



**HAL**  
open science

## **PIEGEAge des Composés Halogénés Lipophiles Organiques Rémanents (PIEGEACHLOR)**

Giovanni Caria, Nathalie Cheviron, Thérèse de Caldas, Matthieu Delannoy,  
Nathalie Demont-Caulet, Cyril Feidt, Franck Marot, Christian Mougin,  
Séverine Piutti, Nadège Laure Simon, et al.

► **To cite this version:**

Giovanni Caria, Nathalie Cheviron, Thérèse de Caldas, Matthieu Delannoy, Nathalie Demont-Caulet, et al.. PIEGEAge des Composés Halogénés Lipophiles Organiques Rémanents (PIEGEACHLOR). [Rapport de recherche] ENSAIA. 2021. hal-03818090

**HAL Id: hal-03818090**

**<https://hal.science/hal-03818090>**

Submitted on 17 Oct 2022

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

# PIEGEAge des Composés Halogénés Lipophiles Organiques Rémanents

---

PIEGEACHLOR  
Rapport de fin de projet

---

EXPERTISES

14  
avril  
2021

## REMERCIEMENTS

Pour la participation au consortium de recherche, l'encadrement des phases expérimentales et la rédaction des parties de rapport associées, sont remerciés :

**M. Caria Giovanni** (INRAe, Laboratoire d'Analyse des Sols (LAS), Essais de disponibilité environnementale, caractérisation des sols, parties 7.2.1, 8.4.1)

**Mme Cheviron Nathalie** (INRAe, UMR ÉcoSys – plateforme BIOCHEM-ENV, réalisation des études enzymatiques sur le microbiote du sol, partie 7.3.3)

**Mme De Caldas Thérèse** (INRAe, UMR ÉcoSys (Écologie fonctionnelle et écotoxicologie des agroécosystèmes), isothermes de sorption et désorption, transfert vers les lombriciens et radis, évaluation de l'effet sur les lombriciens parties 7.2.2, 7.3.1 et 8.5.1, compilation et mise en forme du document)

**M Delannoy Matthieu** (Université de Lorraine, UR AFPA – Plateforme Bio-DA, co-pilotage scientifique du projet, parties 2, 4, 5, 7.2.4, 7.4, 7.5 et 8.4.3)

**Mme Demont-Calet Nathalie** (INRAe, UMR ÉcoSys, isothermes de sorption et désorption, transfert vers les lombriciens et radis, évaluation de l'effet sur les lombriciens parties 7.2.2, 7.3.1 et 8.5.1)

**M. Feidt Cyril** (Université de Lorraine, UR AFPA - Plateforme Bio-DA, pilotage scientifique du projet, parties 1, 3, 9.1 ainsi que l'introduction, conclusion et résumé, relecture du document)

**M. Mougin Christian** (INRAe, UMR ÉcoSys, isothermes de sorption et désorption, transfert vers les lombriciens et radis, évaluation de l'effet sur les lombriciens parties 7.2.2, 7.3.1 et 8.5.1)

**Mme Piutti Séverine** (Université de Lorraine – INRAe, UMR LAE (Laboratoire Agronomie et Environnement), évaluation du transfert aux courgettes, évaluation de l'effet sur le microbiote, synthèse sur la pérennité des matériaux séquestrants, parties 7.2.3, 7.3.3, 8.4.2, 9.2)

**Mme Simon Nadège** (Société CARBOFRANCE, production des matériaux carbonés type biochar)

**Mme Slezack Sophie** (Université de Lorraine – INRAe, UMR LAE, évaluation du transfert aux courgettes, évaluation de l'effet sur le microbiote, synthèse sur la pérennité des matériaux séquestrants, parties 7.2.3, 7.3.3, 8.4.2, 9.2)

**M. Woignier Thierry** (UMR Université Aix Marseille - CNRS - IRD - Avignon Université, IMBE, caractérisation des matériaux carbonés, caractérisation des sols antillais, parties 6.1 et 8.2)

Pour l'appui technique, la participation à la rédaction des parties de rapport associées, l'appui à l'encadrement de parties expérimentales, sont remerciés :

**Mme. Noële Enjelvin** (Université de Lorraine - INRAe, Laboratoire Sol et Environnement (LSE) – Plateforme GisFi (Groupement d'intérêt scientifique sur les friches industrielles), réalisation des sols artificiels et préparation des sols naturels, parties 7.1, 8.28.3)

**Mme. Claire Soligot** (Université de Lorraine, UR AFPA – Plateforme Bio-DA – Plateforme PASM, réalisation des sols artificiels et analyses de la chlordécone issus de la disponibilité environnementale, parties 7.1, 7.2.1, 8.28.3 et 8.4.1.2.2)

**Mme Hartmeyer Paméla** (Université de Lorraine, UR AFPA – Plateforme Bio-DA, réalisation des sols artificiels et analyses de la chlordécone issus de la disponibilité environnementale, parties 8.3 et 8.4.1.2.2)

**Mme El Wanny Nadine** (Université de Lorraine, UR AFPA, conduite des expérimentations *in vivo* et co-rédaction partie 7.2.4 et 8.4.3)

**Mme Fournier Agnès** (Université de Lorraine, UR AFPA, appui à l'encadrement des expérimentation *in vivo*, partie 7.2.4 et 8.4.3)

**M. Le Roux Yves** Université de Lorraine, UR AFPA, expertise et analyse de données de la parties 7.2.4)

Pour avoir fourni le sol de St Cyprien :

**Mme Perronnet Karen** (INERIS, partie 8.1)

Pour avoir suivi et piloter le déroulé du projet :

**M. Franck Marot** (ADEME)

## CITATION DE CE RAPPORT

**Auteur(s) personnes physiques et /ou morales, (éventuellement ADEME si contribution intellectuelle au projet ; nota bene:** la copropriété des résultats ADEME/bénéficiaire peut être un indice de contribution effective de l'ADEME). **Année de publication.** Titre du Rapport. Nombre de pages.

Si plusieurs auteurs, les séparer par une virgule suivi d'un espace

Si le rapport est en ligne ajouter :

Cet ouvrage est disponible en ligne [www.ademe.fr/mediatheque](http://www.ademe.fr/mediatheque)

Toute représentation ou reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite selon le Code de la propriété intellectuelle (art. L 122-4) et constitue une contrefaçon réprimée par le Code pénal. Seules sont autorisées (art. 122-5) les copies ou reproductions strictement réservées à l'usage privé de copiste et non destinées à une utilisation collective, ainsi que les analyses et courtes citations justifiées par le caractère critique, pédagogique ou d'information de l'oeuvre à laquelle elles sont incorporées, sous réserve, toutefois, du respect des dispositions des articles L 122-10 à L 122-12 du même Code, relatives à la reproduction par reprographie.

#### Ce document est diffusé par l'ADEME

##### ADEME

20, avenue du Grésillé  
BP 90 406 | 49004 Angers Cedex 01

Numéro de contrat : XXXXXXXXXX

Supprimer les mentions ci-dessous si inutiles :

##### Si marché

Étude réalisée pour le compte de l'ADEME par : XXXX

Coordination technique - ADEME : NOM Prénom ingénieur

Direction/Service : XXXXX

##### Si convention

Étude réalisée par (noms des auteurs et co-financeurs éventuels) pour ce projet financé ou cofinancé par l'ADEME

(si projet de recherche sans lien avec appel à projet) Projet de recherche coordonné par : XXXX

(si projet de recherche en lien avec appel à projet) Projet de recherche coordonné par : XXXXXXXX

Appel à projet de recherche : XXXX

Coordination technique - ADEME : NOM Prénom ingénieur

Direction/Service : XXXXX

# SOMMAIRE

<b>RÉSUMÉ.....</b>	<b>9</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>10</b>
<b>1. CONTEXTE DU PROJET .....</b>	<b>11</b>
1.1. Contexte environnemental et enjeux économiques sociétaux .....	11
1.2. Positionnement du présent projet .....	12
<b>2. ETAT DE L'ART .....</b>	<b>13</b>
<b>2.1. De la production à l'adsorption : les biochars et charbons actifs des matrices d'intérêt dans la gestion des sols contaminés .....</b>	<b>13</b>
2.1.1. La production des Biochars .....	13
2.1.2. Mécanismes de sorption des polluants organiques aux biochars.....	15
2.1.2.1. Généralités .....	15
2.1.2.1.1. Sorption par partition de phase et adsorption .....	16
2.1.2.1.2. Influence de la température de pyrolyse sur les propriétés.....	17
2.1.2.1.3. Surface spécifique et distribution de porosité.....	19
2.1.2.1.4. Cas de la chlordécone .....	20
2.1.3. Essais de séquestration dans le sol et les sédiments : approches de laboratoire et <i>in situ</i> .....	22
2.1.3.1. Influence des caractéristiques du charbon actif et de la taille des particules sur les capacités de séquestration de contaminants .....	23
2.1.3.2. Effets de la dose de charbon actif sur la capacité de séquestration des contaminants organiques	24
2.1.3.3. Effets du mélange vs dépôt de surface .....	24
2.1.3.4. Essais <i>in situ</i> et modélisation des effets.....	25
2.1.3.4.1. Validation d'un modèle de transfert de masse des PCB en conditions environnementales ..	26
2.1.3.4.2. Effets des phénomènes de compétition d'adsorption avec la matière organique naturelle sur la séquestration.....	27
2.1.3.4.3. Effet des courants advectifs d'eau interstitielle .....	28
2.1.3.4.4. Stabilité de l'apport en charbon actif .....	28
2.1.3.4.5. Hétérogénéité de la répartition des amendements en charbon actif .....	28
2.1.3.4.6. Réduction des teneurs en PCB (bio)disponibles sur le long terme .....	29
2.1.4. Essais sur sols .....	29
<b>3. OBJECTIFS ET ENJEUX DU PROJET PIEGEACHLOR .....</b>	<b>31</b>
3.1. Objectifs du projet .....	31
3.2. Démarche et structure du projet.....	32
3.3. Présentation du consortium et les compétences mobilisées .....	33
<b>4. PRODUCTION DES MATRICES CARBONEES ET ESSAIS PRELIMINAIRES .....</b>	<b>35</b>
4.1. Positionnement et objectifs de l'étude .....	35
4.2. Schéma expérimental et production des matières carbonées .....	36
4.2.1. Schéma expérimental.....	36
4.2.2. Production des matières carbonées.....	36
4.2.3. Méthodes de caractérisation des matrices et de l'évaluation du transfert .....	39
4.2.3.1. Caractérisation des matériaux condensés .....	39

4.2.3.2.	Fabrication du sol artificiel.....	39
4.2.3.3.	Détermination de la disponibilité environnementale.....	39
4.2.3.4.	Détermination de la biodisponibilité relative .....	39
4.2.3.4.1.	Expérimentation animale.....	39
4.2.3.4.2.	Échantillonnage .....	40
4.2.3.4.3.	Quantification des polluants.....	40
4.2.3.5.	Analyse des données et traitements statistiques .....	40
4.2.3.5.1.	Contrôle de qualité .....	40
4.2.3.5.2.	Disponibilité et concentrations tissulaires de CLD.....	40
4.2.3.5.3.	Calcul des estimations de la biodisponibilité relative (RBA) .....	40
4.2.4.	Résultats.....	40
4.2.4.1.	Méthodes de caractérisation des matrices et de l'évaluation du transfert.....	40
4.2.4.2.	Disponibilité environnementale du CLD dans le sol.....	41
4.2.4.3.	Biodisponibilité relative de la Chlordécone .....	41
4.2.5.	Discussion.....	43
4.2.5.1.	Évaluation de la disponibilité et de la biodisponibilité relative .....	43
4.2.5.2.	Efficacité de séquestration des biochars vs celle des charbons actifs .....	44
4.2.6.	Conclusion.....	45
<b>5.</b>	<b>INTEGRATION DES RESULTATS DE LA PRE-ETUDE DANS LA DEMARCHE GLOBALE DU PROJET .....</b>	<b>46</b>
5.1.	Production de biochar à partir de renouée du Japon .....	46
5.2.	Production à façon de charbons activés .....	46
5.3.	Synthèse des matrices carbonées choisies et mise à jour de la démarche.....	47
<b>6.</b>	<b>CARACTERISATION DES MATRICES HAUTEMENT CARBONEES.....</b>	<b>48</b>
6.1.	Caractéristiques poreuses des biochars et charbons actifs.....	48
6.1.1.	Techniques de mesures.....	48
6.1.1.1.	Mesure de surface spécifique par BET.....	48
6.1.1.2.	Mesure de la distribution en taille de pores par l'analyse BJH .....	48
6.1.2.	Résultats.....	48
6.1.2.1.	Surface spécifique mesurée par BET.....	48
6.1.2.2.	Résultats de distribution en taille de pores par analyse BJH .....	49
6.1.2.2.1.	Charbon actif CA1 (Roth réf. 5966.2).....	49
6.1.2.2.2.	Charbon actif CA2 (Roth réf. X5963.2).....	49
6.1.2.2.3.	Charbon actif CA3 (Roth réf. X865.3).....	50
6.1.2.2.4.	Biochars BC1 et BC2 (respectivement Chêne 500°C et Chêne 700°C) .....	51
6.1.2.2.5.	Biochar BC3 (Renouée 700°C).....	52
6.1.3.	Conclusion sur la caractérisation de porosité. ....	53
<b>7.</b>	<b>SCREENING DES MATRICES CARBONEES PRODUITES : ESSAIS SUR SOLS ARTIFICIELS</b>	<b>54</b>
7.1.	Choix des concentrations représentatives et préparation des sols artificiels .....	54
7.1.1.	Les sols contaminés aux PCB et aux Dioxines/Furanes .....	54
7.1.2.	Les sols contaminés à la CLD .....	55
7.1.3.	Modalités des préparations des sols artificiels .....	55
7.1.4.	Qualité : concentrations retrouvées par un laboratoire indépendant.....	56
7.2.	Évaluation du transfert .....	57
7.2.1.	Disponibilité environnementale.....	57
7.2.1.1.	Principe .....	57
7.2.1.2.	Préparation des échantillons .....	57
7.2.1.3.	Détermination de la teneur en eau.....	57

7.2.1.4.	Extraction à la Cyclodextrine.....	57
7.2.1.4.1.	Extraction des sols .....	57
7.2.1.4.2.	Séparation des phases .....	57
7.2.1.5.	Dosage des extraits par GC-HRMS .....	58
7.2.1.6.	Limites de quantification .....	58
7.2.1.6.1.	PCB-NDLet PCB-DL .....	58
7.2.1.6.2.	PCDD/F.....	58
7.2.1.7.	Résultats .....	58
7.2.1.7.1.	PCB 101, 138, 153 et 180.....	59
7.2.1.7.2.	La chlordécone .....	59
7.2.2.	Transfert vers les lombriciens et les radis .....	60
7.2.2.1.	Méthodologie.....	61
7.2.2.1.1.	Matériels biologiques .....	61
7.2.2.1.2.	Sol artificiel OCDE et matrices carbonées.....	61
7.2.2.1.3.	Composés organochlorés radiomarqués .....	62
7.2.2.1.4.	Dispositif expérimental.....	62
7.2.2.2.	Cinétique d'adsorption (ligne directrice OCDE n° 106).....	63
7.2.2.3.	Adsorption et cinétique de désorption (ligne directrice OCDE n° 106) .....	63
7.2.2.3.1.	Mesure de la teneur en carbone 14 .....	64
7.2.2.3.2.	Extraction.....	64
7.2.2.3.3.	Détermination de la radioactivité .....	64
7.2.2.3.4.	Analyse morphologique et physiologique des vers de terre et des radis .....	64
7.2.2.4.	Résultats.....	64
7.2.2.4.1.	Cinétiques de sorption .....	64
7.2.2.4.2.	Bilan de la répartition.....	65
7.2.2.4.2.1.	Minéralisation des polluants .....	65
7.2.2.4.3.	Fraction extractible .....	65
7.2.2.4.4.	Fraction non extractible.....	65
7.2.2.4.5.	Survie et effets morphologiques sur les vers de terre .....	66
7.2.2.4.6.	Croissance de <i>Raphanus sativus</i> .....	67
7.2.2.5.	Discussion .....	67
7.2.3.	Transfert vers la courgette .....	69
7.2.3.1.	Introduction .....	69
7.2.3.2.	Dispositif expérimental .....	70
7.2.3.3.	Extraction des végétaux et analyse des végétaux.....	71
7.2.3.4.	Résultats.....	71
7.2.3.5.	Conclusion.....	72
7.2.4.	Transfert vers la poule pondeuse.....	72
7.2.4.1.	Matériel et Méthodes .....	73
7.2.4.1.1.	Production, caractérisation de matériaux condensés, fabrication des sols artificiels .....	73
7.2.4.1.2.	Expérimentation animale.....	73
7.2.4.1.3.	Echantillonnage .....	73
7.2.4.1.4.	Quantification des contaminants.....	73
7.2.4.1.5.	Analyse des données .....	74
7.2.4.2.	Résultats.....	74
7.2.4.2.1.	Concentrations.....	74
7.2.4.3.	Discussion des résultats obtenus .....	76
7.2.4.4.	Conclusion.....	81
<b>7.3.</b>	<b>Evaluation de l'innocuité .....</b>	<b>82</b>
7.3.1.	Tests sur lombriciens.....	82
7.3.2.	Méthodologie.....	83
7.3.2.1.1.	Matériel biologique.....	83

7.3.2.1.2.	Sol artificiel et matrices carbonées .....	83
7.3.2.1.3.	Exposition d’Aporrectodea caliginosa.....	83
7.3.2.1.4.	Préparation des échantillons de vers de terre pour la mesure des indicateurs physiologiques	83
	2	
7.3.2.1.5.	Mesure des activités enzymatiques.....	83
7.3.2.1.6.	Mesure des réserves énergétiques .....	84
7.3.2.2.	Résultats.....	84
7.3.2.2.1.	Analyse de l’effet des contaminants sur la physiologie des VDT .....	85
7.3.2.2.2.	Analyse de l’effet des matrices sur la physiologie des VDT .....	85
7.3.2.2.3.	Analyse de l’effet séquestrant des matrices vis-à-vis des contaminants.....	85
7.3.2.2.4.	Cas des PCB/dioxines/furanes .....	85
7.3.2.2.5.	Cas de la Chlordécone.....	86
7.3.2.3.	Discussion .....	87
7.3.3.	Effets sur le microbiote du sol.....	87
7.3.3.1.	Introduction .....	87
7.3.3.2.	Préparation de l’inoculum.....	88
7.3.3.3.	Structure des communautés microbiennes .....	89
7.3.3.4.	Activités enzymatiques des sols.....	89
<b>7.4.</b>	<b>Synthèse .....</b>	<b>98</b>
<b>7.4.1.</b>	<b>Transfert : critères définissant l’efficacité de la méthode .....</b>	<b>98</b>
<b>7.4.2.</b>	<b>Transfert : effets des propriétés des molécules et des charbons sur les résultats obtenus .....</b>	<b>99</b>
<b>7.4.3.</b>	<b>Transfert : différences entre les essais.....</b>	<b>100</b>
<b>7.4.4.</b>	<b>Innocuité .....</b>	<b>101</b>
<b>7.5.</b>	<b>Sélection des matrices pour les essais sols naturels .....</b>	<b>102</b>
<b>8.</b>	<b>EFFET DES MATRICES CARBONEES : ESSAIS SUR SOL NATUREL .....</b>	<b>103</b>
<b>8.1.</b>	<b>Choix du sol contaminé aux PCB et PCDD/F .....</b>	<b>103</b>
<b>8.2.</b>	<b>Sols contaminés à la chlordécone .....</b>	<b>103</b>
8.2.1.	Choix des parcelles.....	103
8.2.2.	Caractérisation minéralogique des sols .....	105
8.2.3.	Caractérisation par spectroscopie des sols allophaniques (andosol) et sols à halloysite (nitisol) ....	105
8.2.3.1.	Diffraction des Rayons X .....	105
8.2.3.2.	Spectroscopie Infra Rouge (IR).....	106
8.2.4.	Composition chimique des sols.....	107
8.2.5.	Séchage hypercritique.....	107
8.2.6.	Microscopie électronique à balayage .....	107
8.2.7.	Caractéristiques poreuses des andosols .....	108
8.2.8.	Caractérisation de la structure fractale des andosols par les techniques de diffusion centrale de rayonnements (SAXS) .....	109
8.2.9.	Concentrations en chlordécone dans les échantillons de nitisol et d’andosol .....	109
<b>8.3.</b>	<b>Préparation du sol en vue de l’expérimentation .....</b>	<b>110</b>
<b>8.4.</b>	<b>Evaluation du transfert .....</b>	<b>111</b>
8.4.1.	Essais de disponibilité environnementale.....	111
8.4.1.1.	Matériel et Méthodes .....	111
8.4.1.2.	Résultats.....	111
8.4.1.2.1.	Sol de Saint Cyprien .....	111
8.4.1.2.2.	Sols Antillais .....	111
8.4.1.3.	Conclusion.....	112
8.4.2.	Transfert vers la courgette.....	113
8.4.2.1.	Résultats.....	113
8.4.2.2.	Conclusion.....	113



8.4.3.	Transfert vers la poule pondeuse.....	114
8.4.3.1.	Introduction .....	114
8.4.3.2.	Matériel et Méthodes .....	114
8.4.3.2.1.	Design Expérimental .....	114
8.4.3.2.2.	Amendement du sol et maturation .....	114
8.4.3.2.3.	Evaluation du transfert des polluants à l'animal .....	114
8.4.3.3.	Résultats.....	115
8.4.3.3.1.	Concentrations.....	115
8.4.3.3.2.	Biodisponibilité relative des contaminants et taux de réduction .....	116
8.4.3.1.	Conclusion.....	118
<b>8.5.</b>	<b>Evaluation de l'innocuité .....</b>	<b>119</b>
8.5.1.	Tests sur lombriciens.....	119
<b>9.</b>	<b>DISCUSSION .....</b>	<b>120</b>
9.1.	Produire en zone contaminée : qu'attendre en termes de réduction du transfert et donc du risque .	120
9.2.	Pérennité de la séquestration attendue.....	121
<b>10.</b>	<b>CONCLUSION .....</b>	<b>126</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>127</b>
	<b>INDEX DES TABLEAUX ET FIGURES .....</b>	<b>138</b>
	<b>SIGLES ET ACRONYMES .....</b>	<b>141</b>

## RÉSUMÉ

*Le projet Piegeachlor s'est donné pour objectif de réduire la disponibilité des plusieurs familles de contaminants organochlorés retrouvés dans les sols. Les contaminants retenus sont les polychlorobiphényles, les polychloro-dibenzo-dioxines et furanes, ainsi que la chlordécone. L'hypothèse initiale du projet était que des matrices carbonées issues de pyrolyse de ligneux telles que des biochars pouvaient jouer un rôle de séquestration. Suite à des tests préliminaires, il s'est avéré que ces matrices avaient d'une part des caractéristiques assez similaires et ce malgré la mobilisation de ligneux d'origine différente et l'utilisation de 2 températures de pyrolyse (500 et 700°C) et d'autre part un pouvoir de rétention très limité. De nouvelles matrices carbonées ont alors été introduites, en particulier des charbons activés. Ces derniers ne pouvant être produits par le partenaire industriel ont été achetés dans le commerce mais caractérisés avec la même rigueur que les biochars initiaux. Les propriétés de séquestration ont été testées en mobilisant plusieurs méthodologies. La première est basée sur une approche in vitro, qualifiant la disponibilité environnementale. Elle simule la capacité d'un milieu aqueux à désorber les polluants. Les autres utilisaient un biote cible (ver, radis, courgette, poule) pour déterminer la biodisponibilité relative de chacun des contaminants en fonction de la matrice carbonée utilisée. Ces approches ont été appliquées d'abord sur des sols artificiels de type OCDE avec de la tourbe comme matière organique endogène. Après une sélection des matrices carbonées les plus performantes en termes de séquestration, une partie des tests précédemment décrits a été appliquée sur des sols naturels prélevés en métropole (Saint-Cyprien) et en Martinique (Morne-Rouge, Trinité), respectivement contaminé en PCB+PCDD/F et en CLD. Sur les sols artificiels des tests d'innocuité ont été menés sur le microbiote et les vers de terre.*

*Il ressort principalement du projet une interaction entre type de test (disponibilité environnementale ou biodisponibilité relative suivant l'organisme cible), matrice carbonée utilisée (10 ont été utilisées au moins une fois) et les contaminants. Pour ces derniers l'effet dépasse la famille d'appartenance, notamment au sein des PCB. Il a pu être montré que la structure de la molécule, au travers d'un gradient de polarité ou d'encombrement stérique pouvait être à l'origine de comportements très différents. La famille des PCDD/F est celle qui a le mieux répondu en tout cas chez la poule. Pour les matrices carbonées il apparaît clairement que la microporosité (abondance de pores d'une taille de l'ordre du nm) est une condition nécessaire à la bonne séquestration des contaminants. C'est principalement cette propriété qui explique la différence d'efficacité entre biochars et charbons activés.*

*Enfin une étude bibliographique a permis de montrer que le choix de matrices carbonées hautement condensées de type charbon activé correspondait à une forme de carbone récalcitrante à la biodégradation dans les sols, ce qui signifie à la fois une capacité étendue dans le temps à séquestrer les contaminants d'intérêt mais aussi un stockage de carbone sur un temps long. Si les aspects économiques de cette stratégie n'ont pas été investigués, il faut dès lors souligner que ce service environnemental devrait être déduit du coût global.*

*En termes de perspective, un développement de tests adaptés pour l'évaluation de l'innocuité est nécessaire car la matrice carbonée est suspectée interagir avec le bon déroulement des tests enzymatiques classiques et ainsi biaiser les résultats. De même le taux d'incorporation de la matrice carbonée n'a pas été testé dans le projet pour cause de démultiplication des modalités mais maintenant que certaines matrices ont été identifiées pour leur pouvoir séquestrant il serait opportun de chercher à optimiser celui-ci, voire à le réduire afin de limiter les effets délétères pour la vie du sol.*

## ABSTRACT

*The objective of the Piegeachlor project is to reduce the availability of several families of organochlorine contaminants found in soils. The selected contaminants are polychlorinated biphenyls, polychlorinated dibenzodioxins and furans, as well as chlordecone. The initial hypothesis of the project was that carbonaceous matrices resulting from pyrolysis of woody plants such as biochars could play a role of sequestration for this purpose. Following preliminary tests, it turned out that these matrices had on the one hand rather similar characteristics and this in spite of the mobilization of ligneous of different origin and the use of 2 temperatures of pyrolysis (500 and 700°C) and on the other hand a very limited capacity of retention. New carbonaceous matrices were then introduced, in particular activated carbons. The latter could not be produced by the industrial partner and were purchased commercially but characterized with the same rigor as the initial biochars. The sequestration properties were tested using several methodologies. The first one is based on an in vitro approach, qualifying the environmental availability. It simulates the capacity of an aqueous medium to desorb pollutants. The others used a target biota (worm, radish, zucchini, chicken) to determine the relative bioavailability of each contaminant according to the carbon matrix used. These approaches were first applied to OECD-type artificial soils with peat as endogenous organic matter. After a selection of the best performing carbonaceous matrices in terms of sequestration, part of the previously described tests were applied on natural soils collected in France (Saint-Cyprien) and in Martinique (Morne-Rouge, Trinité), respectively contaminated with PCB+PCDD/F and CLD. On the artificial soils, safety tests were conducted on the microbiota and earthworms.*

*The project mainly shows an interaction between the type of test (environmental availability or relative bioavailability depending on the target organism), the carbon matrix used (10 were used at least once) and the contaminants. For the latter, the effect goes beyond the family to which they belong, particularly within the PCBs. It has been shown that the structure of the molecule, through a gradient of polarity or steric hindrance, could be at the origin of very different behaviors. The PCDD/F family is the one that responded best, at least in hens. For carbonaceous matrices, it is clear that microporosity (abundance of pores of the order of nm in size) is a necessary condition for good sequestration of contaminants. It is mainly this property that explains the difference in efficiency between biochars and activated carbons.*

*Finally, a bibliographic study has shown that the choice of highly condensed carbonaceous matrices of the activated carbon type corresponds to a form of carbon that is recalcitrant to biodegradation in soils, which means both an extended capacity over time to sequester the contaminants of interest and also a long term carbon storage. If the economic aspects of this strategy have not been investigated, it should be stressed that this environmental service should be deducted from the overall cost.*

*In terms of perspective, a development of adapted tests for the evaluation of the innocuity is necessary because the carbon matrix is suspected to interact with the good progress of the classic enzymatic tests and thus to bias the results. Similarly, the incorporation rate of the carbonaceous matrix was not tested in the project because of the multiplication of the modalities, but now that certain matrices have been identified for their sequestering power, it would be appropriate to try to optimize it, or even to reduce it in order to limit the deleterious effects on soil life*

# 1. Contexte du projet

---

Pour des sols contaminés par des polluants organiques persistants halogénés, de faibles teneurs suffisent à engendrer des risques écotoxicologiques ou sanitaires du fait de la forte toxicité de ces molécules et de leurs propriétés de bioaccumulation. La vigilance sanitaire montre qu'un peu partout en France et en dehors de sites clairement identifiés sur leur historique des dépassements de niveaux réglementaires dans les œufs de consommation peuvent avoir lieu (cas pour les dioxines, les PCB, la chlordécone ou l'hexabromocyclododécane). Ces sols ont un usage de production alimentaire déjà établi, d'ordre professionnel ou non représentent des surfaces non minimes et l'on ne peut imaginer appliquer des solutions de traitement ex situ (volume, efficacité compte-tenu de la relative faible teneur en polluants), les solutions de dégradation in situ sont aujourd'hui inopérantes. L'enjeu du projet est de proposer un mode de gestion in situ, basé sur la séquestration de ces molécules organiques halogénées persistantes par l'apport de matière organique condensée. Il s'agit donc d'un développement expérimental visant une classe particulière de polluants du sol mais qui comporte une importante acquisition de connaissances sur les interactions entre ces polluants (aux propriétés variées) et une palette de MO candidates. La réduction des effets à un niveau acceptable est visée en termes de risque sanitaire mais également en termes d'écotoxicité, la solution proposée doit intégrer et résoudre ces deux aspects.

## 1.1. Contexte environnemental et enjeux économiques sociétaux

Les sols rendent de très nombreux services et sont un support essentiel à la vie sur terre. Les activités anthropiques ont généré de nombreuses dégradations des sols, dont une des mesures retenues est souvent la présence de contaminants. Ainsi, la base de données BASOL recense, au 31 décembre 2015, 6315 sites, tous caractérisés par la présence de polluants. Ces derniers sont majoritairement des éléments traces métalliques (ETM), mais de nombreux sites sont également touchés par des polluants organiques, dominés par les hydrocarbures (18%), les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP pour 8%) et des composés halogénés (9%), dont un tiers par des polychlorobiphényles (PCB) et des polychloroterphényles (PCT). Cette vision de la pollution est néanmoins inhérente au système BASOL et à ses objectifs. L'état des sols de France (Gis Sol 2011) montrent que de nombreux sols en dehors d'anciens sites industriels sont affectés par des polluants, qui présentent des teneurs significativement supérieures au bruit de fond et peuvent générer des phénomènes d'écotoxicité par exposition directe ou par transfert trophique (empoisonnement secondaire). Lorsque l'Homme est le maillon "final" de la chaîne trophique, un risque sanitaire non tolérable peut être généré et remettre en question le service écosystémique de fourniture alimentaire (agricole ou de cueillette). Les polluants bioaccumulables (voire bioamplifiables) sont ceux les plus susceptibles de générer un tel risque.

Ainsi de nombreux sols sont touchés par la pollution. Les composés organiques persistants (ou polluants organiques persistants = POP), reconnus comme tels par la convention de Stockholm, ont des propriétés particulières. Parmi ces derniers, les travaux du réseau de mesure de la qualité des sols (RMQS) dans le Nord de la France, montrent que les PCB (138, 153 et 180) sont détectés à plus de 65%, le lindane à 100% et la 2,3,7,8-TCDD à 20%. De même aux Antilles, la chlordécone (CLD) est présente (Gis Sol, 2011). Or ces molécules ont été interdites (de synthèse et/ou d'usage) il y a déjà plusieurs dizaines d'années, les PCB en 1987, la CLD en 1993, et le lindane en 1998. Les composés de type dioxine, eux n'ont jamais été produits intentionnellement mais sont le résultat de combustion incomplète en présence de chlore. Ainsi ces composés tous chlorés sont encore présents dans les sols (leur demi-vie excède l'année pour la plupart) et pour certains sont présents sur des sites où ils n'ont jamais été épanchés, mais sur lesquels ils ont été transportés par voie aérienne : c'est le cas du lindane (Orton et al., 2013), mais également des dioxines (par exemple à proximité des UIOM) ou des PCB. Les points élevés en PCB ou en TCDD sont situés près des sites urbains ou industriels (Gis Sol, 2011). Ce n'est pas le cas de la CLD très peu volatile, mais l'érosion ou la percolation entraîne également une migration de cette molécule loin des sites d'épandage (sédiment de rivière ou littoraux). Ainsi des contaminations persistantes existent de façon étendue sur le territoire national et ne sont pas sans conséquence via à vis des deux risques précédemment décrits, le risque écotoxicologique et le risque sanitaire pour l'Homme. Pour illustrer ceux-ci deux exemples seront développés ci-après : le cas des PCB dans l'œuf et le cas d'écotoxicité envers...

Aujourd'hui les consommateurs occidentaux plébiscitent des produits animaux issus de systèmes de production plus proches des cycles naturels. La production d'œufs de consommation y est particulièrement sensible, avec plus de % sous signe de qualité, et notamment "plein air". Le paradoxe de ce type de production c'est que pour les POP ubiquistes précédemment décrits, les œufs produits en plein air sont en général les plus contaminés, à la fois en fréquence et en valeur moyenne et ceci est vrai en France (Travel et al.), en Belgique (Van Overmeire et al., 2006), en Allemagne (Winkler, 2015) ou en Pologne (Roszko et al., 2014 ; Pikorska-Pliszczyska et al., 2015). Ces systèmes de production sont plutôt ruraux, voire périurbains ce qui dénote un impact spatial important des sources de pollution typiquement urbaines (UIOM) ou industrielles. D'ailleurs au Canada, cette contamination supérieure des œufs de plein air n'est pas systématique (Rawn et al., 2012), or dans ce vaste pays les valeurs dans les sols sont moindres que dans l'Europe industrielle et les distances bien supérieures entre les sites d'émission et les zones rurales. Dans les pays européens, ce sont les œufs de particuliers qui remportent la palme des concentrations les plus élevées (Van Overmeire et al., 2009 et Windal et al., 2009), et le lien avec un sol contaminé a clairement été démontré (Van Overmeire et al., 2009). Dans de très nombreux cas, ces valeurs pour les composés de type

dioxine (dioxines plus PCB dioxin like ou PCB-DL) comme pour les PCB-NDL excèdent les valeurs réglementaires européennes, c'est à dire que ces œufs ne sont pas consommables car ils présentent un risque de surexposition des consommateurs (Jondreville et al., 2010). Ainsi en milieu rural, périurbain, des sols "non fléchés" en rouge sur la base d'activités historiques présentent des teneurs en POP suffisantes pour les rendre non compatibles avec la production d'œufs de poule, pour cause de risque sanitaire pour le consommateur. Aujourd'hui de nombreux citoyens y compris urbains renouent avec des pratiques de jardinage, de recyclage des déchets verts, et des mairies proposent des poules pour soulager les composteurs de résidus alimentaires non souhaités (produits animaux, graisses...), c'est le cas par exemple à Strasbourg (DNA, 2012 ; éco-quartier Strasbourg, 2013 ; rue89, 2013). Or l'exposition de la population générale métropolitaine est déjà jugée comme préoccupante pour ces deux familles de composés EAT2, 2011). Ces composés ont des demi-vies importantes dans les sols, s'accumulent souvent dans l'horizon de surface du fait de leur affinité pour la matière organique (MO) du sol. Les teneurs dans les sols qui génèrent un risque sanitaire inacceptable via la consommation d'œuf ne sont pas "astronomiques", et concernent de nombreux sols dont l'usage est déjà à l'œuvre. Pour les PCB par exemple, ce ne sont pas des sols qui présentent des teneurs du niveau de celles rencontrées dans le cas de la fuite d'un transformateur mais les propriétés de bioaccumulation de ces molécules et la physiologie de la poule comme son comportement alimentaire exploratoire créent une sensibilité toute particulière et débouchent sur un risque sanitaire avéré (Jondreville et al., 2010 ; Fournier et al., 2015). En termes de gestion, l'abandon de la production est délicat (économiquement et socialement), la contamination des sols est parfois inconnue et les solutions d'élimination de ces molécules in situ ne sont pas opérationnelles. Le schéma d'excavation et traitement ex situ apparaît peu propice compte-tenu des faibles teneurs en polluants et du nombre de sites comme des surfaces concernées. Ce type de risque est caractéristique des composés de type POP, en général halogénés et persistants dans les sols. Une option de gestion envisageable est la séquestration in situ de ces POP, c'est à dire la diminution de leur capacité à migrer de leur compartiment de stockage actuel (la MO du sol) vers le compartiment trophique. Ce type de risque se retrouve pour la CLD aux Antilles avec de manière spécifique pour un organochloré un fort transfert vers de nombreux végétaux comestibles. Ainsi en plus des sites répertoriés dont la contamination est à la fois avérée et élevée, de nombreux sols peuvent présenter une contamination par des molécules halogénées persistantes dont la conséquence est un risque écotoxicologique ou sanitaire inacceptables. Sur ces sites moyennement contaminés une option de gestion potentielle est la réduction de la biodisponibilité de ces contaminants. L'objectif du projet PIEGEACHLOR est de proposer des solutions de séquestration in situ des POP par application de MO exogène.

## 1.2. Positionnement du présent projet

Ce projet s'inscrit dans l'introduction du concept de biodisponibilité au sein de l'évaluation quantitative du risque. Cet enjeu est particulièrement important dans le cas français puisque contrairement à d'autres pays, la France n'a pas souhaité fixer de seuils légaux dans les sols mais encourage une gestion au cas par cas. Cela signifie que les options de gestion doivent être adaptées au contexte, à savoir l'utilisation souhaitée du sol et à la spécificité de la contamination (polluant, profil, nature du sol, hydrologie...). Un des éléments majeurs qui pilote l'interaction du polluant avec son environnement est sa capacité à quitter le sol, représenté comme un réservoir. L'enjeu du projet appliqué aux polluants organiques persistants est de transformer ce réservoir en puits, c'est à dire en rendant le plus irréversible possible la liaison du polluant avec une matière non mobile : la MO condensée. En effet, si le polluant migre vers un autre compartiment abiotique, en particulier l'eau, la pollution se déplace et peut affecter de nouveaux écosystèmes, et s'il migre directement vers un compartiment biotique (notion de biodisponibilité) il peut délivrer son effet toxique, d'ordre écotoxicologique ou sanitaire suivant l'utilisation du sol. Ce double enjeu nous apparaît fondamental pour la restauration de la fonctionnalité des sols, dans un contexte de diminution de la ressource (artificialisation, érosion...) et d'augmentation de la demande de services (régulation, approvisionnement...). Ce projet s'inscrit dans une dynamique d'utilisation de la biodisponibilité, inscrite à l'échelle européenne en particulier par le groupe BARGE ou BioAccessibility Research Group of Europe (<https://www.bgs.CA.uk/barge/home.html>), visant à prendre en compte cette capacité du polluant à atteindre sa cible biotique. Dans le cas présent c'est la performance d'un mode de gestion (séquestration in situ) qui va être évaluée. Cette évaluation repose sur l'évaluation de la réduction de la biodisponibilité des polluants organiques halogénés persistants, l'outil méthodologique mobilisé est la notion de biodisponibilité relative, concept développé lors d'un projet INERIS-ADEME-URAFPA (Caboche 2009). Ce projet est porté par des équipes scientifiques ayant une forte expérience complémentaire, appartenant pour la plupart au réseau Ecotox de l'INRA, coordonné par un des partenaires (C Mougín). Les outils et méthodes mobilisés sont à la pointe de ce qui se fait aujourd'hui dans les champs disciplinaires connectés à la problématique traitée.

Ce projet s'inscrit dans la continuité des projets soutenus par l'ADEME en 2013 par l'appel d'offres GESIPOL : TROPHE et BIOGESIP, qui caractérisent le transfert de polluants organochlorés du sol vers différents biotes. La différence du projet PIEGEACHLOR est la recherche de solution de gestion par amendement organique permettant de réduire ces transferts et donc le risque écotoxicologique ou sanitaire.

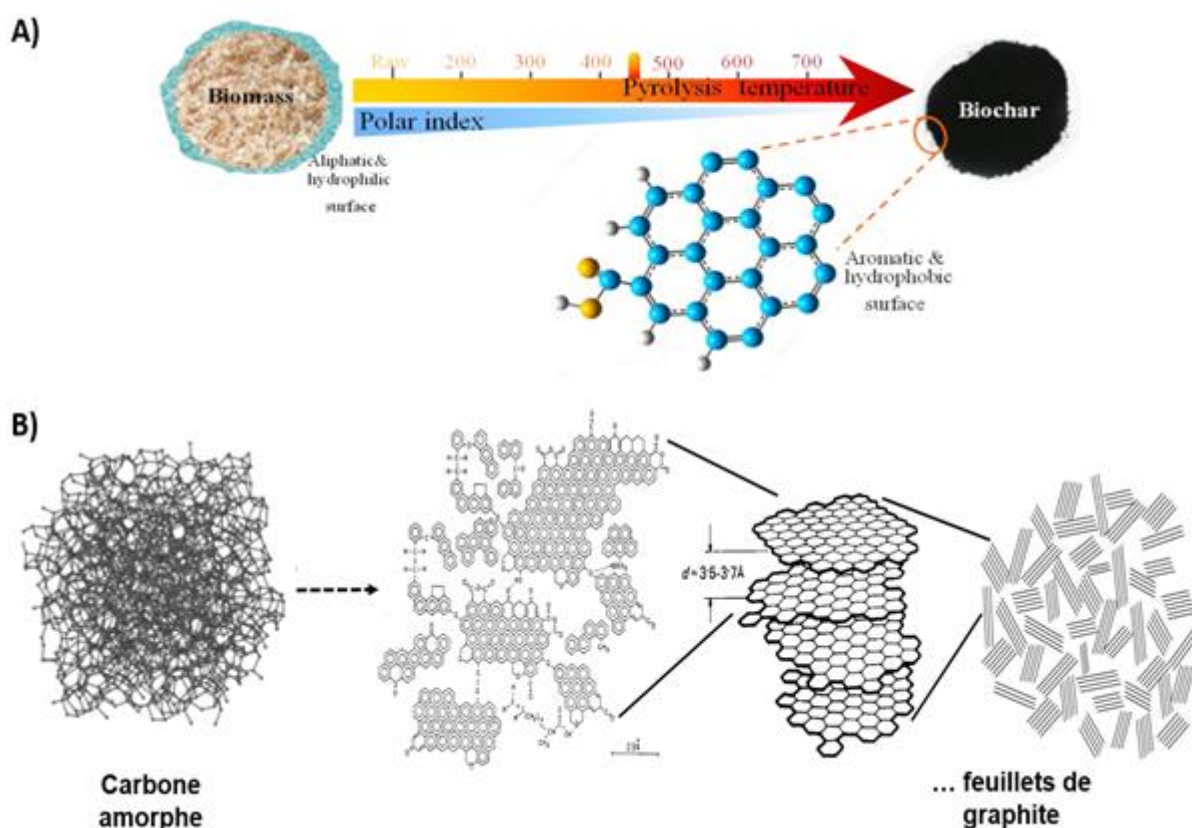
## 2. Etat de l'art

Le présent état de l'art a été rédigé pour partie dans le cadre de la thèse de Sarah Yehya encadrée par Cyril Feidt. La rédaction du 2.1 a été réalisée collaborativement par Sarah Yehya, Didier Técher et Matthieu Delannoy.

### 2.1. De la production à l'adsorption : les biochars et charbons actifs des matrices d'intérêt dans la gestion des sols contaminés

#### 2.1.1. La production des Biochars

La décomposition thermochimique irréversible de la matière organique au cours de la pyrolyse entraîne à la fois la synthèse de composés chimiques sous forme gazeuse, et le réarrangement atomique des constituants de la biomasse initiale (Haas et al., 2009).



**Figure 1: Modifications structurales de la biomasse au cours du processus de fabrication des biochars par pyrolyse**

A) transition d'un matériau précurseur caractérisé par une prédominance de composés aliphatiques aux propriétés hydrophiles vers un biochar constitué essentiellement de noyaux aromatiques hydrophobes ; B) réorganisation progressive de la structure moléculaire de type carbone amorphe vers la structure très régulière des feuillets de graphène.

L'étude par microscopie en temps réel des modifications structurales s'opérant lors de la pyrolyse de biomasse végétale de type ligneuse (bois de peuplier *Populus ssp.*) par Haas et al. (2009) a mis en évidence : i) l'expansion latérale des cellules du bois suite à la pression exercée par les gaz produits durant la dégradation des composés pariétaux (cellulose et hémicellulose) et les réactions chimiques directement induites par la libération des constituants cellulaires (elle-même provoquée par le rétrécissement des membranes plasmiques) ; ii) la transformation des parois cellulaires (paroi primaire, secondaire et lamelle moyenne) en une paroi unique cinq à dix fois plus mince et aux cellules indifférenciées, et iii) la condensation à leur surface de goudrons et autres structures riches en éléments minéraux (P, N, Ca, Fe,...) issues de la transformation des constituants cellulaires. En dépit de la diversité des précurseurs de biochars et des procédés pouvant être utilisés pour leur fabrication, les constituants de nature cellulosique, hémicellulosique et la lignine subissent des réarrangements chimiques similaires, rendant comparable jusqu'à un certain point la structure de la fraction organique des biochars obtenus à des températures de pyrolyse proches (Guo and Chen, 2014; Keiluweit et al., 2010; Kupryianchuk et al., 2016).

Les réactions thermochimiques successives au cours de la pyrolyse aboutissent ainsi à la dégradation de l'hémicellulose et à la destruction partielle des groupements alkyles à des températures comprises entre 220 et 315°C. Il s'en suit une dégradation

progressive de la cellulose pour une pyrolyse s'effectuant entre 315 et 400°C. Les biochars produits à des températures inférieures à 400°C ont un rendement élevé (Figure 2) mais ne sont donc pas complètement carbonisés (Chen et al., 2008; Keiluweit et al., 2010; Lehmann, 2007).

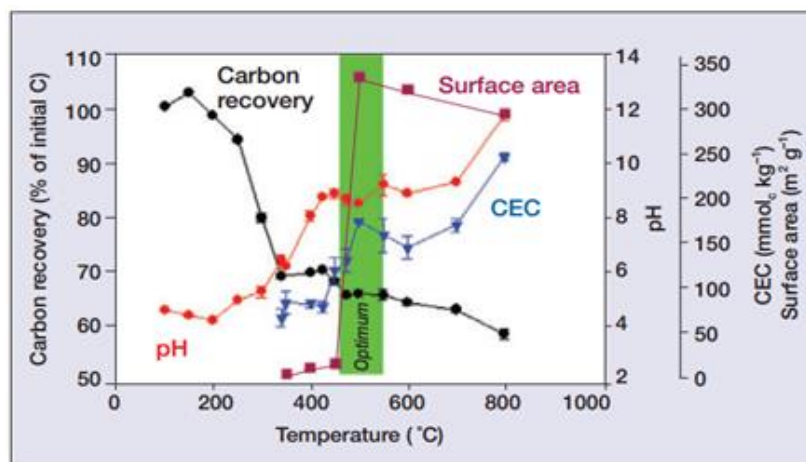


Figure 2: Influence de la température de pyrolyse sur les propriétés de biochars obtenus à partir de bois de Robinia pseudacacia L (Lehmann, 2007).

L'analyse des caractéristiques physico-chimiques met en évidence une gamme de température « optimale » (~450-550°C) pour l'obtention d'une surface spécifique importante associée à des valeurs de pH, de capacité d'échange cationique (CEC) et de rendements compatibles avec un usage agronomique à grande échelle.

Les réactions de condensation de la matière organique se poursuivent parallèlement à l'augmentation de la température de pyrolyse, conduisant à une fragmentation progressive des chaînes de lignine sous forme de monomères de phénol pour des températures supérieures à 400°C (Hale et al., 2016; Keiluweit et al., 2010; Mimmo et al., 2014; Uchimiyama et al., 2013). Globalement, une température de carbonisation inférieure à 500°C entraîne la disparition des liaisons hydrogènes au sein des structures lignocellulosiques alors que les groupements hydroxyles sont oxydés en carboxyles (Harvey et al., 2012). Diverses structures organiques de nature cellulosique subsistent, incluant également des groupements aliphatiques (Chen et al., 2008). La détermination de la composition élémentaire des matrices pyrolysées à très haute température (e.g. 700°C) révèle des teneurs élevées en carbone (généralement  $\geq 80\%$ ), se traduisant par des ratios H/C très faibles (i.e. de l'ordre de 0,2 voire moins ; Figure 3, Hia et al., 2016), et des teneurs basses en O, H et N quelle que soit la nature du matériau précurseur (Kupryianchyk et al., 2016).

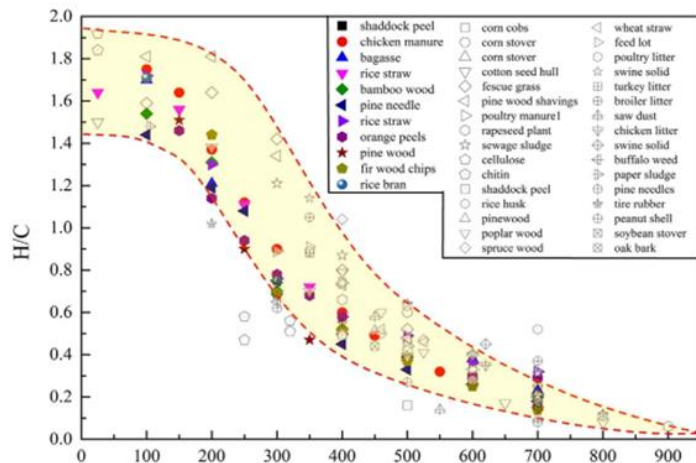


Figure 3: Variation des ratios H/C de biochars obtenus à température de pyrolyse identique en fonction des biomasses utilisées comme matériau précurseur d'après Xiao et al, 2016.

Ces résultats confirment la perte des groupements fonctionnels oxygénés par déshydratation et décarboxylation, rendant la surface des biochars produits à haute température moins hydrophile (Figure 6A et B) (Chen et al., 2008; Haas et al., 2009; Keiluweit et al., 2010). A température de pyrolyse identique, les variations observées en proportion d'éléments constitutifs au sein de divers biochars indiquent donc des précurseurs de nature et de composition élémentaire différentes (Figure 3) (Kupryianchyk et al., 2016; Xiao et al., 2016).

De manière générale, des procédés similaires de réarrangement et de condensation de la matière organique s'opèrent lors des processus de carbonisation de précurseurs de nature diverse. L'augmentation de la température de pyrolyse se traduit par une diminution des rendements de fabrication. Parallèlement, des modifications structurales s'observent, liées à la composition élémentaire des matrices carbonisées qui s'orientent progressivement vers un enrichissement en carbone au détriment des autres éléments constitutifs de la biomasse initiale (H, O, N). Ces phénomènes, en termes de caractéristiques physico-chimiques des biochars, conduisent globalement à une diminution des ratios H/C, ainsi qu'à une augmentation du pH, de la capacité d'échange cationique et en particulier de la surface spécifique des matériaux carbonisés, paramètre essentiel dans la séquestration des micropolluants organiques persistants.

## 2.1.2. Mécanismes de sorption des polluants organiques aux biochars

### 2.1.2.1. Généralités

La sorption des contaminants organiques à des géosorbants carbonés tels que les biochars s'opère majoritairement par physisorption (i.e. sorption réversible sans liaison covalente) à la surface extérieure du matériau (adsorption) et dans les macro-, méso- et micropores (i.e. micropores < 2 nm, 2 nm < mésopores < 50 nm, macropores > 50 nm), ainsi que par un mécanisme dit de « remplissage des pores » (partition ou « absorption ») (Figure 4) (Kleineidam et al., 2002; Koelmans et al., 2006).

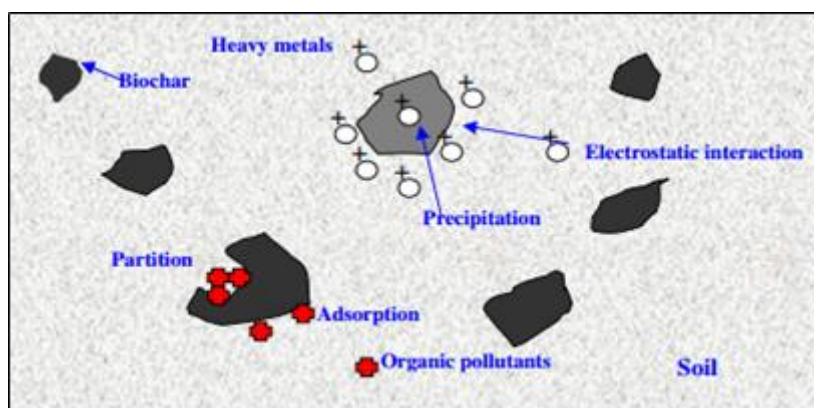
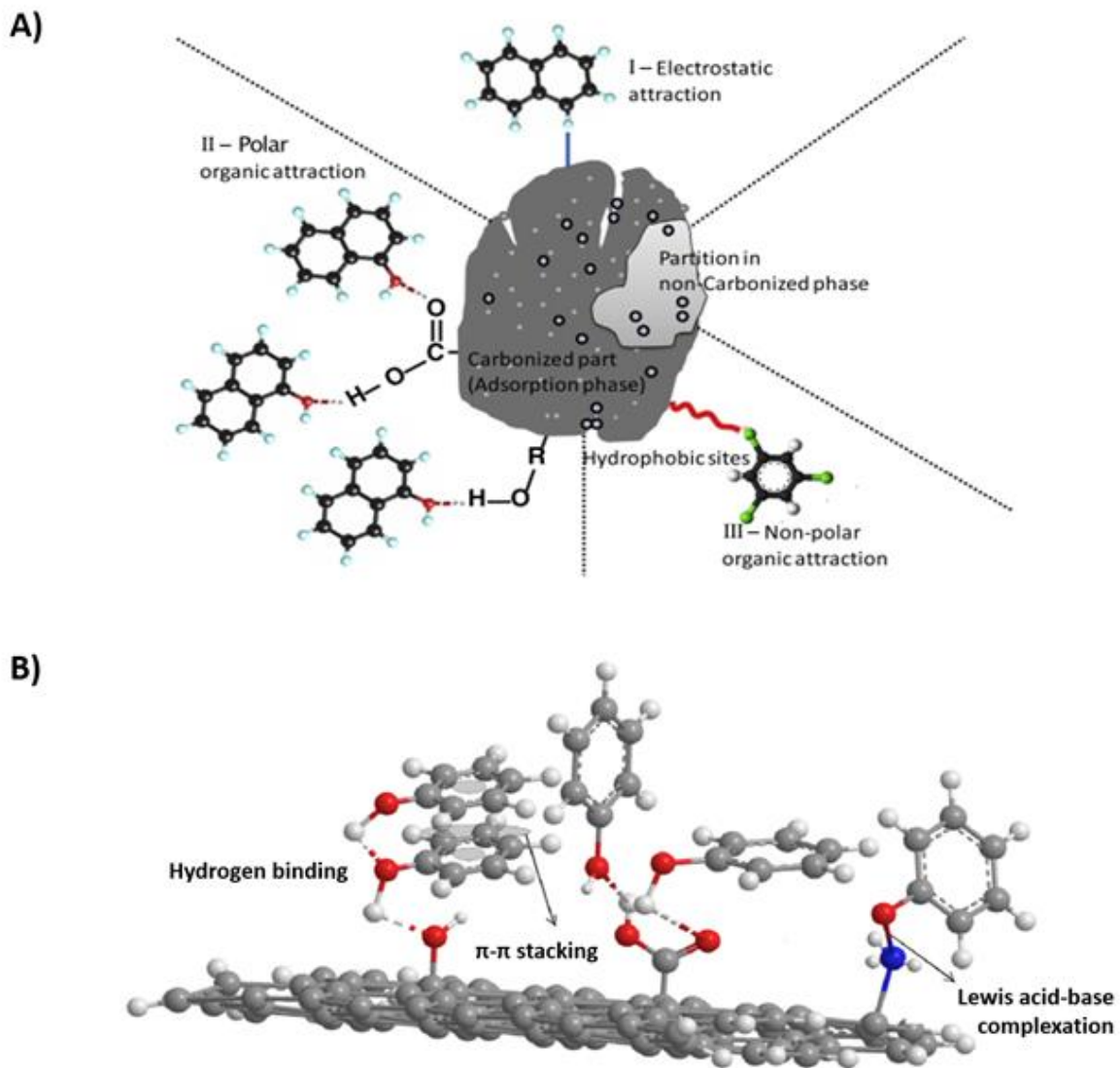


Figure 4: Processus d'immobilisation des micropolluants par les biochars (Tang et al, 2013)

Les biochars n'étant pas complètement carbonisés, des forces intermoléculaires entre leurs groupements fonctionnels et ceux des polluants organiques sont impliquées dans l'ensemble des processus de sorption (Figure 5 A et B). Ces forces comprennent les interactions électroniques, les interactions de type électron-donneur-accepteur (EDA) comme celles des couples acides-bases de Lewis (liaisons hydrogène) et les interactions  $\pi$ - $\pi$  électron-donneur-accepteur ( $\pi$ - $\pi$  EDA), ainsi que les forces de van der Waal (i.e. entre dipôles, dipôles induits et dipôles instantanément induits -dispersion de London-) (Figure 5A et B) (Israelachvili, 2011; Schwarzenbach et al., 2005).





**Figure 5: Mécanismes de sorption des polluants organiques aux biochars**

A) partition et forces intermoléculaires impliquées dans l'adsorption (Ahmad et al., 2014); B) exemple des forces électrostatiques intervenant dans l'adsorption du phénol (Liu et al., 2011).

Plusieurs travaux ont en outre indiqué que le mécanisme de remplissage des pores, les interactions via les liaisons hydrogène et les interactions spécifiques de type  $\pi$ - $\pi$  électron-donneur-accepteur étaient les principaux mécanismes de sorption des composés organiques aux biochars, en particulier pour des composés apolaires tels que les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP) (Nguyen et al., 2007; Zhu et al., 2005; Zhu and Pignatello, 2005). Toutefois, des processus de chimisorption peuvent également être impliqués dans la sorption des polluants organiques (sous forme de molécules chargées) aux biochars. Cette chimisorption se caractérise par des réactions de chimie de surface où les composés organiques sont directement impliqués dans les processus de formation/rupture des liaisons chimiques avec les groupements fonctionnels des biochars (Schwarzenbach et al., 2005).

Cependant, les processus de physisorption, basés sur des forces intermoléculaires faibles, demeurent les mécanismes prépondérants impliqués dans la séquestration des micropolluants organiques au sein des matrices carbonées de type biochar (Ahmad et al., 2014; Kleineidam et al., 2002; Koelmans et al., 2006).

#### 2.1.2.1.1. Sorption par partition de phase et adsorption

Comme énoncé précédemment, deux mécanismes majeurs de physisorption des micropolluants aux biochars sont généralement distingués : la sorption dite par « partition de phase » et celle caractérisée par l'« adsorption » des contaminants environnementaux (Figures 9 et 10) (Ahmad et al., 2014; Chen et al., 2008; Kupryianchuk et al., 2016). La fraction organique non carbonisée des biochars est responsable du phénomène de partition de phase des contaminants, alors que la fraction carbonisée est impliquée dans les processus d'adsorption (Chen et al., 2008). De fait, la sorption des polluants organiques est souvent dominée par un phénomène de partition pour des biochars issus de pyrolyse à faible température (< 400°C), alors qu'elle est davantage régie par un phénomène d'adsorption pour des températures de pyrolyse élevées (>

400°C) (Chen et al., 2008). La contribution quantitative de chacun de ces deux processus est déterminée par la proportion relative de précurseur non carbonisé et carbonisé, ainsi que par les caractéristiques subséquentes de surface et de volume (incluant les paramètres de distribution de porosité) des biochars obtenus (Chen et al., 2008).

La température de pyrolyse employée au cours du procédé de fabrication des biochars apparaît dès lors comme le facteur prépondérant déterminant à la fois la structure et les propriétés de sorption des matériaux carbonisés (Chen et al., 2008; Guo et Chen, 2014; Kupryianchuk et al., 2016; Xiao et al., 2016).

#### 2.1.2.1.2. Influence de la température de pyrolyse sur les propriétés

Dans leurs travaux sur la capacité de sorption du naphthalène et d'autres hydrocarbures à polarité variable par des biochars fabriqués à partir d'aiguilles de pin (pyrolysées entre 100 et 700°C), Chen et al. (2008) ont eu recours à une méthode dite de « séparation des isothermes de sorption » afin d'évaluer quantitativement la contribution des processus d'absorption et d'adsorption dans la séquestration des contaminants organiques. Cette méthode a permis de confirmer que la partition des contaminants (processus majoritaire) pour des biochars obtenus entre 100 et 300°C s'expliquait de par la fraction aliphatique amorphe présente, un phénomène d'autant plus accentué par la diminution de polarité du substrat considéré (Chen et al., 2008). En effet, un processus de sorption lié à une « polarité sélective » de la surface des pores gouverne l'immobilisation des micropolluants organiques par les biochars formés à de faibles températures. Ce mécanisme découle directement des interactions électrostatiques entre les groupes fonctionnels des contaminants et ceux constitutifs de la surface des micropores (Figure 5A et B) (Chen et al., 2008). Pour les biochars produits entre 400 et 600°C, la partition des contaminants était liée à l'existence de noyaux aromatiques condensés, mais elle tendait à diminuer avec l'augmentation de l'hydrophobicité des substrats (Chen et al., 2008). Simultanément, on assistait à une transition du phénomène d'adsorption de type « polarité-sélective » (pour les fractions de 200 à 400 °C) à une adsorption caractérisée davantage par une « porosité-sélective » pour les fractions obtenues entre 500 et 600°C, jusqu'à observer une adsorption sans caractéristique de sélectivité apparente pour les fractions de biochars obtenues après pyrolyse à 700°C, ou après activation (i.e. charbon actif) (Chen et al., 2008). Pour ces derniers sorbants, la capacité d'adsorption atteinte après saturation de la matrice exposée en polluants était comparable aux valeurs obtenues par simulation en considérant uniquement un processus d'adsorption des contaminants en monocouche moléculaire en surface (Chen et al., 2008), soulignant l'importance d'un taux de surface spécifique élevé associé à la microporosité du charbon pour l'adsorption des contaminants. Des résultats similaires illustrant la transition d'un processus de sorption essentiellement régi par une polarité sélective à « faibles températures » (favorisant l'adsorption de composés polaires), vers une adsorption davantage limitée par une porosité sélective (et favorable aux composés hydrophobes) ont également été obtenus par la suite par (Chen et Chen, 2009) à partir de biochars de peaux d'orange (Figure 6)

Les récents travaux de (Wang et al., 2016) comparant les capacités de sorption (expérimentations en « batch ») de trois biochars obtenus suite à la pyrolyse (1 h) de lisier de porc, de chaume de maïs ou de poussière de bois à des températures croissantes (i.e. 250 à 600 °C) ont clairement souligné l'influence positive de la température sur les capacités de sorption des matériaux obtenus. En outre, à température élevée ( $\geq 450$  °C), les valeurs croissantes de Log K<sub>oc</sub>, traduisant dans cette étude l'affinité des molécules - acetochlor, dibutyl phthalate, 17 $\alpha$ -Ethinyl estradiol et phénanthrène- pour les phases organiques, étaient positivement corrélées au degré d'aromaticité des différents biochars (Wang et al., 2016). De même, les mesures de surface spécifique (par réalisation d'isothermes d'adsorption du CO<sub>2</sub> normalisés par rapport aux teneurs en carbone organique i.e. CO<sub>2</sub>-SA/OC) étaient reliées positivement au degré d'aryl-C ou d'aromaticité des biochars mais négativement à leur degré d'alkyl-C ou aliphatité, soulignant également le lien entre l'apparition de structures aromatiques au sein des biochars et leurs caractéristiques de porosité (Han et al., 2014).

Les phénomènes d'adsorption caractérisant les biochars obtenus à de très hautes températures de pyrolyse voient ainsi leur origine dans les modifications de structure des matériaux précurseurs, résultant de l'augmentation de la température de chauffage. En effet, lorsque la température de pyrolyse dépasse 500°C, les processus de déshydrogénation et déshydroxylation tels qu'énoncés précédemment deviennent prépondérants (Harvey et al., 2012; Keiluweit et al., 2010). La fraction aliphatique diminue considérablement. La déshydrogénation massive des groupements méthylènes, en particulier, augmente l'apparition de structures carbonées condensées récalcitrantes telles que les noyaux aromatiques (Figure 12) (Harvey et al., 2012; Keiluweit et al., 2010; Wang et al., 2016).

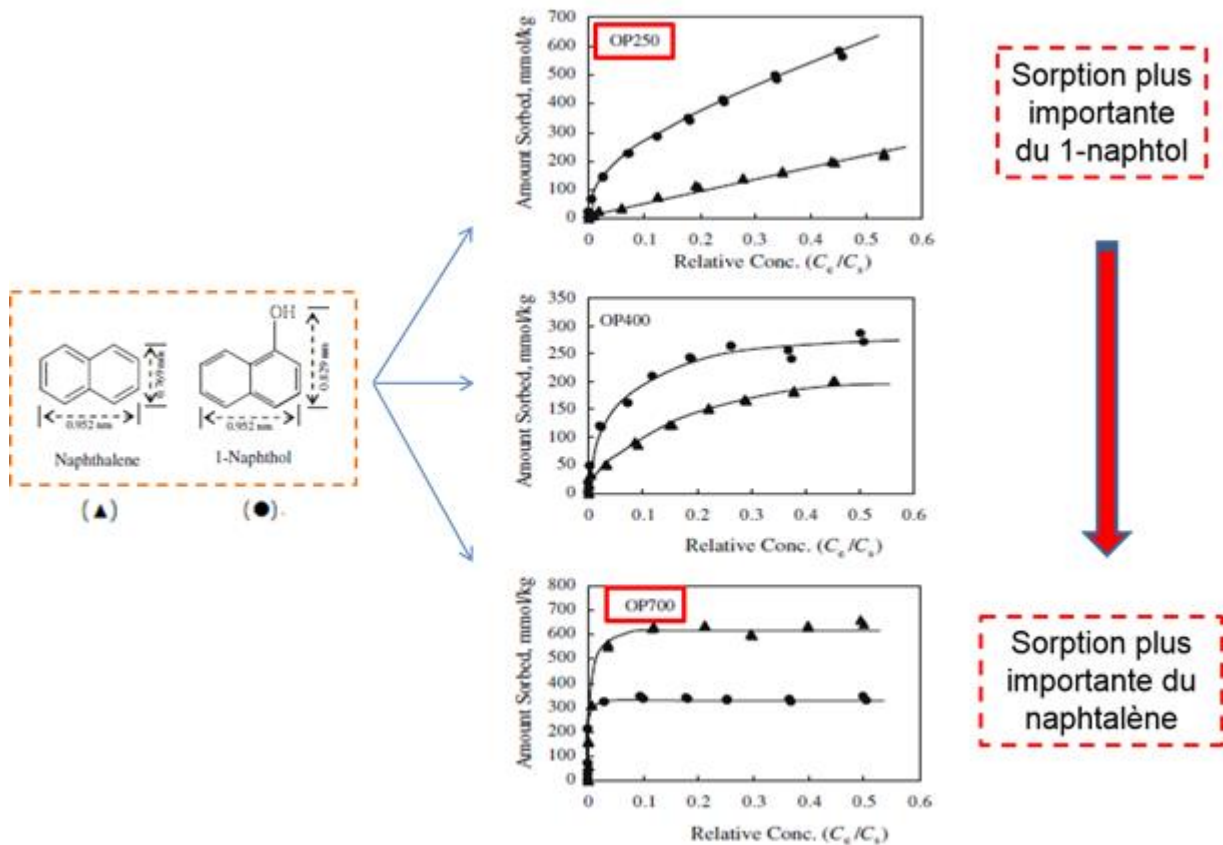


Figure 6: Etude comparative de la sorption du naphthalène et du 1-naphtol sur des biochars obtenus par pyrolyse de peaux d'orange de 250 à 700°C (adapté de Chen et Chen, 2009)

Globalement, des températures de carbonisation de l'ordre de 400 à 700°C donnent lieu à un plus haut degré de condensation de la matière carbonée dont la structure s'oriente progressivement vers celle, plus cristalline, des feuillets rigides de graphène (Keiluweit et al., 2010; Xiao et al., 2016). Cette forme allotropique du carbone étant caractérisée par une densité plus importante que celle du carbone amorphe, la modification de structure du matériau favorise généralement la formation de micro- et de nanopores (diamètre < 2 nm) (Keiluweit et al., 2010). Ce phénomène est d'autant plus accentué lorsque la température dépasse 600°C (Kercher et Nagle, 2003; Kupryianchuk et al., 2016).

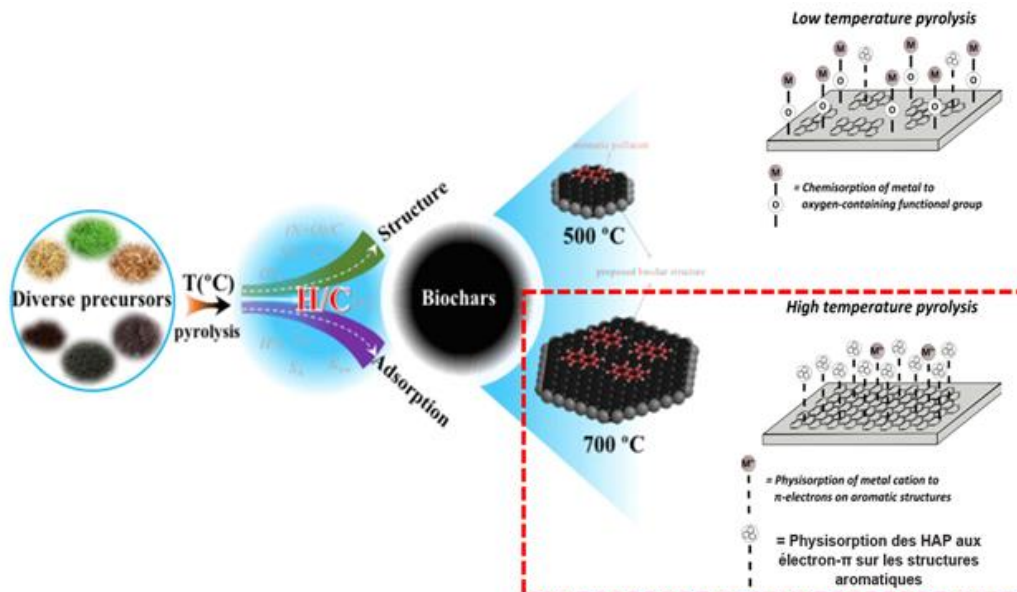


Figure 7: Relations entre température de pyrolyse, structure moléculaire et propriétés d'adsorption des biochars illustrées à travers l'exemple de HAP à trois cycles (d'après Xiao et al., 2016)

### 2.1.2.1.3. Surface spécifique et distribution de porosité

La réorganisation progressive de la fraction aromatique amorphe en cristallite turboclastique au fil de l'augmentation de la température de pyrolyse des précurseurs de biochars (Figure 2) entraîne un accroissement considérable de la surface active des matériaux produits (Kupryianchyk et al., 2016). Plusieurs auteurs ont observé un « pic » de surface active pour des biochars obtenus à des températures de pyrolyse aux environs de 600°C en raison d'un réarrangement ordonné de la structure des matériaux, associé à un phénomène de coalescence des micropores (Mimmo et al., 2014), ou à une entrée en fusion des cendres constitutives des biochars (Brown et al., 2006). L'augmentation de la température de pyrolyse conduit in fine à une augmentation de la surface de sorption des biochars à travers l'accroissement de la méso- et de la microporosité (Kupryianchyk et al., 2016). Il en est de même pour les processus d'activation qui peuvent conférer pratiquement un doublement de la surface spécifique aux matériaux carbonisés (Kupryianchyk et al., 2016). Selon (El-Hendawy et al., 2008), un tel écart entre biochar et biochar activé s'explique par la disparition de la fraction labile de carbone colmatant initialement les pores en raison de l'oxydation avancée de la matière organique durant les processus d'activation. **Il est à noter, à ce propos, que l'efficacité, en termes d'augmentation de surface spécifique, des procédés d'activation les plus couramment employés va décroissant de l'utilisation de l'hydroxyde de potassium (KOH) à l'acide phosphorique (H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>), et à la vapeur d'eau (El-Hendawy et al., 2008).**

L'accroissement de la surface spécifique liée au nombre considérable de pores tend à favoriser les processus d'adsorption non-linéaires des micropolluants organiques hydrophobes à travers le mécanisme dit « de remplissage des pores » (Chen et al., 2008; Lattao et al., 2014; Sun et al., 2017). Ce phénomène s'opère lorsque les micropolluants organiques pénètrent les micropores, à l'intérieur-même de la matrice carbonisée. La revue, dans la littérature, des mécanismes de sorption des composés hydrophobes en fonction des paramètres de distribution de taille des pores et de surface spécifique des matériaux hautement carbonés, indique de manière récurrente l'importance du mécanisme de remplissage des pores pour les charbons actifs et les biochars obtenus à de très hautes températures (e.g.  $\geq 700^\circ\text{C}$ ) (Bornemann et al., 2007; Han et al., 2014; Kupryianchyk et al., 2016). (Kupryianchyk et al., 2016) ont en outre reporté de fortes capacités de sorption des contaminants hydrophobes à partir de biochars produits après pyrolyse à 700°C avec une efficacité similaire à celle de charbons actifs (à 0,2 – 0,5 unité logarithmique près en termes de coefficient d'adsorption de Freundlich), soulignant l'intérêt de leur utilisation à grande échelle dans un objectif de séquestration de micropolluants au vu de leur bilan énergétique plus favorable (notamment en termes de coûts de production et d'analyse du cycle de vie) (Sparrevik et al., 2011; K. A. Thompson et al., 2016). Aussi, le remplissage des pores, en fonction de la distribution de porosité du matériau, constitue souvent un des facteurs explicatifs de la variabilité des propriétés de sorption observée au sein de biochars de différentes origines (Hale et al., 2016; Lattao et al., 2014). La réalisation d'isothermes de sorption du phénanthrène en phase aqueuse (vis-à-vis de biochars fabriqués à partir de paille de riz et de bois de pin après 1h de pyrolyse à 300, 450 ou 600°C) par (Han et al., 2014) avait déjà souligné le rôle dominant de ce mécanisme dans la sorption de molécules organiques hydrophobes à structure planaire tels que les HAP. Des résultats similaires ont également été reportés par (Kupryianchyk et al., 2016) lors de la caractérisation des propriétés de sorption de 17 biochars et charbons actifs (formés à partir de 13 précurseurs différents) vis-à-vis du 2,2,5,5-tetrachlorobiphényl et du phénanthrène. En effet, les surfaces spécifiques les plus élevées (évaluées par méthode de sorption par N<sub>2</sub> ou CO<sub>2</sub>) étaient reportées pour les matrices de type charbon actif (fabriquées à partir de noix de coco ou de bois avec activation à la vapeur d'eau) ou de biochars issus de pyrolyses à température élevée (700°C) de bois de pin, avec respectivement 1051, 641 et 807 m<sup>2</sup>/g (Kupryianchyk et al., 2016). Parallèlement, ces matériaux possédaient les volumes de micropore les plus importants, associés à une diminution du diamètre des pores (Kupryianchyk et al., 2016), par opposition aux biochars à faible surface spécifique témoignant d'une fraction plus importante de pores à large ouverture (i.e. macropores) (Bornemann et al., 2007; Kupryianchyk et al., 2016).

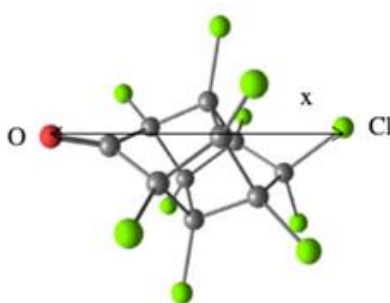
Le remplissage des pores se caractérise cependant par une sorption sélective des micropolluants à l'intérieur des micropores, en fonction à la fois des dimensions de ces derniers et de celles des composés à adsorber (Chen et al., 2008; Chen and Chen, 2009; Lattao et al., 2014). Aussi, afin de parvenir à une efficacité de sorption maximale, les dimensions d'un polluant ne doivent pas dépasser celles des pores constitutifs du biochar. Les polluants eux-mêmes peuvent présenter des formes restrictives, limitant de fait leurs possibilités de contact avec la surface poreuse du sorbant (i.e. encombrement stérique) (Endo et al., 2009), et leur profondeur de pénétration à l'intérieur du pore (Pignatello and Xing, 1996). Les phénomènes d'exclusion de taille deviennent davantage prépondérants lorsque le volume de sorption est dominé par des micropores (Lattao et al., 2014). Par conséquent, dans la mesure où beaucoup de contaminants organiques sont caractérisés par des dimensions de l'ordre de celles des nanopores des biochars (i.e. 5 – 10 nm), les molécules aux dimensions les plus importantes ne peuvent accéder aux sites de sorption (Lattao et al., 2014). Considérant que l'hydrophobicité des molécules augmente généralement avec leur diamètre moléculaire, la sorption de composés aux dimensions les plus importantes serait théoriquement réduite pour un biochar dominé par de petits micropores (Amstatter et al., 2012; Lattao et al., 2014).

En définitive, la physisorption des contaminants organiques par adsorption ou par partition sont les deux processus majoritairement impliqués dans l'immobilisation et la séquestration de ces micropolluants au sein des biochars. La température finale de pyrolyse employée lors de la fabrication des biochars influence directement leur composition et leur structure moléculaire, permettant de distinguer : i) d'une part une catégorie de biochars à rendements élevés obtenus à « faible » température (i.e. < 400-500°C), particulièrement adéquats pour l'absorption de composés polaires du fait de la présence de groupes fonctionnels oxygénés leur conférant des propriétés d'adsorption basées sur une « polarité sélective »,

et ii) d'autre part une catégorie de biochars à rendements plus faibles (de l'ordre ou inférieurs à 60% de la biomasse initiale), obtenus à des températures supérieures à 500°C entraînant le réarrangement des atomes de carbone en noyaux aromatiques apolaires, favorisant alors davantage les interactions hydrophobes. Ainsi, la première catégorie de biochars se distingue généralement par une distribution de porosité marquée par une prédominance de pores à large ouverture (macro- et mésoporosité), alors que la seconde catégorie de matériaux témoigne d'une méso- et microporosité augmentant grandement leur surface active, tout en limitant l'accès des micropores aux molécules d'encombrement stérique « non négligeable », i.e. > 2 nm (effet de porosité sélective). De fait, si l'activation des biochars en charbons actifs permet d'augmenter considérablement leur microporosité et leur surface spécifique, des phénomènes de vieillissement et de compétition entre matière organique et micropolluants (réduisant la capacité de séquestration des géosorbants) sont éventuellement à considérer lors de l'utilisation de ces matériaux à des fins de « piégeage » des micropolluants dans les sols.

#### 2.1.2.1.4. Cas de la chlordécone

Afin de disposer de nouveaux filtres à charbons actifs (pour le traitement de l'eau) à la fois économiquement rentables et efficaces en termes d'adsorption de micropolluants rémanents comme la chlordécone (Figure 8), plusieurs auteurs se sont récemment orientés vers le développement de biochars activés à haute température, issus de biomasses variées telles que les peaux de banane (Vijay Kumar, 2016), la bagasse de canne-à-sucre (Durimel et al., 2013; Vijay Kumar, 2016), ou encore la fibre de coco (Vijay Kumar, 2016).



