



**HAL**  
open science

# Development of a microbiologic module for hydrobiogeochemical modelling and applications on arsenic mobility

Marc Parmentier

► **To cite this version:**

Marc Parmentier. Development of a microbiologic module for hydrobiogeochemical modelling and applications on arsenic mobility. Chemical Sciences. École Nationale Supérieure des Mines de Paris, 2006. English. NNT: . pastel-00002404

**HAL Id: pastel-00002404**

**<https://pastel.hal.science/pastel-00002404>**

Submitted on 30 Apr 2007

**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.



MINES PARIS

Collège doctoral

Ecole Doctorale n° **398** : "Géosciences et Ressources Naturelles"

*N° attribué par la bibliothèque*

□□□□□□□□□□□□□□□□

## **T H E S E**

pour obtenir le grade de  
**Docteur de l'Ecole des Mines de Paris**  
Spécialité "Hydrologie et Hydrogéologie Quantitatives"

présentée et soutenue publiquement par

**Marc PARMENTIER**

le 24 octobre 2006

**DEVELOPPEMENT D'UN MODULE MICROBIOLOGIQUE DEDIE  
A LA MODELISATION HYDROBIOGEOCHIMIQUE ET  
APPLICATION A LA MOBILITE DE L'ARSENIC**

### Jury

M. Philippe Baranger	Examineur
Mme Françoise Elbaz Poulichet	Rapporteur
M. Pierre Regnier	Examineur
M. Pierre Renault	Rapporteur
M. Jean-Michel Schmitt	Examineur
M. Jan Van Der Lee	Directeur





Collège doctoral

École Doctorale n°398: 'Géosciences et Ressources Naturelles'

## **THÈSE**

pour obtenir le grade de

**Docteur de l'École des Mines de Paris**

spécialité "Hydrologie et Hydrogéologie Quantitatives"

présentée et soutenue publiquement par

**Marc PARMENTIER**

le 24 octobre 2006

---

**Développement d'un module microbiologique  
dédié à la modélisation hydrobiogéochimique et  
applications à la mobilité de l'arsenic**

---

Jury

Philippe Baranger	Examineur
Françoise Elbaz-Poulichet	Rapporteur
Pierre Regnier	Examineur
Pierre Renault	Rapporteur
Jean-Michel Schmitt	Examineur
Jan van der Lee	Directeur



# Remerciements

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de thèse, Jan van der Lee, de m'avoir proposé ce sujet et de m'avoir laissé le développer comme je l'entendais.

Un grand merci à Vincent et Laurent pour leur réponses toujours rapides et efficaces à mes problèmes techniques concernant la modélisation et l'informatique.

Je remercie également l'ensemble des membres du PGT avec qui j'ai pu discuter de questions scientifiques dans une ambiance chaleureuse. En particulier André Burnol, qui a partagé mes difficultés sur le cas épineux de la modélisation de la dissolution réductive biologique.

Un grand merci à l'équipe du BRGM d'Orléans (André Burnol, Francis Garrido), à l'équipe hydrosciences de Montpellier (Françoise Elbaz, Corinne Casiot, Odile Brunel) ainsi qu'à Guillaume morin, pour leur collaboration à ce projet, en particulier par la mise à disposition de données expérimentales et in situ, et plus généralement par leur sympathie et leur disponibilité.

Une mention très spéciale aux relecteurs de ce document (en particulier Stéphanie, Olivier et Sylvia), leur aide a été précieuse.

J'aimerais enfin cité ici toutes les personnes avec lesquelles j'ai passé d'excellents moments durant ces trois années, que ce soit pour un match de foot, de squash ou de volley, une ballade ornithologique, un cours d'espagnol, une descente en canoë, une partie de carte, un repas, un café, une bière...

Merci donc à Alex, Aurélie, Caroline, Catherine (qui je l'espère saura apprécier la vie lilloise), Charles, Christophe, Clément, Corinne, Costin, David (une dédicace toute spéciale à la petite Zoia), Florence (n'oublies pas de retourner voire les Guêpiers), François, Gilles, Hugo, Joël, Julie (pour tes bons plans lillois), Odile, Olivier (entre autre pour nos discussions linuxienne), Pierre, Raffi, Romain, Rosalie, Rose, Salim, Sunseare, Sylvia (pour m'avoir motivé à quitter Fontainebleau), Timothée, Thomas, Xavier, ... En pratique vous êtes trop nombreux pour vous citer tous, pardon à celles et ceux que j'oublie.



*“If people do not believe that mathematics is simple, it is only because they do not realize how complicated life is.”*

John von Neumann.



# Table des matières

<b>1</b>	<b>Introduction</b>	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>État de l’art de la modélisation de l’activité microbologique</b>	<b>7</b>
2.1	Définitions et notations . . . . .	8
2.2	Le catabolisme . . . . .	10
2.2.1	Une réaction d’oxydo-réduction . . . . .	10
2.2.2	Le catabolisme des chemolithotrophes . . . . .	12
2.2.3	La dégradation de la matière organique . . . . .	14
2.2.4	Influence de la concentration des réactifs . . . . .	18
2.2.5	Influence de l’énergie de la réaction . . . . .	24
2.2.6	Influence des conditions du milieu . . . . .	31
2.2.7	Interdépendance des cinétiques . . . . .	32
2.3	L’anabolisme . . . . .	34
2.3.1	La réaction d’anabolisme . . . . .	35
2.3.2	La courbe de croissance bactérienne . . . . .	36
2.3.3	Couplage anabolisme et catabolisme . . . . .	40
2.4	Les réactions extracellulaires . . . . .	40
2.4.1	L’hydrolyse de la matière organique . . . . .	40
2.4.2	La dissolution de phases minérales . . . . .	42
2.4.3	La diffusion au sein d’un biofilm . . . . .	43
2.5	Conclusion . . . . .	43
<b>3</b>	<b>Extension du code de calcul CHESS</b>	<b>45</b>
3.1	Calcul de l’équilibre thermodynamique . . . . .	45
3.1.1	Le concept d’espèces de base . . . . .	45
3.1.2	Les équations principales . . . . .	46
3.1.3	La méthode de résolution de Newton-Raphson . . . . .	48
3.1.4	La résolution des équations avec CHESS . . . . .	49
3.2	Calcul de l’évolution cinétique . . . . .	54

3.2.1	Le système d'équations différentielles ordinaires . . . . .	54
3.2.2	Approximation par des équilibres . . . . .	55
3.2.3	Les méthodes de résolution . . . . .	58
3.2.4	La résolution du système d'équations avec CHESS . . . . .	60
3.2.5	La formulation cinétique de CHESS . . . . .	64
3.3	Conclusion . . . . .	67
<b>4</b>	<b>Exemples et démonstrations</b>	<b>69</b>
4.1	Les cinétiques enzymatiques . . . . .	69
4.2	La biodégradation du NTA . . . . .	74
4.3	Le couplage cinétique transport . . . . .	75
4.4	Conclusion . . . . .	78
<b>5</b>	<b>Étude de la dissolution réductive biologique de HFO-As</b>	<b>81</b>
5.1	Contexte . . . . .	81
5.2	Les expériences . . . . .	81
5.3	La spéciation initiale . . . . .	85
5.4	Le mécanisme réactionnel . . . . .	87
5.5	Les effets inhibiteurs de la dissolution réductive . . . . .	94
5.6	Conclusion . . . . .	97
<b>6</b>	<b>Étude biogéochimique d'une eau acide de drainage minier</b>	<b>101</b>
6.1	Présentation du site . . . . .	101
6.2	Les expériences de laboratoire . . . . .	108
6.3	Les réactions d'oxydo-réduction . . . . .	113
6.4	Les phases minérales . . . . .	120
6.5	La modélisation des expériences . . . . .	127
6.6	La modélisation in situ . . . . .	135
6.7	Conclusion . . . . .	145
<b>7</b>	<b>Conclusion et perspectives</b>	<b>147</b>

**A Calcul de la solubilité de la scorodite**

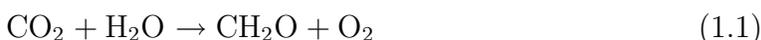
**165**



# 1 Introduction

## Les activités biologiques

Un des exemples les plus frappants de l'importance des microorganismes en géochimie est sans doute leur implication dans l'évolution de la composition de l'atmosphère depuis l'apparition de la vie sur Terre. Il y a environ 3 milliards d'années, l'atmosphère primitive ne contenait pas de dioxygène et était riche en dioxyde de carbone et en méthane : elle était donc très réductrice. Les cyanobactéries, dont les plus anciennes datent de 3.5 milliards d'années, réalisent la photosynthèse :



Pendant environ 2 milliards d'années, cette activité photosynthétique a modifié considérablement les conditions géochimiques de la Terre. Des stromatolites datés de  $-2.3$  à  $-2.2$  milliards d'années, ont pour origine l'activité des cyanobactéries et montrent qu'à cette époque l'activité photosynthétique devient importante. La fixation du dioxyde de carbone sous forme de matière organique déplace l'équilibre des carbonates dans le sens :



L'atmosphère terrestre jusqu'alors réductrice devient peu à peu oxydante, ce qui provoque l'accumulation des premiers oxydes ferriques. Ainsi l'évolution du système terrestre primitif est intimement liée à l'activité biologique.

Encore aujourd'hui, l'activité biologique joue un rôle dans l'évolution géochimique des milieux, qu'ils soient naturels ou anthropisés. La mise à l'air libre des stériles miniers, par exemple, crée un environnement à fort déséquilibre redox, exploité par de nombreux microorganismes chemolithotrophes. Parmi ceux-ci les bactéries sulfato-réductrices peuvent être responsables de la dissolution de la pyrite et de l'acidification du milieu. Ces métabolismes, en catalysant des réactions d'oxydo-réduction et de précipitation-dissolution, sont susceptibles de modifier considérablement la spéciation des métaux et des métalloïdes. Ainsi, l'exploitation minière, en créant un milieu favorable à certains métabolismes bactériens, a contribué à la dispersion de l'arsenic dans l'environnement, posant des problèmes pour la santé humaine.

Les exemples précédents montrent que les activités biologiques sont capables, à plus ou moins grande échelle, de modifier le chimisme de leur milieu. Ces modifications peuvent être indésirables, comme dans le cas de pollutions dues aux eaux acides de

drainages miniers ou de la biocorrosion des métaux. Mais elles peuvent également être bénéfiques. C'est le cas de la biodégradation de matières organiques contaminantes.

La compréhension et la maîtrise des phénomènes biologiques influençant la géochimie, a donc un intérêt dans de nombreux domaines. Pour la remédiation de sols pollués, les activités biologiques sont utilisées dans la réalisation de nombreuses techniques telles que la phytoextraction ou l'induction de chélateur. Pour l'extraction minière, les activités biologiques sont utilisées dans les techniques de biolixiviation. Pour le traitement des eaux usées les techniques de dénitrification et de déphosphatation utilisent également les activités biologiques.

### La complexité des milieux naturels

Les organismes biologiques semblent exister partout où se trouve de l'eau liquide et des températures inférieures à 113 °C. Il n'est plus absurde d'imaginer l'existence d'une biosphère jusqu'à au moins 6 kilomètres de profondeur dans la croûte terrestre. Cette ubiquité des organismes biologiques vient de la diversité de leurs métabolismes.

L'activité biologique peut modifier l'hydrogéochimie du milieu par des moyens très divers. Les métabolismes bactériens ont une influence directe sur les réactions d'oxydo-réduction et sur la formation et la dégradation de la matière organique. Mais ces réactions peuvent avoir de nombreuses conséquences indirectes sur l'hydrogéochimie du milieu :

- Les réactions d'oxydo-réduction peuvent provoquer des précipitations et/ou des dissolutions. Plusieurs observations ont révélé la présence de précipitations minérales à proximité immédiate des bactéries, voire même dans le cytosol.
- Les oxydations et réductions biologiques peuvent intervenir localement sur une surface métallique, donnant naissance à des courants électriques et des phénomènes de corrosion.
- La synthèse de biomasse utilise parfois une part non négligeable des éléments minéraux. Des dissolutions assimilatrices de phases solides peuvent alors intervenir.
- La matière organique dissoute ou particulaire (parois cellulaires, exopolysaccharides, biofilms, chélateurs, acides humiques, ...) est responsable de complexation aqueuse ou de sorption qui modifient de façon importante la spéciation géochimique.
- La formation d'un biofilm dans un milieu poreux, en réduisant l'espace poral, peut avoir un impact sur l'hydrodynamique locale. Au contraire, la présence d'organismes fouisseurs tels que les vers, peut favoriser les transports de matière en créant une hydrodynamique locale.

Les activités biologiques modifient leur milieu mais réciproquement, les paramètres du milieu influencent les activités biologiques. Ces dernières s'initient dès lors que les conditions physico-chimiques du milieu sont favorables. C'est à dire si tous les nutriments sont biodisponibles, si la réaction de catabolisme est susceptible de fournir suffisamment d'énergie aux cellules, si les conditions de pH, température, salinité, etc, sont favorables à l'espèce biologique en question. Ainsi, les cinétiques biologiques sont fonctions des paramètres physico-chimiques suivant des lois particulières, telles que la loi de Monod ou une loi tenant compte de l'énergie libérée lors de la réaction.

La plupart des systèmes naturels contiennent une activité biologique. Chaque processus d'un tel système peut être étudié en laboratoire. Mais le système global est difficile à appréhender car il est le siège de nombreuses interactions. En effet les exemples précédents montrent que les activités biologiques sont d'une grande diversité, qu'elles ont des conséquences multiples sur la géochimie et l'hydrodynamique du milieu, et que leurs cinétiques dépendent des paramètres physico-chimiques environnant.

### **L'apport de la modélisation**

Afin d'étudier l'évolution des milieux naturels, il est nécessaire d'appréhender les aspects géochimiques, hydrodynamiques et microbiologiques de façon couplée. Les équations décrivant l'évolution des systèmes naturels nécessitent l'utilisation des moyens informatiques. Depuis une dizaine d'années, de tels outils sont capables de modéliser la plupart des processus chimiques et hydrodynamiques se déroulant dans les sols et les sous-sols. Mais dans un esprit simplificateur l'activité microbiologique reste trop souvent négligée [42].

CHESS et HYTEC, développés à l'École des Mines de Paris par l'équipe Hydrodynamique et Réactions, font partie de ces outils de modélisation. Le logiciel CHESS ('Chemical Equilibrium of Species and Surfaces') permet de calculer la spéciation d'une solution aqueuse. De très nombreuses réactions sont prises en compte, dont entre autres les réactions acide-base, les réactions de complexation aqueuse, les réactions d'oxydo-réduction, les réactions de précipitation-dissolution, les réactions de sorption (par des modèles de complexation de surface ou d'échange ionique). Le calcul est basé sur une base de données qui définit les équilibres chimiques. Les réactions d'oxydo-réduction, qui sont chimiquement suffisamment lentes pour être négligées, peuvent être catalysées par les bactéries.

Le logiciel HYTEC couple CHESS à des modèles de transport hydrologique. HYTEC est capable de modéliser la plupart des processus chimiques et hydrodynamiques se déroulant dans les sols et les sous-sols. D'abord utilisés pour analyser quantitativement les expériences de laboratoire, ces modèles se tournent de plus en plus vers la prédiction de l'évolution géochimique de systèmes naturels. Ils s'appliquent par

exemple à la sécurité et la performance du stockage de déchets, à l'étude de pollution des eaux de surface ou souterraine ou à l'efficacité de la séquestration de gaz à effet de serre. Compte tenu de l'importance des systèmes auxquels ils s'appliquent, il est important que les prédictions des modélisations soient les plus fiables possible. Or in situ l'évolution de tels systèmes peut être influencée, voire contrôlée, par l'activité biologique. Les modèles ne peuvent donc plus négliger l'impact des réactions biologiques.

## Objectif et présentation de l'étude

Le but de ce travail est d'étendre les domaines d'applications des modèles de chimie et de transport réactif en y introduisant les processus microbiologiques. On s'attachera plus particulièrement aux logiciels de l'École des Mines que sont CHESS et HYTEC.

Étant donné que les métabolismes ont un impact important sur la géochimie des sols et que, dans ces milieux, les organismes biologiques sont essentiellement des bactéries, les activités biologiques seront restreintes aux métabolismes bactériens.

Une cellule vivante entretient un ensemble complexe de réactions (chimiques, enzymatiques, de transport membranaire, ...) faisant intervenir de très nombreuses molécules organiques (protéines, polysaccharides, acides nucléiques). Toutes ces réactions élémentaires ne sont pas suffisamment connues pour pouvoir être modélisées individuellement. Nous nous attacherons donc à définir et à modéliser l'activité bactérienne globale qui influence la géochimie du milieu.

Historiquement, les premières modélisations de l'activité biologique ne se sont intéressées qu'à l'évolution cinétique des concentrations en substrat et en biomasse (et éventuellement en produits du métabolisme). Cette formulation, appelée *ad-hoc*, est encore très utilisée et permet par exemple de décrire le fonctionnement des réacteurs biologiques. Elle est à différencier de la formulation basée sur des réactions [139]. Dans ce cas, chaque élément du système (substrat, biomasse, espèces chimiques) est défini par une formule chimique et les réactions vérifient l'équilibre stoechiométrique. Comme la plupart des logiciels de calcul de spéciation, CHESS est basé sur des réactions. Pour coupler l'activité biologique et la spéciation géochimique, il a donc été choisi de formuler les processus biologiques par des réactions.

Ces réactions globales sont, par définition, des réactions irréversibles qui doivent être modélisées par des cinétiques. La complexité de la formulation cinétique est liée à celle des mécanismes réactionnels. C'est pourquoi de nombreuses lois cinétiques sont utilisées en microbiologie. CHESS devra donc être capable de résoudre des systèmes réactionnels mixtes équilibres-cinétiques utilisant des lois cinétiques complexes.

En premier lieu, une étude bibliographique fera un bilan des méthodes utilisées en

---

modélisation biogéochimique. Ce premier travail va permettre de définir les réactions globales des métabolismes bactériens et de lister les dépendances et les lois cinétiques utilisées en microbiologie (chapitre 2).

Dans le chapitre 3, après avoir rappelé la méthode de résolution de CHESS pour les systèmes réactionnels à l'équilibre, on montrera comment cette méthode peut être étendue à la résolution de systèmes réactionnels mixtes équilibres-cinétiques biologiques. En particulier on vérifiera que cette méthode permet de prendre en compte les réactions cinétiques définies au chapitre 2.

Les nouvelles implémentations seront vérifiées au chapitre 4 par la modélisation de cas simples et la comparaison avec des modélisations tirées de la littérature. Le code ainsi développé est particulièrement adapté à l'étude de l'interface eau-minéral, souvent colonisée par les bactéries jouant un rôle dans les processus de précipitation-dissolution.

L'arsenic est un élément toxique naturellement très répandu. Il est souvent présent dans les sulfures sous forme d'arsénopyrite ( $\text{FeAsS}$ ). La dissolution oxydative biologique des sulfures de stériles miniers produit des eaux acides riches en sulfates. La présence de pyrite arsénifiée dans les stériles induit la présence de fer et d'arsenic dans les eaux acides de drainage minier.

CHESS sera ici appliqué à l'étude de la mobilité de l'arsenic dans des systèmes contenant des précipités d'hydroxyde de fer. Des expériences réalisées par le BRGM [59], permettront au chapitre 5 d'étudier la dissolution réductive biologique d'un hydroxyde de fer riche en arsenic.

Au chapitre 6, l'étude de l'ancien site minier de Carnoulès (Gard, France) sera abordée. Des expériences, réalisées par l'UMR Hydrosciences de Montpellier [31], permettent d'étudier l'évolution géochimique des eaux acides sortant du stock de stérile minier. On verra comment les oxydations biologiques du fer et de l'arsenic provoquent leur reprécipitation et comment ces processus étudiés en laboratoire peuvent être étendus à l'échelle du terrain.





réactions de constitution de la biomasse à partir d'une partie de l'énergie issue du catabolisme et de matières prélevées dans le milieu extérieur (essentiellement carbone, azote et phosphore). L'ensemble de l'anabolisme et du catabolisme constitue le métabolisme. Le fonctionnement du métabolisme nécessite un apport de matière du milieu extracellulaire vers le milieu intracellulaire. Ce transport au travers des parois et membranes cellulaires requiert parfois des processus en amont pour rendre les nutriments biodisponibles (l'hydrolyse de grosses molécules, la dissolution d'une phase minérale). Ces processus sont également importants dans l'activité globale microbologique.

## 2.1 Définitions et notations

Considérons un réacteur parfaitement mélangé contenant un système chimique défini par  $N$  espèces chimiques  $C_i$  et une réaction. Cette réaction est définie par  $N$  coefficients stoechiométriques  $\alpha_i$  pour les réactifs et  $N$  coefficients stoechiométriques  $\beta_i$  pour les produits. Par exemple,



ou de façon plus générale,

$$\sum_{i=1}^N \alpha_i C_i \rightarrow \sum_{i=1}^N \beta_i C_i \quad (2.2)$$

Ainsi, pour les espèces n'intervenant pas dans les réactifs (resp. dans les produits), un coefficient stoechiométrique  $\alpha_i$  (resp.  $\beta_i$ ) nul est attribué. Une espèce chimique qui apparaît avec le même coefficient stoechiométrique dans les produits et les réactifs peut (moyennant quelques adaptations sur la cinétique) être enlevée de la réaction. Les  $2N$  coefficients stoechiométriques peuvent alors être remplacés par  $N$  coefficients stoechiométriques algébriques  $\nu_i$  selon l'équation :

$$\forall i \in \{1 \cdot \cdot N\} \quad \nu_i = \beta_i - \alpha_i \quad (2.3)$$

Dans toute la suite les coefficients stoechiométriques algébriques seront utilisés. Ainsi, les réactifs ont des coefficients stoechiométriques négatifs qui préfigurent une disparition au cours de la réaction. Pour chaque espèce chimique  $i$  intervenant dans la réaction, le coefficient stoechiométrique algébrique  $\nu_i$  est défini par :

$$\forall i \in \{1 \cdot \cdot N\} \quad \nu_i = \frac{dC_i}{d\xi} \quad \text{ou} \quad \frac{dC_i}{\nu_i} = d\xi \quad (2.4)$$

où  $\xi$  est l'*avancement de la réaction* et correspond à la quantité de matière qui réagit par cette réaction indépendamment des coefficients stoechiométriques. Les avancements de réaction sont homogènes aux concentrations  $C_i$  des espèces chimiques. Les unités utilisées sont les *molarités* (rapport de la quantité de soluté, en mole, sur le volume de solution en litre) ou les *molalités* (rapport de la quantité de soluté, en mole, sur la masse de solvant, en kilogramme). Cette dernière unité est utilisée par CHESS. L'équation précédente permet d'écrire les variations des concentrations  $C_i$  des espèces chimiques  $i$  au cours du temps dans le cas d'une seule réaction :

$$\forall i \in \{1 \cdot \cdot N\} \quad \frac{dC_i}{dt} = \nu_i \frac{d\xi}{dt} = \nu_i r \quad (2.5)$$

A ce stade, nous avons déjà écrit une des équations fondamentales de notre système chimique : l'*équation de conservation de la masse*. La *vitesse de la réaction*, notée  $r$ , est définie comme la dérivée par rapport au temps de l'avancement de la réaction :

$$r = \frac{d\xi}{dt} \quad \text{ou} \quad \xi(\tau) = \int r(C, T, \dots) dt \quad (2.6)$$

La vitesse d'une réaction dépend typiquement de nombreux paramètres (les concentrations ou les activités des espèces chimiques, la température  $T$ , ...). Les fonctions décrivant ces dépendances sont les *lois cinétiques*. Celles-ci peuvent prendre des formes très variables selon le mécanisme réactionnel, la nature du système étudié, les approximations éventuelles et même les auteurs.

