 cm de profondeur [5]. Ce résultat montre que le sol offre aux micro-organismes des conditions favorables à leur multiplication qui peuvent induire un colmatage de la surface des bassins.

Les matériaux accumulés à la surface des ouvrages d'assainissement pluvial sont très actifs biologiquement et l'étude du rôle de la microflore sur le « vieillissement » de cette couche de surface doit être poursuivie, aussi bien pour comprendre l'évolution du colmatage de la surface que le devenir des polluants minéraux et organiques piégés. De plus, lors des phases d'entretien ou de décolmatage de ces ouvrages, de nombreuses questions se posent sur la réutilisation possible des sols de surface très contaminés après un éventuel pré-traitement. Là encore, la microflore présente dans ces matériaux peut contribuer à sa stabilisation.

■ Interactions entre métaux et micro-organismes

Les cellules bactériennes peuvent représenter dans certains cas une fraction non négligeable de la surface spécifique du milieu solide en contact avec le fluide qui le traverse ; leur rapport surface/volume est en effet environ 100 à 1 000 fois plus grand que celui des cellules eucaryotes. Même si la biomasse microbienne ne représente que quelques pour-cent de la biomasse totale, elle a une réactivité et un impact prépondérants sur le milieu environnant [6]. Il est donc nécessaire de mieux comprendre et décrire les interactions entre ces organismes et les métaux introduits dans ces milieux poreux.

Beaucoup d'études ont porté sur les interactions métaux-bactéries pour des questions de dépollution des eaux ou de collecte de métaux précieux, pour lesquelles il est nécessaire d'avoir des espèces possédant une haute sélectivité ou une grande capacité de rétention [7]. La capacité de rétention de ces organismes permet d'envisager leur utilisation pour répondre à la demande de remédiation des eaux polluées notamment par les métaux.

La rétention des métaux par les micro-organismes est couramment regroupée en trois catégories : liaison à la surface des cellules, accumulation intracellulaire, accumulation extracellulaire [8]. L'association des métaux peut se produire avec des cellules inactives ou au repos [8]. En outre, ce ne sont pas seulement les cellules qui sont impliquées dans les interactions avec les cations métal-

liques, mais aussi les polymères extracellulaires qui sont produits par les cellules bactériennes. La biosorption est un phénomène très rapide, dont l'équilibre est atteint en quelques secondes [9], qui dépend fortement du pH ; la rétention du métal augmente en effet avec celui-ci [9, 10]. Les polluants sorbés par les bactéries peuvent ensuite, en fonction des modifications des conditions du milieu et du développement des bactéries, être entraînés vers les zones plus profondes du sol par transport biocolloïdal [11].

Parmi les activités microbiennes fondamentales dans l'écologie microbienne du sol, le processus de nitrification, qui consiste à transformer l'azote ammoniacal en nitrate, est également susceptible de participer à la modification des conditions physico-chimiques du milieu à cause de l'acidification qui l'accompagne [12].

■ Sols carbonatés

Dans les milieux naturels riches en carbonates, la calcite offre des moyens de rétention directe, par adsorption sur sa surface, et indirecte, par précipitation de phases solides carbonatées, à la fois parce qu'elle garantit la présence de ligands carbonate et hydrogénocarbonate en solution et parce qu'elle peut jouer le rôle de surface de nucléation [4].

■ Problématique et objectifs

Le Laboratoire des sciences de l'environnement a mis en place une série d'expérimentations en laboratoire pour pouvoir mieux comprendre les mécanismes susceptibles de se développer dans les bassins d'infiltration. Ces travaux ont en particulier pour objectif de mieux comprendre le rôle des micro-organismes dans le transfert des métaux dans la zone non saturée du dépôt fluvio-glaciaire étudié. Le transfert du zinc, élément trace métallique présent en forte concentration dans les eaux pluviales urbaines, a été étudié.

L'intérêt porté au zinc et aux métaux lourds dans les eaux de ruissellement est justifié par leur ubiquité, leur toxicité et le fait qu'ils ne peuvent pas être chimiquement transformés ou détruits [13, 14]. Parmi eux, le zinc (de 44 à 850 µg/l), le plomb (de 15 à 400 µg/l) et le cuivre (de 6 à 117 µg/l) sont les métaux les plus souvent détectés dans les eaux de ruissellement [15, 16]. Ruban [17] identifie le zinc et le plomb comme les métaux les plus abondants dans les matériaux de surface de différents bassins d'infiltration étudiés : les concentrations en zinc rencontrées varient de 1 400 à 2 500 mg/kg et de celles du plomb de 250 à 500 mg/kg. Ruban montre par ailleurs que le zinc et le cadmium sont les métaux les plus facilement échangeables donc mobilisables. Ces divers éléments ont conduit à s'intéresser plus particulièrement au zinc.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

■ Site d'étude

L'Est lyonnais est dans une zone de comblement Miocène composé de sables consolidés peu perméables. C'est l'horizon C d'un sol carbonaté, situé à l'Isle d'Abeau (IA), qui a été enlevé. Ce site a été choisi car il a été retenu pour la construction d'un champ d'infiltration. Ce dépôt, de texture sableuse, a un caractère basique et comporte une forte teneur en carbonate et une très faible teneur en matière organique (tableau 1).

Le matériau utilisé dans cette étude est issu d'un échantillon moyen établi à partir de prélèvements aléatoires dans les vingt premiers centimètres de la surface de ce site.

■ Conditions expérimentales

Pour étudier les mécanismes susceptibles de modifier la mobilité du zinc à long terme, des expériences en réacteurs (ou « batchs ») ont été réalisées. Ces réacteurs sont maintenus en équilibre avec

l'atmosphère par obturation avec du coton cardé. L'oxygène n'est donc jamais un facteur limitant dans les expériences menées. Parallèlement, des essais en colonnes permettent d'étudier le transfert du métal en conditions dynamiques (figure 1).