**Figure 8: Structure tridimensionnelle de la chlordécone ; avec  $x = 6,52 \text{ \AA}$ ,  $y = 5,89 \text{ \AA}$  et  $z = 5,30 \text{ \AA}$  (Durimel et al., 2013)**

Les premiers travaux de (Durimel et al., 2013) ont permis de mieux appréhender les mécanismes d'adsorption du polluant organochloré à la surface des charbons actifs. En effet, la comparaison des propriétés de sorption de quatre charbons actifs obtenus à partir de l'activation de biochar de bagasse, respectivement par voie physique à la vapeur d'eau (800°C), et par voie chimique à l'acide phosphorique (à des ratios massiques d'imprégnation acide : bagasse de 0.5 : 1 ; 1 : 1 ; 1.5 : 1) a permis de relier la variabilité observée dans l'efficacité d'adsorption de la chlordécone aux différentes caractéristiques des biochars activés (Durimel et al., 2013). Si la texture (déterminée par adsorption de  $N_2$ ) des sorbants activés par vapeur d'eau et par acide à un ratio de 0.5 : 1 s'est révélée dominée par les micropores (pores < 2 nm), celle des deux autres matrices (ratios acide – bagasse de 1 : 1 ou 1.5 : 1) était majoritairement mésoporeuse (pores de 2 – 50 nm) (Tableau 1).

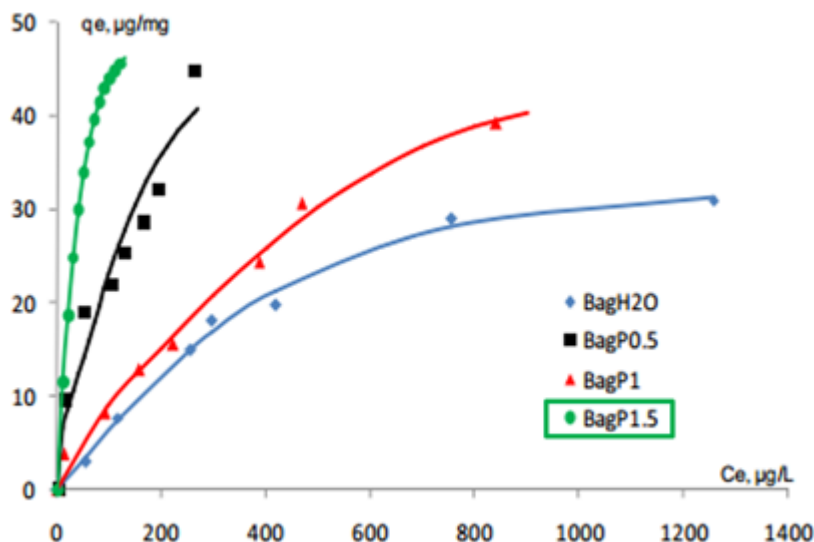
	Paramètres texturaux (déterminés par adsorption de $N_2$ )				$pH_{PZC}$	%C
	$S_{BET}$ ( $m^2/g$ )	$V_p$ ( $cm^3/g$ )	$V_{mi}$ ( $cm^3/g$ )	$V_{me}$ ( $cm^3/g$ )		
Bag $H_2O$	1242	0,69	0,42	0,27	8,04	75,7
Bag P0,5	1269	0,79	0,52	0,27	3,83	87,1
Bag P1	1502	1,26	0,45	0,81	3,79	87,7
Bag P1,5	1492	1,63	0,14	1,49	3,52	88,9

**Tableau 1 : Principaux paramètres physico-chimiques mesurés à partir des quatre types de charbons actifs obtenus suite à l'activation de biochar de bagasse de canne-à-sucre par méthode physique (vapeur d'eau) ou chimique (acide phosphorique)**

Sbet : Surface Bet ( $m^2 \cdot g^{-1}$ ) ;  $V_p$  : Volume de pores ;  $V_{mi}$  : volume microporeux ;  $V_{me}$  : volume mésoporeux ; d'après Durimel et al., 2013

De même, la chimie de surface des matériaux carbonisés indiquait un milieu basique ( $pH 8,04$ ) pour le charbon activé par vapeur d'eau contrairement à ceux activés par l'acide phosphorique, qui se sont tous révélés acides ( $3,52 < pH < 3,83$ ) (Tableau 1) (Durimel et al., 2013). L'étude de l'influence du pH sur les capacités d'adsorption a permis de mettre en évidence une adsorption maximale du polluant lorsque le pH de la solution était égal au  $pH_{PZC}$  de surface du charbon actif, et lorsque la charge de surface était donc neutre (Durimel et al., 2013).

L'adsorption de la chlordécone était en revanche défavorisée par la présence d'un pourcentage élevé d'oxygène sous forme de groupements basiques hydroxyle et éther au sein des matrices (Durimel et al., 2013). L'étude par thermodesorption programmée de CO<sub>2</sub> a mis en lumière l'existence d'interactions fortes entre la chlordécone et les groupements carboxyliques à la surface du charbon actif. Finalement, une plus grande capacité d'adsorption de la chlordécone a été observée pour le biochar activé au ratio d'acide phosphorique 1.5 : 1 (Figure 9), avec un maximum d'adsorption de 91,1 µg chlordécone/mg charbon (à pH 7), celui-là même qui témoignait à la fois des proportions de carbone (88,9%) (Tableau 1) et de groupement fonctionnel graphitique (66,25%) les plus élevées parmi les quatre sorbants testés (Durimel et al., 2013).



**Figure 9: Comparaison des isothermes d'adsorption (à 25°C) de la chlordécone obtenus à partir des quatre types de charbons actifs issus de l'activation de bagasse de canne-à-sucre (Durimel et al., 2013)**

Ces résultats, appuyés par la modélisation des interactions moléculaires entre la chlordécone et les groupements fonctionnels d'acide carboxylique en surface du charbon actif, ont permis de déterminer de manière empirique les mécanismes régissant l'adsorption de ce micropolluant en surface des matrices hautement carbonisées. Il a pu être établi que l'adsorption de la chlordécone sur les charbons actifs était favorisée par des propriétés physico-chimiques incluant une distribution de porosité de type « mésoporeuse » (pour rappel : 2 nm < mésopores < 50 nm) de par les dimensions moléculaires du contaminant de l'ordre de 0,7 nm, une proportion importante de carbone (graphitique), la présence de groupements acides et un pH de surface proche de celui de l'eau (Durimel et al., 2013).

Fort de ce constat, les travaux ultérieurs de (Vijay Kumar, 2016) ont permis d'améliorer de manière significative les capacités d'adsorption du contaminant par des biochars activés par traitement hydrothermal (incluant H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> et KOH) couplé à une pyrolyse à très haute température (800°C). Les capacités d'adsorption (déterminées à partir du modèle d'isotherme de Langmuir) des trois biochars activés (i.e. peaux de banane, bagasse de cannes-à-sucre et fibre de coco) se sont révélées à chaque fois plus élevées que celles reportées pour du charbon actif commercial (employé en tant que sorbant de la chlordécone pour le traitement d'eau contaminée), mais aussi pour du biochar de bagasse activé à l'acide phosphorique (travaux de Durimel et al., 2013). L'adsorption maximale en fonction des matrices carbonisées décroissait dans l'ordre : bagasse > peaux de banane > fibre de coco > charbon actif commercial (Tableau 2).

Name	Description	Source, Activating Agent	CLD adsorption Capacity (at pH 7)	Reference
BagP1.5	Activated carbon	Sugarcane Bagasse, H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	91.1 µg/mg	Durimel et al.
BagH <sub>2</sub> O	Activated carbon	Sugarcane Bagasse, Steam	51.2 µg/mg	Durimel et al.
Gamma-Cyclodextrin	Macrocyclic Molecules	Commercially Available	~100 %, 1:1 complexation	Chapter 4, this thesis
cm@AC	AC, Being used to clean water at French West Indies	Commercially Available	92.2 µg/mg	Chapter 6, this thesis
bpe@AC	Activated Carbon	Banana Peel, HT <sup>s</sup> & KOH	260.5 µg/mg	Chapter 6, this thesis
bag@AC	Activated Carbon	Sugarcane Bagasse, HT <sup>s</sup> & KOH	334.9 µg/mg	Chapter 6, this thesis
coh@AC	Activated Carbon	Coconut Husk, HT <sup>s</sup> & KOH	224.8 µg/mg	Chapter 6, this thesis

<sup>s</sup> Hydrolytic treatment.

**Tableau 2: Comparaison de la sorption de la chlordécone sur trois charbons actifs fabriqués à partir de biomasse de bagasse de canne-à-sucre (bag@CA), de peaux de banane (bpe@CA) ou de noix de coco (coque) (coh@CA) par rapport aux charbons étudiés par Durimel et al 2013**

Les charbons actifs bag@CA, bpe@CA et coh@CA ont été obtenus suite à deux étapes : une première étape s'apparentant à un traitement hydrothermal (1 M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 180°C) suivi d'une étape de pyrolyse à 800°C, d'après les travaux de de thèse de Kumar Rana V. (thèse à l'ETH Zurich, 2016 ; (Vijay Kumar, 2016))

L'importance des trois principaux facteurs mis en évidence par les précédents travaux de Durimel et al. (2013) expliquant la variabilité mesurée dans les taux d'adsorption a pu être vérifiée, à savoir : la présence de groupes fonctionnels de surface acides, ainsi qu'une surface spécifique et un volume de microporosité élevés favorisant chacun l'adsorption de la chlordécone (Vijay Kumar, 2016). En particulier, la présence des groupements acides, environ dix fois supérieure sur les biochars activés comparativement à celle reportée au niveau du charbon actif commercial (Vijay Kumar, 2016), confirme les résultats préalablement obtenus à la fois de manière empirique sur du biochar de bagasse activé (Durimel et al., 2013) et par modélisation (Gamboa-Carballo et al., 2016).

A titre d'information, les résultats obtenus par (Vijay Kumar, 2016), de l'ordre de 334,9 µg de chlordécone adsorbé par mg de charbon actif de bagasse, permettent ainsi d'améliorer presque d'un facteur quatre ceux obtenus jusqu'alors à partir de charbons actifs originaires de biomasse (bien qu'il s'agisse également ici de matrices s'apparentant davantage à des hydrochars). Ces résultats soulignent à la fois l'importance des propriétés de surface et de distribution de porosité des charbons actifs dans les processus d'adsorption des contaminants organiques.

### 2.1.3. Essais de séquestration dans le sol et les sédiments : approches de laboratoire et *in situ*

Les sédiments constituent à la fois un réceptacle et une source de contaminants potentiellement remobilisables et disponibles pour divers processus physico-chimiques et biologiques dans les systèmes aquatiques (Larsson, 1985). L'analyse des isotopes stables du carbone appliquée à des contaminants organiques tels que les PCB dans les différents compartiments aquatiques a par exemple témoigné de la remobilisation et du transfert trophique de ces polluants persistants, rendant possible la détermination de leur origine sédimentaire, ainsi que leur utilisation en tant que traceurs trophiques (Zeng et al., 2013).

Afin de remédier à la pollution des sédiments en substances toxiques, des mesures de confinement ou de décontamination ex situ peuvent être envisagées, généralement basées sur des processus énergivores et coûteux, et nécessitant souvent au préalable le dragage et le transport des matériaux à traiter (Perelo, 2010). Des procédés de recouvrement *in situ* de la couche sédimentaire par divers géosorbants non contaminés (e.g. sable, limons, argiles, charbons actifs, biochars) associés aux phénomènes d'atténuation naturelle peuvent également être mis en œuvre (Perelo, 2010). Dans ce contexte, l'amendement des sédiments par des matériaux carbonés tels que les charbons actifs essentiellement ou les biochars dans une moindre

mesure constitue une alternative nouvelle de gestion de la contamination in situ ayant reçu une attention grandissante au cours de la dernière décennie (Ghosh et al., 2011; Patmont et al., 2015; Rakowska et al., 2012). Bien que la production des biochars, en tant que matériaux carbonés pyrolysés non-activés, témoigne d'un bilan énergétique bien plus favorable que celle des charbons actifs (Ahmad et al., 2014), ces derniers font généralement preuve d'une capacité de sorption et de séquestration des contaminants organiques hydrophobes nettement supérieure (au moins d'un ordre de magnitude voire plus) à celle des matériaux pyrolysés (Gomez-Eyles et al., 2013; Lebo et al., 2003). Aussi, la plupart des essais d'immobilisation de contaminants à l'échelle des sédiments se focalise sur l'emploi de charbons actifs, d'où la mention essentiellement des travaux relatifs à ces matériaux dans la suite de la présente synthèse.

### 2.1.3.1. Influence des caractéristiques du charbon actif et de la taille des particules sur les capacités de séquestration de contaminants

L'efficacité des charbons actifs d'origine bitumineuse à séquestrer des contaminants organiques hydrophobes d'origine sédimentaire a été soulignée dans de nombreuses études menées à l'échelle du laboratoire et sur le terrain durant ces dernières années (Kupryianchuk et al., 2012; Patmont et al., 2015; Sun and Ghosh, 2008; Tomaszewski et al., 2007; Werner et al., 2005; Zimmerman et al., 2005). Les travaux de Tomaszewski et al. (2007) à partir de sédiments collectés de Lauritzen Channel (Richmond, CA, USA) fortement contaminés en DDT et métabolites ( $\Sigma$ DDT jusqu'à 252 mg/kg de sédiment et 222 ng/L à la concentration à l'équilibre) ont par exemple indiqué une réduction des concentrations en polluants en phase aqueuse de l'ordre de 83% après seulement un mois de traitement à 3,2% (m:m) de charbon actif, avec une adsorption quasi-totale de l'ensemble des micropolluants, i.e. de 91 à 99%, sur une durée s'étalant respectivement de 1 à 26 mois de traitement. Cette séquestration des contaminants, observable quel que soit la marque et le type de charbon utilisée (Filtrisorb 400 (Calgon Carbon, Pittsburgh, PA, USA), TOG (Calgon Carbon), Aquacarb 830 (Westates Carbon, Santa Fe Springs, CA, USA)), était toutefois nettement plus marquée parallèlement à l'augmentation du temps de contact (de 1 à 26 mois) entre les différents types de matrices, et à la réduction (par broyage) de la taille des particules de charbon actif (0,074-2,38 mm diamètre initial vs 0,074-0,177 mm diamètre final) (Tomaszewski et al., 2007). En effet, à dose égale, les particules les plus fines sont généralement associées à une sorption plus importante des contaminants en raison d'une plus grande surface externe pour une même quantité de charbon, d'un trajet de diffusion inter- et intra-particulaire plus court et d'un nombre de particules sorbantes par unité de masse de sédiment à traiter plus élevé (Ahn et al., 2005; Zimmerman et al., 2005). Aussi, les charbons actifs peuvent être classés en deux catégories selon qu'ils témoignent d'un minimum de 90% (en masse) de particules de taille supérieure ou égale à 180  $\mu$ m (charbon actif granulaire ou en micro-grains), ou au contraire essentiellement inférieure à 180  $\mu$ m (charbon actif poudreux) (Rakowska et al., 2012). Les matrices composées de particules de diamètre de 180 à 300  $\mu$ m (i.e. charbons actifs granulaires fins) sont souvent celles possédant la plus grande capacité de séquestration de contaminants organiques hydrophobes de type PCB ou HAP (Cho et al., 2009; Cornelissen et al., 2006; Sun and Ghosh, 2008; Zimmerman et al., 2005, 2004). Dans leurs travaux évaluant les effets de l'amendement en charbon actif vis-à-vis de l'immobilisation de ces substances (à partir de sédiments contaminés collectés de Hunters Point Naval Shipyard, San Francisco Bay, CA, USA), (Zimmerman et al., 2005) ont clairement démontré l'importance de la taille des particules de charbon (0,025 à 1,7 mm) et de la dose (0,34 à 3,4% (m:m)) concernant la réduction de la disponibilité environnementale (évaluée par échantillonnages passifs via des dispositifs membranaires semi-perméables de type SPMD traditionnellement employés pour l'évaluation de la fraction aqueuse de polluants organiques) et de la bioaccumulation potentielle des polluants chez les organismes benthiques (*Neanthes arenaceodentata* et *Leptocheirus plumulosus*). La bioaccumulation des contaminants hydrophobes était en effet négativement corrélée aux doses croissantes de charbon actif : des diminutions de bioaccumulation jusqu'à 93% ont notamment pu être observées pour la dose la plus élevée en matériau carboné, i.e. 3,4% m:m (Zimmerman et al., 2005). **De même, ces travaux ont pu mettre en évidence une limite supérieure du diamètre des particules de charbon (classe de 0,420 à 1,7 mm) ne conduisant à aucun effet séquestrant vis-à-vis des contaminants, alors que la pulvérisation du charbon en des particules de taille de 75 à 250  $\mu$ m résultait en des diminutions significatives des teneurs en PCB disponibles (Zimmerman et al., 2005).**

Par ailleurs, la comparaison des capacités de séquestration entre charbon actif « vierge » et charbon actif « réactivé » (Aquacarb RS, Westates Carbon), moins coûteux pour un amendement in situ potentiel, a également témoigné d'une efficacité de séquestration équivalente entre les deux types de matrice (Tomaszewski et al., 2007). Une réduction de 95% de la quantité adsorbée sur des dispositifs de type SPMD a ainsi été reportée après 6 mois de contact avec les sédiments à une dose de 1,6% (m:m) de charbon réactivé, atteignant jusqu'à 99% de réduction à une dose de 3,2% (m:m) au bout de 26 mois de traitement (Tomaszewski et al., 2007).

Des essais de séquestration réalisés à partir de biochars activés ont également mis en évidence leur capacité à immobiliser les contaminants organiques hydrophobes d'origine sédimentaire (Gomez-Eyles et al., 2013; Lebo et al., 2003). L'efficacité moindre d'un biochar de noix de coco activé concernant l'adsorption de PCB, rapportée par certains auteurs en comparaison à des charbons actifs de type bitumineux, serait à mettre en relation avec des différences de surfaces externes et des facteurs physico-chimiques, notamment la présence dans les particules de charbon bitumineux de groupes fonctionnels pouvant favoriser les interactions électrostatiques avec les PCB étudiés (Lebo et al., 2003). Plus récemment, les travaux de Gomez-Eyles et al. (2013) ont également confirmé des capacités de séquestration de biochars vis-à-vis de PCB, HAP, et méthylmercure moins importantes que celles de charbons actifs ou biochars activés, se traduisant à titre d'illustration par une



réduction des teneurs en PCB (eau interstitielle) de l'ordre de 18 à 80% pour les biochars alors qu'elle était supérieure à 99% pour des charbons actifs (amendements de 5% P/P). Cependant, à teneurs égales, les capacités de séquestration vis-à-vis du méthyl mercure étaient équivalentes entre les deux types de matériaux (Gomez-Eyles et al., 2013), soulignant l'influence des propriétés physico-chimiques des molécules à adsorber. En outre, la sorption des contaminants organiques diffère également en fonction de la géométrie des pores constitutifs des matrices carbonées. La capacité de sorption liées aux macropores est généralement inférieure à celle des méso- et micropores, notamment en raison d'un ratio unité de surface par volume de pore plus faible (Lebo et al., 2003).

### 2.1.3.2. Effets de la dose de charbon actif sur la capacité de séquestration des contaminants organiques

L'immobilisation des contaminants organiques sédimentaires au sein de matrices carbonées telles que les biochars et charbons actifs se traduit par une réduction des concentrations des polluants en phase aqueuse, du fait de la limitation des transferts de masse en lien direct avec la quantité de sorbant présente (Zimmerman et al., 2005). Aussi, un certain nombre de facteurs est susceptible d'influencer la quantité d'amendement en matière carbonée nécessaire à la réduction, jusqu'à un niveau donné, des teneurs en polluants disponibles, à savoir la présence dans le sédiment de phases sorbantes compétitrices telles que la matière organique, le noir de carbone (« *black carbon* ») ou encore des traces de fuel (Koelmans et al., 2009). De plus, outre des phénomènes de "compétition de sorption" (i.e. « *fouling* ») vis-à-vis de la matrice séquestrante entre les contaminants organiques d'une part et les composés adsorbants d'origine sédimentaire d'autre part, les propriétés physico-chimiques de la molécule à séquestrer (i.e. hydrophobicité, structure tridimensionnelle et encombrement stérique) peuvent influencer sur la quantité d'amendement nécessaire pour une immobilisation significative des polluants. Plusieurs études ont indiqué que des doses de charbon actif de l'ordre de 3 à 4% (m:m) suffisaient généralement à réduire de 90 à 99% la concentration en contaminants organiques hydrophobes en phase aqueuse au bout de 18 mois de traitement environ (Cho et al., 2009; Patmont et al., 2015; Werner et al., 2005). Un modèle mécanistique a en particulier été élaboré par (Kupryianchyk et al., 2012) afin d'estimer la concentration en charbon actif nécessaire à la réduction de la concentration en polluants dans l'eau interstitielle en fonction de l'affinité des polluants pour la matrice séquestrante, tout en considérant également leur affinité pour les phases compétitrices natives du sédiment comme la matière organique et le noir de carbone (Kupryianchyk et al., 2012). Ainsi, un apport en charbon actif de 1% (m:m) apparaîtrait suffisant pour réduire de l'ordre de 90% les teneurs en HAP dans la phase aqueuse (Kupryianchyk et al., 2012). En dépit de la variété de sédiments et de charbons actifs considérés dans ce travail de modélisation, les valeurs médianes de Log KF, CA de Freundlich (traduisant ici l'affinité des polluants pour les phases solides de type charbon actif) pour les PCB (7,2 ; étendue interquartile (EI) de 7,0 - 7,5) et pour les HAP (8,5 ; EI de 8,3 - 8,8) indiquaient globalement des valeurs de faible amplitude (Kupryianchyk et al., 2012). Les valeurs plus élevées de Log KF,CA associées aux HAP s'expliquaient de par la plus grande importance des interactions  $\pi$ - $\pi$  et de la surface moléculaire associées à la planéité de ces composés en comparaison aux PCB (Jonker et Koelmans, 2002). Plusieurs travaux ont par ailleurs témoigné de la sorption plus importante des PCB coplanaires non-ortho substitués par rapport à leurs congénères non-coplanaires ortho-substitués pour des valeurs de LogKow similaires (Bucheli et Gustafsson, 2003; Jonker et Koelmans, 2002). Il est à noter également que les estimations de Log KF,CA (calculées à partir de données empiriques de séquestration dans l'étude de Kupryianchyk et al. (2012) étaient de deux à trois ordres de magnitude inférieures aux coefficients de distribution correspondants obtenus à partir de charbons actifs « vierges », soulignant l'influence des processus de compétition (i.e. « *fouling* ») entre matière organique et polluants au niveau des sites de sorption des charbons actifs (Jantunen et al., 2010; Kupryianchyk et al., 2012).

### 2.1.3.3. Effets du mélange vs dépôt de surface

La majorité des travaux sur sédiments réalisés essentiellement en laboratoire fait état des possibilités de séquestration des contaminants en conditions de mélanges homogènes avec les charbons actifs ou biochars. Le mélange (par action mécanique) consécutif à l'apport de charbon actif au sédiment permet l'homogénéisation des deux types de matrices, avec un volume de sédiment théoriquement distribué de manière uniforme tout autour des particules de charbon actif (Ahn et al., 2005; Zimmerman et al., 2005). Il en résulte par conséquent un transfert et un établissement rapides de l'équilibre entre contaminants organiques hydrophobes contenus d'une part dans la phase sédimentaire, et d'autre part dans la phase particulaire du charbon. En effet, les transferts de masse responsables de la répartition des polluants au niveau de la matrice charbonneuse consistent alors essentiellement en des phénomènes de diffusion moléculaire simple, conduisant ainsi à l'établissement de conditions d'équilibre bien plus rapide que dans des matrices non-homogénéisées. Cet état de mélange homogène obtenu mécaniquement correspond finalement à une anticipation des conditions d'équilibre susceptibles de se produire in situ après de longues périodes (i.e. plusieurs mois voire années) de contact sédiments-charbons actifs (Hale and Werner, 2010). Aussi, Hale and Werner (2010) ont comparé les effets de l'incorporation de charbon actif à un sédiment contaminé (essentiellement en HAP, collecté de la rivière Tyne, Newcastle, UK) par le biais d'une brève période initiale de mélange (visant uniquement à augmenter les surfaces de contact entre les deux types de matrices) suivi d'une longue période de dépôt, à ceux résultant d'une agitation continue des matrices. Les résultats ont montré une réduction de plus de 99% des teneurs finales en HAP en phase aqueuse quelle que soit la méthode d'incorporation (Hale et Werner, 2010). En s'appuyant sur les mesures de désorption des HAP et la modélisation des transferts de masse, les auteurs ont montré que les effets du

mélange étaient très limités dans le cas de la remédiation de ce sédiment où les HAP y étaient fortement liés, témoignant par conséquent d'une désorption très lente des contaminants à séquestrer (Hale et Werner, 2010). En revanche, un effet plus marqué d'un mélange plus intense de l'association charbon actif et sédiment serait à anticiper selon les auteurs pour des matrices qui seraient caractérisées par une fraction plus importante de polluants rapidement remobilisables (Hale et Werner, 2010).

L'efficacité de séquestration par l'intermédiaire de dépôts simples d'une couche de charbon actif en surface du sédiment à traiter a également été évaluée (Cornelissen et al., 2011), par opposition aux premiers essais de la baie de San Francisco impliquant un mélange des particules de charbon au sédiment. Cette stratégie nécessite toutefois un mélange préalable du charbon actif apporté sous forme de poudre à du sable ou à de l'argile comme matériau « vecteur » des particules fines de charbon (< 45 µm), l'argile intervenant également dans une moindre mesure dans les processus de séquestration des polluants (Cornelissen et al., 2011). Globalement, les amendements en charbon actif ont permis une réduction des flux de HAP d'un facteur 2 à 10 en fonction des teneurs locales effectivement mesurées en charbon actif et du support employé comme vecteur pour le dépôt des particules (Cornelissen et al., 2011). Il a ainsi été montré une plus grande efficacité des amendements en présence d'argile (*versus* sable + charbon actif ou charbon actif seul) dans l'immobilisation des contaminants de type HAP (Cornelissen et al., 2011). Un inconvénient majeur de cette méthode de recouvrement de sédiment réside dans l'atteinte localement de teneurs en charbon potentiellement très importantes (30 à 40% P/P) voir toxique vis-à-vis des invertébrés benthiques, pouvant conduire à une réduction de la biodiversité (Cornelissen et al., 2011). L'intérêt d'une telle méthode demeure toutefois en son coût et sa faisabilité technique, particulièrement adaptée pour une application environnementale à très grande échelle, l'utilisation de biochars activés (à partir de noix de coco par exemple) étant également susceptible d'être évaluée en ces termes par la suite (Cornelissen et al., 2011).

#### 2.1.3.4. Essais *in situ* et modélisation des effets

Au cours de la dernière décennie, de nombreuses études ont été conduites de manière progressive sur le terrain afin d'évaluer la faisabilité et l'efficacité d'amendements en charbon actif pour la séquestration des contaminants organiques au niveau sédimentaire (Choi et al., 2016b; Ghosh et al., 2011; Patmont et al., 2015; Rakowska et al., 2012). Une attention particulière a été portée aux différentes méthodes d'incorporation du charbon actif au sédiment, ainsi qu'à leurs conséquences quant à l'efficacité d'immobilisation des contaminants (Ghosh et al., 2011; Patmont et al., 2015). L'ensemble de ces travaux, essentiellement réalisés à l'échelle pilote dans un premier temps, tend à confirmer l'efficacité de l'immobilisation des contaminants sur le long terme, qu'il s'agisse du traitement de sédiments au niveau de vasières littorales (Cho et al., 2012, 2009, 2007), de lits de rivières (Beckingham et Ghosh, 2011) ou en eau plus profonde (Cornelissen et al., 2011).

Les premiers essais portant sur des amendements en charbon actif *in situ* ont eu lieu successivement en août 2004 et janvier 2006 dans la baie de San Francisco, à proximité de l'ancien chantier naval de Hunter Point (CA, USA) dans le but d'immobiliser des polluants sédimentaires de type PCB (apports de charbon actif de l'ordre de 2 à 3,2% P/P environ sur une profondeur de 30 cm) (Cho et al., 2009, 2007). Deux stratégies d'incorporation de charbon actif au sédiment, basées respectivement sur l'utilisation d'un système rotatif embarqué sur barge et sur l'emploi d'injecteurs montés sur chenilles, ont été évaluées en conditions réelles au sein de la baie (Cho et al., 2009, 2007). Les mesures en carbone organique total réalisées après la seconde série d'amendements en 2006 ont témoigné d'une meilleure incorporation du charbon actif au sédiment grâce au système de mélange rotatif sur barge (Cho et al., 2009). Cette observation s'est traduite par une séquestration plus efficace des contaminants en comparaison à l'amendement par injection, mécanisme davantage « unidirectionnel » selon les auteurs, entraînant par conséquent une distribution plus hétérogène des particules de charbon actif (Cho et al., 2009). La méthode d'amendement par mélange rotatif sur barge avait conduit de fait à une réduction significative de la bioaccumulation des contaminants organochlorés (i.e. 32% de réduction en comparaison au sédiment non amendé, test de bioaccumulation par exposition *in situ* de 28 jours de palourdes *Macoma nasuta*) dès six mois de traitement, contrairement à la méthode par injection où uniquement une tendance était observable (de l'ordre de 13% de réduction de la bioaccumulation) (Cho et al., 2009). Globalement, les deux méthodes d'amendement ont permis d'importantes réductions des concentrations aqueuses en PCB à l'équilibre sur le long terme, i.e. de l'ordre de 90% au bout de 18 mois de traitement, soulignant l'efficacité apparente des amendements en charbon actif dans l'abattement des polluants disponibles *in situ* (Cho et al., 2009).

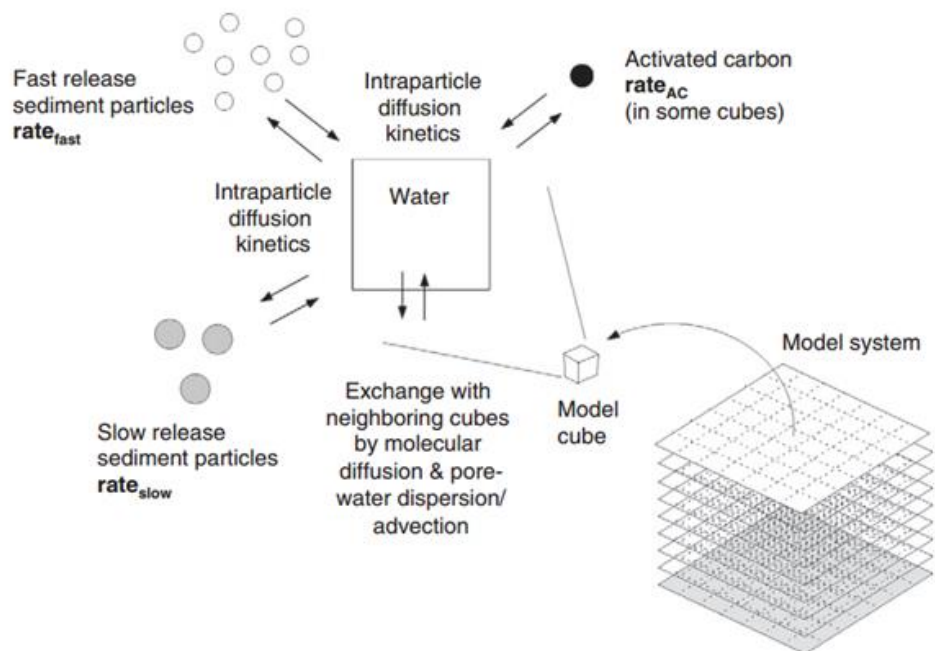
La poursuite des études de surveillance environnementale sur ce premier site pilote a permis successivement : i) de valider un modèle de transfert de masse des PCB entre sédiment contaminé et particules de charbon actif *in situ*, ii) de vérifier l'efficacité pérenne de la séquestration des contaminants (observations réalisées sur une période de cinq ans), l'efficacité étant évaluée essentiellement en termes de (bio)disponibilité environnementale, et iii) d'établir *in fine* une méthodologie globale de remédiation directement applicable à la réhabilitation des sites contaminés (en se basant notamment sur une caractérisation approfondie du sédiment à traiter associée aux prédictions d'efficacité de séquestration obtenues par modélisation). Ces différents aspects, très documentés dans la littérature (Cho et al., 2012, 2007, Choi et al., 2016b, 2016a, 2014; J. M. Thompson et al., 2016; Werner et al., 2006), constituent un volet majeur de la validation des procédés de remédiation des sédiments par des amendements en charbon actif à l'échelle environnementale. Aussi, une attention particulière leur a été portée dans la suite de cette synthèse.

#### 2.1.3.4.1. Validation d'un modèle de transfert de masse des PCB en conditions environnementales

Parallèlement aux mesures réalisées in situ au sein de la baie de San Francisco (Hunter Point, CA, USA), le développement (Werner et al., 2006) puis la validation progressive d'un modèle de transfert de masse de PCB vers du charbon actif (Cho et al., 2012; Choi et al., 2016b, 2016a, 2014; Hale and Werner, 2010; Thompson et al., 2016) a permis d'appréhender de manière plus précise l'importance des différents facteurs susceptibles d'impacter l'efficacité de séquestration des contaminants en conditions environnementales, à savoir : i) les effets de l'augmentation de la durée de contact entre le charbon actif et le sédiment, ii) la relation « dose-réponse » pouvant être observée localement entre l'apport en charbon actif et la disponibilité résultante des PCB en phase aqueuse, iii) l'impact des phénomènes de sorption compétitive entre la matière organique naturelle et les polluants à l'interface avec le charbon actif, iv) les effets liés à l'hétérogénéité spatiale de l'incorporation du charbon actif au sédiment, et v) les conséquences de mouvements d'eau interstitielle advectifs sur la cinétique de transfert des contaminants du sédiment aux particules de charbon.

Les transferts de masse des contaminants organiques hydrophobes de type PCB ont été initialement modélisés par Werner et al. (2006) en considérant un système fermé de sédiment contaminé et de charbon actif sous agitation constante. L'ajustement de ce modèle aux conditions de terrain a été effectué afin d'être en mesure de prédire l'efficacité de séquestration des contaminants par les amendements en charbon actif sur le long terme, i.e. durant 15 à 20 ans de traitement, dans des conditions d'exposition variées représentatives du contexte environnemental (Cho et al., 2012; Choi et al., 2016b, 2016a, 2014; Thompson et al., 2016). Brièvement, ce modèle fait appel aux concepts de diffusion intra-particulaire des contaminants en considérant deux catégories de particules sédimentaires (représentant chacune un domaine de sorption spécifique) : l'une caractérisée à la fois par une diffusion intra-particulaire et une désorption lentes des contaminants (« rateslow », Figure 10), et l'autre témoignant d'une diffusion intra-particulaire et d'une désorption relativement rapides des polluants (« ratefast », Figure 10) (Cho et al., 2012). Le troisième domaine particulaire considéré dans le modèle est représenté par les particules de charbon actif, ces dernières possédant les cinétiques de diffusion/sorption de PCB les plus lentes en raison de leur importante capacité de séquestration des contaminants (Cho et al., 2012). Le modèle ainsi décrit permet de simuler un panel de scénarios en tenant compte de l'hétérogénéité des mélanges de charbon actif-sédiment observés in situ, pouvant notamment représenter des systèmes très homogènes ou au contraire « quiescents », i.e. sans mélange préalable (Figure 10) (Cho et al., 2012; Choi et al., 2016a).

D'après ce modèle, une relation de type « dose-effet » devrait être mise en évidence entre la capacité de séquestration des PCB et la concentration locale en charbon actif, de même que des effets d'immobilisation plus marqués pour les polluants les moins chlorés (Cho et al., 2012). Ces prédictions ont pu être vérifiées à travers les mesures de contaminants disponibles en phase aqueuse in situ (par échantillonnage passifs via des dispositifs de type membranes de polyéthylène et SPMD - « semipermeable membrane device » - exposés 28 jours) (Cho et al., 2012). Une nette corrélation a en effet été reportée entre les teneurs locales en charbon actif et la réduction des concentrations en PCB solubilisés au niveau sédimentaire, avec une séquestration plus marquée pour les congénères les moins chlorés (Cho et al., 2012), conformément aux résultats préalablement obtenus expérimentalement en laboratoire (Zimmerman et al., 2004) et par modélisation (Cho et al., 2012). De tels résultats avaient déjà été mis en évidence par échantillonnages passifs de type SPMD au bout de quelques mois seulement (un à sept mois) de traitement, en particulier pour les doses de charbon actif les plus faibles (Cho et al., 2009). Par ailleurs, la comparaison par les mêmes auteurs, des tests de disponibilité environnementale in situ à ceux effectués de manière ex situ, a témoigné d'un pouvoir d'immobilisation des contaminants plus important lors des essais conduits en laboratoire (e.g. 91 et 58% de réduction respectivement pour les PCB 101 et PCB 180), suggérant des transferts de masse plus lents en conditions réelles au niveau de la couche sédimentaire (Cho et al., 2012). En effet, les mesures réalisées in situ ne comprenaient qu'une phase d'agitation initiale d'une minute avant l'introduction des dispositifs de type SPMD, alors que les tests de laboratoire incluaient une phase d'agitation mécanique de deux semaines afin de faciliter les processus de transfert de masse (Cho et al., 2012). Les différences observables entre disponibilité environnementale évaluée *in situ* et *ex situ* tendent toutefois à s'estomper au fil du temps, confirmant un « artefact » strictement cinétique entre les deux contextes d'étude (Cho et al., 2012). A titre d'indication et afin de souligner l'importance de l'homogénéité de la répartition des particules de charbon actif au sein de la matrice sédimentaire, les auteurs ont pu déterminer (selon le modèle de séquestration préétabli) qu'une période de contact charbon actif - sédiment de l'ordre d'une à deux décennies serait nécessaire dans le cas d'une brève agitation initiale *versus* agitation soutenue durant deux semaines afin d'observer des résultats convergents entre les deux contextes d'étude (Cho et al., 2012).



**Figure 10 : Modèle conceptuel du transfert de polluants organiques hydrophobes dans un système composé de sédiment très peu mélangé.**

Les transferts de contaminants entre « cubes » de sédiments adjacents peuvent s'effectuer par diffusion simple, par dispersion ou par courants advectifs dans l'eau porale. Trois compartiments sont modélisés : l'un caractérisé par une diffusion rapide des contaminants (« fast release »), l'autre par une diffusion comparativement lente (« slow release ») et enfin des particules de charbon actif (« CA ») retenant fortement les micropolluants ; d'après Cho et al., 2012.

#### 2.1.3.4.2. Effets des phénomènes de compétition d'adsorption avec la matière organique naturelle sur la séquestration

La confrontation des résultats de séquestration *in situ* aux simulations effectuées par modélisation a également mis en évidence une transition entre des prévisions *in silico* relativement précises (pour un et sept mois de traitement), voire sous-estimant la capacité effective de séquestration par le charbon actif dans les premiers mois suivant l'amendement, à des prévisions surestimant le potentiel d'immobilisation des contaminants sur le long terme (i.e. plusieurs années de traitement) (Cho et al., 2012). De telles tendances étaient d'autant plus marquées pour des estimations concernant cinq années de traitement, avec les déviations les plus fortes par rapport au modèle reportées pour les doses les plus faibles en charbon actif (Cho et al., 2012). Selon les auteurs (Cho et al., 2012), ce phénomène serait essentiellement dû aux processus de sorption compétitive de la matière organique naturelle au sein de la matrice séquestrante (Newcombe et al., 1993). En effet, les premières simulations effectuées par Werner et al. (2006) visant à estimer le potentiel de séquestration des PCB par ajout de charbon actif à du sédiment contaminé avaient systématiquement conduit à une surestimation (d'un facteur 2 à 6) de la capacité d'immobilisation des contaminants (évaluée indirectement par la mesure des concentrations aqueuses en polluants) par la matrice séquestrante. Par la suite, des valeurs plus proches (de l'ordre d'un facteur 3) de celles effectivement mesurées n'avaient pu être obtenues qu'après application d'un facteur correctif (de l'ordre de 16) aux coefficients de répartition charbon actif-eau initialement fixés pour les polluants considérés (déterminés dans de l'eau pure), soulignant par là-même l'importance des processus de sorption compétitive entre contaminants et autres solutés déjà en présence au sein du sédiment. Bien qu'un facteur correctif ait également été incorporé aux équations du modèle décrit par (Cho et al., 2012), il a été défini comme constant au cours du temps, alors que des contacts prolongés charbon actif-sédiment *in situ* sont également susceptibles de favoriser les phénomènes de sorption compétitive des constituants naturels de la matière organique avec les contaminants sur le long terme.

Contrairement à des expérimentations conduites en systèmes fermés en laboratoire, l'application de charbon actif *in situ* peut par conséquent conduire à une atténuation de leur capacité de sorption en raison d'influx de matière organique naturelle à partir du milieu environnant (Cho et al., 2012). Cet apport de matière organique exogène peut concerner aussi bien des particules de matière en suspension que de la matière organique initialement issue de dépôts sédimentaires, incluant également la matière organique néoformée suite à la décomposition de la biomasse algale au sein de la zone intertidale (Cho et al., 2009). De tels phénomènes seraient d'autant plus accentués que la matière organique naturelle se retrouve généralement en des quantités plus importantes que les contaminants à séquestrer, tout en étant également caractérisée par une plus grande mobilité et une cinétique de sorption plus rapide vis-à-vis du charbon actif en comparaison à celle décrite pour des molécules de PCB (Ding et al., 2008). Par ailleurs, l'accumulation progressive des PCB et autres polluants atteignant la couche sédimentaire au fil du temps, par opposition à la quantité de charbon actif initialement

incorporée au sédiment dans un test en conditions contrôlées, résulterait également en des phénomènes de compétition entre les contaminants par rapport à un nombre fini de sites d'adsorption au niveau des particules de charbon actif (Cho et al., 2012). Aussi, bien que l'amendement en charbon actif témoigne toujours d'une capacité de séquestration considérable après cinq années de traitement, les conséquences à plus long terme (i.e. plusieurs décennies) d'une exposition en conditions environnementales, et en particulier les mécanismes liés à la neutralisation des sites actifs de sorption par la matière organique naturelle, requerraient selon les auteurs des investigations supplémentaires (Cho et al., 2012).

#### 2.1.3.4.3. Effet des courants advectifs d'eau interstitielle

Les processus hydrodynamiques tels que les courants advectifs consécutifs aux courants de fond (et aux paramètres de microtopographie des profondeurs), ainsi qu'à la propagation des vagues, aux changements de densité de la colonne d'eau, ou encore à la resuspension de sédiments (Precht et Huettel, 2004; Rocha, 2000) sont susceptibles d'accélérer les transferts de masse des PCB du sédiment contaminé aux particules de charbon actif. Cependant, en considérant une vitesse moyenne de 5 cm.d<sup>-1</sup>, Cho et al (2012) ont montré à travers leur modèle que de tels phénomènes, bien qu'existant, pouvaient être négligés en conditions environnementales, comparativement aux effets liés à l'hétérogénéité de la répartition initiale charbon actif – sédiment, davantage prépondérants pour la séquestration locale des contaminants.

#### 2.1.3.4.4. Stabilité de l'apport en charbon actif

La détermination des teneurs en carbone organique total réalisée cinq années après la première application de charbon actif menée au sein de la baie de San Francisco (Hunter Point, CA, USA ; août 2004), a témoigné de la présence de charbon actif au sein du sédiment à des doses proches de celles qui avaient été initialement prévues par rapport au degré de contamination de la zone à traiter, i.e. à hauteur de 3,4% environ en poids sec (m:m) (Cho et al., 2012). De telles concentrations en charbon actif étaient par ailleurs similaires à celles mesurées successivement après un et sept mois de traitement (3,2 ± 2,8 % poids sec, (Cho et al., 2007)), indiquant à la fois la persistance et la stabilité de l'apport en charbon actif à moyen terme (Cho et al., 2012).

#### 2.1.3.4.5. Hétérogénéité de la répartition des amendements en charbon actif

L'hétérogénéité de la distribution des particules de charbon actif a été évaluée à différentes échelles. Globalement, la dose moyenne de charbon actif mesurée le long de tronçons de sédiments de 5 cm s'étalait de 0,4 à 4,7% au niveau des zones traitées (Cho et al., 2012). Cette répartition non-homogène était également reportée pour des échantillons réalisés à l'échelle millimétrique, i.e. pour des quantités de sédiments de l'ordre de 100 mm<sup>3</sup> (Cho et al., 2012). Afin de mieux appréhender les effets de cette hétérogénéité de distribution de la matrice séquestrante sur l'immobilisation des PCB, des simulations de transferts de masse des contaminants ont été conduites selon différents scénarios en considérant respectivement : i) des particules de charbon actif réparties de manière homogène avec des distances de diffusion simple de l'ordre de 0,2 mm, ii) des particules de charbon faiblement réparties au sein de la matrice sédimentaire avec des distances de diffusion atteignant un millimètre, iii) et une hétérogénéité de distribution à l'échelle du millimètre conformément aux observations reportées par mesure du carbone organique total sur les micro-échantillons (100 mm<sup>3</sup>) (Cho et al., 2012). Ces différentes simulations ont indiqué globalement un ralentissement des transferts de masse des PCB en fonction du degré d'hétérogénéité des matrices, entraînant par conséquent un délai dans l'observation des effets positifs de l'amendement en charbon actif in situ (Cho et al., 2012). A titre d'exemple, une année seulement serait nécessaire pour atteindre un objectif de 80% de réduction de la disponibilité environnementale de PCB de type PCB 101 en considérant une répartition homogène des particules de charbon au sein du sédiment, alors que cette même durée serait augmentée à six ans dans le cas d'une répartition fortement hétérogène (Cho et al., 2012). Il en découle un effet de séquestration des contaminants d'autant plus marqué dans les premiers mois suivant l'amendement en charbon actif lorsque les volumes de sédiment amendé sont caractérisés par de courtes distances de diffusion des contaminants, cet effet étant moins remarquable sur le long terme pour des volumes de sédiments caractérisés par des distances de diffusion plus importantes (Cho et al., 2012). L'analyse de carottes sédimentaires en fonction de la profondeur d'échantillonnage a par ailleurs indiqué que la majeure partie des particules de charbon actif était distribuée dans les 15 premiers centimètres en surface du sédiment, par opposition aux strates plus profondes qui n'étaient que très faiblement amendées.

La simulation des effets de séquestration sur le long terme, i.e. 25 ans, en fonction de chacune des sections de 5 cm de profondeur a notamment souligné l'importance de la dose de charbon actif initialement appliquée sur une période d'exposition d'une telle durée. L'existence d'un courant advectif de 5 cm.j<sup>-1</sup> était en outre insuffisante pour pallier aux effets de « délais » liés à l'hétérogénéité éventuelle de la répartition des particules de charbon actif au sein du sédiment (Cho et al., 2012). Il a ainsi pu être clairement établi que l'efficacité d'immobilisation des contaminants par les amendements en charbon actif dépendait fortement de la dose de charbon apportée localement, les mélanges naturels liés aux processus de bioturbation ou autres (courants advectifs, de marée etc.) se révélant peu efficaces pour une homogénéisation spatiale du charbon actif permettant une efficacité optimale de séquestration (à court terme) par rapport au gradient de PCB pouvant être observé localement au niveau de la couche sédimentaire (Cho et al., 2012).

En définitive, bien que la concentration locale en charbon actif détermine théoriquement la capacité de séquestration des contaminants (quelles que soient les caractéristiques de distribution des particules de charbon au sein du sédiment), les

essais *in situ* suggèrent que la répartition initiale des particules de charbon détermine in fine l'efficacité de séquestration pour une période de contact définie, ainsi que la durée nécessaire à l'atteinte d'un tel niveau de séquestration. L'existence de mouvements d'eau interstitielle advectifs plus ou moins importants, la dispersion mécanique des particules ou les phénomènes de bioturbation sont autant de processus susceptibles de faciliter l'adsorption des contaminants vis-à-vis du charbon actif *in situ*, bien que très dépendants du contexte environnemental. Afin d'améliorer l'homogénéité de la répartition initiale du charbon actif au sein du sédiment, la méthode d'incorporation du charbon peut être modifiée en conséquence (e.g. apports et mélanges séquentiels charbon/sédiment, augmentation de la durée de mélange des matrices), la taille des particules pouvant aussi être réduite (e.g. broyage de charbon granuleux en particules plus fines). Finalement, l'ensemble des résultats obtenus *in situ*, en particulier en termes de disponibilité environnementale, a souligné l'importance des essais de terrain pour la validation de procédés de remédiation basés sur des amendements en charbon actif. Un cadre de modélisation robuste apparaît également essentiel afin de prédire de manière appropriée l'efficacité de séquestration sur le long terme de par la multiplicité des conditions environnementales pouvant impacter le processus *in situ*. Une attention particulière doit être portée à la teneur et à la qualité de la matière organique endogène.

#### 2.1.3.4.6. Réduction des teneurs en PCB (bio)disponibles sur le long terme

L'évaluation des concentrations aqueuses en PCB par échantillonnage passif lors des premiers essais réalisés au sein de la baie de San Francisco (Hunter Point, CA, USA) a permis de confirmer la persistance de la capacité de séquestration du charbon actif sur le long terme, tout en soulignant localement de fortes relations « doses-efficacité de séquestration » (Cho et al., 2012). Une réduction de l'ordre de 73% des teneurs en PCB disponibles (évaluées via les échantillonneurs passifs) était ainsi généralement observable pour un amendement effectif en matériaux carbonneux évalué à 3,7% (m:m), avec des résultats variant de 86 à 55% de diminution selon le degré de chloration de la molécule étudiée (respectivement PCB 101 et PCB 180) (Cho et al., 2012). Des résultats similaires ont été obtenus concernant l'application de charbon actif sur une surface de 0,2 ha de sédiments situés à 5 m de profondeur lors d'essais pilotes débutés en 2006 au sein de Grasse River (Massena, New-York, USA) (Beckingham et Ghosh, 2011). En outre, lors de ces essais visant à évaluer la capacité du charbon actif à réduire à la fois les concentrations en PCB en phase aqueuse et leur biodisponibilité vis-à-vis des organismes benthiques, trois stratégies d'amendement ont été testées : la pulvérisation du géosorbant en surface du sédiment suivie ou non d'un mélange avec la couche sédimentaire de surface (0- 15 cm) et l'injection directe sans mélange supplémentaire (Beckingham et Ghosh, 2011; Ghosh et al., 2011). Les concentrations en polluants dans l'eau interstitielle (couche superficielle de 0-15 cm) ont été réduites de plus de 99% lors de la troisième année de traitement (quelle que soit la technique employée) pour des amendements en charbon actif à hauteur de 4% (m:m), confirmant ainsi l'efficacité des traitements à diminuer les flux de PCB du sédiment vers la colonne d'eau. De même, la biodisponibilité des PCB, évaluée *in situ* et *ex situ* par des mesures de bioaccumulation des contaminants chez *Lumbriculus variegatus*, a témoigné de réductions supérieures à 90% pour des teneurs en charbon actif de l'ordre de 4% (m:m) (Beckingham et Ghosh, 2011; Ghosh et al., 2011).

Par la suite, plusieurs études ont été conduites visant à démontrer l'efficacité de l'application de charbon actif à partir de formulations commerciales spécifiquement développées dans le but de remédier à la contamination des sédiments en polluants organiques (Ghosh et al., 2011; Ghosh et Menzie, 2012). Là encore, qu'il s'agisse de matériaux manufacturés de type SediMite™, AquaGate™ ou de charbon actif à l'état brut, les mesures de bioaccumulation ont confirmé la capacité des traitements à base de charbon actif à réduire la biodisponibilité des PCB chez des annélides oligochètes inféodés au sédiment tels que *L. variegatus* (Beckingham et Ghosh, 2011; Ghosh et al., 2011). Des réductions des concentrations en PCB de l'ordre de 57% ont ainsi pu être reportées dans les tissus du vers au bout de 6 mois de traitement, ces taux atteignant 92% au bout de 10 mois avec l'emploi de SediMite™ (Beckingham et Ghosh, 2011; Ghosh et al., 2011).

Globalement, l'ensemble des essais réalisés sur le terrain au cours de la dernière décennie a témoigné de la faisabilité et de l'efficacité de l'application de charbon actif *in situ* quant à la réduction des flux de polluants d'origine sédimentaires (notamment organochlorés de type PCB) vers la colonne d'eau, ainsi que de la réduction de la biodisponibilité et bioaccumulation de ces contaminants chez les organismes benthiques caractérisés par un mode de vie directement inféodé au sédiment (Ghosh et al., 2011; Patmont et al., 2015).

Ces réductions sont souvent de l'ordre de 90% voire plus au bout de quelques mois (10 mois) à plusieurs années (3 ans et plus) de traitement (Ghosh et al., 2011; Patmont et al., 2015). Plus récemment, les travaux de Fadaei et al. (2015) ont également démontré le rôle des matériaux sorbants de type charbon actif dans la séquestration des PCB et la diminution de leur biodisponibilité, y compris vis-à-vis des poissons lors d'essais en laboratoire en utilisant le poisson-zèbre comme organisme modèle. Un amendement du sédiment de l'ordre de 4,5 % (m:m) en charbon actif granuleux (préalablement réduit en poudre) a ainsi permis une réduction à hauteur de 87 % de la bioaccumulation de PCB dans le poisson-zèbre au bout de 90 jours d'exposition (associée à une diminution de plus de 95% des teneurs mesurables dans l'eau) (Fadaei et al., 2015). Ces observations à l'échelle d'organismes supérieurs tendent ainsi à conforter le recours à une large échelle à des amendements en matrices séquestrantes comme moyen de « remédiation » des sédiments contaminés ou d'alternative de gestion durable de la contamination environnementale.

#### 2.1.4. Essais sur sols

Peu d'études ont été réalisées à ce jour, en comparaison aux travaux menés sur sédiments, visant à appréhender les capacités de séquestration et de réduction à la fois de la biodisponibilité et de la bioaccumulation des polluants organiques hydrophobes par des amendements en charbons actifs (ou biochars) dans les sols. La majorité des travaux se focalise généralement sur la réduction de la bioaccessibilité et de la biodisponibilité des contaminants organiques vis-à-vis des végétaux (d'intérêt agronomique) et des invertébrés du sol. L'efficacité, a priori, de l'immobilisation des contaminants est également appréhendée de manière indirecte par l'évaluation de l'évolution de l'écotoxicité globale des matrices ainsi traitées.

En termes de séquestration de polluants organochlorés, les travaux de Paul et Ghosh (2011) ont été parmi les premiers à témoigner des possibilités de rétention de ces contaminants dans les sols (polluants de type PCB) par l'intermédiaire d'amendement en charbon actif (de marque TOG ; Calgon Corp. Pittsburgh, PA, USA ; mesh size 80 x 325 ; lignite). Un amendement de sol artificiel « fraîchement » contaminé par un mélange de PCB de type Aroclor 1242 à une dose (faible) de 2% (m:m) de charbon actif a ainsi permis de réduire de 68 à 94% les concentrations totales en PCB dans des vers de fumier (*Eisenia fetida*, tests de bioaccumulation durant 28 jours d'après les lignes directrices de « l'American Society for Testing and Materials International » (ASTM E1676-04, 2004)) selon que l'apport initial avait été réalisé en surface du sol, suivi d'un mélange sol-charbon actif par bioturbation progressive, ou par mélange homogène préalable des deux types de matrices (Paul et Ghosh, 2011). De manière similaire à ce qui avait été précédemment observé pour des oligochètes lors du traitement de sédiments contaminés par du charbon actif (Millward et al., 2005; Sun et Ghosh, 2008), la diminution de bioaccumulation en PCB était inversement proportionnelle au degré de chloration des molécules (Paul et Ghosh, 2011). Les composés tétra-, penta- et hexachlorés témoignaient en effet de niveaux de réduction de bioaccumulation chez *E. fetida* moins conséquents, bien que toujours relativement très élevés, i.e. de l'ordre de 92,7, 88,8 et 73,2% respectivement (Paul and Ghosh, 2011). Selon plusieurs auteurs, de telles observations s'expliqueraient par une hydrophobicité plus grande et par conséquent des vitesses de transfert plus faibles des congénères les plus chlorés du sol aux particules de charbon actif (Millward et al., 2005; Paul et Ghosh, 2011; Sun et Ghosh, 2008). Par ailleurs, des tests de bioaccumulation à partir de ces mêmes sols, soumis au préalable à un « vieillissement » de 19 mois à l'obscurité, ont permis de confirmer à plus long terme la capacité de séquestration des polluants par le charbon actif en dépit des processus de compétition avec la matière organique présente dans le sol (Paul et Ghosh, 2011). Globalement, une réduction de bioaccumulation de l'ordre de 99% en moyenne a ainsi pu être notée pour les sols mélangés au charbon actif au bout de 19 mois (contre 94% en situation de sol « fraîchement » contaminé). L'évaluation des concentrations en PCB dans l'eau porale (par dispositif passif de type polyoxyméthylène « POM ») a indiqué des valeurs d'un à deux ordres de magnitude inférieures à celles obtenues à travers des mesures sur sol « non vieilli », selon qu'il s'agissait de PCB penta- et hexachlorés d'une part, ou de di-, tri- et tétrachlorés d'autre part (Paul et Ghosh, 2011), soulignant comme pour les sédiments l'importance du temps de contact charbon actif-sol dans les transferts de masse des polluants hydrophobes des particules de sol au charbon actif. De manière concomitante, ces travaux ont permis d'établir de très fortes corrélations positives entre les niveaux de contamination dans l'eau porale et la bioaccumulation des PCB, suggérant l'intérêt des échantillonnages passifs comme indicateurs potentiels du niveau de bioaccumulation des PCB chez les invertébrés du sol (Paul et Ghosh, 2011). De plus, lors d'une expérimentation supplémentaire visant à évaluer l'impact de la présence de charbon actif dans un sol non contaminé vis-à-vis de l'élimination naturelle des PCB par des annélides (ayant préalablement bioaccumulé les polluants), les résultats ont indiqué en moyenne une phase d'élimination plus courte en présence du matériau carboné avec des taux d'élimination de 0,17.jour<sup>-1</sup> contre 0,21.jour<sup>-1</sup> pour des sols sans charbon, suggérant également un rôle non négligeable de ce matériau dans la facilitation des transferts de masse de la paroi du tractus digestif vers le sol ingéré contenant du charbon actif (Paul et Ghosh, 2011).

## 3. Objectifs et enjeux du projet PIEGEACHLOR

### 3.1. Objectifs du projet

Le projet s'inscrit dans une volonté d'utilisation de MO exogène pour piéger des POP du sol. Il a pour objectif de répondre aux lacunes actuelles identifiées dans la partie précédente.

De très nombreuses publications rapportent pour divers POP l'effet d'un apport de MO avec une estimation du potentiel de séquestration, vis à vis d'un lessivage, ou de la biodisponibilité pour un biote. En général cet apport se traduit par une réduction du phénomène observé. Ces résultats sont néanmoins difficilement comparables car la caractérisation de la MO utilisée est très hétérogène, soit du fait de caractères mesurés différents (taux de C organique, taux de black carbon, aromaticité, porosité....), soit du fait de méthodes non normalisées ou non quantitatives strictes (black carbon, aromaticité), ou encore du fait de variabilité pour une même MO, comme c'est le cas de valeurs de porosité donnée pour des charbons actifs qui peuvent varier du simple au double. Pour répondre à cette difficulté la stratégie retenue dans le projet est de caractériser par une batterie de mesures homogènes et convergentes un panel de MO assez large au départ et aux propriétés contrastées (composts, biochars, charbon actifs). La capacité de ces MO à séquestrer les POP sera évaluée par des isothermes de sorption-désorption. Ainsi à partir d'une caractérisation similaire des différentes MO pourra être établie un lien avec leur capacité à séquestrer un POP. Pour une même MO une comparaison pourra être effectuée entre POP, et pour un même POP une comparaison pourra être effectuée entre MO. Les 3 POP sélectionnés (2,3,7,8TCDD, PCB153, et CLD) ont des propriétés différentes, ce qui permettra d'interpréter les résultats de manière assez générique.

A partir de cette première caractérisation la moitié des MO sera retenue pour l'étape suivante. Celle-ci concerne l'évaluation du potentiel de réduction de la biodisponibilité. Elle met en jeu différents biotes (choisis pour leur différent mode d'interaction avec le couple sorbant-sorbé) au sein de sols artificiels. Le choix d'un sol artificiel préparé selon la norme OCDE 47 permet de simplifier le milieu, donc les interactions et in fine l'interprétation. Comme cité dans la partie précédente, le biote peut être déterminant vis à vis du potentiel de séquestration par l'interaction qu'il développe vis à vis de la MO, et du POP en favorisant ou non son extraction physique ou sa solubilité dans le liquide vecteur intermédiaire. Le choix de retenir 4 types de biote très différents microorganismes (communautés), vers de terre (lombriciens), végétaux (racine=radis et aérien=cucurbitacée) et vertébré supérieur (poule) répond à cet enjeu. De surcroît ils répondent à des enjeux d'écotoxicité (abondance, diversité et fonctionnalités métaboliques microbiennes, biomarqueurs chez le ver de terre) comme sanitaire (concentration dans le ver niveau trophique intermédiaire dans l'écosystème terrestre, dans les végétaux ou les tissus animaux consommables par l'Homme). Comme l'enjeu des expérimentations est de montrer une réduction (ou non) des effets ou du transfert il est important de travailler sur des modèles qui vont exprimer une réponse. C'est la raison pour laquelle les végétaux sélectionnés montrent un transfert avéré pour les organochlorés, la poule une capacité à bioaccumuler les organohalogénés étudiés, et les deux espèces de ver du fait d'une différence de sensibilité à certains pesticides. Ces choix s'appuient sur l'expertise des différents partenaires du projet. Cette diversité de modèles permettra d'estimer la performance de séquestration vers une diversité de cibles considérées comme représentatives de la diversité du biote en interaction avec le sol et des enjeux sociétaux liés à la pollution des sols par les POP.

Le caractère ambitieux du projet résulte de la combinaison de ces choix méthodologiques et qui doivent permettre de dépasser les limites des expérimentations nombreuses mais contingentes relevées dans la littérature. Il a pour ambition d'investiguer finement et comparativement les relations séquestrant-séquestré-cible afin d'amener une certaine généralité dans la connaissance. Ces connaissances seront une ressource permettant la mise en œuvre de solutions de terrain en connaissance de cause et non au coup par coup.

L'enjeu qui a été cité comme clé du projet est la capacité à séquestrer les POP chlorés au sein même des sols contaminés. Ce projet a pour ambition de répondre aux objectifs suivants :

- Déterminer la capacité de chacune des MO testée à séquestrer un des POP testés vis à vis d'une des cibles biologiques étudiées, et donc la validité de l'option de gestion in situ pour les POP
- Déterminer la capacité de chacune des MO testée à séquestrer un des POP testés vis à vis d'un extractant chimique censé mimer d'accessibilité et de disponibilité biologique, et donc l'aspect prédictif de ce test pour établir à un coût moindre et avec plus de rapidité une estimation de la biodisponibilité des POP présents dans un sol contaminé
- Caractériser les différentes MO et le lien avec leurs capacités de séquestration (hystérèse)
- L'interprétation des relations, différences entre MO, POP et modèle de biodisponibilité mobilisés afin de proposer un modèle générique de ces interactions et d'extrapoler les solutions envisager à d'autres polluants.
- Déterminer la gamme de potentiel de séquestration en fonction de la MO, et donc de son coût de production et d'autres enjeux non traités dans le projet (séquestration carbone, amendement, fertilisation...)



### 3.2. Démarche et structure du projet

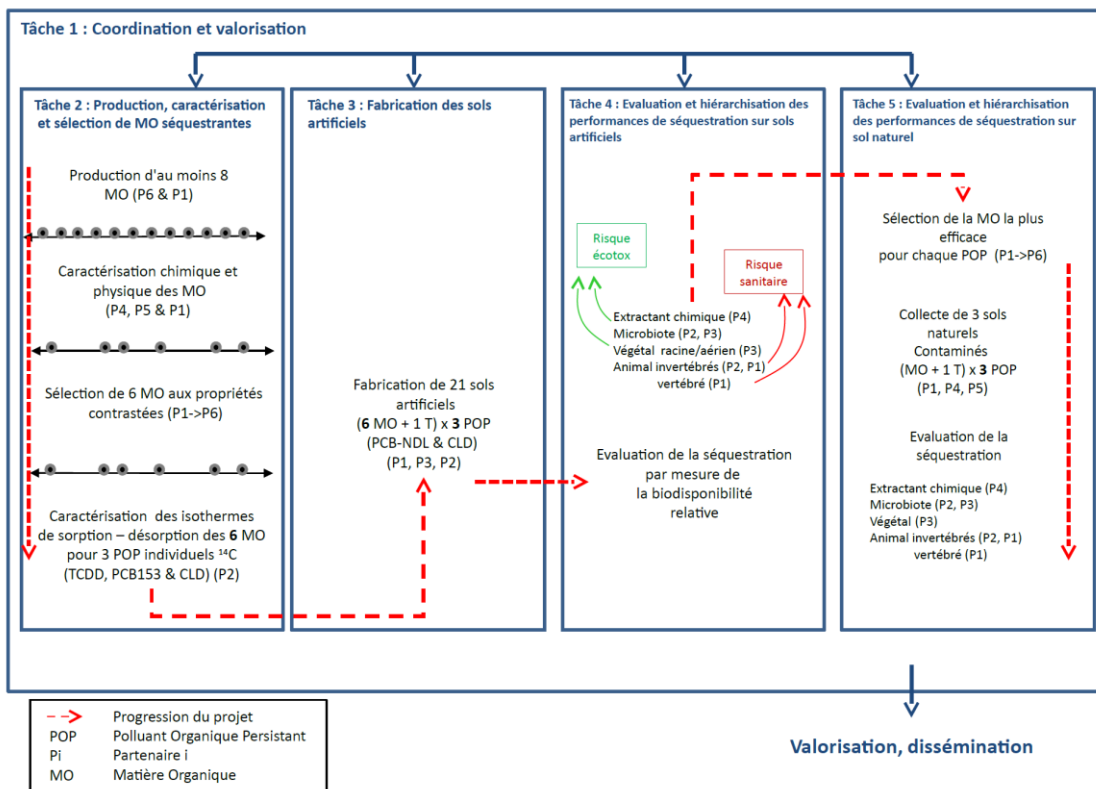


Figure 11 : Démarche et structure du projet PIEGEACHLOR

Le projet tel qu'il est construit a pour objectif de répondre à la question : **peut-on limiter les effets néfastes des POP du sol en les séquestrant par adjonction de MO exogène ?** Cet objectif se doit d'être construit de manière générique, avec comme principe d'être applicable à un nombre important de molécule ayant le comportement précédemment décrit, d'être efficace en limitant les transferts vers les compartiments abiotiques ou biotiques « adjacents ». Le fait de pouvoir être appliqué à un nombre important de POP nécessite une certaine généralité, qui est prise en compte dès la conception du projet par le croisement des approches et leur complémentarité Figure 11) : caractérisation physique et chimique des MO candidates, puis tests expérimentaux en conditions simplifiées sur sol artificiel puis test en conditions sol naturel.

### 3.3. Présentation du consortium et les compétences mobilisées

Les partenaires impliqués sont deux types EPST-universitaires, et une entreprise. La complémentarité entre ces deux mondes est basée sur un apport réciproque.

#### Carbo France

---



L'entreprise **Carbofrance** est le fournisseur de matières organiques poreuses issues de pyrolyse (biochar à base de bois carbonisé). L'entreprise a eu à charge de mobiliser ses équipements et ses savoir-faire pour produire des biochars à façon. Ces produits ont ensuite été caractérisés situés par rapport à deux autres types de produits présents sur le marché : les charbons actifs.

#### EcoSys

---



D'un point de vue scientifique, les partenaires ont une expérience complémentaire dans les différentes disciplines scientifiques mobilisées et également la chaîne des opérations à mettre en œuvre. Le pôle d'écotoxicologie au sein de l'unité EcoSys (INRAE) a une expertise reconnue en termes d'écotoxicité. Un de ses membres, C. Mougin responsable au sein du projet Piegeachlor anime le réseau Ecotox interdépartements de l'INRAE. Cette expérience repose sur une solide connaissance des interactions polluants organiques (majoritairement pesticides) avec le sol, et des effets sur le biote, en particulier le microbiote et les invertébrés. Le laboratoire dispose en particulier d'une plate-forme métabolomique permettant de caractériser des changements d'orientation métabolique de la communauté microbienne suite à une exposition aux contaminants. Pour les effets écotoxicologiques des biomarqueurs ont été développés au sein du laboratoire avec un volonté de développer des modèles présentant des sensibilités différentes suivant les classes de polluant, ce qui est particulièrement en adéquation avec le projet. De même le laboratoire dispose d'un agrément et des équipements nécessaires à la manipulation de molécules radio-marquées, ce qui rend possible l'établissement des isothermes de sorption-désorption pour les différentes MO étudiées. En effet, le coût du dosage de chacune de ces molécules rend incompatible l'établissement de cinétiques avec de très nombreux points nécessaires.

#### Laboratoire Agronomie et Environnement (LAE)

---



Le laboratoire Agronomie et Environnement (LAE) a une expertise agronomique reconnue et a développé de nombreux travaux sur l'incidence des pratiques agronomiques sur le microbiote du sol. Il complète l'approche métabolomique développée par Eco-Sys en introduisant les notions d'abondance et de diversité de la communauté microbienne du sol via un outil génomique, partiellement sous-traité. Il dispose des installations nécessaires à la croissance de plantes en conditions contrôlées (phytotrons, serres) qui seront mobilisée pour les tâches 3 et 4 du projet.

#### Laboratoire d'analyse des Sols d'Arras (LAS)

---



Le laboratoire d'analyse des sols d'Arras (LAS) a une expertise reconnue dans deux domaines au coeur du projet : la caractérisation des sols (ici en particulier autour de la MO des sols artificiels et des sols naturels mobilisés) et l'analyse des polluants. C'est un des acteurs majeurs de l'analyse des POP du RMQS. D'autre part il développe actuellement des outils d'évaluation indirecte de la biodisponibilité des polluants organiques du sol via des méthodes d'extraction chimique douce basée sur des chélatants, outil qui sera mobilisé et mis en regard des tests de biodisponibilité effectués avec les différents biotes. Le porteur du projet au sein du laboratoire est d'ailleurs impliqué dans la rédaction de la norme ISO en cours de développement sur ces méthodes. Le projet bénéficie ainsi une plus-value à la fois en termes de connaissances mais aussi de résultats qui pourraient s'apparenter à une pré-validation.

Le laboratoire a une expertise sur l'analyse physique des matériaux et en particulier des sols. Son porteur de projet est un des acteurs majeurs de la caractérisation du lien entre structure des sols tropicaux et chlrodécone, il apporte au projet en dehors de l'accès aux outils de caractérisation de la MO, son expertise d'interprétation des relations POP-MO-sol qui est une des clés annoncées du projet global. C'est donc un maillon important dans la capacité du projet à générer une interprétation

suffisamment générique du projet pour apporter une connaissance mobilisable pour approcher un ensemble de sols touchés par des POP.

## **Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Écologie Marine et Continentale (IMBE)**

---



L'IMBE est installée au centre [IRD Martinique](#), situé sur le Campus Agro-Environnemental Caribéen (CAEC), à Petit Morne, commune du Lamentin. Les recherches menées en Martinique se concentrent essentiellement sur **les propriétés physiques des sols et des milieux poreux**, avec trois axes de recherche prioritaires :

- **la caractérisation de la diversité des sols** de la Martinique (structure, propriétés

de porosité)

- l'étude à l'échelle microscopique des propriétés physiques très particulières des sols volcaniques tropicaux , notamment vis-à-vis des matières organiques. Ils constituent un excellent modèle pour tenter de comprendre les mécanismes de **séquestration du carbone** (GES) dans le but de lutter contre les gaz à effets de serre et le devenir de polluants (fixation-relargage) dans ces sols
- l'étude des relations entre les caractéristiques physico chimiques des argiles (porosité, surface poreuse, concentration en C) et les **propriétés de fixation et de rétention-relargage des pesticides (chlordécone)**.

## **L'Unité de Recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux (UR AFPA)**

---



Enfin l'unité de recherche Animal et Fonctionnalités des Produits Animaux (UR-AFPA) a une expertise reconnue autour du risque sanitaire, qui vient compléter les expertises précédemment citées sur l'écotoxicité, et une maîtrise des modèles animaux. Ces atouts s'inscrivent donc dans une gamme de compétences et d'outils, la participation de chacun des acteurs correspondant à un des maillons de la chaîne de connaissances que le projet cherche à établir. Ce projet repose sur la capacité ou non des MO étudiées à réduire la biodisponibilité des POP du sol, or ce laboratoire a développé en partenariat avec l'INERIS et l'ADEME une méthode d'évaluation de

la biodisponibilité relative, mobilisée pour valider le test européen (Unified Barge Method) de bioaccessibilité. Ces méthodes ont été réalisées au sein de la plateforme Bio-DA labellisée LUE INFRA+. C'est en raison de la maîtrise de ce concept et des méthodes statistiques inhérentes que cette unité s'inscrit comme coordinatrice du projet.

## 4. Production des matrices carbonées et essais préliminaires

### 4.1. Positionnement et objectifs de l'étude

Biochars et charbons actifs, des matrices microporeuses, permettent d'adsorber les polluants organiques par physisorption. Cette adsorption empêche leur re-solubilisation, étape nécessaire et limitante du processus de transfert à la flore comme à la faune.

L'intégralité du projet reposant sur un verrou à lever : adsorber les polluants par les biochars au sein même du sol, il apparaissait déterminant de tester au préalable l'ensemble des matrices pouvant être produites par CarboFrance, sélectionner les matrices les plus diverses en termes de porosité et d'effet, avant de réaliser les étapes prévues mobilisant des quantités importantes de matrices carbonées, de sol et de temps d'analyse. Ces essais conditionnant l'utilité du projet, une étude préliminaire a été montée impliquant :

- Les matrices les plus diverses en termes (i) de matières premières utilisées par CarboFrance, des essences ligneuses donc (ii) de température de pyrolyse
- Une caractérisation de la porosité de ces matériaux
- Un essai *in vitro* de disponibilité environnementale
- Un essai *in vivo* de biodisponibilité relative sur porcelets.

En détail, les objectifs de ce travail sont les suivants :

- Evaluer l'efficacité de la séquestration des PCB-NDL et CLD offerte par des matrices carbonées de différentes natures (biochar vs charbons activés (CA)) et de différentes origines (différentes essences de bois et températures de pyrolyse pour les biochars, lignite et noix de coco pour le charbon actif) au sein d'un sol artificiel.
  - Evaluer la réduction de la disponibilité environnementale (cf définition ISO) des PCB-NDL et CLD sols artificiels (OCDE, 1984) comprenant ou non des matrices hautement carbonées (utilisation d'un test ISO/DIS 16751).
  - Evaluer la réduction de biodisponibilité des Polychlorobiphényles-non-dioxin-like PCB-NDL et CLD présents dans des sols artificiels (OCDE, 1984) comprenant ou non des matrices hautement carbonées. Cette biodisponibilité sera évaluée sur des porcelets.
  - Pour ces deux essais les notions de disponibilité relative et la biodisponibilité relative seront employées et comparées.
- Evaluer l'impact de la présence de matière organique endogène (avant maturation) et de sa qualité, au sein du sol artificiel sur la réduction de disponibilité environnementale et la biodisponibilité de ces polluants par les matrices hautement carbonées.
- Evaluer et discuter l'impact de la nature du précurseur et la température de pyrolyse employés sur les caractéristiques des matériaux obtenus, la disponibilité environnementale et la biodisponibilité.

Les éléments sur lesquels repose ce travail sont les suivants :

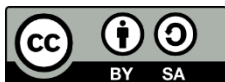
- La microporosité des matrices hautement carbonées est un facteur déterminant de la quantité adsorbée des polluants organiques
- L'état adsorbé des PCB et CLD à ces matrices hautement carbonées est difficilement réversible dans les conditions environnementales limitant leur disponibilité et biodisponibilité
- Ce piégeage physique est la résultante d'interactions de la surface de la matière hautement carbonée avec le polluant
  - Cette microporosité dépend à la fois de la nature du précurseur et des conditions de pyrolyse de la matrice

Les hypothèses testées sont les suivantes :

- L'essence du bois influe sur la porosité du matériel obtenu.
  - Un bois plus dense pourrait être ainsi plus microporeux qu'un bois léger
- La température de pyrolyse influe également sur la porosité de la matrice
  - Une température de pyrolyse plus élevée engendre une carbonisation plus importante à même d'éliminer des résidus pouvant obstruer les pores
- Les caractéristiques des matériaux comme leur microporosité déterminent la quantité et les forces d'adsorption et *in fine* les résultats de disponibilité environnementale et de biodisponibilité des polluants étudiés
- La compétition entre matière organique endogène du sol, représentée par la tourbe sur sol artificiel, ou par la MO endogène sur sol naturel, et exogène (matières hautement carbonées) limite les réductions de biodisponibilité.

Cette étude préliminaire, volontairement de laboratoire, a donné lieu à une publication :

Delannoy, M., Yehya, S., Techer, D., Razafitianamaharavo, A., Richard, A., Baroudi, M., Montarger-Pelletier, E., Rychen, G. and Feidt, C. 2018 Amendment of soil by biochars and CA to reduce CLD availability and relative bioavailability to piglets. Chemosphere.



Les éléments de matériel et méthode, les résultats et la conclusion de la présente partie sont repris directement de cette publication sous licence CC paternité 4.0. Quelques modifications à la marge ont été réalisées.

## **4.2. Schéma expérimental et production des matières carbonées**

### **4.2.1. Schéma expérimental**

Afin de tester le potentiel des biochars à réduire la disponibilité environnementale et la biodisponibilité relative des CLD (et potentiellement des PCB-NDL) dans le sol, 10 biochars différents provenant de 5 sources de bois différentes ont été produits par l'entreprise CarboFrance. Deux températures différentes de pyrolyse (500°C et 700°C +/- 50°C) ont été utilisées et cette étape a été réalisée dans un four industriel pour assurer la faisabilité du procédé. Tous les différents biochars et Charbons Actifs utilisés dans cette étude sont présentés dans le Tableau 3.

Le plan d'expérience visait à comparer la disponibilité et la biodisponibilité des PCB-NDL et des CLD dans des sols artificiels contaminés, amendés ou non avec deux sources de charbon actif différentes (un issu de lignite (DARCO®) et l'autre de coque de noix de coco (ORBO®) ou dix biochars différents (cf. Tableau 3).

Dans un premier temps, une caractérisation de la porosité de ces échantillons a été réalisée. Les résultats de la porosité ont été utilisés pour sélectionner 4 biochars et 2 charbons actifs. Cette sélection est basée sur le lien entre la porosité des biochars et des CA et les quantités de divers polluants adsorbés, comme décrit ailleurs 20.

En ce qui concerne le test de disponibilité, un protocole standard a été utilisé pour chaque sol artificiel. Le test de disponibilité ISO/DIS 16751 a été choisi. En bref, ce test évalue la fraction de polluants qui peut être extraite du sol. Cette fraction se veut représentative d'une valeur supérieure ou égale à la fraction biodisponible pouvant, donc, avoir un effet négatif sur le biote exposé à cette matrice-sol.

Pour le test de biodisponibilité relative, trois groupes de porcelets assignés au hasard (n=4) ont été exposés à des quantités limitées de l'un de ces trois sols contaminés. Les porcelets ont été répartis dans chaque groupe de traitement en fonction de leur poids corporel initial (BW). Pendant la période d'exposition (du 1<sup>er</sup> au 10<sup>e</sup> jour), les porcelets ont reçu quotidiennement une boule de pâte humide contenant l'un des sols expérimentaux (un mélange de concentré et de sol) afin d'obtenir une dose d'exposition de 10 µg de CLD par kg de poids corporel. A la fin de la période de contamination (jour 10), les animaux ont été euthanasiés afin de prélever le tissu adipeux et le foie. Les concentrations de CLD dans ces tissus ont été déterminées par LC-MS/MS. Les facteurs de biodisponibilité relative (RBA) de la CLD ont été estimés en utilisant les concentrations de CLD dans le tissu adipeux et dans le foie. Le plan expérimental de la présente étude est présenté dans la Figure 12.