On peut noter qu'une réaction  $j$  est orientée par la définition de ses coefficients stoechiométriques algébriques  $\nu_{ij}$ . En effet ceux-ci sont négatifs pour les réactifs et positifs pour les produits. Mais le sens dans lequel cette réaction va effectivement se dérouler est dicté par sa vitesse  $r_j$ . Si  $r_j$  est positif, la réaction se déroule dans le sens de sa définition et les réactifs disparaissent au cours du temps. Réciproquement, si  $r_j$  est négatif, la réaction se déroule dans le sens inverse et les espèces définies avec un coefficient stoechiométrique négatif apparaissent au cours du temps. De façon plus générale, la vitesse d'une réaction  $j$  et les coefficients stoechiométriques  $\nu_{ij}$  sont écrits à un facteur multiplicatif près. En effet, le système mathématique reste inchangé si (1) on multiplie les coefficients stoechiométriques de la réaction par une constante  $\alpha \in \mathbb{R}^*$  et si (2) on divise sa vitesse par la même constante  $\alpha$ .

## 2.2 Le catabolisme

### 2.2.1 Une réaction d'oxydo-réduction

Le catabolisme est une réaction d'oxydo-réduction. C'est-à-dire qu'il correspond à un échange d'électrons entre deux couples d'oxydo-réduction. Le couple subissant la réduction sera appelé accepteur d'électrons (AE), et le couple subissant l'oxydation sera appelé donneur d'électrons (DE). La réaction peut alors s'écrire :



Le catabolisme est une réaction exergonique, c'est-à-dire qu'elle dégage de l'énergie. La quantité d'énergie libérée est donnée par l'enthalpie libre de la réaction  $\Delta_r G$ .

$$\Delta_r G = \Delta_r G^0 + RT \ln\left(\prod_i a_i^{\nu_i}\right) \quad (2.8)$$

L'enthalpie libre d'une réaction d'oxydo-réduction peut être exprimée en fonction de la différence de potentiel d'oxydo-réduction entre le couple donneur ( $DE_{ox}/DE_{red}$ ) et le couple accepteur ( $AE_{ox}/AE_{red}$ ). Ce qui se traduit mathématiquement par la loi de Nernst :

$$\Delta_r G = -nF(E_{AE} - E_{DE}) \quad (2.9)$$

Les potentiels d'oxydo-réduction  $E$  dépendent des activités des espèces chimiques apparaissant dans la demi-réaction d'oxydation considérée, selon la formule suivante :

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln\left(\frac{\text{activité de la forme oxydée}}{\text{activité de la forme réduite}}\right) \quad (2.10)$$

avec	$E$	potentiel d'oxydo-réduction
	$E^0$	potentiel redox standard biologique
	$R$	constante des gaz parfaits ( $R = 8.31 \text{ J/K/mol}$ )
	$T$	température en Kelvin
	$n$	nombre d'électrons échangés
	$F$	constante de Faraday ( $F = 9.65 \times 10^4 \text{ C/mol}$ )

Les milieux physiologiques sont tamponnés à des pH neutres. Pour un pH fixe de 7, l'activité des protons peut être intégrée au potentiel standard  $E^0$  pour définir le potentiel standard biologique  $E'^0$ . L'enthalpie libre standard biologique  $\Delta G'^0$  est définie de la même manière.

Le catabolisme permet de fournir l'énergie nécessaire à la vie cellulaire. La cellule dispose de deux grands réservoirs d'énergie [122] :

- L'Adénosine Tri-Phosphate (ATP) est un cofacteur à haut potentiel d'énergie. Son hydrolyse en Adénosine Di-Phosphate (ADP) et en phosphate inorganique produit de l'énergie exprimée par l'équation suivante :

$$\Delta G_{ATP} = \Delta G'^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{ADP}][\text{Phosphate}]}{[\text{ATP}]} \right) \quad (2.11)$$

Dans les conditions biologiques standards (à pH 7),  $\Delta G'^0$  vaut environ  $-32$  kJ/mol [122]. Mais dans les conditions biologiques classiques, l'ATP représente une énergie potentielle nettement supérieure, de l'ordre de 45 à 55 kJ/mol car l'ATP est en concentration supérieure à l'ADP (le rapport intracellulaire  $[\text{ATP}]/[\text{ADP}] > 1$ ).

Cette énergie est encore augmenté du fait que l'ADP est lui-même un composé à haut potentiel pouvant remplacer l'ATP comme donneur de phosphate dans certaines réactions, se forme alors l'Adénosine Mono-Phosphate (AMP). L'énergie contenue dans l'ADP est prise en compte dans une relation empirique définissant la charge énergétique de la cellule [3] :

$$\frac{[\text{ATP}] + 0.5[\text{ADP}]}{[\text{ATP}] + [\text{ADP}] + [\text{AMP}]} \quad (2.12)$$

- Le deuxième réservoir d'énergie de la cellule est le potentiel électrochimique de membrane  $\Delta\Phi$ . Il correspond à l'inégale répartition des charges de part et d'autre de la membrane avec une polarité qui est toujours la même : négative du côté cytoplasmique, positive du côté extérieur à la cellule.

Ce potentiel électrochimique est connecté au potentiel énergétique de l'ATP par une protéine transmembranaire : l'ATPsynthase. Elle permet de coupler la synthèse d'ATP à la translocation de protons de l'extérieur vers l'intérieur de la cellule. Les protons ne franchissent pas librement les membranes biologiques et la concentration intracellulaire  $[\text{H}^+]_i$  est en général inférieure à la concentration du milieu environnant  $[\text{H}^+]_e$ . L'énergie nécessaire à la synthèse de l'ATP est fournie par la force proton-motrice  $\Delta p$  (en mV), composée d'un terme représentant la différence de potentiel et d'un terme représentant le gradient de concentration :

$$\Delta p = \Delta\Phi + \frac{RT}{F} \ln \left( \frac{[\text{H}^+]_i}{[\text{H}^+]_e} \right) \quad (2.13)$$

L'ATPsynthase est encore appelée ATPase car elle catalyse la réaction dans les

**Tab. 2.1** – Principaux couples d'oxydo-réduction classés selon leur potentiel standard (en V) à 25°C issus de la base de données du CTDP [151].

couple redox		$E'^0$
$2\text{H}^+$	/ $\text{H}_2(\text{g})$	0.00
$\text{NH}_3(\text{aq})$	/ $\text{N}_2(\text{g})$	0.09
$\text{HCO}_3^-$	/ $\text{HCOOH}$	0.12
$\text{HCO}_3^-$	/ $\text{CH}_4$	0.21
$2\text{HCO}_3^-$	/ $\text{CH}_3\text{COOH}$	0.22
$\text{SO}_4^{2-}$	/ $\text{HS}^-$	0.25
$\text{H}_2\text{AsO}_3^-$	/ $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$	0.37
$\text{Fe}^{3+}$	/ $\text{Fe}^{2+}$	0.77
$\text{NO}_2^-$	/ $\text{NH}_3(\text{aq})$	0.81
$\text{NO}_3^-$	/ $\text{NO}_2^-$	0.82
$\text{O}_2$	/ $\text{H}_2\text{O}$	1.27

deux sens. Elle permet à la cellule de répartir l'énergie dans les deux réservoirs au mieux de leurs possibilités.

Pour que l'énergie du catabolisme puisse être récupérée par la cellule, la réaction de catabolisme est couplée à une réaction biologique endergonique. Dans les métabolismes fermentaires, la réaction de catabolisme est directement couplée à la synthèse d'ATP. Dans les métabolismes respiratoires, le transfert d'électrons du couple donneur d'électrons au couple accepteur s'effectue par des protéines membranaires le long de la chaîne de transporteurs d'électrons. Certains de ces transporteurs provoquent la translocation de protons contre leur gradient électrochimique. L'énergie du catabolisme est alors stockée sous la forme d'un potentiel électrochimique de membrane.

De nombreux couples de donneurs d'électrons et d'accepteurs d'électrons sont utilisés dans le monde du vivant. La nature du donneur d'électrons permet de classer les formes de vies entre les chemolithotrophes qui oxydent les molécules inorganiques et les chemoorganotrophes qui oxydent la matière organique. Les principaux exemples de métabolismes sont résumés ci-dessous. Cette liste n'est pas exhaustive et pour une description complète de chacun de ces métabolismes, voir par exemple les références [143, 32, 99].

### 2.2.2 Le catabolisme des chemolithotrophes

Les chemolithotrophes utilisent des molécules inorganiques, telles que  $\text{H}_2$ ,  $\text{H}_2\text{S}$ ,  $\text{Fe}^{2+}$  ou  $\text{NH}_3$  comme donneurs d'électrons dans leur catabolisme. Ces bactéries ont souvent

un impact sur les dissolutions minérales et jouent un rôle important dans les cycles géochimiques au sein de la biosphère.

### *L'oxydation de l'hydrogène*

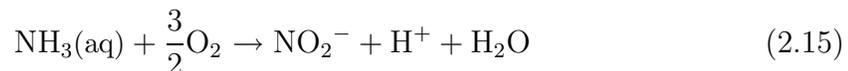
Le dihydrogène est produit par une grande variété de métabolismes fermentaires en condition anaérobie. L'interface entre les environnements aérobie et anaérobies, est alors caractérisée par le mélange d'eaux contenant de l'oxygène et du dihydrogène. La réaction :



est exergonique et peut être utilisée par les cellules. Des exemples de bactéries oxydant l'hydrogène se trouvent parmi les membres du genre *Hydrogenomonas*. Ces bactéries sont également capables de croître à partir de quelques acides organiques et alcools. Elles sont très répandues, à la fois dans les sols, les eaux de surface, et les sédiments profonds.

### *L'oxydation de l'ammoniaque*

La nitrification, qui correspond à la transformation de l'ammoniaque en nitrate, est réalisée par les bactéries nitrifiantes. Certaines d'entre elles, telles que les membres du genre *Nitrosomonas*, oxydent l'ammoniaque en nitrite :



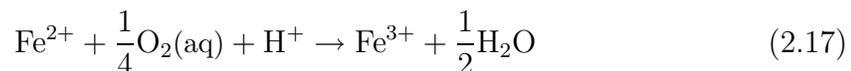
Tandis que d'autres, telles que les membres du genre *Nitrobacter*, oxydent le nitrite en nitrate :



Ce sont des bactéries aérobies communes dans les sols.

### *L'oxydation du fer*

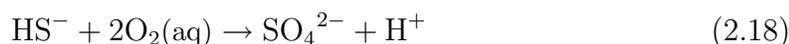
L'oxydation aérobie du fer :



est réalisée par des espèces telles que *Gallionella ferruginea*, *Leptothrix ochracea*. Cette réaction fournit assez peu d'énergie obligeant les bactéries à oxyder de grandes quantités de fer. L'augmentation de la concentration en Fe(III) provoque la précipitation d'oxyde de fer. Quelques espèces du genre *Thiobacillus*, qui est principalement connu pour l'oxydation des sulfures, sont également capables d'oxyder le fer. C'est le cas par exemple de *Thiobacillus ferrooxidans*. Ce métabolisme est actif dans les stériles miniers où il provoque la dissolution de la pyrite et l'acidification du milieu (chapitre 6).

### *L'oxydation du soufre*

Les bactéries du genre *Thiobacillus* sont les principales représentantes des bactéries oxydant les sulfures en sulfates :



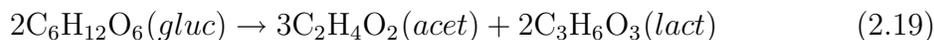
Selon les espèces bactériennes, le donneur d'électrons peut également être le soufre en suspension colloïdale dans l'eau, les thiosulfates, et bien d'autres composés minéraux du soufre. En général l'accepteur d'électrons final est l'oxygène, mais en anaérobie, *T. denitrificans* peut utiliser le nitrate. Dans ce cas le nitrate n'est pas utilisé comme source d'azote, mais seulement comme accepteur d'électrons. Toutes les espèces de *Thiobacillus* sont autotrophes, c'est-à-dire qu'elles utilisent le dioxyde de carbone comme source de carbone.

### **2.2.3 La dégradation de la matière organique**

De nombreux catabolismes utilisent la matière organique comme donneur d'électrons. Les respirations couplent l'oxydation de la matière organique et la réduction d'un accepteur d'électrons disponible dans le milieu (dioxygène, nitrate, ...). Dans ce cas, l'oxydation de la matière organique est souvent complète, c'est-à-dire jusqu'au stade dioxyde de carbone. L'énergie de ces réactions est récupérée par une chaîne de transporteur d'électrons. Lorsqu'il n'y a pas d'accepteur d'électrons biodisponible dans le milieu, les fermentations permettent d'oxyder la matière organique de manière incomplète. Ces catabolismes sont directement couplés à la synthèse d'ATP sans utilisation de chaîne de transporteur d'électrons. L'efficacité thermodynamique du catabolisme en est diminuée.

### ***L'acidogenèse***

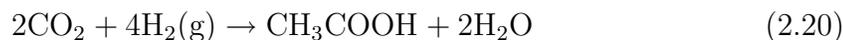
L'acidogenèse est la dégradation incomplète de matière organique qui aboutit à la formation d'acides organiques et d'alcools. Les voies fermentaires utilisées couplent de façon directe l'oxydation de matière organique et la synthèse d'ATP. Parmi ces métabolismes, ceux produisant de l'acétate (*acet*) et du lactate (*lact*) sont particulièrement importants en géochimie car ces produits sont largement utilisés par les respirations bactériennes. A titre d'exemple, la fermentation acéto-lactique du glucose produit ces deux composés :



De nombreuses autres molécules organiques, telles que l'acide propionique ( $\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_2$ ) ou l'éthanol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ), peuvent être produites ou utilisées par les fermentations.

### ***L'acétogenèse***

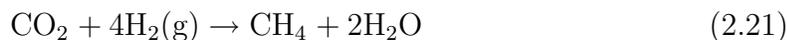
Parmi les fermentations précédentes, de nombreux métabolismes produisent de l'acétate, et peuvent être englobés dans le terme acétogenèse. Mais la formation d'acétate peut également se réaliser à partir de dioxyde de carbone et d'hydrogène :



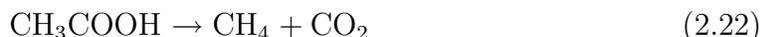
Ce métabolisme a particulièrement été étudié chez *Clostridium thermoaceticum*.

### ***La méthanogenèse***

La production biologique de méthane peut être réalisée soit à partir de l'oxydation de dihydrogène :



soit à partir de la dégradation de la matière organique. La méthanogenèse acétoclastique qui se réalise à partir d'acide acétique :



est responsable des deux tiers de tout le méthane produit dans la nature. Elle peut également dans une moindre mesure se réaliser à partir d'autres composés carbonés,

tels que l'acide formique, le méthanol ou la méthylamine. Ces métabolismes sont actifs en anaérobiose et souvent en association avec d'autres métabolismes fournissant l'hydrogène, le gaz carbonique ou l'acide acétique.

### ***Les méthanotrophes***

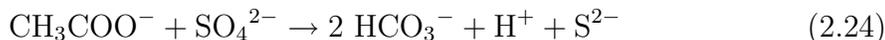
En présence d'oxygène, certains genres bactériens, tels que *Methylococcus*, *Methylobacterium* et *Methylosinus*, oxydent le méthane en dioxyde de carbone :



Ces bactéries sont très répandues dans les rizières et les milieux salins.

### ***Les sulfato-réducteurs***

La réduction des sulfates est un processus important des environnements profonds. C'est un des premiers métabolismes identifiés dans les milieux profonds tels que les aquifères et les réservoirs pétroliers. Ce métabolisme dépend en grande partie des bactéries fermentaires du fait qu'elles n'utilisent que les petites molécules organiques telles que le formate, l'acétate et le lactate :



### ***Les ferro-réducteurs***

D'un point de vue géochimique, la réduction du Fe(III) est l'un des processus redox biologiques les plus importants dans les aquifères. Les hydroxydes de fer sont présents dans de nombreux milieux aqueux et leur réduction, couplée à l'oxydation de matière organique, est la principale cause de la forte concentration en fer des aquifères. Ce métabolisme est connu chez *Geobacter metallireducens* qui couple la réduction du fer à l'oxydation de l'acétate en dioxyde de carbone :



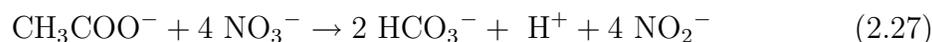
Différentes observations semblent montrer que les métabolismes ferro-réducteurs étaient particulièrement actifs sur la terre primitive [152].

**La réduction des nitrates**

La dénitrification est la réduction biologique du nitrate en diazote. De nombreuses molécules organiques peuvent être oxydées par ce métabolisme. Nous prendrons l'exemple de l'oxydation de l'acétate :



Cette réaction est réalisée par différents genres bactériens, dont certains membres des genres *Alcaligenes*, *Bacillus*, *Pseudomonas* et *Thiobacillus*. Certaines espèces réduisent le nitrate jusqu'au stade nitrite :



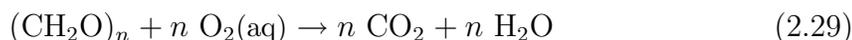
ou jusqu'au stade ammoniacque :



Ces métabolismes sont particulièrement importants en agriculture, car ils éliminent le nitrate des sols, un nutriment important pour les plantes. Ils ont aussi leur importance dans la dégradation de la matière organique des sédiments marins.

**L'oxygène comme accepteurs d'électrons**

Le mécanisme de dégradation de la matière organique le plus efficace énergétiquement est le métabolisme aérobie, dans lequel le dioxygène est l'accepteur d'électrons :



Cette étude ne se veut pas une liste exhaustive de tous les métabolismes existants, mais un ensemble d'exemples montrant la grande diversité des métabolismes bactériens et leur rôle dans la géochimie des systèmes naturels. Ces réactions d'oxydo-réduction sont des réactions globales caractérisées par des chemins réactionnels complexes. Leurs cinétiques dépendent de nombreux paramètres selon des lois cinétiques qui représentent l'ensemble des réactions élémentaires caractérisant la réaction globale. Les lois cinétiques décrivent les dépendances par rapport aux concentrations des réactifs, à l'énergie de la réaction globale, à la température, ...

## 2.2.4 Influence de la concentration des réactifs

### *Les cinétiques chimiques*

Prenons l'exemple d'une réaction élémentaire caractérisée par des coefficients stoechiométriques  $\alpha_i$  et  $\beta_i$  pour les réactifs et les produits respectivement :



La cinétique chimique  $r_1$  de l'acte élémentaire constitué par la réaction se déroulant dans le sens 1, s'écrit par un modèle probabiliste. Celui-ci prévoit que la cinétique d'une réaction chimique élémentaire dépend essentiellement de la probabilité de rencontre des réactifs. La loi de van't Hoff formalise mathématiquement ces concepts avec l'équation :

$$r_1 = k_1 \prod_{i=1}^N a_i^{\alpha_i} \quad (2.31)$$

avec  $a_i$  l'activité de l'espèce  $i$ ,  $k_1$  la constante cinétique de la réaction se déroulant dans le sens 1, et  $\alpha_i$  l'ordre partiel de la réaction pour le constituant  $i$ . L'ordre partiel est en général égal au coefficient stoechiométrique. On définit la molécularité  $m$  ou l'ordre global de la réaction comme la somme des ordres partiels :

$$m = \sum_{i=1}^N \alpha_i \quad (2.32)$$

Une réaction élémentaire est toujours réversible. Sa cinétique est la somme des cinétiques dans un sens et dans l'autre, chaque terme étant défini par le modèle probabiliste. Avec  $k_2$  la constante cinétique de la réaction se déroulant dans le sens 2, la cinétique  $r$  de la réaction prend la forme suivante :

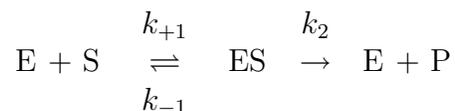
$$r = k_1 \prod_{i=1}^N a_i^{\alpha_i} - k_2 \prod_{i=1}^N a_i^{\beta_i} \quad (2.33)$$

Cette formulation est très largement utilisée et elle est cohérente avec la thermodynamique chimique. Son domaine d'application est restreint aux réactions élémentaires et ne peut donc pas s'appliquer aux réactions métaboliques globales.

### *Les cinétiques enzymatiques*

Le modèle précédent n'est pas adapté à la description des réactions élémentaires microbiologiques qui sont dans la grande majorité des cas des réactions enzymatiques, c'est-à-dire des réactions catalysées par des enzymes. Celles-ci sont souvent de nature protéique et en faibles concentrations. Elles sont régénérées en fin de réaction et apparaissent donc à la fois dans les réactifs et les produits.