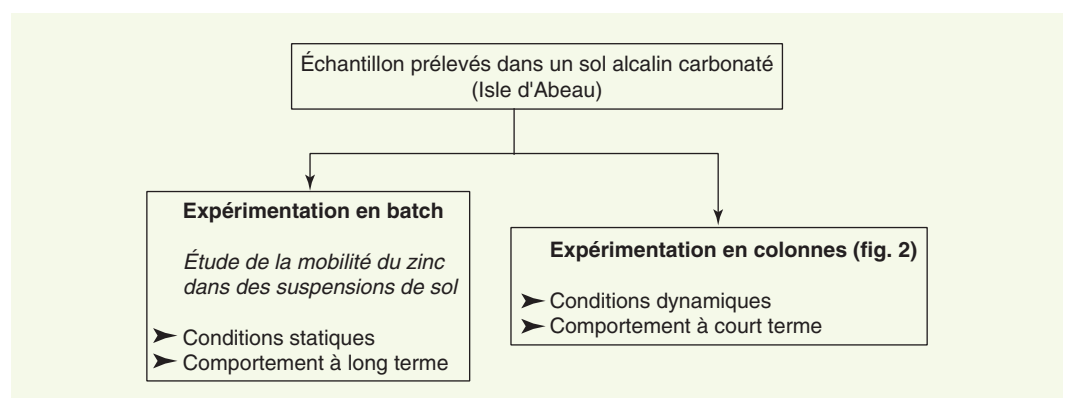
► Milieu nutritif

L'étude de la contribution du compartiment microbien au transfert de polluants métalliques à travers le sol consiste souvent à comparer le comportement dans le sol stérile avec celui observé dans le

tableau 1
Caractéristiques physico-chimiques du sol étudié.

Caractéristique (unité)	Sol sableux (IA)
Sables grossiers (g/kg)	683
Sables fins (g/kg)	133
Limons grossiers (g/kg)	48
Limons fins (g/kg)	67
Argiles (g/kg)	69
pH eau	8,74
pH KCl	8,19
M.O. (g/kg)	4
C _{org} (%)	0,47
Calcaire total (g/kg)	248
Calcaire actif (g/kg)	20
CEC (meq/kg) (norme X31-130)	16
Calcium échangeable (g/kg)	8,6
Potassium échangeable (g/kg)	0,03
Magnésium échangeable (g/kg)	0,048
P ₂ O ₅ (g/kg)	0,034
Humidité résiduelle à pF 3 (%)	6,46
Humidité résiduelle à pF 4,2 (%)	2,95
[Zn] (mg/kg sol sec)	51,5
Cd (mg/kg sol sec)	0,4
[Cr] (mg/kg sol sec)	13,9
[Cu] (mg/kg sol sec)	5,8
[Fe] (mg/kg sol sec)	14 540
[Ni] (mg/kg sol sec)	17,7
[Pb] (mg/kg sol sec)	1,5
Numération bactérienne sur gélose (UFC/g de sol sec)	10 ⁶

figure 1
Protocole expérimental.



même sol non stérile. Plutôt que de stériliser le sol, ce qui entraîne des modifications de ses propriétés physico-chimiques et agit sur le transfert, la microflore a été stimulée avec un apport nutritif de façon à amplifier son activité [18]. L'apport nutritif est effectué par l'intermédiaire d'un milieu nutritif présentant une faible capacité complexante. Ce choix permet en outre de se rapprocher un peu plus des conditions réelles, la pluie apportant avec elle des éléments nutritifs.

La composition de ce milieu est indiquée dans le **tableau 2**.

tableau 2
Composition du milieu nutritif (MN).

Élément	Quantité ou concentration
Eau de nappe	1 litre
Peptone	0,1 g/l
Extrait de levure	0,1 g/l
Sulfate de magnésium	0,5 g/l
Chlorure de calcium	0,5 g/l
Nitrate de sodium	0,5 g/l

› Expériences en batchs

Les batchs permettent l'étude de l'équilibre qui s'établit entre les différentes substances en présence (milieu poreux naturel, solution comportant un ou plusieurs solutés), ainsi que de la vitesse à laquelle celui-ci est atteint [19]. Toutes les surfaces des particules du sol sont alors accessibles pour interagir avec le contaminant [20].

Les expériences sont effectuées avec une solution de zinc à 20 mg/l dans de l'eau de nappe (dont la composition est détaillée dans [1]) enrichie ou non d'éléments nutritifs et ajustée à pH 6,8 (pH de la solution nutritive). Un échantillon de sol (1 g) est ensuite mis en suspension dans une fiole conique d'un litre contenant 500 ml de la solution.

Des triplicats sont mis en place quand le milieu de culture est ajouté pour une stimulation microbienne et seulement des duplicats en l'absence d'apport nutritif. Ces expériences sont menées sur une période de soixante-dix jours, période à partir de laquelle le système a été considéré comme stable. La moyenne des valeurs obtenues pour chaque réplicat a été effectuée et une étude de la variabilité inter-réplicats a été réalisée.