### **4.2.2. Production des matières carbonées**

Les matériaux hautement condensés ont été obtenus différemment selon leur nature. Deux charbons actifs (DARCO® et ORBO™) ont été obtenus auprès de Sigma-Aldrich (Saint-Louis, USA) et ont été utilisés comme produits de référence tout au long de l'étude selon leur activité et leur porosité particulières. Les biochars ont été produits par pyrolyse dans les fours industriels de CARBOFRANCE (Montiers-sur-Saulx, Lorraine, France). Quatre sources distinctes de bois (cf. Tableau 3) et deux températures (500°C et 700°C) ont été utilisées pour obtenir les 8 biochars de l'étude présentés dans le Tableau 3. Après le processus de pyrolyse, les échantillons de biochars ont été broyés à l'aide d'un broyeur à fléaux et tamisés jusqu'à <500µm.

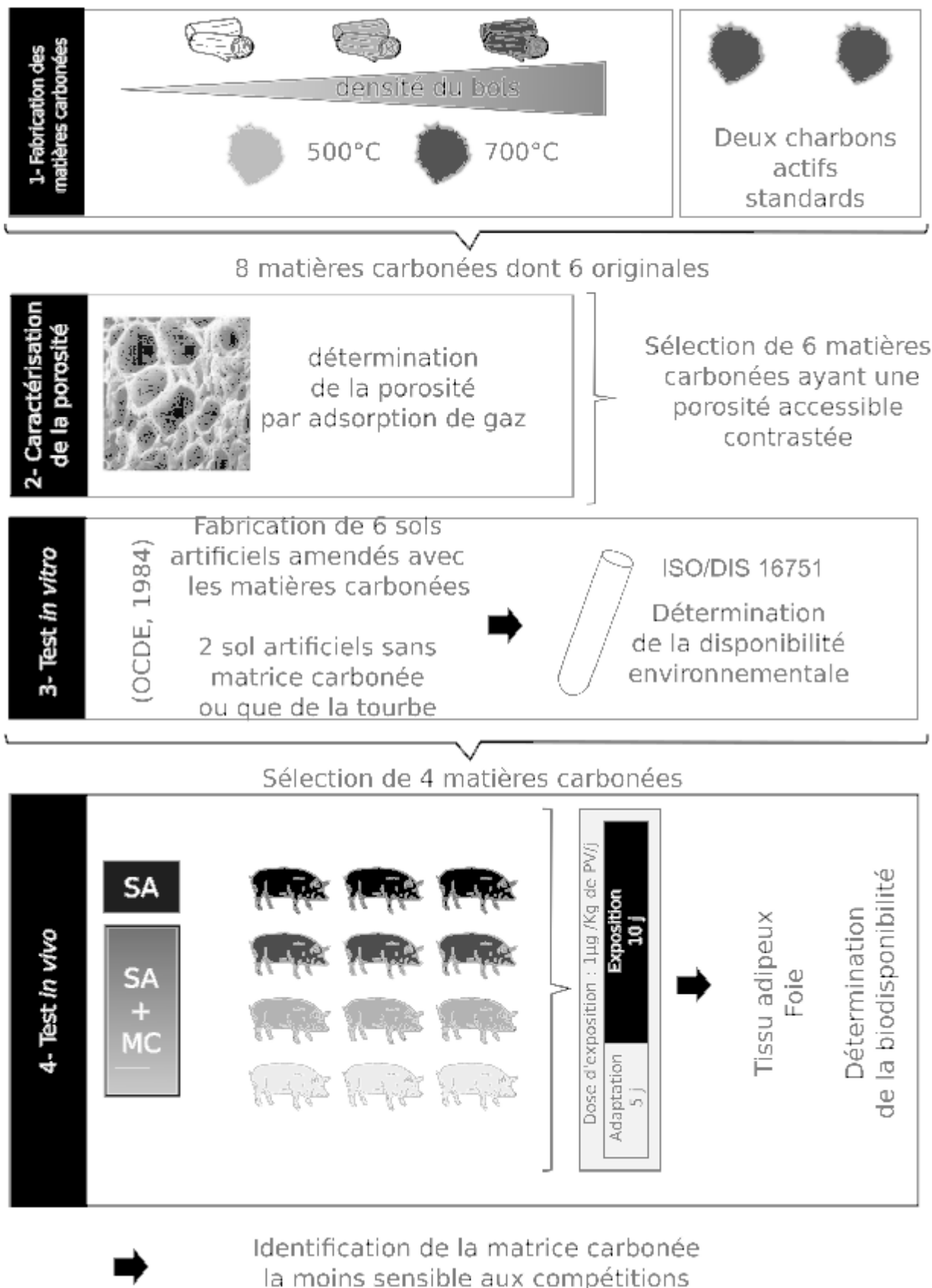


Figure 12: Plan expérimental de l'étude préliminaire

Dénomination	Matériau d'origine ou fournisseur	Température de pyrolyse	Aire de surface BET (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	surface microporeuse (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	surface non microporeuse (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )
ORBO	ORBO 32 (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, USA) coque de noix de coco	NC	1126,3 ± 11,9	971,8	242,4
DARCO	DARCO (Sigma-Aldrich, Saint-Louis, USA) Lignite	NC	793,8 ± 14,5	486,8	382,1
Chêne 500	Bois de tronc de Chêne	500	44,4 ± 7,8	76,6	79,0
Chêne 700	Bois de tronc de Chêne	700	357,0 ± 10,1	314,0	74,3
Hêtre 500	Bois de tronc de Hêtre	500	52.5 ± 5.2	31.0	25,0
Hêtre 700	Bois de tronc de Hêtre	700	365.4 ± 6.7	318.0	79,6
Résineux 500	Bois de tronc de Résineux (mélange d'espèces)	500	211.6 ± 10.6	119.9	104,3
Résineux 700	Bois de tronc de Résineux (mélange d'espèces)	700	376.7 ± 12.0	319.0	86,0
Bois Blanc 500	Bois blanc (mélange d'espèces)	500	167.2 ± 9.2	90.5	90,7
Bois Blanc 700	Bois blanc (mélange d'espèces)	700	359.5 ± 7.6	293.6	93,5

**Tableau 3: Matrices hautement condensées, origine, production et données de caractérisation**

NC : non communiqué

Pour procéder à la fabrication des biochars, l'entreprise CarboFrance a recours à des fours industriels dans lequel des vaisseaux en métal chargés en bois séché sont introduits. La conception du four permet une combustion anoxique (porte hermétique) du bois dans l'enceinte. La chaleur dégagée est réutilisée pour l'étape de séchage et le refroidissement est assuré par la collecte d'eau de pluie. A la fin du cycle de pyrolyse, les vaisseaux sont disposés en station de refroidissement avant d'être criblés (tamisage grossier pour éliminer les fines particules). Le produit est dès lors commercialisable.



**Figure 13: Production des matériaux par l'entreprise CarboFrance**

## 4.2.3. Méthodes de caractérisation des matrices et de l'évaluation du transfert

### 4.2.3.1. Caractérisation des matériaux condensés

Les surfaces spécifiques (SSA) des deux charbons actifs commercialisés, ORBO™ et DARCO® ainsi que celles des biochars ont été déterminées au laboratoire LIEC de l'Université de Lorraine (LIEC, Vandœuvre-lès-Nancy, France). Les mesures ont été effectuées sur la base d'une volumétrie d'adsorption-désorption d'azote à une température de N<sub>2</sub> liquide de -196 °C. Les isothermes d'adsorption-désorption d'azote ont été enregistrées sur un dispositif Belsorp-mini II (BEL Japan, Inc). L'appareil est équipé de capteurs de pression dans la gamme 0-133 kPa. Après avoir dégazé les échantillons à 30 °C pendant 12 h sous un vide résiduel de 0,01 Pa, les isothermes d'adsorption-désorption d'azote (c'est-à-dire le volume d'azote adsorbé à -196 °C en fonction de la pression relative P/P<sub>0</sub>, où P est la pression d'équilibre du gaz adsorbant à cette température et P<sub>0</sub> est la pression de saturation de la vapeur) ont été réalisées en utilisant une méthode pas à pas dans l'intervalle des pressions relatives, P/P<sub>0</sub>, allant de 10 à 5 à 0,98. Toutes les expériences ont été réalisées avec de l'azote ultra-pure (>99,9995%). La méthode Brunauer-Emmet-Teller (BET) a été utilisée pour estimer la SSA, en utilisant une section transversale de 16,3 Å des molécules d'azote (Brunauer et al., 1938). La méthode De Boer (ou t-plot, Lippens et de Boer, 1965) a été appliquée pour déterminer le volume microporeux et la surface externe. Le remplissage des micropores se produit à des valeurs de pression relative faibles et très faibles, et inclut alors le domaine de l'adsorption monocouche sur la surface externe. Pour pouvoir distinguer l'adsorption sur la surface externe de l'adsorption dans les micropores (taille des pores <20 Å), l'isotherme expérimentale est comparée à une courbe de référence obtenue pour un solide non poreux, avec des caractéristiques chimiques et une constante énergétique aussi proches que possible de la matrice étudiée. Les résultats obtenus sont présentés en Tableau 3.

### 4.2.3.2. Fabrication du sol artificiel

Pour les essais de disponibilité et de biodisponibilité, des sols artificiels ont été préparés comme décrit dans le Tableau 1 conformément à la directive 207 de l'OCDE. En bref, la partie commune présente dans chaque sol artificiel contient du sable et du kaolin (77:22, m:m base sèche) (Sigma-Aldrich, St Louis, USA). Une portion supplémentaire a été introduite, différente de chaque sol artificiel par rapport aux autres, constituée par aucun ou l'un des matériaux condensés (5% de la base de masse sèche du sol entier) avec 5% (base de masse sèche du sol entier) de tourbe de sphaigne (Tourbe de Sphaigne, Florentaise, Truffaut, Paris) ou sans cette phase. Tous les sols artificiels ont été dopés avec 100 µg de CLD (Kepone, Supelco, Sigma Aldrich, Saint-Louis) par g de MS. En bref, un mélange de CLD a été déversé sur les sols artificiels à l'aide d'un mélange aqueux de CLD (20:80 ; vol:vol ; méthanol:eau et 10:90 vol:m, solution aqueuse:sol sec). Après le dopage, les traces de solvant ont été évaporées sous une hotte aspirante pendant une nuit. Enfin, de l'eau ultra-pure a été ajoutée pour atteindre 18% de la masse du sol humide. Ensuite, tous les sols artificiels ont été vieillis pendant 80 jours avant les parties expérimentales d'évaluation du transfert.

### 4.2.3.3. Détermination de la disponibilité environnementale

La disponibilité environnementale du CLD dans le sol a été évaluée à l'aide du protocole ISO/DIS 17 651 (en cours de normalisation au moment de la rédaction de cet article). L'ensemble de la procédure est décrit en détail dans le projet de norme ISO 17 651 - Méthode A (ISO, 2015). En bref, une aliquote de 4 g de chaque sol sec a été agitée pendant 20 h dans 40 mL d'une solution aqueuse de β-hydroxycyclodextrine à 100 mmol.L<sup>-1</sup> (Kleptose HP oral grade, Roquette - France). Ensuite, les échantillons ont été centrifugés 15 min à 2 000 g et la totalité du surnageant a été recueillie. L'extraction d'une aliquote de 10 mL du surnageant a été réalisée à l'aide d'éther de pétrole à trois reprises. Ensuite, les analyses CLD ont été réalisées au laboratoire de La Drôme (Valence, France).

### 4.2.3.4. Détermination de la biodisponibilité relative

#### 4.2.3.4.1. Expérimentation animale

Le plan expérimental a été approuvé par le Comité Ethique Lorrain en Matière d'Expérimentation Animale (numéro de permis : EU0387, délivré par le ministère français de l'agriculture et de l'alimentation). Cette étude a été réalisée dans le strict respect des recommandations du Guide d'entretien et d'utilisation des animaux de laboratoire du ministère français de l'Agriculture et de la directive du Conseil européen (directive européenne 2010/63/EU). Quarante-quatre porcelets mâles castrés de 40 jours provenant de la ferme "les deux chênes" (Saint-Maurice-aux-Forges, France) ont pris part à cette expérimentation. Une période de 8 jours a permis d'acclimater les porcelets aux conditions de l'animalerie avant le début de la période d'exposition de 10 jours (Jour 1 à Jour 10). Pendant la période d'exposition, les animaux ont été nourris à la main, avant la distribution de leur ration quotidienne, d'une boule de pâte constituée de granulés humidifiés et contenant la masse adéquate de la matrice d'exposition en fonction du poids corporel des animaux (0,2 g de sol artificiel sec par Kg de poids corporel). Chaque groupe expérimental (n = 4) a été maintenu dans des cages individuelles dans l'animalerie de l'URAFPA (Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy France) afin d'assurer l'exactitude de la dose d'exposition. La température a été maintenue à 22-24°C, en accord avec la physiologie de ces animaux. Tous les animaux ont été pesés individuellement trois fois par semaine afin



d'ajuster la dose d'exposition et la ration alimentaire. La ration était fournie quotidiennement à 4,5% du poids corporel des porcelets (Super VE, Lorial, France). L'eau a été fournie *ad libitum* par des abreuvoirs à tétine pendant toute la durée de l'étude.

#### 4.2.3.4.2. Échantillonnage

Après la période d'exposition de 10 jours, les porcelets ont subi un étourdissement par électronarcose suivi d'une exsanguination immédiate, conformément aux directives européennes concernant les méthodes de mise-à-mort adéquates de ces animaux. Le tissu adipeux péricaudal et le foie entier ont été collectés, stockés à -20 °C et lyophilisés.

#### 4.2.3.4.3. Quantification des polluants

La quantification du CLD a été réalisée sur la phase extraite de l'essai de disponibilité environnementale et sur les deux matrices biologiques en utilisant la spectrométrie de masse en tandem par chromatographie liquide (LC-MS/MS).

Pour les matrices biologiques, la méthode validée LSA-INS-016 a été utilisée au Laboratoire départemental d'analyse du Morbihan (LABOCEA, Brest, France). La même méthode validée a été utilisée par le Laboratoire Départemental de La Drome sur les surnageants obtenus lors du test de disponibilité environnementale. Les limites de quantification rapportées étaient de 2,0 µg CLD kg<sup>-1</sup> dans les matrices biologiques.

#### 4.2.3.5. Analyse des données et traitements statistiques

##### 4.2.3.5.1. Contrôle de qualité

Les quantifications de CLD dans les tissus animaux ont été réalisées au LDA 56 en stricte conformité avec la norme ISO 17 025 et sous accréditation délivrée par le COFRAC (Comité français d'accréditation). Les valeurs inférieures à la LOQ ont été remplacées par la valeur LOQ dans l'ensemble des données.

##### 4.2.3.5.2. Disponibilité et concentrations tissulaires de CLD

Afin d'évaluer l'impact des biochars et des CA sur la disponibilité et la biodisponibilité du CLD, un test t a été réalisé. La procédure du test t et le test post-hoc de Tukey-Kramer de R version 3.2.3 (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche) ont été utilisés. Les différences ont été considérées comme significatives à  $P < 0,05$ .

##### 4.2.3.5.3. Calcul des estimations de la biodisponibilité relative (RBA)

Pour chaque groupe, la biodisponibilité relative de la CLD a été calculée comme le rapport de la concentration de CLD dans le tissu adipeux ou dans le foie de chaque sol par rapport au sol non amendé (fixé comme le traitement de référence correspondant à une biodisponibilité de 100%), adapté d'une méthode précédemment décrite (Delannoy et al., 2014a, Wittsiepe et al., 2007). La linéarité entre la dose d'exposition à la CLD et les concentrations de CLD dans les organes était une condition préalable de cette méthode (Littell et al., 1997). Cette linéarité a été prouvée par ailleurs pour les porcelets contaminés par la CLD (Bouveret et al., 2013). Chaque porcelet a été considéré comme une unité expérimentale.

Un facteur de rétention du CLD pour chaque biochar et charbon actif a été calculé comme le rapport entre les concentrations obtenues après le traitement étudié et celles obtenues après un traitement au sol non amendé. Afin d'être conservateur, ce facteur a été minimisé en utilisant la valeur de confiance la plus basse (5ème percentile) pour le SS et la plus haute (95ème percentile) pour le groupe testé de concentrations de CLD. Les détails des calculs sont explicités en détail dans la publication Delannoy et al. (2018).

### 4.2.4. Résultats

#### 4.2.4.1. Méthodes de caractérisation des matrices et de l'évaluation du transfert

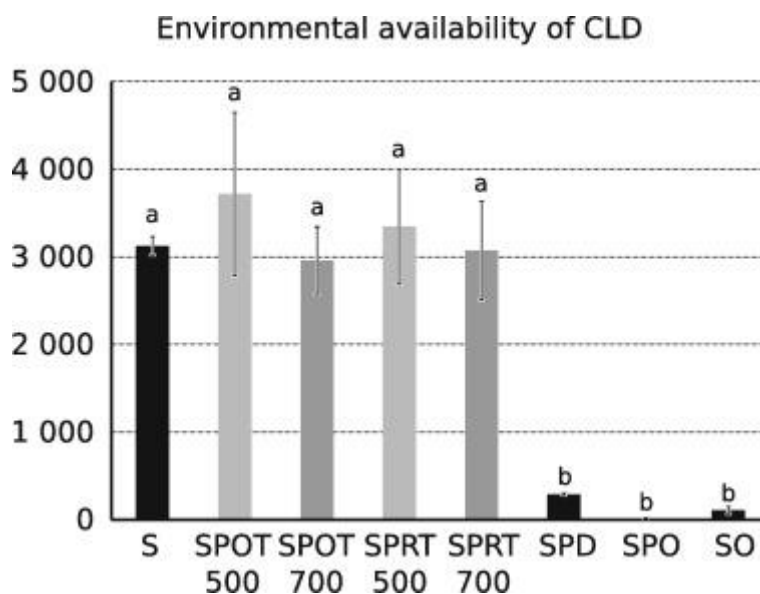
Il est apparu que les surfaces des charbons actifs présentaient des niveaux de porosité bien plus élevés que celles des biochars (cf Tableau 3). ORBO™ présente la surface la plus élevée (1126,3 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>) suivi par DARCO® (793,8 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>). Dans la gamme des précurseurs choisis pour produire des biochars, des tendances très similaires en termes de surfaces de porosité ont été observées pour les biochars issus d'une pyrolyse à 700 °C. À cette température, tous les biochars présentent une surface spécifique comprise entre 332,5 et 376,7 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>. Cette homogénéité toute particulière n'a pas été trouvée concernant les biochars issus d'une pyrolyse à 500 °C, qui présentent également les valeurs les plus basses de surface de porosité (entre 52,5 et 211,6 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup>). Ces résultats indiquent la prédominance du type de bois lorsqu'une pyrolyse à 500 °C est appliquée.

Il est intéressant de noter que la part de la porosité due à la microporosité distingue très nettement les biochars issus d'une pyrolyse à 500 °C de ceux issus d'une pyrolyse à 700 °C. En effet, 76%-83% de la surface des biochars 700 °C était microporeuse alors que seulement 49%-55% de la surface biochars de 500 °C l'était. Ces valeurs sont proches de celles des charbons actifs choisis (ie 80% pour ORBO™ et 56% pour DARCO®), bien que le volume total des pores soient bien inférieurs. En raison de l'homogénéité apparente des caractéristiques des biochars, une première étape de sélection a été réalisée sur l'ensemble des biochars. Les biochars issus des deux procédés de pyrolyse (c'est-à-dire 500 °C et 700 °C) du chêne et des résineux ont

été choisis. Le chêne comme référence du fait de son utilisation et le résineux pour sa surface BET plus élevée à 500°C. Les deux CA ont également été sélectionnés.

#### 4.2.4.2. Disponibilité environnementale du CLD dans le sol

Ainsi, cette série d'expériences a porté sur 8 sols comprenant soit l'un des charbons actifs et biochars sélectionnés avec de la tourbe (la fraction organique du sol artificiel OCDE 207) soit uniquement de la tourbe ou uniquement de l'ORBO™. Ce choix permettra d'appréhender l'impact de la matière organique sur les potentialités de séquestration offertes par les charbons actifs et biochars sur la disponibilité du CLD. La disponibilité de la CLD du sol standard OCDE était de 62.5% indiquant que la majorité de la CLD dans ce sol était disponible. De manière surprenante, les résultats obtenus ne montrent aucune réduction de la disponibilité du CLD des sols amendés avec le biochar sélectionné par rapport au sol standard de l'OCDE (59.1-74.4% ;  $p > 0.05$ ). Si une légère diminution a pu être discernée lorsque le biochar provient d'une température de pyrolyse plus élevée, aucune preuve statistique de l'impact (1) de l'espèce ligneuse (2) sur le processus de pyrolyse n'a été obtenue par ce test ( $p > 0.05$ ) (Figure 14).



**Figure 14: Disponibilité environnementale de la Chlordécone suivant les amendements réalisés**

La disponibilité du CLD est exprimée en %. Les valeurs correspondent à la moyenne  $\pm$  ET ( $n = 3$ ). Les valeurs moyennes avec des lettres différentes (a, b) sont statistiquement différentes ( $P < 0,05$ ). L'analyse statistique a été réalisée à l'aide de la procédure ANOVA à sens unique du logiciel R et du test post-hoc de Tukey.

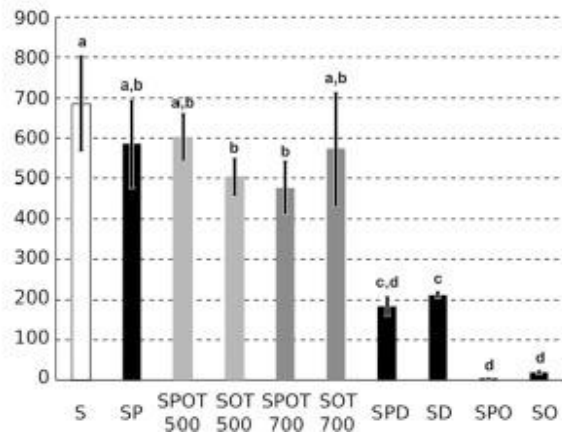
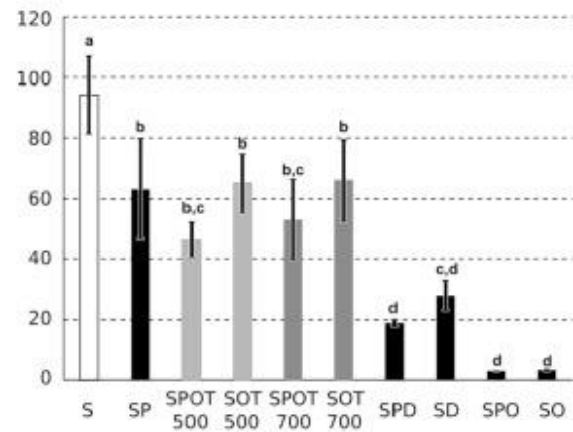
En revanche, les sols amendés au charbon actif avec ou sans matière organique ont montré une limitation importante de la disponibilité du CLD par rapport au sol standard OCDE (0,2-5,8% ;  $p < 0,0001$ ). ORBO™ semble être le celui limitant le plus la disponibilité environnementale. La plus faible disponibilité environnementale du CLD a été trouvée à partir du sol contenant à la fois de l'ORBO™ et de la tourbe (0,2% (ORBO™ et tourbe) vs 2,2% (ORBO™ seulement)).

En raison de la similitude de la disponibilité en CLD obtenue à partir de biochars provenant des deux types de bois, une dernière étape de sélection a été effectuée et seuls les biochars provenant de chênes ont été choisis. Les deux CA ont également été sélectionnés.

#### 4.2.4.3. Biodisponibilité relative de la Chlordécone

Comme attendu, les concentrations de CLD les plus élevées ont été obtenues chez groupe SS (contrôle sans matière organique) pour les deux tissus :  $94 \pm 13 \text{ ng g}^{-1}$  de MS (tissu adipeux ; moyenne  $\pm$  ET, Fig. 15a) et  $686 \pm 117 \text{ ng g}^{-1}$  de MS (foie ; moyenne  $\pm$  ET, Fig. 15b). Les groupes exposés à des sols dépourvus de matière organique et amendés avec du biochar ont affiché des concentrations similaires à celles du sol de l'OCDE :  $63 \pm 16$  à  $65 \pm 10 \text{ ng g}^{-1}$  (tissu adipeux ; moyenne  $\pm$  ET, Fig. 15a) et  $505 \pm 45$  à  $586 \pm 108 \text{ ng g}^{-1}$  (foie ; moyenne  $\pm$  ET, Fig. 15b). Les groupes exposés à des sols contenant à la fois du biochar et de la matière organique présentaient des concentrations de CLD légèrement plus faibles dans les tissus prélevés que ceux exposés à des sols contenant uniquement du biochar ou le sol OCDE :  $47 \pm 6$  à  $53 \pm 13 \text{ ng g}^{-1}$  (tissu adipeux, moyenne  $\pm$  ET) et  $505 \pm 45$  à  $523 \pm 120 \text{ ng g}^{-1}$  (foie, moyenne  $\pm$  ET). Cependant, aucune distinction significative a pu être mise en évidence pour ces derniers groupes (SP, SPOT500, SPOT700, SOT500, SOT700).

Ainsi, les facteurs de biodisponibilité relative ont été calculés afin d'estimer la fraction biodisponible de la CLD pour chaque groupe. Le groupe de référence S a été arbitrairement considéré comme 100% biodisponible (cf. Tableau 4). En outre, un facteur de réduction a également été calculé pour déterminer l'efficacité de chaque matrice de

**A-** CLD-concentrations in liver**B-** CLD-concentrations in adipose tissue**Figure 15 : Concentrations de CLD dans les matrices biologiques (ng de CLD par g de MS).**

Les concentrations de CLD sont exprimées en  $\text{ng}\cdot\text{g}^{-1}$  de DM. Les valeurs correspondent à la moyenne  $\pm$  SD ( $n = 4$ ) sauf pour les groupes S et SP ( $n = 6$ ). Les valeurs moyennes n'ayant pas de lettres en commun (a, b, c, d) sont statistiquement différentes ( $P < 0,05$ ). L'analyse statistique a été effectuée en utilisant la procédure ANOVA à sens unique du logiciel R et le test post-hoc de Tukey.

#### 1- Biodisponibilité relative de la chlordécone dans les matrices biologiques (exprimée en % et les intervalles de confiance à 95%).

	Foie	Tissu Adipeux
S	100% [90.7–109.2]	100% [90.8–109.1]
SP	67.1% [57.8–76.3]	85.5% [76.4–94.6]
SOT500	69.0% [57.7–80.3]	73.6% [62.4–84.7]
SOT700	70.1% [58.8–81.4]	76.3% [63.4–89.2]
SPOT500	49.4% [38.1–60.7]	88.0% [76.8–99.1]
SPOT700	56.3% [45.0–67.6]	69.7% [63.4–89.2]
SD	29.7% [18.4–41.1]	31.0% [19.8–42.2]
SO	3.5% [0–17.8]	2.8% [0–14.0]
SPD	20.2% [8.8–31.5]	26.9% [15.8–38.1]
SPO	3.2% #	0.8% [0–11.9]

#### 2- Facteur de réduction (% selon la p95 précédemment calculée)

SP	15.9%	-
SOT500	11.5%	6.7%
SOT700	10.2%	1.8%
SPOT500	33.1%	-
SPOT700	25.47%	1.8%
SD	54.7%	53.5%
SO	80.4%	84.6%
SPD	65.3%	58.0%
SPO	84.0%	86.9%

**Tableau 4: Facteurs de biodisponibilité relative et taux de réduction de la chlordécone dans les matrices biologiques (%)**

Les valeurs entre crochets indiquent un intervalle de confiance de 95 %.

Les facteurs de réduction sont calculés comme décrit dans la section matériel et méthode.

séquestration. Globalement, trois niveaux différents de biodisponibilité ont été obtenus (Tableau 4). (1) Ceux présentant une réduction faible de la biodisponibilité (SP, SOT500, SOT700, SPOT500, SPOT700) présentant les niveaux de biodisponibilité les plus élevés : 69,7-88% (foie, moyenne de la biodisponibilité) et 49,4-70,1% (tissu adipeux). Pour ces groupes, les facteurs de réduction étaient inférieurs à 35 %. (2) Groupes exposés par l'intermédiaire de sols amendés avec du DARCO™ qui présentent une biodisponibilité relative plus faible : 26,9-31% (foie) 20,2-29,7% (tissu adipeux). Les facteurs de réduction trouvés étaient plus élevés (53-65%). (3) Enfin les sols amendés avec ORBO™ présentent les valeurs de biodisponibilité relative les plus faibles (0,8-3,5%) et les facteurs de réduction les plus élevés : 80,4-86,9%.

## 4.2.5. Discussion

### 4.2.5.1. Évaluation de la disponibilité et de la biodisponibilité relative

Deux concepts différents sous-tendent les analyses de disponibilité et de biodisponibilité. Le premier évalue la mobilité du polluant lié aux constituants du sol et exprime la fraction maximale de polluant "disponible" pour le biote (ISO, 2008) (Fig. 4). La principale hypothèse à la base de ce test et de son utilité est que la mobilisation du polluant à partir des constituants du sol (c'est-à-dire la désorption et la solubilisation du polluant dans l'eau interstitielle du sol) est l'étape limitante vers son absorption par le biote. La seconde, la biodisponibilité relative, évalue le transfert *in vivo* des polluants du sol aux animaux ou aux humains. Conceptuellement, toute la chaîne de transfert du polluant est réalisée *in vivo* : la mobilisation du polluant à partir des constituants du sol (la fraction dite disponible), et la fraction facilement transférable aux animaux (la biodisponibilité) (Delannoy et al., 2014b, ISO, 2008) (Fig. 4). Dans le présent document, la biodisponibilité a été évaluée de manière relative car une matrice de référence (sol standard) a été utilisée. Sa biodisponibilité a été fixée à 100% (Bouveret et al., 2013, Delannoy et al., 2014a, Fournier et al., 2012, Jondreville et al., 2013, Littell et al., 1997). Cette hypothèse a été faite 1) pour comparer les sols avec et sans matière organique et les biochars ou le charbon actif pour évaluer finement la séquestration de chaque média et 2) une telle matrice est connue pour avoir le même comportement que les aliments contaminés (Bouveret et al., 2013, Yehya et al., 2017) qui a été utilisé pour évaluer la toxicité de ces molécules dans de nombreuses études sur les contaminants organiques.

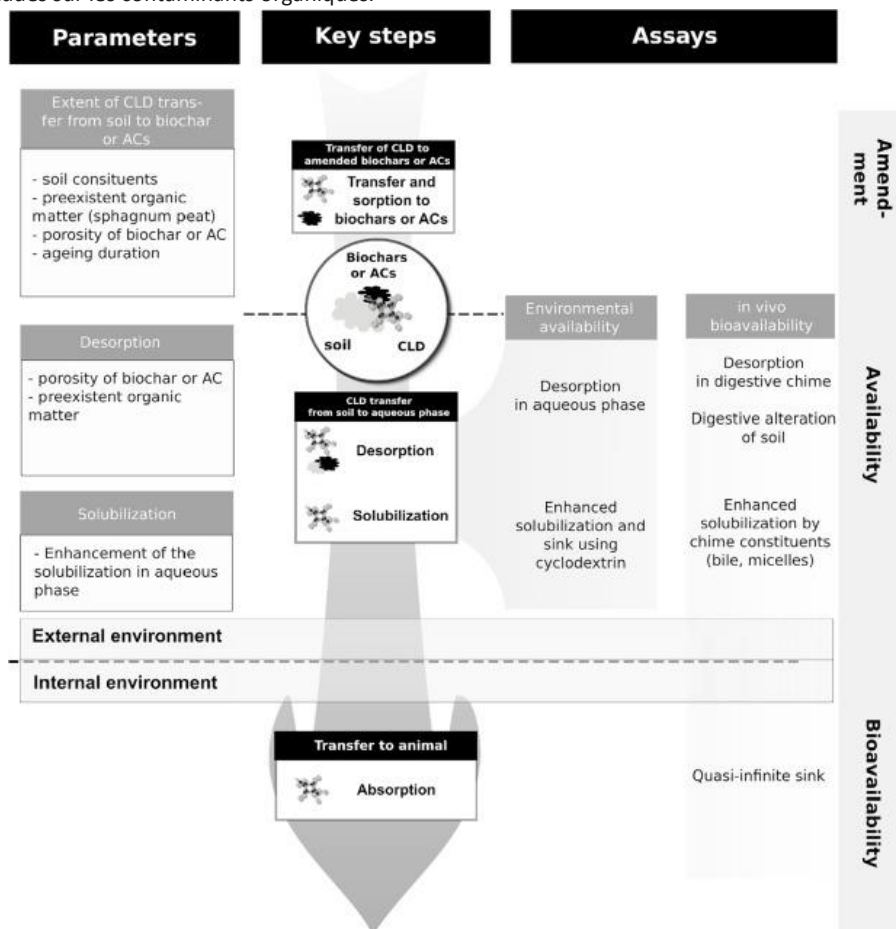
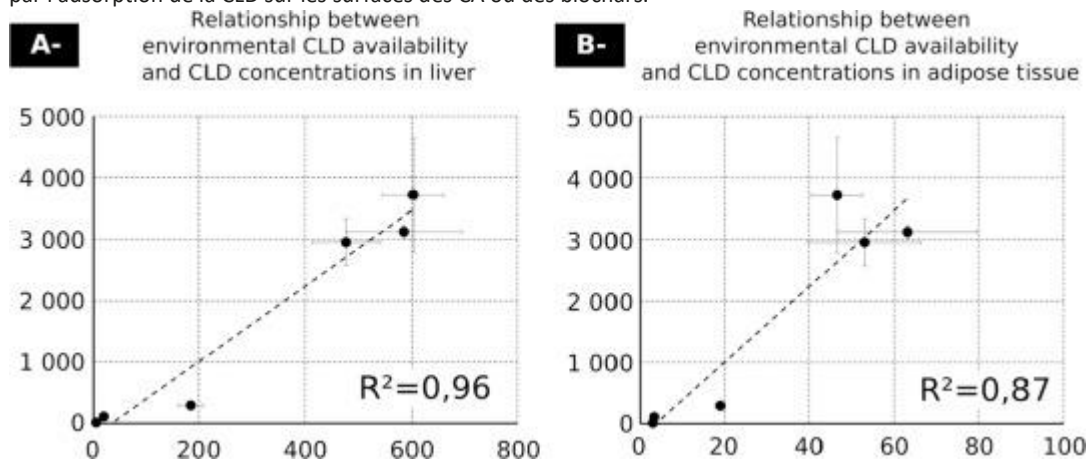


Figure 16: Mécanismes et impact de l'amendement des sols contaminés par la Chlordécone sur la disponibilité environnementale et la biodisponibilité relative.

Ainsi, il est particulièrement important, lorsqu'une évaluation de l'exposition biologique est réalisée à partir d'un test *in vitro*, qu'au moins une corrélation avec un test *in vivo* (ciblant l'espèce étudiée) soit effectuée (Denys et al., 2009, Wragg et al.,

2011). En effet, cette étape apparaît essentielle pour déterminer la représentativité de la valeur avant toute considération en termes d'évaluation du risque. Dans les présents résultats, les données de disponibilité montrent une corrélation significative avec celles de biodisponibilité relative ( $P < 0.05$  - Figure 17). Cette corrélation indique également que la séquestration de la CLD par les biochars et les CA pourrait être décrite comme une réduction de la mobilité de la CLD causée par l'adsorption de la CLD sur les surfaces des CA ou des biochars.



**Figure 17: Corrélation entre les données de disponibilité environnementale et les données de concentration de CLD dans le foie (A) et le tissu adipeux (B).**

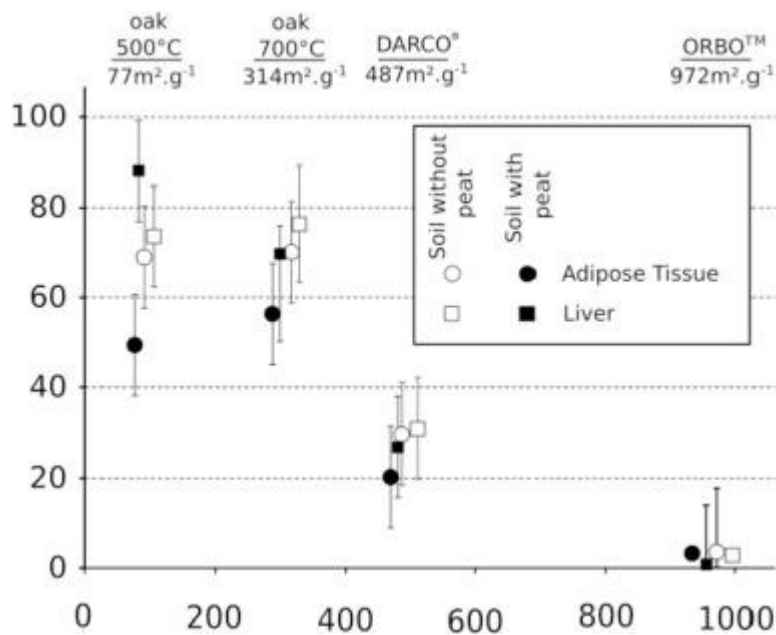
Ces résultats semblent particulièrement convaincants dans le domaine de l'évaluation de l'exposition orale des CLD par des tests *in vitro* et ont été obtenus à partir du protocole ISO/DIS (ISO, 2015) qui appelle à des investigations supplémentaires pour valider l'utilisation de ce test afin d'évaluer l'exposition des animaux aux contaminants organiques par ingestion de sol. Mais la normalisation, la facilité du protocole, la prise en compte de l'éthique et les essais interlaboratoires en cours devraient offrir un contexte intéressant pour cette méthodologie.

#### 4.2.5.2. Efficacité de séquestration des biochars vs celle des charbons actifs

Ces résultats semblent particulièrement convaincants dans le domaine de l'évaluation de l'exposition orale des CLD par des tests *in vitro* et ont été obtenus à partir du protocole ISO/DIS (ISO, 2015) qui appelle à des investigations supplémentaires pour valider l'utilisation de ce test afin d'évaluer l'exposition des animaux aux contaminants organiques par ingestion de sol. Mais la normalisation, la facilité du protocole, la prise en compte de l'éthique et les essais interlaboratoires en cours devraient offrir un contexte intéressant pour cette méthodologie.

Les CA et les biochars sont des matériaux poreux obtenus à partir d'un processus de pyrolyse de la matière première en condition anoxique. Les CA présentent une porosité plus élevée que les biochars, comme décrit dans la littérature. Ceci résulte du processus d'activation supplémentaire connu pour augmenter la porosité en libérant les matériaux de combustion incomplète sur la surface des biochars. La température de pyrolyse de 700 °C a été testée afin d'augmenter le taux de combustion de ces résidus. Si les données structurales présentent une nette augmentation de la surface de porosité lorsqu'une température de pyrolyse plus élevée est appliquée, une faible réduction de la disponibilité et de la biodisponibilité relative a été obtenue de ces milieux par rapport au biochar de 500 °C (Figure 18). Ceci contraste avec les données de biodisponibilité relative et de disponibilité obtenues à partir des CA qui ont montré une nette réduction du transfert de CLD. Ce résultat est en accord avec les données précédentes obtenues avec le même sol et pour différents polluants organiques (Delannoy et al., 2014a, Delannoy et al., 2014b) et CLD (Yehya et al., 2017). Une hypothèse explicative principale devrait être que le processus de pyrolyse à 700 °C n'est pas suffisant pour atteindre la qualité de porosité nécessaire pour lier le CLD et limiter par la suite sa disponibilité.

Cependant, deux niveaux distincts de biodisponibilité relative ont été obtenus à partir des deux CA. Ces deux CA différents sont issus de deux processus d'activation distincts. L'activation chimique utilisée pour ORBO™ (informations du fournisseur) est connue pour produire des CA d'une plus grande microporosité que l'activation physique telle que les méthodes à base de vapeur, utilisées pour DARCO® (Durimel et al., 2013). Outre le mode d'activation, la nature intrinsèque des matières premières CA est bien connue pour piloter les propriétés des matières carbonées produites. En effet, ces CA ont été obtenus à partir de matières premières différentes (tourbière ou coque de noix de coco). A titre d'illustration, il a été montré que la formation de micropores est particulièrement favorisée lors de l'activation de coques ou de fibres de coco en tant que précurseurs (conduisant à ~ 85-94% de microporosité) (Phan et al., 2006, Sobiesiak et al., 2006), alors que le bois conduit dans une moindre mesure les CA de tourbe possèdent généralement des pores plus larges (c'est-à-dire des CA macro à mésoporeux) en relation avec la structure et la composition initiale des matières premières hautement lignifiées correspondantes (Çeçen, 2000, Donati et al., 1994, Pastor-Villegas et al., 2006). Autrement, tous les résultats actuels sont en accord avec les données précédentes concernant les caractérisations de la microporosité et de la méso- à macroporosité des CA dérivés de la noix de coco et de la tourbe (Donati et al., 1994, Hernandez-Ramirez et Holmes, 2008, Phan et al., 2006).



**Figure 18: Corrélation entre surface microporeuse matrices carbonées et la biodisponibilité mesurée**

L'axe des x correspond aux surfaces spécifiques mesurées ( $m^2 \cdot g^{-1}$ ). L'axe des y correspond à la moyenne de la biodisponibilité et la barre d'erreur à l'intervalle de confiance à 95% ( $n = 4$ ).

L'application de CA est connue pour limiter le transfert de polluants organiques vers différents biotes (Ghosh et al., 2011). La même gamme de facteur de réduction a également été rapportée par des études sur le sol, mais à notre connaissance ces dernières ne se sont concentrées que sur les invertébrés et principalement les vers de terre comme organisme modèle (Denyes et al., 2013, Denyes et al., 2012, Langlois et al., 2011, Paul et Ghosh, 2011, Wang et al., 2014). A titre d'illustration (Paul et Ghosh, 2011), ont mesuré une réduction de 94% de la bioaccumulation de PCB d'un sol artificiellement contaminé suite à l'exposition de vers de terre (*Eisenia fetida*) pendant 28 jours à  $\sim 2,1\%$  (m:m) d'amendement CA. L'efficacité des amendements carbonés sous forme de biochars a également été rapportée mais dans une moindre mesure pour l'immobilisation des contaminants organiques dans les sols (Chai et al., 2012, Denyes et al., 2016, Denyes et al., 2013, Gu et al., 2016, Jakob et al., 2012, Kołtowski et al., 2017, Kołtowski et al., 2016, Wang et al., 2012). Outre l'application de l'CA, l'utilisation de biochar a également été récemment étudiée pour atténuer la biodisponibilité des PCB à partir du sol (Chai et al., 2012, Denyes et al., 2016, Denyes et al., 2013, Denyes et al., 2012, Gu et al., 2016, Jakob et al., 2012, Wang et al., 2012). Les meilleurs résultats ont été enregistrés à un taux d'application de 11,1% de biochar avec une réduction de 88% de la biopréhension des PCB dans *E. fetida* (Denyes et al., 2012), ce qui a souligné les potentialités du biochar pour une séquestration efficace des polluants. Une réduction de 56% des PCB a également été obtenue par (Xu et al., 2012). Il est à noter que cette réduction n'a pas été obtenue par notre essai alors que la même température de pyrolyse a été utilisée (700 °C). Une explication possible est la caractéristique très spécifique du matériau séquestrant nécessaire pour obtenir une telle séquestration (Durimel et al., 2013).

#### 4.2.6. Conclusion

Les biochars utilisés comme amendement n'ont pas été efficaces pour réduire la disponibilité et la biodisponibilité de la CLD. En revanche, l'amendement du sol avec un CA dérivé de la tourbe ou de la coque de noix de coco (DARCO® et ORBO™ respectivement) a entraîné des réductions importantes de la disponibilité et de la biodisponibilité relatives de la CLD. Les concentrations de CLD dans le tissu adipeux ou le foie des porcelets ont été réduites de 58 % pour DARCO® à 87 % pour ORBO™ dans le foie et de 65 % et 84 % respectivement dans le tissu adipeux. Selon ces résultats, l'activation semble être un processus nécessaire et des recherches supplémentaires sur les moyens durables de produire du charbon actif sont nécessaires. Ces résultats ont été obtenus avec un taux d'ingestion de sol et un niveau de contamination CLD cohérent avec les conditions d'élevage aux Antilles françaises.

## 5. Intégration des résultats de la pré-étude dans la démarche globale du projet

Contrairement à l'hypothèse initiale sous-tendant l'ensemble du projet PIEGEACHLOR et qui prévoyait une diminution de la disponibilité environnementale et de la biodisponibilité relative des polluants organo-chlorés suite à un amendement de sols contaminés par des biochars, force est de constater que cette stratégie n'a pas été efficace sur les 8 matrices obtenues de matériaux ligno-cellulosiques.

Du fait de ce constat, et au vu des résultats probants obtenus par l'utilisation de charbon actif, il est apparu nécessaire de réorienter la démarche globale du projet :

- pour conserver la logique et les objectifs initiaux visant à évaluer **l'efficacité** d'une stratégie d'amendement ainsi que son **innocuité** et de tester des matrices **diverses et ultraporeuses** en termes de propriétés
- dans cette optique d'élargir le panel de matrices testées en ajoutant :
  - une **source différente** de matière première
  - des **matrices ayant subi une activation**

A ces fins, différentes pistes ont été explorées.

### 5.1. Production de biochar à partir de renouée du Japon

La Renouée du Japon (*Reynoutria japonica*) est une plante envahissante endémique en France inscrite sur la liste de l'Union internationale pour la conservation de la nature (UICN). Cette variété, se retrouvant ubiquitairement en métropole sous forme de massifs, est particulièrement tenace du fait de sa propension à survivre lorsque ses parties aériennes viennent à être réséquées. En effet la renouée, en tant que plante géophyte, dispose d'un rhizome (organe de réserve) mobilisé lors de la croissance de la tige. Cette tige est creuse (caractéristiques des plantes herbacées) et peut pousser de plusieurs centimètres par jour. Du fait de cette croissance rapide, les plants de renouée du Japon peuvent dépasser les 3 m de hauteur. Afin de circonscrire ces massifs, une coupe régulière peut être prévue. La société locale NoreMat (Ludres, France) a développé un matériel de collecte à cette fin qui non seulement sectionne la tige mais également la broie.

Si différentes valorisations de cette biomasse peuvent être prévues, la structure particulière de la renouée, proche du miscanthus, apparaissait intéressante à tester :

- le miscanthus disposant d'une porosité particulièrement élevée
- comme voie de valorisation d'un déchet vert sans dissémination redoublée de la plante.

La société CarboFrance ayant accepté de réaliser la pyrolyse de ce matériau, près de 400kg de renouée prélevés sur le site de la Sapinière, Laxou France ont été fournis. Ce matériau a subi une pyrolyse dans les fours industriels de CarboFrance à  $700 \pm 50^\circ\text{C}$ , comme étant la température permettant d'atteindre la porosité la plus élevée sur les précédents essais. Ces biochars ont été broyés à l'aide d'un broyeur à fléaux et tamisés à  $500\mu\text{m}$  avant toute utilisation.



Figure 19 : Massif de Renouée du Japon en train d'être récolté (à gauche). Biochar de Renouée (à droite)

### 5.2. Production à façon de charbons activés

Afin de valoriser les biochars produits à partir des matrices ligno-cellulosiques, il a été envisagé, dans un premier temps, de réaliser l'activation des matières produites avec un laboratoire partenaire local.

Toutefois au vu des techniques employables, aucune solution technique n'a pu prendre forme pour activer ces matrices tout en produisant les quantités nécessaires pour réaliser les autres parties du projet.

Aussi, afin d'élargir la gamme de porosité étudiée, 3 charbons actifs commerciaux ont été achetés auprès du fournisseur Roth (Références : 5966.2(CA1), 5963.2 (CA2), 865.3 (CA3) , Sochiel E.U.R.L, Lauterbourg France)

### 5.3. Synthèse des matrices carbonées choisies et mise à jour de la démarche

Aussi les matrices suivantes seront testées pour l'ensemble des phases d'évaluation (i) des capacités de réduction du transfert des polluants organochlorés du sol au biote (ii) de leur innocuité.

Nom simplifié (utilisé dans le reste du rapport)	Fournisseur	Forme physique	Matériau originel	Activation	Température de pyrolyse
CA1	Roth (Réf. : 5966.2)	Granulés	Tourbe	Vapeur d'eau	NC
CA2	Roth (Réf. : 5963.2)	Poudre	Tourbe	Acide Phosphorique	NC
CA3	Roth (Réf. : 865.3)	Poudre	Pin	Vapeur d'eau	NC
BC1	CarboFrance	Poudre	Chêne (tronc)	-	500°C
BC2	CarboFrance	Poudre	Chêne (tronc)	-	700°C
BC3	CarboFrance	Poudre	Renouée du Japon	-	700°C

**Tableau 5: récapitulatif des matrices hautement carbonées utilisées dans le projet PIEGEACHLOR**

Les données ont été compilées par Nadine El Wanny



## 6. Caractérisation des matrices hautement carbonées

La caractérisation a été menée par Thierry Woignier (IRD).

### 6.1. Caractéristiques poreuses des biochars et charbons actifs

Cette partie du rapport concerne les mesures de surfaces spécifiques et distribution en taille de pores d'échantillons de biochars sélectionnés par l'Université de Lorraine

#### 6.1.1. Techniques de mesures

##### 6.1.1.1. Mesure de surface spécifique par BET

**Appareillage:** appareil MICROMERITRICS ASAP 2010. Technique BET 9 points. Mesure à l'azote ( $N_2$ ) à la température de l'azote liquide. L'étalonnage est effectué avant, après chaque série de mesure et toutes les dix mesures par passage d'une alumine ou de silice standards de surface spécifique de 0,41 et 197  $m^2/g$ . La mesure se fait de  $P/P_0 = 0,001$  à 0,3 ( $P_0$  est la pression à saturation)

Protocole:

- pesée de la poudre ou du monolithe à 10-4g, - dégazage 200°C - 4 heures..

Pour déterminer la surface spécifique, le solide est refroidi sous vide à une température cryogénique (en utilisant de l'azote liquide). L'azote gazeux est dosé dans le solide par incréments contrôlés. Après chaque dose de gaz adsorbant, on laisse la pression s'équilibrer et on détermine la quantité de gaz adsorbé. La quantité de gaz adsorbée est tracée en fonction de la pression. À partir de ce graphique, la quantité de gaz nécessaire pour former une monocouche sur la surface externe du solide est déterminée. La surface spécifique peut être calculée à partir de la quantité de gaz nécessaire pour former une monocouche, en utilisant l'équation BET (Brunauer, Emmett et Teller).

##### 6.1.1.2. Mesure de la distribution en taille de pores par l'analyse BJH

Mesure par adsorption de  $N_2$  (Appareillage ASAP 2010). Mesures sur 70 points pour  $0,06 < P/P_0 < 1$ . Mode d'expression des résultats suivant le modèle BJH sur la courbe de désorption.

Pour déterminer le volume des pores et la distribution de la taille des pores, la pression du gaz est augmentée progressivement jusqu'à ce que tous les pores soient remplis de liquide. Ensuite, la pression de gaz est réduite progressivement, évaporant le gaz condensé du système. L'évaluation des isothermes d'adsorption et de désorption révèle des informations sur le volume et la distribution de la taille des pores. Le calcul BJH (Barrett, Joyner et Halenda) est utilisé pour déterminer le volume et la distribution de la taille des pores.

#### 6.1.2. Résultats.

##### 6.1.2.1. Surface spécifique mesurée par BET

Echantillon	Surface spécifique ( $m^2/g$ ) (PrimeVerre Montpellier)
CA1 (Roth, réf. 5966.2)	566.41 ± 5.7
CA2 (Roth, réf. X5963.2)	1142.08 ± 31.8
CA3 (Roth réf. X865.3)	776 ± 21
BC1 (chêne 500°C)	25.58 ± 1.5 - 31.45 ± 2.1
BC2 (chêne 700°C)	273.48 ± 10.2 - 290.30 ± 11.8
BC3 (renouée 700°C)	196.02 ± 6.9

Tableau 6: Résultats des surfaces spécifiques mesurées par PrimeVerre Montpellier

Tous Les BIOCHARS étudiés dans cette étude présentent des surfaces spécifiques élevées sauf l'échantillon BC1 (chêne 500°C). Il est probable que le traitement de synthèse (500°C) n'ait pas permis la formation de mesopores qui sont responsables généralement d'une surface spécifiques importante.

On note aussi que les valeurs mesurées dans cette étude sont systématiquement inférieures à celles mesurées précédemment (Université de Lorraine) plus particulièrement sur les 2 échantillons Chêne 500 °C (BC1) et Chêne 700 °C (BC2). La mesure a été répétée pour ces 2 échantillons Chêne 700°C (BC2) et Chêne 500 (BC1), conduisant au même résultat. Il est difficile pour le moment d'expliquer ces différences.

### 6.1.2.2. Résultats de distribution en taille de pores par analyse BJH

#### 6.1.2.2.1. Charbon actif CA1 (Roth réf. 5966.2)

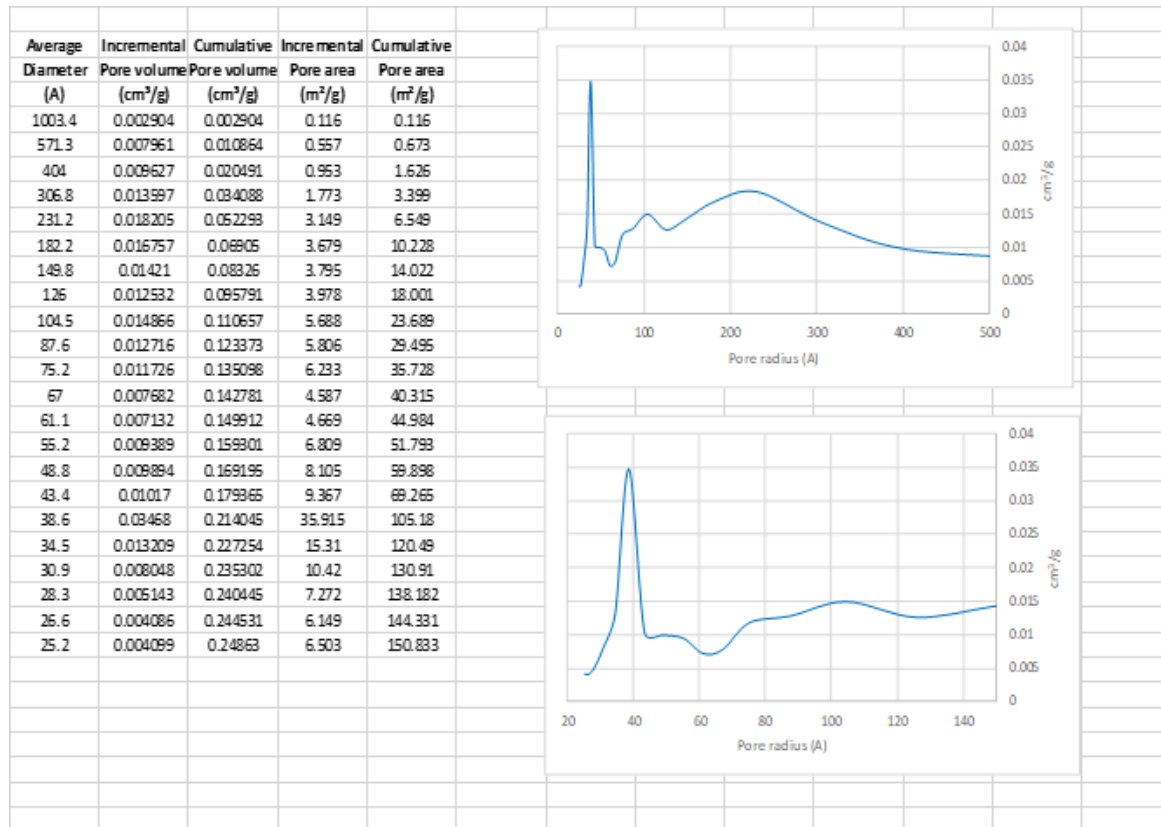


Figure 20: Distribution en taille de pores du CA1 (Roth réf. 5966.2)

Le Charbon activé 5966.2 (CA1) a une courbe de distribution en taille de pores assez atypique avec un forte proportion de pores autour de 3-5 nm identique à l'échantillon Charbon renoué 700°mais aussi une seconde vague de pores dans les valeurs 10-40 nm. La somme de ces 2 caractéristiques conduit à une valeur assez élevée de la surface spécifique 566 m<sup>2</sup>/g ce qui explique la faible valeur de la surface spécifique. On observe un pic de la Distribution en taille de pore autour des valeurs 3-5 nm. En outre cet échantillon a un volume mésoporeux moyen (0.2 cm<sup>3</sup>/g).

#### 6.1.2.2.2. Charbon actif CA2 (Roth réf. X5963.2)

Le Charbon actif X5963.2 présente lui aussi une courbe de distribution en taille de pores caractéristique de milieux mésoporeux (pores entre 3 et 30 nm). La petite taille des pores favorise une surface spécifique élevée. Cet échantillon a aussi un volume mésoporeux plus élevé que l'échantillon précédent (0.6 cm<sup>3</sup>/g).

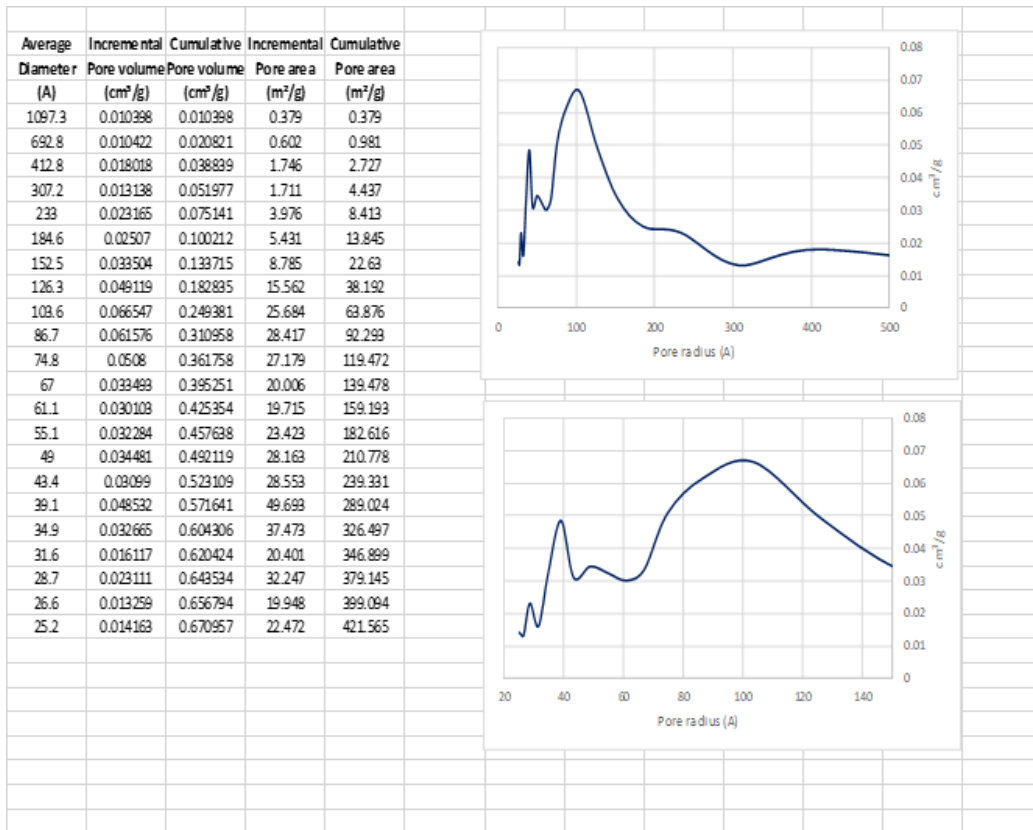


Figure 21: Distribution en taille de pore du CA2 (Roth, réf.X5963.2)

### 6.1.2.2.3.Charbon actif CA3 (Roth réf. X865.3)

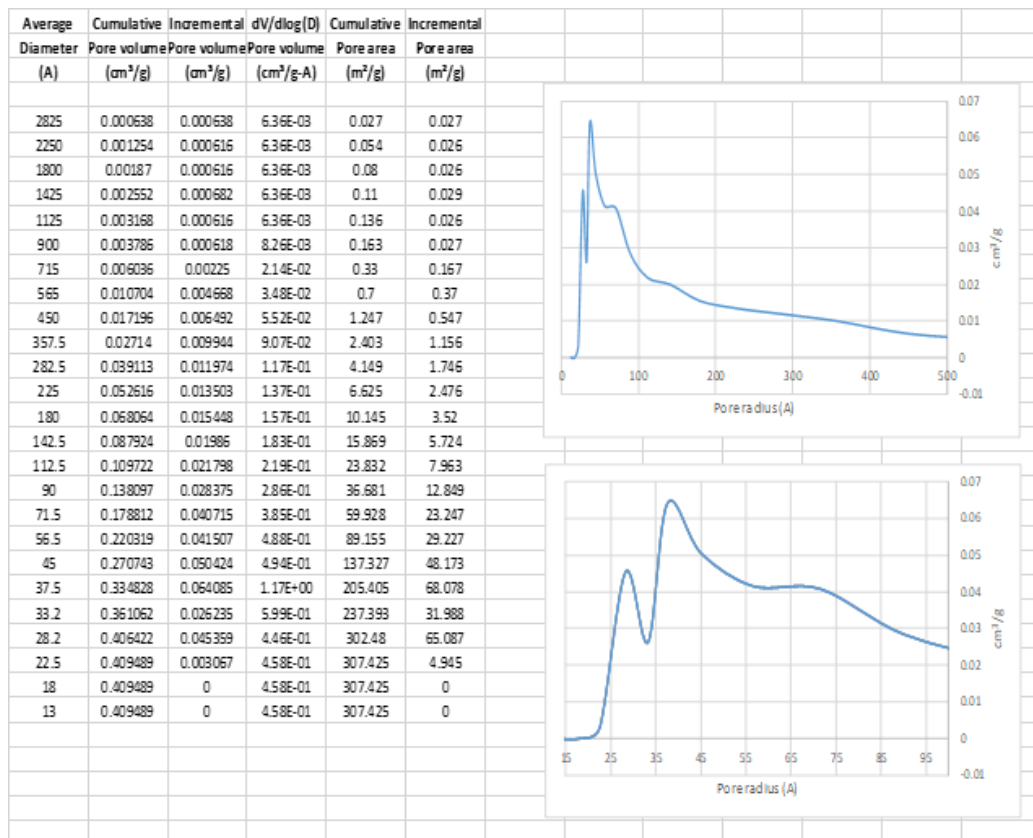


Figure 22: Distribution en taille de pores du CA3 (Roth, réf. X865.3)

Le Charbon actif X865.3 (CA3) présente une courbe de distribution en taille de pores caractéristique de milieux mésoporeux (pores entre 2 et 10 nm). La petite taille des pores favorise une surface spécifique élevée. Cet échantillon a aussi un volume mésoporeux de l'ordre de 0.4 cm<sup>3</sup>/g).

#### 6.1.2.2.4. Biochars BC1 et BC2 (respectivement Chêne 500°C et Chêne 700°C)

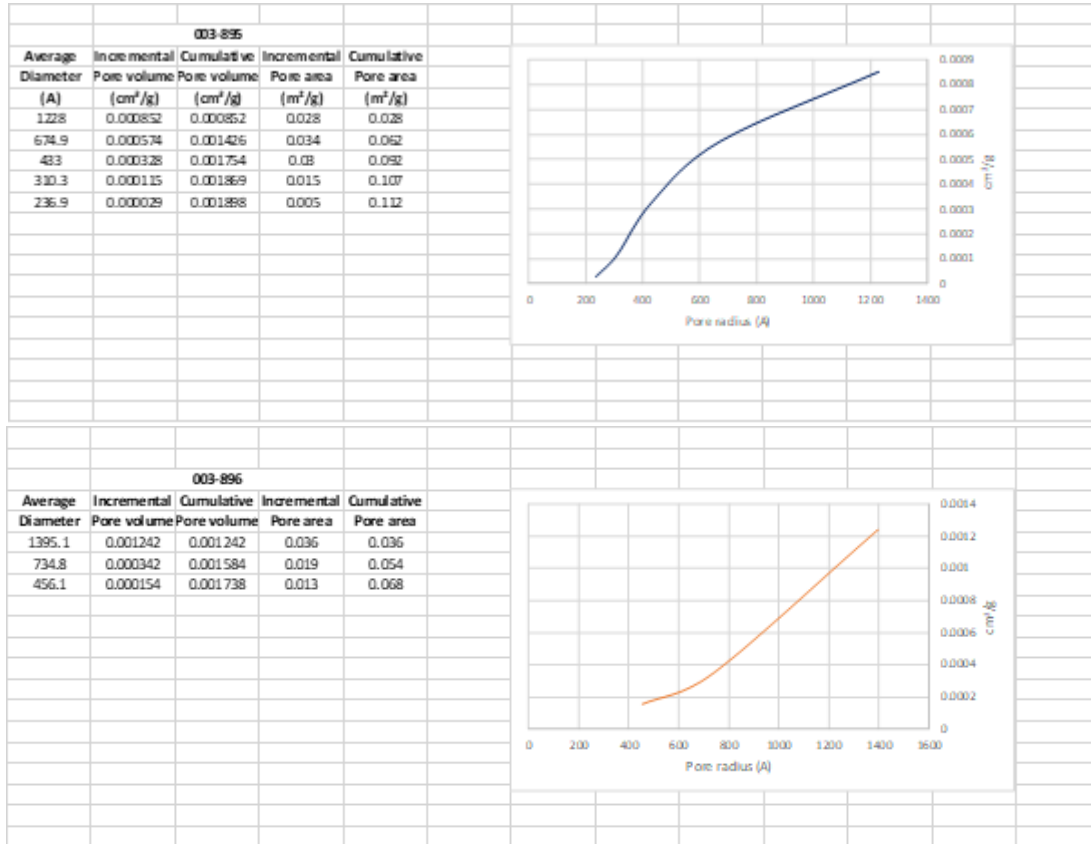


Figure 23 : Distribution en taille de pores du BC1 (Chêne 500°C) tel que trouvée pour les deux répétitions

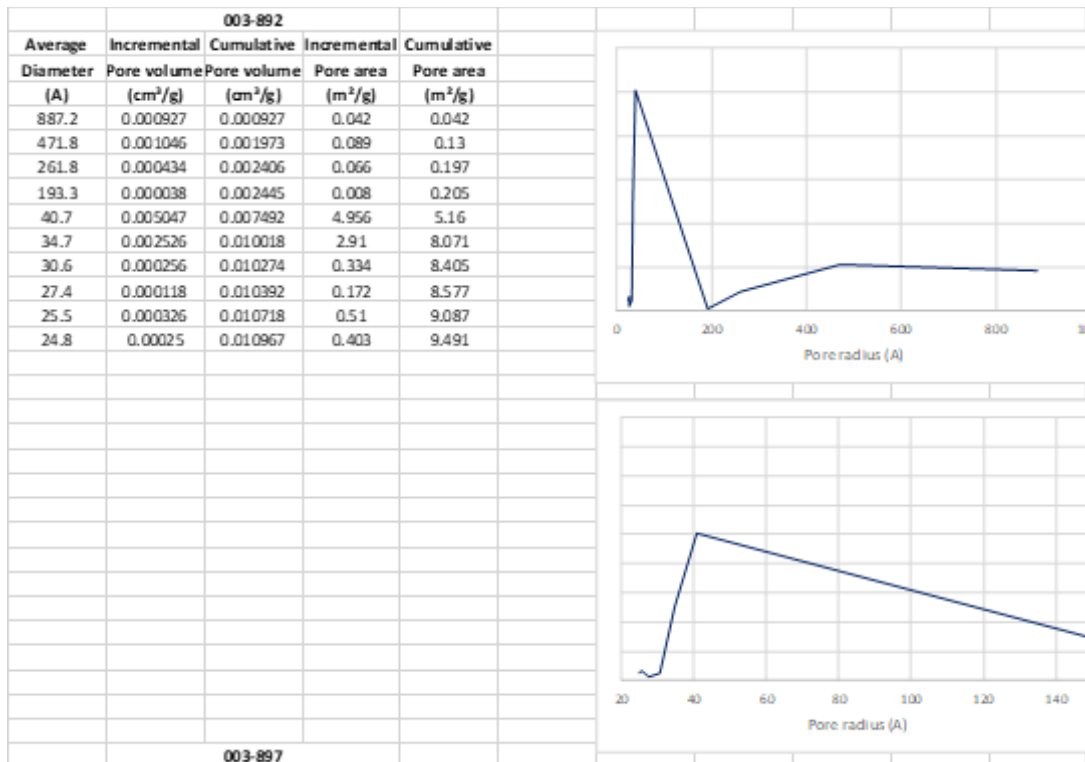


Figure 24: Distribution en taille de pores du BC2 (1ère répétition)

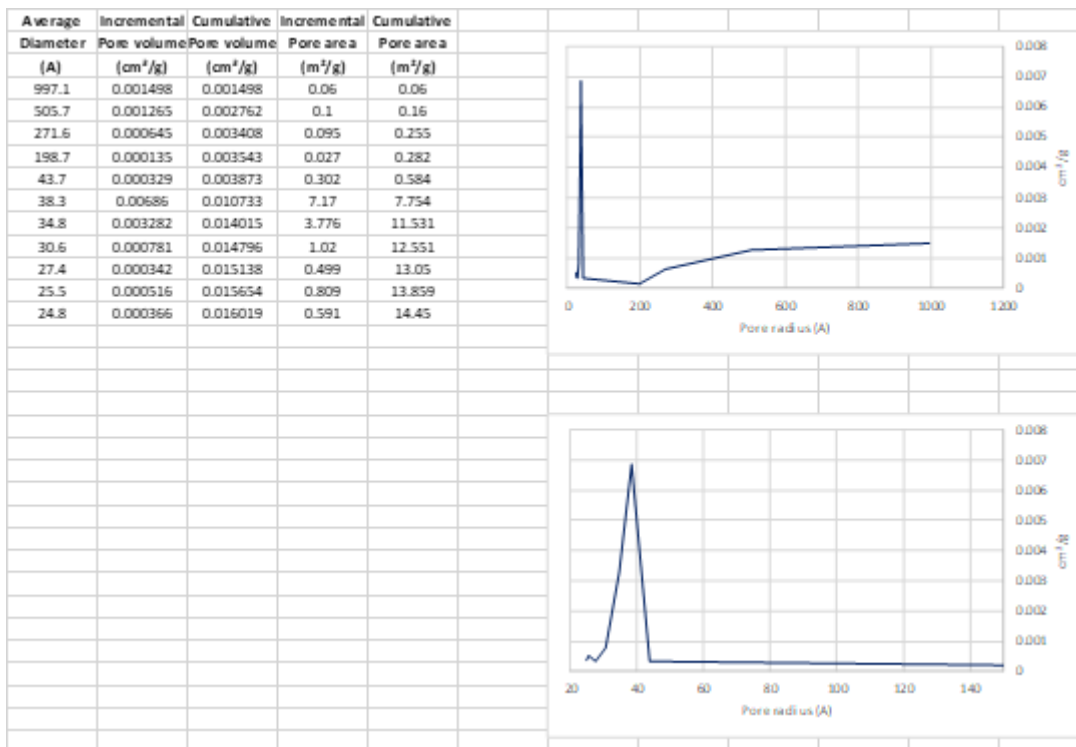


Figure 25: Distribution en taille de pores du BC2 (2ème répétition)

Les 4 mesures de distribution en taille de pores faites pour les 2 échantillons : chêne Biochar 700 °C et 500°C (respectivement BC2 et BC1), ne peuvent pas être interprétées en termes d'échantillons mésoporeux. Dans ce cas l'analyse BJH ne peut pas être utile. Visiblement ces 2 échantillons seraient macroporeux donc des tailles de pores supérieures à 50nm. Compte tenu de ces caractéristiques macroporeuses il est peu probable que la surface spécifique soit aussi élevée que celle de la dernière colonne du Tableau 6.

#### 6.1.2.2.5. Biochar BC3 (Renouée 700°C)

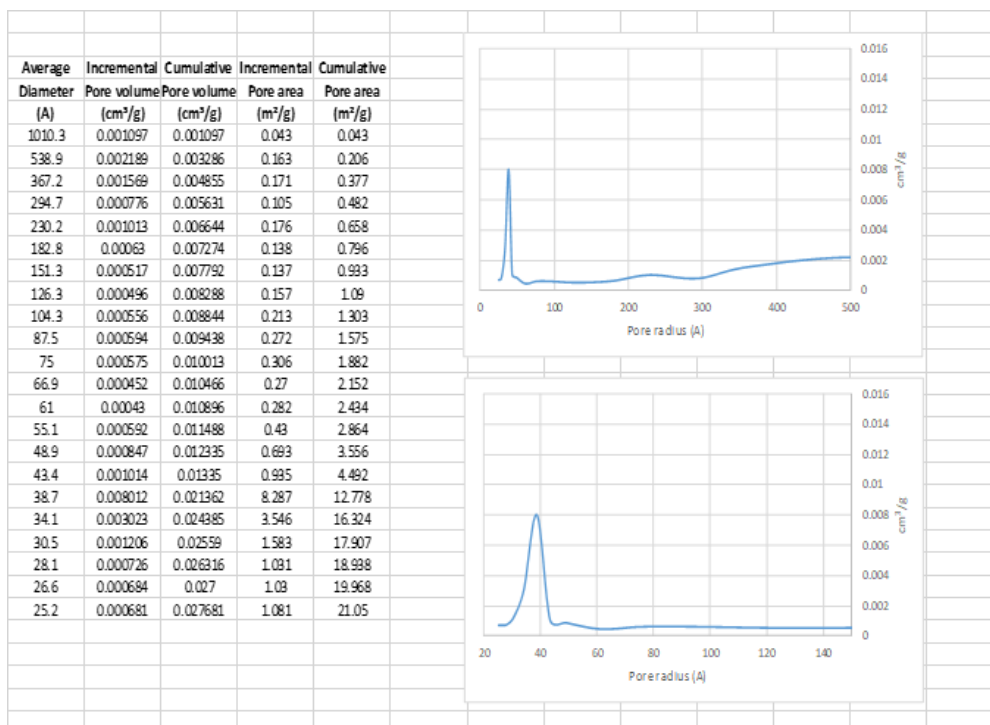


Figure 26: Distribution en taille de pores du BC3

Le biochar de renouée (BC3) ne présente pas une courbe de distribution en taille de pores caractéristique de milieu mésoporeux ce qui explique la faible valeur de la surface spécifique. On observe un pic de la Distribution en taille de pore autour des valeurs 3-5 nm. En outre cet échantillon a aussi un volume mésoporeux très faible (0.03 cm<sup>3</sup>/g). La porosité de

cet échantillon et vraisemblablement plus dans le domaine de la macroporosité mais ne connaissant pas la densité ou le volume poreux total des échantillons il n'est pas possible de calculer le volume macroporeux.

### **6.1.3. Conclusion sur la caractérisation de porosité.**

En conclusion sur les 6 échantillons étudiés seuls 3 ont des distributions en taille de pores correspondant à la mésoporosité et en accord avec les surfaces spécifiques assez élevées.

1 échantillon « renouée 700 » (BC3) ne donne comme information qu'un pic bien défini entre 3 et 5 nm mais avec un volume mésoporeux faible. Les 2 derniers (BC1 et BC2) sont certainement des échantillons essentiellement macroporeux.

## 7. Screening des matrices carbonées produites : essais sur sols artificiels

La première phase expérimentale dédiée aura pour but de sélectionner les matrices présentées précédemment suivant :

- leur capacité à réduire le transfert sol-biote des polluants organochlorés
- leurs propriétés écotoxicologiques sur le microbiote et la faune du sol,

et ce avant des essais sur des sols prélevés en zones contaminées.

Afin de s'assurer de l'homogénéité et de la comparabilité des résultats avec d'autres études, il a été fait comme choix de travailler sur un sol standard normalisé dérivé du test OCDE n°207 (1984), et ainsi utilisé en routine en évaluation écotoxicologique. La composition de ce sol comprend, de même, de la tourbe blonde, matière organique issue de la décomposition de Sphaigne, et qui présente la caractéristique démontrée précédemment de réduire faiblement le transfert de polluants organochlorés à l'animal (Matthieu Delannoy, Schwarz et al. 2014). La sorption particulière de ces polluants à cette phase organique permet d'évaluer la capacité des matrices de la présente étude dans des conditions estimées comme limitantes : l'adsorption sur la phase hautement carbonées nécessitera un décrochage préalable de ces polluants de cette phase organique.

### 7.1. Choix des concentrations représentatives et préparation des sols artificiels

Les PCB et les PCDD/F peuvent se retrouver ubiquitairement dans les sols métropolitains tandis que la chlordécone se retrouve de façon endémique dans les sols des Antilles françaises. Fort de ce constat, il a été fait le choix de travailler sur 2 lots de sols représentatifs, chacun, de chacune de ces situations de contamination :

- un sol contaminé par un mélange représentatif de PCB et de PCDD/F
- un sol contaminé par la chlordécone seule.

Le choix des concentrations utilisées est détaillé dans les parties suivantes.

#### 7.1.1. Les sols contaminés aux PCB et aux Dioxines/Furanes

	n° CAS	p75 (µg/Kg MS)	p75x10 (µg/Kg MS)	
PCB 077	32598-13-3	0.254	2.5	Somme PCB-NDL 50.6
PCB 028	7012-37-5	0.254	2.5	
PCB 052	35693-99-3	0.478	4.8	
PCB 101	37680-73-2	0.576	5.8	
PCB 138	35065-28-2	1.345	13.4	
PCB 153	35065-27-1	1.323	13.2	
PCB 180	35650-29-3	1.079	10.8	
		p75 (ng/Kg MS)	p75x10 (ng/Kg MS)	Somme PCDD/F
12378-PeCDD	40321-76-4	9.70	96.98	1398.85
123478-HxCDD	39227-28-6	7.92	79.21	
23478-PeCDF	57117-31-4	9.90	99.02	
123678-HxCDF	57117-44-9	8.90	89.04	
1234678-HpCDD	35822-46-9	12.39	123.90	
OCDD	3268-87-9	34.47	344.69	
OCDF	39001-02-0	24.22	242.16	
1234678-HpCDF	67562-39-4	9.8	98.5	
123678-HxCDD	57653-85-7	14.9	148.6	
2378-TCDF	51207-31-9	4.3	43.0	
2378-TCDD	1746-01-6	3.4	33.8	

**Tableau 7: 75<sup>ème</sup> percentile des concentrations retrouvées dans les sols métropolitains (données Réseau de Mesures de la Qualité des Sols - RMQS)**

L'objectif de ce choix est d'obtenir un profil assez caractéristique d'un mélange de PCB, PCDD/F. Le choix a aussi pour but d'avoir des niveaux pour ces polluants proches de ceux trouvés sur des sites pollués connus comme par exemple le site de Saint-Cyprien dans la Loire. Les données ci-dessus (Tableau 7) représentent les 75èmes percentiles des concentrations

retrouvées dans les sols métropolitains. Ces concentrations ont été multipliées par 10 lors de la préparation d'un sol selon la méthode OCDE dans le but d'avoir des niveaux quantifiables lors des analyses au cours des expérimentations sur les animaux et les végétaux et de représenter un sol contaminé à hauteur de ce qui est retrouvé dans le cas des sites et sols pollués.

### 7.1.2. Les sols contaminés à la CLD

La concentration choisie dans le sol OCDE est de 1 mg.Kg<sup>-1</sup> de matière sèche, ce qui correspond à une limite supérieure dans les sols pour la culture des plantes moyennement sensibles. Par ailleurs, ces concentrations ont été choisies les plus basses possibles pour limiter de potentiels effets chez les animaux.

### 7.1.3. Modalités des préparations des sols artificiels

Les 4 lots de sols artificiels ont été préparés au GISFI (Groupement d'intérêt scientifique sur les Friches Industrielles) de la façon suivante : les solutions de contaminations ont été préparées au préalable et mélangées avec 10% de la masse nécessaire du sable. Le sable non contaminé, la kaolinite, la tourbe ont été pesés, mélangés avec 15% d'eau et ajoutés au sable contaminé. Ce mélange a été ensuite tamisé à 5 mm avec un tamiseur automatique. Après 2 mois de maturation dans des containers fermés hermétiquement et à température ambiante, le mélange est tamisé de nouveau à 5 mm avant d'être amendé avec des matrices carbonées (ou non), du carbonate de calcium et de l'eau. L'ensemble est mûri pendant 3 mois en containers fermés hermétiquement à température ambiante avant la réalisation d'expérimentations.