La cinétique des réactions enzymatiques a été étudiée par Michaelis et Menten [109]. Ils décrivent la réaction enzymatique comme une suite de deux réactions élémentaires : une réaction réversible entre l'enzyme (E) et le substrat (S) formant un complexe (ES) ; et une réaction irréversible de transformation du substrat en produit.



Deux hypothèses sont faites : (1)  $k_{-1} \gg k_2$  de sorte que la première réaction peut être assimilée à un équilibre ; (2) le complexe enzyme-substrat est dans un état quasi-stationnaire de sorte que sa concentration est constante  $\frac{d[\text{ES}]}{dt} = 0$ .

La cinétique  $r$  de la réaction globale est égale à la cinétique de la deuxième réaction. Soit, en utilisant la formulation classique des cinétiques chimiques :

$$r = \frac{d[\text{P}]}{dt} = k_2[\text{ES}] \quad (2.34)$$

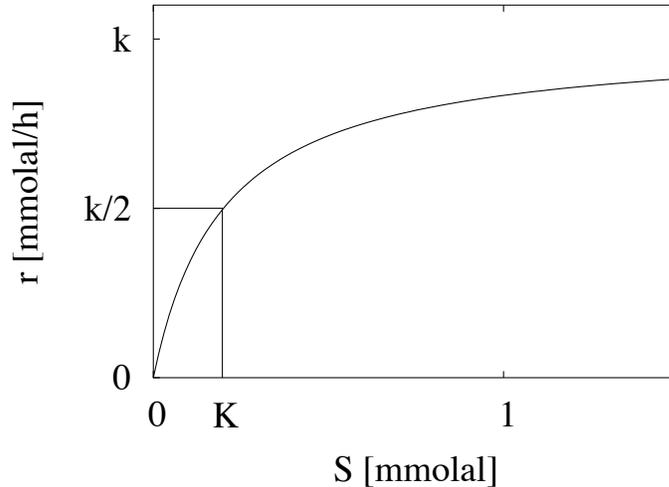
L'approximation de l'état quasi-stationnaire (encore appelée principe de Bodenstein) permet d'écrire :

$$\frac{d[\text{ES}]}{dt} = -k_2[\text{ES}] + k_{+1}[\text{S}][\text{E}] - k_{-1}[\text{ES}] = 0 \quad (2.35)$$

La concentration totale en enzyme  $[\text{E}]_T$  est définie par :

$$[\text{E}]_T = [\text{E}] + [\text{ES}] \quad (2.36)$$

Les trois équations précédentes permettent d'écrire :



**Fig. 2.2** – Représentation de l'équation de Monod (équation 2.37) montrant la relation entre la vitesse  $r$  et la concentration en substrat  $S$  pour une constante de demi-saturation  $K = 0.2$  mmolal).

$$r = k \frac{[S]}{K + [S]} \quad (2.37)$$

avec  $K = \frac{k_2 + k_{-1}}{k_{+1}}$  la constante d'affinité entre le substrat et l'enzyme, homogène à une concentration, et  $k = k_2[E]_T$  la constante cinétique, homogène à une vitesse de réaction. La loi cinétique obtenue est semblable à la formulation empirique publiée par Monod en 1942 après ses études sur la croissance des populations bactériennes [111]. La constante  $K$  est également appelée constante de demi-saturation car :

$$\text{si } S = K \quad r = \frac{k}{2} \quad (2.38)$$

Le profil cinétique d'une telle loi (figure 2.2) permet de comprendre la relation particulière observée entre la biodisponibilité d'un réactif  $S$  et la cinétique biologique  $r$ . Lorsque la concentration du réactif  $S$  est petite devant  $K$ , le réactif est en défaut et la cinétique  $r$  est proportionnelle à cette concentration.  $S$  est alors le facteur limitant de l'activité biologique. Ainsi dans les cas pour lesquels un réactif est toujours limitant, la cinétique peut être considérée comme d'ordre un pour sa concentration :

$$\text{si } S \ll K \quad r \simeq \frac{k}{K} S \quad (2.39)$$

Au contraire, lorsque la concentration est grande devant  $K$  (réactif en excès), la cinétique  $r$  ne dépend plus de la concentration en  $S$  mais est fixée par d'autres facteurs limitants. Ainsi, quand un réactif est toujours en excès, la cinétique peut être considérée indépendante de la concentration :

$$\text{si } S \gg K \quad r \simeq k \quad (2.40)$$

Ainsi contrairement aux cinétiques chimiques, les cinétiques enzymatiques n'admettent pas d'ordre au sens mathématique mais un ordre apparent compris entre 0 et 1.

L'étude de Michaelis et de Menten a permis de définir de nombreux autres types de lois, à partir de mécanismes réactionnels plus complexes. Citons par exemple les différentes inhibitions possibles d'une activité enzymatique. Une inhibition compétitive est obtenue dans le cas où l'inhibiteur  $I$  se fixe au même site que le réactif  $S$ . Dans ce cas la vitesse  $r$  est de la forme :

$$r = k \frac{S}{S + K \frac{K_I}{K_I + I}} \quad (2.41)$$

Une inhibition non-compétitive est obtenue dans le cas où l'inhibiteur et le substrat ont des sites de fixation différents sur l'enzyme. Dans ce cas la vitesse  $r$  est de la forme :

$$r = k \frac{S}{S + K} \frac{I}{I + K_I} \quad (2.42)$$

Les cinétiques michaéliennes permettent de définir et d'expliquer des lois cinétiques complexes. Leurs utilisations s'appliquent particulièrement aux systèmes enzymatiques. Cependant, la cinétique d'une réaction métabolique, qui nous intéresse dans cette étude, ne peut pas se limiter à la cinétique d'un système enzymatique. D'abord parce que certaines enzymes, telles que les enzymes allostériques, possèdent des cinétiques non-michaéliennes. Ensuite parce que les mécanismes cellulaires font intervenir beaucoup d'autres réactions non enzymatiques, telles que la diffusion au travers des membranes. Néanmoins les lois cinétiques michaéliennes sont une aide précieuse quant il s'agit de modéliser une activité bactérienne au niveau géochimique.

**Les lois du type 'Monod'**

Les lois de Monod ont beaucoup été utilisées pour la modélisation de l'activité microbiologique. Dans de nombreuses modélisations, la réaction biologique est contrôlée par de multiples lois de Monod et lois d'inhibition non-compétitives, une pour chaque molécule impactant la réaction [16, 106, 147]. Par exemple, un catabolisme anaérobie strict entre un accepteur d'électrons  $AE$  et un donneur d'électrons  $DE$  sera modélisé par la cinétique :

$$r = k \frac{[AE]}{[AE] + K_{AE}} \frac{[DE]}{[DE] + K_{DE}} \frac{K_I}{[O_2(aq)] + K_I} \quad (2.43)$$

Une telle formulation repose sur l'hypothèse que les effets des différents paramètres environnementaux sont indépendants. Il existe d'autres lois cinétiques microbiologiques qui sont plus ou moins proches de la loi de Monod. Certains auteurs y font intervenir les concentrations en accepteurs d'électrons sous sa forme réduite ( $[AE]$ ) et sous sa forme oxydée ( $[AE^+]$ ) [71] :

$$r = k \frac{[AE]/[AE^+]}{[AE]/[AE^+] + K} \quad (2.44)$$

D'autres auteurs insèrent dans la loi de Monod un paramètre ( $n$ ) à ajuster avec les données expérimentales. Ce degré de liberté supplémentaire permet d'améliorer la corrélation entre la simulation et l'expérimentation. Citons par exemple l'équation proposée par Hill [39] :

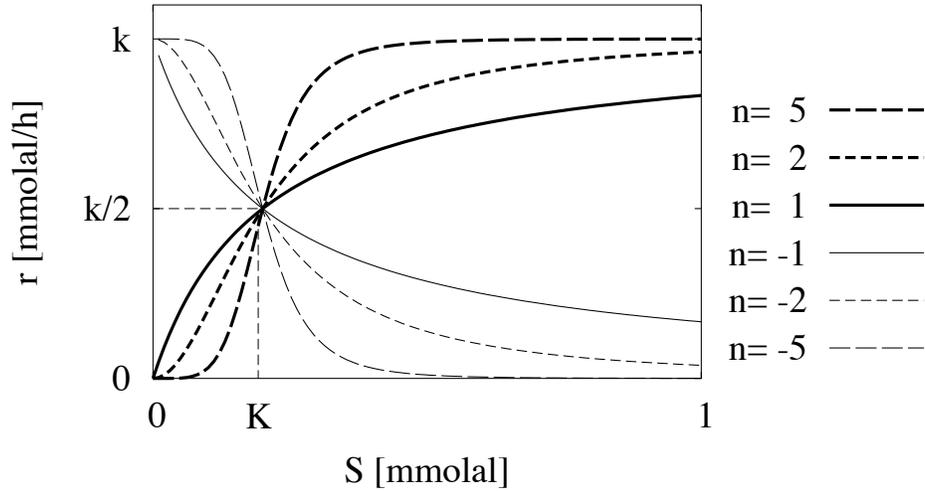
$$r = k \frac{S^n}{S^n + K^n} \quad (2.45)$$

où  $n$  est la constante de Hill. Cette loi, représentée sur la figure 2.3, est à l'origine destinée à modéliser les cinétiques des enzymes coopératives [39]. Il est intéressant de noter qu'avec  $n = 1$ , on obtient une loi de Monod (équation 2.37) et qu'avec  $n = -1$  on obtient une loi d'inhibition non compétitive (terme d'inhibition de l'équation 2.42).

De nombreuses autres lois cinétiques biologiques ont été proposées pour modéliser l'influence d'un substrat ou d'un inhibiteur [113]. Par exemple, la fonction exponentielle peut être utilisée pour modéliser une loi de saturation :

$$r = k \left( 1 - \exp \left( -\frac{S}{K} \right) \right) \quad (2.46)$$

ou une loi d'inhibition :



**Fig. 2.3** – Représentation de l'équation de Hill (équation 2.45) montrant la relation entre la vitesse  $r$  et la concentration en substrat  $S$  pour une constante de demi-saturation  $K = 0.2$  mmolal et pour les valeurs de la constante de Hill  $n$  précisées.

$$r = k \exp\left(\frac{I}{K}\right) \quad (2.47)$$

Ces deux lois suivent respectivement la même évolution que la loi de Monod et la loi d'inhibition non-compétitive. La comparaison entre les équations 2.46 et 2.37 est présentée sur la figure 2.4.

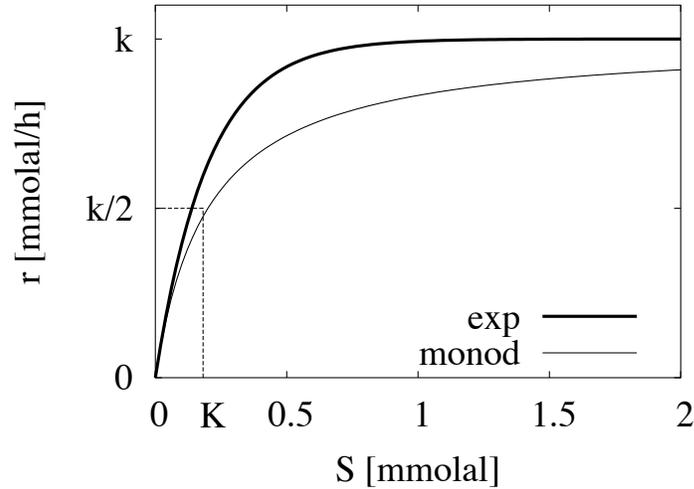
Les lois d'inhibition peuvent être modélisées par l'équation [102] :

$$\begin{cases} r = k\left(1 - \frac{I}{I_{max}}\right) & \text{si } I < I_{max} \\ r = 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (2.48)$$

ou plus généralement, par l'équation [68] :

$$\begin{cases} r = k \frac{\alpha(I_{max} - I)}{I_{max}(\alpha - I)} & \text{si } I < I_{max} \\ r = 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (2.49)$$

avec  $I_{max}$  la concentration en inhibiteur au dessus de laquelle la réaction ne se déroule plus, et  $\alpha > I_{max}$  un paramètre de calage expérimental. Cette deuxième équation est



**Fig. 2.4** – Comparaison des lois de saturation de vitesse vis-à-vis du substrat modélisées par la loi de Monod (équation 2.37) ou par une loi exponentielle (équation 2.46). Pour ces deux lois, la constante  $K$  est fixée à 0.2 mmolal.

plus générale, car lorsque  $\alpha$  tend vers l'infini, elle est équivalente à l'équation 2.48. Ces deux fonctions ne suivent pas la même évolution qu'une loi d'inhibition de Michaelis-Menten car elles définissent un domaine de concentration en inhibiteur dans lequel la cinétique est nulle (figure 2.5).

### 2.2.5 Influence de l'énergie de la réaction

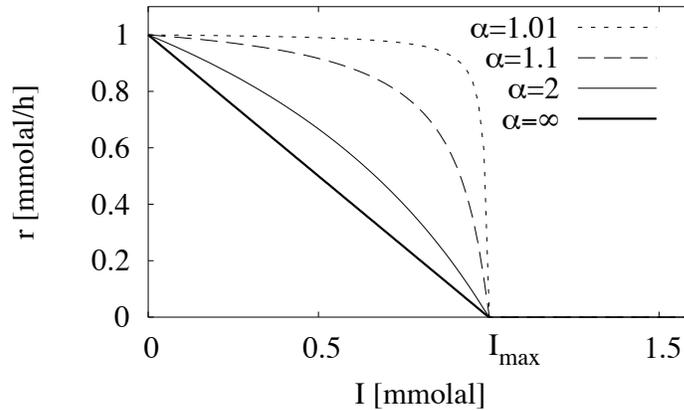
#### *Le terme énergie d'une cinétique*

La loi de Gibbs définit l'enthalpie libre d'une réaction :

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \left( \prod_i^N a_i^{\nu_i} \right) \quad (2.50)$$

avec  $\Delta G^0$  l'enthalpie libre standard de la réaction,  $R$  la constante des gaz parfaits, et  $T$  la température en Kelvin. L'activité  $a_i$  d'une espèce  $i$  est définie par le produit de sa concentration  $C_i$  et de son coefficient d'activité  $\gamma_i$  :

$$a_i = C_i \gamma_i \quad (2.51)$$



**Fig. 2.5** – Comparaison des lois d’inhibition modélisées par l’équation 2.49 avec une constante  $I_{max} = 1$  mmolal et des valeurs de  $\alpha$  précisées dans le graphique. La valeur  $\alpha = \infty$  correspond à l’équation 2.48.

L’équilibre thermodynamique est atteint lorsque l’enthalpie libre de la réaction s’annule. On en déduit alors la loi d’action de masse qui prévaut à l’équilibre :

$$K = \prod_{i=1}^N (C_i \gamma_i)^{\nu_i} \quad \text{avec} \quad K = \exp\left(-\frac{\Delta G^0}{RT}\right) \quad (2.52)$$

La constante thermodynamique  $K$  est définie pour chaque réaction. Pour les réactions chimiques la plupart de ces constantes sont connues et consignées dans les bases de données thermodynamiques.

Les réactions chimiques ou microbiologiques sont définies par une cinétique  $r$  (homogène à un flux) et par une énergie libre de réaction  $\Delta G$  (homogène à une affinité). La thermodynamique prévoit que chaque flux est fonction de son affinité conjuguée et s’annule en même temps que celle-ci [148]. Par exemple, la diffusion (homogène à un flux de matière) dépend du gradient de concentration (homogène à une affinité) ; un courant électrique (homogène à un flux) est fonction d’une différence de potentiel (homogène à une affinité). Ainsi, dans un état d’équilibre thermodynamique, les cinétiques globales des réactions sont nulles.

Prenons l’exemple d’une réaction chimique élémentaire, dont la cinétique globale est définie par l’équation 2.33. A l’équilibre, la cinétique globale est nulle ( $r = 0$ ), c’est-à-dire que les cinétiques dans un sens et dans l’autre ont des valeurs opposées. L’équation 2.33 avec  $r = 0$  peut être comparée avec la loi d’action de masse. Après

quelques réarrangements, on obtient deux équations : l'une reliant la constante thermodynamique aux constantes de vitesses :

$$K = \frac{k_1}{k_2} \quad (2.53)$$

et l'autre reliant les ordres partiels aux coefficients stoechiométriques :

$$\nu_i = \beta_i - \alpha_i \quad (2.54)$$

Plusieurs équations ont été proposées pour relier la cinétique  $r$  d'une réaction à son énergie libre  $\Delta G$ . La plus simple est une relation linéaire [27] :

$$r = -k \frac{\Delta G}{RT} \quad \text{si } \Delta G < 0 \quad (2.55)$$

Cette relation est peu utilisée et on lui préfère en général l'équation proposée par Hill [67] :

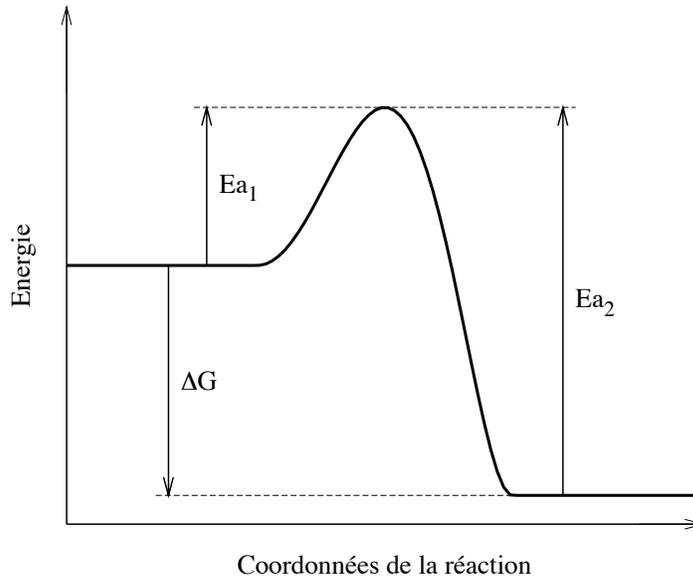
$$r = k \left( 1 - \exp \left( \frac{\Delta G}{RT} \right) \right) \quad \text{si } \Delta G < 0 \quad (2.56)$$

On remarque que l'équation 2.55 est une approximation de l'équation 2.56 lorsque l'énergie de réaction  $\Delta G$  est proche de zéro (c'est-à-dire lorsque la réaction est proche de l'équilibre). En pratique l'équation linéaire sera utilisée pour des réactions restant constamment proche de l'équilibre. En revanche, loin de l'équilibre, l'équation de Hill sera mieux adaptée.

Pour une réaction élémentaire réversible, l'équation de Hill se déduit de la théorie de l'état de transition, dont les paramètres sont résumés sur la figure 2.6. La loi d'Arrhenius permet d'exprimer les cinétiques  $r_1$  et  $r_2$  de la réaction élémentaire dans le sens direct et inverse :

$$\begin{cases} r_1 = c \exp \left( \frac{Ea_1}{RT} \right) \\ r_2 = c \exp \left( \frac{Ea_2}{RT} \right) \end{cases} \quad (2.57)$$

avec  $c$  une constante pré-exponentielle et  $Ea_i$  l'énergie d'activation de la réaction dans le sens  $i$ . Finalement la vitesse  $r$  de la réaction élémentaire réversible s'écrit comme la différence des cinétiques dans chacun des sens ( $r = r_1 - r_2$ ). En remarquant que l'énergie de la réaction est égale à  $\Delta G = Ea_1 - Ea_2$ , la loi cinétique devient après réarrangement :



**Fig. 2.6** – Évolution de l'énergie potentielle du système en fonction des coordonnées de la réaction.

$$\begin{cases} r = k_1 \left( 1 - \exp \left( \frac{\Delta G}{RT} \right) \right) & \text{si } \Delta G < 0 \\ r = -k_2 \left( 1 - \exp \left( \frac{-\Delta G}{RT} \right) \right) & \text{si } \Delta G > 0 \end{cases} \quad (2.58)$$

où  $k_1$  et  $k_2$  sont les capacités cinétiques maximales qui peuvent dépendre d'autres paramètres comme les activités des réactifs [71, 72].

L'équation précédente peut être extrapolée aux mécanismes réactionnels en état quasi stationnaire. La réaction globale représentant un réseau complexe de réactions élémentaires, est modélisée par une cinétique  $r$  qui dépend de l'énergie libre  $\Delta G$  de la réaction par la loi suivante [62] :

$$r = k \left( 1 - \exp \left( \frac{\Delta G}{\chi RT} \right) \right) \quad \text{si } \Delta G < 0 \quad (2.59)$$

Le nombre stoechiométrique moyen  $\chi$  indique la répartition de la force thermodynamique dans chacune des réactions élémentaires du mécanisme considéré. Il permet de tenir compte des éventuels chemins parallèles. Ainsi l'énergie libre  $\Delta G$  de la réaction

globale est reliée à la somme des énergies libres des réactions élémentaires  $\Delta G_i$  par :

$$\chi = \frac{\Delta G}{\sum_i \Delta G_i} \quad (2.60)$$

De la même façon, les cinétiques des réactions biologiques suivent cette loi générale et s'annulent lorsque l'équilibre thermodynamique est atteint. Les lois cinétiques qui n'ont pas cette propriété doivent être appliquées dans des domaines éloignés de l'équilibre thermodynamique.

### *L'utilisation en microbiologie*

Le développement de la bioénergétique a permis de mieux comprendre les processus réactionnels des métabolismes. L'évolution des vitesses de réactions de métabolisme a été régulièrement comparée à l'évolution des énergies libres de ces réactions [133, 134]. L'utilisation d'un terme énergétique dans les cinétiques microbiologiques est récente [95, 71, 72, 40, 73, 41].