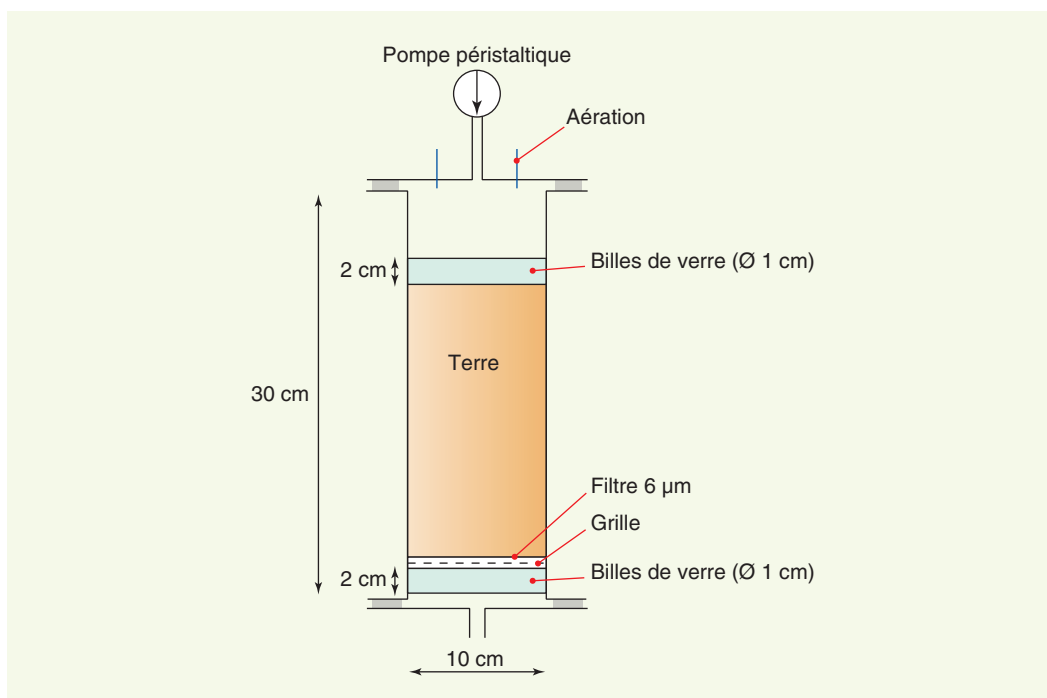
Dans le but de préciser l'appartenance à un groupement fonctionnel des micro-organismes des sols impliqués dans le « relargage » du zinc, l'évolution de la concentration en ions ammonium NH_4^+ et nitrate NO_3^- a été étudiée.

› Expériences en colonnes

Le sol est mis en place dans la colonne (**figure 2**) avec une densité sèche de 1,6 kg/dm³ et une porosité de 34 %. Les colonnes sont constituées d'un cylindre en PVC transparent de 30 cm de hauteur et 10 cm de diamètre intérieur, équipé à chacune de ses extrémités d'une couronne solidaire de diamètre intérieur 10 cm et de diamètre extérieur 12 cm. En partie haute, l'alimentation est assurée par une pompe péristaltique qui permet le contrôle du débit pendant l'expérience. La colonne est fermée hermétiquement par un couvercle en PVC. L'effluent entrant traverse une couche de deux centimètres de billes de verre dont le rôle est de le répartir sur toute la surface en évitant la formation de chemins préférentiels. En partie basse, une première grille plastique (maille de 1 mm) permet de soutenir le sol, puis une nouvelle couche de deux centimètres de billes de verre permet un stockage et une récupération plus facile de l'effluent. Enfin, un écran de fibre de verre est placé sur le couvercle de façon à filtrer les plus grosses particules qui seraient parvenues à ce niveau. Le couvercle inférieur est percé d'une ouverture qui permet le prélèvement de l'effluent.

Les colonnes sont alimentées par une pompe péristaltique (débit : 7,2 ml/min) avec la même solution que celle utilisée dans les batchs. Le taux de saturation en eau du sol est de 50 % et la vitesse

figure 2
Schéma de l'expérience
en colonne.



de pores de 0,18 cm/min. Cinq phases d'alimentation successives de quatre litres chacune sont effectuées, ce qui représente environ quarante fois le volume des pores. Deux phases d'alimentation consécutives sont espacées d'une nuit. Des échantillons de 15 ml sont prélevés pour analyse toutes les demi-heures en début d'expérience puis toutes les heures. Ces échantillons sont ensuite analysés pour connaître leur concentration en zinc et leur pH. Les résultats sont ensuite présentés sous forme de courbe d'éluion avec les valeurs expérimentales des deux réplicats et la moyenne. En fin d'expérience, l'humidité et la concentration en zinc dans le sol sont estimées en sommet et en pied de colonne. Ces expériences sont effectuées dans une chambre noire (pour éviter la prolifération d'algues unicellulaires) maintenue à une température proche de 25 °C.

› Dosages

La concentration en ions ammonium est déterminée par colorimétrie avec un spectrophotomètre (HACH) tandis que la concentration en ions nitrate est déterminée par chromatographie ionique (DIONEX).

La concentration de zinc en solution est déterminée par spectrophotométrie d'absorption atomique (Hitachi) après filtration à 0,45 µm sur filtres Whatmann (pour les batchs uniquement) puis acidification avec de l'acide nitrique HNO₃ 0,5 %.

Le zinc « pseudo-total » dans le sol est dosé par spectrophotométrie d'absorption atomique après extraction à l'eau régale (norme NF X 31-151).

› Numération bactérienne

L'abondance bactérienne est estimée par dénombrement sur gélose (unités formant colonies, UFC) après dispersion du sol et dilution de la suspension suivant la méthode de Lorich et *al.* [21]. Cette méthode permet d'estimer les bactéries cultivables et ne traduit pas la quantité totale de micro-organismes mais permet de donner les tendances d'évolution relative.