Lot 1 : 70kg de sol non contaminé (pour la réalisation d'expérimentations avec des polluants radiomarqués) contenant 41,7 kg de sable, 11,9 kg de kaolinite, 5,95 kg de tourbe et 15% d'eau.

Lots 2, 3, 4 : 40 kg ont été préparés en mélangeant 23,8 kg de sable, 6,8 kg de kaolinite, 3,4 kg de tourbe et 15% d'eau pour chacun des lots. Le lot 2 est un témoin solvant, le lot 3 est contaminé par la chlordécone, le lot 4 est contaminé par un mélange de PCB et PCDD/F. Chaque lot est divisé ensuite en 7 afin d'être amendé par 6 matrices carbonées différentes (cf. paragraphe 5.3, Tableau 4) à hauteur de 2%, 0.62% de carbonate de calcium et 3% d'eau. Le septième servira de témoin sans charbon.



Figure 27 : Photos prises au GISFI montrant les mélanges de sols contaminés avec les réactifs

Matrice sol	polluants (chaud/froid)	Masse	répétitions	multiplications de MC	Vers		Végétaux		Animal	Qté de sol (en g)
					enchytréide (100g)	lombricie n (500g)	Radis (200g)	Courgette (1000)	Poule	
SS (S+K+MOe)	-		5		5					500
SS+POP (S+K+Moe+POP)	TCDD + PCB (mélange représentatif)	500	5		5					500
SS+POP (S+K+Moe+POP)	CLD	500	5		5					500
SS+MC+POP (S+K+Moe+POP+MC)	TCDD + PCB (mélange représentatif)	500	5	6	30					3 000
SS+MC+POP (S+K+Moe+POP+MC)	CLD	500	5	6	30					3 000
SS+MC (S+K+Moe+MC)	-		5	6	30					3 000
SS (S+K+MOe)	-		3			3	3			1 800
SS+POP (S+K+Moe+POP)	TCDD + PCB (mélange représentatif)	1800	3			3	3			1 800
SS+POP (S+K+Moe+POP)	CLD	1800	3			3	3			1 800
SS+MC+POP (S+K+Moe+POP+MC)	TCDD + PCB (mélange représentatif)	1800	3	6		18	18			10 800
SS+MC+POP (S+K+Moe+POP+MC)	CLD	1800	3	6		18	18			10 800
SS+MC (S+K+Moe+MC)	-		3	6		18	18			10 800
SS (S+K+MOe)	-		3			3	3		3	1 800
SS+POP1 (S+K+Moe+POP1)	TCDD		3			3		3		4 800
SS+POP2 (S+K+Moe+POP2)	PCB 153		3			3		3		4 800
SS+POP3 (S+K+Moe+POP)	CLD		3			3		3		4 800
SS+MC+POP1 (S+K+Moe+POP+MC)	TCDD		3	6		18	18	18		28 800
SS+MC+POP2 (S+K+Moe+POP+MC)	PCB 153		3	6		18	18	18		28 800
SS+MC+POP3 (S+K+Moe+POP+MC)	CLD		3	6		18	18	18		28 800
SS+MC (S+K+Moe+MC)	-		3	6		18	18	18		28 800
SS+POP (S+K+Moe+POP)	TCDD + PCB (mélange représentatif)	3000	3	1				3		3 000
SS+MC+POP (S+K+Moe+POP+MC)	TCDD + PCB (mélange représentatif)	3000	3	6				18		18 000
SS (S+K+MOe)	-		4						4	400
SS+POP (S+K+Moe+POP)	TCDD + PCB (mélange représentatif)	400	4						4	400
SS+POP (S+K+Moe+POP)	CLD	400	4						4	400
SS+MC+POP (S+K+Moe+POP+MC)	TCDD + PCB (mélange représentatif)	400	4	6					24	2 400
SS+MC+POP (S+K+Moe+POP+MC)	CLD	400	4	6					24	2 400
SS+MC (S+K+Moe+MC)	-		4	6					24	2 400
Cosmes communs										
molécules marquées										
		S		Sable		Moe	Matrice organique exogène = tourbe			
		K		Kaolinite		MC	Matière haugement carbonée			

Tableau 8 : Ensemble des différentes modalités de sols artificiels et leurs destinations



#### **7.1.4. Qualité : concentrations retrouvées par un laboratoire indépendant**

Des aliments pour poules fabriqués avec 10% de sol contaminés en CLD amendé en matrice carbonée ou non ont été analysés par une méthode interne HPLC-MS/MS dans le laboratoire LABOCEA, Brest, France. Les granulés contenant du sol contaminé en CLD et non amendés en matrice carbonée présentaient une concentration moyenne de 111 µg/kg de matière sèche (n=3). Les granulés contenant du sol contaminé en CLD et amendé avec du biochar 500 ont été également analysés et présentaient une concentration de 105.6 µg/kg de matière sèche (n=3).

Compte tenu d'une concentration à 1000µg de CLD/kg sol, ce dernier incorporé à hauteur de 10% dans l'aliment pour poules, les résultats obtenus confirment la qualité de nos préparations.

## 7.2. Évaluation du transfert

### 7.2.1. Disponibilité environnementale

#### 7.2.1.1. Principe

La disponibilité environnementale des composés organiques non polaires a été étudiée en appliquant le protocole de la norme expérimentale XP ISO/TS 16751 (octobre 2018) sur la qualité du sol.

Cette norme permet la détermination de la fraction potentiellement disponible et de la fraction non disponible en utilisant un agent adsorbant fort ou complexant.

Le document normatif spécifie une méthode d'extraction pour déterminer la fraction disponible (disponibilité potentielle et environnementale) et la fraction non disponible d'un contaminant organique, phase à fortes propriétés sorbantes ou à propriétés complexantes, par exemple, le Tenax ou la cyclodextrine, respectivement.

La fraction potentiellement disponible est la quantité de contaminant présent dans la matrice pouvant être libérée de la phase solide vers la phase aqueuse dans un mélange de sol et d'eau bien homogène et en présence d'une phase réceptrice, adsorbant Ténax ou complexant Cyclodextrine, dans un laps de temps de 20 heures.

La fraction non disponible extractible du contaminant restée dans l'échantillon suite à l'action du Ténax ou de la Cyclodextrine peut être ensuite mesurée à l'aide d'une technique d'extraction exhaustive/agressive (conçue pour mesurer la concentration totale).

Ainsi, du point de vue quantitatif, la concentration totale de contaminant dans un échantillon est la somme de la concentration disponible et de la concentration non disponible :  $C_{\text{total,contaminant}} = C_{\text{disponible}} + C_{\text{non disponible}}$

L'étude de biodisponibilité a été conduite à l'aide de l'agent complexant Cyclodextrine.

#### 7.2.1.2. Préparation des échantillons

Les échantillons de sol ont été reçus au laboratoire d'analyse des sols d'Arras (INRAe) déjà préparés et conditionnés en flacon de verre ambré. Les sols ont été stockés en chambre froide à une température de -20°C dans l'attente de leur analyse. Les sols ont été placés au réfrigérateur la veille des analyses pour la phase de décongélation. L'étude de la biodisponibilité a été réalisée à partir d'une prise d'essai de sol à l'état frais.

#### 7.2.1.3. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau par séchage à l'air a été déterminée selon la norme ISO 11465. Une prise d'essai du sol à l'état frais a été déposée dans une clayette stockée pendant 5 jours dans une salle chauffée à 35°C pour un séchage. Le sol a été pesé à l'état frais puis à l'état sec pour déterminer la teneur en eau.

Les teneurs en contaminants organiques, PCB et PCDD/F, ont été exprimées par rapport au sol à l'état frais pour la fraction disponible et par rapport au sol séché à l'air pour la fraction non disponible.

#### 7.2.1.4. Extraction à la Cyclodextrine

Chaque flacon en plastique ou en verre portait la référence du sol analysé pour assurer la traçabilité des échantillons au cours des différentes étapes du mode opératoire.

##### 7.2.1.4.1. Extraction des sols

A l'aide d'une balance, une prise d'essai de 4 g de sol frais a été introduite dans un tube plastique à centrifuger d'une capacité de 50 ml. Un volume de 40 ml d'une solution de Cyclodextrine à 100 mmol/l pour extraction a été ajouté dans le tube lequel a été refermé à l'aide d'un bouchon à vis.

Chaque tube contenant un sol à extraire a été placé sur le portoir de l'agitateur à mouvement horizontal. L'agitation a alors été réalisée à vitesse 180 r/min, dans un local à une température régulée à 20°C +/- 2°C et dans l'obscurité pendant 20 heures, garantissant un mélange satisfaisant des composants et une altération limitée des particules de sol.

##### 7.2.1.4.2. Séparation des phases

Après agitation des tubes, ces derniers sont mis à centrifuger pendant 15 minutes à 3000 g pour séparer la phase solide de la phase liquide (surnageant clair). Dans certains cas, il a pu être nécessaire de relancer l'étape de centrifugation afin d'améliorer la séparation des deux phases.

Dans le cas de l'étude de la chlordécone, la totalité de la phase liquide (surnageant) est récupérée dans un flacon en plastique portant la référence du sol pour un envoi au laboratoire en charge de l'analyse de la chlordécone.

Dans le cas de l'étude des PCB et PCDD/F, les extraits sont traités selon les étapes décrites ci-dessous.

Extraction à partir de la phase réceptrice

La phase liquide de l'extrait PCB et PCDD/F, surnageant correspondant à la fraction disponible, est versée en totalité dans une ampoule à décanter en verre d'une capacité de 100 ml. L'extraction liquide/liquide a été réalisée en ajoutant également dans l'ampoule à décanter :

- 20 ml d'éther de pétrole
- 20 µL d'étalons internes EC-9605-SS (étalons PCB 13C)
- 20 µL d'étalons internes EPA-8290-SFS (étalons PCDD/F 13C)

L'ampoule à décanter a été bouchée et agitée pendant 2 minutes. Cette extraction liquide/liquide a été répétée 2 fois avec récupération après chaque agitation de la phase étherée dans un erlenmeyer en verre de 100 ml.

Concentration de l'extrait étheré

Chaque extrait d'éther de pétrole a été partiellement évaporé jusqu'à environ 5 ml à l'aide d'un évaporateur à effet rotatif, température du bain-marie de 60°C et pression de vide de 500 mBar.

Chaque extrait résiduel d'éther de pétrole a été évaporé à sec sous un léger flux d'azote de haute pureté. Le résidu sec a été repris par :

- 150 µL de nonane
- 25 µL d'étalons PCB de recouvrement EC-9605-RS
- 25 µL d'étalons PCDD/F de recouvrement EPA-8290-RSS diluée au 1/10.

A la suite d'un temps de contact de 30 à 45 min, l'extrait final a été transféré à l'aide d'une pipette dans un vial en verre ambré de 2 ml muni d'un réducteur en verre de 200 µL et refermé par un bouchon muni d'un septum en téflon (PTFE).

### 7.2.1.5. Dosage des extraits par GC-HRMS

Le dosage des PCB-NDL, PCB-DL et PCDD/F dans les extraits de sols et de végétaux pour les fractions biodisponibles et non bio disponibles ont été réalisés à l'aide d'un chromatographe en phase gazeuse couplé à un spectromètre de masse à haute résolution (GC-HRMS).

La quantification a été effectuée en sélectionnant les deux ions moléculaires les plus abondants pour chaque composé organique, par dilution isotopique et à une résolution proche de 10000.

Le dosage s'est fait en mode SIR (Single Ion Recording). L'ionisation s'est faite par impact électronique en mode positif de faible énergie (35,5 eV) et avec un courant de trappe entre 400 et 600 µA.

Le chromatogramme a été divisé en plusieurs segments comportant chacun les ions moléculaires sélectionnés de même nombre de chlore, les ions moléculaires des étalons internes de même nombre de chlore ainsi que les ions du perfluorokérosène (Lock mass), permettant de calibrer en masse le spectromètre de masse durant toute la durée de l'analyse. La séparation chromatographique des composés organiques PCB et PCDD/F a été obtenue par une programmation en température du four colonne :

Gradient de températures pour les PCB DL et PCDD/F de 100°C à 315°C sur une durée de 50 min.

Gradient de températures pour les PCB-NDL de 100°C à 325°C sur une durée de 44 min.

### 7.2.1.6. Limites de quantification

#### 7.2.1.6.1. PCB-NDL et PCB-DL

Pour une prise d'essai de 2 g d'échantillon solide (sols, végétaux), la limite de quantification est de 0,2 µg/kg.

#### 7.2.1.6.2. PCDD/F

Pour une prise d'essai de 2 g d'échantillon solide (sols, végétaux), les limites de quantification sont :

PCDD/F tétrachloré	10 ng/kg
PCDD/F pentachloré	15 ng/kg
PCDD/F hexachloré	20 ng/kg
PCDD/F heptachloré	30 ng/kg
PCDD/F octachloré	100 ng/kg

Les limites de quantification fournies en résultats sont fonction de la masse de prise d'essai des échantillons de sols et de végétaux.

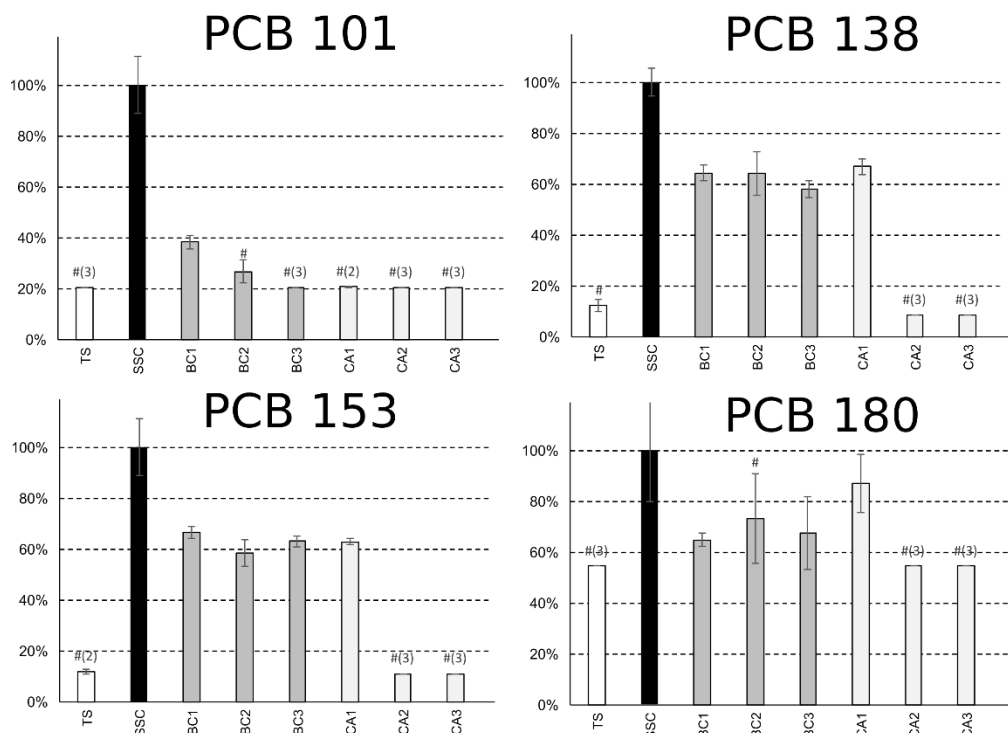
### 7.2.1.7. Résultats

Seuls ont pu être quantifiés :

- le PCB 101
- le PCB 138
- le PCB 153
- le PCB 180
- la chlordécone.

Du fait des limites de quantification, les résultats obtenus pour le PCB 77 et les PCDD/F présentaient des niveaux n'ayant pu être quantifiés avec la méthodologie employée. De plus des concentrations de ces polluants ont été retrouvées dans le sol témoin non contaminé.

### 7.2.1.7.1.PCB 101, 138, 153 et 180



**Figure 28: Disponibilité environnementale relative (au sol non amendé) (%)**

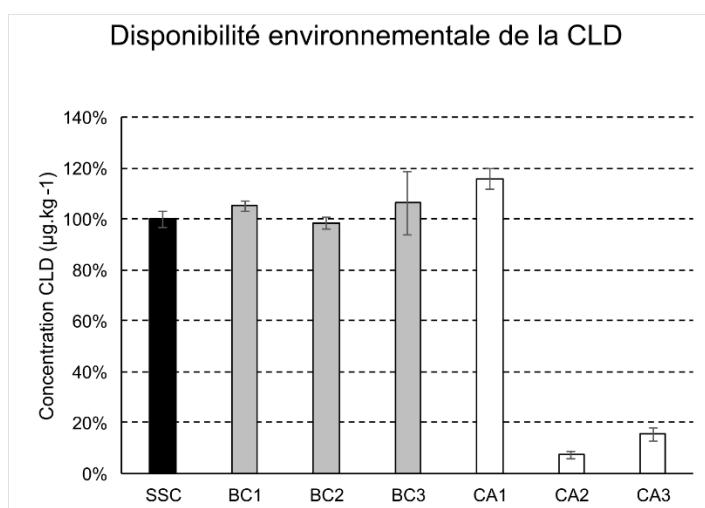
TS : sol témoin non contaminé ; SSC : sol non amendé. (n=3)

# : au moins une valeur était en dessous de la LQ et a été remplacée par la LQ. Le nombre de valeur est indiqué entre parenthèses si supérieur à 1

Ainsi il a pu être montré pour ces PCB-NDL

- que chaque biochar et charbon actif limite la disponibilité de ces contaminants notamment pour le PCB 101
- cette réduction minimale serait de l'ordre de 35% pour les biochars et le CA1 pour les PCB 138, 153 et 180
- Une plus forte réduction est obtenue par l'emploi des charbons actifs CA2 et CA3 (toutes les valeurs sont en dessous de la limite de quantification).

### 7.2.1.7.2.La chlordécone



**Figure 29: Disponibilité environnementale relative de la chlordécone suivant les conditions d'amendement (%) (n=3)**

Ainsi il a pu être montré pour la chlordécone

- que seul les charbons actifs CA2 et CA3 limitent efficacement la disponibilité de la chlordécone.
- les biochars n'ayant aucun effet.

## 7.2.2. Transfert vers les lombriciens et les radis

La classification des molécules actives des pesticides est basée sur leur toxicité, leur persistance dans l'environnement (molécules résistantes aux dégradations naturelles), leur bioconcentration dans les tissus vivants, leur bioaccumulation le long de la chaîne alimentaire et enfin le transport longue distance. Ces critères réunis, on parle alors de Polluants organiques persistants POP.

La contamination des sols par la CLD constitue une menace majeure pour les denrées alimentaires ce qui se répercute dans tout le réseau trophique. L'ingestion involontaire de sol est une voie d'exposition aux pesticides pour les organismes de la pédofaune (Roberts et Dorough, 1984) et les animaux vivants en plein air (Delannoy et al., 2018; Jurjanz et al., 2014; Bouveret et al., 2013). En ce qui concerne les végétaux, une étude de Cabidoche et Lesueur-Jannoyer (2012) a montré que le taux de contamination par la CLD variait selon les espèces végétales.

Leur étude a mis en avant que tous les tubercules étaient contaminés conformément à la teneur en CLD des sols et ce, en lien avec la teneur volumétrique de la CLD dissous dans le sol. Pour les courgettes, la teneur en CLD était la plus élevée parmi les légumes/fruits dits aériens. Ces dernières ne sont pas en contact avec le sol contrairement aux tubercules, ainsi le contact avec le sol n'est sans doute pas la seule voie de contamination pour les plantes. On peut également envisager une voie par l'absorption des racines, le transport de la sève et l'affinité tissulaire. C'est ce qui a été démontré dans l'étude de Letondor et al. (2015). Quelle que soit la concentration de CLD dans le sol, les racines étaient plus contaminées que les parties aériennes du radis (*Raphanus sativus* cv. Nelson). Cependant le nombre d'études à ce sujet reste rare et ne permet pas encore d'affirmer les voies de contamination des plantes par la CLD.

Les polychlorobiphényles ou biphényles polychlorés (PCB) sont connus pour être très persistants (demi-vie de 94 jours à 700 ans selon les molécules), bioaccumulables et toxiques. De par leurs propriétés physicochimiques, les PCB se résorbent fortement dans les matrices organiques telles que le sol ou les sédiments. Ils sont ainsi omniprésents dans le monde (Ilyas et al., 2011; Kaisarevic et al., 2011; Lopez et al., 2011). Ils sont solubles dans les lipides (log  $K_{ow}$  compris entre 4.09 et 7.27) (Hawker et Connell, 1988) et peuvent se bioaccumuler dans la chaîne alimentaire (Safe, 1994). La persistance des PCB impacte fortement la faune et la flore. Par exemple, l'exposition d'une concentration de 500 et 2500  $\mu\text{g/g}$  d'Aroclor 1254 (PCB) à des microarthropodes (acariens, collemboles et un groupe divers) diminue fortement leur abondance (Parmelee et al., 1997). Diercxsens et al. (1985) démontre qu'il y a un potentiel effet de bioconcentration des PCB entre le sol et les vers de terre. La concentration de PCB était plus élevée dans les tissus des vers de terre que dans le sol dans lequel ils vivent.

Toutefois, il y a encore très peu d'informations disponibles sur la toxicité des PCB pour les invertébrés du sol.

Pour ce qui concerne les végétaux, un certain nombre d'espèces végétales spécifiques capables de mobiliser les POP ont été identifiées, en particulier la famille des cucurbitacées. Il a été démontré que les cucurbitacées absorbent et transportent les POP liés au sol (Ficko et al., 2010; Mattina et al., 2007; Zeeb et al., 2006). Les courgettes (*Cucurbita pepo*) sont des espèces qui bioaccumulent en grande quantité les PCB. Il a été suggéré que le transfert des PCB entre le sol et les parties aériennes de la plante s'effectuent par les racines (Inui et al., 2008). Deux études montrent que la sous-espèce *C. pepo pepo* peut accumuler une concentration significative de PCB dans les pousses de plantes via l'absorption racinaire et la translocation (Aslund et al., 2008, 2007). Une étude de Greenwood et al. (2011) a permis de localiser des PCB dans la racine, la pousse et pour la première fois dans les tissus de xylème de la citrouille. Il a également été démontré que la translocation des PCB dans toute la plante s'effectue par le xylème. Cependant, la présence de PCB dans ces organismes n'altère en rien leur développement ce qui suggère un potentiel pouvoir de remédiation (Sharma et al., 2018; Low et al., 2010; Ficko et al., 2010; Zeeb et al., 2006; White et al., 2006, 2003).

Du fait de la persistance de ces polluants dans les sols découle un potentiel effet de bioconcentration, voire de bioamplification de ces éléments toxiques tout au long de la chaîne trophique. Comme la plupart des pesticides organiques présentent une forte affinité pour la matière organique (MO) des sols (Bogan et Sullivan, 2003; Weber et al., 2001; Pignatello, 1998), leur piégeage serait renforcé par l'ajout de matrices carbonées, réduisant ainsi fortement leur biodisponibilité.

Les principales études portent sur l'utilisation de MO sous forme de biochar dans les sols (Tong et al., 2019; Kuppusamy et al., 2016; Ahmad et al., 2014). Ces articles mentionnent une limitation du transfert vers les plantes (Williams et al., 2015), les vers de terre (Denyes et al., 2012; Wang et al., 2012) ou l'animal (Fujita et al., 2012). Ainsi l'incorporation de matières organiques exogènes (ici de matière carbonée) dans un sol pollué est une technique qui a déjà montré son efficacité pour le piégeage de différents polluants (Woignier et al., 2015; Houben et al., 2013; Beesley et al., 2010). Cette efficacité dépend néanmoins fortement de la nature de la MO apportée, du polluant visé et de la cible notamment biologique sur laquelle l'effet est estimé.

Néanmoins, les impacts plus vastes sur l'écosystème du sol, comme la pédofaune et les végétaux, de l'addition de matrices carbonées doivent être pris en compte et évalués. Les vers de terre constituent un groupe d'organismes d'une très grande importance pour la dynamique des sols et les processus écosystémiques. En effet, ils sont depuis longtemps reconnus comme des "ingénieurs" des écosystèmes, jouant un rôle essentiel dans la décomposition de la matière organique, le cycle des nutriments, la création de pores et la formation des sols (Darwin, 1881). Ils sont également source de nourriture pour de nombreuses espèces telles que les mammifères, les oiseaux et les amphibiens. Par conséquent, les contaminants absorbés par les vers de terre dans le sol peuvent se transmettre au sein du réseau trophique. Pour toutes ces raisons, il est important d'éviter de provoquer des altérations de leur comportement ou de leur population afin de maintenir l'équilibre du sol et de l'écosystème. Pour cette étude, il a été choisi comme modèle animal l'espèce endogée *Aporrectodea caliginosa* (vers de terre)

pour les raisons suivantes : (i) le grand nombre requis (100 individus pour cette étude et > 300 individus pour le projet entier), (ii) la simplicité d'élevage, (iii) son abondance dans les sols agricoles et (iv) sa sensibilité aux pesticides étudiés (Bart et al., 2018; Jager et al., 2005). Et comme modèle végétal, il a été choisi l'espèce *Raphanus sativus* (radis) pour les raisons suivantes : (i) simplicité de germination, (ii) croissance rapide et (iii) effet de bioaccumulation de la CLD dans leur racine déjà observé (Letondor et al., 2015).

Il faut noter que l'efficacité de séquestration dépend fortement de la nature de la MO apportée, du polluant visé ainsi que de la cible biologique exposée (Xie et al., 2015). L'abondance de publications masque un manque de connaissances extrapolables du fait de l'extrême variété des MO testées et des modèles très différents utilisés pour estimer l'efficacité du traitement. En effet, la caractérisation de la MO utilisée est très hétérogène, soit du fait de caractères mesurés différents (taux de carbone organique, aromaticité, porosité...) ou bien du fait de variabilité pour une même MO (porosité, surface spécifique...).

L'objectif du projet PIEGEACHLOR est de voir s'il est possible de diminuer la (bio)disponibilité des POP du sol, par conséquent leurs effets néfastes, en les séquestrant par adjonction de MO exogène. La stratégie retenue dans le projet est de caractériser un panel de MO assez large au départ et aux propriétés contrastées (3 types de charbon actif et 3 biochars: de chêne 500°C, 700°C, biochar Renouée du Japon 700°C), mais également, une gamme de POP aux propriétés physicochimiques contrastées (CLD, mélange PCB et PCDD/F) et gamme de compartiments biotiques cibles (vers de terre, végétaux).

Pour cette étude, nous nous sommes focalisés sur la séquestration de la CLD et du PCB 153 par un biochar de chêne 500°C dans un sol artificiel OCDE. Deux cibles ont été exposées : *Aporrectodea caliginosa* (vers de terre) et *Raphanus sativus* (radis) pour étudier le transfert des molécules entre les différents compartiments (sol, biochar, organismes vivants). Pour ce faire, les molécules de CLD et de PCB marquées au carbone 14 ont été utilisées pour étudier ce transfert (on notera CLD\* et PCB 153\*). Il a été émise l'hypothèse que l'utilisation de MO exogène, plus condensée que la MO endogène, permettrait d'établir un piégeage moins réversible de ces POP. Ainsi, les molécules de CLD\* et de PCB 153\* piégées, les vers de terre et radis exposés seront moins impactés.

### 7.2.2.1. Méthodologie

#### 7.2.2.1.1. Matériels biologiques

Pour cette étude, l'espèce endogée *Aporrectodea caliginosa* a été prise comme modèle, un annélide de la classe des Clitellata et de la famille des Lumbricidae dont le cycle de vie est indiqué (Figure 30). Les vers utilisés sont issus de l'élevage de l'UMR 1402 ECOSYS provenant du site des prairies des Closeaux (sol non pollué, pH=6). Ils sont élevés dans des boîtes en plastiques dans leur sol d'origine humidifié à 70% de la CRE (Capacité de Rétention en Eau). Les boîtes sont placées à l'obscurité dans une chambre climatisée à 15°C ± 1°C. Ils sont nourris à base de crottin de cheval séché broyé (diamètre ≤ 1 mm) et réhumidifié avant d'être mélangé au sol.

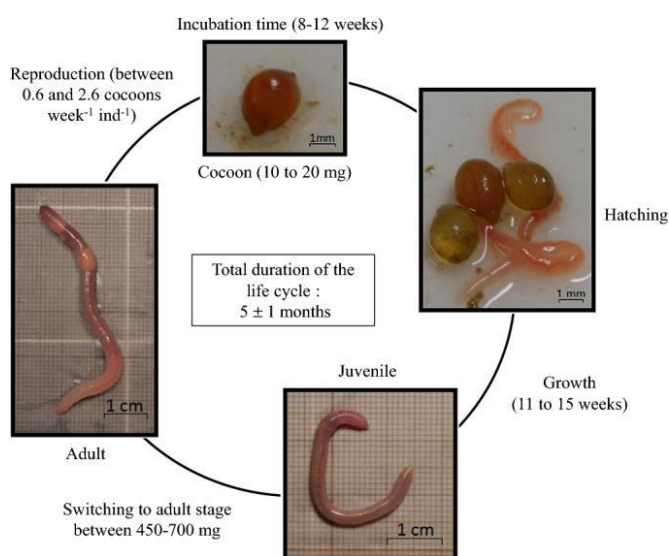


Figure 30: Cycle de vie d'*Aporrectodea caliginosa* en condition de laboratoire (Bart et al., 2018).

Les graines de radis *Raphanus sativus* ont été fournies par la ferme de Sainte Marthe (Angers, France). C'est une variété dite de "18 jours" issue de l'agriculture biologique. Elles ont été préalablement germées (disposées dans une boîte sur un linge imbibé d'eau) 36h avant repiquage dans les pots.

#### 7.2.2.1.2. Sol artificiel OCDE et matrices carbonées

Le biochar utilisé dans l'étude est un charbon de bois commercial, fourni par la société CARBOFRANCE (Montiers-sur-Saulx, Lorraine, France), obtenu par la méthode traditionnelle de pyrolyse (à 500°C) à partir de chêne comme matière première. La surface spécifique a été déterminée en utilisant la technique BET 9 points par l'appareil MICROMERITRICS ASAP 2010 (Tableau 9). La taille des pores a été mesurée par l'analyse BJH (Barrett, Joyner et Halenda).

	Surface spécifique BET (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	Surface de microporosité (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	Surface non microporeuse (m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	Surface de microporosité (% de la somme de la surface)
Biochar de chêne 500°C	144.4 ± 7.8	76.6	79.0	49

Tableau 9: Paramètres du biochar de chêne 500°C (Delannoy, 2019).

### 7.2.2.1.3. Composés organochlorés radiomarqués

Le [<sup>14</sup>C]-Chlordécone (activité spécifique = 51 mCi.mmol<sup>-1</sup>, pureté radiochimique 97 % telle que déterminée par une analyse par chromatographie liquide à haute performance en phase radio-inverse) a été achetée auprès de la société Moravek (Brea, Californie).

Le [<sup>14</sup>C] - 2,2',4,4',5,5'-Hexachlorobiphenyl (PCB 153) (activité spécifique = 12,6 mCi.mmol<sup>-1</sup>, pureté radiochimique 97 % telle que déterminée par une analyse par chromatographie liquide à haute performance en phase radio-inverse) a été achetée auprès de la société American Radiolabeled Chemicals, Inc. (St. Louis, Missouri).

Les concentrations et activités volumiques utilisées dans cette étude sont indiquées selon les expériences effectuées.

### 7.2.2.1.4. Dispositif expérimental

Dans des bocaux en verre « le Parfait » de 3 litres nous avons disposé un petit pot en plastique et deux fioles en polypropylène (Perkin-Elmer) (Figure 31). L'une contient 10 ml d'H<sub>2</sub>O (permettant le maintien de l'humidité) et l'autre 10 ml de NaOH 1N (permettant de vérifier l'éventuelle minéralisation des composés organochlorés).

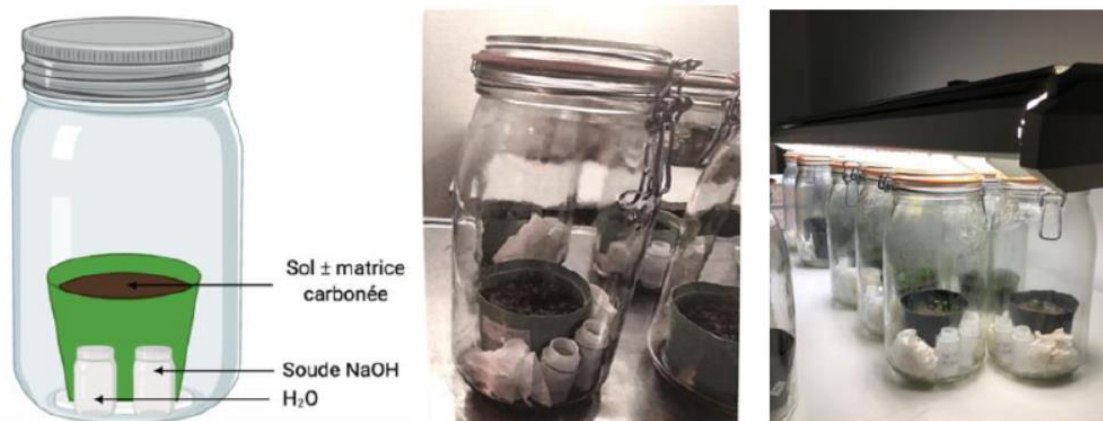


Figure 31: Schéma à gauche et photographie au milieu et à droite du dispositif expérimental.

Chaque pot contient un mélange de 200 g de sol artificiel OCDE avec CLD\* ou PCB 153\* à 2 et 2.6 mg/kg de sol respectivement. Ces concentrations ont été choisies afin d'être au plus proche des concentrations environnementales. Pour la concentration en PCB 153, après une analyse statistique dans le nord de France, il a été relevé qu'elle était de 0,01323 mg/kg de sol (Delannoy, 2019). Du fait des caractéristiques de la solution contenant la molécule radioactive, la concentration minimale de PCB\* possible est de 2,6 mg/kg de sol, ce qui correspond à un facteur 200 x plus élevé que la concentration souhaitée. Le tout est mis dans une chambre d'incubation à 22°C à l'obscurité pendant 1 mois. Ensuite, la matrice carbonée (biochar de chêne 500°C) est ajoutée à hauteur de 0.5, 1 ou 2% et l'incubation s'est poursuivie, dans les mêmes conditions, pendant 2 mois.

En tout, 8 séries de 6 pots (2 témoins et 4 réplicas) ont été réalisées suivant le Tableau ci-dessous :

Série	1	2	3	4	5	6	7	8
Polluant	PCB153*	CLD*	CLD*	CLD*	CLD*	PCB153*	PCB153*	PCB153*
Taux biochar (%)	2	2	2	2	2	2	1	0.5
Modalité	VdT	VdT	Radis	Radis puis VdT	VdT puis radis	Radis	VdT puis radis	Radis puis VdT

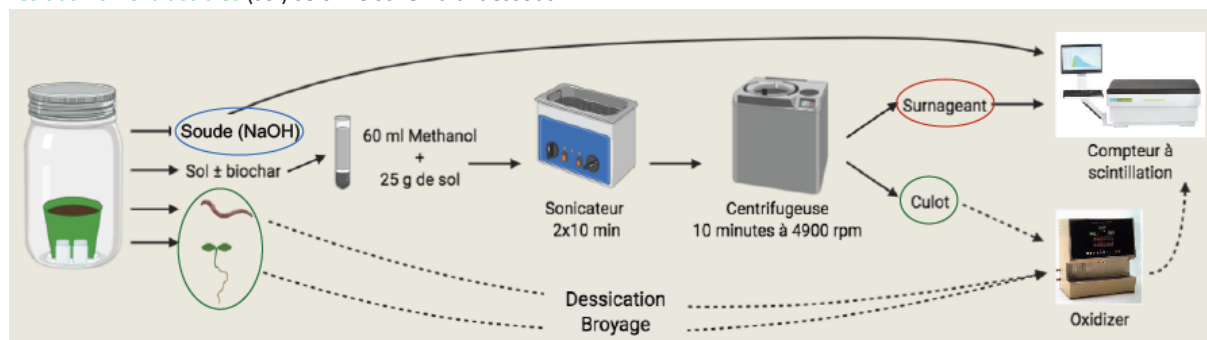
**Tableau 10: Organisation des séries du protocole expérimental (VdT = vers de terre).**

Chaque série comporte deux témoins. L'un correspond à du sol OCDE seul et un polluant marqué, l'autre correspond à un mélange de sol OCDE amendé par du biochar de chêne avec un polluant marqué.

Après la période d'incubation, deux figures d'exposition des vers et des radis ont été mises en place. Soit 3 vers *A. caliginosa* sont incorporés dans chaque pot (sauf les témoins) pendant 2 semaines. Un filet resserré d'un élastique autour du pot permettait d'empêcher les vers de s'échapper. Soit 10 graines de radis *R. sativus*, préalablement germées, sont repiquées dans chaque pot (sauf les témoins) et sont incubées pendant 3 semaines. Pour les séries 4, 7 et 8, après les 3 semaines de culture des radis, ces derniers ont été retirés et les vers de terre ont été ajoutés pour 2 semaines. Inversement pour la série 5. Les radis étaient exposés à la lumière d'une lampe à néon. À la fin des 2 semaines d'exposition, les vers de terre sont congelés dans l'azote liquide et conservés à -20°C et les radis sont directement congelés et conservés à -20°C, en attente des analyses avec l'Oxidizer (combustion des échantillons).

A la suite de cette phase expérimentale d'incubation, il est nécessaire d'effectuer un comptage de la radioactivité dans tous les compartiments (sols, vers de terre, radis et soude) afin de comprendre le devenir des polluants marqués.

Le bilan de la répartition de la radioactivité sera dû à la **minéralisation** + **les résidus extractibles** (sol + vers de terre + radis) + **résidus non extractibles** (sol) selon le schéma ci-dessous.



**Figure 32: Schéma expérimental de l'évaluation du transfert vers les lombriciens et radis**

### 7.2.2.2. Cinétique d'adsorption (ligne directrice OCDE n° 106)

Dans une série de tubes en verre à centrifuger de 25 ml, 2 g de sol avec ou sans 2% de biochar de chêne sont mis en suspension dans 9 ml de solution aqueuse de CaCl<sub>2</sub> 10 mM et de polluant marqué au <sup>14</sup>C (61 179 DPM/ml pour CLD\* et 18 887 DPM/ml pour PCB 153\*). Après des périodes (15 ; 30 min ; 1h ; 2h ; 3h40) d'agitation par retournement, les phases liquides et solides sont séparées par centrifugation (Sorvall® Evolution™ RC superspeed centrifuge) à 7000 rpm (SA-600 Rotor) pendant 5 minutes à température ambiante. Des aliquotes des surnageants sont mesurés par scintillation liquide (100 µl de surnageant + 4 ml de liquide scintillant). Le pourcentage d'adsorption est calculé par la différence de l'activité volumique de la solution de départ à l'activité volumique finale mesurée. Cette étude sur la cinétique d'adsorption est réalisée sur le sol OCDE et le sol mélangé à 2% de biochar de chêne.

### 7.2.2.3. Adsorption et cinétique de désorption (ligne directrice OCDE n° 106)

Neuf ml de solution marquée CLD\*, préparées à différentes concentrations, sont ajoutés à 2 g de sol, dans des tubes à centrifuger en verre de 25 ml. Cinq concentrations sont utilisées (0.125, 0.25, 0.5, 1, 2 mg/kg de sol). Ces tubes sont mis en agitation continue, à température ambiante, par retournement pendant 1h, temps suffisant pour atteindre l'équilibre, puis centrifugés (7000 rpm pendant 5 minutes) et la radioactivité des surnageant est mesurée par comptage direct sur un analyseur à scintillation.



Après l'étape d'adsorption, les surnageants (après centrifugation) sont retirés et remplacés par 9 ml de CaCl<sub>2</sub> 10 mM + 10% d'éthanol. Les culots sont remis en suspension et sont à nouveau agités par retournement. Après 15, 30 min, 1h et 36h (sans agitation pour ce dernier), les tubes sont centrifugés (5 min à 7000 rpm) et la radioactivité des surnageants est mesurée.

#### 7.2.2.3.1. Mesure de la teneur en carbone 14

#### 7.2.2.3.2. Extraction

Trois aliquotes de 25 g sont prélevés par pot et incorporés dans un tube Corex 150 ml. On y ajoute 60 ml de méthanol (MeOH). Après agitation pour homogénéisation, les échantillons sont passés au sonicateur pendant 20 minutes (2 cycles de 10 min) à une température ne dépassant pas 30°C. S'ensuit une centrifugation de 10 minutes à 4900 rpm à température ambiante (SLA-1500 Rotor). Le surnageant (résidus extractibles) et le culot (résidus non extractibles) sont séparés. Le culot est conservé pour la combustion. Avec le surnageant, 3 aliquotes sont préparés correspondant à 3 ml de surnageant et 10 ml de liquide scintillant avant le comptage de radioactivité.

#### 7.2.2.3.3. Détermination de la radioactivité

La radioactivité présente dans les échantillons liquides a été déterminée par comptage direct sur un analyseur à scintillation Packard (modèle Tricarb® 2810TR LSA, Perkin Elmer Life and Analytical Sciences) en utilisant un cocktail à scintillation Ultima gold (Perkin Elmer Life and Analytical Sciences).

La radioactivité dans les échantillons solides (résidus non extractibles du sol, vers de terre et radis) est analysée à l'aide de l'Oxidizer OX-700 (ZINSSER - Analytic), qui consiste en une combustion à 900°C, suivie d'une quantification de <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> sur le compteur à scintillation Packard. En raison d'une panne d'appareil et de la situation sanitaire, les mesures de radioactivité dans les vers de terre et les radis n'ont pas pu être effectuées.

#### 7.2.2.3.4. Analyse morphologique et physiologique des vers de terre et des radis

Une étude sur la perte de biomasse, sur les dommages physiques et une observation du comportement d'*Aporrectodea caliginosa* a été réalisée en parallèle. Concernant les radis, le taux de germination a été évalué.

### 7.2.2.4. Résultats

#### 7.2.2.4.1. Cinétiques de sorption

Les résultats montrent une phase d'adsorption rapide et instantanée au cours de laquelle environ 95% des pesticides\* (CLD\* dans la Figure 33) sont adsorbés au bout de 15 min par le sol et le sol + 2% biochar. S'ensuit une phase lente qu'on peut désigner comme un plateau infini.

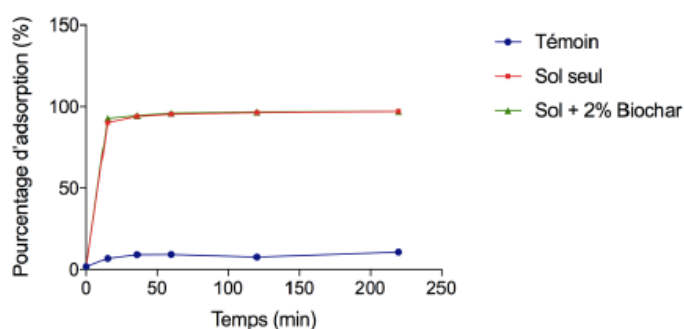


Figure 33: Cinétique d'adsorption de la CLD\*

Pour ce qui est de la désorption du CLD\* (concentration initiale = 2 mg/kg de sol), on observe que celle-ci s'effectue extrêmement lentement (Figure 34). Au bout d'une heure environ 0.2% de CLD se sont désorbés et 0,19% au bout de 36h. Cette désorption est extrêmement faible et de ce fait, est considérée comme négligeable.

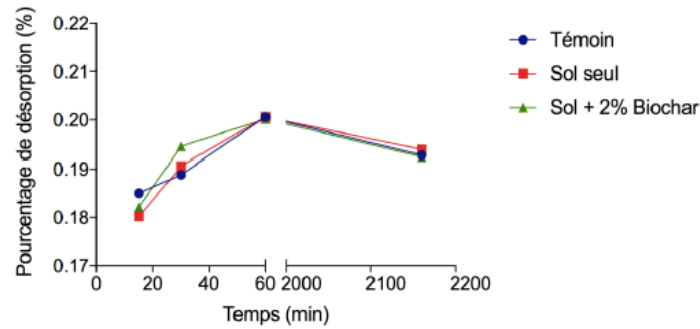


Figure 34: Cinétique de désorption de la CLD\*

#### 7.2.2.4.2. Bilan de la répartition

##### 7.2.2.4.2.1. Minéralisation des polluants

La MO du sol subit des transformations notamment la minéralisation, c'est-à-dire sa transformation en eau et sels minéraux (nitrates, phosphates, soufre réduit) et CO<sub>2</sub>. Dans cette étude, si les polluants radiomarqués sont minéralisés, le <sup>14</sup>CO<sub>2</sub> libéré dans les bocaux, sera piégé dans la fiole de soude présente dans le dispositif expérimental (Figure 32, paragraphe 7.2.1.1.4) Nous n'avons pas décelé de radioactivité dans les fioles de soude lors de ces expériences. Il n'y a donc pas de minéralisation des polluants au cours du temps.

##### 7.2.2.4.3. Fraction extractible

D'une manière générale, on constate que la fraction extractible de CLD\* représente environ 10% de la radioactivité déposée (Figure 35).

Pour les séries ayant reçu de la CLD\*, on constate que la présence de vers de terre et/ou de radis diminue significativement la quantité de CLD extraite laissant supposer un transfert de CLD\* vers ces organismes. Cette réduction est d'autant plus forte que la série a reçu vers de terre ET radis (séries 4 et 5).

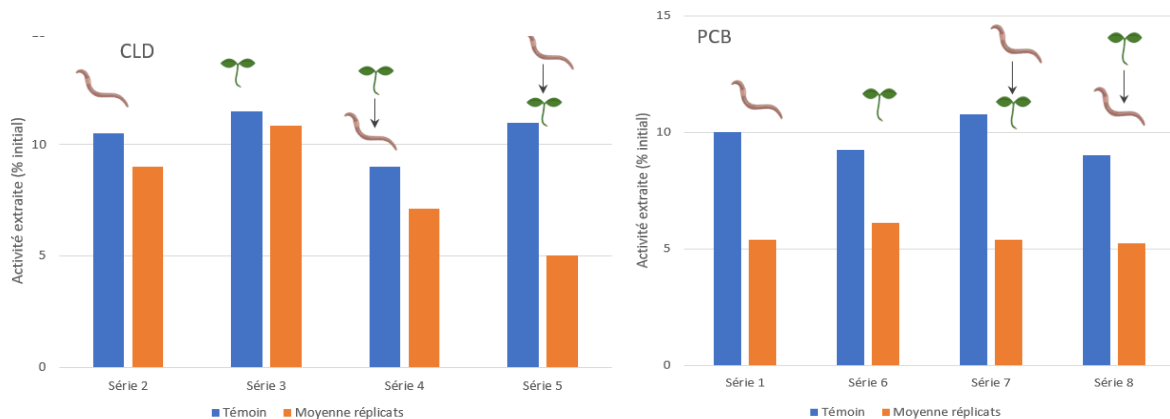


Figure 35 : Activité extraite (% initial) de CLD\* et de PCB\*.

Pour les séries ayant reçu du PCB153\*, on constate le même phénomène que pour la CLD\*, à savoir une réduction du % de PCB\* extrait en présence de vers et/ou radis. Là encore un transfert d'une partie du PCB\* extractible serait envisagée.

Par ailleurs, le % de biochar des séries 6, 7 et 8 est décroissant (2%, 1% et 0,5% respectivement). On n'observe pas de différence significative dans la fraction extractible de PCB. Le piégeage du PCB\* n'est pas influencé par la gamme de concentration de biochar testée.

##### 7.2.2.4.4. Fraction non extractible

Le comptage de la radioactivité dans les divers compartiments n'a pu être, à cette heure, réalisée que pour la minéralisation (soude) et les résidus extractibles (sols extractibles). Elle reste à réaliser, dès réparation de l'Oxidizer, sur les composés non

extractibles (radis, vers et sols non extractibles) afin de pouvoir faire le bilan de la répartition et observer un éventuel transfert des polluants marqués vers les radis et les vers de terre.

#### 7.2.2.4.5. Survie et effets morphologiques sur les vers de terre

On constate une grande variabilité du taux de survie des vers (Tableau 11). L'exposition aux PCB 153\* associé à 2% de biochar de chêne (série 1) entraîne une forte mortalité des vers (67% des individus morts). Pour les séries 7 et 8, le taux de survie est bien plus élevé 83% et 100% respectivement. Cette variabilité se reflète également dans l'état physique des vers (Figure 36). On observe donc un effet négatif du pourcentage de matrice carbonée sur la physiologie des vers de terre.

	PCB*		
	Série 1 (2% biochar)	Série 7 (1% biochar)	Série 8 (0.5% biochar)
Taux de survie (%)	33	83	100

Tableau 11: Taux de survie suivant les taux d'amendement en biochar

Certains vers ont subi de graves dommages qui se traduisent par une perte de couleur des tissus épidermiques et un resserrement du corps formant plusieurs segments (Figure 36. C, D, E). À un taux de 2 % de biochar de chêne, la CLD\* est autant nocive que le PCB 153\*. Mais à des taux plus faibles, le biochar aurait un effet bénéfique rendant le PCB 153\* moins nocif.



Figure 36 : Photographies d'individus *Aporrectodea caliginosa* exposés au biochar de chêne et aux polluants marqués : A, C) CLD\* et B, D et E) PCB 153\*. Les vers A et B n'ont subi aucun dommage (témoins de comparaison).

Ces dommages physiques s'accompagnent également d'une perte de biomasse. En moyenne, après exposition à la CLD\*, il y a une perte de 25,8, 36 et 36,7 % pour le poids total des 3 vers des séries 2, 4 et 5 respectivement. Après une exposition au PCB 153\*, il y a une perte en moyenne de 22, 33,8 et 13 % pour le poids total des 3 vers des séries 1, 7 et 8 respectivement. On constate une perte beaucoup plus faible pour la série 8. En conclusion, la CLD\* engendre plus de perte de biomasse chez *A. caliginosa* que le PCB 153\*. De plus, un taux faible en biochar empêche une perte trop importante de la biomasse.

<b>CLD*</b>	<b>Série 2</b> (2% biochar)	<b>Série 4</b> (2% biochar)	<b>Série 5</b> (2% biochar)
Perte de poids	25.8%	36%	36.7%
<b>PCB 153*</b>	<b>Série 1</b> (2% biochar)	<b>Série 7</b> (1% biochar)	<b>Série 8</b> (0.5% biochar)
Perte de poids	22%	33.8%	13%

Tableau 12 : Perte de poids observée suivant les séries

#### 7.2.2.4.6. Croissance de *Raphanus sativus*

Exposées à la CLD\*, les graines de *Raphanus sativus* ont eu plus de difficulté à croître par rapport aux graines exposées au PCB 153\* (Tableau 13). Pour rappel, il y a différents taux d'amendement en biochar pour les séries PCB 153\* : 2, 1 et 0.5% pour les séries 6, 7 et 8 respectivement.

	CLD*			PCB 153*		
	Série 3	Série 4	Série 5	Série 6	Série 7	Série 8
$\bar{x}$	5	4	7	8	8	9

Tableau 13: Nombre moyen ( $\bar{x}$ ) de graines de *Raphanus sativus* développées au bout de 3 semaines de culture (10 graines par pot).

Premièrement, nous constatons que le PCB 153\* est moins nocif que la CLD\* avec un amendement à 2%, bien que la concentration en PCB 153\* soit supérieure à celle de la CLD\* (2.6 contre 2 mg/kg de sol).

Deuxièmement, un faible taux de biochar de chêne a tendance à être en faveur d'une meilleure croissance des radis.

#### 7.2.2.5. Discussion

Dans ce travail, nous avons étudié l'effet de matrices carbonées sur le piégeage et/ou la toxicité de polluants organochlorés CLD, PCB et PCDD/F dans des sols artificiels afin de répondre à la problématique visant à diminuer la (bio)disponibilité des POP du sol, par conséquent leurs effets néfastes, en les séquestrant par adjonction de MO exogène.

Les cinétiques de sorption montrent l'adsorption immédiate et quasi totale des pesticides non seulement par le biochar de chêne seul mais aussi par le sol seul ou par le sol additionné de biochar de chêne.

Les expériences de piégeage des polluants marqués au  $^{14}\text{C}$  dans les sols et de transfert vers les vers de terre et des radis ont été menées. La répartition des molécules marquées au  $^{14}\text{C}$  doit se faire comme proposé ci-dessous :

Radioactivité totale déposée	Minéralisation	Transfert vers radis	Transfert vers vers de terre	Résidus extractibles des sols	Résidus non extractibles des sols
100%	0%	a	b	~ 10%	c

Tableau 14: Répartition des molécules marquées au  $^{14}\text{C}$

Le comptage de la radioactivité dans les divers compartiments n'a pu être réalisé que pour la minéralisation et les résidus extractibles (sols : extractibles). Pour obtenir un bilan complet de la répartition des polluants marqués, il manque l'analyse des résidus non extractibles du sol et l'éventuel transfert vers les radis et les vers de terre.

L'absence de minéralisation de ces polluants conforte leur caractère persistant dans les sols.

Concernant la fraction extractible qui représente environ 10% de la radioactivité déposée, nous avons observé pour les traitements à la CLD ou au PCB153 que la présence de vers de terre et/ou de radis diminue significativement la quantité de pesticide extraite laissant supposer un transfert de ces composés vers ces organismes. Cette réduction est d'autant plus forte que la série a reçu vers de terre ET radis.

Nous avons également observé lors de ces expériences le développement des radis et des vers de terre.

Pour chaque série, les radis *R. sativus* ont su germer, se développer et prendre racine. Lorsque les radis sont en présence de PCB153, les radis se sont mieux développés. La CLD\* serait donc plus nocive au développement des radis que le PCB 153\*.

On n'observe pas de lien flagrant entre le taux d'amendement et la croissance des radis.

Or nous avons émis l'hypothèse que le biochar serait favorable à la croissance des radis en diminuant la biodisponibilité des polluants du milieu. Cette hypothèse avait été également émise d'après les résultats de plusieurs études montrant l'effet

bénéfique de biochar sur le développement de diverses plantes. Kuppusamy et al. (2016) ont recensé dans leur revue une augmentation de rendement entre 15 et 200% pour différentes plantes agricoles (maïs, soja, pois, haricot) suite à un amendement en biochar. L'amendement de biochar de bois a eu un effet bénéfique sur les nutriments foliaires, le poids des feuilles et la longueur des racines des radis *R. sativus* sur 2 ans (temps d'exposition en champs) (Adekiya et al., 2019). Ce que l'on retient de ces études, c'est que l'effet du biochar peut prendre plusieurs années avant d'observer un effet positif sur la productivité végétale. Mais la diversité des résultats est liée à la diversité des biochars utilisés. Chaque biochar a un impact différent sur les végétaux exposés selon sa nature et son taux d'application.

Concernant la morphologie, la physiologie et la mortalité des vers de terre, des effets indésirables graves ont été observés. Ils se traduisent par le blanchiment et une segmentation du corps ainsi qu'un affinement le long de l'organisme. La mortalité est variable et dans le cas de PCB153 montre un lien entre la dose de biochar et la survie des vers de terre: plus il y a de biochar plus la survie est faible. Ce taux de mortalité peut être relié soit à l'ingestion de biochar seul, soit à l'ingestion de biochar qui aurait fixé PCB153.

Dans l'étude décrite en 7.3.1, aucun dommage physique n'a été observé sur les vers *A. caliginosa* exposés ou non à un polluant (CLD ou PCB) non marqué dans un sol OCDE amendé ou non en matrice carbonée. Le fait d'avoir utilisé une concentration en PCB153 radiomarqué 200X supérieure à la concentration environnementale peut expliquer les effets délétères observés.

Des études ont montré que ces effets indésirables sont également observés sur des vers non exposés à des polluants, uniquement à des biochars. Par exemple, les espèces *E. fetida* et *L. terrestris* ont subi des dommages physiques au taux le plus élevé de biochar d'écorce de riz (15 et 20 % m : m) (Elliston et al., 2019). Une étude a également observé des dommages physiques aux vers de terre d'*Eisenia andrei* exposés à des concentrations élevées de biochars générés à partir de sarments de vignes et de matières premières de bois dur. Les dommages physiques peuvent avoir été causés par une abrasion interne ou externe causée par des particules de biochar. En effet, les vers de terre se nourrissent de sol et donc peuvent ingérer des particules riches en matière organique (Zareitalabad et al., 2013; Curry et Schmidt, 2007; Pilar Ruiz et al., 2006). Or il a été montré que les biochars pouvaient contenir des métaux, des métalloïdes et des hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP), éléments potentiellement toxiques (De la Rosa et al., 2019; Lyu, 2016; Freddo et al., 2012; Kreitinger et al., 2007). Des analyses d'échantillons des différentes modalités de sols testées sont en cours d'analyse par le Laboratoire d'Analyse des Sols (LAS INRAE) permettant de savoir si d'autres éléments toxiques sont présents.

Des recherches supplémentaires sont nécessaires pour identifier la cause de ces dommages (le biochar, le polluant, l'association des deux) et déterminer les processus et les mécanismes responsables des dommages physiques observés.

L'extrême variété de MO testées montre une divergence des résultats. Des études ont montré que le biochar de paille de blé ou de cosse de riz n'a engendré aucune mortalité chez *Eisenia fetida* et *Lumbricus terrestris* (Elliston et Oliver, 2019). De même pour le biochar de copeaux de pin sur *E. fetida* (Liesch et al., 2010). Denyes et al. (2012) a utilisé une gamme de biochar de déchet de bois (palettes et construction usagés) allant de 0.2 à 11.1 % (w/w), définissant ainsi le meilleur taux ayant des effets positifs sur *E. fetida* exposé au PCB (136  $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$  de sol). Ce dernier est de 2% et au-delà de 2%, le poids des vers et le taux de survie diminuent. D'où l'importance d'établir une gamme afin d'obtenir des résultats extrapolables.

Afin d'obtenir la répartition exacte des résidus extractibles et non extractibles des polluants, la combustion via l'Oxidizer suivie d'un comptage direct à scintillation doit être effectuée. Ainsi, nous pourrions fournir une meilleure interprétation de la séquestration des polluants par le biochar de chêne et les répercussions sur *A. caliginosa* et *R. sativus*. Pour aller plus loin, il faudra tester les autres matrices carbonées (charbon actif, biochar de chêne 700°C, biochar de Renouée du Japon 700°C) avec différents taux d'amendement.

## 7.2.3. Transfert vers la courgette

### 7.2.3.1. Introduction

Pendant très longtemps, l'absorption et l'accumulation de composés organiques très hydrophobes dans les plantes a été négligée jusqu'à ce que plusieurs publications mentionnent la capacité de différentes espèces (principalement de la famille des Cucurbitacées) à absorber des molécules hydrophobes comme les PCB (Zeeb et al. 2006 ; Inui et al., 2008) et les dioxines (Hülster et al., 1994) et la chlordécone (Clostre et al., 2014). Les cucurbitacées incluant les concombres, les courgettes et les potirons sont capables d'accumuler dans leurs tissus de fortes quantités de polluants organiques persistants (POP) qui sont de nature hydrophobe (Inui et al., 2008; White 2009). Ces plantes lorsqu'elles sont cultivées sur des sols contaminés peuvent parfois accumuler des quantités de polluants supérieures à la LMR (limite maximale de résidus), ce qui constitue un enjeu sanitaire important notamment si l'on considère que sur certains territoires, ces espèces cultivées sont des cultures vivrières directement consommées par les population. Ainsi, le genre *Cucurbita* est composé d'une vingtaine d'espèces dont l'espèce *C. pepo* déclinée en plusieurs sous espèces dont *C. pepo pepo* qui regroupe différentes variétés de courgette et autres potirons. Contrairement aux courgettes et potirons, le concombre appartient au genre *Cucumis*. Au cours de leur croissance, les végétaux ont la capacité d'extraire des éléments minéraux et organiques dans les sols et de les accumuler dans leurs tissus. Concernant les polluants organiques, la capacité d'interception et d'absorption dépend en premier lieu de leur disponibilité dans la solution du sol mais aussi des caractéristiques racinaires des espèces susceptibles d'influencer ce critère de biodisponibilité. Les prélèvements racinaires interviennent le plus souvent en phase aqueuse, les éléments étant mis à disposition de la surface racinaire par le flux de masse (mass flow), par diffusion ou par interception racinaire. Aussi les caractéristiques physico-chimiques des POP (notamment la solubilité, l'hydrophobicité ainsi que la masse molaire) sont essentielles à prendre en compte dans la capacité des racines à les absorber (pour revue Zhang et al., 2017). Les molécules de faible poids moléculaire (inférieure à 1000) sont facilement absorbées. Du fait de leur caractère hydrophobe, les POP présentent souvent une faible disponibilité dans la solution du sol du fait d'une forte adsorption sur les composés organiques ou minéraux (i.e. argiles) des sols. La concentration dans la solution du sol est décrite par le  $K_d$  qui est le coefficient de partage entre la solution du sol et le sol, dépendant notamment de la teneur en carbone organique du sol. Dans le cas de la chlordécone, la disponibilité est différente selon le type de sol considéré, avec des plus faibles disponibilités dans les andosols, riches en carbone organique et présentant des argiles de type allophanes susceptible de piéger la chlordécone (Woignier et al., 2012 ; Clostre et al., 2014).

Les conditions au niveau de l'interface sol-racine (i.e. rhizosphère) peuvent modifier la biodisponibilité des POP via l'exsudation d'acides organiques comme chez *C. pepo* (White et al., 2003 Env Pollution). Ceci pourrait expliquer que les variétés de cette espèce sont plus efficaces en regard de l'interception racinaire de PCB par exemple. Néanmoins si l'exsudation racinaire peut réduire l'adsorption des polluants sur la matrice sol et favoriser l'interception racinaire, l'accumulation des POP dans la racine dépend aussi des caractéristiques racinaires, notamment de la composition en lipides. L'interception racinaire correspond à l'adsorption des POP en surface de l'épiderme de la racine (Wild et al., 2005), conditionnée notamment par la composition en lipides membranaires et pariétaux (Paterson et al., 1991). Wild et Jones (1992) mentionnent que les POP présentant des  $K_{ow}$  supérieur à 4 sont fortement retenus par les racines et plus facilement absorbés par les plantes. La bibliographie fait ainsi état de corrélation positive entre le  $K_{ow}$  et les concentrations en POP dans les racines. La diffusion à l'intérieur des tissus racinaires essentiellement dans l'espace libre de diffusion (apoplasme). La majorité des études mettent en évidence des phénomènes de diffusion passive sauf dans le cas de certains composés organiques de type hormonaux comme les herbicides auxiniques pour lesquels, les processus sont actifs (Collins et al., 2006) et donc fortement conditionnés par le contenu en lipides et le métabolisme des plantes (Paterson et al., 1990). Les caractéristiques des lipides racinaires favorisant l'interception racinaire ne sont pas encore bien décrites dans la littérature mais les différences de composition entre les espèces pourraient expliquer les différences d'absorption. Une fois que les polluants ont été absorbés au niveau racinaire, ils peuvent migrer vers les parties aériennes par migration via les vaisseaux conducteurs (translocation xylémique) pour s'accumuler dans différents tissus végétatifs (tiges et feuilles) et dans les fruits. Pour que les POP absorbés par les racines des plantes atteignent le xylème, ils doivent pénétrer dans un certain nombre de tissus végétaux : l'épiderme, le cortex, l'endoderme et le péricycle. Au niveau de l'endoderme, le produit chimique doit traverser au moins une membrane cellulaire pour rejoindre le xylème (McFarlane 1995). La concentration en POP dans le xylème dépendra notamment du  $\log K_{ow}$  des molécules organiques, avec une concentration maximale pour des valeurs comprises entre 2 et 4 selon les modèles (pour revue, Collins et al., 2006). Comme les POP présentent des caractéristiques d'hydrophobicité très marquée ( $\log K_{ow}$  supérieur à 4), chez la majorité des espèces végétales, ces composés sont absorbés et accumulés dans les racines sans transfert vers les parties aériennes végétatives et les fruits. La chlordécone s'accumule ainsi majoritairement dans les racines des cucurbitacées (Clostre et al., 2014) et l'accumulation dans les parties aériennes est d'autant plus faible à mesure que la distance des racines augmente et ce quel que soit la nature du polluant considéré, PCB ou DDT (Whitfield Aslund et al., 2007, 2010). Certaines variétés de Cucurbitacées sont capables d'accumuler de grandes quantités de POP dans les parties aériennes. Inui et al. (2008) mettent ainsi en évidence des facteurs de bioconcentration pour certains PCB (169, 170 et 186), 400 fois supérieur chez les variétés Gold Rush et Black Beauty en comparaison de la variété Patty Green. Ces auteurs ont également indiqué l'influence de la position des atomes de chlore des PCB sur le facteur de bioconcentration. De manière générale, les valeurs de phytoextraction sont supérieures pour les PCB que pour les PCDD

et PCDF, suggérant un mécanisme unique de bioconcentration des PCB dans les tissus des cucurbitacées hyperaccumulatrices. Cette capacité accrue chez certaines variétés pourrait être liée à la présence de protéines de type MLP (major latex-like proteins) synthétisées dans les cellules racinaires en réponse à différents facteurs de l'environnement (Inui et al., 2020) et accumulées dans la sève xylémique (Inui et al., 2013). Ces protéines se lient aux PCB pour les solubiliser et les déplacer ensuite sous forme de complexes MLP-PCB dans les vaisseaux du xylème pour être transloquées vers les parties aériennes via la sève xylémique (Goto et al., 2019).

Dans le cas où les sols ne serait pas assez efficient pour assurer la rétention des polluants, le recours à des MO exogènes (MOE) hautement carbonées type composts, biochars ou charbons actifs peuvent être envisagés pour renforcer la rétention des POP (Ahmad et al., 2014 ; Woignier et al., 2016 ; Ni et al., 2017). Dans le cas des biochars, l'efficacité de rétention dépend des caractéristiques intrinsèques du biochar (teneur en C dissous, microporosité, surface spécifique, groupements fonctionnels de surface), la nature du polluant et de l'état de stabilisation des matières organiques du sol (Ahmad et al., 2014). De nombreuses études ont montré le potentiel des charbons actifs et biochars à séquestrer et réduire le transfert des pesticides, PCB et autres polluants organiques chez les cucurbitacées (Mandl et Lindner, 1999 ; Hilber et al., 2009 ; Langlois et al., 2011, Denyes et al., 2012, Denyes et al., 2013).

### 7.2.3.2. Dispositif expérimental

La courgette (*C. pepo pepo Zucchini*) a été pris comme modèle pour étudier les effets des matrices carbonées sur le transfert des polluants vers les parties aériennes. Les courgettes ont été cultivées en conditions contrôlées (serres, Lycée horticole de Roville aux Chênes, Vosges) afin de maîtriser les conditions de croissance (Figure 37). Les courgettes, variété Diamant ont été semées dans des godets de terreau puis repiquées au stade 1 feuille dans les pots contenant les différentes modalités de sol (entre 400 et 500g de sol par pot). Dans la première expérimentation, les courgettes ont été cultivées sur des sols artificiels contaminés et amendés avec des biochars ou des charbons actifs. La seconde expérimentation a concerné les transferts de polluants présents dans 3 sols naturellement contaminés et amendés ou non avec un charbon actif vers les parties aériennes des courgettes. Les modalités testées sont reportées dans le Tableau 15. Chaque modalité a été déclinée selon 5 répétitions (5 pots avec un pied de courgette chacun) Figure 37).

Sol	Code modalités	Contaminant	Matrice carbonée
Artificiel	CLD_BC1	Chlordécone	Biochar chêne 500°C
	CLD_BC2	Chlordécone	Biochar chêne 700°C
	CLD_BC3	Chlordécone	Biochar renouvelée 700°C
	CLD_CA1	Chlordécone	Charbon actif 865.3
	CLD_CA2	Chlordécone	Charbon actif 5963.2
	CLD_CA3	Chlordécone	Charbon actif 5966.2
	CLD_SSC	Chlordécone	∅
	PX_BC1	Mélange PCB-Dioxine	Biochar chêne 500°C
	PX_BC2	Mélange PCB-Dioxine	Biochar chêne 700°C
	PX_BC3	Mélange PCB-Dioxine	Biochar renouvelée 700°C
	PX_CA1	Mélange PCB-Dioxine	Charbon actif 865.3
	PX_CA2	Mélange PCB-Dioxine	Charbon actif 5963.2
	PX_CA3	Mélange PCB-Dioxine	Charbon actif 5966.2
	PX_SSC	Mélange PCB-Dioxine	∅
Naturel	Nitosol_CLD_CA	Chlordécone	Charbon actif
	Nitosol_CLD	Chlordécone	∅
	Andosol_CLD_CA	Chlordécone	Charbon actif
	Andosol_CLD	Chlordécone	∅
	St Cyprien_PX_CA	PCB-Dioxine	Charbon actif
	St Cyprien_PX	PCB-Dioxine	∅

Tableau 15: Modalités testées

Les courgettes ont été cultivées pendant 12 semaines. La quantité de sol s'est avérée trop limitante pour permettre la production de fruits, qui n'ont pu suivre une croissance optimale. Aussi l'ensemble des parties aériennes a été récolté, pesé

et congelé à -20°C avant envoi au LDA et au LAS pour analyser les différents contaminants respectivement, la chlordécone, les PCB et PCDD/F.

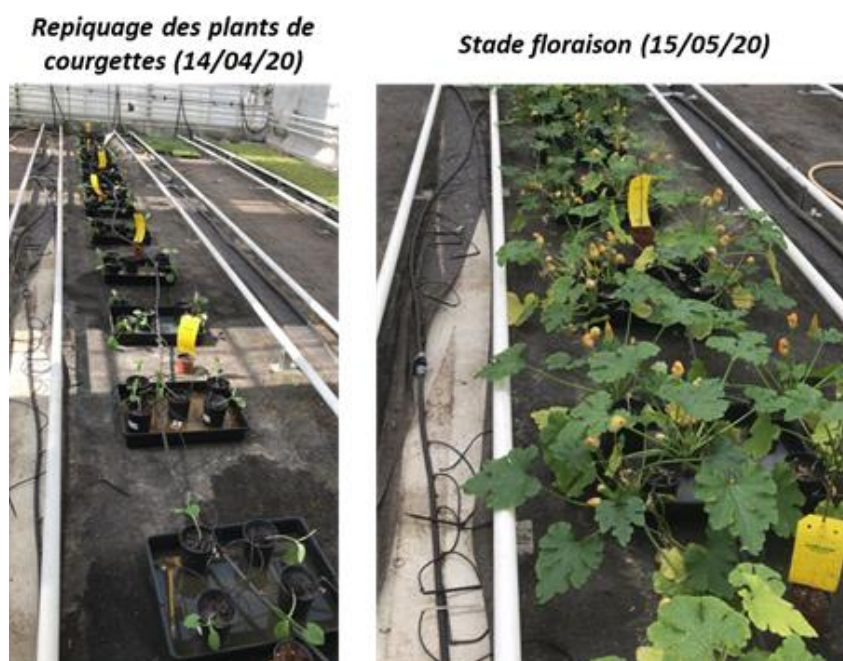


Figure 37: Dispositif expérimental et suivi de croissance des plants de courgettes

#### 7.2.3.3. Extraction des végétaux et analyse des végétaux

Les végétaux ont été pesés à l'état frais après décongélation et mis à sécher à l'étuve à 35°C pendant 72 heures. Les échantillons de végétaux séchés ont été pesés afin de déterminer la matière sèche (à 35°C) ou la teneur en eau après séchage à 35°C.

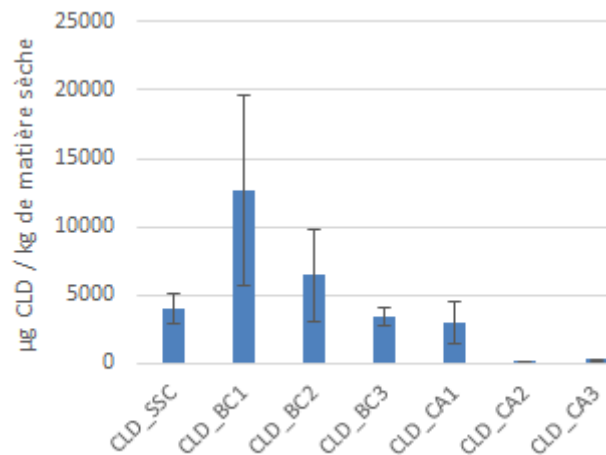
La totalité des échantillons de végétaux séchés a été pesée et extraite à l'aide de l'extracteur PLE. Les masses de végétaux allaient de 2 à 4 g environ.

Le mode opératoire pour l'analyse des PCB-NDL, PCB-DL et PCDD/F est identique à celui de l'analyse des culots de sol correspondant à la fraction non biodisponible. Ainsi, le paragraphe § 7 a été appliqué de manière identique pour les végétaux. L'analyse a été réalisée selon la description en partie 7.2.1.5 avec les limites de quantification présentées en 7.2.1.6.

#### 7.2.3.4. Résultats

Les résultats mettent en évidence des effets différents de l'apport des matrices carbonées sur le transfert des contaminants vers les parties aériennes de la courgette selon le type de matrices considérées et le type de contaminant. Les résultats obtenus sur le BC1 sont aberrants. Les BC2, BC3 et CA1 ne réduisent pas significativement le transfert de la CLD vers les parties aériennes (Figure 38). Seuls les CA2 et CA3 permettent une réduction très significative (de l'ordre de 94 à 99%).



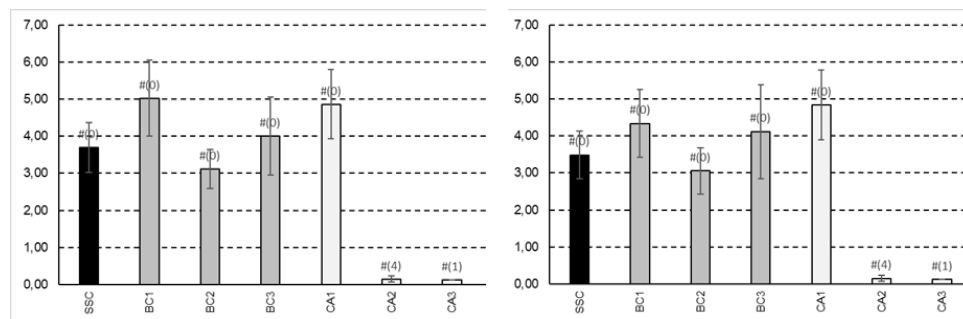


**Figure 38: Concentrations en chlordécone dans les parties aériennes ds courgettes en fin de cycle de développement.**

Comme pour la CLD, en ce qui concerne les PCB 138, 153 et 180, seuls les CA2 et CA3 sont efficaces. Ils réduisent le transfert de plus de 90%. Pour les PCB 28 52 et 101, il est impossible de conclure quant à l'efficacité des différentes matrices du fait des concentrations systématiquement inférieures à la LQ dans le végétal cf 7.2.1.6.

### 7.2.3.5. Conclusion

En conclusion, le modèle végétal utilisé dans l'étude accumule des quantités significatives de chlordécone et de PCB dans les parties aériennes. Pour la chlordécone en sols artificiels, les concentrations mesurées dans les parties aériennes sont en moyenne de 4 mg/kg de matière sèche pour une concentration initiale dans le sol de 1 mg/kg ce qui correspond à un facteur de bioconcentration de 4. Cette valeur est du même ordre de grandeur de celle déterminée par Clostre et al. (2014) sur les tiges de courgettes cultivées en serre sur des sols contaminés avec de la chlordécone. La moindre efficacité du CA1 pourrait être liée à sa forme granulée limitant les surfaces d'échange contrairement aux CA2 et CA3 qui sont sous forme de poudre. Les biochars ne montrent pas d'efficacité significative sur la réduction du transfert vers les parties aériennes et ce quelle que soit leur origine et la température de pyrolyse.



**Figure 39: Concentrations (µg/kg de matière sèche) en PCB 138 (à gauche) et 153 (à droite) dans les parties aériennes des courgettes en fin de cycle de développement**

### 7.2.4. Transfert vers la poule pondeuse

La présente partie va faire l'objet d'une publication dans un journal en sciences environnementales qui sera soumise au cours du mois d'avril 2021.

Les Polychlorobiphényles (PCB), les Dioxines, les Furanes (PCDD/F) et la Chlordécone (CLD) sont reconnus pour persister pendant des décennies à des siècles dans le sol en raison de leur rétention par la matière organique du sol (Persson Ahmad et al., 2006). Les PCB et PCDD/F sont présents de manière ubiquitaire dans les sols en France (GISSOL, 2020 s. d.) et plus de 25% de la surface agricole des Antilles françaises est contaminée par le CLD (Le Déaut et Procaccia, 2009). Le sol apparaissant comme un réservoir principal de POP, il est également une source avérée de contamination des animaux d'élevage (Collas et al., 2019 ; Jurjanz et al., 2017) en raison notamment de l'ingestion involontaire de particules de sol (Collas et al., 2019 ; Jurjanz et al., 2017) et d'une biodisponibilité élevée avérée de ces polluants du sol (Delannoy et al., 2014 ; Jondreville et al., 2013). Dans ce cadre, les poules pondeuses sont une espèce particulièrement exposée car elles peuvent ingérer jusqu'à 30 g de sol dans des conditions d'élevage non optimales (Jondreville et al., 2010 ; Waegeneers et al., 2009). Une telle contamination conduit à des concentrations élevées en PCB (Jondreville et al., 2014), PCDD/F (Stephens et al., 1995) et CLD (Jurjanz et al., 2020) dans le jaune d'œuf, le tissu adipeux et le foie. Cette concentration dans la fraction grasse des œufs (jaune) a également

été évaluée par des études sur les taux de transfert (Carry Over Rates) qui ont rapporté des niveaux supérieurs à 35% pour de nombreux PCB, Dioxines et Furanés (Amutova et al., 2021). En outre, il a été prouvé que les œufs provenant de régions contaminées et de poules pondeuses élevées en plein air étaient contaminés à des niveaux supérieurs aux limites maximales de résidus fixées par la réglementation européenne pour les PCB, les dioxines et les furanes ainsi que pour la CLD (C. Jondreville et al., 2010 ; Schoeters et Hoogenboom, 2006).

Ceci souligne l'urgence de réduire l'exposition des poules pondeuses pour préserver la production avicole sur ces zones contaminées, que ce soit à des fins commerciales ou d'autoconsommation. Dans ce cadre, les matériaux carbonés tels que les charbons actifs et les biochars réussissent à piéger une variété de ces polluants organiques dans le sol (Chai et al., 2012 ; Denyes et al., 2013) et les sédiments (Gosh et al., 2011). Dans une étude pilote impliquant des essais *in vitro*, l'amendement des CA sur des sols contaminés réduit jusqu'à 90 % la disponibilité de la CLD (Ranguin et al., 2020). Les charbons actifs et les biochars ont également montré leur capacité à réduire le transfert des pesticides organochlorés du sol vers les cucurbitacées (Denyés et al., 2012 ; Hilber et al., 2009 ; Lunney et al., 2010 ; Saito et al., 2011). En effet, l'adsorption des POP sur les charbons actifs diminue leur biodisponibilité pour les animaux d'élevage : réduction jusqu'à 95% des CLD (Delannoy et al., 2020. Delannoy et al., 2018 ; Yehya et al., 2017), jusqu'à 96% des PCB-NDL (Delannoy et al., 2014) et jusqu'à 90% des PCB-DL, PCDD/PCDF (Fujita et al., 2012).

L'objectif de cette étude était d'évaluer la capacité de réduction de matrices d'origines et de procédés différents (CA, Biochars) pour limiter la biodisponibilité des contaminants organiques organochlorés vers les poules pondeuses lorsqu'elles sont ajoutées à sol artificiel OCDE sous forme d'amendement.

#### 7.2.4.1. Matériel et Méthodes

##### 7.2.4.1.1. Production, caractérisation de matériaux condensés, fabrication des sols artificiels

L'ensemble des 6 matériaux (décrit dans la partie 5.3) caractérisés décrit dans la partie 6.1.2 ont été utilisés au cours de l'expérimentation. Les sols artificiels ont été produits, amendés et maturés (décrit dans la partie 7.1.3) avant utilisation dans la présente expérimentation.