Les mécanismes réactionnels biologiques sont complexes et il est souvent difficile d'établir avec précision l'énergie libre  $\Delta G$  de la réaction globale. La réaction d'oxydo-réduction définissant le catabolisme microbiologique a une énergie libre de réaction  $\Delta G_{redox}$  connue. Mais cette réaction d'oxydo-réduction est couplée à des réactions endergoniques (avec une énergie libre de réaction  $\Delta G_{min} > 0$ ) telles que la synthèse d'ATP ou à la translocation de protons contre son gradient électrochimique. La force thermodynamique rendant possible la réaction du catabolisme est donc la somme des enthalpies libres de ces réactions :

$$r = k \left( 1 - \exp \left( \frac{\Delta G_{redox} + \Delta G_{min}}{\chi RT} \right) \right) \quad \text{si } \Delta G_{redox} < -\Delta G_{min} \quad (2.61)$$

La valeur de  $\Delta G_{min}$  est déduite du mécanisme cellulaire du métabolisme lorsqu'il est suffisamment connu. Elle peut par exemple être définie par l'énergie libre de synthèse d'ATP :

$$\Delta G_{min} = n \Delta G_{ATP} / \eta \quad (2.62)$$

ou par la force protonmotrice au travers de la membrane :

$$\Delta G_{min} = m F \Delta p / \eta \quad (2.63)$$

Dans ces équations,  $n$  est le nombre de mole théorique d'ATP formée par mole de réaction effectuée,  $m$  est le nombre de mole théorique de protons échangés par mole de réaction effectuée. Ces deux paramètres dépendent du mécanisme réactionnel supposé du catabolisme.  $\eta$  est le rendement énergétique de la cellule.  $F$  est la constante de Faraday. La description de  $\Delta G_{ATP}$  et  $\Delta p$  a été effectuée précédemment, respectivement par les équations 2.11 et 2.13. En considérant que les paramètres physiologiques de la cellule varient peu, le  $\Delta G_{min}$  est considéré fixe et représente l'énergie minimale nécessaire pour que la réaction puisse avoir lieu.

### *Les autres utilisations*

Cette loi cinétique a une formulation générale qui se retrouve dans les cinétiques de nombreuses réactions classiques telles que les réactions de dissolution-précipitation ou les réactions photosynthétiques.

La précipitation ou la dissolution d'un minéral dépend de son état de saturation vis-à-vis de la phase aqueuse. L'état de saturation d'un minéral est défini par le rapport de son produit d'activité ionique ( $IAP$ ) et de sa constante de solubilité ( $K_s$ ) :

$$\Omega = \frac{IAP}{K_s} \quad (2.64)$$

en appliquant la formule de Gibbs (équation 2.50) à cette équation, on obtient :

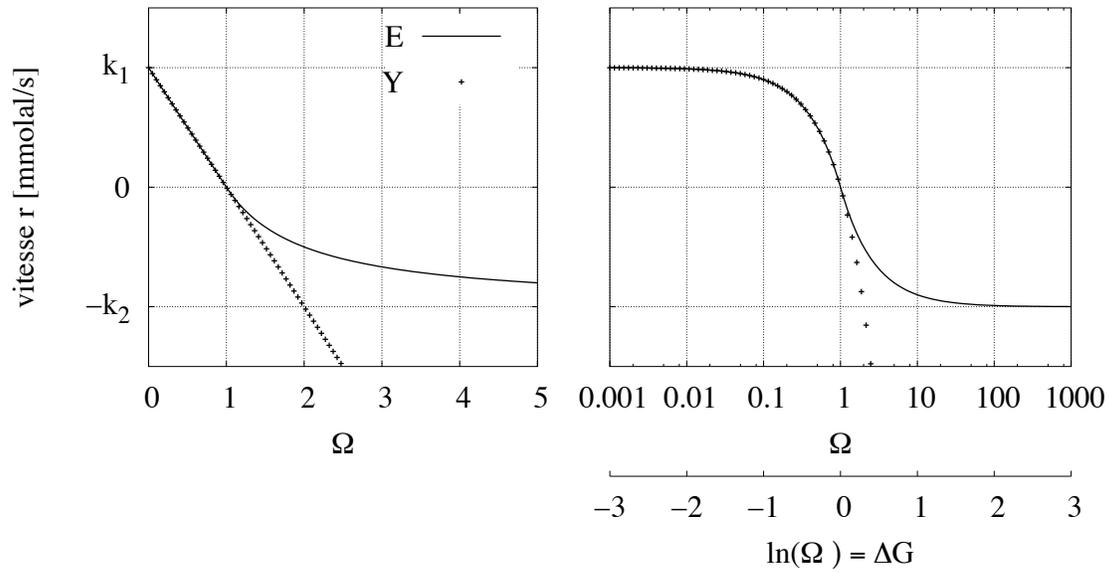
$$\Omega = \exp\left(\frac{\Delta G}{RT}\right) \quad (2.65)$$

où  $\Delta G$  est l'énergie libre de la réaction de dissolution du minéral. Ainsi, si  $\Omega > 1$  ou  $\Delta G > 0$ , la phase aqueuse est sur-saturée et le minéral précipite. Au contraire, si  $\Omega < 1$  ou  $\Delta G < 0$ , la phase aqueuse est sous-saturée et le minéral se dissout. La cinétique  $r$  de la réaction de dissolution est définie par les équations suivantes [89] :

$$\begin{cases} r = -k_p S(\Omega - 1) & \text{si } \Omega > 1 \\ r = k_d S(1 - \Omega) & \text{si } \Omega < 1 \end{cases} \quad (2.66)$$

avec  $k_p$  et  $k_d$  les constantes cinétiques, et  $S$  la surface de l'interface eau-minéral. Avec cette définition, on remarque que la cinétique de dissolution (pour  $\Omega < 1$ ) est similaire à l'équation 2.58. Cette similitude n'est pas vraie pour la cinétique de précipitation. La comparaison entre ces deux équations s'observe sur la figure 2.7 où ces deux lois cinétiques sont représentées.

La photosynthèse est une réaction cinétique qui dépend de l'énergie lumineuse du milieu. La cinétique d'une telle réaction est modélisée par l'équation [123, 88, 49] :



**Fig. 2.7** – Représentation de la loi cinétique  $E$  utilisant un terme thermodynamique (équations 2.58) et de la loi cinétique  $Y$  de précipitation-dissolution (équations 2.66). La comparaison est basée sur l'égalité des constantes cinétiques telles que  $k_1 = k_d S$  et  $k_2 = k_p S$ .

$$r = k \left( 1 - \exp \left( -\frac{E}{E_m} \right) \right) \quad (2.67)$$

où  $k$  est un paramètre cinétique tenant compte des autres variables du système telle que la concentration en phytoplancton,  $E$  est l'éclairement (homogène à une énergie) du rayonnement photosynthétiquement actif et  $E_m$  est un paramètre de saturation de la photosynthèse. Cette loi cinétique est comparable à l'équation 2.56.

### 2.2.6 Influence des conditions du milieu

Les développements théoriques précédents amènent à définir des constantes qui dépendent de la température. Les réactions chimiques et biologiques dépendent de la température par les différentes constantes qui interviennent dans leur cinétique.

Par exemple, les constantes cinétiques  $k$  dépendent de la température par la loi d'Arrhénius. Les constantes thermodynamiques dépendent de la température par la loi de van't Hoff. Ces lois peuvent être utilisées pour adapter les constantes en question à la température.

De même les constantes de demi-saturation des lois de Monod (ou de Michaelis-Menten) ont toujours été considérées dans les simulations comme indépendantes de la température. Pourtant des considérations thermodynamiques et des données expérimentales prouvent le contraire. Mais il n'y a pas à l'heure actuelle de données suffisantes pour décrire de tels changements [149, 150].

Les réactions enzymatiques ne sont actives que dans des conditions particulières décrites par des domaines de température, de pH, de teneur en eau, ... cette observation s'explique par la nature protéique des enzymes, qui peuvent être dénaturées de façon réversible ou irréversible par une modification d'un de ces paramètres. De la même façon, à l'échelle de la cellule, une espèce bactérienne est active dans un certain domaine de température, de pH, de teneur en eau, de salinité, ... .

Pour simuler ces domaines d'activité, de nombreuses lois cinétiques ont été proposées. Par exemple une loi définissant un domaine d'activité en température [105] :

$$r = k \left( \frac{T - T_{min}}{T_{max} - T_{min}} \right)^2 \quad (2.68)$$

où  $T_{min}$  et  $T_{max}$  sont les températures pour lesquelles la vitesse est nulle ( $r = 0$ ). En définissant de la même manière  $pH_{max}$  et  $pH_{min}$  les  $pH$  pour lesquels la vitesse est nulle ( $r = 0$ ), on peut utiliser [104] :

$$r = k \frac{4(pH - pH_{min})(pH_{max} - pH)}{(pH_{max} - pH_{min})^2} \quad (2.69)$$

D'autres lois utilisent des paramètres  $pK_H$  et  $pK_L$  définis comme les  $pH$  pour lesquels la vitesse est diminuée de moitié ( $r \simeq \frac{k}{2}$ ), comme dans l'exemple suivant [77] :

$$r = k \frac{1 + 2.10^{\frac{pK_L - pK_H}{2}}}{1 + 10^{pH - pK_H} + 10^{pK_L - pH}} \quad (2.70)$$

Dans un domaine restreint de température, une loi linéaire est parfois utilisée [149] :

$$F(T) = Q_{10} \frac{T - T_{ref}}{10} \quad (2.71)$$

avec  $Q_{10}$  le taux d'accroissement de la réaction après une augmentation de  $10^\circ\text{C}$ , et  $T_{ref}$  une température de référence.

Un domaine d'activité cinétique peut également être modélisé par l'utilisation du produit d'un terme de Monod et d'un terme d'inhibition [121] :

$$r = k \frac{\theta}{a_1 + \theta} \frac{a_2}{a_2 + \theta} a_3 a_4^{T/10} \quad (2.72)$$

où  $a_1$ - $a_4$  sont des paramètres de calage,  $\theta$  est le pourcentage d'humidité du milieu, et  $T$  la température.

Ces lois sont empiriques, et leur application est souvent limitée à la souche bactérienne et à l'expérience pour laquelle les paramètres cinétiques ont été calés.

### 2.2.7 Interdépendance des cinétiques

Il existe des interactions (prédation, compétition, symbiose) entre les espèces bactériennes. De telle sorte que l'activité d'un consortium bactérien est rarement égale à la somme des activités de chaque espèce de ce consortium cultivé en souche pure dans les mêmes conditions. D'où la difficulté de l'extrapolation des expériences de laboratoire à refléter les habitats naturels [120].

Un bon exemple de l'interaction entre les métabolismes bactériens est donné par l'étude des aquifères subissant une contamination organique. Dans ces aquifères, les panaches de contamination observés se divisent en une succession de zones aux potentiels d'oxydo-réduction décroissants. Cette observation est liée à la biodégradation de la matière organique qui utilise les accepteurs d'électrons dans un ordre préférentiel [36].

**Tab. 2.2** – La succession des zones d’oxydo-réduction observées dans les panaches de contamination organique des aquifères, mise en parallèle avec les catabolismes prédominant de chaque zone.

catabolismes	zones
$O_2(aq) + 4e^- + 4H^+ \rightarrow 2H_2O$	zone aérobie
$NO_3^- + 5e^- + 6H^+ \rightarrow \frac{1}{2}N_2 + 3H_2O$	zone de réduction des nitrates
$MnO_2 + 2e^- + 4H^+ \rightarrow Mn^{2+} + 2H_2O$	zone de réduction du manganèse
$FeOOH + e^- + 3H^+ \rightarrow Fe^{2+} + 2H_2O$	zone de réduction du fer
$SO_4^{2-} + 8e^- + 8H^+ \rightarrow S^{2-} + 4H_2O$	zone de réduction des sulfates
$CO_2 + 8e^- + 8H^+ \rightarrow CH_4 + 2H_2O$	zone de méthanogénèse

Les différentes zones redox, et leur ordre de succession, sont présentées dans le tableau 2.2. Dans la zone aérobie, l’oxygène, qui est l’accepteur d’électrons au potentiel redox le plus haut, est utilisé. L’épuisement du dioxygène correspond au passage dans la zone redox suivante. En absence d’oxygène, le nitrate, s’il est présent, devient l’accepteur d’électrons au potentiel redox le plus haut, et est réduit, constituant la zone de réduction des nitrates. Suivent dans l’ordre les zones de réduction du manganèse, du fer, des sulfates, la zone de méthanogénèse et enfin les fermentations. Des réactions d’oxydo-réduction secondaires se manifestent à la frontière des zones d’oxydo-réduction [69]. Par exemple le sulfure d’hydrogène produit par les bactéries sulfato-réductrices peut être réoxydé par de l’hydroxyde de Fe(III). Le Fe(II) quant à lui peut être réoxydé par le dioxygène.

Ainsi les métabolismes surviennent dans l’ordre décroissant de leur capacité à produire de l’énergie. D’où l’hypothèse selon laquelle les métabolismes prédominants sont les métabolismes les plus favorables énergétiquement. Pour la modélisation ce concept se formalise par un processus de choix de l’accepteur terminal d’électrons (*Terminal Electron Acceptor Processes* ou *TEAP*). Ces processus sont discutés dans de nombreuses publications [145, 146, 40, 107, 160, 106, 138, 79, 40].

### *Choix d’un accepteur d’électrons*

Il existe plusieurs méthodes pour sélectionner localement le métabolisme prédominant, c’est-à-dire l’accepteur d’électrons utilisé. Ces méthodes sont basées sur les concentrations des différents accepteurs d’électrons présents localement. Ainsi certains auteurs introduisent un paramètre  $f_j$  modifiant l’importance des cinétiques des catabolismes [69, 147] :

$$\begin{aligned}
& \text{for } j = 1, 2, \dots, 5 \quad \text{if } [EA_j] > [EA_j]_{lim}, \\
& \quad \left\{ \begin{array}{l} \text{then } f_j = 1 - \sum_{k=0}^{j-1} f_k \\ \text{else } f_j = \left(1 - \sum_{k=0}^{j-1} f_k\right) \frac{[EA_j]}{[EA_j]_{lim}} \end{array} \right. \quad (2.73) \\
& \text{for } j = 6 \quad f_6 = 1 - \sum_{k=1}^5 f_k
\end{aligned}$$

avec  $f_0 = 0$ , avec la suite  $j = 1, 2, \dots, 5$  qui correspond respectivement à la suite d'accepteurs d'électrons  $O_2(aq)$ ,  $NO_3^-$ ,  $Mn(IV)$ ,  $Fe(III)$  et  $SO_4^{2-}$ , et avec  $j = 6$  qui correspond à la méthanogenèse. Les paramètres  $[EA]_{lim}$  prennent des valeurs fixées par l'utilisateur. L'ordre d'utilisation des accepteurs d'électrons est donc fixé a priori.

Le paramètre  $f$  permet de tenir compte dans les cinétiques biologiques des effets de compétition ou d'inhibition des différents métabolismes bactériens. Cette méthode n'est pas la seule permettant de reproduire la stratification redox, ou plus généralement l'utilisation successive des accepteurs d'électrons terminaux [147]. Nous ne présenterons pas ici toutes les méthodes mais seulement les plus utilisées.

### ***Le principe de l'équilibre partiel***

L'approche de l'équilibre partiel (ou PEA pour *Partial Equilibrium Approach*) est une autre méthode de choix de l'accepteur terminal d'électrons. Elle consiste à considérer un équilibre redox entre les différents couples d'accepteurs d'électrons [124, 22, 23, 108].

La réaction du catabolisme ne fait intervenir qu'une oxydation de matière organique contrôlée par une loi cinétique. Cette oxydation modifie le potentiel d'oxydo-réduction de la solution, ce qui modifie les concentrations des différents couples d'oxydo-réduction. Cette méthode permet de simuler l'utilisation successive des accepteurs d'électrons selon les potentiels d'oxydo-réduction décroissants.

Mais la technique de l'équilibre partiel est à utiliser avec prudence car de nombreuses études montrent que les réactions d'oxydo-réduction sont rarement à l'équilibre [146].

## **2.3 L'anabolisme**

La mesure de la concentration bactérienne (par sa biomasse, son nombre de cellule ou sa densité optique) montre parfois de très faibles variations. Ces bactéries (dites

**Tab. 2.3** – Composition moyenne de la biomasse en masse et en quantité de matière sèche, d'après [122].

Élément	Masse wt%	Masse molaire en g/mol	quantité mol
C	50%	12	4.2
H	8%	1	8
O	20%	16	1.25
N	12%	14	1.16
P	3%	31	0.1

autochtones) ont une activité de fond même à faibles concentrations en substrat. On peut alors négliger les phénomènes d'anabolisme. De nombreuses modélisations de systèmes biogéochimiques utilisent cette approximation.

Mais certaines bactéries (dites zymogènes) ont une explosion d'activité lorsque la concentration en substrat augmente. Celle-ci a pour effet une augmentation exponentielle de la concentration bactérienne. L'anabolisme ne peut alors plus être négligé.

### 2.3.1 La réaction d'anabolisme

La réaction de l'anabolisme est la réaction chimique qui va conduire à la formation de la biomasse à partir des éléments nutritifs du milieu extérieur. Ecrire la réaction d'anabolisme d'un microorganisme revient à définir d'une part le modèle chimique de biomasse, et d'autre part les sources de matière utilisées par celui-ci (carbone, azote, phosphore).

La modélisation d'une population bactérienne dans les modèles de spéciation géochimique nécessite de déterminer une formule chimique pour la biomasse. La matière sèche de la biomasse est constituée principalement de carbone, d'hydrogène, d'oxygène, d'azote et de phosphore (tableau 2.3.1). D'autres éléments, tels que le sodium, le potassium, le magnésium et le fer, sont également présents sous forme de traces. La composition atomique moyenne de la biomasse est donc  $C_{4,2}H_8O_{1,25}N_{1,16}P_{0,1}$ . Ces coefficients sont variables selon les espèces et leurs états physiologiques. La formule chimique simplifiée  $C_5H_7O_2N$  est en général utilisée [77].

On ne distingue en général que les sources de carbone et d'azote qui sont les plus importantes (le phosphore représentant une fraction négligeable de la biomasse). La source carbonée utilisée peut être minérale, tel que le  $CO_2$  utilisé par le genre *Gallionella*, ou organique, tel que l'acétate utilisé par le genre *Leptothrix*. La même molécule organique peut servir à la fois de source de carbone et de donneur d'électrons. La

source d'azote est dans la grande majorité des cas l'ammoniaque ( $\text{NH}_3$ ).

Exemple de réaction d'anabolisme pour un microorganisme de biomasse  $\text{C}_5\text{H}_7\text{O}_2\text{N}$  à partir d'une matière organique ( $\text{CH}_2\text{O}$ ) comme source de carbone et d'ammoniaque ( $\text{NH}_3$ ) comme source d'azote :



### 2.3.2 La courbe de croissance bactérienne

Une suspension bactérienne diluée dans une solution nutritive se développe par division cellulaire successive. La concentration bactérienne se mesure soit par comptage des cellules, soit par densité optique, soit par pesée des filtrats. Le suivi expérimental de la croissance bactérienne montre la présence de plusieurs phases (figure 2.8). Des lois cinétiques de croissance bactérienne ont été proposées par une analyse empirique [4].

#### *La phase de latence et la phase d'accroissement*

Le temps de latence est variable, il dépend de l'état physiologique des cellules. Il correspond au temps d'acclimatation des cellules aux nouvelles conditions du milieu. La phase de latence et la phase d'accroissement peuvent être modélisées par une loi cinétique dépendant du temps  $L(t)$  :

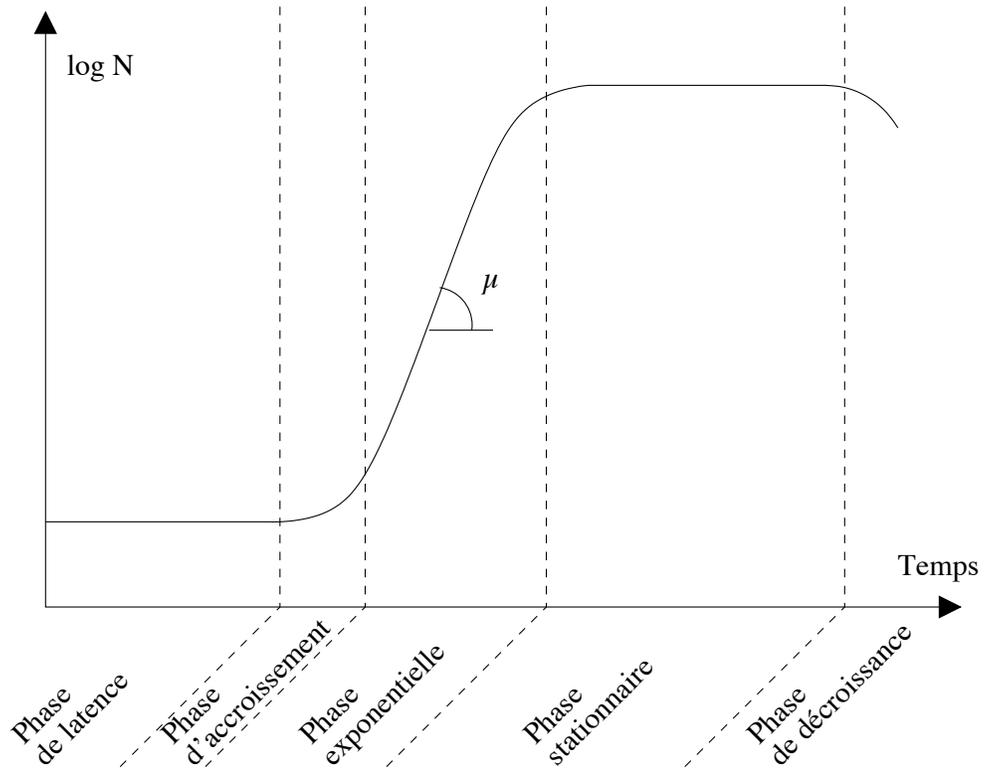
$$L(t) = \begin{cases} 0 & \text{si } t < \tau_L \\ \frac{t - \tau_L}{\tau_E - \tau_L} & \text{si } \tau_L < t < \tau_E \\ 1 & \text{si } \tau_E < t \end{cases} \quad (2.75)$$

Les paramètres  $\tau_L$  et  $\tau_E$  correspondent aux temps d'arrêt de la phase de latence et de la phase d'accroissement respectivement. Ils sont fixés par le modélisateur pour s'accorder aux données. Cette fonction  $L(t)$  renvoie des valeurs comprises entre zéro et un (figure 2.9).