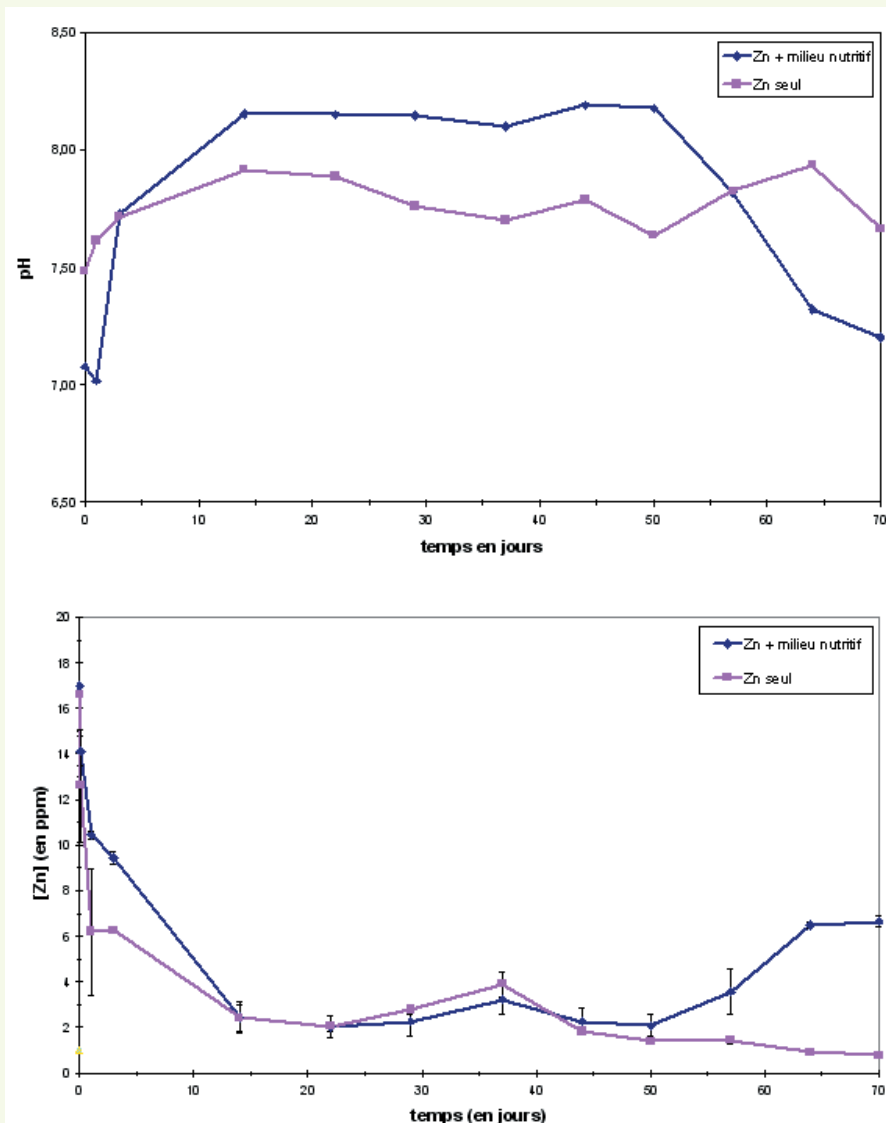
RÉSULTATS

■ Expériences en batchs

L'évolution du pH et de la concentration en zinc dans la suspension de sol de l'Isle d'Abeau est présentée sur la **figure 3**. On met en évidence une phase de trente jours environ pendant laquelle le pH

figure 3

Évolution de la concentration moyenne en zinc et du pH dans le surnageant d'une suspension de sol alcalin de l'Isle d'Abeau en fonction du temps.



évolue de façon sensiblement identique dans le milieu non enrichi et dans le milieu enrichi. Pendant cette phase, la concentration en zinc dans le surnageant décroît régulièrement dans les deux solutions pour atteindre des concentrations de 1 à 2 mg/l Zn. On observe ensuite une acidification dans les solutions où la microflore initiale a été stimulée par l'apport d'éléments nutritifs et un relargage progressif du zinc dans la solution jusqu'à retrouver en fin d'expérience une concentration d'environ 6 mg/l. La forte variabilité des mesures enregistrées entre quarante et soixante jours traduit des cinétiques d'acidification et de relargage concomitantes du zinc légèrement différentes d'un réplicat à l'autre. Les écarts observés sont très limités dans le temps (une dizaine de jours) et une tendance comparable pour les trois réplicats est ensuite observée jusqu'à la fin de l'expérimentation.

La **figure 4** illustre l'évolution de la concentration en ions NH_4^+ pendant soixante-dix jours dans les suspensions de sol enrichies en milieu nutritif. L'étude de l'évolution de la concentration en ions NO_3^- ne s'est pas révélée réalisable du fait de la forte concentration en ions NO_3^- initialement présents dans le milieu (sous forme de nitrate de sodium et de nitrate de zinc). On note une première phase d'ammonification qui résulte de la minéralisation de l'azote organique en ammonium ; celle-ci s'accompagne d'une légère alcalinisation du milieu (**cf. figure 3**).

L'acidification du milieu est concomitante à la disparition de l'ammonium, ce qui suggère qu'il s'agit bien d'un processus de nitrification. Ce processus de nitrification peut être le fait d'organismes très

divers qui peuvent agir, soit par nitrification hétérotrophe, soit par nitrification autotrophe. Le premier processus semble néanmoins à privilégier. En effet, la présence de matière organique favorise le développement des bactéries hétérotrophes qui ont un taux de croissance maximal cinq fois supérieur et un rendement deux fois plus important que les bactéries nitrifiantes autotrophes [22, 23].

■ Expériences en colonnes

La **figure 5** illustre l'évolution du pH au cours des cinq phases de percolation de la solution de zinc. On note une différence d'environ 0,5 unité de pH entre les expériences avec une solution de zinc

figure 4

Évolution de la concentration en ions ammonium dans une suspension de sol enrichie en milieu nutritif en fonction du temps.