##### 7.2.4.1.2. Expérimentation animale

Le plan d'expérience a été approuvé par le Comité d'éthique de Lorraine (HC-2019-001). Cette étude a été réalisée dans le strict respect des recommandations du Guide d'entretien et d'utilisation des animaux de laboratoire du ministère français de l'agriculture et de la directive du Conseil européen (directive européenne 2010/63/UE) et a été réalisée dans l'animalerie de la plateforme Bio-DA (Université de Lorraine, Vandœuvre-les-Nancy France). Quarante-huit poules pondeuses âgées de 12 semaines (n=3 par sol artificiel) provenant du Couvoir de la Solitude (Bréchaumont, France) ont participé à cette expérience. Une période d'acclimatation de 10 jours a été appliquée avant le début de la période d'exposition de 20 jours (Jour 1 à Jour 20). Pendant la période d'exposition, les animaux ont été nourris quotidiennement avec 80g de granulés contaminés contenant 10% de terre avant la distribution d'une ration complémentaire non contaminée. Les poules pondeuses ont été maintenues dans des compartiments individuels pendant la période d'ingestion quotidienne de 3h de granulés contaminés afin d'assurer l'exactitude de la dose d'exposition. La température a été maintenue à 22-24°C tout au long de cette partie expérimentale. Tous les animaux ont été pesés individuellement une fois par semaine et la production d'œufs a été étroitement surveillée.

##### 7.2.4.1.3. Echantillonnage

Du 18ème au 20ème jour d'exposition, les œufs ont été collectés et les jaunes ont été poolés par individu. Après la période d'exposition de 20 jours, les poules pondeuses ont été anesthésiées par éthernarcose suivie d'une exsanguination immédiate. Le foie entier des poules a également été prélevé. Tous ces échantillons ont été stockés à -20 °C.

##### 7.2.4.1.4. Quantification des contaminants

La quantification des PCB, PCDD/F a été réalisée sur un extrait purifié des matrices biologiques en utilisant l'Extraction Accélérée par Solvant (ASE) et des colonnes de silice acidifiée, suivie d'une Chromatographie en Phase Gazeuse - Spectrométrie de Masse à Haute Résolution (GPC-HRMS) par le Laboratoire Départemental d'Analyse de la Vendée (Laboratoire de l'Environnement et de l'Alimentation de la Vendée, La Roche sur Yon, France). Les méthodologies utilisées sont entièrement décrites dans le document LABERCA/DGAL/DPCB-tma.2 et approuvées par les services français (numéro d'accréditation : 1-1064) comme la méthodologie de référence officielle pour la détermination des teneurs en PCB, Dioxines et Furanés dans les aliments pour animaux en France.

La quantification des CLD a été réalisée sur un extrait purifié des deux matrices biologiques par chromatographie en phase liquide avec spectrométrie de masse en tandem (LC-MS/MS). Pour les matrices biologiques, la méthode validée LSA-INS-016 a été utilisée au Laboratoire départemental d'analyse du Morbihan (LABOCEA, Quimper, France). Le protocole détaillé est disponible (Yehya et al., 2017).

### 7.2.4.1.5. Analyse des données

#### – Qualité

La quantification des polluants dans les tissus animaux a été réalisée au Laboratoire Départemental d'Analyse de la Vendée et à LABOCEA dans le strict respect de la norme ISO 17 025 et accréditée par le COFRAC (Comité Français d'Accréditation). Les valeurs inférieures à la LOQ ont été remplacées par la valeur de la LOQ dans l'ensemble des données. Les tissus correspondant aux groupes témoins ont également été analysés.

#### – Statistiques

Afin d'évaluer l'impact des biochars et des CA sur la biodisponibilité des polluants, un test de Dunnett a été utilisé afin de comparer les réductions de biodisponibilité avec le contrôle SS. Ensuite, la procédure ANOVA et un test post-hoc de Tukey-Kramer de R version 4.0.2 (R Foundation for Statistical Computing, Vienne, Autriche) ont été utilisés. Les différences ont été considérées comme significatives à  $P < 0,05$ .

#### – Calculs des facteurs de biodisponibilité relative

Pour chaque groupe de polluants, les facteurs de biodisponibilité relative ont été calculés comme le rapport de la concentration de chaque polluant dans chaque tissu ou œuf de chaque sol par rapport au témoin : le sol SS. Cette méthode a été adaptée d'une méthode décrite précédemment (Delannoy et al., 2014a, Wittsiepe et al., 2007). Une relation dose-réponse linéaire est une condition préalable à l'utilisation de cette méthode (Littell et al., 1997). Cette linéarité a été prouvée pour la CLD (Bouver et al., 2013) et pour les PCB (Fournier 2012) chez les poules pondeuses. Chaque poule pondeuse a été considérée comme l'unité expérimentale. Les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide de R (version 4.0.2, R Foundation for Statistical Computing) sur les valeurs de Biodisponibilité Relative (BR).

## 7.2.4.2. Résultats

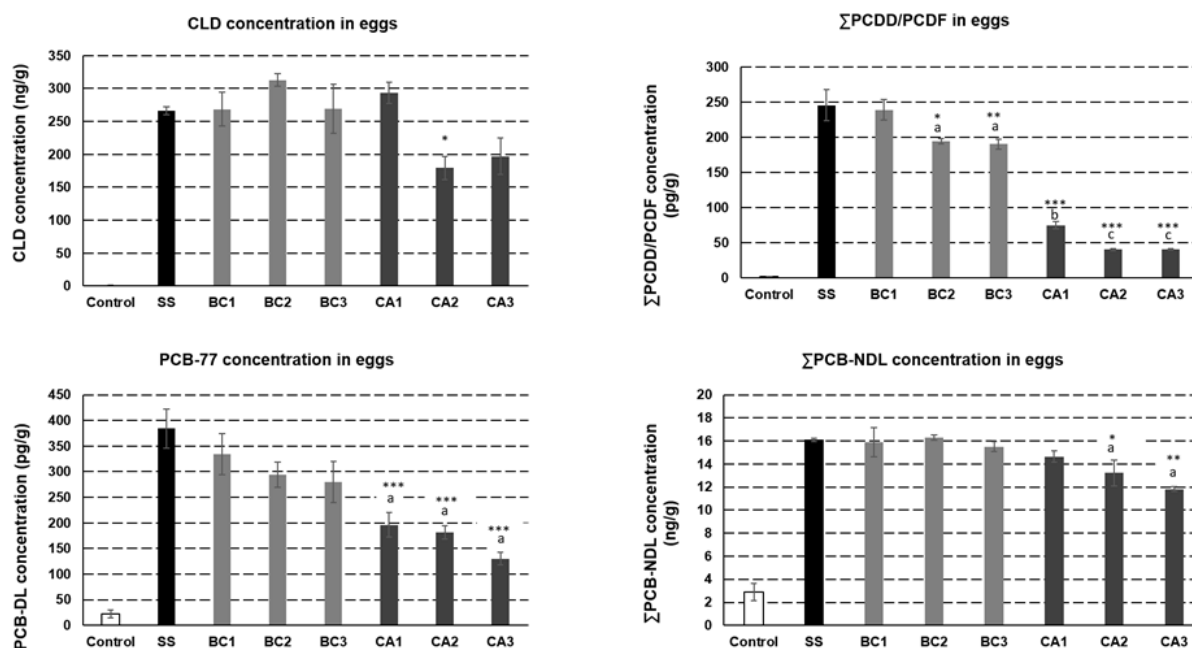
### 7.2.4.2.1. Concentrations

Globalement, les concentrations trouvées dans le foie sont inférieures à celles trouvées dans les œufs pour tous les traitements (de 1,8 à 20 fois plus faibles). Les données dans le foie étant à la fois plus faibles et plus variables, les estimations de la biodisponibilité relative ne seront réalisées que sur les œufs.

Dans les œufs, aucune réduction des concentrations de CLD n'a été observée dans les groupes exposés aux sols amendés avec des biochars et CA1 par rapport au sol témoin (SS) (Figure 40). Une légère diminution de la concentration de CLD a été observée dans le groupe amendé avec CA 3 par rapport au groupe SS (197 ng g<sup>-1</sup> et 226 ng g<sup>-1</sup> respectivement). Des concentrations significativement plus faibles de CLD ont été observées dans les groupes amendés avec CA 2 (Dunnett,  $p < 0,05$ ).

Concernant la somme des PCDD/F dans les œufs, 4 groupes ont été formés en comparaison avec le groupe témoin. Le premier comprend les animaux du groupe chêne 500. Le second comprend les animaux du groupe chêne 700. Le troisième comprend les animaux du groupe de la renouée 700 et le dernier comprend les animaux des groupes CA1, CA2 et CA3. Le premier groupe a montré une légère réduction de la concentration de CLD (239 pg g<sup>-1</sup> contre 245 pg g<sup>-1</sup>). Les deuxième, troisième et dernière séries ont montré des réductions significatives des concentrations de CLD. L'analyse ANOVA pour tous les groupes des ensembles 2, 3 et 4 a révélé une différence significative entre les traitements ( $p < 0,001$ ). Parmi tous ces traitements, CA2 et CA3 ont été les plus efficaces pour réduire les PCDD/F ( $p < 0,001$ , Tukey,).

Concernant le PCB-77, tous les traitements ont présenté des concentrations plus faibles de CLD par rapport au groupe SS (de 130 à 294 pg g<sup>-1</sup> par rapport à 384 pg g<sup>-1</sup>). Les biochars n'ont pas montré de réduction significative. Tous les charbons actifs ont montré une réduction significative de la concentration de CLD en comparaison avec le contrôle SS ( $p < 0,001$ , Dunnett). Aucune différence statistique n'a été montrée entre eux (ANOVA).



**Figure 40: Concentrations de CLD, PCDD/F, PCB 77 et PCB-NDL dans les jaunes d'œufs.**

Les valeurs correspondent à la moyenne  $\pm$  SE (n=3) des concentrations de POP dans les jaunes d'œufs. Les valeurs moyennes des groupes avec des astérisques en exposant sont statistiquement différentes du sol non amendé (SS) (\* : 0,05 > P > 0,01 ; \*\* : 0,01 > P > 0,001 ; \*\*\* : P < 0,001) en utilisant une analyse de variance et un test post-hoc de Dunnett. Les concentrations moyennes des groupes avec une lettre en exposant différente (a, b, c) sont statistiquement différentes (P < 0,05) les unes des autres en utilisant une analyse de variance complémentaire suivie d'un test post-hoc de Tukey sur les groupes significatifs précédemment trouvés.

Concernant les  $\Sigma$ PCB-NDL (PCB138, 153 et 180), aucune réduction des concentrations de CLD n'a été obtenue avec les biochars. Les CA 2 et CA 3 ont montré des réductions significatives des concentrations de CLD par rapport au contrôle SS (p < 0,05 et p < 0,01 respectivement, Dunnett). Cependant, aucune différence statistique n'a été montrée entre eux (ANOVA). Ainsi, les facteurs de biodisponibilité relative ont été calculés uniquement dans les œufs afin d'estimer la fraction biodisponible du polluant après les différents traitements. Globalement, trois niveaux différents de biodisponibilité ont été obtenus. (1) Ceux présentant les plus hauts niveaux de biodisponibilité avec le traitement aux biochars (41%-96% pour toutes les molécules de PCDD/F, 73%-77% pour le PCB77, 53%-93% pour les PCB-NDL). (2) Les groupes exposés aux sols amendés avec CA1 ont montré une biodisponibilité relative plus faible (18%-37% pour toutes les molécules de PCDD/F, 51% pour PCB77, 45%-88% pour PCB-NDL). Enfin, les sols amendés avec CA2 et CA3 ont présenté la plus faible biodisponibilité relative (67%-74% pour la CLD, 10%-27% pour toutes les molécules de PCDD/F, 34%-47% pour le PCB77, 69%-80% pour les PCB-NDL). Dans l'ensemble, il semble que les molécules sont séquestrées par les charbons actifs comme suit :  $\Sigma$ PCDD/F > PCB77 > CLD >  $\Sigma$ PCB-NDL. De même, nous avons constaté que l'effet de réduction des biochars était considérablement plus faible que celui des CA, et que les CA 2 et CA 3 semblaient être les plus efficaces pour réduire les concentrations de polluants.

	BC1	BC2	BC3	CA1	CA2	CA3
CLD	ND	ND	ND	ND	67% [54 ;81]	74% [53 ;96]
<b>2378TCDD</b>	71% [48 ;93]	44% [41 ;48]	41% [30 ;51]	18% [14 ;22]	14% [9 ;18]	11% [7 ;16]
<b>12378PCDD</b>	ND	74% [65 ;83]	68% [55 ;81]	28% [24 ;33]	21% [19 ;22]	17% [15 ;20]
<b>123678HxCDD</b>	ND	79% [76 ;82]	76% [72 ;80]	32% [27 ;36]	17% [17 ;17]	17% [16 ;19]
<b>123478HxCDD</b>	ND	78% [74 ;83]	76% [69 ;82]	31% [27 ;36]	17% [15 ;18]	17% [15 ;19]
<b>1234678HpCDD</b>	ND	81% [74 ;89]	83% [80 ;85]	27% [23 ;31]	12% [11 ;13]	13% [12 ;15]
<b>12346789OCDD</b>	94% [91 ;97]	ND	85% [81 ;90]	25% [21 ;28]	10% [9 ;11]	11% [11 ;12]
<b>2378TCDF</b>	ND	66% [63 ;69]	61% [47 ;75]	31% [25 ;38]	27% [24 ;30]	23% [19 ;27]
<b>23478PCDF</b>	ND	79% [77 ;81]	73% [60 ;85]	37% [30 ;44]	22% [22 ;23]	22% [19 ;25]
<b>123678HxCDF</b>	ND	77% [75 ;79]	83% [78 ;87]	33% [27 ;38]	17% [15 ;18]	17% [16 ;18]
<b>1234678HpCDF</b>	ND	87% [74 ;99]	84% [82 ;87]	33% [28 ;38]	12% [11 ;13]	14% [13 ;15]
<b>12346789OCDF</b>	ND	ND	ND	30% [25 ;35]	11% [8 ;14]	13% [11 ;15]
<b>PCB77</b>	ND	77% [63 ;90]	73% [52 ;93]	51% [38 ;64]	47% [40 ;54]	34% [27 ;41]
<b>PCB28</b>	53% [28 ;78]	45% [28 ;63]	ND	45% [22 ;68]	50% [42 ;57]	28% [23 ;33]
<b>PCB138</b>	ND	ND	93% [88 ;98]	88% [82 ;95]	80% [65 ;95]	69% [65 ;72]
<b>PCB153</b>	ND	ND	ND	ND	ND	77% [74 ;79]
<b>PCB180</b>	ND	ND	ND	ND	76% [66 ;86]	74% [68 ;81]

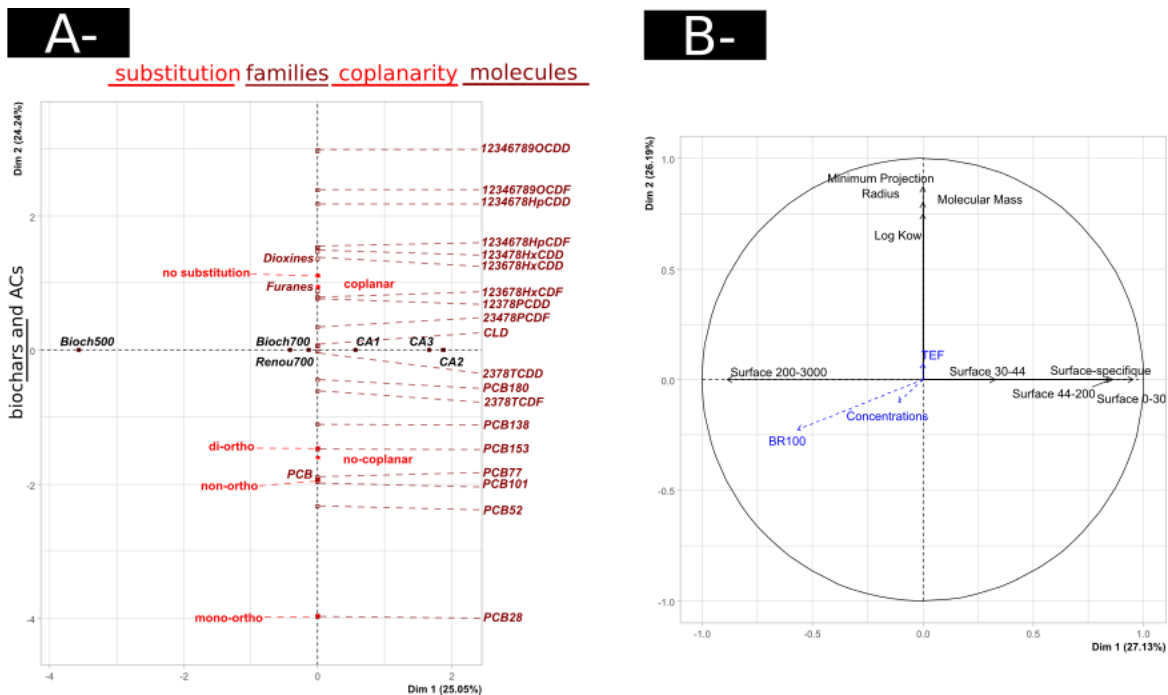
**Tableau 16: Facteurs de biodisponibilité relative calculés**

Les facteurs de biodisponibilité relative ont été calculés comme le rapport de la moyenne de la concentration de chaque polluant dans les jaunes d'œufs sur la moyenne de la concentration correspondante du groupe non amendé (SS). Enfin, le 90ème intervalle de confiance a été calculé en utilisant le fractile de la loi de Student correspondant au nombre de répétitions..

### 7.2.4.3. Discussion des résultats obtenus

L'efficacité de la stratégie de séquestration mise en place repose sur une adsorption de ces polluants apte à prévenir leur absorption physiologique après ingestion. Cette étape clé qu'est l'adsorption de ces polluants, dépend de l'adéquation des propriétés des molécules avec celles des matrices carbonées. Pour discriminer les caractéristiques les plus appropriées de ce système à deux éléments (*ie* le couple matrices carbonée et la molécule), nous avons réalisé une Analyse Factorielle des Données Mixtes (AFDM) ciblée sur les caractéristiques descriptives de ces matrices (données de porosité de surface) et de ces molécules (propriétés physico-chimiques). Les données descriptives retenues des matrices carbonées sont présentées en Tableau 18: Caractéristiques de porosité des matrices hautement carbonées et Figure 42, celles des molécules en Tableau 17: Caractéristiques descriptives des composés organo-chlorés employés Tableau 17 Ces propriétés ont été choisies en éliminant au préalable celles présentant des corrélations 2 à 2 trop élevées ( $R^2 > 0.9$ ). Afin de vérifier l'impact de ces propriétés sur la biodisponibilité et les concentrations obtenues dans l'œuf, ces valeurs ont été rajoutées comme variables illustratives. Ainsi il apparaît de cette analyse que les variables choisies représentent correctement les biochars et les molécules étudiés (somme des dimensions 1 et 2 expliquant à plus de 50% les différences observées) cf Figure 41. La première dimension reprenant les données de porosité de matrices carbonées et la deuxième dimension les propriétés des molécules. On observe, ainsi que le radius de projection minimal, la masse molaire, et le log de  $K_{ow}$  sont des paramètres discriminants fortement les polluants choisis tout comme le statut de substitution et le caractère coplanaire de la molécule. Pour les charbons, deux groupes opposés de variable discriminent le plus les matériaux étudiés : la porosité totale ainsi que la porosité ultrafine entre 0 et 30Å, et la mésoporosité entre 44 et 200 Å pour une part, la macroporosité entre 200 et 3000Å d'autre part. Enfin, malgré une part relative importante de cette porosité (entre 33 et 86% hors BC1), une porosité intermédiaire entre 30 et 44 Å apparaît comme la moins discriminante pour les biochars étudiés.

Les variables illustratives mettent en exergue que la biodisponibilité relative est explicitée majoritairement par l'effet des matrices carbonées et particulièrement par les données de porosité de ces dernières. Ainsi une porosité importante, nanoporeuse ou mésoporeuse serait négativement liée aux niveaux de biodisponibilité observés, des matrices majoritairement macroporeuses ne serait pas susceptibles de diminuer cette dernière. Enfin des différences liées aux caractéristiques des molécules sont des facteurs explicatifs secondaires : les données de masse molaire, de log de  $K_{ow}$  ou le radius de projection minimal pouvant être observée comme des facteurs négativement liés au niveaux de biodisponibilité, une substitution présentant des niveaux de biodisponibilité plus élevé pour les di-ortho<non-ortho<mono-ortho tout comme les molécules non coplanaires.



**Figure 41: Dispersion des variables A-qualitatives et B-quantitatives décrivant les charbons et biochars (Dim1) et les molécules (Dim2)**

A- les descripteurs qualitatifs employés pour qualifier les molécules sont présentés en ordonnées en rouge (substitution et coplanarité). Les congénères, les familles ont été disposés en tant que variables illustratives présentées en brun. En abscisses et en données illustratives les différents biochars et charbons actifs employés.

B- les descripteurs quantitatifs des matériaux sont présentés ainsi :

en abscisses les variables explicatives décrivant la porosité des matériaux (des classes 0-30 Å ; 30-44 Å ; 44-200 Å ; et 200-3000 Å) et la surface totale du matériaux.

en ordonnées, les variables explicatives caractérisant les molécules : la projection minimale, la masse moléculaire, log Kow.

Enfin le TEF, les valeurs obtenues de biodisponibilité relative et les concentrations ont été disposés en variables explicatives.

L'AFDM a été réalisée par l'utilisation de la fonction FAMD du logiciel R (v. 4.0.3) utilisant FactoMineR (v. 2.4).

Enfin, une classification hiérarchique a été opérée afin de discriminer les groupes de couples matrice-polluant suivant ces données de caractérisation, et ainsi interpréter résultats de biodisponibilité relative obtenus. Il a été choisi d'arrêter cette classification après la constitution de 10 groupes, le gain d'inertie n'apparaissant plus substantiel au-delà (Figure 43).

Congénère	N° CAS	Famille	Coplanarité	Masse moléculaire (g.mol <sup>-1</sup> )	LogK <sub>ow</sub>	TEF (WHO 2005)	Rayon de projection minimal (Å)	Position
12346789OCDD		Dioxines	oui	459,73	8,4	0,0003	5,35	/
12346789OCDF		Furanes	oui	443,73	7,9	0,0003	5,13	/
1234678HpCDD		Dioxines	oui	425,29	8,1	0,01	5,05	/
1234678HpCDF		Furanes	oui	409,29	7,5	0,01	4,82	/
123478HxCDD		Dioxines	oui	390,85	7,6	0,1	4,86	/
123678HxCDD		Dioxines	oui	390,85	7,6	0,1	4,71	/
123678HxCDF		Furanes	oui	374,85	7,2	0,1	4,48	/
12378PCDD		Dioxines	oui	356,4	7,2	1	4,44	/
23478PCDF		Furanes	oui	340,41	6,8	0,3	4,47	/
2378TCDD		Dioxines	oui	321,96	6,7	1	4,19	/
2378TCDF		Furanes	oui	305,96	6,2	0,1	4,12	/
CLD		Chlordecone	non	490,61	4,5	0*	4,9	/
PCB101		PCB	non	326,42	6,3	0	4,21	di-ortho
PCB138		PCB	non	360,86	6,7	0	4,57	di-ortho
PCB153		PCB	non	360,86	6,8	0	4,21	di-ortho
PCB180		PCB	non	395,31	7,2	0	4,72	di-ortho
PCB28		PCB	non	257,54	5,6	0	3,89	mono-ortho
PCB52		PCB	non	291,98	5,8	0	4,31	di-ortho
PCB77		PCB	oui	291,98	6,4	0,0001	3,86	non-ortho

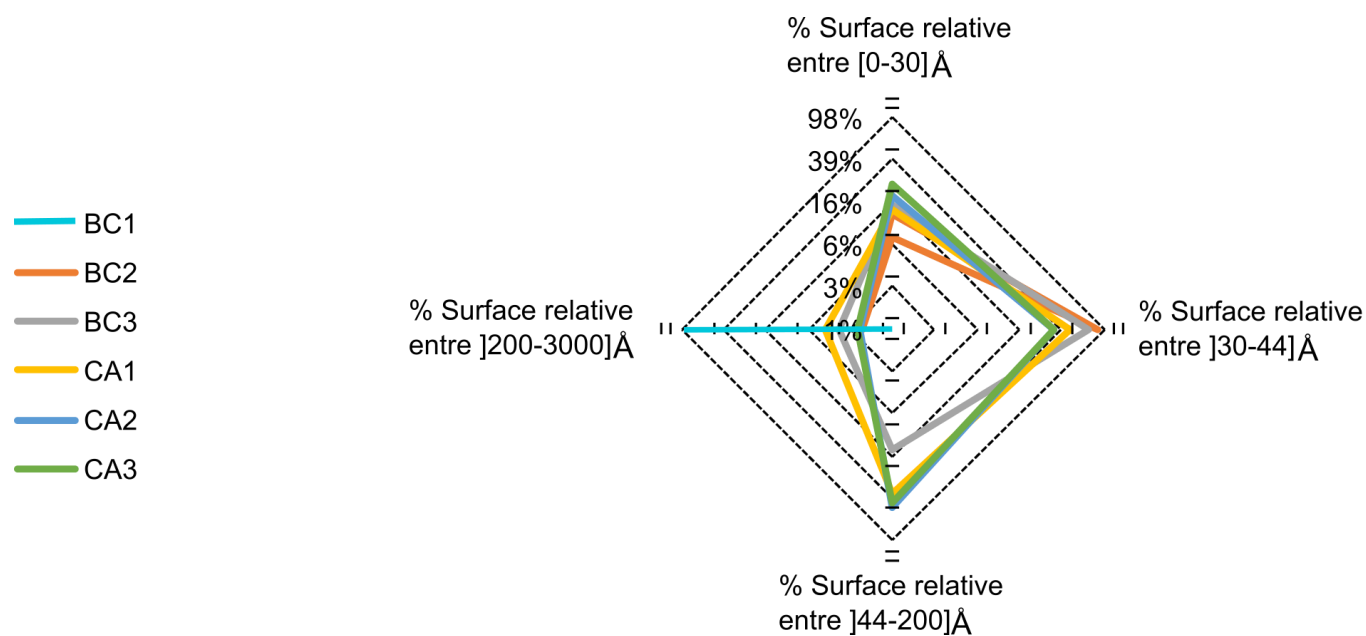
Tableau 17: Caractéristiques descriptives des composés organo-chlorés employés

\* en l'absence de valeur de TEF dans la littérature, le TEF a été fixé à 0.

Traitement	Surface spécifique (en m <sup>2</sup> .g <sup>-1</sup> )	% Surface relative entre [0-30]Å	% Surface relative entre ]30-44]Å	% Surface relative entre ]44-200]Å	% Surface relative entre ]200-3000]Å
BC1	31	0,00%	0,00%	0,00%	100,0%
BC2	290	12,3%	85,7%	0,1%	1,9%
BC3	196	14,9%	68,2%	13,8%	3,1%
CA1	566	13,2%	47,1%	35,4%	4,3%
CA2	1142	17,7%	32,3%	48,0%	2,0%
CA3	776	22,8%	32,6%	42,5%	2,2%

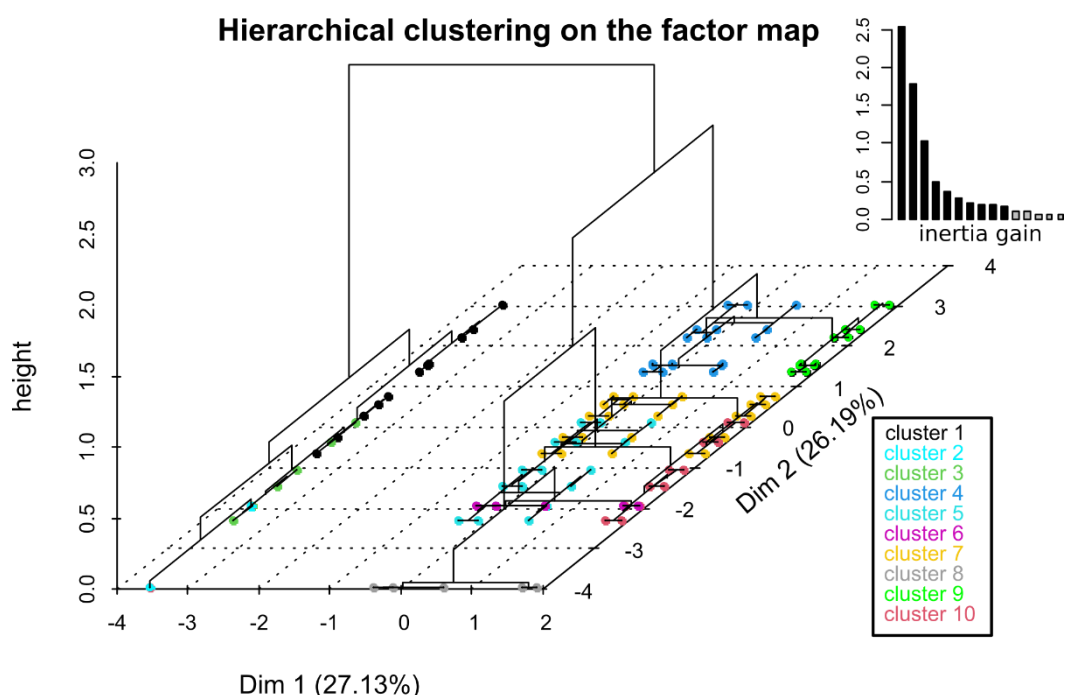
**Tableau 18: Caractéristiques de porosité des matrices hautement carbonées**

Les données ont été obtenues tel que décrit dans le chapitre 48



**Figure 42 : Répartition de la porosité des biochars et charbons actifs suivant 4 classes étudiées**





**Figure 43: Classification hiérarchique non supervisée des données de caractérisation**

La classification hiérarchique a été réalisée avec la fonction HCPS du logiciel R (4.0.3) via la librairie FlashClust (v. 1.1.2).

cluster #	TEF			Biochar CA :	Composés :
	BR (%) :	moyen :	BR*TEF :		
1	93±24% (3)	0,25	0,22±0,82 (3)	BC1	L+H-DF
3	69±57% (3)	0,0001	0,00008±0,00003 (3)	BC1	PCB 28 ; PCB 77
2	94±8,1% (6)	-	-	BC1	CLD ; PCB-NDL
4	66±21% (9)	0,037	0,023±0,024 (9)	BC2, BC3, CA1	H-DF
5	94±4,2% (18)	-	-	BC2, BC3, CA1	CLD ; PCB-NDL
6	56±11% (15)	0,0001	0,00006±0,00001 (15)	CA2, CA3	PCB77
7	40±13% (15)	0,5	0,18±0,11 (15)	BC2, BC3, CA1, CA2, CA3	L-DF
8	47±11% (15)	-	-	BC2, BC3, CA1, CA2, CA3	PCB 28
9	14±3,0% (6)	0,037	0,0061±0,0083 (6)	CA2, CA3	H-DF
10	81±8,9% (12)	-	-	CA2, CA3	CLD ; PCB-NDL

**Tableau 19: Composition des clusters, niveaux de biodisponibilité relative et TEF moyens**

Pour chaque cluster sont présentés :

Le facteur de biodisponibilité BR (%) (moyenne ± p90), apparaît entre parenthèse le nombre d'individus associés à cette valeur.

TEF moyen : le tef moyen du cluster

BR\*TEF : facteur agrégeant la BR et le TEF moyen (BR\*TEF) ± p90, apparaît entre parenthèse le nombre d'individus associés à cette valeur.

Biochar-CA les matrices présentes dans le cluster

Composés : composés présents dans le cluster :

L-DF (low weight dioxins : 2378TCDF, 2378TCDD, 23478PCDF, 12378PCDD, 123678HxCDF); H-DF (high weight dioxins : 123678HxCDD, 123478HxCDD, 1234678HpCDF, 1234678HpCDD, 12346789OCDF, 12346789OCDD) ; PCB-NDL (Non dioxin like PCB (without PCB 28): PCB 52, PCB 101, PCB 138, PCB 153, PCB 180) ; PCB 77 ; PCB 28

- : valeur non calculable

Il apparaît que le biochar 500°C se distingue fortement des autres biochars obtenus à 700°C et des charbons actifs. Ce premier niveau de distinction dans la classification discrimine les 3 premiers clusters (1 à 3) qui présentent des niveaux de biodisponibilité élevés non différents de 100%. Ainsi, dans tous les cas, le biochar issu de chêne pyrolysé à 500°C (BC1) n'a pas été efficace pour réduire le transfert de ces polluants à l'animal. Cela pourrait s'expliquer par l'absence de micro- et mésopores, et le diamètre moyen de pores apparaissant comme le plus large parmi les matériaux étudiés (>50 nm), expliquant sa faible surface spécifique par rapport aux autres matrices (31 ± 2 m<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>). Si peu de recul sur la taille des pores et la finalité applicative d'une réduction de la biodisponibilité existe dans la littérature, il a été plusieurs fois théorisé qu'une

étape limitante de la biodisponibilité des polluants organiques est la solubilisation de ces composés dans le chime gastrointestinal. L'accessibilité de ces polluants adsorbés serait plus importante du fait de la taille des pores élevée et/ou la désorption de ces polluants serait bien plus rapide que pour les autres matrices, expliquant la non réduction de transfert observée.

Ensuite, il apparaît que les caractéristiques chimiques des molécules étudiées explicitent les niveaux de classification obtenus suivants en discriminant : (i) les dioxines et furanes légères (L-DF) ou (ii) lourdes (H-DF), (iii) la chlordécone avec les PCB-NDL (hors PCB-28), (iv) le PCB 77 et (v) le PCB 28. Tout d'abord pour les PCB-NDL et CLD, de hauts niveaux de biodisponibilité relative proches de 100% ont été obtenus quelque soit la matrice étudiée (groupes 5 et 10), ceci montrerait l'effet limité de cette stratégie d'amendement sur le transfert de ces polluants vers l'animal.

Enfin, la dernière distinction discrimine les matrices hautement carbonées restantes : (i) les biochars BC2, BC3 et CA1 (groupes 4 et 5) (ii) des CA2 et CA3. Pour les PCB 77, PCB 28 et les L-DF des niveaux de réductions intermédiaires de biodisponibilité relative ont été obtenus (groupe 6 :  $56 \pm 11\%$ , groupe 7 :  $40 \pm 13\%$ , groupe 8 :  $47 \pm 11\%$ ). Ces niveaux de réduction permettant limiter le risque dioxine d'un facteur 2 ( $0,18 \pm 0,11$ ). Pour les H-DF une légère diminution de la biodisponibilité est obtenue pour les biochars BC2 et BC3 et CA1 ( $66 \pm 21\%$ ), cette diminution étant particulièrement importante pour les CA2 et CA3 ( $14 \pm 3,0\%$ ). Ainsi une réduction près de 4 fois plus forte concernant le risque posé par les dioxines est attendue par l'utilisation de ces charbons plutôt que par l'emploi des biochars ou du charbon actif CA1 (groupe 4 :  $2,3 \pm 2,4\%$ , groupe 9 :  $0,61 \pm 0,83\%$ ).

#### 7.2.4.4. Conclusion

Il apparaît ainsi :

- (1) que la stratégie employée de séquestration peut limiter significativement le transfert des polluants organiques halogénés notamment pour les dioxines/furanes et les PCB-DL
- (2) Aucune réduction n'a pu être observée lors de l'emploi du biochar 500°C particulièrement peu micro et méso-poreux
- (3) cette réduction apparaît très faible lorsque des biochars de 700°C sont employés, leur surface mésoporeuse et microporeuse limitées pourraient expliquer ce résultat
- (4) Les dioxines lourdes apparaissent comme les composés les plus susceptibles à cette stratégie, la biodisponibilité relative pouvant être réduite de près de 90%. Il apparaît ainsi que cette efficacité soit dépendante des composés avec pour ordre : H-DF > L-DF > PCB 77 > PCB-NDL = CLD.

## 7.3. Evaluation de l'innocuité

### 7.3.1. Tests sur lombriciens

Le sol est l'un des réservoirs les plus importants des composés organochlorés, par conséquent, il est plus que nécessaire de trouver des solutions afin de réduire la disponibilité des OC dans les sols contaminés. Une large gamme de techniques de remédiation existe telle que le lavage des sols, l'extraction des vapeurs du sol et la biorestoration. Ces méthodes ne peuvent être appliquées dans les champs en raison de leur coût élevé, la perte de fertilité qu'ils engendrent, le lessivage et l'érosion des sols. C'est pour ces raisons que l'utilisation de matrices carbonées, ayant moins d'effets perturbateurs et plus rentable a été proposée comme alternative pour l'assainissement des sols pollués.

Une fois ces polluants organiques présents dans les différents compartiments de l'environnement, ils vont s'accumuler dans les tissus vivants en raison de leur forte affinité pour les lipides. La bioamplification désigne l'augmentation cumulative des concentrations d'un polluant tout au long de la chaîne alimentaire.

La présence de ces composés organochlorés au sein de l'organisme peut avoir des effets toxiques et engendrer deux types de danger ; soit une toxicité aiguë résultant d'une forte exposition à court terme d'un polluant soit une toxicité chronique résultant d'une faible exposition répétée et à long terme. Dans les deux cas, les conséquences peuvent être nuisibles à l'organisme (Achour, 2016). Par exemple, le lindane, composé organochloré, peut provoquer une détérioration de l'intégrité de l'ADN ainsi que l'induction de l'activité enzymatique EROD (EthoxyRésorufine-O-Dééthylase) chez une espèce de mosquitofish, *Gambusia affinis*. Cette mesure reflète l'activité du système enzymatique du cytochrome P450, voie essentielle par laquelle un être vivant peut éliminer les xénobiotiques de son organisme (Jaksić et al., 2008). Une autre étude a été menée sur une espèce de poissons rouges, *Carassius auratus*, exposée à une dose d'acide 2,4-dichlorophénoxyacétique (2,4-D) pendant 96 heures. Les analyses ont été effectuées sur les tissus de cerveau, du foie et des reins des poissons et les résultats ont montré que ce polluant pouvait induire l'augmentation d'espèces réactives de l'oxygène (ROS) dans les cellules augmentant ainsi le risque d'altération oxydatives cellulaires (Atamaniuk et al., 2013).

Dans cette étude, nous avons mesuré les effets toxiques de deux POP, le chlordécone (CLD) et un mélange de PCB, Dioxines et de Furanes (PCB + PCDD/F) dans des sols OCDE sur une espèce de vers de terre, *Aporrectodea caliginosa*. Ces sols, fournis par le partenaire de l'UR AFPA, sont amendés ou non en matrices carbonées, des charbons actifs ou des biochars, connus pour leur capacité de séquestration des polluants organiques.

Les paramètres étudiés sont les activités enzymatiques du système antioxydant et détoxifiant, plus particulièrement l'activité enzymatique de la catalase (CAT), la superoxyde dismutase (SOD) et la Glutathion-S-Transférase (GST). Nous avons également mesuré les réserves glucidiques et lipidiques ainsi que le taux de protéines totales vs circulantes. Les vers de terre sont exposés pendant 21 jours à des sols pollués ou non au CLD ou au mélange PCB et PCDD/F et amendés ou non en matrices carbonées.

Nous avons choisi pour cette étude d'utiliser l'espèce endogée *Aporrectodea caliginosa*, l'une des plus abondantes dans la plupart des sols (et en particulier les sols cultivés) des zones tempérées et la plus représentative des sols agricoles (Bart et al., 2018). Plusieurs études ont montré que cette espèce était sensible aux polluants organiques et notamment aux pesticides ce qui fait d'elle une espèce du sol pertinente pour l'évaluation *a posteriori* des risques liés aux pesticides (Booth et O'Halloran, 2001; Olvera-Velona et al., 2008; Zareitalabad et al., 2013).

Quatre matrices carbonées ont été sélectionnées pour mener cette étude, deux biochars (bois de chêne pyrolysé à 500°C et renoué du Japon pyrolysé à 700°C) et deux charbons actifs (charbon actif à gros grains (CA1) et un charbon actif à petits grains (CA3)). Ces derniers ont été sélectionnés sur la base de leur potentiel de séquestration de différents polluants organiques sur des sols artificiels OCDE.

La problématique de cette étude est de savoir si l'ajout de matrices carbonées dans un sol pollué aux organochlorés peut diminuer le stress que ces derniers provoquent chez les vers de terre et notamment chez *Aporrectodea caliginosa*. Pour ce faire, nous avons exposé les vers de terre à des doses environnementales de chlordécone et à un mélange de Polychlorobiphényles + Dioxines et Furanes dans des sols amendés ou non en matrices carbonées (2% en masse).

Suite à cela, des analyses biochimiques ont été réalisées afin de doser les activités enzymatiques de trois enzymes de stress : la Catalase (CAT), la Glutathion-S-Transférase (GST) et la Super Oxyde Dismutase (SOD). Effectivement, le système d'enzyme anti-oxydantes est un mécanisme important utilisé par la plupart des organismes vivants pour lutter contre un excès d'espèces réactives de l'oxygène (ROS). Ces dernières, lorsque maintenues à un niveau basal, jouent un rôle important dans la régulation des protéines et des enzymes mais aussi dans l'expression génique (Chen et al., 2011). Un excès de ROS dans une cellule peut provoquer de graves dommages au niveau du système membranaire mais aussi au niveau de toutes les molécules cellulaires dont l'ADN. De ce fait, cela peut endommager l'intégrité d'une cellule, d'un tissu et de l'organisme tout entier (Shi et al., 2013). Le système antioxydant des vers de terre est employé comme biomarqueur de la pollution des sols (Wania et al., 1993).

On émet l'hypothèse que l'ajout de matrices carbonées, connues pour leur potentiel de séquestration de la matière organique, diminue la disponibilité des polluants dans le sol, limitant ainsi l'activation des enzymes antioxydantes citées ci-dessus. Cependant, les vers de terre sont connus pour se nourrir de la matière organique présente dans les sols. Il est alors possible que les vers de terre ingèrent les matrices carbonées saturées en polluants.

## 7.3.2. Méthodologie

### 7.3.2.1.1. Matériel biologique

Se référer au paragraphe 7.2.2.1.1

### 7.3.2.1.2. Sol artificiel et matrices carbonées

Se référer au paragraphe 7.2.2.1.2

### 7.3.2.1.3. Exposition d'*Aporrectodea caliginosa*

Les vers de terre sont retirés du sol d'élevage puis rincés à l'eau et déposés sur du sopalin pour retirer l'eau. Ils sont par la suite déposés par cinq dans chaque cosme (chaque cosme est en triplicat) amendés ou non en matrices carbonées et/ou contaminés ou non aux organochlorés (chlordécone ou PCB 153) (Figure 44). À l'issue de trois semaines d'exposition dans une chambre maintenue à  $15^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  à l'obscurité, les vers de terre sont retirés des cosmes puis rincés à l'eau, déposés sur du sopalin et pesés à l'aide d'une balance de précision. Ils sont par la suite mis dans des tubes à hémolyse et congelés à  $-80^{\circ}\text{C}$  jusqu'aux analyses biochimiques.

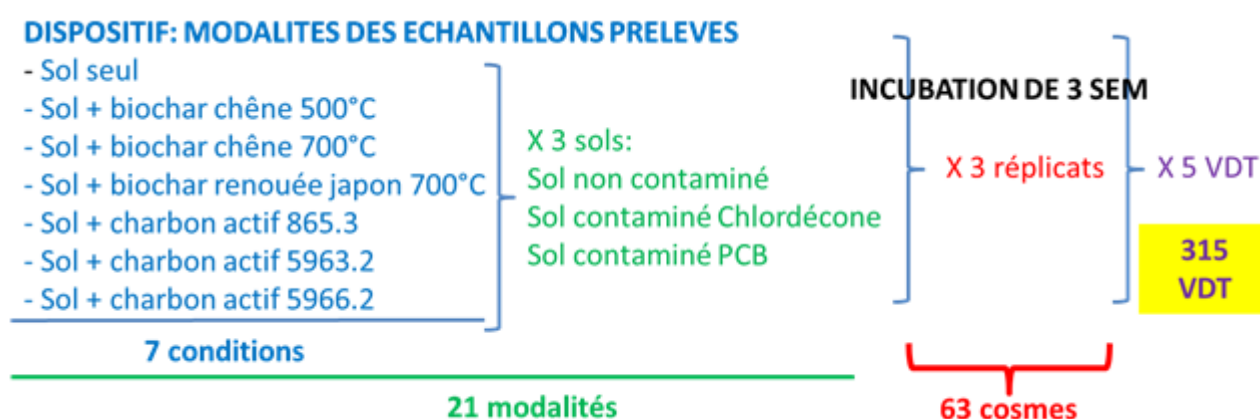


Figure 44: Schéma du dispositif expérimental

### 7.3.2.1.4. Préparation des échantillons de vers de terre pour la mesure des indicateurs physiologiques

La mesure de biomarqueurs implique l'utilisation d'un échantillon liquide et homogène. Une étape de broyage et d'homogénéisation est alors nécessaire. Concernant les vers de terre, la totalité de l'échantillon d'un vers de terre (VDT) sera utilisé afin d'avoir un échantillon représentatif de l'échantillon de départ. La préparation de l'homogénat commence par le découpage du VDT, préalablement sorti du congélateur, à l'aide d'un scalpel. Les petits morceaux sont déposés dans un Potter-Elvehjem et une quantité de tampon phosphate 100 mM, 1 mM EDTA, pH 7,2 y est ajouté (ratio poids/volume de 1/10). Le tout est dans un premier temps broyé à la main puis passé à l'homogénéisateur mécanique Ultra-Turrax.

L'homogénat est par la suite aliquoté pour le dosage des enzymes de stress (CAT, SOD et GST) et pour le dosage des réserves énergétiques non réalisé dans cette étude (glycogène, protéines totales et circulantes et lipides). Dans le tube réservé au dosage des enzymes, un microlitre d'inhibiteur de protéase (Protease Inhibitor Cocktail, DMSO Solution) y est ajouté afin d'inhiber la dégradation des protéines et notamment des enzymes d'intérêt. Ce tube est ensuite centrifugé à 9000 g pendant 30 minutes à  $4^{\circ}\text{C}$ . Ce dosage doit être effectué à la suite du broyage car les enzymes sont très sensibles à la dégradation/inactivation contrairement aux autres biomarqueurs (lipides, protéines et glycogène) dont les homogénats peuvent être stockés au congélateur à  $-20^{\circ}\text{C}$  jusqu'au dosage.

### 7.3.2.1.5. Mesure des activités enzymatiques

Les mesures des activités enzymatiques du système de détoxification (Gluthathion s- transférase-GST) et du stress oxydant (catalase – CAT, superoxyde dismutase – SOD) ainsi que les protéines circulantes (PROTc) sont réalisées sur le surnageant du broyat centrifugé à 10000 g pendant 10 min et à  $4^{\circ}\text{C}$ .

Les mesures de CAT sont réalisées selon le protocole de Claiborne (1985), modifié par Schreck et al (2008) par mesure de la dégradation de  $\text{H}_2\text{O}_2$  10 mM pendant 1 min à  $25^{\circ}\text{C}$  ( $\lambda = 240 \text{ nm}$ ) sur un spectrophotomètre helios a (Thermo). L'activité catalase est calculée en U/g de ver de terre soit en  $\mu\text{mole}$  de produit synthétisé/min/g de vers de terre ( $\epsilon = 0,0436 \text{ ml} \cdot \mu\text{mole}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

Les mesures de l'activité GST sont réalisées selon le protocole de Habig et al. (1974), modifié par Salam et Schröder (2008), grâce à la réaction de conjugaison entre le glutathion réduit (200 mM) et le 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB, 100 mM) qui libère du [GS – DNB] qui absorbe à 340 nm. La cinétique est suivie sur 5 min à 25 °C avec le spectrophotomètre microplaques Xénius (SAFAS, Monaco). L'activité GST est calculée en U/g de ver de terre soit  $\mu\text{mole}$  de produit synthétisé/min/g de vers de terre ( $\epsilon = 9,6 \text{ L} \cdot \text{mM}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ ).

L'activité SOD est mesurée selon le protocole de Wayne et al. (1987) modifié par Murshed et al. (2013) basé sur l'inhibition de la réduction du chlorure de bleu de nitrotétrazolium (NTB, 1,7  $\mu\text{M}$ ) en présence de riboflavine (120  $\mu\text{M}$ ), de méthionine (200 mM) et de triton X100 (1%), et d'un éclairage durant 7 min à 25 °C. La réduction du NTB, par ces radicaux superoxydes, aboutit à la formation d'un composé coloré pouvant être mesuré à 560 nm au spectrophotomètre microplaques Xénius (Safas, Monaco). L'inhibition du complexe coloré est proportionnelle à la quantité de SOD présente dans l'échantillon. Une unité SOD est définie comme la quantité d'enzyme nécessaire pour inhiber la réduction du NTB de 50%.

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{\text{DO Témoin}_{(0 \text{ min})} - \text{DO Echantillon}_{(7 \text{ min})}}{\text{DO Témoin}_{(0 \text{ min})}} \times 100$$

$$\text{Activité SOD}_{(U/mL)} = \frac{\% \text{ Inhibition} \times V_T \times D}{50 \% \times V_S \times l}$$

### 7.3.2.1.6. Mesure des réserves énergétiques

Les mesures des réserves énergétiques, protéines totales (PROTt), glycogène (GLY) et lipides totaux (LIP) sont directement réalisées sur le broyat brut. La mesure des protéines circulantes est réalisée sur le surnageant obtenu après centrifugation du broyat.

La quantification des protéines totales et circulante est réalisée par la méthode à l'acide Bicinchoninique qui combine la réaction du biuret induite par les protéines et la détection colorimétrique sensible et sélective du cation cuivreux résultant ( $\text{Cu}^{1+}$ ) par l'acide bicinchoninique (BCA) (Sigma Aldrich). La gamme étalon est réalisée avec de la bovine serum albumine. La lecture est effectuée à 562 nm, avec le spectrophotomètre microplaques Xénius (SAFAS, Monaco).

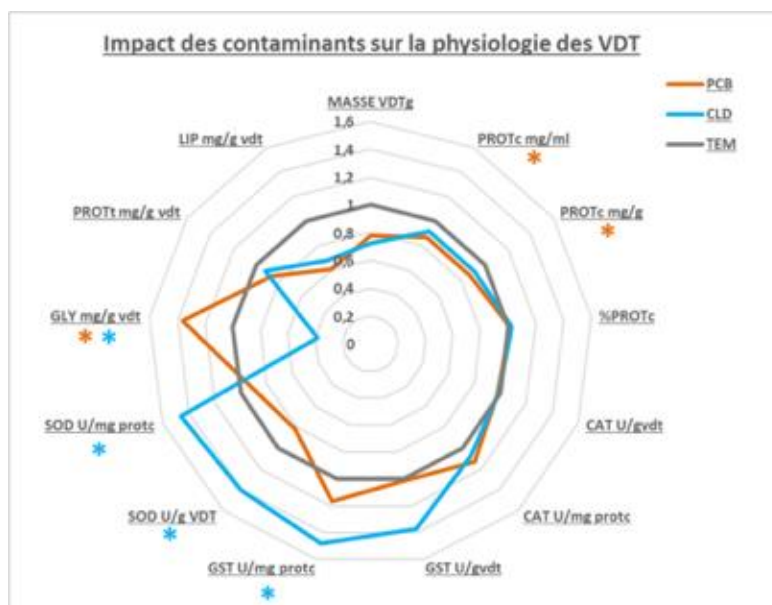
Le dosage du glycogène est réalisé selon la méthode de Knigge et Köhler (2000) modifié par Holmstrup et al. (2008). Il comporte plusieurs étapes : une étape de dénaturation du glucose et de libération du glycogène par incubation avec de la soude (0.5 M final) pendant 3 heures à 80 °C ; une étape de transformation du glycogène en glucose par action de l' $\alpha$ -Amyloglucosidase (1 mg / ml final) en tampon acétate de sodium 0.25 M pH 4.4, avec une incubation de 2 h à 37 °C ; une étape de dosage du glucose par la méthode à hexokinase (Sigma Aldrich). La gamme est réalisée avec du glycogène. La lecture est effectuée à 340 nm, en microplaques UV avec le spectrophotomètre microplaques Xénius (SAFAS, Monaco).

Le dosage des lipides est réalisé en plusieurs étapes : une étape d'extraction réalisée trois fois selon le protocole de Folch et al. (1957) en utilisant le mélange chloroforme/méthanol. Une étape de concentration des échantillons par évaporation du chloroforme; et une étape de dosage selon la méthode de Knight et al. (1972). Cette méthode utilise l'acide sulfurique concentré afin d'ouvrir les doubles liaisons des lipides insaturés et de former un carbanion (incubation 10 minutes à 100 °C), stabilisé par 5 minutes dans la glace. Cet ion va former un complexe coloré stable avec le réactif à la phosphovanilline (1:4, vanilline 6 g/l et acide phosphorique concentré). La lecture est réalisée à  $\lambda = 525 \text{ nm}$  en cuve PS sur un spectrophotomètre Helios a (Thermo).

### 7.3.2.2. Résultats

Nous avons analysé les effets des contaminants mais également des matrices carbonées sur la physiologie et l'intégrité des vers de terre.

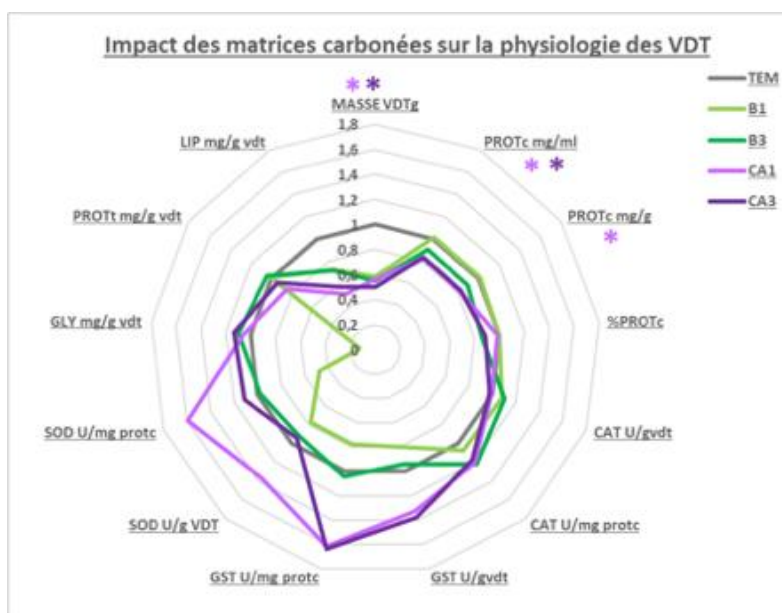
### 7.3.2.2.1. Analyse de l'effet des contaminants sur la physiologie des VDT



**Figure 45: effet des contaminants sur les paramètres physiologiques des VDT**  
(\* pour effet significatif de la couleur de la matrice carbonée)

La Figure 45 montre les effets des PCB et de la CLD sur l'ensemble des indicateurs testés. Elle montre que les PCB impactent plus les réserves énergétiques (\*glycogène lipides et protéines), alors que la chlordécone induit une stimulation des indicateurs du stress oxydatif (\*SOD) et du système de détoxification (\*GST) ainsi que les réserves de \*glycogène. La catalase et le rapport entre les protéines circulantes/protéines totales ne semble pas impactés.

### 7.3.2.2.2. Analyse de l'effet des matrices sur la physiologie des VDT

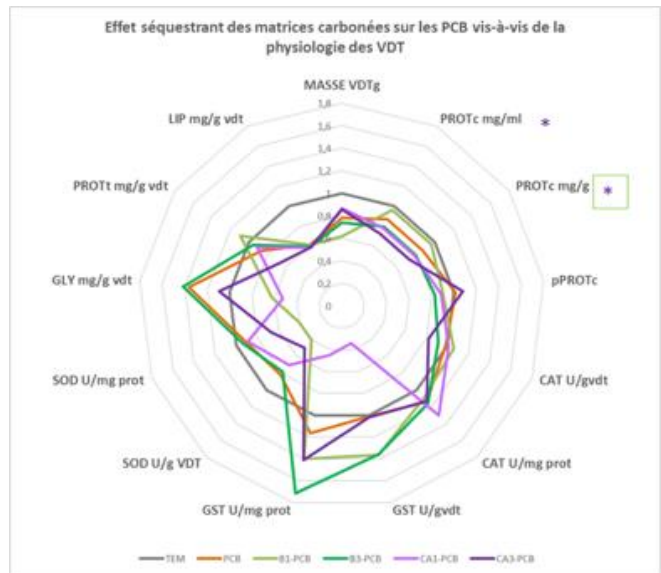


**Figure 46: effet des matrices carbonées sur les paramètres physiologiques des VDT**  
(\* pour effet significatif de la couleur de la matrice carbonée)

La Figure 46 montre les effets des matrices carbonées sur la physiologie des vers de terre. Ils induisent une diminution importante de la masse des vers de terre (plus significative avec les charbons actifs), des protéines circulantes et des lipides totaux et une augmentation du stress oxydatif (SOD) et du système de détoxification. Les protéines totales et le glycogène ne sont pas impactés par la présence des matrices.

### 7.3.2.2.3. Analyse de l'effet séquestrant des matrices vis-à-vis des contaminants

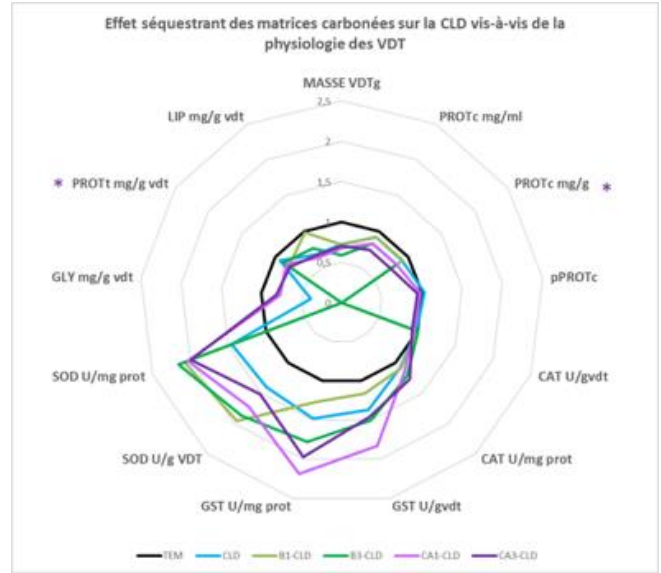
### 7.3.2.2.4. Cas des PCB/dioxines/furanes



**Figure 47: effet séquestrant des matrices carbonées vis-à-vis de l'impact des PCB sur les paramètres physiologiques des VDT**  
 (\* pour effet significatif de la couleur de la matrice carbonée)

La Figure 47 permet de d'appréhender l'effet séquestrant des matrices carbonées vis-à-vis des PCB et leur effet sur la physiologie des vers de terre. Dans la Figure 1, nous avons montré que les PCB avaient un impact négatif sur les réserves énergétiques (protéines totales et lipides). On retrouve cette tendance en présence des matrices carbonées excepté pour le charbon actif CA1 qui diminue cet effet supposant un piégeage des PCB par cette matrice carbonée. Cet effet de piégeage est également observé pour le biochar BC1 lorsqu'on mesure le taux de protéines circulantes. L'effet négatif des PCB sur le pool des lipides est toujours observé quelle que soit la matrice carbonée testée en accord avec les résultats de la Figure 2.

**7.3.2.2.5. Cas de la Chlordécone**



**Figure 48: Effet séquestrant des matrices carbonées vis-à-vis de l'impact de la CLD sur les paramètres physiologiques des VDT**

La Figure 48 permet de visualiser l'effet séquestrant des matrices carbonées vis-à-vis de la CLD et de ses effets sur la physiologie des vers de terre. Les effets de la chlordécone sur la diminution des réserves glucidiques sont atténués par la présence des matrices BC1, CA1 et CA3. Par contre concernant le stress oxydant et le système de détoxication, nous avons observé Figure 45 une forte activation des enzymes correspondantes en présence de CLD. Les matrices (Figure 46) montrent aussi un effet d'activation des enzymes. Cet effet est plus fort pour les CA que pour les biochars. La Figure montre une très forte activation des enzymes de stress oxydant révélant une synergie entre polluants et matrices aux doses utilisées.

### 7.3.2.3. Discussion

Plusieurs activités enzymatiques et notamment celles des enzymes de stress sont considérées comme des bio-indicateurs et peuvent être utilisées comme moyen d'alerte d'une pollution environnementale (Livingstone, 1993). Du fait de leur grande importance dans la protection des dommages oxydatifs liés au ROS et à la bonne connaissance de leur dosage chez les vers de terre, la Catalase, la Glutathion-S-Transférase et la Superoxyde Dismutase ont été choisies dans cette étude. Ces enzymes servent à mesurer la toxicité de deux polluants organochlorés, le chlordécone et un mélange de PCB, Dioxines et de Furanes sur *Aporrectodea caliginosa* mais aussi de voir l'effet de l'ajout de matrices carbonées connues pour leur capacité de séquestration de la matière organique sur cette toxicité.

Les études de l'effet des polluants sur l'activité enzymatique de stress oxydant sont très peu axées sur les vers de terre. Nous avons pu mettre en évidence une augmentation l'activité de la SOD et de la GST (mesurée après 21 jours d'exposition) chez les vers de terre (*A. caliginosa*) par la CLD en absence de matrice. Ce phénomène n'est pas observé pour les PCB. Di et al., (2017) ont démontré que l'activité de la SOD a augmenté chez une espèce de vers oligochète, *Tubifex tubifex*, suite à une exposition de 5 jours au DDT (un pesticide de la famille des organochlorés) et que cette activation était significativement réduite après 28 jours d'exposition. Ainsi, on peut supposer une variation de la réponse de ces bio-indicateurs en fonction du temps d'exposition aux polluants.

L'impact de l'amendement des sols artificiels par des matrices carbonées sur la physiologie et l'intégrité des organismes du sol est très peu étudié.

Nous avons montré que que les matrices carbonées (taux d'ammendement 2%), particulièrement les CA, provoquent une perte de poids significative des vers de terre et une augmentation d'activité de la SOD et de la GST. L'exposition pendant 48h des vers de terre de l'espèce *Lumbricus terrestris* à un sol naturel amendé à 5% de biochar de marc de café pyrolysé à 450°C a montré une augmentation de l'activité de la Glutathion réductase chez les individus incubés 30 jours au biochar (Sanchez-Hernandez, Ríos, et al., 2019) Une étude de Hale et al., 2013 a montré que des amendements de biochars et de charbons actifs ont eu un effet délétère sur la croissance d'*A. caliginosa* par rapport au sol non amendé. Kim et al., (2014) ont observé une perte de poids et des dommages oxydatifs à l'ADN chez *Eisenia fetida* dans un sol artificiel amendé avec 5% de biochar dérivé de farine de périlla, de farine de sésame et de graines de citrouille. Cependant, d'autres études contrastent les résultats de celles citées précédemment. En effet Li et al., (2011) n'a montré aucun signe de stress oxydatif chez *Eisenia fetida* incubé pendant 14 jours dans des sols amendés avec des doses de biochar provenant de sciure de bois de pommier. Paul et Ghosh, (2011) ont également montré qu'un amendement de 1 et 3% de biochar a augmenté significativement ( $P < 0,05$ ) le poids et a réduit les effets toxiques de la mésotrione sur *E. fetida*.

L'ensemble de ces résultats montre la difficulté de prévoir la réponse physiologique des lombriciens à un taux et une qualité de matrice carbonée spécifique.

Les vers de terre sont connus pour ingérer les particules du sol et plus particulièrement celles riches en matière organique (Curry et Schmidt, 2007; Pilar Ruiz et al., 2006; Zareitalabad et al., 2013). Dans cette étude, l'augmentation de l'activité des enzymes de stress dans des sols non pollués peut être liée à l'ingestion de particules des matrices carbonées potentiellement toxiques pour les vers de terre. Freddo et al., (2012) ont évalué neuf biochars différents, produits à partir de matières premières variables à différentes températures de pyrolyse. Les résultats ont montré la présence de concentrations d'éléments potentiellement toxiques, en particulier les métaux, les métalloïdes et les hydrocarbures aromatiques polycycliques (HAP). D'autres études ont également montré la présence de quantité importante de HAP dans les biochars (Hilber et al., 2012; Khan et al., 2015). La présence de ces HAP peuvent être la cause de l'augmentation des activités des enzymes de stress chez les vers de terre. Liu et al. (2020) ont montré que la présence de HAP dans un sol naturel induit un stress oxydatif via l'augmentation de l'activité enzymatique de la Catalase chez *E. fetida*. Shi et al., (2013) avaient déjà prouvé qu'une exposition prolongée à une HAP, le phénanthrène, modifiait l'activité des enzymes antioxydants dans le corps de *Eisenia fetida*. pour compléter la compréhension du phénomène oxydatif accru en présence des matrices carbonées, une analyse physicochimique des sols amendés par les matrices est en cours au LAS.

Concernant la présence simultanée de polluants et de matrices carbonées dans les sols, les résultats ont montré une activation significative de l'activité enzymatique du système antioxydant chez les vers de terre.

Cela suggère que lorsque les polluants sont mélangés aux matrices carbonées sélectionnées dans cette étude, les effets des deux sont additionnés vraisemblablement par interaction du pesticide avec la matrice et engendrent un effet synergique.

Il sera intéressant de croiser ces observations avec le bilan de transfert des polluants radiomarqués (voir 7.2.2) afin d'évaluer l'impact des matrices carbonées sur le taux de polluants retrouvé dans les vers.

### 7.3.3. Effets sur le microbiote du sol

#### 7.3.3.1. Introduction

Les microorganismes du sol sont des acteurs clés d'un ensemble de processus impliqués dans des fonctions de régulation, d'épuration et dans la dynamique des éléments nutritifs et jouent donc un rôle dans la santé des sols (Lehman et al., 2020).



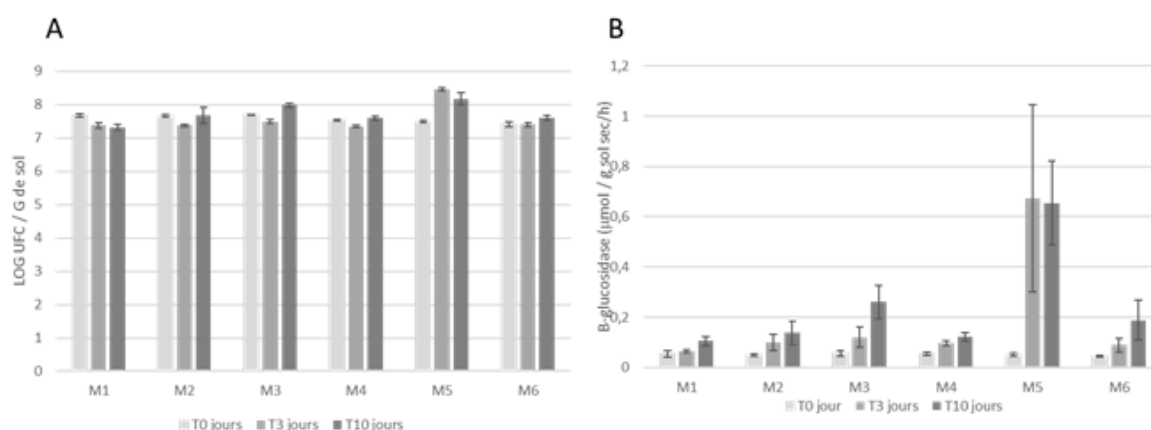
Même si ces microorganismes peuvent contribuer à la dégradation d'un ensemble de polluants, certains d'entre eux peuvent être récalcitrants à cette biodégradation et s'accumuler dans les sols sur le long terme (Ren et al., 2018). Les communautés microbiennes du sol peuvent donc alors être soumises à ces contaminants qui peuvent, selon leur biodisponibilité, avoir un impact écotoxicologique sur ces communautés et leurs fonctions (Merlin et al., 2015). De manière à atténuer ces effets, il est possible d'utiliser des matrices carbonées tel que des biochars ou des charbons activés. En effet, ces matrices carbonées peuvent, via un ensemble de mécanismes limiter la biodisponibilité en contaminants dans les sols (Palansooriya et al., 2019). Elles peuvent aussi influencer indirectement les communautés microbiennes tant d'un point de vue de leur structure que de leurs fonctions. Des expérimentations en microcosmes d'un sol artificiel contaminé ou non par des polluants organiques persistants et amendé ou non par différentes matrices carbonées ont donc été réalisées, de manière à progresser dans les effets des POP / matrices sur les communautés microbiennes du sol. Pour cela, ont été considérés les effets sur i) la structure des communautés microbiennes, par une approche de métabarcoding de l'ADNr 16S et ii) le fonctionnement des communautés microbiennes, en mesurant un ensemble d'activités microbiennes impliquées dans les cycles du carbone, de l'azote, du phosphore et du soufre.

### 7.3.3.2. Préparation de l'inoculum

Les expérimentations visant à évaluer l'impact des POP/matrices carbonées sur les communautés microbiennes ont été réalisées sur un sol artificiel. Ceci a nécessité de préparer un inoculum microbien pour amender ce sol artificiel. Une expérimentation préliminaire a donc été conduite de manière à établir les conditions de préparation d'un inoculum pouvant se maintenir sur le sol artificiel. De manière à préparer l'inoculum, le protocole de Wertz et al. (2006) a été adapté. Une suspension d'un sol agricole a tout d'abord été réalisée par broyage dans de l'eau ultrapure stérile (ratio 1/2, p/v) à l'aide d'un Polytron. Après filtration sur un filtre 2V (Whatman), le filtrat constitue l'inoculum primaire. Pour faciliter le maintien de l'inoculum dans le sol artificiel, l'inoculum primaire a été associé à i) une source de carbone (C) pour les microorganismes, sous forme de glucose ou de cellulose ii) une solution d'éléments minéraux (azote, phosphate, potassium et soufre, NPKS) susceptibles d'être limitants dans le sol artificiel pour les microorganismes.

Des microcosmes de sols artificiels ont donc été inoculés avec l'inoculum primaire à raison d' $4.10^7$  UFC / g de sol artificiel, la source de C à raison d' $1$ g équivalent C par gramme de sol et la solution de NPKS. Les microcosmes de sols ont été incubés à  $20^\circ\text{C}$  et des prélèvements ont été réalisés à 0, 3 et 10 jours après mise en incubation. A chaque temps de prélèvement, des dénombrements des bactéries cultivables ont été réalisés. Les activités microbiennes  $\beta$ -glucosidases et xylosidases, en lien avec le cycle du C dans les sols, ont également été mesurées.

Les résultats sont présentés sur la Figure 49.



**Figure 49: Evaluation de l'effet des apports de sources de C et d'une solution NPKS sur le maintien de l'inoculum primaire**  
M1 : sol artificiel + inoculum primaire ; M2 : sol artificiel + inoculum primaire + solution NPKS ; M3 : sol artificiel + inoculum primaire + glucose ; M4 : sol artificiel + inoculum primaire + cellulose ; M5 : sol artificiel + inoculum primaire + glucose + solution NPKS ; M6 : sol artificiel + inoculum primaire + cellulose + solution NPKS

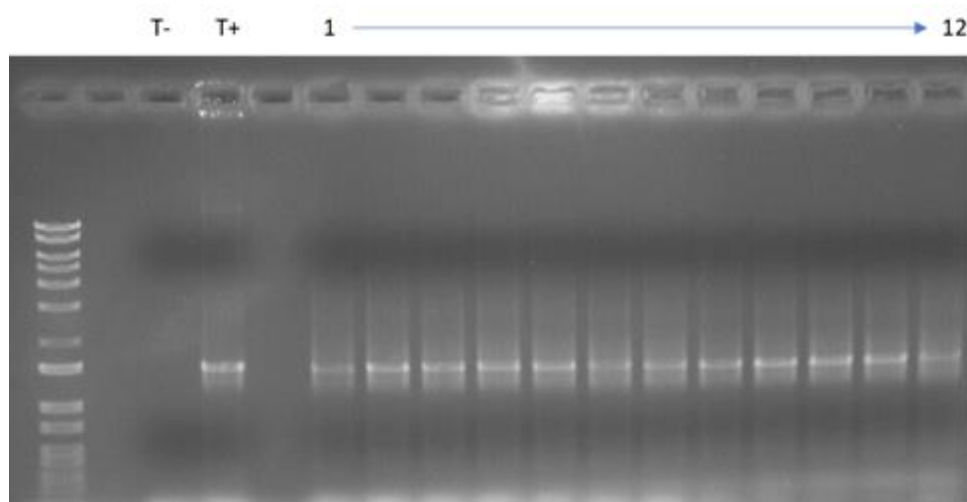
Les résultats montrent que la modalité M5 correspondant à l'inoculum primaire amendé avec du glucose et une solution NPKS permet d'assurer la croissance microbienne (Figure 49A). Ainsi les densités bactériennes sont significativement supérieures 3 et 10 jours après inoculation comparativement aux autres modalités. Ces densités sont par ailleurs proches de celles du sol natif (autour de  $10^8$  UFC / g de sol) Ces conditions sont également celles stimulant les activités microbiennes telle que l'activité  $\beta$ -glucosidase dans le sol artificiel et ce, même si ces activités restent globalement faibles (Figure 49B). L'expérimentation préliminaire a donc permis de définir les conditions de préparation de l'inoculum microbien et de mettre en évidence que l'apport, en complément, d'une source de C comme le glucose et d'une solution minérale de NPKS, est

favorable au maintien voir au développement de l'inoculum dans le sol artificiel. Ces conditions ont été retenues pour les cinétiques d'incubation en présence des POP et des matrices carbonées.

Une expérimentation en microcosmes de sols artificiels a donc été mise en place. Les sols, amendés avec les différentes matrices carbonées et les POP ont été préalablement préparés par le laboratoire URAFPA. Ces sols ont été inoculés avec l'inoculum primaire préparé comme décrit précédemment puis incubés à 20°C. Cinq répétitions par modalité ont été réalisées. Les sols ont été prélevés 0 et 28 jours après incubation. Des aliquots de sols ont été réalisés de manière à analyser la structure des communautés par métabarcoding (UMR LAE) et les activités microbiennes (UMR ECOSYS).

### 7.3.3.3. Structure des communautés microbiennes

La structure des communautés bactériennes est analysée en utilisant une approche de métabarcoding de l'ADNr 16S. Cette approche repose sur l'extraction de l'ADN des échantillons de sol artificiel, d'une amplification par PCR d'une partie de l'ADNr 16S utilisé comme marqueur taxonomique puis d'un séquençage à haut débit des produits d'amplification. Ces analyses sont en cours. Actuellement, les extractions d'ADN réalisées en utilisant le kit d'extraction MP Biomedicals ont été effectuées sur l'ensemble des échantillons du temps 0 et sont en cours pour les échantillons 28 jours. Pour les échantillons du temps 0, les rendements d'extraction d'ADN sont dans des gammes classiques et varient entre 20 et 35 ng / ml. Des PCR en utilisant des amorces ciblant l'ADNr 16S ont également été réalisées de manière à évaluer d'éventuels phénomènes d'inhibition. Un exemple de résultats est présenté Figure 50.



**Figure 50: Séparation des produits PCR issus de l'amplification de l'ADNr16S en gel d'agarose**  
Un produit PCR à la taille attendue de 1500 pb est détecté dans l'ensemble des échantillons testés.

Ces résultats suggèrent donc que les matrices carbonées et les POP n'inhibent pas l'amplification de l'ADNr 16S par PCR, au temps 0 de la cinétique. Les échantillons d'ADN ont été envoyés en fin d'année 2020 à la société Genoscreen pour les analyses de métabarcoding (prestation en sous-traitance). Du fait des conditions sanitaires actuelles et de la réquisition des plateformes pour les détections de variants COVID, nous n'avons à ce jour pas de retour de ces analyses, ce qui ne nous permet pas de conclure par rapport aux effets des POP et/ou matrices carbonées sur la structure des communautés microbiennes.

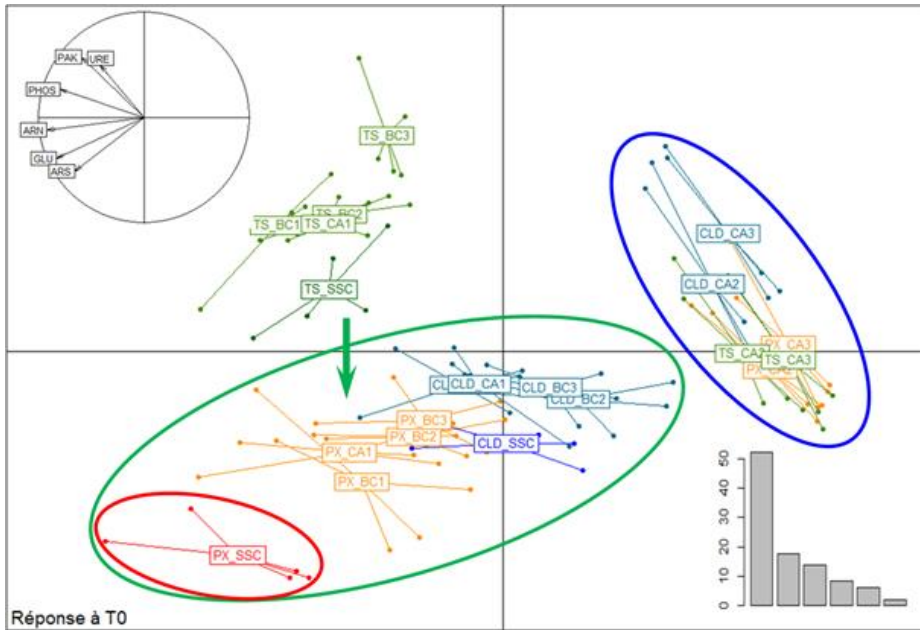
### 7.3.3.4. Activités enzymatiques des sols

Les activités Phosphatase (PHOS), Arylsulfatase (ARS),  $\beta$ -Glucosidase (bGLU), Uréase (URE), Arylamidase (ARN), Phosphatase alcaline (PAK), ont été mesurées selon la norme ISO 20130 :2018, issues de modifications des protocoles respectifs de : Tabatabai et Bremner (1970 PHOS, PAK), Dick et al (1996 ARS), Tabatabai et Bremner (1972 GLU), Sinsabaugh et al (2000 URE) et Acosta-Martinez et Tabatabai (2000a ARN).

Environ exactement 4 g de sol sont pesés (en triplicat) pour chaque échantillon, et 25 ml d'eau sont ajoutés avant agitation 10 min à 250 rpm. Trois essais et un témoin sont réalisés pour chaque triplicat. Respectivement, les substrats utilisés sont le 4-nitrophénylphosphate, 4-nitrophénylesulfate, le 4-b-nitrophényl glucopyranoside, l'urée, le L-leucine  $\beta$ -naphthylamide hydrochloride, le 4-nitrophénylphosphate, dans les puits essais afin de mesurer les activités PHOS, PAK, ARS  $\beta$ GLU, URE, ARN. La concentration de produit libéré est rapportée soit à une gamme de para-nitrophénol (Sigma) pour les activités PHOS, PAK, ARS, et  $\beta$ GLU, soit à une gamme de NH<sub>4</sub>Cl (Sigma) pour l'URE et le b-naphtylamide pour l'ARN. Les mesures sont effectuées sur microplaques 96 puits (PS, Nunc, VWR) avec un lecteur Infinite 200 (Técan). Les activités enzymatiques du sol sont exprimées en mU (équivalent nmole de produit libéré par minute) par gramme de sol sec.

Les résultats de l'ACP sur l'ensemble des échantillons au temps initial (T0 au moment de l'inoculation) (Figure 51) présentent une dynamique de réponse des enzymes allant dans la même direction. Ils montrent également de très grosses différences entre les modalités. Une différence importante entre les sols sans contaminants (en vert), les sols avec un apport de charbon

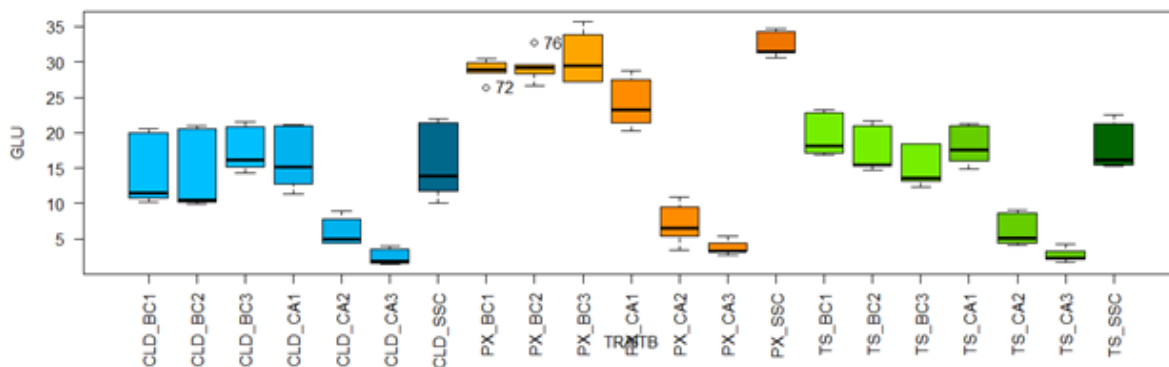
actif (CA2 et CA3, ellipse bleue) qui inhibent fortement les activités, et l'apport de PCB sur sol sans matrice carbonée qui semble avoir des activités stimulées (ellipse rouge).