#### *La phase de croissance exponentielle*

En microbiologie, la croissance exponentielle est caractérisée par un taux de croissance, noté  $\mu$  et définie par :

$$\frac{d[B]}{dt} = \mu[B] \quad (2.76)$$



**Fig. 2.8** – Structure d'une courbe de croissance bactérienne représentant l'évolution du nombre  $N$  de bactéries par unité de volume en fonction du temps. La phase exponentielle est caractérisée par un taux d'accroissement  $\mu$ .

avec  $[B]$  la concentration (ou l'activité) de la biomasse. La cinétique de croissance bactérienne dépend de l'activité (ou de la concentration) de la biomasse avec un ordre partiel 1. Le taux de croissance  $\mu$  dépend typiquement des conditions de vie de la population bactérienne. Chaque espèce bactérienne est caractérisée par un taux de croissance maximum  $\mu_{max}$  qui correspond au taux de croissance de cette espèce dans ses conditions optimales. Le taux de croissance est parfois remplacé par le temps de doublement  $t_D$  défini par :

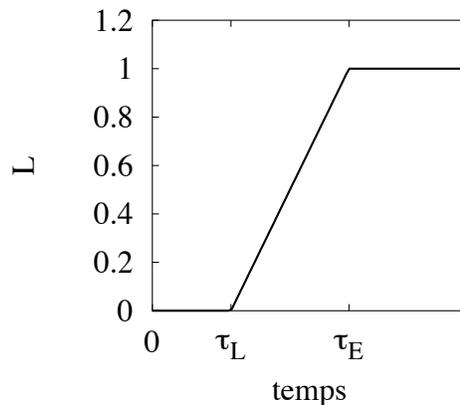
$$t_D = \frac{\ln 2}{\mu} \quad (2.77)$$

L'intégration de cette équation conduit à une évolution exponentielle de la concentration bactérienne. Mais celle-ci n'augmente pas indéfiniment. Elle s'arrête lorsque les conditions du milieu deviennent moins favorables ou lorsque la capacité maximale du milieu est atteinte. Le taux de croissance  $\mu$  est une fonction des paramètres du milieu (concentrations ou activités des réactifs, pH, température, salinité, énergie fournie par les réactions de catabolismes, ...).

### *La phase stationnaire*

L'arrêt de la croissance bactérienne peut être le résultat de deux processus.

La croissance bactérienne s'arrête lorsque les conditions du milieu ne sont plus favorables, c'est-à-dire qu'au moins une variable du milieu (pH, température, salinité, concentration en un réactif ou en un toxique) ne satisfait plus les conditions de crois-



**Fig. 2.9** – Représentation de la fonction  $L(t)$  utilisée pour la modélisation du temps de latence.

sance. Le taux de croissance  $\mu$  devient alors nul et le terme  $\frac{d[B]}{dt}$  tend lui aussi vers zéro. Il conviendra alors de déterminer comment varie le taux de croissance, en fonction des différents paramètres du milieu.

Dans un deuxième cas, la croissance bactérienne s'arrête car la concentration bactérienne maximale que peut contenir le volume du système considéré, est atteinte. L'équation différentielle 2.76 dépend alors d'un nouveau terme incluant un nouveau paramètre, la capacité d'accueil du milieu  $[B]_m$  [153] :

$$\frac{d[B]}{dt} = \mu[B] \left(1 - \frac{[B]}{[B]_m}\right) \quad (2.78)$$

Cette fonction de décélération correspond à un freinage logistique.

### *La phase de décroissance*

Elle est la conséquence d'un changement de prédominance entre les processus de croissance cellulaire et de mort cellulaire. Les modèles utilisent en général un taux de mortalité bactérienne fonction de la concentration en microorganismes [77] :

$$r = k_d[B] \quad (2.79)$$

avec  $r$  la vitesse de la réaction de mort cellulaire,  $k_d$  la constante de mortalité bactérienne et  $[B]$  la concentration en microorganismes. Avec une telle formulation, la constante de mortalité bactérienne peut être intégrée au taux de croissance, donnant une nouvelle formulation de la croissance bactérienne :

$$\frac{d[B]}{dt} = \mu[B] - k[B] = (\mu - k)[B] \quad (2.80)$$

L'importance de la mort cellulaire n'est en réalité pas uniquement fonction de la quantité de biomasse. Elle dépend également de l'état physiologique de la population bactérienne, ainsi que des facteurs de l'environnement (la présence de toxiques par exemple).

La réaction d'anabolisme crée de la biomasse qui entre dans la chaîne trophique de l'écosystème. Cette matière organique est transférée d'organismes en organismes jusqu'à sa dégradation en substance minérale. La mort cellulaire se caractérise par un transfert de matière du compartiment biomasse vers un compartiment matière organique morte (particulaire ou dissoute). Ce dernier peut être considéré comme substrat pour le développement d'autres microorganismes moyennant des hydrolyses enzymatiques.

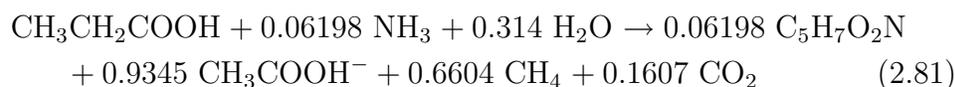
### 2.3.3 Couplage anabolisme et catabolisme

L'anabolisme se réalise (1) s'il y a suffisamment d'énergie venant du catabolisme et (2) s'il y a suffisamment de matière biodisponible dans le milieu extérieur. De plus, la synthèse de biomolécules nécessite parfois des électrons. Dans ce cas une partie des électrons issus du donneur d'électrons ne sont pas transférés à l'accepteur d'électrons [128].

Ainsi les trois réactions que sont l'oxydation du donneur d'électrons, la réduction de l'accepteur d'électrons et la synthèse de biomasse sont intimement couplées. Le couplage implique une conservation de la matière et une conservation de l'énergie.

Toute l'énergie du catabolisme n'est pas utilisée pour la croissance. Une partie de l'énergie du catabolisme est continuellement utilisée pour l'entretien de la cellule et sa survie. De plus, l'efficacité énergétique de la cellule n'est pas parfaite et une partie de l'énergie est également perdue sous forme de chaleur.

Le couplage énergétique entre anabolisme et catabolisme peut être déduit du rendement biologique  $Y$ , défini comme la biomasse formée rapportée à la masse de matière organique oxydée [41]. En général, ce couplage est fixé a priori par l'utilisateur et l'anabolisme et le catabolisme sont intégrés à la même réaction [77] :



## 2.4 Les réactions extracellulaires

Les réactions du métabolisme bactérien (avec leurs cinétiques détaillées ci-dessus) se déroulent au sein ou à la surface des cellules. D'autres réactions interviennent en amont ou en aval du métabolisme avec des cinétiques différentes. Ce sont les réactions de transformation des nutriments pour les rendre assimilables par les cellules, les réactions de transport des nutriments vers les cellules ou les réactions de transport des produits du métabolisme vers le milieu extracellulaire. Toutes ces réactions modifient la cinétique microbiologique. En particulier elles sont parfois suffisamment lentes pour constituer l'étape limitante de la cinétique microbiologique.

### 2.4.1 L'hydrolyse de la matière organique

Seuls les composés carbonés de faible poids moléculaire sont directement assimilables par les cellules. Les grosses molécules, telles que les polymères de matière organique,

**Tab. 2.4** – Différents modèles de matière organique utilisés en modélisation

modèle	référence
CH <sub>2</sub> O	[145, 70]
C <sub>a</sub> H <sub>b</sub> O <sub>c</sub> N <sub>d</sub>	[155]
(CH <sub>2</sub> O) <sub>a</sub> (NH <sub>3</sub> ) <sub>b</sub>	[69]
(C <sub>6</sub> H <sub>10</sub> O <sub>5</sub> · nNH <sub>3</sub> )	[76]

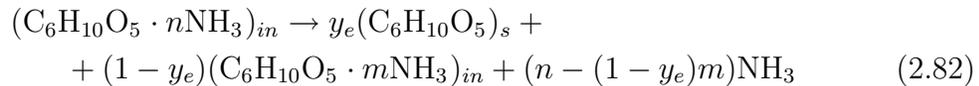
sont d'abord hydrolysées en monomères avant d'être assimilées par les cellules. Des exoenzymes excrétées par les cellules sont nécessaires à cette hydrolyse. Ainsi l'activité microbiologique de subsurface peut être contrôlée par la décomposition de la matière organique, qui amène aux microorganismes l'énergie, les nutriments et les électrons dont ils ont besoin.

La modélisation de cette réaction d'hydrolyse nécessite la description précise de la matière organique particulaire. Les milieux naturels possèdent une matière organique souvent complexe et mal caractérisée. Différents modèles de matière organique ont été proposés (tableau 2.4).

Suivant l'objet d'étude, plusieurs phases de matière organique peuvent être distinguées. Pour l'étude du transport de la matière organique, les auteurs distinguent matière particulaire et dissoute [69].

Pour l'étude de l'oxydation de la matière organique, les auteurs distinguent les acides gras, les carbohydrates, les protéines et le méthanol [70]. La dégradation de la matière organique particulaire en matière organique dissoute est davantage fonction de la quantité et de la qualité de la matière organique plutôt que de la concentration en exoenzymes. Les polymères (polysaccharides, protéines, lipides) sont hydrolysés en monomères (monosaccharides, acides aminés, acides gras).

Le modèle de matière organique peut éventuellement faire intervenir l'azote et le phosphore. Son hydrolyse remobilise alors des éléments nutritifs tels que ammoniacque, nitrate et/ou phosphate [76] :



avec  $y_e$  le coefficient d'efficacité enzymatique,  $X_{in}$  la matière organique inerte (non utilisable par les microorganismes) et  $X_s$  la matière organique utilisable par les microorganismes.

La réaction d'hydrolyse n'est pas toujours modélisée indépendamment des réactions

de biodégradation. Néanmoins, séparer les deux réactions est utile lorsque l'hydrolyse est l'étape limitante du processus de biodégradation.

### 2.4.2 La dissolution de phases minérales

De nombreux éléments chimiques (le fer, le magnésium, ...) sont nécessaires à l'activité biologique (pour le catabolisme ou l'anabolisme). Ces éléments ne sont parfois pas directement biodisponibles dans le milieu aqueux mais proviennent de la dissolution d'une phase minérale.

La dissolution est souvent accompagnée d'une réduction catalysée par l'activité microbiologique. Mais la réduction peut être chimique. Par exemple la ferrihydrite est réduite par l'ascorbate [130] ou par une diminution de Eh et/ou du pH [101]. Mais de nombreuses expériences montrent que l'activité bactérienne catalyse les réactions de dissolution.

Si l'élément en question est utilisé pour l'anabolisme, la réduction est dite assimilatrice. Par exemple, la réduction biologique assimilatrice de la ferrihydrite chez *Pseudomonas mendocina* [66]. Si au contraire il est utilisé pour le catabolisme, la réduction est dite dissimilatrice. Ce phénomène semble jouer un plus grand rôle dans les phénomènes de dissolution [101]. Les mécanismes réactionnels intervenant dans ces processus ne sont pas encore bien connus. Plusieurs chemins réactionnels prédictifs sont proposés :

- Un contact direct entre les protéines membranaires et la surface de la phase solide permet la réaction. Mais des expériences montrent que dans de nombreux cas un contact direct entre les cellules et la phase solide n'est pas nécessaire.
- Des exoenzymes larguées dans le milieu extracellulaire ont pour fonction de dissoudre la phase solide et de transporter l'élément d'intérêt biologique jusqu'aux cellules. Ce chemin réactionnel ne nécessite pas de contact direct entre les cellules et la phase solide. C'est typiquement le cas des réductions assimilatrices pour lesquelles l'élément réduit servira dans l'anabolisme et sera intégré à la biomasse. Un bon exemple est celui des sidérophores qui fixent le fer dont les cellules ont besoin pour leur synthèse [84, 83, 17].
- Des transporteurs d'électrons largués dans le milieu extracellulaire ont un potentiel redox leur permettant d'être oxydés par la phase solide contenant l'accepteur final et d'être réduit par les protéines membranaires de la chaîne de transporteurs d'électrons des cellules. Ce chemin réactionnel ne nécessite pas de contact direct entre les cellules et la phase solide. C'est typiquement le cas des réductions dissimilatrices pour lesquelles l'élément dans la phase solide est l'accepteur final d'électrons. L'ajout de transporteurs d'électrons solubles

extracellulaires permet en effet d'accroître l'efficacité biologique. Ces transporteurs d'électrons sont par exemple l'antraquinone-2,6-disulfonate [81], l'aminopolycarboxylate [117], ou encore les acides humiques [74].

La nécessité d'un contact direct entre la cellule et la phase solide limite l'efficacité d'un biofilm. Néanmoins l'excrétion d'exoenzymes ou de transporteurs d'électrons a un coût pour les cellules.

### 2.4.3 La diffusion au sein d'un biofilm

Dans la plupart des modélisations, le milieu est considéré homogène et les concentrations sont calculées pour un volume représenté par un réacteur parfaitement mélangé. Mais des hétérogénéités existent qui conduisent à des cinétiques de transport de nutriments vers les cellules [120]. Selon l'échelle spatiale de l'hétérogénéité et la nature du transport, différentes cinétiques peuvent être considérées.

Une cinétique de transport existe à l'échelle du terrain. L'eau météoritique apporte de l'oxygène dissous, ou peut charier de la matière organique ou encore des polluants. Les modèles de transport réactif sont en général appliqués à cette échelle. Il est difficile de modéliser de façon concomittente des transports de matière se déroulant à différentes échelles. Pourtant d'autres processus de transport interviennent à des échelles plus petites.

Une cinétique de transport existe à l'échelle du biofilm. La diffusion au sein du biofilm peut limiter les cinétiques microbiologiques. [86]. La vitesse de réaction ne dépend plus des lois cinétiques précédentes mais d'une loi de Fick sur le nutriment limitant l'activité biologique.

## 2.5 Conclusion

Les nombreux concepts et méthodes résumés dans ce chapitre permettent de modéliser l'activité microbiologique globale qui modifie la chimie du milieu. Mais il faut garder à l'esprit que chaque réaction globale est en réalité la conséquence extracellulaire de mécanismes réactionnels complexes. La compréhension de ces mécanismes et l'hypothèse de l'état quasi-stationnaire permet de définir les cinétiques des réactions globales. Dans le cas de souches bien étudiées, les mécanismes réactionnels au sein des cellules peuvent être modélisés. Ainsi certains auteurs modélisent les chemins métaboliques intracellulaires de *Saccharomyces cerevisiae* [93]; d'autres modélisent les variations de concentrations intracellulaires d'éléments tels que les produits de réserves ou les métabolites intermédiaires [120, 49]. Il convient pour chaque

cas d'étude de déterminer quelle précision utiliser en fonction de la disponibilité des connaissances sur les mécanismes réactionnels biologiques mis en jeu.

L'activité biologique peut modifier la géochimie du milieu par des moyens très divers. Les métabolismes bactériens ont une influence directe sur les réactions d'oxydo-réduction et sur la formation et la dégradation de la matière organique. Mais ces réactions peuvent avoir de nombreuses conséquences indirectes sur la spéciation géochimique :

- Les réactions d'oxydo-réduction peuvent provoquer des précipitations-dissolutions. Plusieurs observations ont révélé la présence de précipitations minérales à proximité immédiate des bactéries, voire même dans le cytosol.
- Les oxydations et réductions biologiques peuvent intervenir localement sur une surface métallique, donnant naissance à des courants électriques et des phénomènes de corrosion.
- La synthèse de biomasse utilise parfois une part non négligeable d'éléments minéraux. Des dissolutions assimilatrices de phases solides peuvent alors intervenir.
- La matière organique dissoute ou particulaire (parois cellulaires, exopolysaccharides, biofilms, chélateurs, acides humiques, ...) est responsable de complexation aqueuse ou de sorption qui modifient de façon importante la spéciation géochimique.

Mis à part ces effets multiples sur la géochimie, l'activité biologique peut également avoir un impact sur l'hydrodynamique locale par la formation d'un biofilm réduisant l'espace poral ou par la présence d'organismes fouisseurs tels que les vers.

Afin d'appréhender les aspects géochimiques, hydrodynamiques et microbiologiques de façon couplée, il est nécessaire de pouvoir analyser ces phénomènes par les outils de modélisation tels que CHESS.

## 3 Extension du code de calcul CHESS

**Objectif :** Les méthodes de résolution de CHESS et HYTEC permettent de calculer l'équilibre thermodynamique d'un système chimique et son évolution lors d'un transport diffusif et advectif dans un milieu poreux. A partir des codes et des méthodes de résolution déjà implémentés, on se propose de développer un couplage équilibres-cinétiques adapté aux lois cinétiques microbiologiques. Après avoir rappelé les équations et méthodes de résolution utilisées dans CHESS, nous verrons comment les équations à résoudre sont modifiées par la prise en compte des cinétiques, et comment les méthodes de résolution peuvent s'adapter aux lois cinétiques utilisées en biologie.

### 3.1 Calcul de l'équilibre thermodynamique

#### 3.1.1 Le concept d'espèces de base

CHESS est un outil numérique permettant de calculer l'équilibre thermodynamique d'un système chimique aqueux fermé. Un système chimique est défini par  $N$  espèces chimiques  $S_k$  qui interagissent selon  $N_e$  réactions indépendantes à l'équilibre. Chacune de ces réactions est définie par  $N$  coefficients stoechiométriques algébriques  $\nu_{kj}$  et une constante thermodynamique  $K_j$  ( $k \in \{1 \cdot N\}$  et  $j \in \{1 \cdot N_e\}$ ). Ainsi les deux équilibres acide-base suivant :



définissent un système chimique caractérisé par 4 espèces chimiques et 2 réactions à l'équilibre. Les réactions à l'équilibre doivent être indépendantes. C'est le cas lorsqu'aucune réaction ne peut être obtenue par combinaison linéaire des autres, c'est à dire lorsque les vecteurs des coefficients stoechiométriques de chaque réaction forment une famille libre. Dans notre exemple, l'équilibre suivant :



n'est pas nécessaire et sa définition sur-contraîndrait le système. En revanche le système chimique peut également être défini par les réactions 3.1 et 3.3 sans tenir compte de la réactions 3.2.

Les espèces de base (ou espèces primaires) sont le plus petit ensemble d'espèces chimiques définies de façon à ce qu'elles puissent former, à partir des réactions du système, toutes les espèces de ce système. Ainsi, dans notre exemple,  $\text{AsO}_4^{3-}$  et  $\text{H}^+$  peuvent être choisies comme espèces de base. Les espèces  $\text{HAsO}_4^{2-}$  et  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$  qui sont formées à partir des espèces de base seront des espèces dérivées (ou espèces secondaires). Mathématiquement, le nombre d'espèces de base  $N_b$  dépend du nombre  $N$  d'espèces chimiques et du nombre  $N_e$  de réactions indépendantes à l'équilibre selon l'équation :

$$N_b = N - N_e \quad (3.4)$$

Quel que soit le système, le choix des espèces de base n'est pas unique et ce choix peut aboutir à des systèmes plus ou moins difficiles à résoudre.

### 3.1.2 Les équations principales

Deux type d'équations fondamentales sont utilisés pour la résolution d'un équilibre chimique : les lois d'action de masse et les lois de conservation de la masse. Il y a autant de lois d'action de masse que de réactions indépendantes à l'équilibre, et donc autant que d'espèces dérivées (équation 3.4). Avec autant d'équations de conservation de la masse que d'espèces de base, on obtient un système à  $N$  équations et à  $N$  inconnues.

*Les lois d'action de masse* imposent pour chaque réaction indépendante à l'équilibre, la constance de produit d'activité d'espèces chimiques. Ainsi dans notre exemple, le système chimique possède deux lois d'action de masse faisant intervenir les activités représentées ici par des accolades :

$$K_1 = \frac{\{\text{HAsO}_4^{2-}\}}{\{\text{AsO}_4^{3-}\}\{\text{H}^+\}} \quad (3.5)$$

$$K_2 = \frac{\{\text{H}_2\text{AsO}_4^-\}}{\{\text{HAsO}_4^{2-}\}\{\text{H}^+\}} \quad (3.6)$$

On remarque que ce système d'équations peut s'écrire sous la forme :

$$\{\text{HAsO}_4^{2-}\} = K_1\{\text{AsO}_4^{3-}\}\{\text{H}^+\} \quad (3.7)$$

$$\{\text{H}_2\text{AsO}_4^-\} = K_2 K_1\{\text{AsO}_4^{3-}\}\{\text{H}^+\}^2 \quad (3.8)$$

Les activités des espèces dérivées ( $\text{HAsO}_4^{2-}$  et  $\text{H}_2\text{AsO}_4^-$ ) sont alors complètement déterminées par la connaissance des activités des espèces de base ( $\text{AsO}_4^{3-}$  et  $\text{H}^+$ ). Plus généralement, le système d'équations formé par les lois d'action de masse permet d'exprimer les activités  $\{S\}$  des espèces dérivées en fonction des activités  $\{C\}$  des espèces de bases selon l'équation :

$$\forall j \in \{1, N_e\}, \quad \{S_j\} = K_j \prod_{i=1}^{N_b} \{C_i\}^{\nu_{ij}} \quad (3.9)$$

Afin d'obtenir cette formulation, les coefficients stoechiométriques  $\nu_{ij}$  sont définis de telle sorte que le coefficient stoechiométrique de l'espèce dérivée est égal à un. Il est important de remarquer que les paramètres thermodynamiques  $K$  et stoechiométriques  $\nu$  dépendent du choix des espèces de base.

L'activité d'une espèce chimique est calculée par le produit de sa concentration par son coefficient d'activité  $\gamma$ . Ainsi, les lois d'action de masse précédentes peuvent également s'exprimer en fonction des concentrations :

$$\forall j \in \{1, N_e\}, \quad S_j = \frac{K_j}{\gamma_j} \prod_{i=1}^{N_b} (C_i \gamma_i)^{\nu_{ij}} \quad (3.10)$$

Cette formulation assez simple est compliquée par le fait que l'expression des coefficients d'activités, suivant la théorie de Debye-Hückel ou celle de Davies, fait intervenir la force ionique  $I$  du système et donc les concentrations de toutes les espèces chimiques chargées du système. La force ionique est définie par :

$$I = 1/2 \sum_i z_i^2 S_i \quad (3.11)$$

où  $z_i$  représente la charge de l'espèce  $i$ .