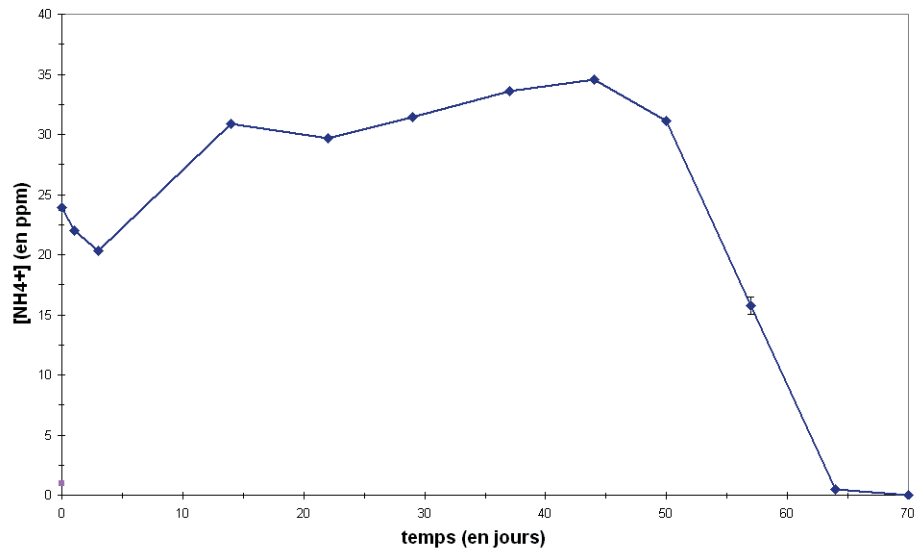
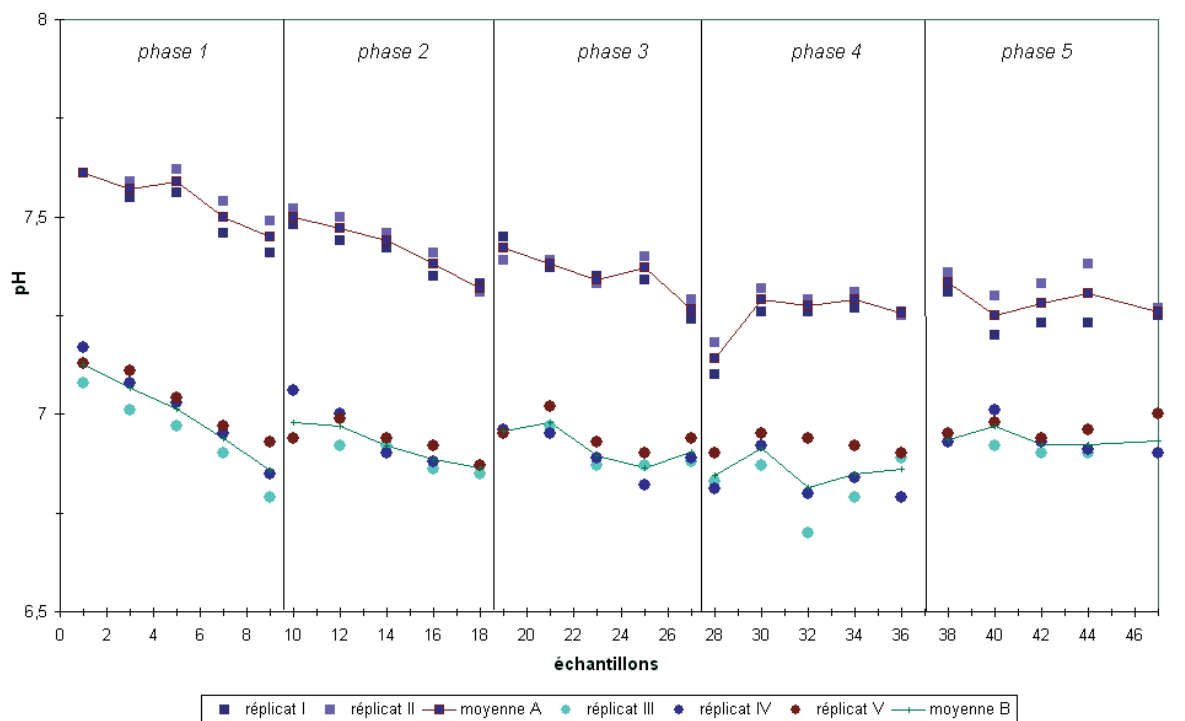


figure 5

Évolution du pH dans les échantillons de sortie de colonnes pendant les cinq phases d'alimentation. A = I et II : colonnes sans enrichissement nutritif. B = III, IV et V : colonnes avec enrichissement nutritif.



seule et celles où des éléments nutritifs ont été ajoutés à la solution. Néanmoins, aucune différence notable n'est observée entre les expériences menées avec le témoin.

Sur la **figure 6** est représentée l'évolution de la concentration en zinc en sortie des colonnes. On remarque qu'on ne retrouve quasiment aucune trace de zinc en sortie des colonnes quand aucun apport nutritif n'a été effectué. Ceci s'explique par les caractéristiques du sol (en particulier son pH alcalin). Néanmoins, lorsque le zinc est introduit conjointement avec des éléments nutritifs (milieu MN), on note un fort relargage à partir de la phase 2, c'est-à-dire vingt-quatre heures après le début de l'expérience. D'un point de vue hydraulique, la texture sableuse du sol de l'Isle d'Abeau rend l'écoulement aisé et on reste en régime permanent tout au long des cinq phases successives d'alimentation avec un débit de sortie, égal au débit d'entrée, de 7,2 ml/min.

Il ressort de ces expériences que 0,15 % de la quantité de zinc introduite dans les colonnes sont récupérés en sortie quand aucun élément nutritif n'est ajouté tandis que l'on récupère 16,2 % du métal introduit dans le cas de la stimulation de la flore microbienne. Une extraction totale du métal à l'eau régale en sommet et en pied de colonne révèle que le métal est essentiellement retenu en sommet des colonnes : avec milieu nutritif, les teneurs sont de 552 mg/kg de Zn en sommet de colonne et de 136 mg/kg en pied ; sans milieu nutritif, elles sont de 965 mg/kg en sommet de colonne et de 237 mg/kg en pied.

Le **tableau 3** rassemble les informations concernant les quantités de zinc retenues par le sol. Ces quantités sont déduites des courbes précédentes par intégration de la courbe moyenne. Ces résultats confirment la rétention presque totale du zinc par le sol en l'absence de stimulation microbienne.

En fin d'expérience, une numération bactérienne sur gélose nutritive, en sommet et en pied de colonne (**tableau 4**), confirme la faible toxicité du zinc (introduit sous forme de nitrate) vis-à-vis de la microflore indigène du sol (le diagnostic initial du sol avait permis de dénombrer 10^7 UFC/g de sol sec).

Cette numération met en outre en évidence la bonne répartition de cette microflore tout au long de la colonne de sol, aucune différence significative n'apparaissant entre les résultats trouvés en sommet et ceux obtenus en pied de colonnes.

figure 6
Évolution de la concentration en zinc dans les échantillons de sortie de colonnes pendant les cinq phases d'alimentation. A = I et II : colonnes sans enrichissement nutritif. B = III, IV et V : colonnes avec enrichissement nutritif.