**Figure 51: ACP des mesures au temps T0**

(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, rouge/orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

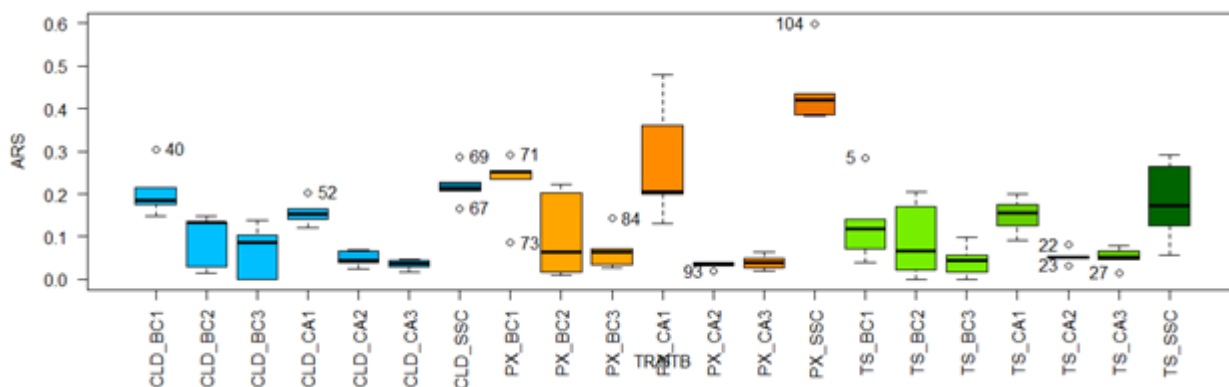
Si l'on examine les différentes activités individuellement, il existe une grande variabilité dès le temps initial qui correspond à l'apport d'inoculum microbien sur les différents sols artificiels contaminés avec ou sans matrice carbonée. L'activité  $\beta$ -Glucosidase (GLU) présente de grandes disparités entre les échantillons dès le temps initial. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité GLU est augmentée très significativement avec la présence de PCB. L'apport de matrice carbonée diminue significativement l'activité GLU avec la présence de charbons actifs CA2 et CA3 dans les échantillons sols témoins non contaminés (effet significatif), mais également en présence de PCB et chlordécone.



**Figure 52 : Activité  $\beta$ -glucosidase donnée en mU/g de sol sec**

(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

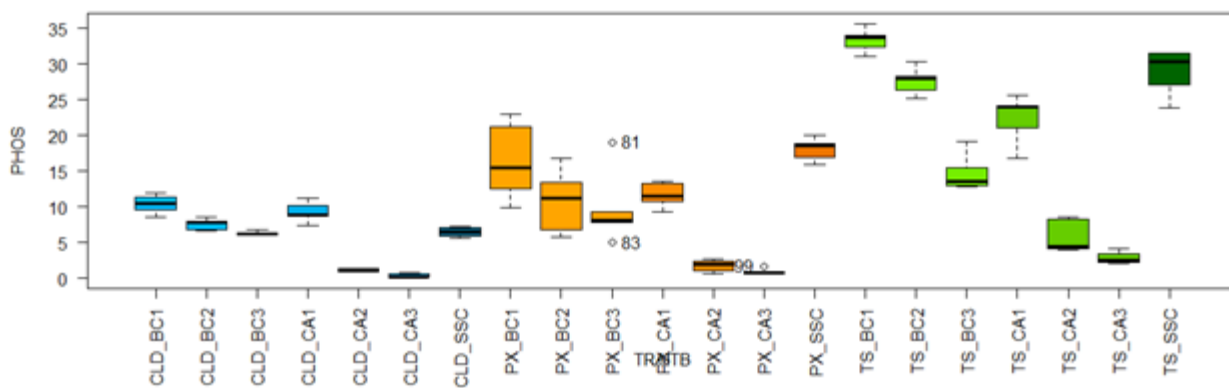
La faible détection d'activité GLU (Figure 52) dans toutes les modalités amendées avec les charbons actifs CA2 et CA3 semble indiquer l'existence d'un effet négatif de ces deux matrices sur l'activité enzymatique. Cet effet pourrait être lié à une diminution de l'accessibilité du substrat et/ou de l'enzyme dans la suspension de sol sur laquelle la mesure est effectuée. Cet effet est retrouvé pour toutes les enzymes à T0 exception faite de l'activité URE.



**Figure 53: Activité arylsulfatase donnée en mU/g de sol sec**

(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

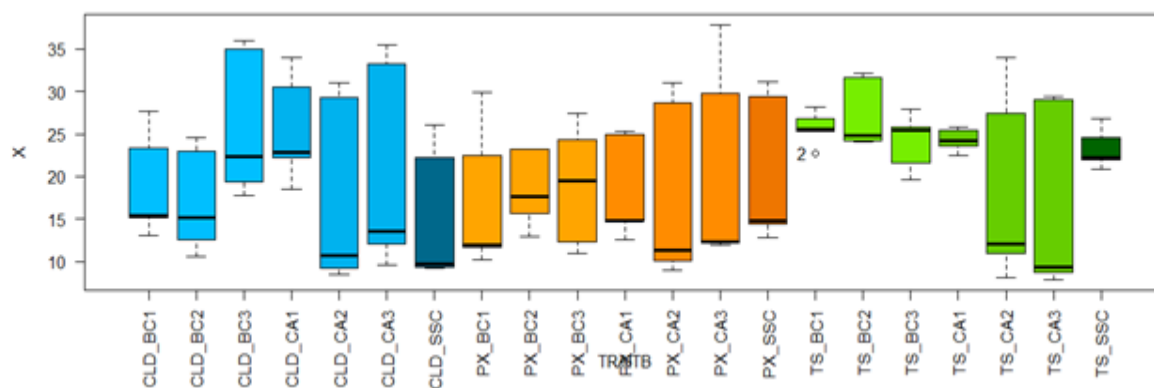
L'activité arylsulfatase (ARS) présente de grandes disparités entre les échantillons dès le temps initial. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité ARS est augmentée très significativement avec la présence de PCB. L'apport de matrice carbonée diminue globalement l'activité ARS, notamment pour les matrices BA3, CA2 et CA3 dans les échantillons sols témoins non contaminés (effet significatif). L'effet conjoint contaminant/matrice montrent des effets différents selon les matrices. Comme pour les sols témoins, les matrices les plus impactantes sont les biochars BC2 et BC3 ainsi que les charbons actifs C12 et CA3. Pour les sols contaminés avec les PCB, le biochar BC1 semble limiter l'effet du PCB sur l'activité ARS. Aucun effet de la chlordécone n'est visible. Les activités mesurées au temps initial sont dans des valeurs extrêmement basses par rapports aux activités retrouvées en sols de culture, en limite de quantification.



**Figure 54: Activité phosphatase donnée en mU/g de sol sec**

(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

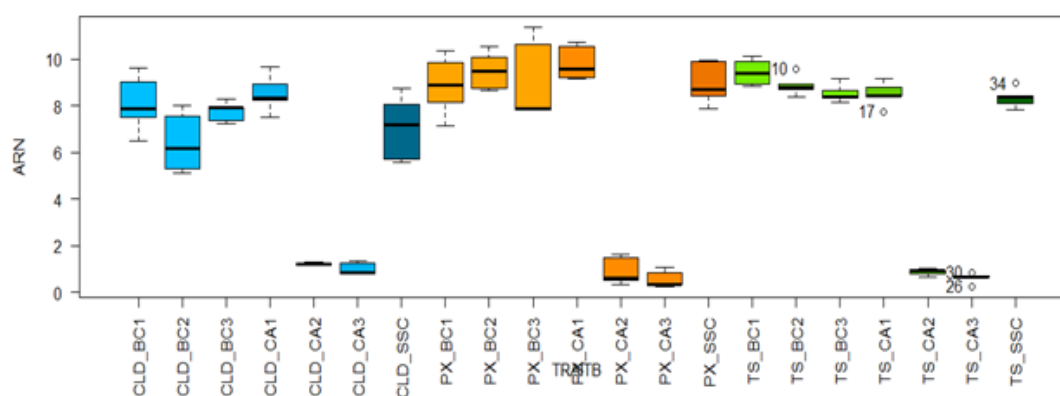
L'activité Phosphatase (PHOS), présente de grandes disparités entre les échantillons dès le temps initial. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité PHOS est diminuée très significativement avec la présence de CLD et significativement avec les PCB. L'apport de matrice carbonée diminue significativement l'activité PHOS en présence de biochar BC3 et de charbons actifs CA2 et CA3 dans les échantillons sols témoins non contaminés (vert, effet significatif), mais également en présence de PCB (orange) et chlordécone (bleu). La diminution importante d'activité PHOS dans toutes les modalités avec CA2 et CA3 semble indiquer un effet de la matrice sur la séquestration ou l'inhibition de l'activité enzymatique. L'effet séquestrant des matrices carbonées par rapport à l'effet des polluants est très faible et surtout visible pour le biochar BC1 en présence de CLD. Les activités mesurées au temps initial sont dans les valeurs basses par rapport aux activités retrouvées en sols de culture.



**Figure 55: Activité uréase donnée en mU/g de sol sec**

(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec é, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

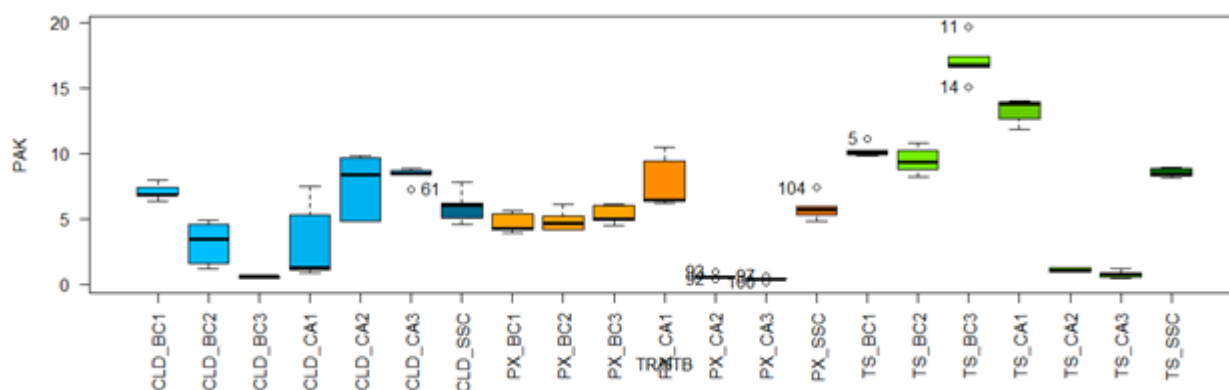
L'activité Uréase (URE) présente peu de disparité entre les échantillons au le temps initial, mais une variabilité très importante intra modalité, notamment dans les échantillons contenant les matrices carbonées CA2 et CA3. Les activités mesurées au temps initial sont dans les valeurs hautes par rapport aux activités retrouvées en sols de culture.



**Figure 56: Activité arylamidase donnée en mU/g de sol sec**

(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

L'activité arylamidase (ARN) présente moins de disparités entre les échantillons. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité ARN n'est pas impactée par la présence de CLD ou de PCB. L'apport de matrice carbonée diminue significativement l'activité ARN en présence de charbons actifs CA2 et CA3 dans les échantillons sols témoins non contaminés (vert, effet significatif), mais également en présence de PCB (orange) et chlordécone (bleu). Les activités mesurées au temps initial sont dans les valeurs moyennes basses par rapport aux activités retrouvées en sols de culture.



**Figure 57: Activité phosphatase alcaline donnée en mU/g de sol sec**

(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

La réponse de la phosphatase alcaline (PAK) présente de grandes disparités entre les échantillons dès le temps initial. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité PAK est diminuée légèrement en présence de CLD et significativement

diminuée avec les PCB. L'apport de matrice carbonée diminue significativement l'activité PAK en présence de biochar de charbons actifs CA2 et CA3 et est très augmentée en présence de biochars BC2 et BC3 dans les échantillons sols témoins non contaminés (vert, effet significatif). En présence de PCB (orange) cet effet est visible avec les charbons actifs CA2 et CA3 et en présence de chlordécone (bleu) avec les biochars BC2 et BC3 et le charbon actif CA1. L'effet séquestrant des matrices carbonées par rapport à l'effet des polluants est surtout visible pour le biochar BC1 et les charbons actifs CA2 et CA3 en présence de CLD. En présence de PCB, cet effet séquestrant est visible uniquement avec le charbon actif CA1. Les activités mesurées au temps initial sont dans des valeurs basses par rapport aux activités retrouvées en sols de culture. Les résultats de l'ACP sur l'ensemble des échantillons au temps final 28 jours présentent une dynamique de réponse des enzymes allant dans la même direction, exceptée pour l'activité uréase (URE). Ils montrent également de très grosses différences entre les modalités. Une différence importante entre les sols avec un apport de charbon actif (CA2 et CA3, ellipse bleue) qui inhibent fortement les activités toutes les modalités, et les autres. L'effet polluant est peu visible, excepté pour la modalité PCB sans matrice qui présente globalement des activités plus fortes que les autres (évolution sur les activités de l'axe des abscisses). Les sols avec chlordécone sont plus répartis sur l'axe des ordonnées indiquant un effet sur l'activité URE surtout.

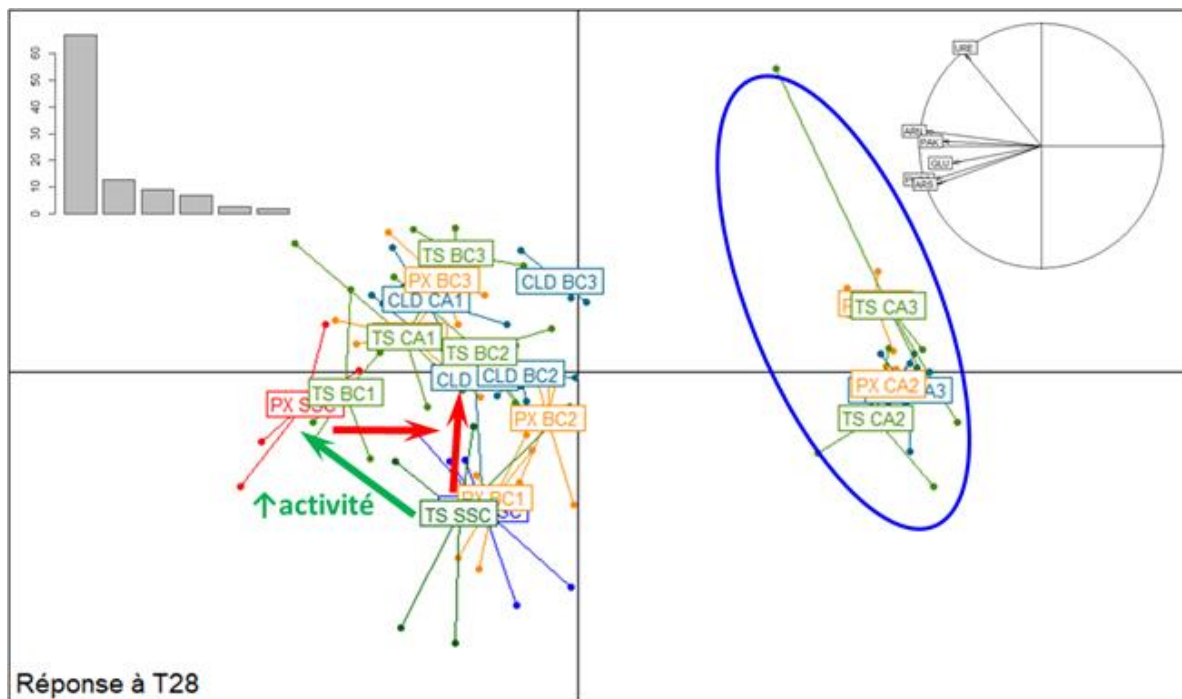


Figure 58: ACP des mesures au temps T28j

(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, rouge/orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

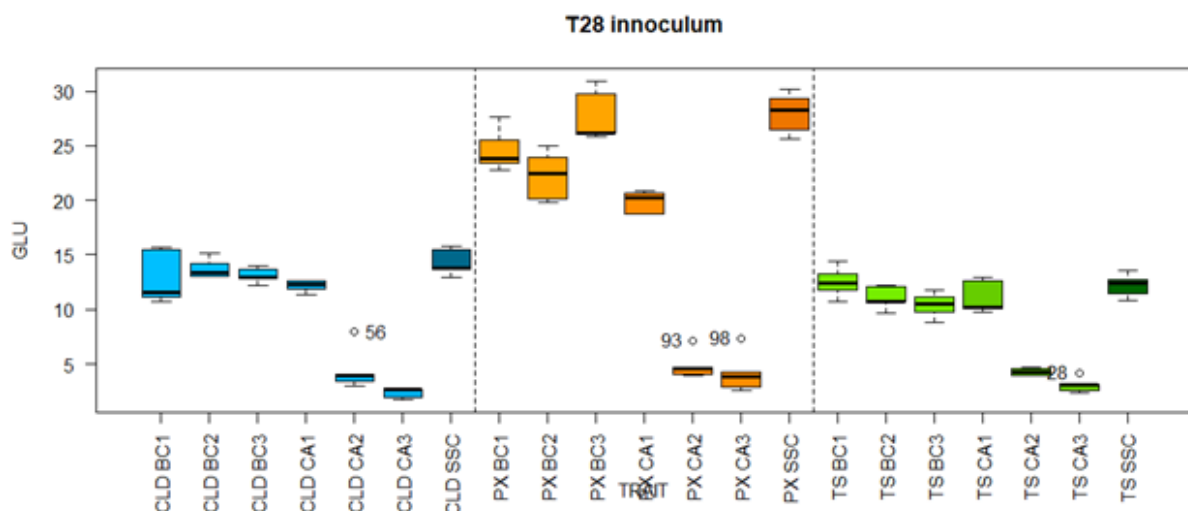
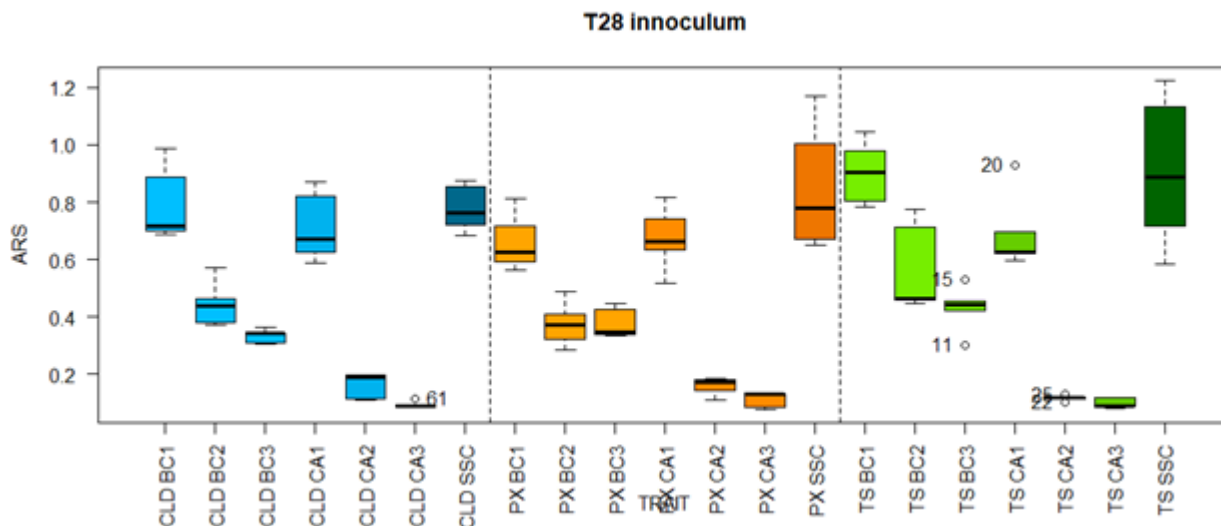


Figure 59: Activité  $\beta$ -Glucosidase donnée en  $\mu$ U/g de sol sec

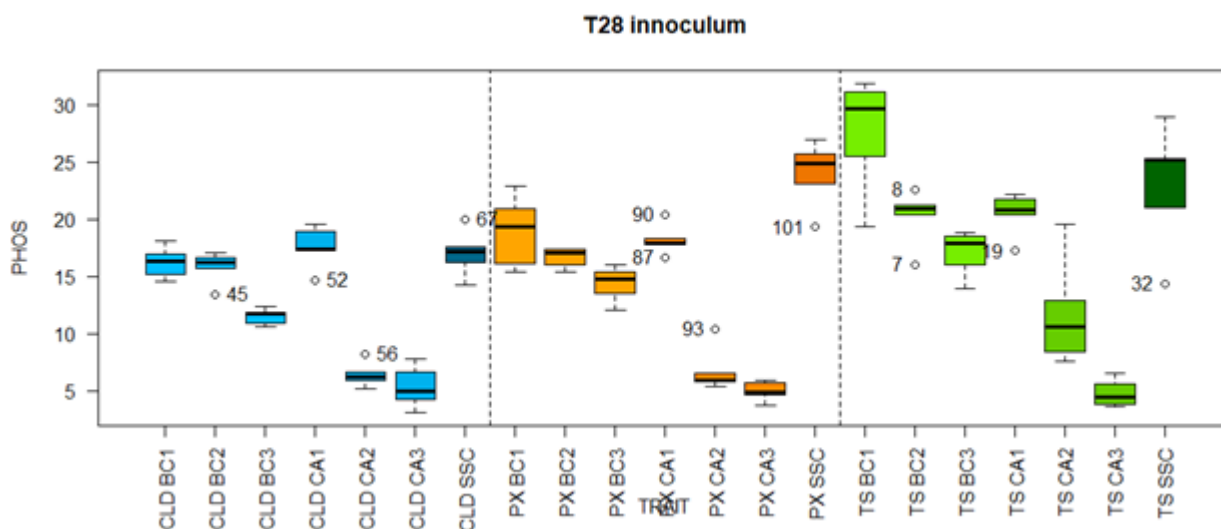
(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

L'activité  $\beta$ -Glucosidase (GLU) présente de grandes disparités entre les échantillons après 28 jours d'incubation. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité GLU est augmentée très significativement avec la présence de PCB. L'apport de matrice carbonée diminue significativement l'activité GLU avec la présence de charbons actifs CA2 et CA3 dans les échantillons sols témoins non contaminés (effet significatif), mais également en présence de PCB et chlordécone. L'effet matrice sur la séquestration des PCB est bien visible sur les modalités BC2 et CA1. La diminution importante d'activité GLU dans toutes les modalités avec CA2 et CA3 semble indiquer un effet de la matrice sur la séquestration ou l'inhibition de l'activité enzymatique.



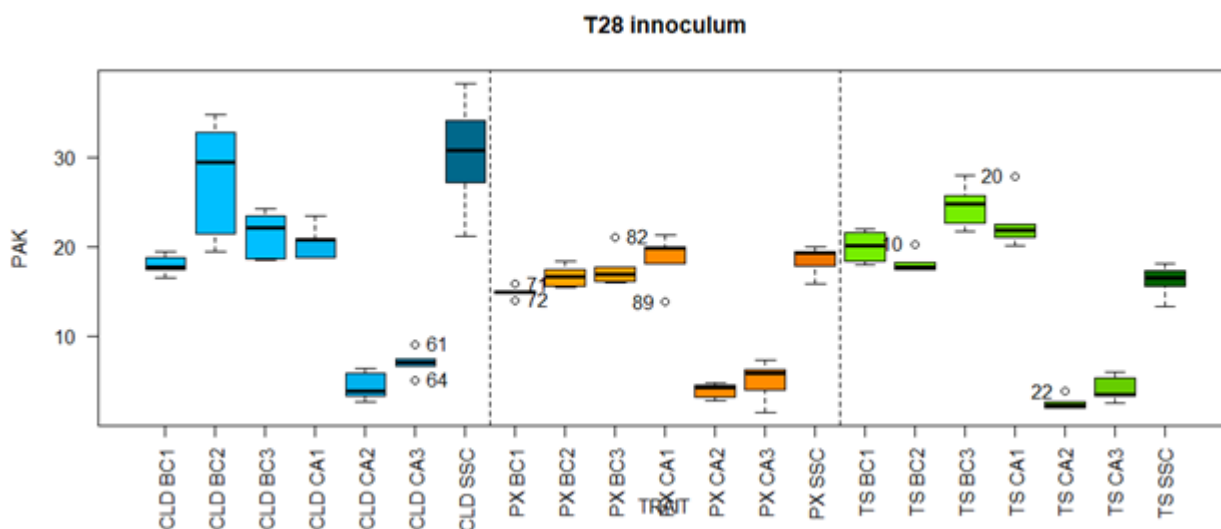
**Figure 60: Activité arylsulfatase donnée en mU/g de sol sec**  
(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

L'activité arylsulfatase (ARS) présente de grandes disparités entre les échantillons après 28 jours d'incubation. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité ARS n'est pas impactée par les contaminants. L'apport de matrice carbonée diminue l'activité ARS, notamment pour les matrices BA2, BA3, CA2 et CA3.



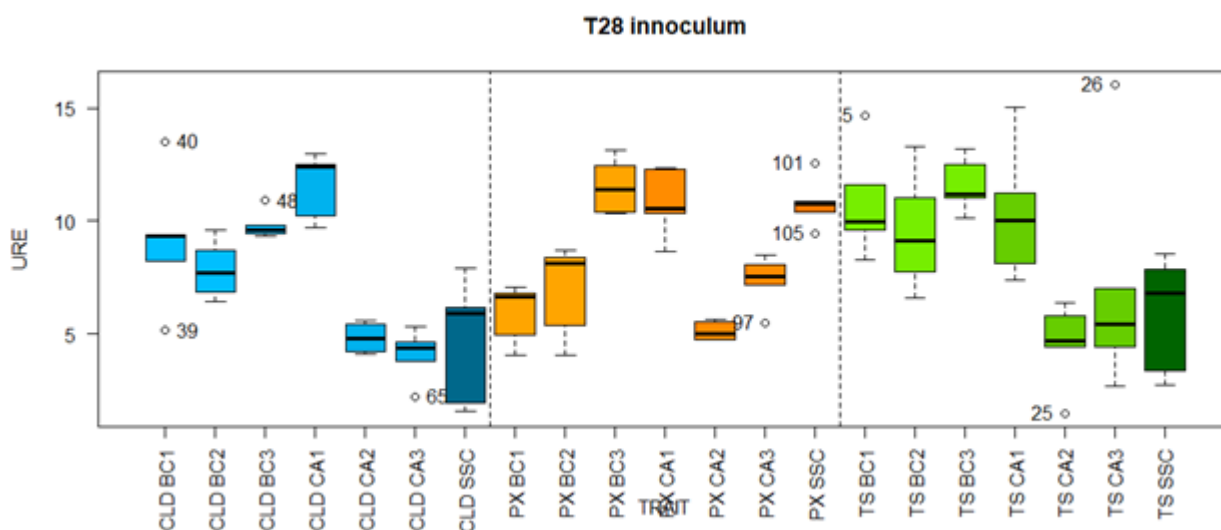
**Figure 61: Activité phosphatase donnée en mU/g de sol sec**  
(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

L'activité Phosphatase (PHOS), présente de grandes disparités entre les échantillons après 28 jours d'incubation. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité PHOS est légèrement diminuée en présence de CLD. L'apport de matrice carbonée diminue significativement l'activité PHOS en présence de biochar BC3 et de charbons actifs CA2 et CA3 dans les échantillons sols témoins non contaminés (vert, effet significatif), mais également en présence de PCB (orange) et chlordécone (bleu). La diminution importante d'activité PHOS dans toutes les modalités avec CA2 et CA3 semble indiquer un effet de la matrice sur la séquestration ou l'inhibition de l'activité enzymatique.



**Figure 62: Activité phosphatase alcaline donnée en mU/g de sol sec**  
 (vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

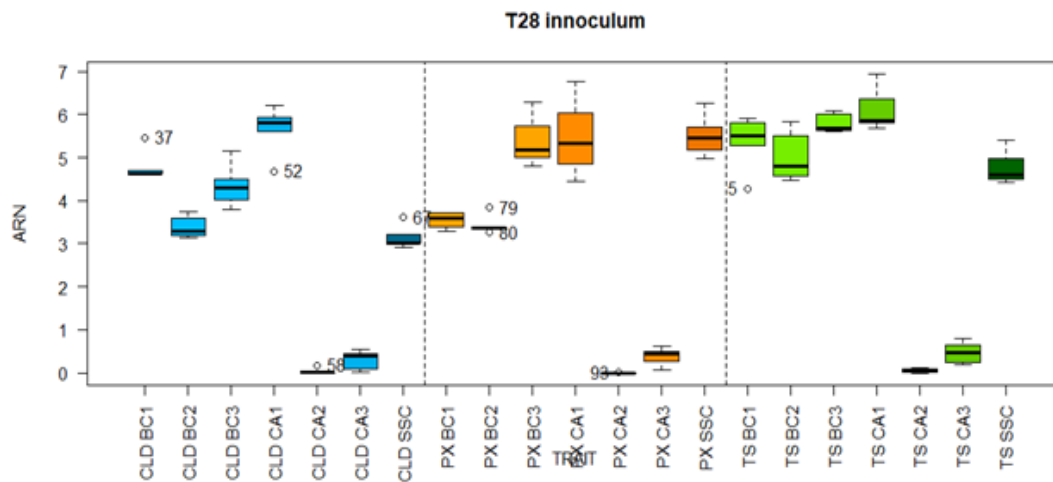
La réponse de la phosphatase alcaline (PAK) présente de grandes disparités entre les échantillons après 28 jours d'incubation. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité PAK est très augmentée en présence de CLD. L'apport de matrice carbonée diminue significativement l'activité PAK en présence de de charbons actifs CA2 et CA3 et est augmentée en présence du biochar BC3 et du charbon actif CA1 dans les échantillons sols témoins non contaminés (vert, effet significatif). L'effet séquestrant des matrices carbonées par rapport à l'effet des polluants est surtout visible pour le biochar BC1 en présence de CLD.



**Figure 63: Activité uréase donnée en mU/g de sol sec**  
 (vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

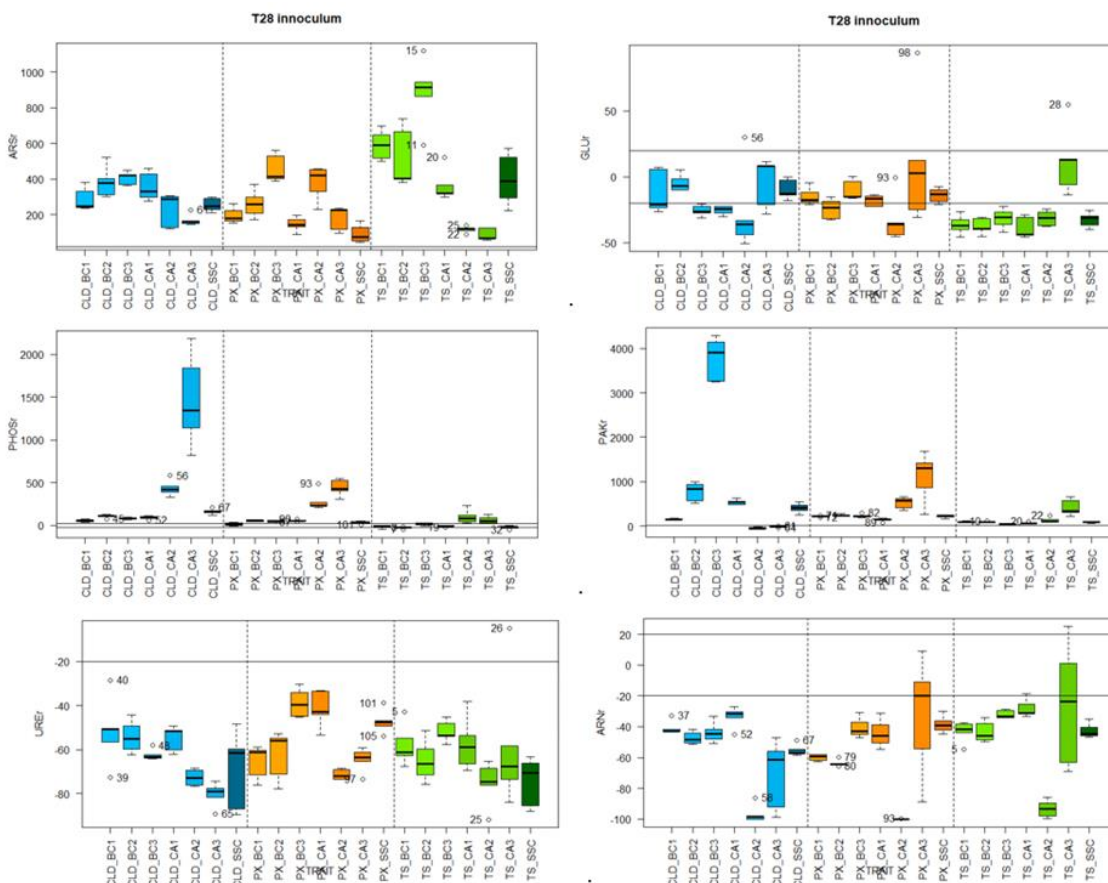
La réponse de l'uréase (URE) présente moins de disparités entre les échantillons après 28 jours d'incubation. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité URE est augmentée en présence de PCB. Inversement à toutes les autres enzymes, l'apport de matrice carbonée augmente l'activité URE en présence de tous les biochars et du charbon actif CA1 dans les échantillons sols témoins non contaminés (vert, effet significatif). L'effet séquestrant des matrices carbonées par rapport à l'effet des polluants est surtout visible pour les biochars BC1 et BC2 ainsi que le charbon actif CA2 en présence de PCB.





**Figure 64: Activité arylamidase donnée en mU/g de sol sec**  
(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

L'activité arylamidase (ARN) présente beaucoup plus de disparités entre les échantillons après 28 jours d'incubation. Pour les modalités sans matrices carbonées, l'activité ARN n'est pas impactée par la présence de PCB, mais la chlordécone inhibe significativement l'activité. L'apport de matrice carbonée diminue significativement l'activité ARN en présence de charbons actifs CA2 et CA3 dans tous les échantillons de sols. L'effet matrice sur la séquestration de la chlordécone est visible sur la modalité BC1 et BA3.



**Figure 65: Evolution des activités enzymatiques T28/T0: %évolution par rapport T0**  
(vert : sols sans contaminant, bleu : sols avec chlordécone, orange : sol avec PCB, couleur plus foncée : modalité sans matrice carbonée)

Une analyse globale d'évolution des activités durant l'incubation montre que l'activité du cycle du soufre a beaucoup augmenté quelque soit la modalité car le niveau initial était extrêmement faible. Cette augmentation est plus importante dans les sols témoins sans contaminant, notamment en présence de matrice carbonée BC3. Les évolutions les plus faibles sont retrouvées avec les charbons actifs CA2 et CA3, et en présence de PCB. L'effet de séquestration des contaminants est bien visible en présence de matrice BC3 et CA2 dans les sols contements des PCB.

Les activités du cycle du phosphore ont également augmenté au cours de l'incubation, notamment en présence de contaminant avec les matrices carbonées CA2 et CA3 qui étaient très diminuées au temps initial. Cette augmentation est très faible dans les sols non contaminés. Dans les sols CLD sans matrice, l'activité a augmenté durant l'incubation. L'effet de séquestration des contaminants est plus visible en présence de matrice CA2 et CA3 dans les sols contements de la CLD (activité PAK), et avec les biochars si nous regardons l'activité PHOS.

L'activité du cycle du carbone est qui a le moins évoluée durant l'incubation. Seule l'activité des sols non contaminés a diminué, excepté en présence de matrice CA3, ainsi que les modalités PCB/CA2 et CLD/CA2. L'effet de séquestration des contaminants est plus visible en présence de matrice CA2 et CA3 dans les sols contements des PCB et de la CLD.

Les activités du cycle de l'azote ont significativement diminué durant l'incubation. Selon l'enzyme, l'effet des contaminants est différent. La diminution est plus importante pour la CLD sur l'activité ARN, et plus importante pour les PCB sur l'activité uréase. L'effet de séquestration des contaminants est plus visible en présence de matrice CA2 et CA3 dans les sols contements des PCB (activité URE), et, avec les biochars en ce qui concerne l'activité ARN.

En conclusion, le cycle du Phosphore est sensible à la présence de CLD, et le cycle du carbone plus sensible à la présence de PCB. Concernant l'effet matrice, les matrices carbonées CA2 et CA3 diminuent très fortement dès le temps initial l'ensemble des activités enzymatiques, certainement par un effet de séquestration des enzymes. Il ne semble pas pertinent d'utiliser les mesures d'activité enzymatique comme marqueurs d'écotoxicité dans le cas de sols amendé avec des charbons actifs notamment lorsqu'ils sont apportés sous forme de poudre susceptibles de présenter une forte surface d'adsorption des enzymes et/ou substrats ou produits de réaction de ces enzymes. Concernant l'effet de séquestration des contaminants par les matrices carbonées, il ressort que pour les PCB, la matrice qui permet le mieux de limiter leurs effets sur les activités microbiennes est le charbon actif CA1 puis le biochar BC1. Pour la chlordécone, en fonction de l'enzyme, la matrice optimale est différente : CA1 et BC1 pour l'activité PHOS, BC1 pour l'activité PAK, BC1 et CA1 :CA2 pour l'activité URE, BC1 et BC3 pour l'activité ARN. Le biochar BC1 semble donc être celui qui permet le mieux de répondre à la problématique de séquestration des contaminants afin de maintenir une activité proche de celle retrouvée sur des sols non contaminés.

## 7.4. Synthèse

### 7.4.1. Transfert : critères définissant l'efficacité de la méthode

A la lumière de cette première phase expérimentale sur sol standard (OCDE, 1984), il apparaît que la stratégie employée (amendement à hauteur de 2% et maturation pendant 3 mois) permet bien, **concernant le transfert de réduire efficacement la disponibilité environnementale, la biodisponibilité pour les végétaux et la poule pondeuse.**

Toutefois certains éléments seraient à prendre en

– cette efficacité **serait dépendante des matrices carbonées employées.** Ainsi le biochar de chêne 500°C (BC1) ne serait pas susceptible de réduire le transfert aux biotes quel que soit les tests employés. Le biochar de chêne 700°C (BC2) pourrait permettre de réduire faiblement la disponibilité environnementale, et le transfert vers les végétaux. Ces biochars issus de substances ligneuses (cf pré-étude chapitre 4) sembleraient être moins efficaces que le biochar de rénouée du Japon 700°C (BC3). Enfin les charbons actifs sous forme de poudre (CA2, CA3) apparaissent bien plus efficaces que celui sous forme de granulés (CA1). CA2 et CA3 semblent limiter fortement la disponibilité environnementale, le transfert aux végétaux et la biodisponibilité relative.

Ainsi nous pouvons établir la hiérarchie suivante concernant les matrices plus susceptibles à limiter le transfert au biote :

$$\text{CA2} \geq \text{CA3} \gg \text{CA1} > \text{BC3} > \text{BC2} \gg \text{BC1}$$

D'un point de vue mécanistique, il semblerait que les caractéristiques de porosité jouent un rôle important dans l'interprétation de ces résultats. La taille obtenue des pores et leur classification permet de souligner l'importance de la **microporosité et de la mésoporosité** pour réduire le transfert. Plus spécifiquement deux classes de pores semblent importantes pour réduire ce transfert : les tailles de pores entre 0 et 30Å (0-3 nm); entre 44 et 200Å (4,4 et 20 nm). La **macroporosité 200 - 3000Å (20 à 300 nm) ne permettrait pas de réduire le transfert aux végétaux et aux animaux**, tandis qu'une diminution de disponibilité environnementale peut être observée.

Cette **efficacité serait également dépendante des molécules étudiées :**

○ **Les dioxines, au regard des tests sur animaux, seraient les molécules répondant le mieux à cette stratégie** et présentant les plus forts niveaux de réduction (CA2-CA3 ; BR de  $16.1 \pm 4.8\%$ , moyenne  $\pm$  ET). Cela n'a pas pu, toutefois, être corroboré pour le moment par les autres tests menés du fait des limites de quantification plus élevée pour ces congénères dans les matrices végétales et dans le surnageant du test de disponibilité environnementale. Il s'en suivrait un risque très limité concernant ces molécules de transfert à la poule pondeuse, notamment au jaune d'œuf, une des matrices alimentaires présentant usuellement les plus fortes concentrations pour ces polluants.

○ **Les PCB-DL (ici le PCB 77) seraient ensuite les molécules répondant le plus à cette stratégie.** Les facteurs de biodisponibilité relative obtenus pour le CA2-CA3 (BR de  $40,6 \pm 8.9\%$ , moyenne  $\pm$  ET) vs le reste des matrices testées ( $71.2 \pm 17.4\%$ , moyenne  $\pm$  ET). A ce stade, une diminution de la disponibilité environnementale d'au moins 19% (non significatif, valeurs remplacées par la LOQ) a été obtenue, tandis que pour le transfert vers les végétaux une réduction de plus de 50% pourrait être obtenue. Toutefois du fait que plus de la moitié des valeurs du groupe non amendé sont inférieures à la limite de quantification, une confirmation serait nécessaire de ce niveau de réduction.

○ **La CLD quant à elle, serait moins sensible à cette stratégie.** Concernant le transfert aux animaux, il apparaît que la réduction observée est la plus faible, même pour les charbons actifs les plus efficaces (CA2-CA3 ; BR de  $70.7 \pm 14\%$ ), les autres matrices apparaissant inopérantes (BR  $96.2 \pm 7.2\%$ ). Pour la disponibilité environnementale, des niveaux bien plus faibles ont été obtenus (CA2-CA3 ; disponibilité relative  $11 \pm 1\%$ ) ; les autres matrices apparaissant également inopérantes (non différent de 100%). Enfin pour les végétaux, un transfert plus réduit pour les groupes CA2-CA3 a été obtenu ( $6 \pm 2\%$ ) les autres groupes s'avérant également inefficaces à limiter le transfert de la CLD aux parties aériennes de la plante (non différent de 100%)

○ Enfin, les **PCB-NDL apparaissent être le groupe de molécules les plus récalcitrants à la stratégie de séquestration employée.** Tout d'abord une biodisponibilité relative élevée subsiste malgré l'emploi de la stratégie de séquestration même avec les charbons actifs les plus efficaces (CA2-CA3 ; BR  $76 \pm 21\%$ ), cette stratégie apparaissant non efficace pour les autres matrices (BR  $87 \pm 19\%$ ). Le congénère 28 apparaîtrait toutefois distincts des autres, présentant possiblement des niveaux de biodisponibilité plus faibles pour le CA2-CA3 ( $39 \pm 13\%$ ) mais également pour les autres matrices ( $52 \pm 22\%$ ). Des niveaux de réduction de disponibilité environnementale plus élevés semblent avoir été obtenus pour le CA2-CA3 (8% - niveaux des LQ) mais également pour les autres matrices (de 58 à 67%) pour les PCB 138 et 153, des réductions étant visibles pour le PCB 28, 52, 101 et 180 mais très limitées du fait des LQ. Pour les végétaux, le transfert apparaît également très réduit pour les PCB 101, 138, 153 et 180 (moyenne des concentrations relatives : entre 10 et 15%) pour les charbons CA2-CA3, aucune réduction n'ayant pu être décelée lors de l'emploi des autres matrices.

Ainsi nous pouvons établir la hiérarchie suivante concernant les congénères les plus susceptibles à la stratégie proposée :

$$\text{Dioxines/Furanes}^* > \text{PCB-DL}^* = \text{CLD} > \text{PCB-NDL}$$

\* : classement valable pour ces molécules uniquement sur la base de l'essai sur poules pondeuses, les valeurs étant en dessous de la limite de quantification pour les courgettes et la disponibilité environnementale.

- cette efficacité serait également dépendante du biote cible du transfert ou de la méthode d'évaluation :

comme montré dans le paragraphe précédent, une hiérarchie entre les taux de transfert (relativement au sol non amendé) est obtenue. Ainsi pour une même matrice et un même congénère cette séquestration apparaît plus efficiente suivant cette hiérarchie :

### Disponibilité environnementale relative ≥ Transfert relatif (Essais sur végétaux) >> Biodisponibilité relative (Essais sur poules pondeuses)

























	BC1 - BC2 - BC3 - CA1		CA2 - CA3	
PCB-NDL		87 ± 19% <sup>b</sup>		76 ± 21%
		58-67% (PCB 138-153)		8% <sup>#</sup> (PCB 138-153)
		100%*		10-15% <sup>#</sup>
CLD		96.2 ± 7.2 % <sup>b</sup>		70.7 ± 14 %
		100%*		11 ± 1%
		100%*		6 ± 2%
PCB-DL		86.6 ± 19.3% <sup>b</sup>		40,6 ± 8.9 %
		100%*		81% <sup>a</sup>
		100%*		50% <sup>a</sup>
Dioxines et Furanes		68.6 ± 26.5%		16.1 ± 4.8%
		ND		ND
		ND		ND

Tableau 20: Synthèse des résultats de transfert : taux relatifs observés suivant les matrices carbonées employées, les molécules étudiées et le type de test.

Les données présentées sont la moyenne suivies de l'écart type.

ND : non déterminé (nombre trop important de valeurs en dessous de la LQ)

\* : les données supérieures à 100% ont été remplacées par 100%, de ce fait aucun écart-type n'a été calculé

<sup>a</sup> : du fait de nombreuses données en dessous de la LQ, une valeur moyenne est présentée en remplaçant les données manquantes par la LQ.

<sup>#</sup> : Toutes les données sont inférieures à la LQ et ont été remplacées par la LQ.

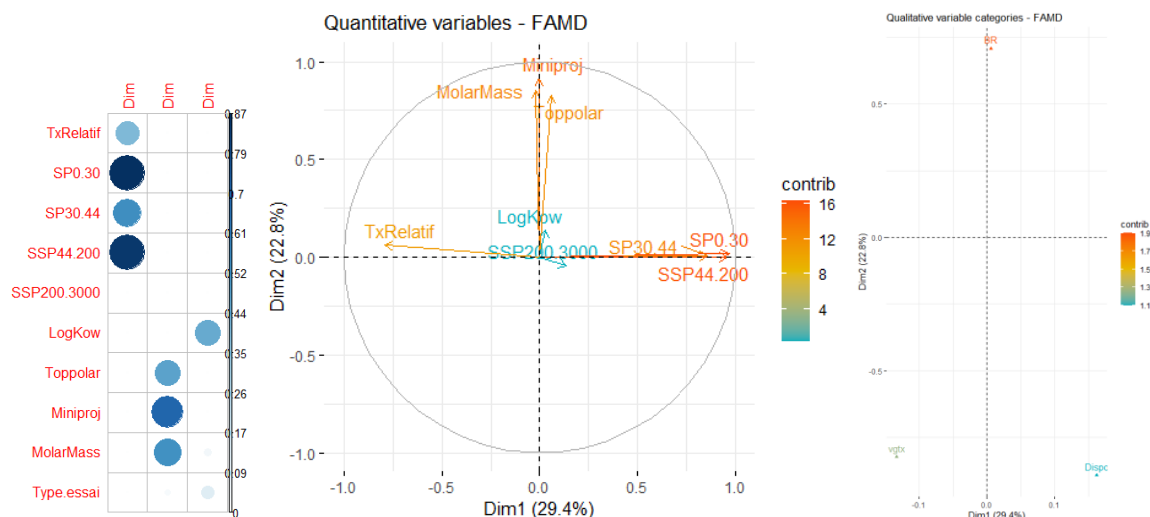
<sup>b</sup> : Non statistiquement différent de 100%

#### 7.4.2. Transfert : effets des propriétés des molécules et des charbons sur les résultats obtenus

A partir des données issues des différents essais visant à étudier le transfert, il a été procédé à la réalisation d'une Analyse factorielle de données mixtes sur (1) les caractéristiques des molécules (2) les caractéristiques de taille de pores obtenues en chapitre 6 (3) les différents tests employés. Pour chaque paramètre suivi, les données ont d'abord été normalisées. Les données suivantes ont été incluses :

- pour les molécules : le log de  $K_{ow}$ , la masse molaire, le rayon de projection minimum, la surface polaire accessible
- pour les matrices hautement carbonées : les différentes tailles de pores (en relatif exprimé en %) multiplié par la surface spécifique active trouvée,
- pour les données, le taux relatif ainsi que les données de biodisponibilité, de disponibilité environnementale et de transfert relatif au végétaux (mis en illustratif pour ces 3 dernières). Ces différents taux ont été calculés suivant la même méthodologie : rapport des concentrations retrouvées pour le traitement sur le sol non amendé,
- Le type de test a été rajouté ensuite comme seule variable qualitative (essais soit sur poule pondeuse, sur courgette soit par disponibilité environnementale),

Il apparaît que les deux premières dimensions expliquent correctement les données obtenues (52.2%). La troisième dimension apparaît moins explicative (12,7%). Il apparaît que la première dimension (29.4%) représente surtout les données de transfert (19.3% de cette dimension) et de porosité de matériaux (taille de pores 0-30 (29%) ; 44-200 (28%) ; 30-44 (23%)) ; la deuxième correspond aux données de caractérisation des molécules (le rayon de projection minimum (33%) ; la masse molaire (29%), la surface polaire accessible (27%)) et le type d'essai (10%). La troisième dimension étant surtout composée du  $\log K_{ow}$  (47%), de la masse molaire (16%) et du type d'essais (35%).



**Figure 66: Effet des propriétés des molécules, caractéristiques des matières carbonées et type d'essai évaluant le transfert des polluants**

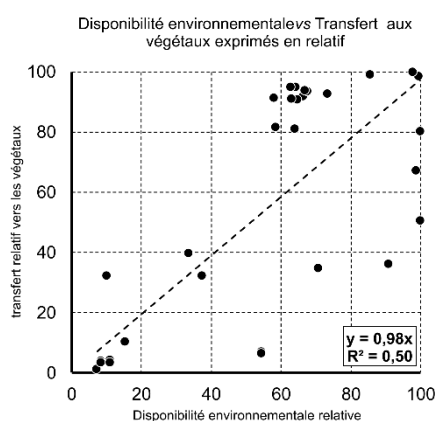
La fonction AFDM du logiciel R a été utilisée. Le modèle intègre un taux relatif pour chaque couple matrice carbonée - polluant obtenus.

On peut remarquer (Figure 66) tout d'abord l'importance des données de porosité dans l'explication de ces taux relatifs obtenus. Il apparaît très clairement que les données de micro et mésoporosité (classe 0-30 Å, 30-44 Å et 44-200 Å) sont corrélées négativement avec les taux relatifs, sous tendant que plus la matrice est méso et/ou microporeuse, plus cette dernière réduirait le transfert quel que soit le test employé. Il apparaît également que le taux relatif n'apparaît pas corrélé aux données des molécules qui apparaissent sur un axe perpendiculaire. Enfin la macroporosité apparaît peu explicative des taux relatifs obtenus.

Le faible impact des caractéristiques des molécules pourrait être dû aux propriétés très similaires de ces molécules lipophiles, la variabilité, notamment du log de  $K_{ow}$ , étant restreinte. De plus il faut souligner que les familles de molécules semblent se détacher le plus, les PCDD/F, n'ont été observées que concernant l'essai sur poule pondeuse.

### 7.4.3. Transfert : différences entre les essais

Pour vérifier les liens entre les différents essais menés, nous avons réalisé des régressions entre les données disponibles pour chaque essai et les taux relatifs obtenus. Ainsi seuls la chlordécone, les PCB 138, 153, 180 et le PCB 77 ont pris part à cette approche. Globalement il semble que les données de biodisponibilité relative sur poules pondeuses apparaissent peu corrélées à celles des autres tests. La disponibilité environnementale serait assez corrélée à la biodisponibilité des molécules chez les végétaux avec, toutefois, d'importants écarts observés. Il apparaît donc difficile à ce stade d'extrapoler les résultats d'un test à l'autre et ce même si chaque test discrimine bien les matrices efficaces (CA2 et CA3) des autres.



**Figure 67 : Régression linéaire réalisée sur les données de transfert vers le végétal et la disponibilité environnementale exprimés en relatifs au témoin sans amendement.**

Les données supérieures à 100% ont été ramenées à 100%.

Ainsi, à ce stade, il apparaît difficile d'extrapoler les données d'un essai à un autre.

#### **7.4.4. Innocuité**

Concernant l'effet des biochars et charbons actifs il a pu être montré que :

- les matrices carbonées CA2 et CA3 diminuent très fortement dès le temps initial l'ensemble des activités enzymatiques, certainement par un effet de séquestration des enzymes ou des substrats
- le BC1 serait le moins impactant et présenterait une activité proche de celle retrouvée dans les sols non contaminés.

De même pour les essais menés sur lombriciens :

- les matrices carbonées induisent une diminution importante de la masse des vers de terre (plus significative avec les charbons actifs), altèrent d'autres biomarqueurs, dont les protéines circulantes et des lipides totaux et une augmentation du stress oxydatif (SOD) et du système de détoxification.

Aussi il apparaît qu'un effet délétère de la stratégie d'amendement employée serait à prévoir.

Des investigations complémentaires permettraient d'identifier les mécanismes sous-tendant cette toxicité observée (effet indirect dû à une dénutrition par adsorption des nutriments ? une déshydratation due au fort pouvoir hygroscopique de ces matrices ? ou un effet direct dû à la persistance d'activité de ces matrices au cours du temps ?)

## **7.5. Sélection des matrices pour les essais sols naturels**

Ainsi deux données diamétralement opposées semblent émerger de cette stratégie : plus l'efficacité de réduction de transfert est importante (pour permettre le maintien du rôle agronomique du sol) plus il y aurait un impact sur la faune du sol.

Aussi la sélection des matrices d'intérêt n'a pu s'entendre comme un compromis entre ces deux paramètres du fait du contraste des résultats obtenus.

Du fait que :

- il est attendu un effet de séquestration *ie* de réduction de transfert de la stratégie testée
- que les mécanismes directs ou indirects de toxicité semblent difficile à cerner
- que de tels effets toxiques pourraient être à terme être contrebalancer par des pratiques agronomiques additionnels au seul amendement (ajout d'intrants par exemple).

Il a été décidé de continuer les essais sur un charbon issu du groupe de matrice ayant eu une réduction forte du transfert quel que soit la méthode employée. Aussi, seul le CA2 a été sélectionné pour mener à bien l'ensemble des phases suivantes du projet. Pour des approches utilisant de manière limitée du sol (essais sur poules pondeuses et disponibilité environnementale), le CA3 a été également testé.

## 8. Effet des matrices carbonées : essais sur sol naturel

La deuxième phase expérimentale a donc pour but de tester la matrice sélectionnée au terme de la première phase expérimentale dans des conditions s'approchant le plus de celles de terrain, ie sur du sol prélevé en zone contaminée.

Cette partie aura pour objectif :

- de confirmer ou d'infirmer les capacités à réduire le transfert sol-biote des polluants organochlorés
- de confirmer ou d'infirmer leurs effets écotoxicologiques sur la faune du sol.

Afin d'assurer l'homogénéité et de la comparabilité des résultats entre les différents volets d'investigation, deux étapes préalables ont été réalisées :

- la sélection de sols représentatifs de contextes de contamination distincts (i) celui métropolitain (PCB et PCDD/F) (ii) aux Antilles française (Chlordécone)
- une préparation en amont et homogène des amendements de sol.

### 8.1. Choix du sol contaminé aux PCB et PCDD/F

Le sol d'intérêt utilisé au cours de cette expérimentation a été gracieusement fourni par l'INERIS (par l'intermédiaire de Mme Karen Perronet) ayant été l'objet d'études menées dans le cadre du projet TROPHÉ (financé par l'ADEME). Le sol étudié a été prélevé sur un site situé à Saint Cyprien, dans le département de la Loire (42) à proximité relative des sources Galmier et de la Loire. Ce site est actuellement géré par l'ADEME du fait de la défaillance du responsable du site.

L'historique industriel de ce site explique sa pollution actuelle. L'activité de recyclage de cette ancienne usine a produit des déversements de fluide de transformateurs électriques générant une contamination des sols aux PCB notamment, anciennement utilisés dans comme isolant dans ces appareils.

Le 22 août 2008, un incendie s'est déclaré sur ce site en cours de dépollution mais qui servait également de point de stockage de palettes de bois. L'utilisation de l'eau a été proscrite du fait de la proximité des cours et sources d'eau et le feu a été circonscrit par recouvrement par les terres pollués du site. Le feu ne sera totalement maîtrisé que trois mois après son départ. La combustion continue contamina les terres en PCDD/F en plus de la contamination originelle en PCB. Cet évènement donna lieu à des interdictions de consommations de denrées animales et les polluants ont été décelés dans les végétaux sur cette zone.

Le sol de St Cyprien utilisé est celui de la maille P4 (fraction 0-1cm). La caractérisation détaillée de ce sol et de la pollution est disponible dans les livrables 1 et 2 du projet TROPHÉ (ADEME 2017) cf Figure 68.

Une analyse complémentaire a été confiée au LAS pour déterminer et confirmer les niveaux de contamination présents dans les sols au moment de leur utilisation au sein de ce projet et caractériser le sol. L'analyse des contaminants présents dans les sols sera réalisée par une chromatographie gazeuse couplée à un spectre de masse à haute résolution (GC-HRMS) pour les PCB, les dioxines et les furannes.

### 8.2. Sols contaminés à la chlordécone

Le cadre général de cette étude est de caractériser les propriétés structurales et texturales de 2 types de sols contaminés par la chlordécone. Nous nous intéresserons aussi en fin de rapport aux propriétés de porosité de 6 matières carbonées.

#### 8.2.1. Choix des parcelles

La bibliographie montre que 2 types de sols sont les plus fortement contaminés en Martinique: les andosols et les nitisols. Ces types de sols se situent essentiellement dans la partie nord de l'île, autour de la Montagne Pelée. Pour récolter ces 2 types de sols nous avons défini 2 sites de prélèvements. a) Type andosol (argile allophane) ; commune du Morne Rouge ; b) type nitisol (argile Halloysite) ; commune de Trinité

Les Andosols sont aussi appelés "sols à allophanes" car ils contiennent toujours une forte proportion de ces minéraux. Les allophanes sont des argiles provenant de l'altération des roches volcaniques (Quentin et al.,1991). Parmi les propriétés de ces sols, il en est une importante pour notre étude: les andosols présentent une capacité importante dans la séquestration du carbone apporté par les plantes (Boudot et al.,1986). Or, la chlordécone est très sensible à la présence de matière organique et présente un fort coefficient de partage pour les andosols (Koc) mesurant le caractère très lipophile de la chlordécone.

Il a été démontré que les andosols sont comparativement plus contaminés mais moins contaminants pour les cultures que par exemple les nitisols. La connaissance de la structure des sols à allophane et la comparaison avec les nitisols (à argile halloysite) devrait nous aider à comprendre et mieux hiérarchiser les facteurs du milieu à prendre en compte dans l'analyse du piégeage de pesticides par ces sols tropicaux. Nous nous intéresserons à la caractérisation physique de ces milieux poreux en termes de densité, volume poreux, taille moyenne de pores, de surfaces spécifiques et de structure microscopiques des agrégats d'argile.



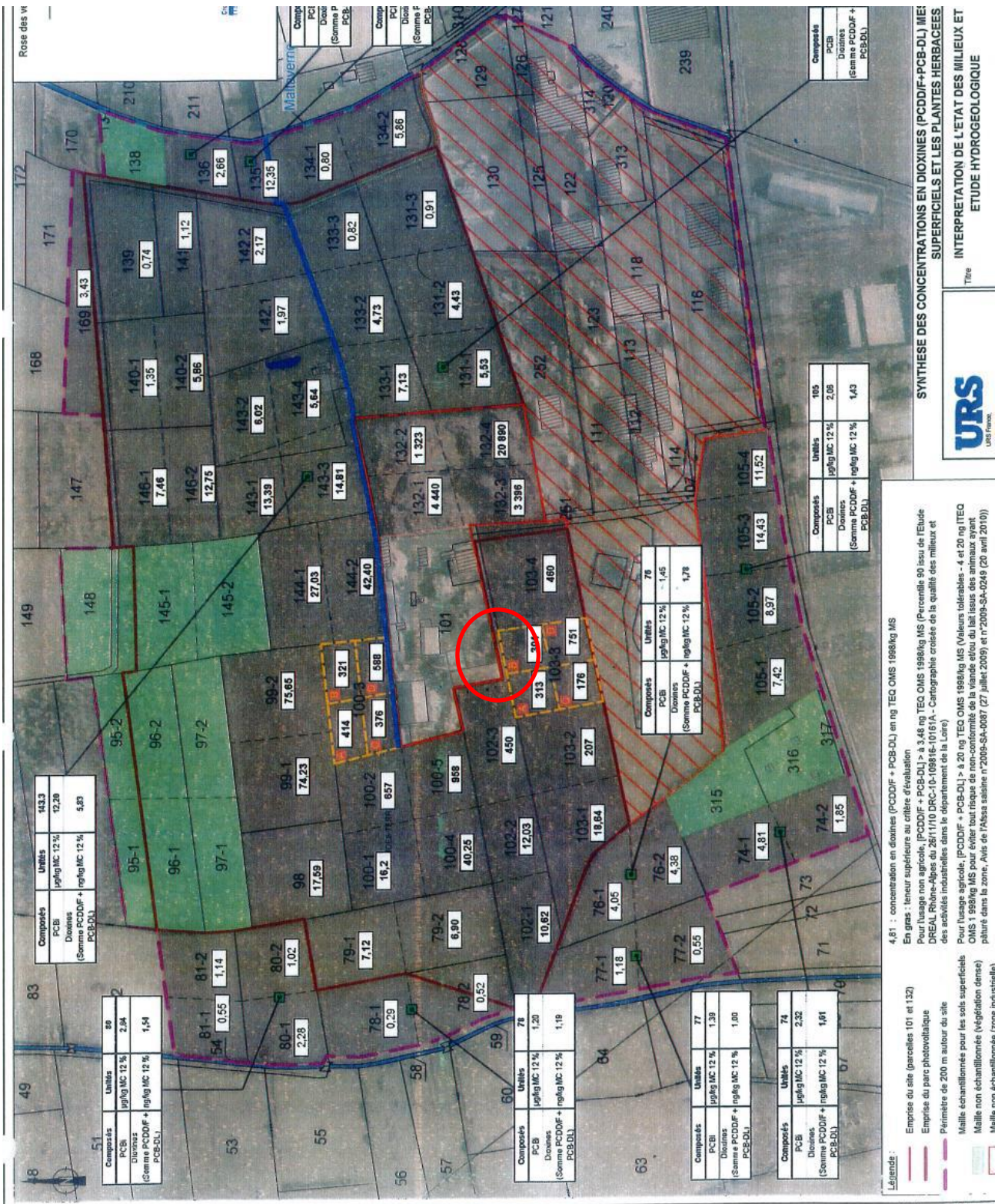


Figure 68: Schéma des parcelles de St Cyprien extrait du rapport URS, le cercle rouge correspondant à la maille prélevée et étudiée dans le cadre du présent projet. cette maille est située sur la parcelle 102-3 et correspond à la maille P4 étudiée dans le cadre du projet TROPHÉ

Les prélèvements sont faits à une profondeur comprise 15 et 30 cm ; la majeure partie des sols prélevés (2 fois 20kg) a été envoyée à l'université de Lorraine. Des échantillons ont été conservés au Laboratoire des Sols et Milieux Poreux (IRD Martinique/ CAEC) dans des sacs étanches et au frigidaire pour la caractérisation structurale et texturale. Les concentrations moyennes en chlordécone (CLD) qui avait été mesurées sur ce type de sols sont de l'ordre de 3mg/kg pour le nitisol et 4-5 mg/kg pour l'andosol. Cependant les échantillons de l'étude doivent être caractérisés car il existe une importante variabilité de la concentration en CLD, même sur une même parcelle.

## 8.2.2. Caractérisation minéralogique des sols

Cette partie du rapport a pour objectif de vérifier que les parcelles choisies sont bien :

- un andosol (Morne Rouge, Martinique) dont la caractéristique principale est la présence d'argile allophane et
- un nitisol (Trinité, Martinique) dont la caractéristique principale est la présence de l'argile halloysite.

Cette étude a été réalisée par :

- diffractions des Rayons X
- spectroscopie infra rouge.

Les différents échantillons étudiés ont été choisis en supposant qu'ils contiennent (ou non) les argiles citées ci-dessus (allophane ou halloysite). Ces hypothèses sont fondées sur leur localisation sur les cartes pédologiques (Colmet-Daage et al. 1965). L'âge de l'éruption volcanique et l'alternance des périodes sèches et humides conduisent à des sols jeunes soit allophaniques soit à halloysite (Dubroeuq, Geissert et Quantin 1998).

## 8.2.3. Caractérisation par spectroscopie des sols allophaniques (andosol) et sols à halloysite (nitisol)

### 8.2.3.1. Diffraction des Rayons X

Afin de pouvoir différencier les sols que nous avons récoltés nous avons utilisé des techniques de caractérisation capables de mettre en évidence, la présence d'allophane et/ou d'halloysite. La structure cristalline des sols étudiés a été caractérisée au moyen d'un diffractomètre Philips PW 1830 (Cu Ka). La gamme d'angle de diffraction étudiée est de 2-50 degrés et les distances inter réticulaires explorées couvrent le domaine 1.1 à 11 Å.

L'argile allophane est considérée comme une argile amorphe mais certains auteurs font référence à des bandes larges correspondant à des distances inter réticulaires à 3.3 et 2.25 Å (Onodera et al. 2001).

La Figure 69 montre les spectres typiques obtenus sur des échantillons étudiés des andosols que nous avons récoltés (Intensité en unités arbitraires). Ces spectres XRD mettent en évidence un renflement de la ligne de base entre 2 et 8 Å, attribués aux produits amorphes comme l'argile l'allophane et / ou l'argile imogolite. Cependant l'argile imogolite forme des tubes creux de 2 nm, tandis que l'allophane forme des sphères (Denaix, Lamy et Bottero 1999). Nous avons vérifié par microscopie électronique à balayage l'absence de tubes d'imogolite ce qui nous conduit à considérer que la signature des produits amorphes est celle de l'allophane. Outre la structure amorphe, on observe parfois différents pics à 4,03, 3,22 et 2,52 Å qui sont dus à des minéraux de type plagioclase (albite) (Dubroeuq, Geissert et Quantin 1998).

Sur la Figure 70, les spectres XRD des échantillons nitisols sont représentés (Intensité en unités arbitraires) : les pics de diffraction pour les valeurs de distance inter réticulaires 4.45 et 7.4 Å indiquent la présence de l'argile halloysite caractéristique des nitisols (Dubroeuq, Geissert et Quantin 1998).

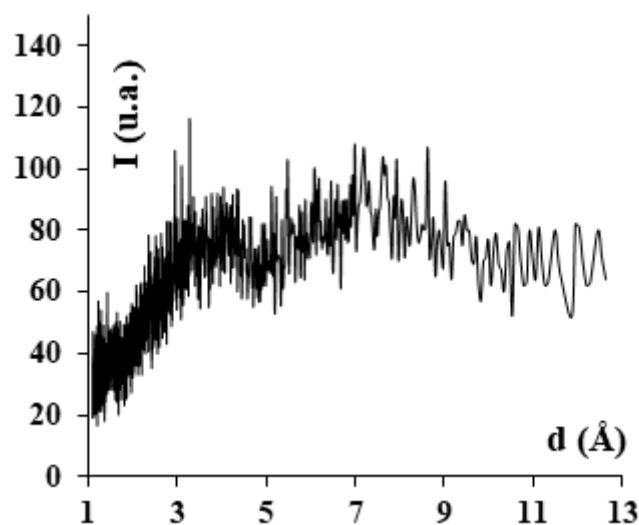


Figure 69: diffractogramme typique des rayons X d'échantillons d'andosols

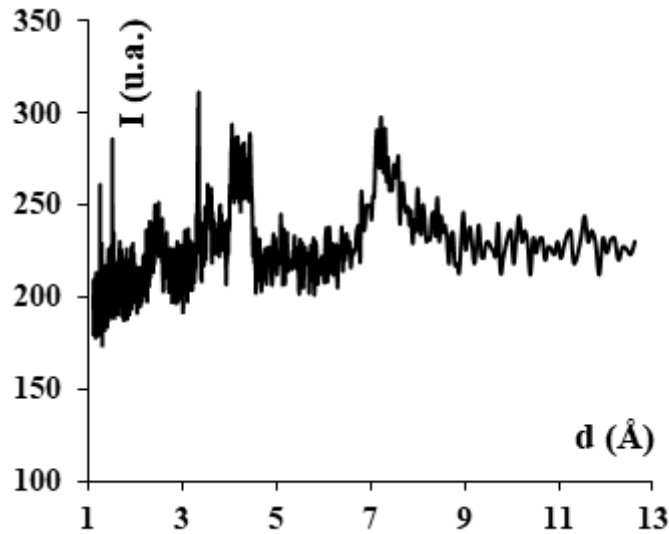


Figure 70: Diffractogramme typique des rayons X d'échantillons de nitisols

### 8.2.3.2. Spectroscopie Infra Rouge (IR)

Une seconde méthode intéressante pour révéler la présence d'allophane et/ou d'hallowysite est la spectroscopie infrarouge (IR). Le spectromètre utilisé est un IR-FT Nicolet 510P (ThermoFischer Scientific Inc., Waltham, MA, USA) et les sols ont été caractérisés en configuration de transmission. Pour cela les échantillons de sols ont été préalablement dilués dans du KBr (transparent dans l'IR) dans un ratio pondéral de  $5 \cdot 10^{-3}$ . Les spectres IR ont été obtenus sur ces pastilles composites dans la gamme de longueur d'onde ( $400-4000 \text{ cm}^{-1}$ ).

Dans la littérature (Onodera et al. 2001; Denaix, Lamy et Bottero 1999), il a été démontré que des bandes caractéristiques à  $428, 506, 577$  et  $967 \text{ cm}^{-1}$  sont la signature de l'allophane. Ces bandes sont également accompagnées d'une large bande dans la région de la vibration d'étirement des groupements  $\text{-OH}$  aux environs de  $3500 \text{ cm}^{-1}$ . La Figure 71 montre les spectres IR enregistrés pour l'échantillon andosol (transmittance en unités arbitraires) et ces spectres révèlent les caractéristiques d'épaulement de l'allophane à  $970 \text{ cm}^{-1}$  (étirement  $\text{Si-O}$ ) (Henmi et al. 1981). Les spectres IR des différents échantillons d'andosols étudiés ne présentent pas de doublets de la bande à  $577 \text{ cm}^{-1}$  caractéristique de la structure imogolite. Ainsi, nous pouvons raisonnablement supposer que le seul composé amorphe présent dans les andosols est de l'argile allophane et qu'il n'y a pas d'imogolite.

Sur la Figure 4, les spectres de l'échantillon nitisol (transmittance en unités arbitraires) contrastent clairement avec le spectre des andosols. Il n'y a pas l'épaulement caractéristique de l'allophane à  $970 \text{ cm}^{-1}$  mais deux bandes bien définies dans la région de la vibration d'étirement  $\text{-OH}$  caractéristique des argiles hallowysite. Nous pouvons conclure que notre choix basé sur des travaux antérieurs (Colmet-Daage et al. 1965) supposant la présence d'allophane dans les échantillons andosol et d'hallowysite dans les échantillons de nitisol est aussi confirmée par la spectroscopie infrarouge.

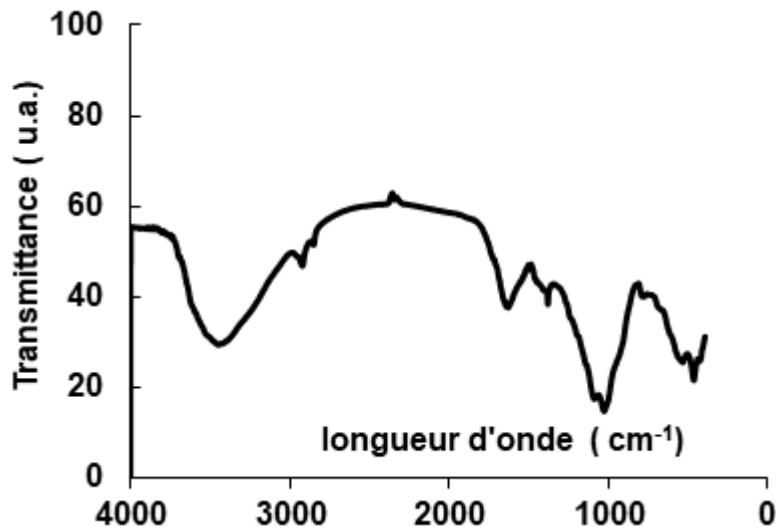


Figure 71: Spectre IR typique d'échantillons d'andosols

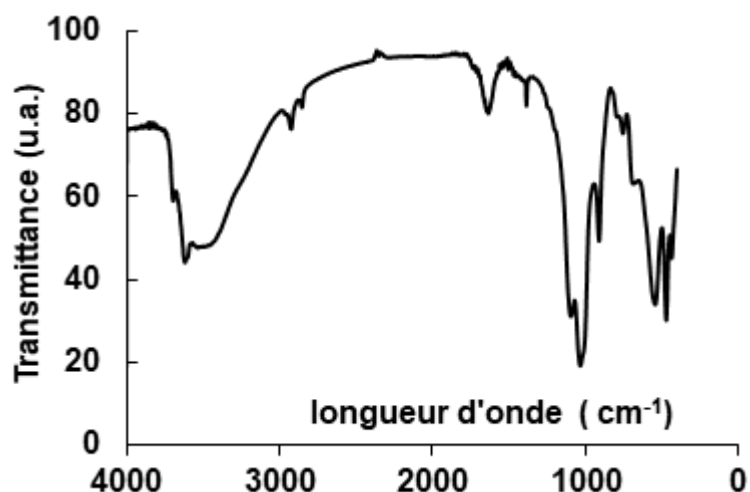


Figure 72: Spectre IR Typique d'échantillons de nitisols

#### 8.2.4. Composition chimique des sols

	Na	Mg	Al	Si	K	Ca	Ti	Mn	Fe	SI/Al	alkali %
andosol	3.14	1.80	20.79	52.96	1.50	6.95	0.77	0.44	11.40	2.57	13.40
nitisol	0.77	1.19	27.78	45.33	0.62	2.96	1.25	0.49	19.30	1.64	5.52

Tableau 21: Composition chimique des sols antillais utilisés

Le Tableau 21 donne la composition chimique moyennes des différents échantillons étudiés.

Les différents andosols présentent une composition chimique avec un rapport aluminium sur silice (Al / Si) égal à 2,5 et une teneur en alcalin et alcalino-terreux élevée 13%. Pour les échantillons de nitisol, le rapport Al / Si est de l'ordre de 1,6 et le total alcalin et alcalino-terreux est inférieur à 5.5 %.

#### 8.2.5. Séchage hypercritique

Les techniques de caractérisation de la porosité (mesures de surfaces poreuses, de taille de pores, caractérisation par microscopie électronique, diffusion centrale de rayonnements) nécessitent des échantillons secs. Afin d'éviter des transformations irréversibles qui modifient fortement la texture poreuse réelle et qui sont liées aux tensions capillaires lors d'un séchage classique, les échantillons de sols ont subi une procédure particulière de séchage (séchage hypercritique) qui préserve la structure poreuse (Woignier, 2005). Le retrait des sols à allophane après séchage est irréversible et il peut atteindre 70% du volume initial (Chevallier, 2008). Dans une étude préliminaire (Woignier et al, 2005), cette technique a été appliquée à différents types de sols volcaniques allophaniques et non allophaniques ; nous proposons d'utiliser la technique de séchage hypercritique pour préserver la structure poreuse. Les conditions de séchage hypercritique étaient : 10 MPa et 55°C après échange avec du CO<sub>2</sub> liquide.

#### 8.2.6. Microscopie électronique à balayage

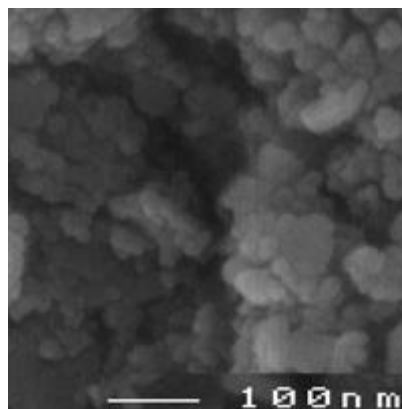


Figure 73: Microscopie électronique à balayage des andosols

La microscopie électronique à balayage (Wada 1985) décrit les particules d'allophane comme suit: la maille élémentaire apparaît comme des sphéroïdes de diamètre compris entre 3 et 5 nm qui s'agrègent pour former des agrégats de taille

inférieurs à 100 nm. La structure de l'argile allophane est clairement différente de la microstructure de type plaquettaire des argiles halloysite qui ont une taille de 300-1000 nm. Les particules d'allophane sont ainsi 100 fois plus petites que les plaques d'halloysite.

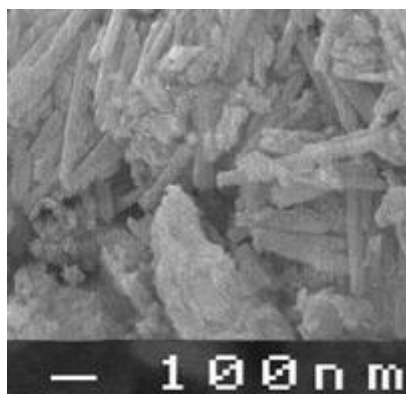


Figure 74: Microscopie électronique à balayage des nitisols

### 8.2.7. Caractéristiques poreuses des andosols

Grace au séchage hypercritique nous avons préservé la structure poreuse des sols volcaniques allophaniques. Nous allons pouvoir quantifier l'influence de la nature de l'argile allophane ou halloysite sur les caractéristiques porales des andosols.

sol	humidité	porosité	densité (g/cm <sup>3</sup> )	Surface spécifique (m <sup>2</sup> /g)	Vp (cm <sup>3</sup> /g)	VMeso (cm <sup>3</sup> /g)	VMacro (cm <sup>3</sup> /g)
andosol	91%	61%	0.67	69	0.91	0.18	0.73
andosol	68%	51%	0.75	84	0.68	0.28	0.40
andosol	125%	69%	0.55	89	1.26	0.38	0.88
andosol	114%	68%	0.59	84	1.15	0.27	0.88
moyenne	99.00%	62%	0.64	82	1.00	0.2775	0.72
nitisol	74.00%	56%	0.76	56	0.74	0.17	0.57
nitisol	72%	54%	0.75	26	0.72	0.06	0.66
nitisol	61%	52%	0.84	43	0.62	0.15	0.47
nitisol	75%	58%	0.78	24	0.75	0.052	0.70
moyenne	71%	55%	0.78	37	0.71	0.108	0.60

Tableau 22: Caractéristiques de la porosité des andosols

Les résultats portés sur le Tableau 22 regroupent l'ensemble des données : Humidité, densité, porosité, surface spécifiques, et les volumes poreux spécifiques (Vp, Vmeso et Vmacro) que nous avons mesurées. La plus grande surface spécifique mesurée sur les sols allophaniques suggère une forte mesoporosité. Or, les pesticides auront d'autant plus de sites d'adsorption et de fixation que la surface disponible sera élevée. Il est donc important de quantifier la mesoporosité car celle-ci peut conditionner le comportement de molécules chimiques présent à l'intérieur de la porosité du sol. La mesure de Vmeso par l'analyse BJH de la technique d'adsorption/désorption d'azote permet de mesurer le volume mésoporeux des pores dans le domaine 1-50 nm. En effet, la littérature décrit les agrégats d'allophane comme formés par des particules solides de tailles 3-4 nm (Wada 1985). La porosité interne des agrégats (vides laissés par l'agrégation des particules) sera donc de l'ordre de 3 à quelques dizaines de nm. On note que le volume mésoporeux est 2 fois plus élevée dans l'andosol que dans le nitisol. Dans une étude précédente nous avons mesuré la distribution en taille de pores et montré que la proportion de pores compris entre 30 et 60 nm est plus importante que dans les nitisols et croit avec la concentration en allophane.