Les équations de conservation de la masse imposent la constance de la quantité totale de matière dans le système. Dans notre exemple, le système chimique possède deux lois de conservation de la masse caractérisées respectivement par une concentration totale en arsenic  $T_{As}$  et une concentration totale en protons  $T_H$  :

$$T_{As} = [\text{AsO}_4^{3-}] + [\text{H}_2\text{AsO}_4^-] + [\text{HAsO}_4^{2-}] \quad (3.12)$$

$$T_H = [\text{H}^+] + [\text{HAsO}_4^{2-}] + 2[\text{H}_2\text{AsO}_4^-] \quad (3.13)$$

On a vu qu'il y a autant d'équations de conservation de la masse que d'espèces de

base. Et pour un système chimique quelconque, les équations de conservation de la masse s'écrivent :

$$\forall i \in \{1, N_b\}, \quad T_i = C_i + \sum_{j=1}^{N_e} \nu_{ij} S_j \quad (3.14)$$

Le calcul d'un équilibre chimique revient donc à résoudre un système constitué des équations 3.10 et 3.14. C'est un *système d'équations algébriques non linéaires* qui peut être mis sous la forme  $F(C) = 0$  avec  $C$  le vecteur des concentrations des espèces de base et  $F$  le vecteur des fonctions  $F_i$  défini par :

$$\forall i \in \{1, N_b\}, \quad F_{i(C)} = T_i - C_i - \sum_{j=1}^{N_e} \nu_{ij} S_{j(C)} \quad (3.15)$$

ou encore sous forme matricielle,

$$F_{(C)} = T - C - A \cdot S_{(C)} \quad (3.16)$$

où  $T$  est le vecteur des concentrations totales,  $A$  la matrice des coefficients stoechiométriques et  $S$  le vecteur des espèces dérivées qui sont des fonctions du vecteur  $C$ . En considérant que les concentrations totales  $T$ , les coefficients stoechiométriques  $\nu$  et les coefficients d'activités  $\gamma$  sont constants, les  $N_b$  équations de ce système permettent de déterminer les  $N_b$  inconnues que sont les concentrations  $C$  en espèces de base. Les concentrations  $S$  des espèces dérivées sont ensuite calculées à partir des équations 3.10.

### 3.1.3 La méthode de résolution de Newton-Raphson

Comme la plupart des outils de calcul d'équilibre, CHESS résout ce système par une méthode de Newton-Raphson. Cette méthode est adaptée à la résolution des équations du type  $f(x) = 0$ . Son principe dérive du développement en série de Taylor à l'ordre 1 de la fonction  $f$  en la solution  $x^*$  :

$$f(x^*) = f(x) + f'(x)(x^* - x) + o(x^* - x) = 0 \quad (3.17)$$

Si la dérivée de  $f$  en  $x$  n'est pas nulle, l'expression précédente peut être mise sous la forme :

$$x^* = x - \frac{f(x)}{f'(x)} - \frac{o(x^* - x)}{f'(x)} \quad (3.18)$$

Ainsi, une approximation  $x_n$  de la solution permet de trouver une approximation  $x_{n+1}$  plus précise selon l'équation suivante :

$$x_{n+1} = x_n - \frac{f(x_n)}{f'(x_n)} \quad (3.19)$$

La méthode de Newton-Raphson est une méthode itérative qui nécessite (1) d'être initiée par une approximation  $x_0$  de la solution et (2) de calculer à chaque itération la fonction  $f$  et sa dérivée  $f'$  en  $x_n$ . Dans le cas où l'équation à résoudre est une équation matricielle de la forme  $F(C) = 0$  (avec  $F$  de dimension  $N_b$ ), les relations précédentes se généralisent au schéma de résolution suivant :

$$C_{n+1} = C_n - J^{-1}(C_n) \cdot F(C_n) \quad (3.20)$$

où  $J$  est la jacobienne de  $F$ , c'est à dire la matrice carrée inversible de dimension  $N_b$  dont les termes  $J_{m,n}$  sont les dérivées partielles des fonctions  $F_m$  par rapport aux inconnues  $C_n$  :

$$\forall m \in \{1, N_b\} \quad \forall n \in \{1, N_b\}, \quad J_{m,n}(C) = \frac{\partial F_m}{\partial C_n}(C) \quad (3.21)$$

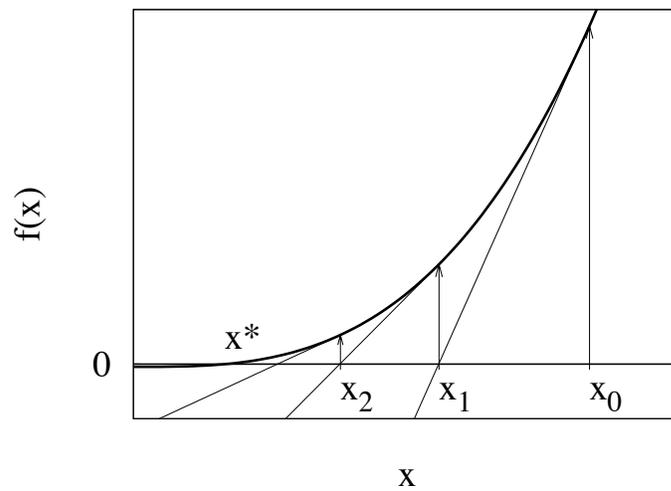
La méthode de résolution de Newton-Raphson se comprend aisément par son interprétation graphique (figure 3.1). A chaque itération, on cherche  $x_{n+1}$  qui est l'abscisse pour laquelle la tangente à  $f$  en  $x_n$  rencontre l'axe des abscisses. Comme le montre la figure 3.1, cette méthode permet bien de se rapprocher de la solution  $x^*$ .

Cette méthode est puissante et rapide mais a parfois tendance à ne pas converger (voir figures 3.2 et 3.3).

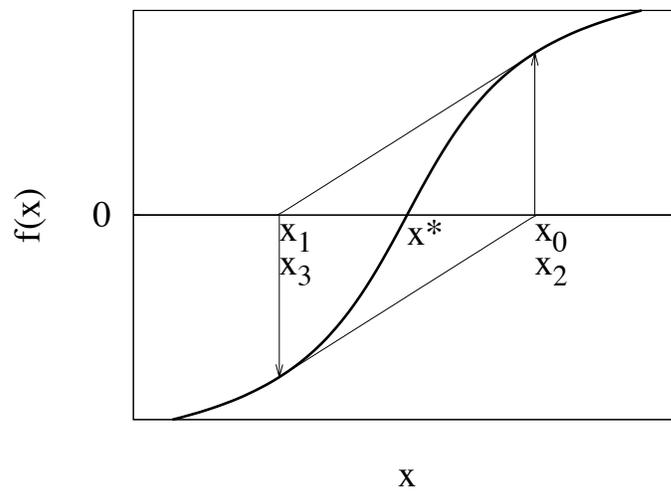
A la fin de chaque itération la valeur de  $f(x_n)$  représente le résiduel. Celui-ci tend vers zéro et sa valeur donne une indication de l'erreur qu'il reste entre le résultat trouvé  $x_n$  et la solution exacte  $x^*$ . Les itérations sont stoppées lorsque le résiduel  $f(x_n)$  devient suffisamment petit par rapport à la tolérance que l'on s'est fixée.

### 3.1.4 La résolution des équations avec CHESS

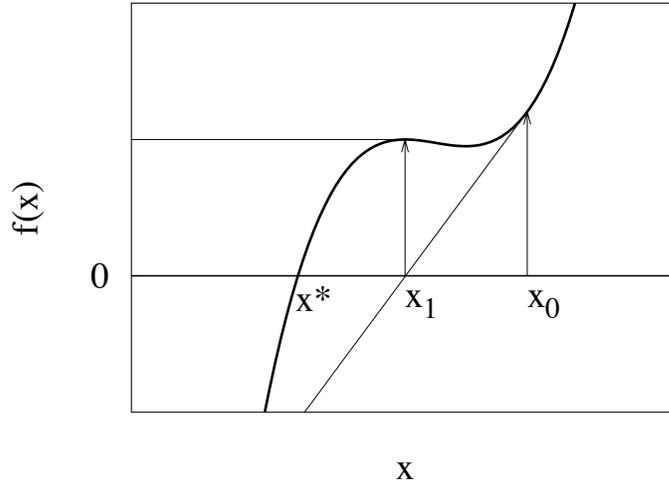
Le calcul d'équilibre d'un système chimique repose sur la résolution d'une équation matricielle du type  $F(C) = 0$ . La méthode de Newton-Raphson nécessite la connaissance de toutes les dérivées partielles des fonctions  $F_m$  par rapport aux espèces de base  $C_n$ . D'après la définition des fonctions  $F_m$  (équation 3.15) et en supposant que



**Fig. 3.1** – Représentation graphique de la résolution de l'équation  $f(x)=0$  par la méthode de Newton-Raphson. Le tracé successif des tangentes à  $f$  permet, à partir d'une valeur initiale  $x_0$ , de trouver des valeurs  $x_1, x_2, \dots$  de plus en plus proches de la solution  $x^*$ .



**Fig. 3.2** – Représentation graphique d'une résolution de Newton-Raphson cyclique non-convergente. Le point  $x_2$  ne peut pas être trouvé car la tangente en  $x_1$  est parallèle à l'axe des abscisses.



**Fig. 3.3** – Représentation graphique d'une résolution de Newton-Raphson non-convergente. Les itérations successives aboutissent aux points  $x_0 = x_2 = \dots$  et  $x_1 = x_3 = \dots$  sans jamais s'approcher d'avantage de la solution  $x^*$ .

les concentrations totales  $T$  sont constantes (cas d'un système fermé), on obtient les termes  $J_{m,n}$  suivants pour la matrice jacobienne :

$$\forall m \in \{1, N_b\} \quad \forall n \in \{1, N_b\}, \quad J_{m,n}(C) = -\frac{\partial C_m}{\partial C_n} + \sum_{j=1}^{N_e} \nu_{mj} \frac{\partial S_j}{\partial C_n}(C) \quad (3.22)$$

En supposant que les coefficients d'activités  $\gamma$  sont constants, les dérivées partielles des fonctions  $S_j(C)$  (équation 3.10) par rapport aux espèces de base  $C_n$  donnent les relations suivantes :

$$\forall j \in \{1, N_e\}, \quad \forall n \in \{1, N_b\}, \quad \frac{\partial S_j}{\partial C_n}(C) = \nu_{nj} \frac{S_j(C)}{C_n} \quad (3.23)$$

On arrive finalement à une formulation relativement simple des termes de la jacobienne :

$$\forall m \in \{1, N_b\}, \quad \forall n \in \{1, N_b\}, \quad J_{m,n}(C) = \begin{cases} \frac{1}{C_n} \sum_{j=1}^{N_e} \nu_{mj}^2 S_j - 1 & \text{si } m = n \\ \frac{1}{C_n} \sum_{j=1}^{N_e} \nu_{mj} \nu_{nj} S_j & \text{si } m \neq n \end{cases} \quad (3.24)$$

Cette formulation de la jacobienne est intégrée dans CHESS sous forme d'une structure dans laquelle sont stockées les différentes variables et construite une seule fois au début du calcul. La description de cette structure n'a pas sa place dans ce document, mais la conséquence importante est que les dérivées n'ont pas besoin d'être recalculées à chaque itération, ce qui diminue considérablement (environ 30 %) le temps de calcul. Les opérations réalisées dans le code CHESS sont résumées dans le schéma de résolution de la figure 3.4.

La fonction d'atténuation  $f_a$  vient modifier le schéma général de Newton-Raphson (méthode dite de Newton-Raphson modifié). L'équation 3.20 est remplacée par l'équation suivante :

$$C_{n+1} = C_n + f_a(J^{-1}(C_n) \cdot F(C_n)) \quad (3.25)$$

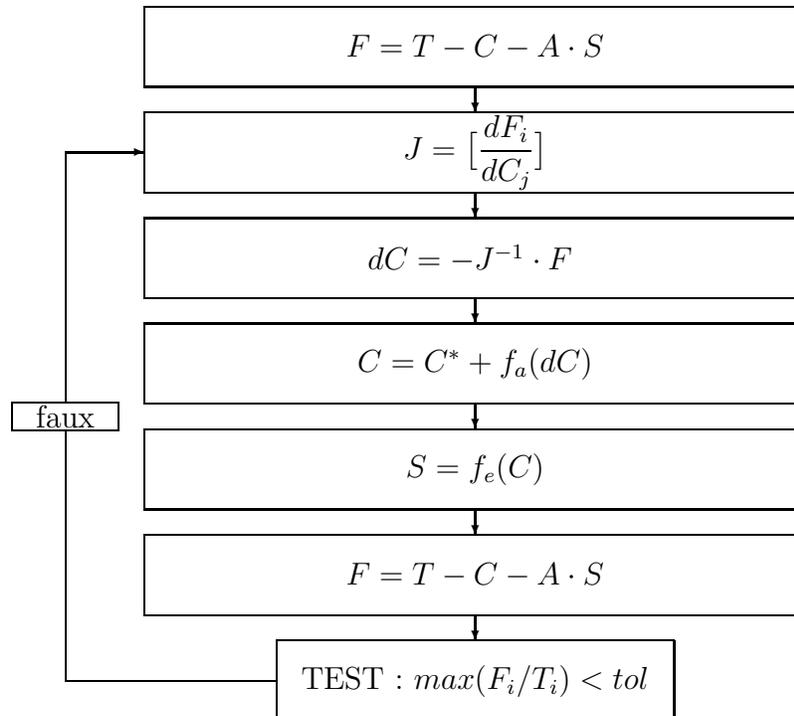
Cette méthode permet d'éviter les trop grandes variations des concentrations des espèces de base, ce qui améliore la convergence de la résolution.

Les fonctions  $f_e$  permettent de calculer les concentrations des espèces dérivées à partir des concentrations des espèces de base. Elles intègrent les lois d'action de masse, ainsi qu'une réévaluation de la force ionique et des coefficients d'activité (équation 3.10).

Dans CHESS, la condition de fin de boucle de Newton-Raphson teste l'erreur relative maximale faite sur les concentrations totales. Ainsi, l'incertitude sur les concentrations totales du système reste dans les limites de la tolérance fixée. L'accent est mis sur la conservation de la masse.

A chaque itération, la résolution nécessite d'inverser une matrice carrée de dimension  $N_b$  (la jacobienne). Cette opération peut être effectuée au moyen d'une décomposition LU ou d'une élimination de Gauss-Jordan. Le temps de calcul d'une telle opération est équivalent à la dimension de la matrice au cube [8] :  $temps \sim N_b^3$ . Ce qui signifie que le temps de calcul d'un équilibre chimique augmente comme le cube du nombre d'espèces de base considérées.

Dans les systèmes aqueux, l'électroneutralité de la solution, qui maintient autant de charges positives que de charges négatives, est respectée. C'est à dire que le déficit en électrons ( $DE$ ), défini comme la somme sur toutes les espèces  $i$  des produits des concentrations  $S$  et de leurs charges  $z$  (équation 3.26) est proche de zéro :



**Fig. 3.4** – Schéma de Newton-Raphson modifié de CHESS permettant de résoudre les systèmes à l'équilibre.  $C$  vecteur des concentrations des espèces de base ;  $C^*$  sauvegarde du vecteur précédent au pas de temps précédent ;  $T$  vecteur des concentrations totales ;  $S$  vecteur des concentrations des espèces dérivées ;  $A$  matrice des coefficients stoechiométriques ;  $F$  vecteur des restes ;  $J$  matrice jacobienne.

$$DE = \sum_i z_i S_i \quad (3.26)$$

En pratique, cette équation n'est pas intégrée à la résolution de l'équilibre chimique. Le déficit en électrons ainsi que la force ionique (équation 3.11) sont néanmoins calculés pour que l'utilisateur puisse apprécier la validité de cette loi lors du calcul. CHESS offre également la possibilité de réaliser l'électroneutralité en modifiant la concentration en un ion inerte tel que l'ion  $\text{Cl}^-$ .

## 3.2 Calcul de l'évolution cinétique

La méthode précédente calcule, à partir des concentrations totales d'un système, l'état d'équilibre de ce système, sans précisions sur le temps mis pour l'atteindre ni sur le mécanisme réactionnel utilisé. Cette méthode est utile pour obtenir la spéciation chimique d'un système, c'est à dire les concentrations de toutes les espèces chimiques dont la formation est suffisamment rapide pour être considérée constamment à l'équilibre. Pour calculer l'évolution d'un système chimique au cours du temps, il faut considérer les cinétiques des réactions.

Dans le cas d'un système mixte équilibre-cinétique qui nous intéresse ici, les cinétiques et les équilibres doivent être résolus conjointement au cours du temps ; ce qui implique une résolution différente de celle présentée précédemment. Néanmoins l'état initial d'un tel système est un calcul d'équilibre prenant en compte les réactions définies à l'équilibre. On peut donc considérer la méthode de résolution précédente comme le calcul de l'état initial d'un système plus complexe mixant équilibres et cinétiques.

Afin d'écrire sans ambiguïté les équations gouvernant l'évolution d'un système biogéochimique, on considérera un système général où toutes les réactions (chimiques ou biologiques, réversibles ou irréversibles) sont caractérisées par une (ou plusieurs) cinétique(s). Les équilibres résultent, comme on le verra, d'une approximation de ce cas général.

Considérons un système constitué de  $N$  espèces chimiques interagissant selon  $N_r$  réactions. Chaque réaction  $j$  ( $j \in \{1, 2, \dots, N_r\}$ ) est définie par une vitesse de réaction  $r_j$  et par  $N$  coefficients stoechiométriques algébriques  $\nu_{ij}$ . Rappelons que ce dernier est négatif si l'espèce  $i$  ( $i \in \{1, 2, \dots, N\}$ ) est un réactif de la réaction  $j$ .

### 3.2.1 Le système d'équations différentielles ordinaires

On a vu dans le paragraphe 2.1, l'équation de conservation de la masse d'un système constitué d'une seule réaction (équation 2.5). Celle-ci peut être généralisée à un

système à plusieurs réactions. Dans un tel système la variation (en fonction du temps  $t$ ) de la concentration  $C_i$  d'une espèce  $i$  est égale à la somme des vitesses  $r_j$  des réactions dans lesquelles elle apparaît, pondérée par des coefficients stoechiométriques  $\nu_{ij}$ .

$$\forall i \in \{1, 2, \dots, N\}, \quad \frac{dC_i}{dt} = \sum_{j=1}^{N_r} \nu_{ij} \frac{d\xi_j}{dt} = \sum_{j=1}^{N_r} \nu_{ij} r_j \quad (3.27)$$

Pour l'ensemble des  $N$  espèces chimiques présentes dans le milieu, on obtient un système d'équations que l'on peut écrire sous forme matricielle [33, 34].

$$\frac{dC}{dt} = A \cdot r(C) \quad \text{ou} \quad I \cdot \frac{dC}{dt} = A \cdot r(C) \quad (3.28)$$

avec  $C$  vecteur des concentrations ( $N \times 1$ )  
 $A$  matrice des coefficients stoechiométriques ( $N \times N_r$ )  
 $I$  matrice identité ( $N \times N$ )  
 $r$  vecteur des vitesses de réaction ( $N_r \times 1$ )

Ce système fait partie des systèmes d'équations différentielles ordinaires (ou ODE pour *Ordinary Differential Equations*). Les méthodes de résolution pour ce genre de système sont diverses et aucune n'apparaît être efficace dans tous les cas. Le choix d'une méthode de résolution doit être adapté à chaque cas. Il est donc utile de décrire le plus précisément possible le système d'équations adapté au cas des réactions chimiques.

Ces équations expriment une conservation de la masse au cours du temps. L'évolution du système va être contrôlée par les ordres de grandeur des vitesses de réactions et les formulations des lois cinétiques qui les composent.

### 3.2.2 Approximation par des équilibres

Les réactions élémentaires et réversibles ayant des vitesses bien supérieures aux vitesses des autres phénomènes du système (transport, métabolisme bactérien...) peuvent être considérées à l'équilibre [69].

Cette approximation est utile pour plusieurs raisons.

- D'abord, dans la plupart des systèmes, il existe une grande différence de vitesse entre les réactions les plus rapides et les réactions les plus lentes. Ce large domaine de vitesses engendre mathématiquement un système raide (*stiff equations system*) de résolution complexe. La résolution est en revanche plus

facile lorsque toutes les réactions sont à l'équilibre. Néanmoins certains logiciels résolvent des systèmes purement cinétique. Par exemple, BIOMOC [48] résout de façon concomitante les réactions cinétiques et le transport

- Ensuite, beaucoup de réactions chimiques ont des vitesses si élevées que l'on ne connaît pas *a priori* leur cinétique exacte.
- Enfin, l'approximation par des équilibres permet de réduire le nombre de variables à considérer dans la résolution du système (par le concept des espèces de base) et donc d'accélérer les temps de résolution (moins de lignes dans la jacobienne et moins d'espèces dans la résolution du transport).

Les réactions métaboliques globales sont des réactions irréversibles. C'est à dire que le mécanisme réactionnel est différent selon le sens de la réaction. Par exemple, la dégradation et la synthèse de matière organique n'utilise pas les mêmes voies métaboliques. De par leur nature irréversible, les réactions métaboliques globales ne peuvent pas être modélisées par des équilibres.