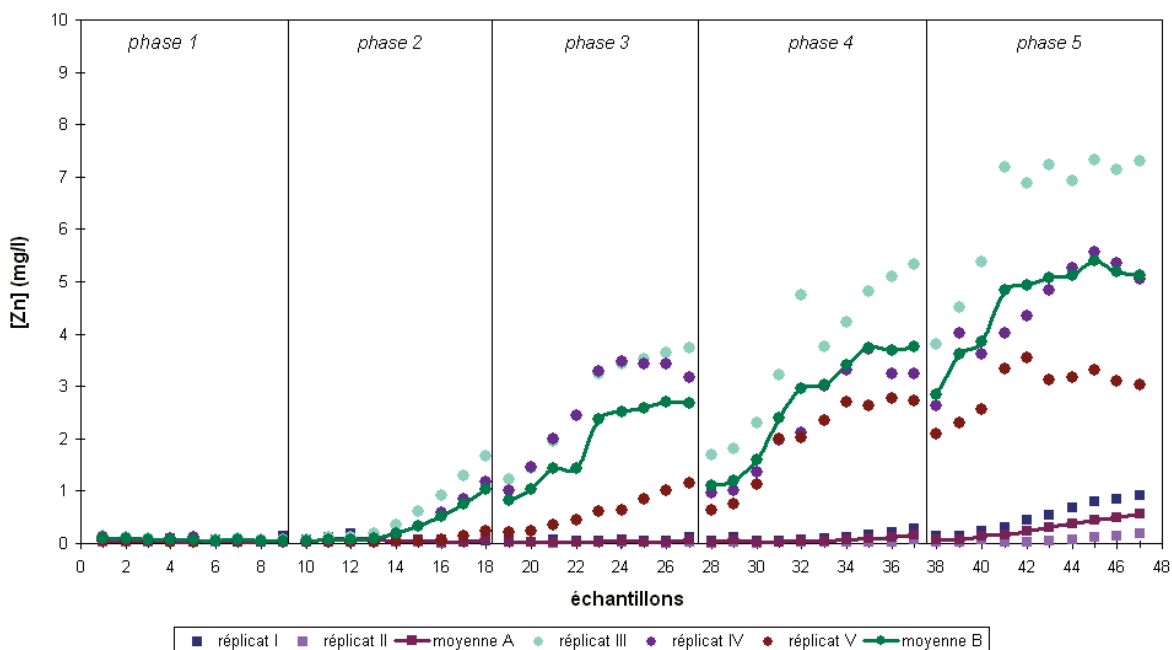


tableau 3
Quantité de zinc (en mg) retenue dans les colonnes du sol (IA) en fin d'expérience.

	Sans milieu nutritif	Avec milieu nutritif
Quantité de zinc introduite dans la colonne (en mg)	391,5	385
Quantité de zinc relarguée par la colonne (en mg)	0,58	62,41
Quantité de zinc retenue par le sol (en mg)	390,9	322,6
Pourcentage de zinc retenu	99,85	83,8

tableau 4
Numération bactérienne en sommet et en pied de colonne en fin d'expérience.

Bactéries (UFC)	Colonne I	Colonne II	Moyenne A	Colonne III	Colonne IV	Colonne V	Moyenne B
Sommet de colonne	3.86 10 ⁷	4.38 10 ⁷	4.12 10 ⁷	1.86 10 ⁹	2.14 10 ⁹	2.35 10 ¹⁰	9.17 10 ⁹
Pied de colonne	2.95 10 ⁷	5.35 10 ⁷	4.15 10 ⁷	6.33 10 ⁸	1.57 10 ⁹	5.30 10 ¹⁰	1.84 10 ¹⁰

DISCUSSION

■ Expérimentations en batchs

Pour les essais où seul du nitrate de zinc a été ajouté sans que la microflore soit stimulée, les mesures montrent une adsorption totale et immédiate du métal. Février [4] a montré qu'à forte concentration, le zinc était immobilisé dans ce sol essentiellement par précipitation avec les carbonates du sol et par échange cationique.

Lorsque la microflore est stimulée par un apport nutritif, le suivi de la concentration en zinc et celui du pH dans le surnageant indiquent un processus en deux phases : dans un premier temps, assez court, le métal est immobilisé, aussi bien du fait de la biomasse microbienne que de l'adsorption par les autres constituants du sol ; le métal est ensuite relargué assez rapidement presque totalement dans le surnageant lors de l'acidification du milieu.

L'acidification, amorcée après une dizaine de jours, indique que la biomasse globale utilise les nutriments qui sont à sa disposition pour se développer, ce qui rend clairement compte de l'importance de l'activité microbienne sur la remobilisation du zinc.

Le milieu nutritif tend à stimuler les micro-organismes zymogènes présentant un taux de croissance rapide [24]. Ainsi, il ne révèle pas l'action des micro-organismes qui utilisent un substrat composé de matière organique plus « récalcitrante ». Néanmoins, l'acidification observée après trente jours est bien à relier à l'activité microbienne.

Trois hypothèses peuvent être émises :

- une acidification imputable à l'excrétion par les micro-organismes hétérotrophes de métabolites acides qui participent à la solubilisation des métaux,
- une acidification consécutive à une solubilisation du CO₂ de la respiration microbienne,
- un processus de nitrification imputable à des bactéries chimiolithotrophes corrélé à une consommation d'ions NH₄⁺ qui entraînerait une baisse de pH [25].

■ Expérimentations en colonnes

Les micro-organismes hétérotrophes peuvent solubiliser des quantités importantes de métaux grâce aux acides dérivés de l'acide tricarboxylique et aux acides aminés qu'ils excrètent [26]. Ces deux groupes de composés fournissent des protons et une capacité complexante favorables à la solubilisation des métaux. Néanmoins, ce sont les acides carboxyliques qui apparaissent comme les agents lessivants principaux.