Cela signifie que la structure allophanique serait formée par des amas de taille variable entre 3 nm et 50 nm, l'agrégation entre les amas formant une porosité à toutes les échelles. Il est à noter que la technique BJH ne mesure pas toute la distribution en taille de pores car les pores de tailles supérieures à 50 nm ne sont pas mesurables par cette technique ; BJH permet de mesurer la méso porosité dans la gamme 5-50nm et le Tableau 22 donne les valeurs du volume macroporeux compte tenu du volume poreux total.

La surface spécifique élevée est l'indication d'une mesoporosité importante et tortueuse (Brinker, 1989); la large distribution en taille de pores confirme cette structure poreuse formée de pores de différentes tailles. S'il existe des agrégats mésoporeux et tortueux dans les andosols, la perméabilité de ces agrégats sera faible et l'accessibilité des fluides à l'intérieur des agrégats sera difficile. On peut comparer ce type de structure à des labyrinthes, il y a beaucoup de chemins possibles mais on ne s'y déplace pas facilement. Dans la littérature certains auteurs ont fait l'hypothèse que les agrégats d'allophane pouvaient avoir une structure fractale (Yasushisa et al, 1999; Denaix et al, 1999). Dans les structures fractales, la dimension fractale (Df) caractérise la manière dont la matière est distribuée dans le volume de l'objet.

Dans la nature, les objets fractals sont parfois issus de processus d'agrégation de type aléatoire et la dimension fractale est définie entre deux limites : la taille a des particules primaires constituant le réseau de la phase solide et la taille des agrégats

x formés par l'agrégation des particules primaires. La géométrie fractale est intéressante pour décrire les structures poreuses et leurs propriétés physiques car elle apporte des renseignements sur la distribution de la masse dans le réseau. Ainsi, on relie la dimension fractale ( $D_f$ ) à la compacité des agrégats (Meakin, 1988).

### 8.2.8. Caractérisation de la structure fractale des andosols par les techniques de diffusion centrale de rayonnements (SAXS)

Les techniques de diffusion centrale de rayonnements permettent de mesurer quantitativement les caractéristiques fractales des matériaux. On peut ainsi déterminer la valeur de la dimension fractale  $D_f$ , la taille  $a$  des particules constitutives qui vont former les agrégats et la taille maximale  $x$  des agrégats dans le domaine 1-100 nm. Les courbes de diffusion centrale représentent l'intensité diffusée  $I(q)$  en fonction du vecteur d'onde

où  $I$  est la longueur d'onde du faisceau incident et  $q$  est l'angle de diffusion. Pour chaque courbe, trois domaines sont caractéristiques. Pour les grandes valeurs de  $q$ , l'intensité diffusée  $I(q)$  est sensible à la morphologie des particules constitutives et donne des renseignements sur leur taille  $a$ . Dans la zone correspondant aux faibles valeurs de  $q$ , on peut déterminer la taille des agrégats fractals  $x$ . Dans le régime intermédiaire,  $I(q)$  dépend de la dimension fractale de l'agrégat. Les positions des deux changements de régime sont reliées respectivement à  $2\pi/x$  (petit  $q$ ) et à  $2\pi/a$  (grand  $q$ ) (Texeira 1988).

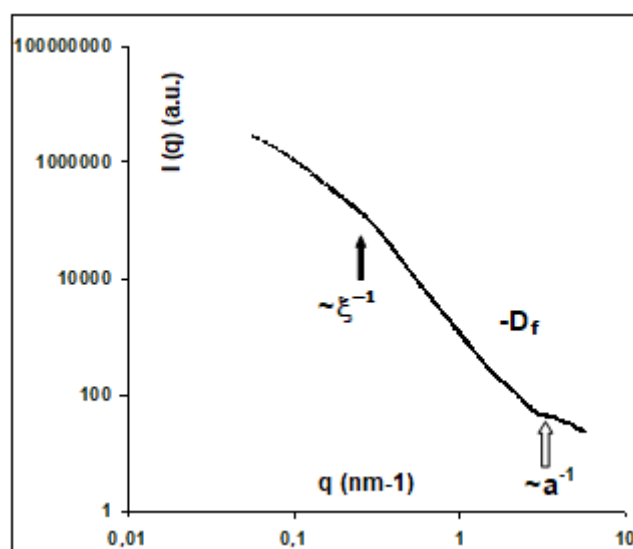


Figure 75: Courbe SAXS typique d'un andosol

La Figure 75 présente la courbe de diffusion centrale de rayons X (SAXS) typique obtenue sur des échantillons andosols. Nous mesurons une zone linéaire entre 0,15 et 2,5 nm<sup>-1</sup> ce qui correspond à des tailles comprises entre 32 et 3 nm ; 3 nm étant la valeur de  $a$  et 32 nm celle de  $x$  la taille moyenne des agrégats. On peut rappeler que la valeur moyenne des tailles de particules d'alopane annoncée dans la littérature (Wada 1985) est comprise entre 3 et 4 nm, en excellent accord avec nos résultats de SAXS. La valeur de  $D_f$  qui est extraite de la pente de la courbe est de l'ordre de 2,7 ce qui traduit une compacité interne des agrégats d'alopane plutôt élevée. L'étude complète par SAXS d'une série d'échantillons d'andosols en fonction de leur proportion relative en alopane a été effectuée précédemment (Chevallier et al. 2008) et les résultats principaux peuvent être résumés ainsi : Pour tous les échantillons la taille des particules d'alopane est constante (3-4 nm), la dimension fractale semble invariante :  $D_f = 2,5-2,7$ . En revanche, la taille maximale des agrégats d'alopane varie fortement avec la concentration en alopane dans l'andosol.

L'étude de la porosité et de la structure à l'échelle du nanomètre, a mis en évidence la structure particulière des agrégats d'alopane et une augmentation de la porosité, de la surface accessible et du volume mesoporeux par rapport aux nitisols. Les agrégats d'alopane présentent une structure poreuse complexe, fractale à l'échelle microscopique, issue d'une agrégation des particules d'alopane de taille 3-4 nm. Cette structure confère aux agrégats d'alopane des propriétés spécifiques : une grande surface développée et une forte tortuosité conduisant vraisemblablement à des faibles propriétés de transport dans la porosité interne des agrégats d'alopane. Ces caractéristiques, forte tortuosité, grande surface développée et faibles propriétés de transport sont certainement des paramètres importants expliquant pourquoi ces structures ont une grande capacité à fixer et piéger des espèces chimiques et une faible aptitude à les libérer. En effet, compte tenu de l'évolution de la perméabilité et de la faible diffusivité des agrégats fractals d'alopane il sera difficile de faire se rencontrer les espèces chimiques (pesticides) piégées dans les agrégats avec d'autres, susceptibles de les transformer.

### 8.2.9. Concentrations en chlordécone dans les échantillons de nitisol et d'andosol

L'analyse des contaminants a été confiée au laboratoire La Drôme Laboratoire (ex LDA26). Un profil complet d'analyse de pesticides a été menée suivant la méthode interne au laboratoire (CMO\_MT06). Brièvement, une extraction sous pression à

chaud suivi d'un dosage par chromatographie Gaz couplée avec un Spectromètre de Masse, ou par chromatographie liquide couplée à un spectromètre de masse ont été réalisées. Seuls la chlordécone a pu être quantifiée dans les deux échantillons de sol : Andosol ou Nitisol respectivement à  $4,906 \text{ mg.kg}^{-1}$  et  $1,626 \text{ mg.kg}^{-1}$  de matière sèche. Pour l'andosol, de faibles concentrations de Dieldrine ont été également quantifiées ( $20\mu\text{g.kg}^{-1}$  MS).

### **8.3. Préparation du sol en vue de l'expérimentation**

Les sols présentés en 8.1 ont été préparés au GISFI (Homécourt, 54 463). Chaque sol a été tamisé lorsqu'humide avec un tamiseur automatique à 5 mm puis amendé par la matrice carbonée retenue (ou celle complémentaire) à hauteur de 2%. L'ensemble a été mûri pendant 5 mois avant l'envoi des lots de sol au partenaire afin de réaliser la suite des expérimentations.

## 8.4. Evaluation du transfert

### 8.4.1. Essais de disponibilité environnementale

#### 8.4.1.1. Matériel et Méthodes

La méthodologie employée est décrite dans la section 7.2.1

#### 8.4.1.2. Résultats

##### 8.4.1.2.1. Sol de Saint Cyprien

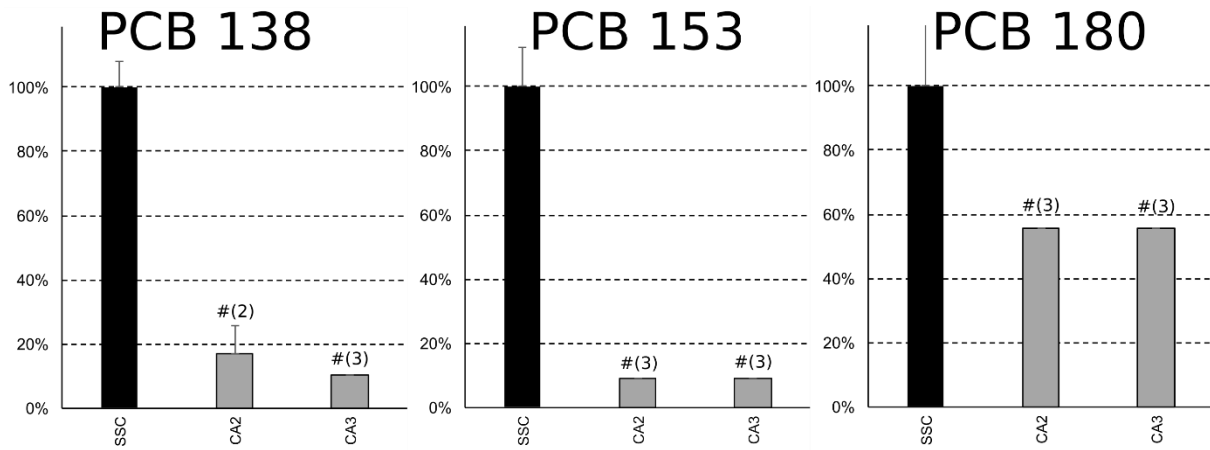


Figure 76: Résultats de disponibilité environnementale sur le sol de St Cyprien pour les PCB 138, 153 et 180.

SSC : sol sans charbon.

Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

# : certaines données sont inférieures aux limites de quantification (LQ). Le nombre de ces données est indiqué entre parenthèses.

Concernant le sol de Saint Cyprien, seuls les PCB 138, 153 et 180 ont présenté des données au-dessus des LQ. On peut remarquer que l'amendement des sols réalisé permet une réduction importante pour ces congénères de la disponibilité environnementale, les niveaux obtenus étant quasiment systématiquement inférieures à la LQ.

Pour les PCB 138 et 153 les niveaux de disponibilité environnementale mesuré sur sols amendés étaient inférieurs à 17%, confirmant les données de la première partie sur sols artificiels.

##### 8.4.1.2.2. Sols Antillais

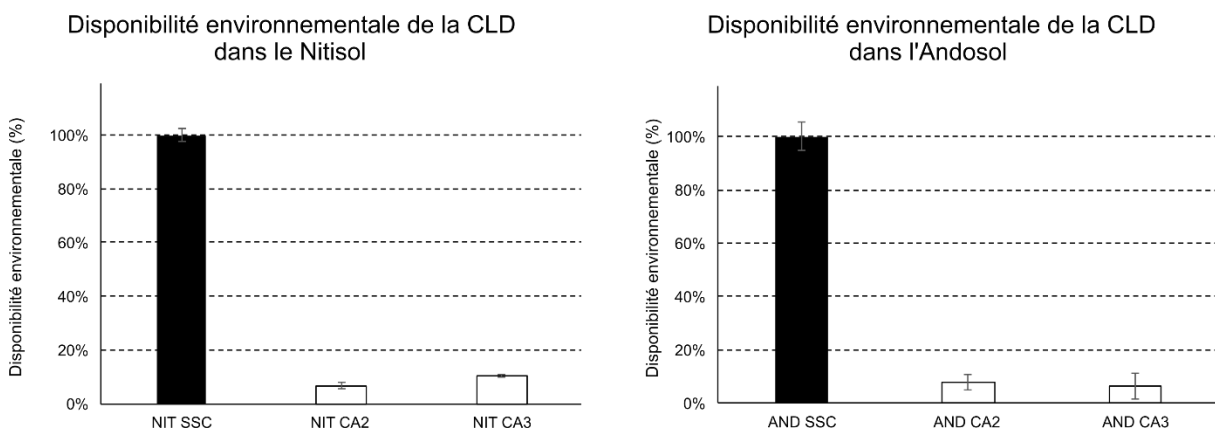


Figure 77: Disponibilité environnementale de la chlordécone après amendement des sols antillais : nitisol (à gauche), andosol (à droite)

SSC : sol sans charbon.

Les barres d'erreur représentent l'écart-type.

Concernant les sols antillais, il apparaît que ces mêmes amendements conduisent à une réduction similaire quelque soit le type de sol en réduisant par un facteur supérieur à 10 la disponibilité environnementale de la chlordécone. On remarque également que les deux charbons actifs les plus performants de la précédente étape sur sol artificiel semblent avoir la même efficacité.



### 8.4.1.3. Conclusion

Ainsi, il apparaît :

- Que les matrices sélectionnées (CA2 et CA3) présentent des niveaux de réduction similaires à ceux obtenus pour les sols artificiels
- Pour la chlordécone, des niveaux de réduction similaires ont été obtenus sur l'andosol et le nitisol malgré des différences connues entre ces sols notamment (i) une argile nanoporeuse (ii) un taux de carbone organique bien supérieur de l'andosol.

## 8.4.2. Transfert vers la courgette

La méthodologie employée est décrite en partie 7.2.3.

### 8.4.2.1. Résultats

Dans le cas des sols antillais naturellement contaminés en chlordécone, le niveau de transfert est supérieur dans le cas du nitisol en comparaison de l'andosol et l'apport de charbon actif permet une réduction très significative du transfert du polluant vers les parties aériennes et ce d'autant plus dans le cas du nitisol.

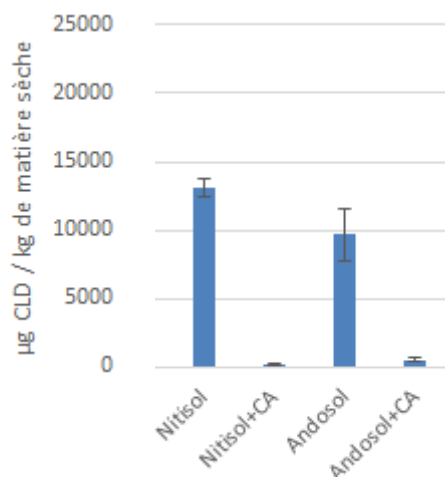


Figure 78: Concentrations en chlordécone dans les parties aériennes des courgettes en fin de cycle de développement.

Dans le cas des PCB, l'efficacité des matrices carbonées est fortement dépendante du type de matrice. Ainsi pour les PCB 138, 153 et 180, l'apport de charbon actif permet une réduction du transfert de plus de 90% pour ces deux composés. Si l'on regarde les autres PCB, il n'est pas possible de mettre en évidence d'effets des matrices carbonées sur le transfert du fait de concentrations dans les sols inférieures à la limite de quantification. Ce problème de quantification ne nous permet pas de conclure sur l'efficacité des matrices carbonées sur la réduction du transfert des PCDD/F dans les parties aériennes du modèle végétal étudié.

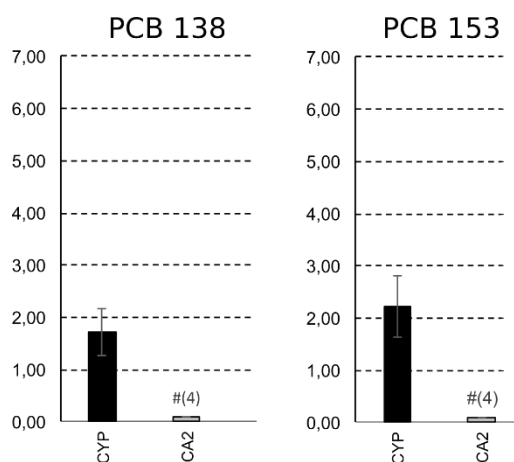


Figure 79: Concentrations (µg/kg de matière sèche) en PCB 138 (à gauche) et 153 (à droite) dans les parties aériennes des courgettes en fin de cycle de développement.

Cyp : sol de saint Cyprien ;

# : des données sont inférieures à la LQ. Le nombre de ces données remplacées par la LQ est entre parenthèse.

### 8.4.2.2. Conclusion

En conclusion, le modèle végétal utilisé dans l'étude accumule des quantités significatives de chlordécone et de PCB dans les parties aériennes. Les facteurs de bioconcentration sont respectivement de 2 et 8 pour l'andosol et le nitisol. Ce résultat peut s'expliquer par des différences de biodisponibilité de la chlordécone, décrite comme plus faible dans les andosols que dans les nitisols (Woignier et al., 2012 ; Clostre et al., 2014). L'apport de matrices carbonées de type charbon actif permet de réduire de plus de 90% le transfert vers les parties aériennes pour le charbon testé (CA2). Ces résultats confirment, donc, ceux obtenus sur sols artificiels pour la matrice sélectionnée.

### 8.4.3. Transfert vers la poule pondeuse

#### 8.4.3.1. Introduction

De nombreuses études épidémiologiques et toxicologiques ont démontré les effets néfastes des composés halogénés comme les polychlorobiphényles (PCB), les dioxines, les furanes (PCDD/F) ou le chlordécone (CLD). Parmi ces effets, un déficit de mémoire (Jacobson et al. 1992), des troubles neurodéveloppementaux (Dallaire et al. 2012) et une cancérogénicité (Schwarz et Appel 2005) pour au moins un de ces POP ont été rapportés. Comme l'utilisation, la commercialisation et la production de ces polluants sont interdites, l'environnement est la principale source restante d'exposition des humains et des animaux. Dans ce contexte, le sol de surface apparaît comme le réservoir environnemental le plus important. La forte rétention de ces molécules lipophiles dans la matière organique du sol est un facteur explicatif bien connu de leur persistance particulière qui peut durer des décennies ou des siècles dans cette matrice. En raison de leur émission ou de leur utilisation antérieure, les PCB et les PCDD/F sont ubiquitaires dans le sol en France (Gis Sol 2011) alors qu'une grande portion de la surface agricole (20 à 25%) est contaminée par la CLD dans les Antilles françaises (Le Déaut et Procaccia 2009). Cette contamination environnementale peut être reliée à l'imprégnation de l'homme, notamment pour la CLD. En effet selon l'étude Kannari, 90% de la population antillaise française présente des taux quantifiables de cette molécule dans le sang (SPF 2018).

Si l'ingestion involontaire de sol est une voie d'exposition humaine connue à ces POP, l'ingestion d'aliments est la voie la plus contributive à la contamination humaine. Dans ce cadre, les produits alimentaires d'origine animale apparaissent comme les plus problématiques par rapport aux composés lipophiles car les animaux peuvent fortement les bioconcentrer. Parmi eux, les poules pondeuses élevées en plein air ingèrent de grandes quantités (S. Jurjanz et al. 2015) de particules de sol. Des études récentes concernant cet animal montrent leur capacité à concentrer les PCB, PCDD/F et CLD dans le foie et les œufs (Amutova et al. 2021). Pour ces composés halogénés, leur capacité à se concentrer dans la fraction grasse des œufs (jaune d'œuf) a également été évaluée par des études ayant établi des niveaux de transfert supérieurs à 35% pour de nombreux PCB, Dioxines et Furanés. En outre, il a été prouvé que les œufs provenant de régions contaminées et de poules pondeuses élevées en plein air étaient contaminés à des niveaux supérieurs aux limites maximales en résidus fixées par la réglementation européenne pour les PCB, les dioxines et les furanes ainsi que pour les CLD (Stefan Jurjanz et al. 2020). Ceci souligne le besoin urgent de réduire l'exposition aux POP halogénés des poules pondeuses présentes au sein des petits élevages en zone contaminée (Stefan Jurjanz et al. 2020).

La séquestration in situ (dans le sol) pour réduire le transfert potentiel des composés halogénés liés au sol après leur ingestion par l'animal pourrait être une solution appropriée à cette problématique. Comme les CLD, PCB, PCDD/F présentent une large gamme de propriétés lipophiles et de stabilité, ainsi qu'une affinité pour le carbone organique, ils constituent des POP difficiles à étudier dans le cadre de cette stratégie. Dans une étude pilote impliquant des essais in vitro, nous avons démontré que des matériaux condensés comme les biochars et les CA, pouvaient réduire la biodisponibilité jusqu'à 98% des CLD (Delannoy et al., 2018) ou des PCB-NDL (Delannoy et al., 2014). Ces niveaux élevés de réduction pourraient être atteints avec du matériel CA efficace mais coûteux.

Comme les sols naturels présentent un large éventail de qualités différentes, la présente étude a été menée pour valider les effets observés de deux CA lorsqu'ils sont amendés soit sur un sol contaminé par des PCB ou des dioxines, soit sur deux sols contaminés par des CLD.

#### 8.4.3.2. Matériel et Méthodes

##### 8.4.3.2.1. Design Expérimental

Deux CA distincts obtenus auprès de Carl Roth (Références 5963.2 (CA2), 865.3 (CA3), Sochiel E.U.R.L, Lauterbourg France) ont été testés lors de cette expérimentation (CA2 et CA3). Ces 2 matériaux condensés ont été sélectionnés parmi un ensemble précédent de 6 matériaux hautement condensés.

##### 8.4.3.2.2. Amendement du sol et maturation

La préparation du sol et l'étape de maturation a été réalisée telle que décrit précédemment (cf 8.3).

##### 8.4.3.2.3. Evaluation du transfert des polluants à l'animal

- Expérimentation animale

L'expérimentation a été approuvée par le Comité d'éthique en matière d'expérimentation animal Lorrain (CELMEA) (numéro d'autorisation : HC-2019-01). Cette étude a été réalisée dans le strict respect des recommandations du Guide d'entretien et d'utilisation des animaux de laboratoire du ministère français de l'agriculture pour la recherche animale (MAAR) et de la directive du Conseil européen (directive européenne 2010/63/UE) et a été réalisée dans l'animalerie de la plateforme Bio-DA (Université de Lorraine, Vandœuvre-lès-Nancy France).

Quarante poules pondeuses âgées de 18 semaines (n=4 par sol amendé) provenant du Couvoir de la Solitude (Brechaumont, France) ont pris part à cette expérimentation. Une période d'acclimatation de 15 jours a été suivie avant le début de la période d'exposition de 21 jours (jour 1 à jour 21). Tous les animaux ont été pesés individuellement une fois par semaine. Pendant la période d'exposition, les animaux ont été nourris quotidiennement avec 67g de granulés contaminés par Kg de poids vif

contenant 10% d'un sol. Une ration complémentaire et individuelle de 40g a ensuite été fournie. Les poules pondeuses ont été maintenues dans des compartiments individuels pendant une période de 3h afin de contrôler cette ingestion de granulés contaminés et ainsi assurer l'exactitude de la dose d'exposition. La température a été maintenue à 22-24°C tout au long de cette partie expérimentale.

- Echantillonnage

Les œufs du 19<sup>ème</sup> au 21<sup>ème</sup> jour d'exposition ont été collectés, cassés et les jaunes ont été regroupés selon la poule pondeuse d'origine. Après la période d'exposition de 21 jours, les poules pondeuses ont été anesthésiées par électronarcose suivie d'une exsanguination immédiate. Le foie entier a été collecté. Tous ces échantillons ont été finement hachés (tissu) ou soigneusement homogénéisés manuellement (jaune d'œuf) et stockés à -20 °C.

- Analytique

La quantification des PCB, PCDD/F a été réalisée sur la phase extraite des matrices biologiques (Laboce, Rennes, France). Pour la chlordécone la méthode validée LSA-INS-016 a été utilisée au Laboratoire départemental d'analyse du Morbihan (LABOCEA, Brest, France). Les limites de quantification rapportées étaient de 2,0 µg CLD kg<sup>-1</sup> dans ces matrices et dans les deux laboratoires. Les techniques ont été décrites précédemment (cf 7.2.4.1.4).

- Calculs et statistiques

Les calculs et statistiques ont été réalisés comme décrit précédemment.

### 8.4.3.3. Résultats

#### 8.4.3.3.1. Concentrations

Globalement plusieurs messages principaux peuvent être tirés de ces résultats :

- A traitement identique, un ratio de concentration semble conservé entre le foie et l'œuf. L'œuf ainsi apparaît être la matrice la plus contaminée d'un facteur de  $2,0 \pm 0,3$  (moyenne  $\pm$  ET, Chlordécone),  $15 \pm 2,0$  (PCDD/F en TEQ) et  $36 \pm 10$  (PCB-NDL) par rapport au foie. Ceci soulignerait des différences de bioconcentrations entre les familles de congénères, confirmant les données de la littérature (Amutova et al. 2021).

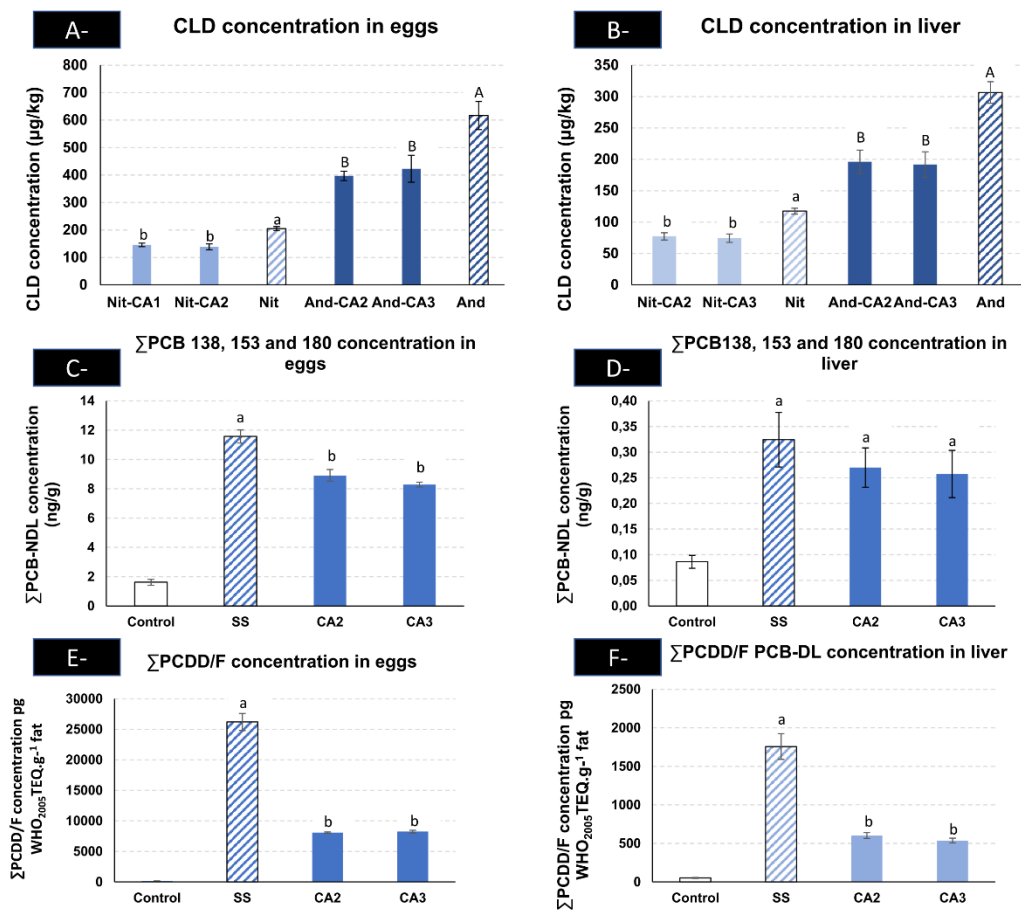
- Au sein d'une même famille peu de variabilité entre congénère est à observer à l'exception des PCB-NDL pour lesquels les PCB 28, 52 et 101 présentaient des niveaux certes quantifiables mais très faibles ( $< 0,18$  ng.g<sup>-1</sup> de gras). Ces niveaux sont proches des niveaux retrouvés après ingestion de l'aliment seul (groupe contrôle, sans ajout de sol). Ces PCB légers sont très présents dans l'environnement et sont présents dans les granulés distribués aux animaux. Afin d'éviter tout biais, ces congénères n'ont pas été analysés par la suite.

- L'amendement par les charbons actifs CA2 et CA3 limitent significativement les concentrations retrouvées dans les matrices biologiques ( $p < 0,05$ ). Cependant, aucune différence significative n'a pu être observée entre les deux charbons pour l'ensemble des congénères étudiés. Cette diminution varie également suivant les famille de congénères et les matrices biologiques :

- les PCB-NDL présentent les niveaux de diminution les plus faibles: 19% dans le foie (moyenne, non significatif), 25% dans l'œuf (moyenne, significatif)

- Pour la CLD, les niveaux en chlordécone issus des sols amendés sont réduits de 35% dans le foie (moyenne, significatif) et 31% dans le jaune d'œuf. Des résultats similaires ont été obtenus pour l'andosol : avec respectivement 36% et 33% de réduction observée respectivement pour le foie et l'œuf (significatif)

- Pour les dioxines et apparentées, des réductions bien plus importantes ont pu être observées pour les lots de sols amendés : réduction de 66% dans le foie (moyenne, significatif) ; 70% dans les œufs.



**Figure 80: Concentrations retrouvées dans les matrices biologiques suivant les matrices condensées étudiées**

A et B : concentration en chlordécone retrouvées respectivement dans les œufs et le foie (µg/kg de matière fraîche)

C et D : somme des concentrations des PCB 138, 153 et 180 dans respectivement les œufs et le foie

E et F : somme des concentrations des PCDD/F et du PCB77 (pg WHO<sub>2005</sub> TEQ par gramme de gras) respectivement dans les œufs et le foie. Chaque histogramme correspond à la moyenne des concentrations obtenues pour le lot de traitement étudié, les barres d'erreur correspondant à l'erreur standard (n=4).

En hachuré : les concentrations retrouvées chez les individus exposés par du sol non amendé. Des lettres différentes (a, b, ou A, B) au-dessus des histogrammes distinguent deux traitements significativement différents (p<0.05) lors de la réalisation d'une ANOVA suivi d'un posthoc de Tukey.

#### 8.4.3.3.2. Biodisponibilité relative des contaminants et taux de réduction

Afin d'évaluer plus précisément l'impact de cette stratégie sur l'exposition des poules pondeuses, des facteurs de biodisponibilité relative ont été calculés ainsi que leur intervalle de confiance à 95% (n=4, cf Tableau 23).

Comme attendu, pour un même sol amendé, les données Œufs et Foie produisent des niveaux de biodisponibilité très similaires. Les BR issue des données du foie apparaissent toutefois plus variables et présentent, donc, des intervalles de confiance plus larges que ceux des œufs. En conséquence, pour les PCB-DL comme les PCB-NDL, il apparaît que pour le foie aucune réduction significative du transfert du sol à la poule pondeuse n'a pu être obtenue.

Du fait des caractéristiques similaires de CA2 et CA3, les niveaux de réduction obtenus, congénère par congénère, sont similaires. En conséquence, du fait des caractéristiques similaires des matrices carbonées sélectionnées, il apparaît que les niveaux de biodisponibilité sont expliqués, surtout, par un effet molécule, effet qui peut être généralisé à une famille de molécules. Ainsi nous retrouvons la hiérarchisation obtenue sur sol artificiel suivante :

- **Les dioxines et furanes présentent les niveaux de biodisponibilité les plus faibles.** Ainsi, seul 31% (base TEQ, données œufs avec un intervalle de confiance à 95% entre 30-32%, cf Tableau 23) de biodisponibilité est retrouvée après amendement des sols par les matrices sélectionnées.
- **Pour les PCB (DL ou NDL) et la CLD, l'amendement de sol par ces matrices résulte en une réduction faible de la biodisponibilité de ces molécules (entre 64% et 78% de biodisponibilité relative).**

	Œufs				Foie				
	CA2		CA3		CA2		CA3		
<i>Andosol</i>									
CLD	64%	[ 56% - 73% ]	69%	[ 43% - 94% ]	64%	[ 44% - 83% ]	63%	[ 41% - 84% ]	
<i>Nitisol</i>									
CLD	71%	[ 60% - 81% ]	68%	[ 51% - 84% ]	66%	[ 50% - 81% ]	63%	[ 45% - 82% ]	
<i>Sol de St Cyprien</i>									
<i>Dioxines Furanes</i>									
2378 TCDD	25%	[ 22% - 29% ]	18%	[ 10% - 26% ]	43%	[ 29% - 58% ]	24%	[ 0.8% - 41% ]	
12378 PCDD	28%	[ 25% - 31% ]	23%	[ 13% - 33% ]	30%	[ 11% - 49% ]	24%	[ 13% - 35% ]	
123678 HxCDD	28%	[ 26% - 30% ]	35%	[ 33% - 38% ]	25%	[ 0.6% - 43% ] #	33%	[ 19% - 47% ]	
123478 HxCDD	27%	[ 24% - 30% ]	34%	[ 27% - 41% ]	26%	[ 0.4% - 48% ]	32%	[ 11% - 53% ]	
1234678 HpCDD	19%	[ 16% - 22% ]	26%	[ 21% - 30% ]	20%	[ 14% - 26% ]	21%	[ 13% - 30% ]	
12346789 OCDD	19%	[ 18% - 20% ]	24%	[ 21% - 27% ]	11%	[ 0.5% - 16% ]	15%	[ 11% - 18% ]	
2378 TCDF	36%	[ 33% - 39% ]	26%	[ 23% - 30% ]	38%	[ 29% - 48% ]	25%	[ 21% - 30% ]	
23478 PCDF	34%	[ 31% - 37% ]	36%	[ 35% - 37% ]	37%	[ 30% - 44% ]	35%	[ 32% - 39% ]	
123678 HxCDF	26%	[ 24% - 27% ]	31%	[ 28% - 33% ]	26%	[ 18% - 35% ]	28%	[ 20% - 36% ]	
1234678 HpCDF	20%	[ 18% - 22% ]	31%	[ 24% - 38% ]	18%	[ 11% - 24% ]	22%	[ 15% - 28% ]	
12346789 OCDF	15%	[ 13% - 17% ]	21%	[ 18% - 25% ]	11%	[ 0.5% - 18% ]	15%	[ 0.3% - 26% ]	
<i>PCB-DL</i>									
PCB 77	78%	[ 73% - 84% ]	70%	[ 59% - 82% ]	100% <sup>a</sup>		100% <sup>a</sup>		
<i>Dioxines et PCB 77 (sur base TEQ)</i>									
∑PCDD/F + PCB 77	31%	[ 30% - 32% ]	32%	[ 29% - 34% ]	34%	[ 28% - 41% ]	31%	[ 25% - 36% ]	
<i>PCB-NDL</i>									
PCB 138	77%	[ 64% - 89% ]	70%	[ 63% - 77% ]	100% <sup>a</sup>		100% <sup>a</sup>		
PCB 153	81%	[ 68% - 94% ]	72%	[ 64% - 80% ]	100% <sup>a</sup>		100% <sup>a</sup>		
PCB 180	72%	[ 64% - 81% ]	73%	[ 71% - 75% ]	100% <sup>a</sup>		100% <sup>a</sup>		
∑PCB-NDL	78%	[ 66% - 89% ]	73%	[ 68% - 77% ]	100% <sup>a</sup>		100% <sup>a</sup>		

**Tableau 23 : Facteurs de Biodisponibilité relative calculés (n=4)**

Les facteurs de biodisponibilité relative ont été calculés comme le rapport de la moyenne de la concentration de chaque polluant dans les jaunes d'œufs sur la moyenne de la concentration correspondante du groupe non amendé. Enfin, l'intervalle de confiance à 95% a été calculé en utilisant le fractile de la loi de Student correspondant au nombre de répétitions. # : une donnée était en dessous de la LOQ. <sup>a</sup> : non statistiquement différent de 100%.

#### 8.4.3.1. Conclusion

Les charbons sélectionnés (CA2 et CA3) permettent de réduire significativement le transfert à la poule pondeuse de l'ensemble des polluants halogénés étudiés. Toutefois ces niveaux de réduction sont différents d'un congénère à un autre : les PCDD/F apparaissant comme les molécules les plus sensibles à la stratégie employée (réduction d'un facteur 3) tandis que les PCB-NDL, le PCB 77 et la CLD ne serait réduit que de 20 à 30%. Cette stratégie, prometteuse en termes de gestion de sites contaminés par des PCDD/F, pourrait être testée en conditions réelles afin de confirmer cette approche.

## **8.5. Evaluation de l'innocuité**

### **8.5.1. Tests sur lombriciens**

Pour réaliser cette étude, nous avons utilisé le sol de St Cyprien (contamination aux PCB, Dioxines et Furanés) non amendé ou amendé par le charbon actif CA2 (Réf. 5963.2, ROTH). La procédure expérimentale suivie est décrite au paragraphe 7.3.1.1.4.

L'étape d'incubation des vers de terre dans les cosmes a été réalisée et les vers de terre sont actuellement en cours d'analyse biochimique (dosage des enzymes de stress, protéines totales et circulantes, réserves énergétiques, voir paragraphes 7.3.1.1.6 et 7.3.1.1.7 pour le détail de la méthodologie).

Néanmoins, nous avons suivi la mortalité et la physiologie des individus. Les résultats préliminaires montrent un effet bénéfique du charbon actif sur la survie et la physiologie des vers de terre.



## 9. Discussion

### 9.1. Produire en zone contaminée : qu'attendre en termes de réduction du transfert et donc du risque

La diversité des matrices carbonées utilisées permet de dessiner les contours de la matrice de séquestration idéale. Les biochars d'origine ligneuse ont été globalement inefficaces pour séquestrer les composés organochlorés étudiés. Ceci peut être attribué à l'encombrement des pores par de la matière organique non complètement pyrolysées. Lorsqu'il s'agit de molécules polaires ces résidus, qui portent de nombreuses fonctions comme des acides carboxyliques, peuvent être des points d'attache par l'établissement de liaison entre les charges du contaminant et celles de la matrice. Dans le cas des molécules étudiées ici, leur comportement apolaire ne permet pas ce type de liaison et l'obstruction des pores par ces résidus de pyrolyse incomplète empêche leur pénétration au sein des pores de petite taille. Or pour les molécules hydrophobes c'est ce mode d'interaction qui est le plus important pour une séquestration significative. Les biochars ligneux ont donc un volume microporeux accessible trop réduit pour qu'une séquestration physique efficace puisse avoir lieu.

Le biochar de renouée pyrolysé à 700°C a un comportement un peu différent des biochars ligneux

Parmi les charbons activés, le CA1 a de moindres performances que les deux autres. Il présente un volume poreux certes inférieur, surtout vis à vis du CA2 (environ la moitié) car il est inférieur de seulement 28% à celui du CA3. Les résultats de séquestration obtenus montrent des écarts très importants qui se semblent pas pouvoir être expliqués par ces seules différences de volume de pores. Ainsi la forme granulée du CA1 pourrait être l'explication majeure à son manque d'efficacité. Ce type d'observation a déjà été fait lors de travaux de remédiation sur sédiment, les formes poudreuses sont à privilégier, offrant une surface d'échange accessible plus importante et se mélangeant de manière plus intime à la matrice contaminée, sol ou sédiment.

Lorsque les différents tests sont comparés entre eux pour ces deux charbons à forte efficacité, indépendamment des contaminants, il apparaît que le taux d'abattement observé n'est pas le même. L'interprétation de ces différences repose sur le type d'interactions entre le biote cible et la matrice amendée. Dans le cas du test de disponibilité environnementale (qu'il soit d'ailleurs basé sur la résine Tenax ou sur le complexant cyclodextrine), le contaminant hydrophobe doit se libérer du séquestrant, soit par simple désorption pour les molécules adsorbées en surface par interaction apolaire, soit par migration depuis l'intérieur des nanopores vers l'extérieur. Or dans ces 2 cas le vecteur reste l'eau, soit en tant que telle dans le test de disponibilité environnementale, soit en tant que solution du sol pour la migration vers la rhizosphère puis la translocation via le flux xylémique. Comme les polluants étudiés présentent une forte hydrophobicité, cette étape est donc un facteur limitant, même si un « puits » est créé dans le dispositif. La quantité désorbée n'est donc pas à proprement parler limitée par la solubilité dans l'eau multipliée par le volume d'eau, mais par un ralentissement d'origine thermodynamique. Sur 100 ans il est probable que la quantité désorbée augmenterait mais sous la forme d'une exponentielle décroissante. Dans le cas de la poule, deux phénomènes différents ont lieu. Le premier est la déstructuration du sol lors du transit, liée à une première agression physique dans le gésier puis à une agression chimique par le pH stomacal inférieur à 5. Cet effet est donc très différent de ce qui se passe lors de l'interaction avec la courgette, et diffère également du test de disponibilité où seule l'eau et l'agitation constituent un facteur de déstabilisation de la structure du sol. Le deuxième phénomène est l'effet des micelles libérées au début de l'intestin grêle qui comportent une phase lipophile encapsulée dans une paroi par organisation de la phase polaire de phospholipides et acides gras biliaires vers l'extérieur et de la phase hydrophobe vers l'extérieur. Les contaminants étudiés du fait d'un  $\log K_{ow}$  supérieur à 4 ont une bonne capacité à pénétrer cette bicouche pour migrer au cœur de la micelle. Celle-ci joue alors le rôle de vecteur vers la membrane intestinale favorisant l'absorption des contaminants. Ces micelles provoquent donc une élévation de la solubilité dans le chyme intestinal, que l'on qualifie d'apparente, car elle ne se réfère plus à la solubilité dans l'eau stricto sensu mais dans une phase aqueuse complexe. Le modèle biotique poule peut donc être considéré comme un modèle agressif vis à vis d'une stratégie de séquestration des contaminants. Ces éléments permettraient d'expliquer des réductions plus faibles chez la poule que dans les autres modèles mobilisés. Néanmoins pour les PCDD/F, molécules planes, la réduction est très significative comparée aux composés de type PCB et CLD. L'interprétation de cette différence repose sur une capacité des molécules de configuration plan à pénétrer davantage dans la nanoporosité que les composés à l'encombrement stérique plus important (CLD en forme de cage), ou PCB fortement chlorés non coplanaires (PCB 138, 153 et 180). Lorsque la séquestration est à dominante de piégeage physique au fond des nanopores il est probable que les micelles ne puissent pas y avoir accès et ne soient ainsi plus aptes à capter le contaminant avant de le véhiculer vers la membrane intestinale. Cet élément introduit l'effet molécule dans l'efficacité des matrices à séquestrer, avec une séquestration de type trapping physique qui nécessite à la fois des molécules pas trop encombrantes (au moins dans une dimension) et une distribution de taille de pores à la fois vers des micropores (de l'ordre de la dizaine de nanomètres, soit en réalité des nanopores), et des mésopores qui rendent accessibles les micropores. Ainsi le piégeage sera d'autant plus efficace que les composés auront une taille légèrement inférieure à celle des pores pour à la fois pouvoir y pénétrer (sur un temps long nécessaire qui est celui de la maturation), et que ces pores seront de petite taille afin de limiter les échanges avec l'extérieur une fois le composé hydrophobe que l'on pourrait décrire comme « acculé à la paroi en fond de pore ».

Il n'est donc pas envisageable d'imaginer une matrice carbonée capable de séquestrer de multiples composés aux propriétés très différentes telles que polarité et encombrement stérique.

## 9.2. Pérennité de la séquestration attendue

Même si les biochars sont considérés comme des composés récalcitrants, ils ne sont pas complètement inertes et peuvent potentiellement être dégradés lentement par des processus biotiques et abiotiques (Enders et al., 2012). La prédiction de la stabilité des biochars dépend de différentes propriétés tel que le ratio H/C et le contenu en composés organiques volatiles (Zimmerman, 2010) mais aussi de l'accessibilité (protection physique au sein des fractions organo-minérales) de ces composés aux enzymes microbiennes responsables de leur décomposition, et de la teneur en Corg initial du sol (Bai et al., 2013). Dans un contexte de séquestration de C dans les sols, le biochar doit présenter des temps moyens de résidence (MRT) dans le sol, supérieurs d'un facteur 2 à ceux de la matière organique du sol (MOS) communément décrits qui sont de l'ordre de 50 ans (Schmidt et al., 2011). En comparaison, le MRT du carbone issu de résidus de culture de maïs est de l'ordre de 5 à 7 ans.

Différents auteurs ont réalisé des cinétiques de respirométrie après amendement de sol avec des biochars de nature et caractéristiques différentes afin de calculer un MRT dans les sols (Singh et al., 2012 ; Kuzyakov et al., 2014). Dans la majorité des études, les cinétiques de dissipation des biochars ont été réalisées dans des mésocosmes en conditions contrôlées et ont permis de déterminer des comportements de minéralisation différents selon les pools de C présent dans les biochars (pool C labile vs pool C récalcitrant, Zimmermann et al., 2011). Le pool de C labile qui peut être décomposé rapidement notamment du fait de l'activité microbienne présente des MRT en moyenne de 108 à 196 jours tandis que le pool de C récalcitrant est plus persistant dans les sols et présente des MRT de l'ordre de 556 à 483 ans (Wang et al., 2016). Le pool labile de C des biochars (qui correspond au maximum à 3% du C total) correspondrait notamment à des composés organiques volatiles (COV) générés lors de la pyrolyse et qui sont susceptibles de passer en solution (carbone dissous) suite à l'incorporation des biochars dans le sol. La diversité des COV potentiellement présents dans les biochars est très importante (140 composés individuels identifiés, Spokas et al., 2011) et ces composés susceptibles de passer dans la solution du sol pourraient servir de source de C pour les micro-organismes du sol et être à l'origine, dans les incubations en conditions contrôlées, de la libération rapide de CO<sub>2</sub> mise en évidence suite à l'incorporation de biochar dans les sols. La présence de composés de faible poids moléculaire dans les biochars pourrait du fait d'une stimulation de l'activité microbienne augmenter ou diminuer le taux de décomposition du C natif des sols du fait de mécanismes de « priming effect » positif ou négatif (Kuzyakov et al., 2009 ; Keith et al., 2011 ; Luo et al., 2011 ; Farrell et al., 2013 ; Lu et al., 2014 ; Farrell et al., 2015). Très peu d'études ont ainsi déterminé en conditions naturelles *in situ* le temps de résidence des biochars. Le plus souvent les temps de résidence moyen des biochars dans les sols sont approchés grâce à l'utilisation de modèles plus ou moins complexes utilisant les temps de demi-vie des biochars obtenus en mésocosmes. La différence entre les modèles réside notamment dans la prise en compte ou non de deux pools de C (labile vs récalcitrant) du biochar. Les données de simulation des temps moyens de résidence peuvent ainsi être très différentes d'un modèle à un autre (Bai et al., 2013). Dans leur méta-analyse, Wang et al. (2016) mettent en évidence différents facteurs susceptibles d'augmenter la stabilité des biochars dans les sols dont notamment la forte teneur en argiles des sols, l'augmentation de la température de pyrolyse (supérieure à 400°C), la diminution de la température du sol et une faible teneur en C labile des biochars. Le Tableau 24 reprend les différents résultats des études qui ont étudié en conditions contrôlées ou *in situ* le devenir des biochars dans les sols.

**Tableau 24: Synthèse des articles concernant la pérennité des matrices hautement carbonées trouvés**

<i>Nature du BC et conditions de pyrolyse</i>	<i>Caractéristiques du BC</i>	<i>Types de sol</i>	<i>Conditions d'incubation</i>	<i>Minéralisation du C des BC (%)</i>	<i>MRT du C des BC</i>	<i>Référence</i>
<b>Ray-grass</b> 13h à 400°C	N/A	Loamy Haplic Luvisol (argile 23%, limons 73%, sables 4,4%, pH 6, Corg 1,2%)	Conditions contrôlées (20°C, 70% WHC) Cinétique sur 3 ans	0,58% par an	MRT BC : 200 ans en conditions contrôlées et 2000 ans en conditions naturelles (calculé selon Franko et al., 1997).	Kuzyakov et al., 2009
<b>Ray-grass</b> 13h à 400°C			Conditions contrôlées (20°C, 70% WHC) Cinétique sur 8,5 ans	0,26% par an	MRT BC : 200 ans en conditions contrôlées et 4000 ans en conditions naturelles (calculé selon Franko et al., 1997)	Kuzyakov et al., 2014
<b>Miscanthus</b> 350°C et 700°C	BC 350 (C/N 17, pH 10,8)  BC 700 (C/N 128, pH 7,8)	Silty loam soil	Taux d'incorporation : 50 mg C g <sup>-1</sup> sol sec Conditions contrôlées (25°C, 40% WHC)	BC 350 0,66 et 0,81% en 87 jours  BC 700 : 0,14 et 0,18% en 87 jours	N/A	Luo et al., 2011
<b>Miscanthus</b> Pyrolyse à 575°C, 120 min (PyrBC) Hydrochar à 200°C, 30 min (HtcBC)	PyrBC pH 5,1, Corg = 76,10, C/N 121 HtcBC pH 10,1, Corg = 52,3, C/N 169	3 sols testés -Inceptisol (pH 7,1, Corg 0,68%) -Mollisol (pH 5,1, Corg 1,93%) -Inceptisol-Aquept (pH 5,5, Corg 0,99%)	Taux d'incorporation : entre 3,4 et 9,7 gC kg <sup>-1</sup> de sol sec soit 19 à 66 t BC ha <sup>-1</sup>  Conditions contrôlées (25°C, 40% WHC).	Taux moyen de dégradation (200 jours) : PyrBC = entre -5,6 et 25,8 mg C / g appliqué  HtcBC = entre 269 et 304 mg C / g appliqué	Tps ½ vie : PyrBC entre 19,7 et 110,7 ans HtcBC entre 0,4 à 1,4 ans  Miscanthus brut entre 0,8 à 1 an	Bai et al., 2013
<b>Miscanthus</b> Hydrochar 200°C 2MPa 11h Pyrochar 750°C en 45 min	Hydrochar : pH 3,8; O/C 0,31; H/C 1,01; 64% C Pyrochar : pH 9; O/C=0,07; H/C 0,15; 82% C	3 sols sablo-limoneux testés	Taux d'incorporation : 50 t C ha <sup>-1</sup>  Incubation in situ (19 mois)	Hydrochar : 23-30% de minéralisation en 19 mois  Pyrochar : 2-3% par an	MRT Hydrochar = 3 à 14 ans MRT Pyrochar = 16 à 224 ans	Gronwald et al., 2016

<i>Nature du BC et conditions de pyrolyse</i>	<i>Caractéristiques du BC</i>	<i>Types de sol</i>	<i>Conditions d'incubation</i>	<i>Minéralisation du C des BC (%)</i>	<i>MRT du C des BC</i>	<i>Référence</i>
<b>Miscanthus</b> 600-700°C	75% de C récalcitrant (oxydation bichromate) H/C entre 0,18 et 0,24 O/C = 0,05 C/N = 125 BCPA (aromaticité et condensation) = 175-180	sandy loam inceptisol (pH 6,8 ; Corg 1,2%)  clay loam luvisol (pH 6,4 ; Corg 2,64%)	Taux d'incorporation : 6 ; 30 et 150 t BC ha <sup>-1</sup> en conditions contrôlées  8 et 25 t C ha <sup>-1</sup> pour l'essai au champ	En conditions contrôlées (90 jours) BC : 0,12% Miscanthus : 45%  0,8% par an au champ pour un apport de 25 t C ha <sup>-1</sup>	MRT BC >100 ans au champ (extrapolation)	Rasse et al., 2017
<b>Tiges fraîches de maïs</b> 350 et 500°C	BC 350 : H/C 0,68 ; O/C 0,25 ; C stable 57,2%  BC 500 : H/C 0,47 ; O/C 0,14 ; C stable 67,4%	Alfisol (pH 5,7, Corg 4,17%) Andosol (pH 5,8, Corg 10,2%)	Taux d'incorporation 7,18 t C ha <sup>-1</sup> (soit environ 10 t BC ha <sup>-1</sup> )  Incubations en conditions contrôlées : 510 jours (19°C, 70% HWC)	Alfisol : BC350 = 7,9% BC550 = 7,4% sur 510 jours  Andisol : BC350 = 13.2% BC550 = 14.1% sur 510 jours	N/A	Herath et al., 2015
<b>Paille de maïs</b> 500°C, 13h	pH 10,1; total C 63,9 %; DOC 1,12%; N total 0,88 %; C/N 72	Aquic inceptisol (pH 7,55, Corg 0,66%, N total 0,076%)	Taux d'incorporation 15 t BC ha <sup>-1</sup>  Conditions contrôlées : 60 jours (25°C, 80% WHC)	BC = 2,34 à 3,01% en 60 jours	N/A	Lu et al., 2014
<b>Paille de riz</b> 250°C, 300°C, 350°C, 400°C 450°C pendant 2h, 4h et 8h	C/N = 38 à 74, teneur en C entre 57 et 72%, rendement entre 26 et 63%	Ultisol (pH 4,1, Corg 1,21%, C/N 17,3)	Taux d'incorporation 2,4 t BC ha <sup>-1</sup> sur 20 cm soit 1% biochar (w/w)  Conditions contrôlées : 11 jours (25°C, 40% WHC)		MRT entre 244-1700 ans  MRT inférieur à 500 ans pour les BC250, BC300 et BC350°C)	Peng et al., 2011
<b>Paille de riz</b> 500°C	pH = 10,04, Corg = 61%, C/N 28, taux de C aromatique = 94,4%	5 types de sol	Taux d'incorporation 2,5% BC (w/w)  Conditions contrôlées : 390 jours (25°C)	Entre 0,17 et 0,28% sur 390 jours	MRT C récalcitrant BC = 617 à 2829 ans  MRT C labile BC = 18 à 37 jours	Wu et al., 2016

<b>Nature du BC et conditions de pyrolyse</b>	<b>Caractéristiques du BC</b>	<b>Types de sol</b>	<b>Conditions d'incubation</b>	<b>Minéralisation du C des BC (%)</b>	<b>MRT du C des BC</b>	<b>Référence</b>
<b>Cosses de riz</b> Carbonisation artisanale dans une cheminée	pH 8,6, Corg 43%, Ntotal 0,65%	4 types de sol	Taux d'incorporation 2,5% BC (w/w)  Conditions contrôlées : 2,9 ans (28°C)	BC Cosses = 4,4 à 8,5% en 2,9 ans  Cosses = 76 à 99,8 % en 2,9 ans	MRT BC Cosses = 34,1 à 66,3 ans  MRT Cosses = 2,9 à 3,8 ans	Knoblauch et al., 2011
<b>Bois de manguier</b> 48h à 400 à 600°C	pH 10 ; Corg 63 à 71% ; Ntotal 0,30 ; H/C 0,025 ; O/C 0,22	Oxisol (Corg 2%, Ntotal 0,13%, pH 3,9	Taux d'incorporation 11,6 ; 23,2 et 116,1 t ha <sup>-1</sup>  Conditions naturelles	3,24 % en 2 ans	MRT BC = 600 à 3264 ans	Major et al., 2010
<b><i>Eucalyptus saligna</i></b> (marqué 13C) 450°C et 550°C pyrolyse lente (40 min)	BC 450 : pH8,64 ; Corg 67,4%  BC 550 : pH 9,96 ; Corg 73,2%	Différents sols	Taux d'incorporation 2% (w/w)  Conditions contrôlées : 12 mois (20 et 40°C, 70% HWC)	Entre 0,3 et 2,71% par an	MRT BC à 20°C = 214 ans (BC450) à 610 ans (BC550)  à 40°C = 44 ans (BC450) à 439 ans (BC550)	Fang et al., 2013
<b><i>Eucalyptus saligna</i></b> (marqué 13C) 450°C et 550°C	BC 450 : pH8,64 ; Corg 67,4%  BC 550 : pH 9,96 ; Corg 73,2%	Différents sols	Taux d'incorporation 20 g BC/kg sol sec  Conditions contrôlées : 2 ans, (20°C, 40°C, 60°C, 70% WHC)	Entre 0,43 et 10,58% sur 2 ans (supérieur pour BC450 et à température élevée)	A 20°C, MRT BC450 = 341 à 454 ans BC550 = 732 à 1061 ans	Fang et al., 2015
<b><i>Eucalyptus saligna</i></b> pyrolyse lente à 450°C 40 min	Corg 66,7% H/Corg 0,63; pH 9,8 C/N 64	Rhodic ferrasol (Corg 4,3% ; pH 4,97)	Taux d'incorporation 30t ha <sup>-1</sup>  Incubation au champ (388 jours)	2,7% à 3% en 388 jours	MRT BC = entre 351 et 484 ans	Weng et al., 2015
<b><i>Eucalyptus saligna</i></b> pyrolyse lente à 450°C 40 min	Corg 66,7% H/Corg 0,63; pH 9,8 C/N 64	Arenosol (pH 6,1, Corg 0,66%) Cambisol (pH 6,9, Corg 1,67%) Ferralsol (pH 6, Corg 6,25%)	Taux d'incorporation 29,2 t/ha sur 10 cm de profondeur  Incubation au champ sur 12 mois	2% dans l'Arenosol, 4,6% dans le cambisol et 7% dans le ferralsol en 12 mois	MRT Arenosol= 44-1079 ans MRT Cambisol= 18-172 ans MRT Ferralsol = 11-29 ans	Singh et al., 2015

<i>Nature du BC et conditions de pyrolyse</i>	<i>Caractéristiques du BC</i>	<i>Types de sol</i>	<i>Conditions d'incubation</i>	<i>Minéralisation du C des BC (%)</i>	<i>MRT du C des BC</i>	<i>Référence</i>
<b>11 biochars issus de différentes biomasses :</b> Eucalyptus saligna (bois et feuilles), fientes de volaille, boues de papeterie, fumier 400 et/ou 550°C avec ou sans activation	Proportion de C aromatique compris entre 71 et 85% pour les BC 400 et entre 92 et 98,8% pour les BC 550	Vertisol (pH 8,2, Corg 0,42%)	Taux d'incorporation 10t BC /ha sur 10 cm  Conditions contrôlées (5 ans, 67% WHC)	Entre 0,5 et 8,9% sur 5 ans selon le type de biochar (fumier > feuilles > bois) et la température (BC400>BC 550).  L'activation du BC 400 réduit la minéralisation de 10%	MRT BC (C labile) = 3 à 57 jours  MRT BC (C récalcitrant) = 90 à 1600 ans	Singh et al., 2012
<b>5 biochars issus de différentes biomasses :</b> résidus de bois, boues,... entre 450°C et 620°C selon les biochars pendant 20 minutes	C/N entre 9 (boues) et 471 (bois) pH entre 6,9 et 9,4	Calcic cambisol, (Corg 0,7%, Ntotal 0,1%, pH 7,8)	Taux d'incorporation 15 t BC /ha sur 5 cm  Incubation au champ sur 24 mois	11% (bois de vigne) à 27% (boues de papeterie) sur 24 mois	MRT BC = 7,9 à 43,9 ans	de la Rosa et al., 2018
<b><i>Triticum aestivum</i>, <i>Eucalyptus globulus</i></b> (marquage13C) 450°C pendant 40 minutes	BC blé : Ctot 46,6%; Ntot 2,54% ; C/N 18,3; pH 9,61  BC eucalyptus : Ctot 62,7 % ; Ntot 1,64% ; C/N 40, pH 9,93	Aridic arenosol (Ctot 10,3% ; Ntot 0,96 ; C/N 10,4; pH 4,82)	Taux d'incorporation 5% (w/w)  Conditions contrôlées sur 74 jours (22°C, 60% WHC)	BC Blé : 0.295% après 74 jours BC Eucalyptus : 0.244% après 74 jours	N/A	Farrell et al., 2013

## 10. Conclusion

---

### Apports, limites et perspectives du projet

La mise en œuvre de matrices carbonées ayant un meilleur rendement de fabrication de type biochar a été testée pour tenter d'abaisser les coûts d'une éventuelle stratégie de remédiation par séquestration. Même si les capacités supérieures des charbons activés en ce qui concerne les contaminants apolaires ou hydrophobes étaient probables, la moindre efficacité des biochars aurait pu être compensée par un coût plus bas.

Les résultats obtenus pour les biochars d'origine ligneuse invalident cette hypothèse car il n'y a pas de réduction significative du transfert vers le biote. A cela s'ajoute le fait que le lien établi avec ces biochars relève potentiellement d'une interaction avec des parties carbonées moins récalcitrantes (chaînes aliphatiques, carboxyliques) à la biodégradation dans le sol, qui pourrait amener à une érosion du pouvoir séquestrant sur un temps long.

Les tests mis en place pour évaluer l'innocuité de ces amendements carbonés pour les deux cibles étudiées : ver de terre (*Aporrectodea caliginosa*) et microbiote apportent des résultats ambigus.

Pour le microbiote deux voies d'approche ont été suivies, l'une ciblant des activités enzymatiques impliquées dans les cycles de macroéléments nutritifs : azote, carbone, potassium et soufre, l'autre mobilisant des outils de génomique pour caractériser la densité de flore et la diversité fonctionnelle. Deux limites d'origine différente empêchent aujourd'hui de conclure. La première a pour origine la crise COVID et la saturation des plates-formes génomiques, les résultats ne devraient être disponibles que fin mai 2021. La deuxième, moins établie correspond à un biais dû à un effet séquestrant de la matrice carbonée non pas sur l'enzyme mais sur le substrat introduit expérimentalement. Dans l'hypothèse (probable mais non démontrée) d'une adsorption du substrat (par exemple le phénol) sur les charbons activés, la réaction ne peut pas avoir lieu et l'activité enzymatique est alors sous-estimée. Il serait souhaitable d'infirmer ou de confirmer cette hypothèse par un test de sorption des différents substrats sur les matrices carbonées testées. Il est néanmoins impossible d'exclure un effet de déplétion sur l'activité microbienne lors de l'introduction des matrices carbonées, au moins à court terme. Il serait souhaitable de concevoir et mettre en place des tests sur une durée de l'ordre de 6 mois sur de vrais sols amendés (par opposition aux sols artificiels qui ne sont pas des milieux favorables au développement de la microflore), disposant de leur flore endogène, et de suivre le développement de celle-ci par des indicateurs pertinents (respiromètre...).

A l'opposé des biochars, les charbons activés ont montré une forte capacité à séquestrer les 3 familles étudiées. Ceci a été démontré pour les trois types d'essai (disponibilité environnementale, biodisponibilité pour la courgette ou la poule pondeuse) en ce qui concerne la chlordécone, et seulement chez la poule pondeuse pour les familles polychlorobiphényles et dioxines-furanes.

Il semble y avoir une opposition entre les résultats obtenus sur sol artificiel et sol naturel. Contrairement à ce qui pouvait être attendu, la séquestration de la chlordécone a été plus efficace avec les 2 sols naturels testés (andosol et nitisol) qu'avec le sol artificiel de type OCDE. Ceci montre que l'adjonction du CA2 a bien généré une migration du contaminant depuis la matière organique endogène vers la matrice séquestrante exogène, le phénomène de compétition se déroulant donc largement en faveur de la matrice carbonée introduite. Ceci est d'autant plus intéressant à souligner que la chlordécone présente dans l'andosol est réputée peu disponible (ceci a été démontré chez les végétaux par comparaison avec du nitisol) du fait des propriétés spécifiques de ses allophanes en interaction avec son abondante matière organique. Ces faits amènent à interroger le rôle joué par la tourbe dans le sol artificiel. Celle-ci a été ajoutée pour jouer le rôle d'une matière organique endogène standardisée. En dehors d'effets structuraux (porosité du sol naturel vs sol artificiel très compact et non évolué), il est possible de voir ici une capacité non négligeable de séquestration de la tourbe, (déjà démontrée par ailleurs) mais surtout une forme de compétition différente de celle ayant lieu entre matrice organique endogène et charbon activé. Afin d'approfondir cette piste il serait intéressant de caractériser la qualité de ces matières organiques, la tourbe étant très riche en acides humiques, formes déjà évoluées, dont l'effet sur la biodisponibilité de PCB-NDL a déjà été démontrée (thèse de M Delannoy). Le côté positif est que cette matière joue bien le rôle de compétition significatif qui lui était assigné. Ainsi une réduction significative de disponibilité ou biodisponibilité observée sur ce sol artificiel serait a minima observée sur un sol naturel.

Comme cité précédemment il n'existe pas de matrice carbonée capable de séquestrer une large gamme de molécules avec la même efficacité puisque celle-ci repose sur une interaction entre les propriétés intrinsèques de la matrice et celles du contaminant. Or la contamination des sols est souvent le fait de complexes de contaminants, aux propriétés diverses. Cette observation a déjà été faite au sein de l'éventail de contaminants choisi dans ce projet alors que les molécules avaient beaucoup de points communs. Ceci amène à poser la question de l'usage non pas d'une seule matrice de séquestration mais peut être d'une combinaison d'entre elles afin de fournir à chacune un milieu favorable à son piégeage physique ou à une liaison chimique, qui seraient suffisants pour limiter sa disponibilité. Il faut également noter que les tests répondent à des enjeux différents. Si le test de disponibilité environnementale a été discuté comme un proxy in vitro, des tests in vivo, il a avant tout été introduit comme test de screening. Or en fonction de l'objectif de la remédiation, il pourrait se suffire à lui-même. Dans le cas où des productions alimentaires en seraient pas envisagées ou envisageables sur le sol contaminé, un des

intérêts est déjà la stabilisation des contaminants. Le test de disponibilité environnementale mime en fait une désorption par l'eau, accentuée par la présence d'un puits. La réponse apportée par ce test pourrait donc être considérée comme pertinente par rapport à un enjeu de lessivage des contaminants. En effet, même si ces derniers sont hydrophobes sur des sols filtrants et/ou bien arrosés, une part significative des contaminants peut être entraînée vers les horizons plus profonds, voire atteindre des nappes superficielles. Les essais réalisés dans ce projet montrent que plusieurs des matrices ont une capacité à réduire cette mobilisation et pourraient donc être utiles dans une perspective de stabilisation.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adekiya, A.O., T.M. Agbede, C.M. Aboyeji, O. Dunsin et V.T. Simeon. 2019. « Effects of Biochar and Poultry Manure on Soil Characteristics and the Yield of Radish. » *Scientia Horticulturae* 243: 457-463. doi:10.1016/j.scienta.2018.08.048.
- ADEME. 2017. « TROPHE - Transferts et Risques des Organiques Persistants pour l'Homme et les... » s.l.: ADEME. <https://www.ademe.fr/trophe-transferts-risques-organiques-persistants-lhomme-ecosystemes>.
- AFSSA, InVS. 2003. *Exposition aux dioxines de la population vivant à proximité des UIOM: état des connaissances et protocole d'une étude d'exposition*. s.l.: s.n. <https://www.santepubliquefrance.fr/content/download/185993/2317603>.
- Ahmad, Mahtab, Anushka Upamali Rajapaksha, Jung Eun Lim, Ming Zhang, Nanthi Bolan, Dinesh Mohan, Meththika Vithanage, Sang Soo Lee et Yong Sik Ok. 2014. « Biochar as a Sorbent for Contaminant Management in Soil and Water: A Review. » *Chemosphere* 99: 19-33. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.10.071.
- Ahmad, R., P. N. Nelson et R. S. Kookana. 2006. « The Molecular Composition of Soil Organic Matter as Determined by <sup>13</sup>C NMR and Elemental Analyses and Correlation with Pesticide Sorption. » *European Journal of Soil Science* 57 (6): 883-893. doi:10.1111/j.1365-2389.2005.00784.x.
- Ahn, Sungwoo, David Werner, Hrissi K. Karapanagioti, Donald R. McGlothlin, Richard N. Zare et Richard G. Luthy. 2005. « Phenanthrene and Pyrene Sorption and Intraparticle Diffusion in Polyoxymethylene, Coke, and Activated Carbon. » *Environmental Science & Technology* 39 (17): 6516-6526. doi:10.1021/es050113o.
- Aly, Moustafa Abdel Salam et Peter Schröder. 2008. « Effect of Herbicides on Glutathione S-Transferases in the Earthworm, Eisenia Fetida. » *Environmental Science and Pollution Research* 15 (2): 143-149. doi:10.1065/espr2007.02.385.
- Amstaetter, Katja, Espen Eek et Gerard Cornelissen. 2012. « Sorption of PAHs and PCBs to activated carbon: Coal versus biomass-based quality. » *Chemosphere* 87 (5): 573-578. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.01.007.
- Amutova, Farida, Matthieu Delannoy, Almagul Baubekova, Gaukhar Konuspayeva et Stefan Jurjanz. 2021. « Transfer of Persistent Organic Pollutants in Food of Animal Origin – Meta-Analysis of Published Data. » *Chemosphere* 262: 128351. doi:10.1016/j.chemosphere.2020.128351.
- ANSES. 2011. « Étude de l'alimentation totale française 2 - EAT2 - Tome 1 - Contaminants inorganiques, minéraux, polluants organiques persistants, mycotoxines, phyto-estrogènes résidus de pesticides. » Rapport d'expertise 2006-SA-0361. Avis de l'ANSES. Maisons-Alfort, France: ANSES. <https://www.anses.fr/fr/documents/PASER2006sa0361Ra1.pdf>.
- Arsène, Marie-Ange, Ketty Bilba, Holmer Savastano Junior et Khosrow Ghavami. 2013. « Treatments of non-wood plant fibres used as reinforcement in composite materials. » *Materials Research* 16 (4): 903-923.
- ASTM E1676-04. 2004. « Standard Guide for Conducting Laboratory Soil Toxicity or Bioaccumulation Tests with the Lumbricid Earthworm Eisenia Fetida and the Enchytraeid Potworm Enchytraeus albidus, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2004, [www.astm.org](http://www.astm.org). »
- Atamaniuk, Tetiana M., Olga I. Kubrak, Kenneth B. Storey et Volodymyr I. Lushchak. 2013. « Oxidative Stress as a Mechanism for Toxicity of 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D): Studies with Goldfish Gills. » *Ecotoxicology* 22 (10): 1498-1508. doi:10.1007/s10646-013-1136-z.
- Barrett, Elliott P., Leslie G. Joyner et Paul P. Halenda. 1951. « The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms. » *Journal of the American Chemical Society* 73 (1): 373-380. doi:10.1021/ja01145a126.
- Bart, Sylvain, Joël Amossé, Christopher N. Lowe, Christian Mougin, Alexandre R. R. Péry et Céline Pelosi. 2018. « Aporrectodea Caliginosa, a Relevant Earthworm Species for a Posteriori Pesticide Risk Assessment: Current Knowledge and Recommendations for Culture and Experimental Design. » *Environmental Science and Pollution Research* 25 (34): 33867-33881. doi:10.1007/s11356-018-2579-9.
- Beckingham, Barbara et Upal Ghosh. 2011. « Field-Scale Reduction of PCB Bioavailability with Activated Carbon Amendment to River Sediments. » *Environmental Science & Technology* 45 (24): 10567-10574. doi:10.1021/es202218p.
- Beesley, Luke, Eduardo Moreno-Jiménez et Jose L. Gomez-Eyles. 2010. « Effects of Biochar and Greenwaste Compost Amendments on Mobility, Bioavailability and Toxicity of Inorganic and Organic Contaminants in a Multi-Element Polluted Soil. » *Environmental Pollution* 158 (6): 2282-2287. doi:10.1016/j.envpol.2010.02.003.
- Beesley, Luke, Eduardo Moreno-Jiménez, Jose L. Gomez-Eyles, Eva Harris, Brett Robinson et Tom Sizmur. 2011. « A Review of Biochars' Potential Role in the Remediation, Revegetation and Restoration of Contaminated Soils. » *Environmental Pollution* 159 (12): 3269-3282. doi:10.1016/j.envpol.2011.07.023.
- Behazin, Ehsan, Emmanuel Ogunsona, Arturo Rodriguez-Urbe, Amar K. Mohanty, Manjusri Misra et Anthony O. Anyia. 2015. « Mechanical, Chemical, and Physical Properties of Wood and Perennial Grass Biochars for Possible Composite Application. » *BioResources* 11 (1): 1334-1348. doi:10.15376/biores.11.1.1334-1348.
- Beyer, Wayne F. et Irwin Fridovich. 1987. « Assaying for Superoxide Dismutase Activity: Some Large Consequences of Minor Changes in Conditions. » *Analytical Biochemistry* 161 (2): 559-566. doi:10.1016/0003-2697(87)90489-1.



- BISPO A et MJ JOURDAIN. 2002. *Ecotoxicité des sols et des déchets : résultats des tests biologiques*. Sous la dir. de ADEME (AGENCE DE L'ENVIRONNEMENT ET DE LA MAITRISE DE L'ENERGIE-DIRECTION SCIENTIFIQUE). DONNEES ET REFERENCES. s.l.: ADEME. ANGERS. <https://side.developpement-durable.gouv.fr/Default/doc/SYRACUSE/61882/ecotoxicite-des-sols-et-des-dechets-resultats-des-tests-biologiques>.
- Boer, J. H., B. C. Lippens, B. G. Linsen, J. C. P. Broekhoff, A. Heuvel et Th. J. Osinga. 1966. « The curve of multimolecular N<sub>2</sub>-adsorption. » *Journal of Colloid and Interface Science* 21 (4): 405-414. doi:10.1016/0095-8522(66)90006-7.
- Bogan, Bill W. et Wendy R. Sullivan. 2003. « Physicochemical Soil Parameters Affecting Sequestration and Mycobacterial Biodegradation of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Soil. » *Chemosphere* 52 (10): 1717-1726. doi:10.1016/S0045-6535(03)00455-7.
- Booth, Lynn H. et Kathryn O'Halloran. 2001. « A Comparison of Biomarker Responses in the Earthworm *Aporrectodea Caliginosa* to the Organophosphorus Insecticides Diazinon and Chlorpyrifos. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (11): 2494-2502. doi:10.1002/etc.5620201115.
- Bordet, F., A. Thieffine, J. Mallet, F. Heraud, A. Blateau et D. Inthavong. 2007. « In-house validation for analytical methods and quality control for risk evaluation of chlordecone in food. » *International Journal of Environmental Analytical Chemistry (Intern. J. Environ. Anal. Chem.)* 87: 985-998.
- Bornemann, Ludger C., Rai S. Kookana et Gerhard Welp. 2007. « Differential sorption behaviour of aromatic hydrocarbons on charcoals prepared at different temperatures from grass and wood. » *Chemosphere* 67 (5): 1033-1042. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.10.052.
- Boucher, Olivier, Marie-Noëlle Simard, Gina Muckle, Florence Rouget, Philippe Kadhel, Henri Bataille, Véronique Chajès, Renée Dallaire, Christine Monfort, Jean-Pierre Thomé, Luc Multigner et Sylvaine Cordier. 2013. « Exposure to an organochlorine pesticide (chlordecone) and development of 18-month-old infants. » *NeuroToxicology* 35: 162-168. doi:10.1016/j.neuro.2013.01.007.
- Bouveret, Cécile, Guido Rychen, Sylvain Lerch, Catherine Jondreville et Cyril Feidt. 2013. « Relative Bioavailability of Tropical Volcanic Soil-Bound Chlordecone in Piglets. » *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 61 (38): 9269-9274. doi:10.1021/jf400697r.
- Branton, Peter et Robert H. Bradley. 2010. « Effects of Active Carbon Pore Size Distributions on Adsorption of Toxic Organic Compounds. » *Adsorption* 17 (2): 293-301. doi:10.1007/s10450-010-9284-4.
- Brinker, C. Jeffrey et George W. Scherer. 1990. *Sol-gel science: the physics and chemistry of sol-gel processing*. Boston: Academic Press.
- Brown, Roberta A., Andrew K. Kercher, Thanh H. Nguyen, Dennis C. Nagle et William P. Ball. 2006. « Production and characterization of synthetic wood chars for use as surrogates for natural sorbents. » *Organic Geochemistry* 37 (3): 321-333. doi:10.1016/j.orggeochem.2005.10.008.
- Brunauer, Stephen, P. H. Emmett et Edward Teller. 1938. « Adsorption of Gases in Multimolecular Layers. » *Journal of the American Chemical Society* 60 (2): 309-319. doi:10.1021/ja01269a023.
- Bucheli, Thomas D. et Örjan Gustafsson. 2003. « Soot sorption of non-ortho and ortho substituted PCBs. » *Chemosphere* 53 (5): 515-522. doi:10.1016/S0045-6535(03)00508-3.
- Budinsky, R.A., J.C. Rowlands, S. Casteel, G. Fent, C.A. Cushing, J. Newsted, J.P. Giesy, M.V. Ruby et L.L. Aylward. 2008. « A Pilot Study of Oral Bioavailability of Dioxins and Furans from Contaminated Soils: Impact of Differential Hepatic Enzyme Activity and Species Differences. » *Chemosphere* 70 (10): 1774-1786. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.08.035.
- Cabidoche, Y. M., R. Achard, P. Cattani, C. Clermont-Dauphin, F. Massat et J. Sansoulet. 2009. « Long-term pollution by chlordecone of tropical volcanic soils in the French West Indies: A simple leaching model accounts for current residue. » *Environmental Pollution* 157: 1697-1705.
- Cabidoche, Y.M. et M. Lesueur-Jannoyer. 2012. « Contamination of Harvested Organs in Root Crops Grown on Chlordecone-Polluted Soils. » *Pedosphere* 22 (4): 562-571. doi:10.1016/S1002-0160(12)60041-1.
- Caboche, J. 2009. « Validation d'un test de mesure de bioaccessibilité : application à quatre éléments traces métalliques dans les sols : As, Cd, Pb et Sb. » Vandoeuvre-les-Nancy: Institut National Polytechnique de Lorraine (INPL) Ecole Doctorale Sciences et Ingénieurs des Ressources, Procédés, Produits, Environnement (RP2E) Laboratoire Unité de recherche animal et fonctionnalités des produits animaux (URAFPA). internal-pdf://2811 Caboche 2009-3612966912/2811 Caboche 2009.pdf.
- Chai, Yunzhou, Rebecca J. Currie, John W. Davis, Michael Wilken, Greg D. Martin, Vyacheslav N. Fishman et Upal Ghosh. 2012. « Effectiveness of Activated Carbon and Biochar in Reducing the Availability of Polychlorinated Dibenzo- p - Dioxins/Dibenzofurans in Soils. » *Environmental Science & Technology* 46 (2): 1035-1043. doi:10.1021/es2029697.
- Chen, Baoliang et Zaiming Chen. 2009. « Sorption of Naphthalene and 1-Naphthol by Biochars of Orange Peels with Different Pyrolytic Temperatures. » *Chemosphere* 76 (1): 127-133. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.02.004.
- Chen, Baoliang, Dandan Zhou et Lizhong Zhu. 2008. « Transitional Adsorption and Partition of Nonpolar and Polar Aromatic Contaminants by Biochars of Pine Needles with Different Pyrolytic Temperatures. » *Environmental Science & Technology* 42 (14): 5137-5143. doi:10.1021/es8002684.
- Chen, Chun, Qixing Zhou, Shuo Liu et Zongming Xiu. 2011. « Acute Toxicity, Biochemical and Gene Expression Responses of the Earthworm *Eisenia Fetida* Exposed to Polycyclic Musks. » *Chemosphere* 83 (8): 1147-1154. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.01.006.
- Chevallier, T., T. Woignier, J. Toucet, E. Blanchart et P. Dieudonné. 2008. « Fractal Structure in Natural Gels: Effect on Carbon Sequestration in Volcanic Soils. » *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 48 (1-2): 231-238. doi:10.1007/s10971-008-1795-z.
- Cho, Yeo-Myoung, Upal Ghosh, Alan J. Kennedy, Adam Grossman, Gary Ray, Jeanne E. Tomaszewski, Dennis W. Smithenry, Todd S. Bridges et Richard G. Luthy. 2009. « Field Application of Activated Carbon Amendment for In-Situ Stabilization of Polychlorinated Biphenyls in Marine Sediment. » *Environmental Science & Technology* 43 (10): 3815-3823. doi:10.1021/es802931c.