Parmi les  $N_r$  vitesses de réactions du vecteur  $r$ , les  $N_e$  réactions indépendantes réversibles les plus rapides sont considérées comme ayant des vitesses infinies ( $r = \infty$ ). Cette approximation mathématique permet de les modéliser par des équilibres. Les  $N_k$  autres réactions sont modélisées par des cinétiques ( $N_r = N_k + N_e$ ). Cette approximation est valable si les vitesses de ces réactions sont suffisamment grandes par rapport au pas de temps considéré et par rapport aux vitesses des autres processus du système. Ainsi le vecteur colonne  $r$  des vitesses de réaction peut s'écrire sous la forme :

$$r = [r_1, r_2, \dots, r_{N_k}, \infty, \dots, \infty]^T \quad (3.29)$$

Les équilibres sont des réactions indépendantes entre elles (voir paragraphe 3.1.1). Les  $N_e$  dernières colonnes de la matrice  $A$  forment donc une famille libre. De plus les cinétiques sont des réactions indépendantes des équilibres [127]. En effet la définition d'une cinétique sur une réaction contrôlée par un équilibre est inutile et sur-contraînerait le système. En tenant compte de ces deux remarques une décomposition de Gauss-Jordan permet d'écrire le système 3.28 comme suit :

$$\begin{bmatrix} [I_1] & [\alpha] \\ [0] & [\theta] \end{bmatrix} \cdot \frac{dC}{dt} = \begin{bmatrix} [\beta] & [0] \\ [0] & [I_2] \end{bmatrix} \cdot r \quad (3.30)$$

avec  $[\alpha]$ ,  $[\beta]$  et  $[\theta]$  des sous-matrices de coefficients réels de tailles respectives  $(N_b \times N_e)$ ,  $(N_b \times N_k)$  et  $(N_e \times N_e)$  en notant  $N_b = N - N_e$ . Les sous-matrices  $[I_1]$  et  $[I_2]$  sont les matrices identité de dimensions respectives  $N_b$  et  $N_e$ .

Le vecteur des espèces chimiques  $C$  peut alors être séparé en ses  $N_b$  premiers termes (que l'on notera  $C_i$ ) et en ses  $N_e$  termes suivants (que l'on notera  $S_i$ ). Cette séparation correspond à la définition du concept d'espèces de base développé pour le calcul des équilibres seuls. Par extension les  $N_b$  premiers termes seront appelés espèces de base et les  $N_e$  suivants espèces dérivées. Ainsi l'approximation réalisée sur le vecteur  $r$  (équation 3.29) aboutit à une nouvelle écriture du vecteur colonne  $C$  des espèces chimiques :

$$C = [C_1, C_2, \dots, C_{N_b}, S_1, S_2, \dots, S_{N_e}]^T \quad (3.31)$$

La décomposition matricielle de ce système n'est pas unique. Fang et al. ont décrit une méthode générale de décomposition intégrant un choix judicieux des espèces de bases [51].

Finalement, les équations du système 3.30 peuvent être classées en deux types selon que le terme de droite prend une valeur réelle ou infinie.

- Les  $N_b$  premières équations du système 3.30 constituent les équations de conservation de la masse.

$$\forall i \in \{1, N_b\}, \quad \frac{dC_i}{dt} - \sum_{j=1}^{N_e} \alpha_{ij} \frac{dS_j}{dt} = \sum_{j=1}^{N_k} \beta_{ij} r_j \quad (3.32)$$

- Les  $N_e$  dernières réactions du système 3.30 sont de la forme suivante.

$$\forall i \in \{1, N_e\}, \quad \sum_{j=1}^{N_e} \theta_{ij} \frac{dS_j}{dt} = \infty \quad (3.33)$$

Chacune de ces équations correspond à une réaction infiniment rapide qui peut être considérée constamment à l'équilibre. Ces  $N_e$  équations peuvent être remplacées par  $N_e$  lois d'action de masse.

$$\forall i \in \{1, N_e\}, \quad K_i = \prod_{j=1}^N (C_j \gamma_j)^{\nu_{ij}} \quad (3.34)$$

ou

$$\forall i \in \{1, N_e\}, \quad S_i = \frac{K_i}{\gamma_i} \prod_{j=1}^{N_b} (C_j \gamma_j)^{\nu_{ij}} \quad (3.35)$$

On arrive finalement au *système d'équations algébro-différentielles* suivant :

$$\forall i \in \{1, N_b\}, \quad \frac{dC_i}{dt} - \sum_{j=1}^{N_e} \alpha_{ij} \frac{dS_{j(C)}}{dt} = \sum_{j=1}^{N_k} \beta_{ij} r_{j(C)} \quad (3.36)$$

Pour lequel les espèces dérivées  $S$  dépendent des concentrations  $C$  selon les lois d'action de masse et les vitesses de réaction  $r$  dépendent des concentrations  $C$  par les lois cinétiques.

### 3.2.3 Les méthodes de résolution

Un système mêlant équilibre et cinétique (équations 3.36) est en général résolu en le scindant en deux étapes : une étape pour la résolution des équilibres et une pour la résolution des cinétiques. En effet, en utilisant la définition des concentrations totales en espèces de bases  $T$ , le système précédent peut encore s'écrire :

$$\forall i \in \{1, N_b\}, \quad T_i = C_i - \sum_{j=1}^{N_e} \alpha_{ij} S_{j(C)} \quad (3.37)$$

$$\forall i \in \{1, N_b\}, \quad \frac{dT_i}{dt} = \sum_{j=1}^{N_k} \beta_{ij} r_{j(C)} \quad (3.38)$$

L'équation 3.37 permet de calculer les concentrations de toutes les espèces  $C$  et  $S$  du système à partir des concentrations totales  $T$ . L'équation 3.38 permet de calculer l'évolution des concentrations totales  $T$  à partir de la formulation des cinétiques  $r$ . Les cinétiques dépendent des espèces  $C$  et  $S$  du système. Les espèces dérivées  $S$  s'exprimant en fonction des espèces de bases  $S$ , les cinétiques ne dépendent que des espèces  $C$ . Les deux étapes doivent donc être résolues itérativement. En pratique elles peuvent être couplées séquentiellement [70] ou itérativement [61, 132, 50, 94]. Un couplage séquentiel réalise à chaque pas de temps un calcul d'équilibres et une mise à jour des cinétiques. Un couplage itératif passe au pas de temps suivant uniquement lorsque la répétition des calculs d'équilibres et cinétiques aboutit à une convergence. Cette deuxième méthode est plus gourmande en temps de calcul mais aboutit à une solution plus précise. On ne décrira ici que la méthode itérative, la méthode séquentielle est obtenue en ne faisant qu'un seul passage dans la boucle itérative.

La résolution de l'équation 3.37 se fait par une méthode de Newton Raphson qui a été détaillée précédemment (paragraphe 3.1). La résolution des cinétiques (équation 3.38) se fait par discrétisation temporelle. Par discrétisation implicite selon un schéma

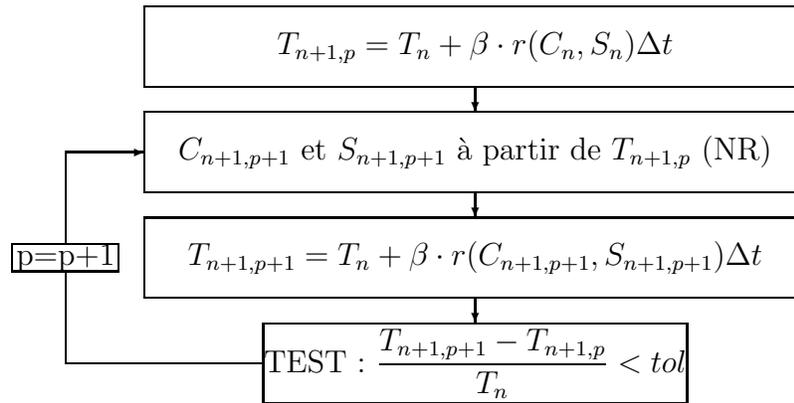
d'Euler, on peut écrire l'équation permettant de passer du pas de temps  $n$  au pas de temps  $n + 1$ . En notation matricielle, on obtient :

$$T_{n+1} = T_n + \Delta t \beta \cdot r_{n+1} \quad (3.39)$$

La solution  $T_{n+1}$  est obtenue par itérations successives d'indice  $p$  de l'équation suivante.

$$T_{n+1,p+1} = T_n + \Delta t \beta \cdot r_{n+1,p} \quad (3.40)$$

Le calcul d'équilibre permet de calculer les concentrations de toutes les espèces à partir des valeurs des concentrations totales  $T$ . Les vitesses  $r$  peuvent alors être réévaluées pour l'itération suivante. L'itération est arrêtée lorsque l'erreur sur les concentrations totales  $T$  devient acceptable vis-à-vis d'une certaine tolérance. Le schéma général de résolution est représenté sur la figure 3.5.



**Fig. 3.5** – Schéma de résolution en deux étapes couplées itérativement (sur  $p$ ), permettant de résoudre les systèmes mixtes équilibre-cinétique du pas de temps  $n$  au pas de temps  $n + 1$ . La résolution de Newton-Raphson (NR) n'est pas explicitée.  $C$  vecteur des concentrations des espèces de bases ;  $T$  vecteur des concentrations totales ;  $S$  vecteur des concentrations des espèces dérivées ;  $\beta$  matrice des coefficients stoechiométriques des cinétiques.

BIOKEMOD [61, 132, 50, 94] utilise une méthode en deux étapes itératives dans laquelle les cinétiques (calcul des nouveaux totaux) sont résolues par une méthode d'Euler. Pour le couplage avec le transport, cette méthode est remplacée par une méthode de résolution mixte cinétique-transport.

FEREACT [142] utilise une méthode en deux étapes itératives. Les cinétiques sont résolues avec le transport par une méthode originale, tandis que les équilibres sont résolus par la méthode de NR.

RAFT [33] utilise une résolution de DAE par 'a backward Euler discretisation' et une résolution soit par 'an affine-invariant newton' soit par 'a Newton homotopy solver'.

MINTEQA2 [70] utilise une méthode en deux étapes séquentielles : les équilibres par NR; transport et réactions par 'a stiff ordinary differential equations sytem solver SFODE'

CONTRASTE [127] résout séquentiellement le transport puis les réactions. Le système réactionnel couplant cinétique et équilibre est résolu par une méthode de NR.

La résolution de NR de CHESS peut être couplée à des modules de transport variés (METIS, R2D2, ...). L'implémentation d'une méthode résolvant cinétiques et équilibres de façon séquentielle rend incertain et délicat le maintien de ces différents couplages. Pour étendre CHESS à la prise en compte des cinétiques biologiques, les cinétiques sont résolues avec les équilibres par la méthode de NR. Une dérivation analytique des lois cinétiques sélectionnées par l'utilisateur permet d'intégrer les cinétiques à la matrice jacobienne. Cette méthode est décrite ci-dessous.

### 3.2.4 La résolution du système d'équations avec CHESS

Récrivons les équations fondamentales 3.36 en remplaçant les vitesses de réactions  $r$  par les avancements de réaction  $\xi$  :

$$\forall j \in \{1, N_b\}, \quad \frac{dC_j}{dt} - \sum_{i=1}^{N_e} \alpha_{ij} \frac{dS_i}{dt} = \sum_{i=1}^{N_k} \beta_{ij} \frac{d\xi_i}{dt} \quad (3.41)$$

Afin de calculer les concentrations au temps  $n + 1$  en fonction des concentrations au temps  $n$ , l'équation précédente est discretisée sur le pas de temps  $\Delta t$  :

$$\forall j \in \{1, N_b\}, \quad C_j^{n+1} - C_j^n - \sum_{i=1}^{N_e} \alpha_{ij} (S_i^{n+1} - S_i^n) = \sum_{i=1}^{N_k} \beta_{ij} \Delta \xi_i \quad (3.42)$$

où  $\Delta \xi_i$  représente l'avancement de la réaction  $i$  durant le pas de temps  $\Delta t$ . Dans cette équation, les concentrations  $C_j^{n+1}$  sont les inconnues. Les concentrations des différentes espèces aux pas de temps précédents ( $C^n$  et  $S^n$ ) sont connues et peuvent être rassemblées pour former les concentrations totales du pas de temps précédent  $T^n$  :

$$\forall j \in \{1, N_b\}, \quad C_j^{n+1} - \sum_{i=1}^{N_e} \alpha_{ij} S_i^{n+1} = T_j^n + \sum_{i=1}^{N_k} \beta_{ij} \Delta \xi_i \quad (3.43)$$

$$\text{avec } T_j = C_j - \sum_{i=1}^{N_e} \alpha_{ij} S_i \quad (3.44)$$

Les avancements de réaction  $\Delta \xi_i$  sont définis par les lois cinétiques  $r_{(C)}$  selon l'équation :

$$\forall i \in \{1, N_k\}, \quad \Delta \xi_i = \int_{t_n}^{t_{n+1}} r_{i(C)} dt \quad (3.45)$$

Par discrétisation selon un schéma d'Euler implicite, les avancements de réaction  $\Delta \xi_i$  s'expriment en fonction des concentrations des espèces de bases au temps  $n + 1$  :

$$\forall i \in \{1, N_k\}, \quad \Delta \xi_i \simeq r_i(C^{n+1}) \Delta t \quad (3.46)$$

Plus le pas de temps  $\Delta t$  est petit, plus cette équation est exacte. En pratique, la validité de cette approximation est testée en s'assurant que le rapport des avancements de réactions sur les concentrations totales soit inférieur à une tolérance  $tol$  fixée par l'utilisateur :

$$\forall j \in \{1, N_b\}, \quad \frac{\sum_{i=1}^{N_k} \beta_{ij} \xi_i}{T_j} < tol \quad (3.47)$$

Le même type d'approximation est réalisé dans la résolution en deux étapes. Pour calculer les concentrations du pas de temps suivant à partir des concentrations du pas de temps précédent, le système d'équations à résoudre se met donc sous la forme :

$$\forall j \in \{1, N_b\}, \quad C_j^{n+1} - \sum_{i=1}^{N_e} \alpha_{ij} S_i^{n+1} = T_j^n + \sum_{i=1}^{N_k} \beta_{ij} r_i(C^{n+1}) \Delta t \quad (3.48)$$

Comme précédemment, les concentrations des espèces dérivées  $S_i^{n+1}$  peuvent être exprimées en fonction des concentrations des espèces de bases  $C_j^{n+1}$  par les lois d'action de masse :

$$\forall i \in \{1, N_e\}, \quad S_i^{n+1} = \frac{K_i}{\gamma_i} \prod_{j=1}^{N_b} (C_j^{n+1})^{\nu_{ij}} \quad (3.49)$$

Le système d'équations 3.48 est de la forme  $F(C) = 0$ , où  $C$  est le vecteur des concentrations des espèces de base et  $F$  est un vecteur des fonctions  $F_j$  défini par :

$$\forall j \in \{1, N_b\}, \quad F_j(C) = T_j - C_j + \sum_{i=1}^{N_e} \alpha_{ij} S_i(C) + \Delta t \sum_{i=1}^{N_k} \beta_{ij} r_i(C) \quad (3.50)$$

De la même façon que pour les équilibres seuls, ce système peut être résolu par une méthode de Newton-Raphson. La structure de la Jacobienne doit néanmoins être modifiée puisque les termes de cette matrice  $J_{m,n}$  sont désormais définis par :

$$\forall m \in \{1, N_b\}, \quad \forall n \in \{1, N_b\},$$

$$\frac{\partial F_m(C)}{\partial C_n} = -\frac{\partial C_m}{\partial C_n} + \sum_{i=1}^{N_e} \alpha_{in} \frac{\partial S_i(C)}{\partial C_n} + \Delta t \sum_{i=1}^{N_k} \beta_{in} \frac{\partial r_i(C)}{\partial C_n} \quad (3.51)$$

La jacobienne dépend des dérivées partielles (par rapport aux espèces de base  $C_j$ ) à la fois des lois d'action de masse ( $S_i(C)$ ) et des lois cinétiques ( $r_i(C)$ ). Les dérivées partielles des lois d'action de masse ont déjà été évaluées dans le cas d'un calcul d'équilibre (équation 3.23). Afin de les introduire dans la structure de calcul de la jacobienne, les dérivées partielles des lois cinétiques sont définies comme la combinaison linéaire de  $N_v$  fonctions  $V(C)$  :

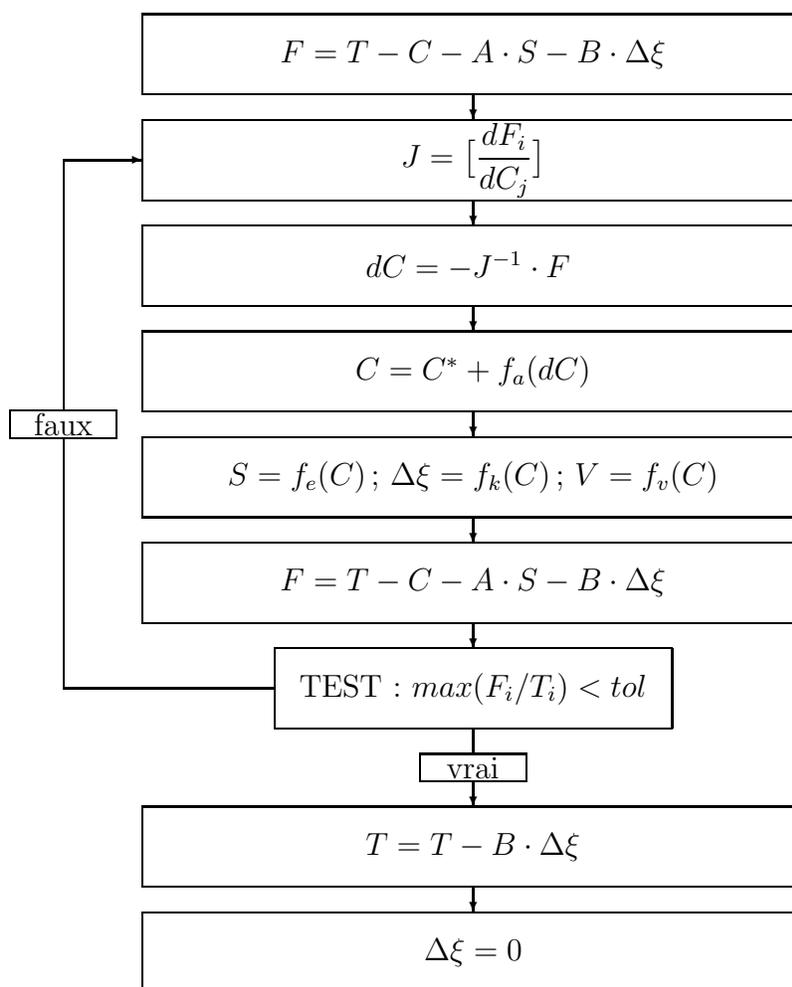
$$\frac{\partial r_i}{\partial C_n} = \frac{1}{C_n} \sum_{k=1}^{N_v} \zeta_{ik} V_k(C) \quad (3.52)$$

Les fonctions  $V$  sont appelées espèces virtuelles car elles sont réévaluées dans la boucle de Newton-Raphson à chaque modification des concentrations des espèces de base, c'est à dire en même temps que les concentrations des espèces dérivées  $S$ . Le schéma de résolution est présenté sur la figure 3.6. Les constantes  $\zeta$  et les  $N_v$  espèces virtuelles  $V$  sont décrites par les définitions des lois cinétiques utilisables par CHESS (paragraphe 3.2.5). Ces définitions permettent d'exprimer la jacobienne sous la forme suivante :

$$\forall m \in \{1, N_b\}, \quad \forall n \in \{1, N_b\},$$

$$J_{m,n}(C) = \begin{cases} \frac{1}{C_n} \sum_{i=1}^{N_e} \alpha_{in} \nu_{in} S_i + \frac{\Delta t}{C_n} \sum_{i=1}^{N_k} \sum_{k=1}^{N_v} \beta_{mj} \zeta_{ik} V_k - 1 & \text{si } m = n \\ \frac{1}{C_n} \sum_{i=1}^{N_e} \alpha_{in} \nu_{in} S_i + \frac{\Delta t}{C_n} \sum_{i=1}^{N_k} \sum_{k=1}^{N_v} \beta_{mj} \zeta_{ik} V_k & \text{si } m \neq n \end{cases} \quad (3.53)$$

Les opérations réalisées dans le code CHESS sont résumées sur la figure 3.6.



**Fig. 3.6** – Schéma de Newton-Raphson modifié, implémenté dans CHESS et permettant de résoudre les systèmes couplés cinétique-équilibre.  $C$  vecteur des concentrations des espèces de base;  $C^*$  sauvegarde du vecteur précédent pour le pas de temps précédent;  $T$  vecteur des concentrations totales;  $S$  vecteur des concentrations des espèces dérivées;  $\xi$  vecteur des avancements de réactions;  $V$  vecteur des espèces virtuelles;  $A$  et  $B$  matrices des coefficients stoechiométriques des équilibres et des cinétiques respectivement;  $F$  vecteur des restes;  $J$  matrice jacobienne.

Le pas de temps de calcul doit être suffisamment petit pour que le calcul de  $\xi$  soit précis, et suffisamment grand pour que les réactions les plus rapides puissent être

considérées à l'équilibre.

Une cinétique est définie par une réaction stoechiométriquement équilibrée ne faisant intervenir que des espèces de base, et une vitesse de réaction sous forme d'une fonction des espèces (de base ou dérivées) selon des lois cinétiques. On remarque que dans cette méthode de résolution, les avancements de réaction  $\xi$  ont la même place que les espèces dérivées  $S$ . Si il y a dans la réaction cinétique, une espèce qui n'intervient dans aucune loi d'action de masse, ni dans aucune autre loi cinétique du système, alors la cinétique peut être calculée par cette espèce dérivée plutôt que par un avancement de réaction  $\xi$ . C'est le cas des réactions cinétiques de précipitation-dissolution, pour lesquelles l'espèce solide remplace l'avancement de la réaction dans le calcul de Newton-Raphson.

Si la résolution du système d'équation aboutit au pas de temps suivant à une concentration totale négative, alors la résolution est recommencée avec un pas de temps plus petit. Ce dernier est choisi de telle sorte qu'à l'issue du calcul la concentration totale problématique soit nulle. Une nouvelle résolution est alors entamée sur le reste du pas de temps d'origine.

### 3.2.5 La formulation cinétique de CHESS

De très nombreuses lois sont utilisées pour les réactions microbiologiques. Parmi les plus utilisées, on trouve par exemple la loi de Monod, la loi d'inhibition non-compétitive et la loi énergétique. D'autres lois sont également nécessaires pour les réactions de précipitation-dissolution par exemple. Pour pouvoir paramétrer et utiliser toutes ces lois, la formulation cinétique générale de CHESS se présente sous la forme suivante :

$$r = \sum_i k_i W_i Y_i M_i E_i \quad (3.54)$$

avec  $k$  une constante cinétique et les termes  $W$ ,  $Y$ ,  $M$  et  $E$  définis ci-dessous.