On peut avancer également une seconde hypothèse. Comme dans la plupart des sols, on peut supposer que l'apport du milieu nutritif a favorisé le développement de biofilms dans les colonnes mises

en place. Muris [9] a montré une capacité de rétention du zinc plus importante pour un biofilm bactérien que pour les mêmes cellules libres. Les expérimentations menées ont mis en évidence que ce biofilm pouvait être déstabilisé dans certaines conditions de milieu et ainsi entraîner un transfert du zinc par transport biocolloïdal. On peut supposer que ce mécanisme agit dans les expériences décrites dans cette étude : l'éluion du zinc qui n'est effective qu'à partir du troisième jour de l'expérience peut être reliée à la maturation du biofilm et à la dégradation d'une partie de celui-ci.

■ Comparaison batchs/colonnes

Les expériences en réacteurs fermés (batchs) sont souvent utilisées pour étudier la répartition des contaminants dans les différents compartiments du sol [27] et permettent d'observer l'influence de l'activité microbienne à plus long terme : les micro-organismes peuvent (après une cinquantaine de jours de développement) produire assez d'acides organiques ou libérer suffisamment de protons pour entraîner une acidification du milieu, même si celui-ci est fortement tamponné. Outre la microflore hétérotrophe ubiquiste généralement présente dans le sol, les bactéries susceptibles d'avoir une activité nitrifiante à partir des groupements aminés provenant des composés organiques utilisés jouent apparemment un rôle non négligeable dans ce processus. L'acidification observée peut alors s'accompagner d'un relargage de métaux : leur adsorption, dans un premier temps, est donc réversible.

Néanmoins, les conditions recréées dans le contexte de ces expériences s'éloignent considérablement des conditions de terrain où le sol est la phase stationnaire, traversée par le fluide où se trouve le contaminant. Le temps de contact est alors beaucoup plus bref et certaines réactions observées dans des réacteurs fermés n'auront probablement pas le temps d'être initiées. Il est donc nécessaire de comparer les résultats obtenus en réacteurs fermés à ceux d'une expérimentation en colonnes de laboratoire dans des conditions de transfert dynamique.

Par opposition aux expériences menées en batchs, le modèle expérimental de type colonne, système ouvert, permet l'étude de la dynamique du transfert de solutions de zinc à travers un lit fixe ; on simule ainsi à la fois le transport et les interactions chimiques et biochimiques. Ceci permet de recréer des situations où l'effet cinétique régule les interactions polluant-compartiments du sol.

Ces expériences correspondent à un contact de courte durée entre le métal et le sol. Le zinc est ainsi très fortement retenu du fait du faible rapport liquide/solide. Cette immobilisation du métal est alors d'autant plus forte que la concentration totale en ions de la solution initiale est faible : en effet, dans le cas contraire, d'autres cations de la solution sont susceptibles d'entrer en compétition avec le zinc sur les sites d'adsorption du sol.

Contrairement aux expérimentations menées en batch, l'influence des micro-organismes sur la mobilité du zinc est plutôt imputable à la capacité d'adsorption du biofilm stimulé par l'apport de nutriments organiques. La mobilité du zinc est alors liée à celle des bactéries.

Bien que les limites de cette approche résident dans la difficulté de transposer complètement les résultats obtenus à des conditions réelles de terrain, ces résultats permettent, en apportant des éléments objectifs, d'améliorer la compréhension des mécanismes extrêmement complexes qui sont mis en œuvre lors de la migration des métaux dans la zone non saturée du sol.

CONCLUSION : CONSÉQUENCES SUR LE FONCTIONNEMENT D'UN BASSIN D'INFILTRATION

L'infiltration des eaux pluviales est une technique largement utilisée dans l'Est lyonnais où le milieu géo-pédologique est constitué par un dépôt fluvio-glaciaire très perméable et carbonaté. L'Observatoire de terrain en hydrologie urbaine (OTHU) regroupe un certain nombre de laboratoires de recherche lyonnais (INSA de Lyon, université Lyon I, ENTPE, CEMAGREF...) avec le soutien de la région Rhône-Alpes, du Grand Lyon et de la direction de la recherche du ministère

de l'Équipement, et a pour objectif de comprendre et de décrire le fonctionnement des ouvrages d'assainissement (et notamment d'infiltration) sur le long terme pour agir en matière de conception, de gestion et de surveillance des systèmes.

Les expériences présentées ont montré comment les micro-organismes, stimulés par un apport nutritif, peuvent contribuer au transfert des métaux dans la zone non saturée du sol. Or, au cours de leur ruissellement, les eaux se chargent en composés organiques assimilables par les micro-organismes. Ces composés restent néanmoins mal caractérisés.

Ces résultats peuvent être transposés à deux situations de fonctionnement des ouvrages d'infiltration :

- le cas de fonctionnement usuel où l'eau de pluie s'infiltrerait rapidement : l'eau peut alors entraîner les polluants et éventuellement les micro-organismes qui se sont développés à la surface du bassin et atteindre éventuellement la nappe phréatique sous-jacente ;
- le cas d'un ouvrage en eau ou colmaté : le temps de contact entre l'eau de pluie chargée en contaminants et en nutriments peut favoriser des dynamiques de croissance microbienne longues et ainsi modifier les caractéristiques chimiques de la surface du bassin (acidification), ce qui peut conduire également par un mécanisme différent à la mobilisation du métal.