- Cho, Yeo-Myoung, Dennis W. Smithenry, Upal Ghosh, Alan J. Kennedy, Rod N. Millward, Todd S. Bridges et Richard G. Luthy. 2007. « Field methods for amending marine sediment with activated carbon and assessing treatment effectiveness. » *Marine Environmental Research* 64 (5): 541-555. doi:10.1016/j.marenvres.2007.04.006.
- Cho, Yeo-Myoung, David Werner, Yongju Choi et Richard G. Luthy. 2012. « Long-term monitoring and modeling of the mass transfer of polychlorinated biphenyls in sediment following pilot-scale in-situ amendment with activated carbon. » *Journal of Contaminant Hydrology* 129-130. Sorption and Transport Processes Affecting the Fate of Environmental Pollutants in the Subsurface: 25-37. doi:10.1016/j.jconhyd.2011.09.009.
- Choi, Yongju, Yeo-Myoung Cho, William R. Gala, Thomas P. Hoelen, David Werner et Richard G. Luthy. 2016. « Decision-making framework for the application of in-situ activated carbon amendment to sediment. » *Journal of Hazardous Materials* 306: 184-192. doi:10.1016/j.jhazmat.2015.12.019.
- Choi, Yongju, Yeo-Myoung Cho, Richard G. Luthy et David Werner. 2016. « Predicted effectiveness of in-situ activated carbon amendment for field sediment sites with variable site- and compound-specific characteristics. » *Journal of Hazardous Materials* 301: 424-432. doi:10.1016/j.jhazmat.2015.09.016.
- Choi, Yongju, Yeo-Myoung Cho, David Werner et Richard G. Luthy. 2014. « In Situ Sequestration of Hydrophobic Organic Contaminants in Sediments under Stagnant Contact with Activated Carbon. 2. Mass Transfer Modeling. » *Environmental Science & Technology* 48 (3): 1843-1850. doi:10.1021/es404209v.
- Chu, Gyo Moon, Cheol Kyu Jung, Hoi Yun Kim, Ji Hee Ha, Jong Hyun Kim, Min Seob Jung, Shin Ja Lee, Yuno Song, Rashid Ismael Hag Ibrahim, Jae Hyeon Cho, Sung Sill Lee et Young Min Song. 2013. « Effects of Bamboo Charcoal and Bamboo Vinegar as Antibiotic Alternatives on Growth Performance, Immune Responses and Fecal Microflora Population in Fattening Pigs. » *Animal Science Journal* 84 (2): 113-120. doi:10.1111/j.1740-0929.2012.01045.x.
- Chu, Gyo Moon, Jong Hyun Kim, Hoi Yun Kim, Ji Hee Ha, Min Seob Jung, Yuno Song, Jae Hyun Cho, Shin Ja Lee, Rashid Ismael Hag Ibrahim, Sung Sill Lee et Young Min Song. 2013. « Effects of bamboo charcoal on the growth performance, blood characteristics and noxious gas emission in fattening pigs. » *Journal of Applied Animal Research* 41 (1): 48-55. doi:10.1080/09712119.2012.738219.
- Collas, Claire, Maurice Mahieu, Alexandre Tricheur, Nadia Crini, Pierre-Marie Badot, Harry Archimède, Guido Rychen, Cyril Feidt et Stefan Jurjanz. 2019. « Cattle Exposure to Chlordecone through Soil Intake. The Case-Study of Tropical Grazing Practices in the French West Indies. » *Science of The Total Environment* 668: 161-170. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.02.384.
- Colmet-Daage, François, P. Lagache, J. de Crécy, Jacques Gautheyrou, Michèle Gautheyrou et M. de Lannoy. 1965. « Caractéristiques de quelques groupes de sols dérivés de roches volcaniques aux Antilles françaises. » *Cahiers ORSTOM.Série Pédologie* 3 (2): 91-121. Centre IRD de Bondy.
- Commission of the European Communities. 2008. *Commission Regulation (EC) No 839/2008 of 31 July 2008 amending Regulation (EC) No 396/2005 of the European Parliament and of the Council as regards Annexes II, III and IV on maximum residue levels of pesticides in or on certain products. Regulation (EC)*. s.l.: s.n. <http://data.europa.eu/eli/reg/2008/839/oj>.
- Cordier, Sylvaine, Emilie Bouquet, Charline Warembourg, Catherine Massart, Florence Rouget, Philippe Kadhel, Henri Bataille, Christine Monfort, Olivier Boucher, Gina Muckle et Luc Multigner. 2015. « Perinatal exposure to chlordecone, thyroid hormone status and neurodevelopment in infants: The Timoun cohort study in Guadeloupe (French West Indies). » *Environmental Research* 138: 271-278. doi:10.1016/j.envres.2015.02.021.
- Cornelissen, Gerard, Gijs D. Breedveld, Kristoffer Næs, Amy M.P. Oen et Anders Ruus. 2006. « Bioaccumulation of Native Polycyclic Aromatic Hydrocarbons from Sediment by a Polychaete and a Gastropod: Freely Dissolved Concentrations and Activated Carbon Amendment. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (9): 2349-2355. doi:10.1897/06-026R.1.
- Cornelissen, Gerard, Marie Elmquist Kruså, Gijs D. Breedveld, Espen Eek, Amy M.P. Oen, Hans Peter H. Arp, Caroline Raymond, Göran Samuelsson, Jenny E. Hedman, Øystein Stokland et Jonas S. Gunnarsson. 2011. « Remediation of Contaminated Marine Sediment Using Thin-Layer Capping with Activated Carbon—A Field Experiment in Trondheim Harbor, Norway. » *Environmental Science & Technology* 45 (14): 6110-6116. doi:10.1021/es2011397.
- Cornelissen, Gerard, Örjan Gustafsson, Thomas D. Bucheli, Michiel T. O. Jonker, Albert A. Koelmans et Paul C. M. van Noort. 2005. « Extensive Sorption of Organic Compounds to Black Carbon, Coal, and Kerogen in Sediments and Soils: Mechanisms and Consequences for Distribution, Bioaccumulation, and Biodegradation. » *Environmental Science & Technology* 39 (18): 6881-6895. doi:10.1021/es050191b.
- Crommentuijn, T., D. Sijm, J. de Bruijn, K. van Leeuwen et E. van de Plassche. 2000. « Maximum Permissible and Negligible Concentrations for Some Organic Substances and Pesticides. » *Journal of Environmental Management* 58 (4): 297-312. doi:10.1006/jema.2000.0334.
- Curry, James P. et Olaf Schmidt. 2007. « The Feeding Ecology of Earthworms – A Review. » *Pedobiologia* 50 (6): 463-477. doi:10.1016/j.pedobi.2006.09.001.
- Dallaire, Renée, Gina Muckle, Florence Rouget, Philippe Kadhel, Henri Bataille, Laurence Guldner, Sophie Seurin, Véronique Chajès, Christine Monfort, Olivier Boucher, Jean Pierre Thomé, Sandra W. Jacobson, Luc Multigner et Sylvaine Cordier. 2012. « Cognitive, visual, and motor development of 7-month-old Guadeloupean infants exposed to chlordecone. » *Environmental Research* 118: 79-85. doi:10.1016/j.envres.2012.07.006.
- Darwin, Charles. 2010. *The Formation of Vegetable Mould through the Action of Worms with Observations on Their Habits*. Cambridge: Cambridge University Press.
- De la Rosa, José M., Águeda M. Sánchez-Martín, Paloma Campos et Ana Z. Miller. 2019. « Effect of Pyrolysis Conditions on the Total Contents of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Biochars Produced from Organic Residues: Assessment of Their Hazard Potential. » *Science of The Total Environment* 667: 578-585. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.02.421.
- Delannoy, M., S. Yehya, D. Techer, A. Razafitianamaharavo, A. Richard, G. Caria, M. Baroudi, E. Montargès-Pelletier, G. Rychen et C. Feidt. 2018. « Amendment of Soil by Biochars and Activated Carbons to Reduce Chlordecone Bioavailability in Piglets. » *Chemosphere* 210: 486-494. doi:10.1016/j.chemosphere.2018.05.181.

- Delannoy, Matthieu, Agnès Fournier, Abdourahmane Tankari Dan-Badjo, Jessica Schwarz, Sylvain Lerch, Guido Rychen et Cyril Feidt. 2015. « Impact of Soil Characteristics on Relative Bioavailability of NDL-PCBs in Piglets. » *Chemosphere* 139: 393-401. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.06.098.
- Delannoy, Matthieu, Guido Rychen, Agnès Fournier, Catherine Jondreville et Cyril Feidt. 2014. « Effects of Condensed Organic Matter on PCBs Bioavailability in Juvenile Swine, an Animal Model for Young Children. » *Chemosphere* 104: 105-112. doi:10.1016/j.chemosphere.2013.10.072.
- Delannoy, Matthieu, Jessica Schwarz, Agnès Fournier, Guido Rychen et Cyril Feidt. 2014. « Effects of Standard Humic Materials on Relative Bioavailability of NDL-PCBs in Juvenile Swine. » Sous la dir. de Ja-an Annie Ho. *PLoS ONE* 9 (12): e115759. doi:10.1371/journal.pone.0115759.
- Delannoy, Matthieu, Didier Techer, Sarah Yehya, Angelina Razafitianamaharavo, Farida Amutova, Agnès Fournier, Moumen Baroudi, Emmanuelle Montarges-Pelletier, Guido Rychen et Cyril Feidt. 2020. « Evaluation of Two Contrasted Activated Carbon-Based Sequestration Strategies to Reduce Soil-Bound Chlordecone Bioavailability in Piglets. » *Environmental Science and Pollution Research* 27 (33): 41023-41032. doi:10.1007/s11356-019-06494-z.
- Denaix, Laurence, Isabelle Lamy et Jean Yves Bottero. 1999. « Structure and Affinity towards Cd<sup>2+</sup>, Cu<sup>2+</sup>, Pb<sup>2+</sup> of Synthetic Colloidal Amorphous Aluminosilicates and Their Precursors. » *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 158 (3): 315-325. doi:10.1016/S0927-7757(99)00096-5.
- Denyes, Mackenzie J., Valérie S. Langlois, Allison Rutter et Barbara A. Zeeb. 2012. « The Use of Biochar to Reduce Soil PCB Bioavailability to Cucurbita Pepo and Eisenia Fetida. » *Science of The Total Environment* 437: 76-82. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.07.081.
- Denyes, Mackenzie J., Allison Rutter et Barbara A. Zeeb. 2013. « In Situ Application of Activated Carbon and Biochar to PCB-Contaminated Soil and the Effects of Mixing Regime. » *Environmental Pollution* 182: 201-208. doi:10.1016/j.envpol.2013.07.016.
- Denys, Sébastien, Julien Caboche, Karine Tack, Guido Rychen, Joanna Wragg, Mark Cave, Catherine Jondreville et Cyril Feidt. 2012. « In Vivo Validation of the Unified BARGE Method to Assess the Bioaccessibility of Arsenic, Antimony, Cadmium, and Lead in Soils. » *Environmental Science & Technology* 46 (11): 6252-6260. doi:10.1021/es3006942.
- Diercxsens, P., D. de Weck, N. Borsinger, B. Rosset et J. Tarradellas. 1985. « Earthworm Contamination by PCBs and Heavy Metals. » *Chemosphere* 14 (5): 511-522. doi:10.1016/0045-6535(85)90244-9.
- Ding, Li, Vernon L. Snoeyink, Benito J. Mariñas, Zhongren Yue et James Economy. 2008. « Effects of Powdered Activated Carbon Pore Size Distribution on the Competitive Adsorption of Aqueous Atrazine and Natural Organic Matter. » *Environmental Science & Technology* 42 (4): 1227-1231. doi:10.1021/es0710555.
- Dubroeuq, Didier, Daniel Geissert et Paul Quantin. 1998. « Weathering and Soil Forming Processes under Semi-Arid Conditions in Two Mexican Volcanic Ash Soils. » *Geoderma* 86 (1-2): 99-122. doi:10.1016/S0016-7061(98)00033-0.
- Durimel, A., S. Altenor, R. Miranda-Quintana, P. Couespel Du Mesnil, U. Jauregui-Haza, R. Gadiou et S. Gaspard. 2013. « pH dependence of chlordecone adsorption on activated carbons and role of adsorbent physico-chemical properties. » *Chemical engineering journal* 229: 239-249.
- El-Hendawy, Abdel-Nasser A., Andrew J. Alexander, Robert J. Andrews et Gavin Forrest. 2008. « Effects of activation schemes on porous, surface and thermal properties of activated carbons prepared from cotton stalks. » *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 82 (2): 272-278. doi:10.1016/j.jaap.2008.04.006.
- Elliston, Tom et Ian W. Oliver. 2020. « Ecotoxicological Assessments of Biochar Additions to Soil Employing Earthworm Species Eisenia Fetida and Lumbricus Terrestris. » *Environmental Science and Pollution Research* 27 (27): 33410-33418. doi:10.1007/s11356-019-04542-2.
- Endo, Satoshi, Peter Grathwohl, Stefan B. Haderlein et Torsten C. Schmidt. 2009. « LFERs for Soil Organic Carbon–Water Distribution Coefficients (KOC) at Environmentally Relevant Sorbate Concentrations. » *Environmental Science & Technology* 43 (9): 3094-3100. doi:10.1021/es803157e.
- Fadaei, Hilda, Aaron Watson, Allen Place, John Connolly et Upal Ghosh. 2015. « Effect of PCB Bioavailability Changes in Sediments on Bioaccumulation in Fish. » *Environmental Science & Technology* 49 (20): 12405-12413. doi:10.1021/acs.est.5b03107.
- Fagervold, Sonja K., Yunzhou Chai, John W. Davis, Michael Wilken, Gerard Cornelissen et Upal Ghosh. 2010. « Bioaccumulation of Polychlorinated Dibenzo- *p* -Dioxins/Dibenzofurans in *E. Fetida* from Floodplain Soils and the Effect of Activated Carbon Amendment. » *Environmental Science & Technology* 44 (14): 5546-5552. doi:10.1021/es9027138.
- Faure, Olivier, Marc Doumas, Cyrille Conord, Jean Luc Bouchardon, Francis Douay, Alain Leprêtre et Renaud Scheffler. 2012. « Efficience de la phytostabilisation sur le comportement et les transferts des éléments traces métalliques dans les écosystèmes terrestres. » In , 36. s.l.: ADEME Editions. <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-00967280>.
- Ferreira, Elsa. 2016. « Elever des poules en ville, c'est écolo et de plus en plus cool. » *L'Obs*. 18 novembre. <https://www.nouvelobs.com/rue89/rue89-pourquoi-ca-marche/20130303.RUE4591/elever-des-poules-en-ville-c-est-ecolo-et-de-plus-en-plus-cool.html>.
- Ficko, Sarah A., Allison Rutter et Barbara A. Zeeb. 2010. « Potential for Phytoextraction of PCBs from Contaminated Soils Using Weeds. » *Science of The Total Environment* 408 (16): 3469-3476. doi:10.1016/j.scitotenv.2010.04.036.
- Fieldes, M et K. I. Williamson. 1966. « The nature of allophane in soils : 2. Differences in composition. » *The New Zealand journal of science and technology* 9: 608-622.
- Fournier, Agnès, Cyril Feidt, Philippe Marchand, Anaïs Vénisseau, Bruno Le Bizec, Nadine Sellier, Erwan Engel, Jérémy Ratel, Angélique Travel et Catherine Jondreville. 2012. « Kinetic Study of  $\gamma$ -Hexabromocyclododecane Orally given to Laying Hens (Gallus Domesticus): “Transfer of HBCD in Laying Hens.” » *Environmental Science and Pollution Research* 19 (2): 440-447. doi:10.1007/s11356-011-0573-6.
- Fournier, Agnès, Cyril Feidt, Angélique Travel, Bruno Le Bizec, Anaïs Vénisseau, Philippe Marchand et Catherine Jondreville. 2012. « Relative Bioavailability to Laying Hens of Indicator Polychlorobiphenyls Present in Soil. » *Chemosphere* 88 (3): 300-306. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.02.041.

- Fournier, Agnès, Olivier Martin, Angélique Travel, Laurence Puillet, Cyril Feidt et Catherine Jondreville. 2015. « Modeling PCB Transfer into Hen Eggs: Influence of Physiological Characteristics of the Animal: MODELING PCB TRANSFER IN HENS: IMPACT OF FATNESS AND LAYING. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 34 (1): 173-183. doi:10.1002/etc.2781.
- Freddo, Alessia, Chao Cai et Brian J. Reid. 2012. « Environmental Contextualisation of Potential Toxic Elements and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Biochar. » *Environmental Pollution* 171: 18-24. doi:10.1016/j.envpol.2012.07.009.
- French Ministry of Agriculture. 2015. « DGAL/SDPAL/2015-266. » Instruction Technique N° NOR AGRG1507402N. Paris: French Ministry of Agriculture. <https://info.agriculture.gouv.fr/gedei/site/bo-agri/instruction-2015-266>.
- Fujita, Hiroyuki, Katsuhisa Honda, Ryoji Iwakiri, Keerthi S. Guruge, Noriko Yamanaka et Nobuhiko Tanimura. 2012. « Suppressive Effect of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins, Polychlorinated Dibenzofurans and Dioxin-like Polychlorinated Biphenyls Transfer from Feed to Eggs of Laying Hens by Activated Carbon as Feed Additive. » *Chemosphere* 88 (7): 820-827. doi:10.1016/j.chemosphere.2012.03.088.
- Gamboa-Carballo, Juan José, Kenia Melchor-Rodríguez, Daniel Hernández-Valdés, Carlos Enriquez-Victorero, Ana Lilian Montero-Alejo, Sarra Gaspard et Ulises Javier Jáuregui-Haza. s.d. « Theoretical study of chlordecone and surface groups interaction in an activated carbon model under acidic and neutral conditions. » *Journal of Molecular Graphics and Modelling* 65: 83-93. doi:10.1016/j.jmngm.2016.02.008.
- Ghosh, U et C Menzie. 2012. « Pilot-scale research of novel amendment delivery for in-situ sediment remediation. Final progress report. Grant 5R01ES16182. Submitted to NIEHS Superfund Research Program. August. [cited 2014 April]. Available from [http://tools.niehs.nih.gov/srp/programs/Program\\_detail.cfm?Project\\_ID=R01ES16182](http://tools.niehs.nih.gov/srp/programs/Program_detail.cfm?Project_ID=R01ES16182). »
- Ghosh, Upal, Richard G. Luthy, Gerard Cornelissen, David Werner et Charles A. Menzie. 2011. « In-Situ Sorbent Amendments: A New Direction in Contaminated Sediment Management. » *Environmental Science & Technology* 45 (4): 1163-1168. doi:10.1021/es102694h.
- Gis Sol. 2011. *L'état des sols de France. Groupement d'intérêt scientifique sur les sols*. s.l.: s.n.
- Gomez-Eyles, Jose L., Carmen Yupanqui, Barbara Beckingham, Georgia Riedel, Cynthia Gilmour et Upal Ghosh. 2013. « Evaluation of biochars and activated carbons for in situ remediation of sediments impacted with organics, mercury, and methylmercury. » *Environmental Science & Technology* 47 (23): 13721-13729. doi:10.1021/es403712q.
- Greenwood, Scott J., Allison Rutter et Barbara A. Zeeb. 2011. « The Absorption and Translocation of Polychlorinated Biphenyl Congeners by *Cucurbita Pepo* Ssp *Pepo*. » *Environmental Science & Technology* 45 (15): 6511-6516. doi:10.1021/es200598u.
- Guldner, Laurence, Luc Multigner, Fanny Héraud, Christine Monfort, Jean Pierre Thomé, Arnaud Giusti, Philippe Kadhel et Sylvaine Cordier. 2010. « Pesticide exposure of pregnant women in Guadeloupe: Ability of a food frequency questionnaire to estimate blood concentration of chlordecone. » *Environmental Research* 110 (2): 146-151. doi:10.1016/j.envres.2009.10.015.
- Guo, Jianhua et Baoliang Chen. 2014. « Insights on the Molecular Mechanism for the Recalcitrance of Biochars: Interactive Effects of Carbon and Silicon Components. » *Environmental Science & Technology* 48 (16): 9103-9112. doi:10.1021/es405647e.
- Gustafsson, Jon, Erik Karlun et Prosun Bhattacharya. 1998. *Allophane and imogolite in Swedish soils*. s.l.: s.n.
- Haas, Thomas J., Mark R. Nimlos et Bryon S. Donohoe. 2009. « Real-Time and Post-reaction Microscopic Structural Analysis of Biomass Undergoing Pyrolysis. » *Energy & Fuels* 23 (7): 3810-3817. doi:10.1021/e900201b.
- Hale, Sarah E., Hans Peter H. Arp, Darya Kupryianchyk et Gerard Cornelissen. 2016. « A synthesis of parameters related to the binding of neutral organic compounds to charcoal. » *Chemosphere* 144: 65-74. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.08.047.
- Hale, Sarah E. et David Werner. 2010. « Modeling the Mass Transfer of Hydrophobic Organic Pollutants in Briefly and Continuously Mixed Sediment after Amendment with Activated Carbon. » *Environmental Science & Technology* 44 (9): 3381-3387. doi:10.1021/es903582n.
- Han, Lanfang, Ke Sun, Jie Jin, Xin Wei, Xinghui Xia, Fengchang Wu, Bo Gao et Baoshan Xing. 2014. « Role of Structure and Microporosity in Phenanthrene Sorption by Natural and Engineered Organic Matter. » *Environmental Science & Technology* 48 (19): 11227-11234. doi:10.1021/es5022087.
- Harvey, Omar R., Bruce E. Herbert, Li-Jung Kuo et Patrick Louchouart. 2012. « Generalized Two-Dimensional Perturbation Correlation Infrared Spectroscopy Reveals Mechanisms for the Development of Surface Charge and Recalcitrance in Plant-Derived Biochars. » *Environmental Science & Technology* 46 (19): 10641-10650. doi:10.1021/es302971d.
- Hawker, Darryl W. et Des W. Connell. 1988. « Octanol-Water Partition Coefficients of Polychlorinated Biphenyl Congeners. » *Environmental Science & Technology* 22 (4): 382-387. doi:10.1021/es00169a004.
- Henmi, Teruo, Kazuhiko Tange, Tetsuo Minagawa et Naganori Yoshinaga. 1981. « Effect of SiO<sub>2</sub>/Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> Ratio on the Thermal Reactions of Allophane. II. Infrared and X-Ray Powder Diffraction Data. » *Clays and Clay Minerals* 29 (2): 124-128. doi:10.1346/CCMN.1981.0290206.
- Houben, David, Laurent Evrard et Philippe Sonnet. 2013. « Beneficial Effects of Biochar Application to Contaminated Soils on the Bioavailability of Cd, Pb and Zn and the Biomass Production of Rapeseed (*Brassica Napus* L.). » *Biomass and Bioenergy* 57: 196-204. doi:10.1016/j.biombioe.2013.07.019.
- Ilyas, Muhammad, Agus Sudaryanto, Iwan Eka Setiawan, Adi Slamet Riyadi, Tomohiko Isobe, Shohei Ogawa, Shin Takahashi et Shinsuke Tanabe. 2011. « Characterization of Polychlorinated Biphenyls and Brominated Flame Retardants in Surface Soils from Surabaya, Indonesia. » *Chemosphere* 83 (6): 783-791. doi:10.1016/j.chemosphere.2011.02.067.
- Inui, Hideyuki, Taketo Wakai, Keiko Gion, Yun-Seok Kim et Heesoo Eun. 2008. « Differential Uptake for Dioxin-like Compounds by Zucchini Subspecies. » *Chemosphere* 73 (10): 1602-1607. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.08.013.
- Israelachvili, Jacob N. 2011. *Intermolecular and Surface Forces*, Third edition. Amsterdam: Elsevier, Academic Press.
- Jacobson, Joseph L., Sandra W. Jacobson, Robert J. Padgett, Gail A. Brumitt et Robin L. Billings. 1992. « Effects of prenatal PCB exposure on cognitive processing efficiency and sustained attention. » *Developmental Psychology* 28 (2): 297-306. doi:10.1037/0012-1649.28.2.297.

- Jager, Tjalling, Leon van der Wal, Roel H. L. J. Fleuren, Arjan Barendregt et Joop L. M. Hermens. 2005. « Bioaccumulation of Organic Chemicals in Contaminated Soils: Evaluation of Bioassays with Earthworms. » *Environmental Science & Technology* 39 (1): 293-298. doi:10.1021/es035317o.
- Jakšić, Željko, Bojan Hamer, Nediljko Landeka et Renato Batel. 2008. « Western Mosquitofish as a Bioindicator of Exposure to Organochlorine Compounds. » *Ecotoxicology and Environmental Safety* 71 (2): 426-435. doi:10.1016/j.ecoenv.2007.11.006.
- Jantunen, A. P. K., A. A. Koelmans et M. T. O. Jonker. 2010. « Modeling polychlorinated biphenyl sorption isotherms for soot and coal. » *Environmental Pollution* 158 (8): 2672-2678. doi:10.1016/j.envpol.2010.04.022.
- Jondreville, C., A. Fournier, A. Travel, C. Feidt et B. Roudaut. 2011. « Contaminants chimiques organiques des œufs de poule pondeuse : aspects réglementaires, modalités et risques de transfert. » *INRAE Productions Animales* 23 (2): 205-214. doi:10.20870/productions-animales.2010.23.3301.
- Jondreville, Catherine, Cécile Bouveret, Magalie Lesueur-Jannoyer, Guido Rychen et Cyril Feidt. 2013. « Relative Bioavailability of Tropical Volcanic Soil-Bound Chlordecone in Laying Hens (*Gallus Domesticus*). » *Environmental Science and Pollution Research* 20 (1): 292-299. doi:10.1007/s11356-012-1010-1.
- Jondreville, Catherine, Agnès Fournier, Maurice Mahieu, Cyril Feidt, Harry Archimède et Guido Rychen. 2014. « Kinetic Study of Chlordecone Orally given to Laying Hens (*Gallus Domesticus*). » *Chemosphere* 114: 275-281. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.05.008.
- Jonker, Michiel T. O. et Albert A. Koelmans. 2002. « Sorption of Polycyclic Aromatic Hydrocarbons and Polychlorinated Biphenyls to Soot and Soot-like Materials in the Aqueous Environment: Mechanistic Considerations. » *Environmental Science & Technology* 36 (17): 3725-3734. doi:10.1021/es020019x.
- Jurjanž, S., C. Collas, M.L. Lastel, X. Godard, H. Archimède, G. Rychen, M. Mahieu et C. Feidt. 2017. « Evaluation of Soil Intake by Growing Creole Young Bulls in Common Grazing Systems in Humid Tropical Conditions. » *Animal* 11 (8): 1363-1371. doi:10.1017/S1751731116002755.
- Jurjanž, S., K. Germain, H. Juin et C. Jondreville. 2015. « Plant and Soil Intake by Organic Broilers Reared in Tree- or Grass-Covered Plots as Determined by Means of n-Alkanes and of Acid-Insoluble Ash. » *Animal* 9 (5): 888-898. doi:10.1017/S1751731114002870.
- Jurjanž, S., C. Jondreville, M. Mahieu, A. Fournier, H. Archimède, G. Rychen et C. Feidt. 2014. « Relative Bioavailability of Soil-Bound Chlordecone in Growing Lambs. » *Environmental Geochemistry and Health* 36 (5): 911-917. doi:10.1007/s10653-014-9608-5.
- Jurjanž, Stefan, Agnès Fournier, Florence Clostre, Eric Godard et Cyril Feidt. 2020. « Control of Poultry Contamination in Chlordecone-Contaminated Areas of the French West Indies. » *Environmental Science and Pollution Research* 27 (33): 41117-41121. doi:10.1007/s11356-020-08172-x.
- Kaisarevic, Sonja, Klara Hilscherova, Roland Weber, Kristina L. Sundqvist, Mats Tysklind, Ernest Voncina, Stanka Bobic, Nebojsa Andric, Kristina Pogrmic-Majkic, Mirjana Vojinovic-Miloradov, John Paul Giesy et Radmila Kovacevic. 2011. « Characterization of Dioxin-like Contamination in Soil and Sediments from the "Hot Spot" Area of Petrochemical Plant in Pancevo (Serbia). » *Environmental Science and Pollution Research* 18 (4): 677-686. doi:10.1007/s11356-010-0418-8.
- Keiluweit, Marco, Peter S. Nico, Mark G. Johnson et Markus Kleber. 2010. « Dynamic Molecular Structure of Plant Biomass-Derived Black Carbon (Biochar). » *Environmental Science & Technology* 44 (4): 1247-1253. doi:10.1021/es9031419.
- Kercher, Andrew K. et Dennis C. Nagle. 2003. « Microstructural evolution during charcoal carbonization by X-ray diffraction analysis. » *Carbon* 41 (1): 15-27. doi:10.1016/S0008-6223(02)00261-0.
- Kleineidam, Sybille, Christoph Schüth et Peter Grathwohl. 2002. « Solubility-Normalized Combined Adsorption-Partitioning Sorption Isotherms for Organic Pollutants. » *Environmental Science & Technology* 36 (21): 4689-4697. doi:10.1021/es010293b.
- Knetting, E., B. M. Thomson et S. E. Hrudey. 1986. « Competitive activated carbon adsorption of phenolic compounds. » *Environmental Pollution Series B, Chemical and Physical* 12 (4): 281-299. doi:10.1016/0143-148X(86)90016-9.
- Koelmans, A. A., K. Kaag, A. Sneekes et E. T. H. M. Peeters. 2009. « Triple Domain in Situ Sorption Modeling of Organochlorine Pesticides, Polychlorobiphenyls, Polyaromatic Hydrocarbons, Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins, and Polychlorinated Dibenzofurans in Aquatic Sediments. » *Environmental Science & Technology* 43 (23): 8847-8853. doi:10.1021/es9021188.
- Koelmans, Albert A., Michiel T. O. Jonker, Gerard Cornelissen, Thomas D. Bucheli, Paul C. M. Van Noort et Örjan Gustafsson. 2006. « Black carbon: The reverse of its dark side. » *Chemosphere* 63 (3): 365-377. doi:10.1016/j.chemosphere.2005.08.034.
- Kreitinger, Joseph P., Antonio Quiñones-Rivera, Edward F. Neuhauser, Martin Alexander et Steven B. Hawthorne. 2007. « SUPERCRITICAL CARBON DIOXIDE EXTRACTION AS A PREDICTOR OF POLYCYCLIC AROMATIC HYDROCARBON BIOACCUMULATION AND TOXICITY BY EARTHWORMS IN MANUFACTURED-GAS PLANT SITE SOILS. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 26 (9): 1809. doi:10.1897/06-608R.1.
- Ku, H. H. 1966. « Notes on the use of propagation of error formulas. » *Journal of Research of the National Bureau of Standards* 70 (4). [http://nvlpubs.nist.gov/nistpubs/jres/70C/jresv70Cn4p263\\_A1b.pdf](http://nvlpubs.nist.gov/nistpubs/jres/70C/jresv70Cn4p263_A1b.pdf).
- Kuppusamy, Saranya, Palanisami Thavamani, Mallavarapu Megharaj, Kadiyala Venkateswarlu et Ravi Naidu. 2016. « Agronomic and Remedial Benefits and Risks of Applying Biochar to Soil: Current Knowledge and Future Research Directions. » *Environment International* 87: 1-12. doi:10.1016/j.envint.2015.10.018.
- Kupryianchyk, D., M. I. Rakowska, J. T. C. Grotenhuis et A. A. Koelmans. 2012. « In situ sorption of hydrophobic organic compounds to sediment amended with activated carbon. » *Environmental Pollution* 161. Mercury in the Laurentian Great Lakes Region: 23-29. doi:10.1016/j.envpol.2011.09.043.
- Kupryianchyk, Darya, Sarah Hale, Andrew R. Zimmerman, Omar Harvey, David Rutherford, Samuel Abiven, Heike Knicker, Hans-Peter Schmidt, Cornelia Rumpel et Gerard Cornelissen. 2016. « Sorption of hydrophobic organic compounds to a diverse suite of carbonaceous materials with emphasis on biochar. » *Chemosphere* 144: 879-887. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.09.055.

- Langlois, Valérie S., Allison Rutter et Barbara A. Zeeb. 2011. « Activated carbon immobilizes residual polychlorinated biphenyls in weathered contaminated soil. » *Journal of environmental quality* 40 (4). Wiley Online Library: 1130-1134.
- Larsson, Per. 1985. « Contaminated Sediments of Lakes and Oceans Act as Sources of Chlorinated Hydrocarbons for Release to Water and Atmosphere. » *Nature* 317 (6035): 347-349. doi:10.1038/317347a0.
- Latta, Charisma, Xiaoyan Cao, Jingdong Mao, Klaus Schmidt-Rohr et Joseph J. Pignatello. 2014. « Influence of Molecular Structure and Adsorbent Properties on Sorption of Organic Compounds to a Temperature Series of Wood Chars. » *Environmental Science & Technology* 48 (9): 4790-4798. doi:10.1021/es405096q.
- Le Déaut, J-Y. et C. Procaccia. 2009. « Impacts de l'utilisation de la chlordécone et des pesticides aux Antilles : bilan et perspectives d'évolution. » s.l.: Sénat. internal-pdf://2212 Le Deaul 2009-2841645057/2212 Le Deaul 2009.pdf.
- Lebo, J. A., J. N. Huckins, J. D. Petty, W. L. Cranor et K. T. Ho. 2003. « Comparisons of coarse and fine versions of two carbons for reducing the bioavailabilities of sediment-bound hydrophobic organic contaminants. » *Chemosphere* 50 (10): 1309-1317. doi:10.1016/S0045-6535(02)00817-2.
- Létondor, Clarisse, Sophie Pascal-Lorber et François Laurent. 2015. « Uptake and Distribution of Chlordecone in Radish: Different Contamination Routes in Edible Roots. » *Chemosphere* 118: 20-28. doi:10.1016/j.chemosphere.2014.03.102.
- Levillain, Joseph, Philippe Cattani, François Colin, Marc Voltz et Yves-Marie Cabidoche. 2012. « Analysis of environmental and farming factors of soil contamination by a persistent organic pollutant, chlordecone, in a banana production area of French West Indies. » *Agriculture, Ecosystems & Environment* 159: 123-132. doi:10.1016/j.agee.2012.07.005.
- Li, Chao, Ruirui Zhang, Yunzi Li, Shujun Zhang, Peng Gao, Xinyi Cui et Lena Q. Ma. 2017. « Relative Bioavailability and Bioaccessibility of PCBs in Soils Based on a Mouse Model and Tenax-Improved Physiologically-Based Extraction Test. » *Chemosphere* 186: 709-715. doi:10.1016/j.chemosphere.2017.08.028.
- Littell, R. C., P. R. Henry, A. J. Lewis et C. B. Ammerman. 1997. « Estimation of relative bioavailability of nutrients using SAS procedures. » *Journal of Animal Science* 75: 2672-2683.
- Lopez, Brenda Natalia, Yu Bon Man, Yin Ge Zhao, Jin Shu Zheng, Anna Oi Wah Leung, Jun Yao et Ming Hung Wong. 2011. « Major Pollutants in Soils of Abandoned Agricultural Land Contaminated by E-Waste Activities in Hong Kong. » *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 61 (1): 101-114. doi:10.1007/s00244-010-9590-6.
- Low, Jennifer E., Melissa L. Whitfield Åslund, Allison Rutter et Barbara A. Zeeb. 2010. « Effect of Plant Age on PCB Accumulation by *Cucurbita Pepo* Ssp. *Pepo*. » *Journal of Environmental Quality* 39 (1): 245-250. doi:10.2134/jeq2009.0169.
- Lyu, Honghong, Yuhe He, Jingchun Tang, Markus Hecker, Qinglong Liu, Paul D. Jones, Garry Codling et John P. Giesy. 2016. « Effect of Pyrolysis Temperature on Potential Toxicity of Biochar If Applied to the Environment. » *Environmental Pollution* 218: 1-7. doi:10.1016/j.envpol.2016.08.014.
- Manyà, Joan J. 2012. « Pyrolysis for Biochar Purposes: A Review to Establish Current Knowledge Gaps and Research Needs. » *Environmental Science & Technology* 46 (15): 7939-7954. doi:10.1021/es301029g.
- Mattina, MaryJane Incorvia, William A. Berger et Brian D. Eitzer. 2007. « Factors Affecting the Phytoaccumulation of Weathered, Soil-Borne Organic Contaminants: Analyses at the Ex Planta and in Planta Sides of the Plant Root. » *Plant and Soil* 291 (1-2): 143-154. doi:10.1007/s11104-006-9182-4.
- Millward, Rod N., Todd S. Bridges, Upal Ghosh, John R. Zimmerman et Richard G. Luthy. 2005. « Addition of Activated Carbon to Sediments to Reduce PCB Bioaccumulation by a Polychaete (*Neanthes arenaceodentata*) and an Amphipod (*Leptocheirus plumulosus*). » *Environmental Science & Technology* 39 (8): 2880-2887. doi:10.1021/es048768x.
- Mimmo, T., P. Panzacchi, M. Baratieri, C. A. Davies et G. Tonon. 2014. « Effect of pyrolysis temperature on miscanthus (*Miscanthus × giganteus*) biochar physical, chemical and functional properties. » *Biomass and Bioenergy* 62: 149-157. doi:10.1016/j.biombioe.2014.01.004.
- Multigner, Luc, Philippe Kadhel, Florence Rouget, Pascal Blanchet et Sylvaine Cordier. 2016. « Chlordecone exposure and adverse effects in French West Indies populations. » *Environmental Science and Pollution Research International* 23: 3-8. doi:10.1007/s11356-015-4621-5.
- Multigner, Luc, Jean Rodrigue Ndong, Arnaud Giusti, Marc Romana, Helene Delacroix-Maillard, Sylvaine Cordier, Bernard Jégou, Jean Pierre Thome et Pascal Blanchet. 2010. « Chlordecone Exposure and Risk of Prostate Cancer. » *Journal of Clinical Oncology* 28 (21): 3457-3462. doi:10.1200/JCO.2009.27.2153.
- Murshed, Ramzi, Félicie Lopez-Lauri et Huguette Sallanon. 2013. « Effect of Water Stress on Antioxidant Systems and Oxidative Parameters in Fruits of Tomato (*Solanum Lycopersicon* L, Cv. Micro-Tom). » *Physiology and Molecular Biology of Plants* 19 (3): 363-378. doi:10.1007/s12298-013-0173-7.
- Newcombe, Gayle, Rob Hayes et Mary Drikas. 1993. « Granular activated carbon: Importance of surface properties in the adsorption of naturally occurring organics. » *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 78: 65-71. doi:10.1016/0927-7757(93)80311-2.
- Nguyen, Thanh H., Hyun-Hee Cho, Dianne L. Poster et William P. Ball. 2007. « Evidence for a Pore-Filling Mechanism in the Adsorption of Aromatic Hydrocarbons to a Natural Wood Char. » *Environmental Science & Technology* 41 (4): 1212-1217. doi:10.1021/es0617845.
- Nguyen, Thanh H., Kai-Uwe Goss et William P. Ball. 2005. « Polyparameter Linear Free Energy Relationships for Estimating the Equilibrium Partition of Organic Compounds between Water and the Natural Organic Matter in Soils and Sediments. » *Environmental Science & Technology* 39 (4): 913-924. doi:10.1021/es048839s.
- OECD. 1984. « Test n° 207 earthworm acute toxicity test. » In *Section 4: effects on biotic systems*. Vol. 4. Guideline for testing of chemicals 207. Paris: OECD Publishing. doi:10.1787/20745761. <http://www.oecd.org/dataoecd/54/61/38972970.pdf>.
- Ogbonnaya, Uchenna et Kirk Semple. 2013. « Impact of Biochar on Organic Contaminants in Soil: A Tool for Mitigating Risk? » *Agronomy* 3 (2): 349-375. doi:10.3390/agronomy3020349.
- Olvera-Velona, Angeluz, Yvan Capowiez, Odile Mascle, Laura Ortiz-Hernandez et Pierre Benoit. 2008. « Assessment of the Toxicity of Ethyl-Parathion to Earthworms (*Aporrectodea Caliginosa*) Using Behavioural, Physiological and Biochemical Markers. » *Applied Soil Ecology* 40 (3): 476-483. doi:10.1016/j.apsoil.2008.07.002.

- Ondera, Yoshio, Takashi Iwasaki, Abhijit Chatterjee, Takeo Ebina, Toshio Satoh, Takashi Suzuki et Hitoshi Mimura. 2001. « Bactericidal Allophanic Materials Prepared from Allophane Soil. » *Applied Clay Science* 18 (3-4): 123-134. doi:10.1016/S0169-1317(00)00038-7.
- Ortega-Calvo, Jose-J., Joop Harmsen, John R. Parsons, Kirk T. Semple, Michael D. Aitken, Charmaine Ajao, Charles Eadsforth, Malyka Galay-Burgos, Ravi Naidu, Robin Oliver, Willie J. G. M. Peijnenburg, Jörg Römbke, Georg Streck et Bram Versnoren. 2015. « From Bioavailability Science to Regulation of Organic Chemicals. » *Environmental Science & Technology* 49 (17): 10255-10264. doi:10.1021/acs.est.5b02412.
- Orton, T.G., N.P.A. Saby, D. Arrouays, C.C. Jolivet, E.J. Villanneau, B.P. Marchant, G. Caria, E. Barriuso, A. Bispo et O. Briand. 2013. « Spatial Distribution of Lindane Concentration in Topsoil across France. » *Science of The Total Environment* 443: 338-350. doi:10.1016/j.scitotenv.2012.10.103.
- Park, J. H., Y. S. Ok, S. H. Kim, J. S. Cho, J. S. Heo, R. D. Delaune et D. C. Seo. 2015. « Evaluation of Phosphorus Adsorption Capacity of Sesame Straw Biochar on Aqueous Solution: Influence of Activation Methods and Pyrolysis Temperatures. » *Environmental Geochemistry and Health* 37 (6): 969-983. doi:10.1007/s10653-015-9709-9.
- Parmelee, Robert W., Carlton T. Phillips, Ronald T. Checkai et Patrick J. Bohlen. 1997. « Determining the Effects of Pollutants on Soil Faunal Communities and Trophic Structure Using a Refined Microcosm System. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 16 (6): 1212-1217. doi:10.1002/etc.5620160616.
- Patmont, Clayton R, Upal Ghosh, Paul LaRosa, Charles A Menzie, Richard G Luthy, Marc S Greenberg, Gerard Cornelissen, Espen Eek, John Collins, John Hull, Tore Hjartland, Edward Glaza, John Bleiler et James Quadrini. 2015. « In Situ Sediment Treatment Using Activated Carbon: A Demonstrated Sediment Cleanup Technology. » *Integrated Environmental Assessment and Management* 11 (2): 195-207. doi:10.1002/ieam.1589.
- Paul, Piuly et Upal Ghosh. 2011. « Influence of activated carbon amendment on the accumulation and elimination of PCBs in the earthworm *Eisenia fetida*. » *Environmental Pollution* 159 (12): 3763-3768. doi:10.1016/j.envpol.2011.07.025.
- Perelo, Louisa Wessels. 2010. « Review: In situ and bioremediation of organic pollutants in aquatic sediments. » *Journal of Hazardous Materials* 177 (1-3): 81-89. doi:10.1016/j.jhazmat.2009.12.090.
- Pignatello, Joseph J. 1998. « Soil Organic Matter as a Nanoporous Sorbent of Organic Pollutants. » *Advances in Colloid and Interface Science* 76-77: 445-467. doi:10.1016/S0001-8686(98)00055-4.
- Pignatello, Joseph J. et Baoshan Xing. 1996. « Mechanisms of Slow Sorption of Organic Chemicals to Natural Particles. » *Environmental Science & Technology* 30 (1): 1-11. doi:10.1021/es940683g.
- Pilar Ruiz, M., M. Ramajo, J.B. Jesús, D. Trigo et D.J. Díaz Cosín. 2006. « Selective Feeding of the Earthworm *Hormogaster elisae* (Oligochaeta, Hormogastridae) in Laboratory Culture. » *European Journal of Soil Biology* 42: S289-S295. doi:10.1016/j.ejsobi.2006.07.027.
- Precht, Elimar et Markus Huettel. 2004. « Rapid wave-driven advective pore water exchange in a permeable coastal sediment. » *Journal of Sea Research* 51 (2): 93-107. doi:10.1016/j.seares.2003.07.003.
- Rakowska, M.I., D. Kupryianchyk, J. Harmsen, T. Grotenhuis et A.a. Koelmans. 2012. « In Situ Remediation of Contaminated Sediments Using Carbonaceous Materials. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 31 (4): 693-704. doi:10.1002/etc.1763.
- Ranguin, Ronald, Corine Jean-Marius, Christelle Yacou, Sarra Gaspard, Cyril Feidt, Guido Rychen et Matthieu Delannoy. 2020. « Reduction of Chlordecone Environmental Availability by Soil Amendment of Biochars and Activated Carbons from Lignocellulosic Biomass. » *Environmental Science and Pollution Research* 27 (33): 41093-41104. doi:10.1007/s11356-019-07366-2.
- Reid, B.J., K.C. Jones et K.T. Semple. 2000. « Bioavailability of Persistent Organic Pollutants in Soils and Sediments—A Perspective on Mechanisms, Consequences and Assessment. » *Environmental Pollution* 108 (1): 103-112. doi:10.1016/S0269-7491(99)00206-7.
- Roberts, Brian L. et H. Wyman Dorough. 1984. « Relative Toxicities of Chemicals to the Earthworm *Eisenia Foetida*. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 3 (1): 67-78. doi:10.1002/etc.5620030109.
- Rocha, C. 2000. « Density-driven convection during flooding of warm, permeable intertidal sediments: the ecological importance of the convective turnover pump. » *Journal of Sea Research* 43 (1): 1-14. doi:10.1016/S1385-1101(00)00002-2.
- Sallach, J. Brett, Robert Crawford, Hui Li, Cliff T. Johnston, Brian J. Teppen, Norbert E. Kaminski et Stephen A. Boyd. 2019. « Activated Carbons of Varying Pore Structure Eliminate the Bioavailability of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-p-Dioxin to a Mammalian (Mouse) Model. » *Science of The Total Environment* 650: 2231-2238. doi:10.1016/j.scitotenv.2018.09.270.
- Schoeters, Greet et Ron Hoogenboom. 2006. « Contamination of Free-Range Chicken Eggs with Dioxins and Dioxin-like Polychlorinated Biphenyls. » *Molecular Nutrition & Food Research* 50 (10): 908-914. doi:10.1002/mnfr.200500201.
- Schreck, E., F. Geret, L. Gontier et M. Treilhou. 2008. « Neurotoxic Effect and Metabolic Responses Induced by a Mixture of Six Pesticides on the Earthworm *Aporrectodea Caliginosa* Nocturna. » *Chemosphere* 71 (10): 1832-1839. doi:10.1016/j.chemosphere.2008.02.003.
- Schwarz, M. et K. E. Appel. 2005. « Carcinogenic risks of dioxin: Mechanistic considerations. » *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 43: 19-34.
- Schwarzenbach, René P., Philip M. Gschwend et Dieter M. Imboden. 2005. *Environmental Organic Chemistry*. s.l.: John Wiley & Sons.
- Shafer, Douglas S. et Zhiyi Zhang. 2013. *Introductory statistics*. s.l.: Saylor.org Academy. <https://www.saylor.org/site/textbooks/Introductory%20Statistics.pdf>.
- Sharma, Jitendra K., Ravindra K. Gautam, Sneha V. Nanekar, Roland Weber, Brajesh K. Singh, Sanjeev K. Singh et Asha A. Juwarkar. 2018. « Advances and Perspective in Bioremediation of Polychlorinated Biphenyl-Contaminated Soils. » *Environmental Science and Pollution Research* 25 (17): 16355-16375. doi:10.1007/s11356-017-8995-4.
- Shi, Zhiming, Li Xu, Nan Wang, Wei Zhang, Huixin Li et Feng Hu. 2013. « Pseudo-Basal Levels of and Distribution of Anti-Oxidant Enzyme Biomarkers in *Eisenia Fetida* and Effect of Exposure to Phenanthrene. » *Ecotoxicology and Environmental Safety* 95: 33-38. doi:10.1016/j.ecoenv.2013.05.009.

- Sing, K. S. W. 1982. « Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity (Provisional). » *Pure and Applied Chemistry* 54 (11). doi:10.1351/pac198254112201. <http://www.degruyter.com/view/j/pac.1982.54.issue-11/pac198254112201/pac198254112201.xml>.
- Sparrevik, Magnus, Tuomo Saloranta, Gerard Cornelissen, Espen Eek, Annik Magerholm Fet, Gijs D. Breedveld et Igor Linkov. 2011. « Use of Life Cycle Assessments To Evaluate the Environmental Footprint of Contaminated Sediment Remediation. » *Environmental Science & Technology* 45 (10): 4235-4241. doi:10.1021/es103925u.
- SPF. 2018. « Imprégnation de la population antillaise par la chlordécone et certains composés organochlorés en 2013/2014. Etude Kannari. » Saint-Maurice : Santé Publique France: s.n. <https://www.santepubliquefrance.fr/regions/antilles/documents/rapport-synthese/2018/impregnation-de-la-population-antillaise-par-la-chlordecone-et-certains-composes-organochlores-en-2013-2014-etude-kannari>.
- Stephens, R, M Petreas et D Hayward. 1995. « Biotransfer and Bioaccumulation of Dioxins and Furans from Soil: Chickens as a Model for Foraging Animals. » *Science of The Total Environment* 175 (3): 253-273. doi:10.1016/0048-9697(95)04925-8.
- Sun, Junna, Fuhong He, Yinghua Pan et Zhenhua Zhang. 2017. « Effects of pyrolysis temperature and residence time on physicochemical properties of different biochar types. » *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B — Soil & Plant Science* 67 (1): 12-22. doi:10.1080/09064710.2016.1214745.
- Sun, Xueli et Upal Ghosh. 2007. « PCB Bioavailability Control in *Lumbricus Variegatus* through Different Modes of Activated Carbon Addition to Sediments. » *Environmental Science & Technology* 41 (13): 4774-4780. doi:10.1021/es062934e.
- . 2008. « The Effect of Activated Carbon on Partitioning, Desorption, and Biouptake of Native Polychlorinated Biphenyls in Four Freshwater Sediments. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 27 (11): 2287-2295. doi:10.1897/08-020.1.
- Tang, Jingchun, Wenying Zhu, Rai Kookana et Arata Katayama. 2013. « Characteristics of Biochar and Its Application in Remediation of Contaminated Soil. » *Journal of Bioscience and Bioengineering* 116 (6): 653-659. doi:10.1016/j.jbiosc.2013.05.035.
- Teixeira, J. 1988. « Small-angle scattering by fractal systems. » *Journal of Applied Crystallography* 21 (6): 781-785. doi:10.1107/S0021889888000263.
- Thompson, Jay M., Ching-Hong Hsieh, Thomas P. Hoelen, Donald P. Weston et Richard G. Luthy. 2016. « Measuring and Modeling Organochlorine Pesticide Response to Activated Carbon Amendment in Tidal Sediment Mesocosms. » *Environmental Science & Technology* 50 (9): 4769-4777. doi:10.1021/acs.est.5b05669.
- Thompson, Kyle A., Kyle K. Shimabuku, Joshua P. Kearns, Detlef R. U. Knappe, R. Scott Summers et Sherri M. Cook. 2016. « Environmental Comparison of Biochar and Activated Carbon for Tertiary Wastewater Treatment. » *Environmental Science & Technology* 50 (20): 11253-11262. doi:10.1021/acs.est.6b03239.
- Tomaszewski, Jeanne E., David Werner et Richard G. Luthy. 2007. « Activated Carbon Amendment as a Treatment for Residual Ddt in Sediment from a Superfund Site in San Francisco Bay, Richmond, California, USA. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 26 (10): 2143-2150. doi:10.1897/07-179R.1.
- Tong, Yiran, Patrick J. McNamara et Brooke K. Mayer. 2019. « Adsorption of Organic Micropollutants onto Biochar: A Review of Relevant Kinetics, Mechanisms and Equilibrium. » *Environmental Science: Water Research & Technology* 5 (5): 821-838. doi:10.1039/C8EW00938D.
- Uchimiya, Minori, Alexander Orlov, Girish Ramakrishnan et Karamat Sistani. 2013. « In situ and ex situ spectroscopic monitoring of biochar's surface functional groups. » *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis* 102: 53-59. doi:10.1016/j.jaap.2013.03.014.
- Vasseur, P., M. Bonnard, F. Palais, I. C. Eom et J. L. Morel. 2008. « Bioavailability of Chemical Pollutants in Contaminated Soils and Pitfalls of Chemical Analyses in Hazard Assessment. » *Environmental Toxicology* 23 (5): 652-656. doi:10.1002/tox.20401.
- Vijay Kumar, Rana. 2016. *Synthesis of new and modified activated carbon for the adsorption of persistent organic pollutant (chlordecone) from water*. s.l.: s.n.
- Villanneau, Estelle, Nicolas P.A. Saby, Dominique Arrouays, Claudy C. Jolivet, Line Boulonne, Giovanni Caria, Enrique Barriuso, Antonio Bispo et Olivier Briand. 2009. « Spatial Distribution of Lindane in Topsoil of Northern France. » *Chemosphere* 77 (9): 1249-1255. doi:10.1016/j.chemosphere.2009.08.060.
- Wada, Koji. 1985. « The Distinctive Properties of Andosols. » In *Soil Restoration*, sous la dir. de Rattan Lal et B. A. Stewart, 17:173-229. Advances in Soil Science. New York, NY: Springer New York. doi:10.1007/978-1-4612-5088-3\_4. [http://link.springer.com/10.1007/978-1-4612-5088-3\\_4](http://link.springer.com/10.1007/978-1-4612-5088-3_4).
- Waegeneers, Nadia, Michel Hoening, Leo Goeyens et Ludwig De Temmerman. 2009. « Trace Elements in Home-Produced Eggs in Belgium: Levels and Spatiotemporal Distribution. » *Science of The Total Environment* 407 (15): 4397-4402. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.10.031.
- Wang, Fei, Xinhao Ren, Hongwen Sun, Ling Ma, Hongkai Zhu et Jiayao Xu. 2016. « Sorption of polychlorinated biphenyls onto biochars derived from corn straw and the effect of propranolol. » *Bioresource Technology* 219: 458-465. doi:10.1016/j.biortech.2016.08.006.
- Wang, Ting-Ting, Jie Cheng, Xian-Jin Liu, Wayne Jiang, Chao-Lan Zhang et Xiang-Yang Yu. 2012. « Effect of Biochar Amendment on the Bioavailability of Pesticide Chlorantraniliprole in Soil to Earthworm. » *Ecotoxicology and Environmental Safety* 83: 96-101. doi:10.1016/j.ecoenv.2012.06.012.
- Wang, Ziyang, Lanfang Han, Ke Sun, Jie Jin, Kyoung S. Ro, Judy A. Libra, Xitao Liu et Baoshan Xing. 2016. « Sorption of four hydrophobic organic contaminants by biochars derived from maize straw, wood dust and swine manure at different pyrolytic temperatures. » *Chemosphere* 144: 285-291. doi:10.1016/j.chemosphere.2015.08.042.
- Weber, W. 2001. « Contaminant interactions with geosorbent organic matter: insights drawn from polymer sciences. » *Water Research* 35 (4): 853-868. doi:10.1016/S0043-1354(00)00339-0.



- Werner, David, Upal Ghosh et Richard G. Luthy. 2006. « Modeling Polychlorinated Biphenyl Mass Transfer after Amendment of Contaminated Sediment with Activated Carbon. » *Environmental Science & Technology* 40 (13): 4211-4218. doi:10.1021/es052215k.
- Werner, David, Christopher P. Higgins et Richard G. Luthy. 2005. « The sequestration of PCBs in Lake Hartwell sediment with activated carbon. » *Water Research* 39 (10): 2105-2113. doi:10.1016/j.watres.2005.03.019.
- White, Jason C., MaryJane Incorvia Mattina, Wen-Yee Lee, Brian D. Eitzer et William Iannucci-Berger. 2003. « Role of Organic Acids in Enhancing the Desorption and Uptake of Weathered p,P'-DDE by Cucurbita Pepo. » *Environmental Pollution* 124 (1): 71-80. doi:10.1016/S0269-7491(02)00409-8.
- White, Jason C., Zakia D. Parrish, Mehmet Isleyen, Martin P. N. Gent, William Iannucci-Berger, Brian D. Eitzer, Jason W. Kelsey et MaryJane Incorvia Mattina. 2006. « Influence of Citric Acid Amendments on the Availability of Weathered PCBs to Plant and Earthworm Species. » *International Journal of Phytoremediation* 8 (1): 63-79. doi:10.1080/15226510500507102.
- Whitfield Åslund, Melissa L., Allison Rutter, Kenneth J. Reimer et Barbara A. Zeeb. 2008. « The Effects of Repeated Planting, Planting Density, and Specific Transfer Pathways on PCB Uptake by Cucurbita Pepo Grown in Field Conditions. » *Science of The Total Environment* 405 (1-3): 14-25. doi:10.1016/j.scitotenv.2008.07.066.
- Whitfieldaslund, M, B Zeeb, A Rutter et K Reimer. 2007. « In Situ Phytoextraction of Polychlorinated Biphenyl — (PCB)Contaminated Soil. » *Science of The Total Environment* 374 (1): 1-12. doi:10.1016/j.scitotenv.2006.11.052.
- Williams, Mike, Sheridan Martin et Rai S. Kookana. 2015. « Sorption and Plant Uptake of Pharmaceuticals from an Artificially Contaminated Soil Amended with Biochars. » *Plant and Soil* 395 (1-2): 75-86. doi:10.1007/s11104-015-2421-9.
- Wittsiede, J., B. Erlenkämper, P. Welge, A. Hack et M. Wilhelm. 2007. « Bioavailability of PCDD/F from contaminated soil in young Goettingen minipigs. » *Chemosphere* 67: S355-S364. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.05.129.
- Woinnier, T., E. Braudeau, H. Doumenc et L. Rangon. 2005. « Supercritical Drying Applied to Natural “Gels”: Allophanic Soils. » *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 36 (1): 61-68. doi:10.1007/s10971-005-2659-4.
- Woinnier, T., P. Fernandes, M. Jannoyer-Lesueur et A. Soler. 2012. « Sequestration of Chlordecone in the Porous Structure of an Andosol and Effects of Added Organic Matter: An Alternative to Decontamination. » *European Journal of Soil Science* 63 (5): 717-723. doi:10.1111/j.1365-2389.2012.01471.x.
- Woinnier, Thierry, Luc Rangon, Paula Fernandes, Florence Clostre, Magalie Lesueur-Jannoyer et Alain Soler. 2015. « Une innovation agroécologique : la séquestration des pesticides. » *Sciences Eaux & Territoires* Numéro 16 (1): 24. doi:10.3917/set.016.0024.
- Xiao, Xin, Zaiming Chen et Baoliang Chen. 2016. « H/C Atomic Ratio as a Smart Linkage between Pyrolytic Temperatures, Aromatic Clusters and Sorption Properties of Biochars Derived from Diverse Precursory Materials. » *Scientific Reports* 6: 22644. doi:10.1038/srep22644.
- Xie, Tao, Krishna R. Reddy, Chengwen Wang, Erin Yargicoglu et Kurt Spokas. 2015. « Characteristics and Applications of Biochar for Environmental Remediation: A Review. » *Critical Reviews in Environmental Science and Technology* 45 (9): 939-969. doi:10.1080/10643389.2014.924180.
- Yang, Xue, Shiqiu Zhang, Meiting Ju et Le Liu. 2019. « Preparation and Modification of Biochar Materials and Their Application in Soil Remediation. » *Applied Sciences* 9 (7): 1365. doi:10.3390/app9071365.
- Yavari, Saba, Amirhossein Malakahmad et Nasiman B. Sapari. 2015. « Biochar Efficiency in Pesticides Sorption as a Function of Production Variables—a Review. » *Environmental Science and Pollution Research* 22 (18): 13824-13841. doi:10.1007/s11356-015-5114-2.
- Yehya, Sarah, Matthieu Delannoy, Agnès Fournier, Moomen Baroudi, Guido Rychen et Cyril Feidt. 2017. « Activated carbon, a useful medium to bind chlordecone in soil and limit its transfer to growing goat kids. » *PLOS ONE* 12 (7): e0179548. doi:10.1371/journal.pone.0179548.
- Zareitalabad, Parva, Jan Siemens, Florian Wichern, Wulf Amelung et Rainer Georg Joergensen. 2013. « Dose-Dependent Reactions of Aporrectodea Caliginosa to Perfluorooctanoic Acid and Perfluorooctanesulfonic Acid in Soil. » *Ecotoxicology and Environmental Safety* 95: 39-43. doi:10.1016/j.ecoenv.2013.05.012.
- Zeeb, Barbara A., Jane S. Amphlett, Allison Rutter et Kenneth J. Reimer. 2006. « Potential for Phytoremediation of Polychlorinated Biphenyl-(PCB)-Contaminated Soil. » *International Journal of Phytoremediation* 8 (3): 199-221. doi:10.1080/15226510600846749.
- Zeng, Yan-Hong, Xiao-Jun Luo, Le-Huan Yu, Hua-Shan Chen, Jiang-Ping Wu, She-Jun Chen et Bi-Xian Mai. 2013. « Using Compound-Specific Stable Carbon Isotope Analysis to Trace Metabolism and Trophic Transfer of PCBs and PBDEs in Fish from an e-Waste Site, South China. » *Environmental Science & Technology* 47 (9): 4062-4068. doi:10.1021/es304558y.
- Zhu, Dongqiang, Seokjoon Kwon et Joseph J. Pignatello. 2005. « Adsorption of Single-Ring Organic Compounds to Wood Charcoals Prepared under Different Thermochemical Conditions. » *Environmental Science & Technology* 39 (11): 3990-3998. doi:10.1021/es050129e.
- Zhu, Dongqiang et Joseph J. Pignatello. 2005. « Characterization of Aromatic Compound Sorptive Interactions with Black Carbon (Charcoal) Assisted by Graphite as a Model. » *Environmental Science & Technology* 39 (7): 2033-2041. doi:10.1021/es0491376.
- Zimmerman, J. R., U. Ghosh, R. N. Millward, T. S. Bridges et R. G. Luthy. 2004. « Addition of carbon sorbents to reduce PCB and PAH bioavailability in marine sediments: Physicochemical tests. » *Environmental Science and Technology* 38: 5458-5464.
- Zimmerman, John R., David Werner, Upal Ghosh, Rod N. Millward, Todd S. Bridges et Richard G. Luthy. 2005. « Effects of Dose and Particle Size on Activated Carbon Treatment to Sequester Polychlorinated Biphenyls and Polycyclic Aromatic Hydrocarbons in Marine Sediments. » *Environmental Toxicology and Chemistry* 24 (7): 1594-1601. doi:10.1897/04-368R.1.



## INDEX DES TABLEAUX ET FIGURES

### TABLEAUX

Tableau 1 : Principaux paramètres physico-chimiques mesurés à partir des quatre types de charbons actifs obtenus suite à l'activation de biochar de bagasse de canne-à-sucre par méthode physique (vapeur d'eau) ou chimique (acide phosphorique).....	20
Tableau 2: Comparaison de la sorption de la chlordécone sur trois charbons actifs fabriqués à partir de biomasse de bagasse de canne-à-sucre (bag@CA), de peaux de banane (bpe@CA) ou de noix de coco (coque) (coh@CA) par rapport aux charbons étudiés par Durimel et al 2013.....	22
Tableau 3: Matrices hautement condensées, origine, production et données de caractérisation.....	38
Tableau 4: Facteurs de biodisponibilité relative et taux de réduction de la chlordécone dans les matrices biologiques (%).....	42
Tableau 5: récapitulatif des matrices hautement carbonées utilisées dans le projet PIEGEACHLOR.	47
Tableau 6: Résultats des surfaces spécifiques mesurées par PrimeVerre Montpellier.....	48
Tableau 7: 75 <sup>ème</sup> percentile des concentrations retrouvées dans les sols métropolitains (données Réseau de Mesures de la Qualité des Sols - RMQS).....	54
Tableau 8 : Ensemble des différentes modalités de sols artificiels et leurs destinations.....	55
Tableau 9: Paramètres du biochar de chêne 500°C (Delannoy, 2019). .....	62
Tableau 10: Organisation des séries du protocole expérimental (VdT = vers de terre). .....	63
Tableau 11: Taux de survie suivant les taux d'amendement en biochar.....	66
Tableau 12 : Perte de poids observée suivant les séries.....	67
Tableau 13: Nombre moyen ( $\bar{x}$ ) de graines de <i>Raphanus sativus</i> développées au bout de 3 semaines de culture (10 graines par pot). .....	67
Tableau 14: Répartition des molécules marquées au <sup>14</sup> C.....	67
Tableau 15: Modalités testées.....	70
Tableau 16: Facteurs de biodisponibilité relative calculés.....	76
Tableau 17: Caractéristiques descriptives des composés organo-chlorés employés.....	78
Tableau 18: Caractéristiques de porosité des matrices hautement carbonées.....	79
Tableau 19: Composition des clusters, niveaux de biodisponibilité relative et TEF moyens.....	80
Tableau 20: Synthèse des résultats de transfert : taux relatifs observés suivant les matrices carbonées employées, les molécules étudiées et le type de test. ....	99
Tableau 21: Composition chimique des sols antillais utilisés.....	107
Tableau 22: Caractéristiques de la porosité des andosols.....	108
Tableau 23 : Facteurs de Biodisponibilité relative calculés (n=4).....	117
Tableau 24: Synthèse des articles concernant la pérennité des matrices hautement carbonées trouvés.....	122

### FIGURES

Figure 1: Modifications structurales de la biomasse au cours du processus de fabrication des biochars par pyrolyse.....	13
Figure 2: Influence de la température de pyrolyse sur les propriétés de biochars obtenus à partir de bois de Robinia pseudacacia L (Lehmann, 2007). .....	14
Figure 3: Variation des ratios H/C de biochars obtenus à température de pyrolyse identique en fonction des biomasses utilisées comme matériau précurseur.....	14
Figure 4: Processus d'immobilisation des micropolluants par les biochars (Tang et al, 2013).....	15
Figure 5: Mécanismes de sorption des polluants organiques aux biochars.....	16
Figure 6: Etude comparative de la sorption du naphtalène et du 1-naphtol sur des biochars obtenus par pyrolyse de peaux d'orange de 250 à 700°C.....	18
Figure 7: Relations entre température de pyrolyse, structure moléculaire et propriétés d'adsorption des biochars illustrées à travers l'exemple de HAP à trois cycles.....	18
Figure 8: Structure tridimensionnelle de la chlordécone ; avec $x = 6,52 \text{ \AA}$ , $y = 5,89 \text{ \AA}$ et $z = 5,30 \text{ \AA}$ (Durimel et al., 2013).....	20
Figure 9: Comparaison des isothermes d'adsorption (à 25°C) de la chlordécone obtenus à partir des quatre types de charbons actifs issus de l'activation de bagasse de canne-à-sucre (Durimel et al., 2013).....	21
Figure 10 : Modèle conceptuel du transfert de polluants organiques hydrophobes dans un système composé de sédiment très peu mélangé. ....	27
Figure 11 : Démarche et structure du projet PIEGEACHLOR.....	32

Figure 12: Plan expérimental de l'étude préliminaire .....	37
Figure 13: Production des matériaux par l'entreprise CarboFrance .....	38
Figure 14: Disponibilité environnementale de la Chlordécone suivant les amendements réalisés .....	41
Figure 15 : Concentrations de CLD dans les matrices biologiques (ng de CLD par g de MS).....	42
Figure 16: Mécanismes et impact de l'amendement des sols contaminés par la Chlordécone sur la disponibilité environnementale et la biodisponibilité relative.....	43
Figure 17: Corrélation entre les données de disponibilité environnementale et les données de concentration de CLD dans le foie (A) et le tissu adipeux (B).....	44
Figure 18: Corrélation entre surface microporeuse matrices carbonées et la biodisponibilité mesurée .....	45
Figure 19 : Massif de Renouée du Japon en train d'être récolté (à gauche). Biochar de Renouée (à droite).....	46
Figure 20: Distribution en taille de pores du CA1 (Roth réf. 5966.2) .....	49
Figure 21: Distribution en taille de pore du CA2 (Roth, réf.X5963.2).....	50
Figure 22: Distribution en taille de pores du CA3 (Roth, réf. X865.3) .....	50
Figure 23 : Distribution en taille de pores du BC1 (Chêne 500°C) tel que trouvée pour les deux répétitions .....	51
Figure 24: Distribution en taille de pores du BC2 (1ère répétition) .....	51
Figure 25: Distribution en taille de pores du BC2 (2ème répétition) .....	52
Figure 26: Distribution en taille de pores du BC3.....	52
Figure 27 : Photos prises au GISFI montrant les mélanges de sols contaminés avec les réactifs .....	55
Figure 28: Disponibilité environnementale relative (au sol non amendé) (%).....	59
Figure 29: Disponibilité environnementale relative de la chlordécone suivant les conditions d'amendement (%) (n=3).....	59
Figure 30: Cycle de vie d'Aporrectodea caliginosa en condition de laboratoire (Bart et al., 2018). ....	61
Figure 31: Schéma à gauche et photographie au milieu et à droite du dispositif expérimental.....	62
Figure 32: Schéma expérimental de l'évaluation du transfert vers les lombriciens et radis .....	63
Figure 33: Cinétique d'adsorption de la CLD* .....	64
Figure 34: Cinétique de désorption de la CLD* .....	65
Figure 35 : Activité extraite (% initial) de CLD* et de PCB* .....	65
Figure 36 : Photographies d'individus Aporrectodea caliginosa exposés au biochar de chêne et aux polluant marqués : A, C) CLD* et B, D et E) PCB 153*. Les vers A et B n'ont subi aucun dommage (témoin de comparaison).....	66
Figure 37: Dispositif expérimental et suivi de croissance des plants de courgettes .....	71
Figure 38: Concentrations en chlordécone dans les parties aériennes ds courgettes en fin de cycle de développement. ....	72
Figure 39: Concentrations (µg/kg de matière sèche) en PCB 138 (à gauche) et 153 (à droite) dans les parties aériennes des courgettes en fin de cycle de développement .....	72
Figure 40: Concentrations de CLD, PCDD/F, PCB 77 et PCB-NDL dans les jaunes d'œufs.....	75
Figure 41: Dispersion des variables A-qualitatives et B-quantitatives décrivant les charbons et biochars (Dim1) et les molécules (Dim2) .....	77
Figure 42 : Répartition de la porosité des biochars et charbons actifs suivant 4 classes étudiées .....	79
Figure 43: Classification hiérarchique non supervisée des données de caractérisation .....	80
Figure 44: Schéma du dispositif expérimental .....	83
Figure 45: effet des contaminants sur les paramètres physiologiques des VDT .....	85
Figure 46: effet des matrices carbonées sur les paramètres physiologiques des VDT .....	85
Figure 47: effet séquestrant des matrices carbonées vis-à-vis de l'impact des PCB sur les paramètres physiologiques des VDT .....	86
Figure 48: Effet séquestrant des matrices carbonées vis-à-vis de l'impact de la CLD sur les paramètres physiologiques des VDT .....	86
Figure 49: Evaluation de l'effet des apports de sources de C et d'une solution NPKS sur le maintien de l'inoculum primaire.....	88
Figure 50: Séparation des produits PCR issus de l'amplification de l'ADNr16S en gel d'agarose .....	89
Figure 51: ACP des mesures au temps T0 .....	90
Figure 52 : Activité β-glucosidase donnée en mU/g de sol sec .....	90
Figure 53: Activité arylsulfatase donnée en mU/g de sol sec .....	91
Figure 54: Activité phosphatase donnée en mU/g de sol sec.....	91
Figure 55: Activité uréase donnée en mU/g de sol sec.....	92
Figure 56: Activité arylamidase donnée en mU/g de sol sec .....	92
Figure 57: Activité phosphatase alcaline donnée en mU/g de sol sec.....	92
Figure 58: ACP des mesures au temps T28j .....	93

Figure 59: Activité $\beta$ -Glucosidase donnée en mU/g de sol sec .....	93
Figure 60: Activité arylsulfatase donnée en mU/g de sol sec .....	94
Figure 61: Activité phosphatase donnée en mU/g de sol sec .....	94
Figure 62: Activité phosphatase alcaline donnée en mU/g de sol sec.....	95
Figure 63: Activité uréase donnée en mU/g de sol sec.....	95
Figure 64: Activité arylamidase donnée en mU/g de sol sec .....	96
Figure 65: Evolution des activités enzymatiques T28/T0: %évolution par rapport T0 .....	96
Figure 66: Effet des propriétés des molécules, caractéristiques des matières carbonées et type d'essai évaluant le transfert des polluants.....	100
Figure 67 : Régression linéaire réalisée sur les données de transfert vers le végétal et la disponibilité environnementale exprimés en relatifs au témoin sans amendement. ....	100
Figure 68: Schéma des parcelles de St Cyprien extrait du rapport URS, le cercle rouge correspondant à la maille prélevée et étudiée dans le cadre du présent projet.....	104
Figure 69: diffractogramme typique des rayons X d'échantillons d'andosols .....	105
Figure 70: Diffractogramme typique des rayons X d'échantillons de nitisols .....	106
Figure 71: Spectre IR typique d'échantillons d'andosols.....	106
Figure 72: Spectre IR Typique d'échantillons de nitisols.....	107
Figure 73: Microscopie électronique à balayage des andosols .....	107
Figure 74: Microscopie électronique à balayage des nitisols.....	108
Figure 75: Courbe SAXS typique d'un andosol.....	109
Figure 76: Résultats de disponibilité environnementale sur le sol de St Cyprien pour les PCB 138, 153 et 180.....	111
Figure 77: Disponibilité environnementale de la chlordécone après amendement des sols antillais : nitisol (à gauche), andosol (à droite) .....	111
Figure 78: Concentrations en chlordécone dans les parties aériennes des courgettes en fin de cycle de développement. ....	113
Figure 79: Concentrations ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ de matière sèche) en PCB 138 (à gauche) et 153 (à droite) dans les parties aériennes des courgettes en fin de cycle de développement. ....	113
Figure 80: Concentrations retrouvées dans les matrices biologiques suivant les matrices condensées étudiées .....	116

## SIGLES ET ACRONYMES

<b>ADEME</b>	Agence de la transition écologique
<b>BCA</b>	Acide bicinchoninique
<b>ARN</b>	Arylamidase
<b>ARS</b>	Arylsulfatase
<b>bGLU</b>	$\beta$ -Glucosidase
<b>Bio-DA</b>	Plateforme Biodisponibilité-Bioactivité
<b>BR</b>	Biodisponibilité Relative
<b>CA</b>	Charbons Actif
<b>CAT</b>	Catalase
<b>CLD</b>	Chlordécone
<b>ÉcoSys</b>	Écologie fonctionnelle et écotoxicologie des agroécosystèmes
<b>ETM</b>	Éléments traces métalliques
<b>GisFi</b>	Groupement d'intérêt scientifique sur les friches industrielles
<b>GLY</b>	Glycogène
<b>GST</b>	Gluthathion s- transférase
<b>HAP</b>	Hydrocarbures aromatiques polycycliques
<b>INERIS</b>	Institut national de l'environnement industriel et des risques
<b>INRAe</b>	Institut national de recherche pour l'agriculture
<b>LAS</b>	Laboratoire d'Analyse des Sols
<b>LQ</b>	Limite de Quantification
<b>LIP</b>	Lipides totaux
<b>LSE</b>	Laboratoire Sol et Environnement
<b>MO</b>	Matière organique
<b>PAK</b>	Phosphatase alcaline
<b>PASM</b>	Plateau d'Analyse Structurale et Métabolomique
<b>PCB</b>	Polychlorobiphényles
<b>PCB-DL</b>	PCB dioxin like
<b>PCB-NDL</b>	Polychlorobiphényles-non-dioxin-like
<b>PCDD/F</b>	Dioxines et Furanes
<b>PCT</b>	Polychloroterphényles
<b>PHOS</b>	Phosphatase
<b>POP</b>	Polluants Organiques Persistants
<b>PROTc</b>	Protéines circulantes
<b>PROTt</b>	Protéines totales
<b>RMQS</b>	Réseau de mesure de la qualité des sols
<b>ROS</b>	Espèces réactives de l'oxygène
<b>SOD</b>	Superoxyde dismutase
<b>UICN</b>	Union internationale pour la conservation de la nature
<b>UIOM</b>	Unité d'Incinération d'Ordures Ménagères
<b>URE</b>	Uréase
<b>VDT</b>	Vers de terre



## L'ADEME EN BREF

À l'ADEME - l'Agence de la transition écologique - nous sommes résolument engagés dans la lutte contre le réchauffement climatique et la dégradation des ressources.

Sur tous les fronts, nous mobilisons les citoyens, les acteurs économiques et les territoires, leur donnons les moyens de progresser vers une société économe en ressources, plus sobre en carbone, plus juste et harmonieuse.

Dans tous les domaines - énergie, air, économie circulaire, alimentation, déchets, sols, etc., nous conseillons, facilitons et aidons au financement de nombreux projets, de la recherche jusqu'au partage des solutions.

À tous les niveaux, nous mettons nos capacités d'expertise et de prospective au service des politiques publiques.

L'ADEME est un établissement public sous la tutelle du ministère de la Transition écologique et du ministère de l'Enseignement supérieur, de la Recherche et de l'Innovation.

### LES COLLECTIONS DE L'ADEME



#### FAITS ET CHIFFRES

L'ADEME référent : Elle fournit des analyses objectives à partir d'indicateurs chiffrés régulièrement mis à jour.



#### CLÉS POUR AGIR

L'ADEME facilitateur : Elle élabore des guides pratiques pour aider les acteurs à mettre en œuvre leurs projets de façon méthodique et/ou en conformité avec la réglementation.



#### ILS L'ONT FAIT

L'ADEME catalyseur : Les acteurs témoignent de leurs expériences et partagent leur savoir-faire.



#### EXPERTISES

L'ADEME expert : Elle rend compte des résultats de recherches, études et réalisations collectives menées sous son regard.



#### HORIZONS

L'ADEME tournée vers l'avenir : Elle propose une vision prospective et réaliste des enjeux de la transition énergétique et écologique, pour un futur désirable à construire ensemble.





## PIEGEACHLOR : Rapport de fin de projet

Le projet Piegeachlor s'est donné pour objectif de réduire la disponibilité des plusieurs familles de contaminants organochlorés retrouvés dans les sols. Les contaminants étudiés sont les polychlorobiphényles, les polychloro-dibenzo-dioxines et furanes, ainsi que la chlordécone.

L'hypothèse initiale du projet était que des matrices carbonées issues de pyrolyse de ligneux telles que des biochars pouvaient jouer un rôle de séquestration.

Les propriétés de séquestration ont été testées en mobilisant plusieurs méthodologies. La première est basée sur une approche *in vitro*, qualifiant la disponibilité environnementale. Elle simule la capacité d'un milieu aqueux à désorber les polluants. Les autres utilisaient un biote cible (ver, radis, courgette, poule) pour déterminer la biodisponibilité relative de chacun des contaminants en fonction de la matrice carbonée utilisée. Ces approches ont été appliquées d'abord sur des sols artificiels de type OCDE avec de la tourbe comme matière organique endogène. Après une sélection des matrices carbonées les plus performantes en termes de séquestration, une partie des tests précédemment décrits a été appliquée sur des sols naturels prélevés en métropole (Saint-Cyprien) et en Martinique (Morne-Rouge, Trinité), respectivement contaminé en PCB+PCDD/F et en CLD. Des essais d'innocuité de l'amendement ont également été menés.

### Essentiel à retenir ou exergue ou discours marketing

*Abore doluptis isto te mil isse vendion sectur?  
Ibusae vit quuntio rerunt.*

*Itias ma nateceatate perroratur, cus, te occatur?  
Cessit qui nulparc hiliqui quodignis aut ante  
porerorion nit etusant utemolu pidelitibus.  
Soloress imusanimin pro idero volectus molorpo.*

Si ce document comporte une référence ADEME et un ISBN :

Changer le Code barre + Le numéro

Clic droit sur le code barre puis **REPLACER L'IMAGE ou le/les  
supprimer s'il n'y en a pas.**

00000