Des observations sur site réel dans le cadre de l'OTHU montrent une bonne corrélation entre l'abondance des micro-organismes et la présence de nutriments organiques. Cependant, aucune information sur l'évolution au cours du temps des caractéristiques de ces biofilms n'a pu être recueillie pour l'instant. Des travaux sont actuellement en cours pour approfondir ces aspects.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1 **CROSNIER J., DELOLME C.**, Infiltration de l'eau pluviale : influence des alternances de dessiccation / réhumectation sur le transfert du zinc en colonnes de sol. *Bulletin des laboratoires des ponts et chaussées*, **240**, **2002**, pp. 53-71.
- 2 **MARCOS L.**, *Étude expérimentale et modélisation du transfert du zinc et du plomb dans des milieux sableux modèles*. Thèse de doctorat, université de Nantes, Nantes, **2001**, 281 pages.
- 3 **LASSABATÈRE L., WINIARSKI T., GALVEZ-CLOUTIER R.**, The retention of three heavy metals (Zn, Pb and Cd) in a calcareous soil controlled by the modification of flow with geotextiles, *Env. Sci. Technol.*, **38**, **2004**, pp. 4215-4221.
- 4 **FÉVRIER L.**, *Transfert d'un mélange Zn-Cd-Pb dans un dépôt fluvio-glaciaire carbonaté. Approche en colonnes de laboratoire*. Thèse de doctorat, INSA Lyon, **2001**, 297 pages.
- 5 **WINIARSKI T., BEDELL J. P., DELOLME C., FATUS M., PERRODIN Y.**, Étude de la distribution spatiale des paramètres physico-chimiques et biologiques suivant un profil vertical dans un bassin d'infiltration d'eaux pluviales de l'Est Lyonnais. In proceedings *Conférence Internationale sur les Nouvelles Technologies en Assainissement pluvial. Novatech 25-27 juin 2001*, Lyon, vol. **51**, **2001**, pp. 751-758.
- 6 **NEALSON K. H., STAHL D. A.**, Microorganisms and biochemical cycles : what can we learn from layered microbial communities, *Geomicrobiology interactions between microbes and mineral*. K. H. Nealson, Mineral Society of America, **1998**, pp. 5-34.
- 7 **LEDIN M.**, Accumulation of metals by microorganisms - processes and importance for soil systems, *Earth-Science Reviews*, vol. **51**, **1**, **2000**, pp. 1-31.
- 8 **CHANG J.S., LAW R., CHANG C.C.**, Biosorption of lead, copper and cadmium by biomass of *Pseudomonas aeruginosa* PU 21, *Wat. Res.*, vol. **31**, **1997**, pp. 1651-1658.
- 9 **MURIS M.**, *Caractérisation du transport colloïdal du zinc en milieu sableux*. Thèse de doctorat, université Joseph Fourier, Grenoble, **2004**, 222 pages.
- 10 **HÉBRARD C., DELOLME C.**, Role of the biotic compartment in the transfer of zinc through the vadose zone - Application to an infiltration system, *Water Science and Technology*, vol. **39**, **2**, **1999**, pp. 209-215.
- 11 **CORAPCIOGLU M.Y., KIM S.**, Modeling facilitated contaminant transport by mobile bacteria. *Water Resource Research*, vol. **31**, **1995**, pp. 2639-2647.
- 12 **HANAKI K., WANTAWIN C., OHGAKI S.**, Effects of the activity of heterotrophs on nitrification in suspended-growth-reactor. *Wat. Res.*, vol. **24**, **1990**, pp. 289-296.
- 13 **DAVIS A.P., SHOKOUHIAN M. et NI S.**, Loading estimates of lead, copper, cadmium and zinc in urban runoff from specific sources, *Chemosphere*, vol. **44**, **5**, **2001**, pp. 997-1009.
- 14 **PARDO R., HERGUEDAS M., BARRADO E., VEGA M.**, Biosorption of cadmium, copper, lead and zinc by inactive biomass of *Pseudomonas putida*. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* vol. **376**, **1**, **2003**, pp. 26-32.
- 15 **LEGRET M., PAGOTTO C.**, Evaluation of Pollutant Loadings in the Runoff Waters from a Major Rural Highway, *The Science of the Total Environment*, **235**, **1999**, pp. 143-150.
- 16 **BURTON G., PITT R.**, Stormwater effects handbook. A toolbox for watershed managers, scientists and engineers, Lewis publishers, **2002**, 929 pages.

- 17 RUBAN V., *Caractérisation et gestion des sédiments de l'assainissement pluvial*, ERLPC EG 19, 2005, 151 pages.
- 18 CHANMUGATHAS P., BOLLAG J.M., Microbial role in immobilization and subsequent mobilization of cadmium in soil suspensions, *Soil Sci. Soc Am. J.*, vol. 51, 1987, pp. 1184-1191.
- 19 SIGG L., STUMM W., BEHRA P., Chimie des milieux aquatiques. Chimie des eaux naturelles et des interfaces dans l'environnement, Masson, 1992, 391 pages.
- 20 YONG R.N., MOHAMED A.M.O., WARKENTIN B.P., Principles of contaminant transport in soils, Elsevier, 1992, 327 pages.
- 21 LORCH H.J., BENCKIESER G., OTTOW J.C.G., Basic methods for counting microorganisms in soil and water. In : Alef K. & Nannipieri P. (Eds), *Methods in Applied Soil Microbiology and Biochemistry*, Academic Press, 1995, pp. 146-161.
- 22 FIGUEORA L.A., SILVERSTEIN J., The effect of particulate organic matter on biofilm nitrification, *Wat. Environ. Res.*, vol. 64, 5, 1992, pp. 728-733.
- 23 GRADY C.P.L., LIM H.C., *Biological waste water treatment : theory and application*, Marcel Dekker (Ed) New York, 1980, pp. 787-827.
- 24 VAN GESTEL M., MERCKX R., VLASSAK K., Microbial biomass responses to soil drying and rewetting : the fate of fast- and slow-growing microorganisms in soils from different climates, *Soil Biol. Biochem.*, vol. 25, 1993, pp. 109-123.
- 25 AKKUNA J.C., *Dépollution azotée des effluents méthanisés*, Thèse de doctorat. Université Paris XII, 1993, 161 pages.
- 26 MÜLLER B., BURGSTALLER W., STRASSER H., ZANELLA A., SCHINNER F., Leaching of zinc from an industrial filter dust with Penicillium, Pseudomonas and Corynebacterium : citric acid is the leaching agent rather than amino acids, *J. Indust. Microbiol.*, 1995, pp. 208-212.
- 27 ALLEN H.E., CHEN Y.T., LI Y., HUANG C. P., Soil partition coefficients for Cd by column desorption and comparison to batch adsorption measurements, *Env. Sci. Technol.*, vol. 29, 8, 1995, pp. 1887-1891.