#### *Le terme $W$*

La cinétique d'une réaction chimique élémentaire s'écrit en général comme le produit des activités des réactifs. Le terme  $W$  permet de paramétrer une telle loi. Il est défini par :

$$W = \prod_k S_k^{\alpha_k} \quad (3.55)$$

avec  $S$  la concentration d'une espèce dérivée ou d'une espèce de base et  $\alpha$  une constante positive ou négative. Ce terme sera par exemple utilisé pour prendre en compte la concentration bactérienne du milieu (paragraphe 2.3.2).

### ***Le terme $Y$***

Les cinétiques de précipitation-dissolution s'écrivent en général en fonction du degré de saturation  $\Omega$  de la phase minérale qui est défini par rapport à la constante de solubilité  $K$  et le produit d'activité ionique (paragraphe 2.2.5)

$$\Omega = K \prod_k C_k^{\nu_k} \quad (3.56)$$

Le terme  $Y$  permet de paramétrer les lois cinétiques dans le cas d'une dissolution ( $Y_{dissol}$ ) ou d'une précipitation ( $Y_{precipit}$ ). Il est défini par les expressions suivantes :

$$Y_{dissol} = \begin{cases} (1 - \Omega^a)^b & \text{si } \Omega < 1 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (3.57)$$

$$Y_{precipit} = \begin{cases} (\Omega^c - 1)^d & \text{si } \Omega > 1 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (3.58)$$

Les paramètres  $a$ ,  $b$ ,  $c$  et  $d$  permettent d'ajuster la loi cinétique selon les besoins de l'utilisateur.

### ***Le terme $M$***

Les lois de Monod et les lois d'inhibition non-compétitives sont particulièrement utilisées dans les cinétiques microbiologiques. La loi cinétique définie par Hill (équation 2.45) permet d'obtenir ces deux lois (et d'autres) selon la valeur du paramètre non-nul  $a$ . C'est une loi de Monod si  $a = 1$  et une loi d'inhibition non compétitive si  $a = -1$ . Dans de nombreux cas, les cinétiques microbiologiques utilisent un produit de termes de Monod (et/ou également un produit de termes d'inhibition). Le terme général  $M$  est défini par :

$$M = \prod_i \left( \frac{S_i^{a_i}}{K_i^{a_i} + S_i^{a_i}} \right)^{b_i} \quad (3.59)$$

avec  $S$  la concentration d'une espèce (de base ou dérivée) et  $K$  la constante de demi-saturation. Les paramètres  $a_i$  et  $b_i$  permettent d'ajuster la loi cinétique selon les besoins de l'utilisateur.

**Le terme  $E$  (dit thermodynamique)**

Lorsque une réaction est à la fois contrôlée par une cinétique et suffisamment proche de l'état d'équilibre, un terme thermodynamique est pris en compte dans la cinétique (paragraphe 2.2.5). Celui-ci est de la forme :

$$E = \begin{cases} 1 - \exp\left(\frac{\Delta G - \Delta G_{min}}{\chi RT}\right) & \text{si } \Delta G < \Delta G_{min} \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (3.60)$$

où  $\Delta G$  représente l'énergie libre de réaction dans le sens de la cinétique ( $\Delta G < 0$ ),  $\Delta G_{min}$  l'énergie libre minimale nécessaire pour que la réaction puisse avoir lieu ( $\Delta G_{min} < 0$ ) et  $\chi$  le nombre stoechiométrique moyen. L'énergie libre  $\Delta G$  est défini par la loi de Nernst :

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln\left(\prod_k (\gamma_k C_k)^{\nu_k}\right) \quad (3.61)$$

avec  $\nu_k$  le coefficient stoechiométrique algébrique de l'espèce de base  $C_k$  dans la réaction ( $\nu_k < 0$  si  $C_k$  disparaît durant la cinétique). Pour rendre cette expression plus lisible, on définit  $\Omega$  par :

$$\Omega = K \prod_k C_k^{\alpha_k} \quad (3.62)$$

$$\text{avec } K = \prod_k \gamma_k^{\alpha_k} \exp\left(\frac{\Delta G^0 - \Delta G_{min}}{\chi RT}\right) \quad (3.63)$$

$$\text{et } \alpha_k = \nu_k / \chi \quad (3.64)$$

D'après cette définition, le terme  $E$  s'écrit :

$$E = \begin{cases} 1 - \Omega & \text{si } \Omega < 1 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (3.65)$$

La même réaction dans le sens inverse peut être contrôlée par une cinétique. Le terme thermodynamique de celle-ci est alors défini par :

$$E = \begin{cases} 1 - \frac{1}{\Omega} & \text{si } \Omega > 1 \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (3.66)$$

### 3.3 Conclusion

La méthode de résolution qui vient d'être explicitée permet de modéliser des systèmes biogéochimiques complexes couplant des équilibres et des cinétiques. Toutes les possibilités de CHESS disponibles avant cette extension ont été maintenues, en particulier le couplage avec le transport qui sera abordé au paragraphe 4.3. La formulation cinétique est suffisamment générale pour modéliser les réactions de catabolisme et d'anabolisme, qu'elles soient contrôlées par la thermodynamique, par la disponibilité des réactifs et/ou par la concentration bactérienne. Les exemples et les applications des chapitres suivant permettront d'entrevoir les possibilités de cet outil.



## 4 Exemples et démonstrations

**Objectif :** Au travers de quelques exemples, le code CHESS nouvellement complété par les cinétiques microbiologiques est testé. On vérifie particulièrement le terme de Monod et le terme thermodynamique, les autres lois cinétiques ayant déjà été utilisées. Un essai de couplage avec le transport permet également de vérifier le maintien de cette option durant l'extension du code. Enfin, ces quelques exemples permettront d'entrevoir les possibilités de CHESS en microbiologie.

Dans la formulation cinétique de CHESS (paragraphe 3.2.5), les termes W et Y ne sont pas spécifiques aux activités biologiques et ont déjà été utilisés. Dans ce chapitre, quelques exemples d'applications des termes M et E permettront de donner un aperçu des possibilités de CHESS.

### 4.1 Les cinétiques enzymatiques

Une réaction de transformation d'un substrat S en un produit P, catalysée par une enzyme E, est modélisée avec CHESS de trois façons différentes. Ces systèmes étant équivalents, leur comparaison permettra de valider l'implémentation des lois cinétiques de CHESS et notamment la loi de Monod .

- La première façon suit l'approche de Briggs et Haldane [20]. Elle consiste à définir un système de deux réactions cinétiques successives :



La formation du complexe enzyme-substrat ES est une réaction cinétique réversible caractérisée par deux constantes cinétiques  $k_1$  et  $k_{-1}$ . Ce complexe se dissocie en formant le produit P par une réaction cinétique irréversible caractérisée par une constante cinétique  $k_2$ . Cette approche conceptuelle s'écrit par le système d'équations suivant :

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[ES] \quad (4.2)$$

$$\frac{d[S]}{dt} = k_{-1}[ES] - k_1[E][S] \quad (4.3)$$

$$\frac{d[ES]}{dt} = -(k_{-1} + k_2)[ES] + k_1[E][S] \quad (4.4)$$

$$\frac{d[E]}{dt} = (k_{-1} + k_2)[ES] - k_1[E][S] \quad (4.5)$$

Ce système est résolu par CHESS en utilisant des cinétiques définies par des termes W (paragraphe 3.2.5).

- La deuxième façon suit l'approche de Michaelis et Menten [109]. Elle ressemble à l'approche précédente, en considérant que la réaction de formation du complexe enzyme-substrat ES est suffisamment rapide pour être considérée à l'équilibre. Le mécanisme réactionnel est le suivant :



L'équilibre de formation du complexe enzyme substrat fait intervenir une constante de formation  $K$  définie par une loi d'action de masse. Le système d'équations est composé de l'équation 4.2 et des trois équations suivantes :

$$[ES] = K[E][S] \quad (4.7)$$

$$\frac{d[S]_T}{dt} = \frac{d[S]}{dt} + \frac{d[ES]}{dt} = -k_2[ES] \quad (4.8)$$

$$\frac{d[E]_T}{dt} = \frac{d[E]}{dt} + \frac{d[ES]}{dt} = 0 \quad (4.9)$$

Ce système d'équations est résolu avec CHESS en utilisant le couplage équilibres-cinétiques et une cinétique caractérisée par un terme W (paragraphe 3.2.5).

- La troisième façon suit l'approche de Monod [111]. Elle consiste à contrôler la réaction globale par une loi de Monod sur le substrat. Le mécanisme réactionnel ne fait intervenir qu'une seule réaction :



Le système d'équations à résoudre est désormais :

$$-\frac{d[S]_T}{dt} = \frac{d[P]}{dt} = k \frac{[S]_T}{K_m + [S]_T} \quad (4.11)$$

Ce système d'équations est résolu par CHESS en utilisant une cinétique caractérisée par un terme M (paragraphe 3.2.5).

Vérifions que ces trois systèmes d'équations sont similaires, c'est à dire qu'une loi de type Monod peut être retrouvée à partir des systèmes d'équations définis pour l'approche de Briggs et Haldane et pour l'approche de Michaelis et Menten. Dans cette dernière, le système formé par les équations 4.2, 4.9 et 4.7 permet d'écrire la cinétique de formation du produit P par :

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[E]_T \frac{[S]}{1/K + [S]} \quad (4.12)$$

Pour l'approche de Briggs et Haldane, l'approximation de l'état quasi-stationnaire définie par Bodenstein permet d'annuler l'équation 4.4. Cette approximation permet de transformer le système formé par les équations 4.2 à 4.5 en une cinétique de formation du produit P de la forme :

$$\frac{d[P]}{dt} = k_2[E]_T \frac{[S]}{\frac{k_1}{k_{-1}+k_2} + [S]} \quad (4.13)$$

Avec l'hypothèse  $[S]_T \gg [E]_T$ , l'équation de conservation du substrat peut se simplifier selon l'équation :

$$[S]_T = [S] + [ES] \simeq [S] \quad (4.14)$$

D'après les équations 4.13, 4.12 et 4.11, les modélisations des trois approches précédentes seront identiques si les hypothèses suivantes sont vérifiées :

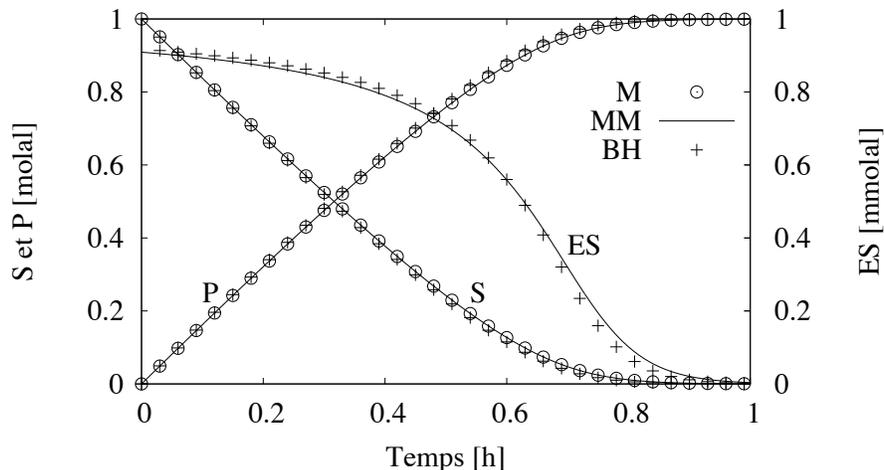
$$k = k_2[E]_T \quad (4.15)$$

$$K_m = \frac{1}{K} = \frac{k_1}{k_{-1} + k_2} \quad (4.16)$$

$$k_1 \gg k_2 \quad (4.17)$$

$$[S]_T \gg [E]_T \quad (4.18)$$

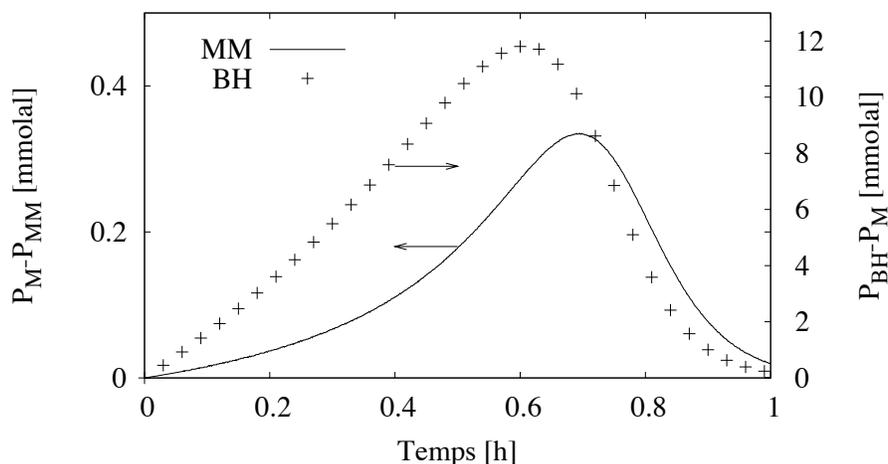
$$\frac{d[ES]}{dt} = 0 \quad (4.19)$$



**Fig. 4.1** – Évolution des concentrations totales en substrat S, en produit P pour les approches de Michaelis et Menten (MM), Briggs et Haldane (BH), et Monod (M). Pour les deux premières approches, l'évolution de la concentration en complexes enzyme-substrat ES est également représentée.

Les paramètres des modélisations sont fixés afin de satisfaire les hypothèses précédentes. Les trois systèmes sont initialement constitués des concentrations totales  $[S]_T = 1$  molal,  $[P]_T = 0$  molal. L'approche de Monod est caractérisée par deux paramètres : la constante cinétique  $k = 0.5$  mmolal/s et la constante de demi-saturation  $K_m = 0.1$  molal. L'approche de Michaelis et Menten est caractérisée par trois paramètres : une constante d'équilibre  $K = 10$ , une constante cinétique  $k_2 = 0.5$  s<sup>-1</sup>, et la concentration totale en enzyme  $[E]_T = 1$  mmolal. L'approche de Briggs et Haldane est caractérisée par quatre paramètres : trois constantes cinétiques  $k_1 = 50$  molal<sup>-1</sup>.s<sup>-1</sup>,  $k_{-1} = 4.5$  s<sup>-1</sup> et  $k_2 = 0.5$  s<sup>-1</sup>, et la concentration totale en enzyme  $[E]_T = 1$  mmolal.

Les modélisations, présentées sur la figure 4.1, montrent des évolutions identiques des concentrations totales en substrat et en produit. Néanmoins de faibles différences doivent être observées du fait des diverses approximations effectuées. L'écart entre la modélisation de la loi de Monod et les modélisations tenant compte de l'enzyme est apprécié par le calcul de la différence des concentrations en produit issues des trois approches (figure 4.2). Dans cette étude, les différences relatives des concentrations en produit sont de 1.4 % pour la modélisation de Briggs et Haldane et de 0.04 % pour la modélisation de Michaelis et Menten.



**Fig. 4.2** – Écart entre la concentration en produit calculée par l'approche de Michaelis-Menten  $P_{MM}$  (ou l'approche de Briggs-Haldane  $P_{BH}$ ) et celle calculée par l'approche de Monod  $P_M$ .

Au fur et à mesure de la disparition du substrat, l'approximation  $[S]_T \gg [E]_T$  est de moins en moins vraie et l'écart augmente entre les modélisations tenant compte de l'enzyme et la modélisation de la loi de Monod. Pour un temps infini les trois modélisations tendent vers une concentration en substrat nulle et une concentration en produit égale à la concentration initiale en substrat. L'écart entre les modélisations tend donc vers zéro.

L'équivalence entre l'approche de Briggs et Haldane et celle de Monod nécessite, en plus, que l'approximation de l'état quasi-stationnaire soit respectée (équation 4.19). Or la concentration en complexe ES évolue au cours du temps (figure 4.1). Cette approximation est en général considérée vraie après l'étape transitoire initiale, marquée par la cinétique de formation du complexe ES, et avant l'étape de dissociation de l'enzyme due à la disparition du substrat. Dans notre étude, l'état quasi-stationnaire peut être considéré comme respecté de quelques secondes jusqu'à environ une demi-heure (figure 4.1). Cette approximation explique les différences observées entre l'approche de Briggs et Haldane et l'approche de Michaelis et Menten (figure 4.2).

CHESS permet donc de modéliser les cinétiques enzymatiques de différentes façons. La loi de Monod utilise différentes approximations, en particulier le fait de négliger la concentration en enzyme par rapport à celle du substrat. Cette approximation est souvent valable *in vitro*, mais n'est pas toujours vraie *in vivo*. Mais la loi de Monod a l'avantage d'utiliser moins de paramètres, ce qui est intéressant lorsqu'elle est utilisée de façon empirique pour une réaction globale dont le mécanisme réactionnel n'est pas

**Tab. 4.1** – Détails des réactions modélisées dans la simulation de la biodégradation du NitriloTriAcétate (NTA), d’après [132].

Réactions	Numéros	Paramètres
$\text{NTA}^{3-} + 3\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_3\text{NTA}$	(R1)	$\log K = 14.9$
$\text{NTA}^{3-} + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{NTA}^-$	(R2)	$\log K = 13.3$
$\text{NTA}^{3-} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HNTA}^{2-}$	(R3)	$\log K = 10.3$
$\text{NTA}^{3-} + \text{Co}^{2+} \rightleftharpoons \text{CoNTA}^-$	(R4)	$\log K = 11.7$
$2\text{NTA}^{3-} + \text{Co}^{2+} \rightleftharpoons \text{Co}(\text{NTA})_2^{4-}$	(R5)	$\log K = 14.5$
$\text{NTA}^{3-} + \text{H}_2\text{O} + \text{Co}^{2+} \rightleftharpoons \text{CoOHNTA}^{2-} + \text{H}^+$	(R6)	$\log K = 0.5$
$\text{Co}^{2+} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{CoOH}^+ + \text{H}^+$	(R7)	$\log K = -9.7$
$\text{Co}^{2+} + 2\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Co}(\text{OH})_2 + 2\text{H}^+$	(R8)	$\log K = -22.9$
$\text{Co}^{2+} + 3\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{Co}(\text{OH})_3^- + 3\text{H}^+$	(R9)	$\log K = -31.5$
$\text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{OH}^- + \text{H}^+$	(R10)	$\log K = -14$
$\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{H}^+$	(R11)	$\log K = -6.3$
$\text{H}_2\text{CO}_3 \rightleftharpoons \text{CO}_3^{2-} + 2\text{H}^+$	(R12)	$\log K = -16.5$
$0.055\text{HNTA}^{2-} + 0.0878\text{O}_2 + 0.023\text{H}^+ + 0.069\text{H}_2\text{O}$ $\rightarrow 0.032\text{B} + 0.17\text{H}_2\text{CO}_3 + 0.023\text{NH}_4^+$	(R13)	(eqn. (4.20))
$\text{B} \rightarrow \text{OM}$	(R14)	(eqn. (4.21))

connu.

## 4.2 La biodégradation du NTA

Bolton et al. ont étudié en réacteur parfaitement mélangé la biodégradation du NitriloTriAcétate (NTA) dans un milieu équimolaire de cobalt et de NTA [14]. Leurs résultats ont fait l’objet de plusieurs modélisations dont celle réalisée par Salvage et al. sur le logiciel BIOKEMOD [132]. Il s’agit d’un calcul couplé équilibres et cinétiques faisant intervenir des lois de Monod multiples. La même modélisation réalisée avec CHESS permettra de vérifier l’implémentation des lois de Monod multiples.

Le système est composé de cobalt et de NTA à des concentrations égales de  $5.23 \times 10^{-6}$  molar et à un pH fixe de 6.0. Dans ces conditions, l’espèce  $\text{CoNTA}^-$  est prédominante du total en NTA. On considère que seule l’espèce  $\text{HNTA}^{2-}$  est assimilable par les bactéries. La réaction réversible entre  $\text{CoNTA}^-$  et  $\text{HNTA}^{2-}$  est suffisamment rapide (par rapport à la cinétique de biodégradation) pour être considérée à l’équilibre. Douze réactions, résumées dans le tableau 4.1 sont utilisées dans la simulation.

La réaction du métabolisme est modélisée par la réaction (R13). Elle couple le cata-

bolisme (biodégradation) et l'anabolisme (formation de biomasse) par un rendement microbiologique fixe. Le catabolisme consiste en une oxydation complète de HNTA<sup>2-</sup> (C<sub>6</sub>H<sub>7</sub>O<sub>6</sub>N<sup>2-</sup>) en aérobie. L'anabolisme consiste en la biosynthèse de biomasse B de formule chimique C<sub>5</sub>H<sub>7</sub>O<sub>2</sub>N. La vitesse de cette réaction de métabolisme ( $r_{13}$  équation (4.20)) est paramétrée par une constante cinétique  $k_{13} = 2.59 \times 10^{-5}$  molar/s et deux lois de Monod sur le substrat ( $\kappa_s = 7.638 \times 10^{-7}$  molar) et sur l'accepteur d'électrons ( $\kappa_o = 6.25 \times 10^{-6}$  molar). L'activité de la biomasse est considérée égale à la concentration bactérienne, soit initialement  $[B]_0 = 10^{11}$  CFU/L (CFU signifie Colonie Formant Unité).

$$r_{13} = k_{13}\{B\} \frac{[\text{HNTA}^{2-}]}{\kappa_s + [\text{HNTA}^{2-}]} \frac{[\text{O}_2(\text{aq})]}{\kappa_o + [\text{O}_2(\text{aq})]} \quad (4.20)$$

La réaction de mort cellulaire (R14) est modélisée comme une transformation cinétique de la biomasse B en matière organique OM de même formule chimique. La cinétique de cette transformation  $r_{14}$  est proportionnelle à l'activité de la biomasse ( $k_{14} = 5.79 \times 10^{-7} \text{ s}^{-1}$ ).

$$r_{14} = k_{14}\{B\} \quad (4.21)$$

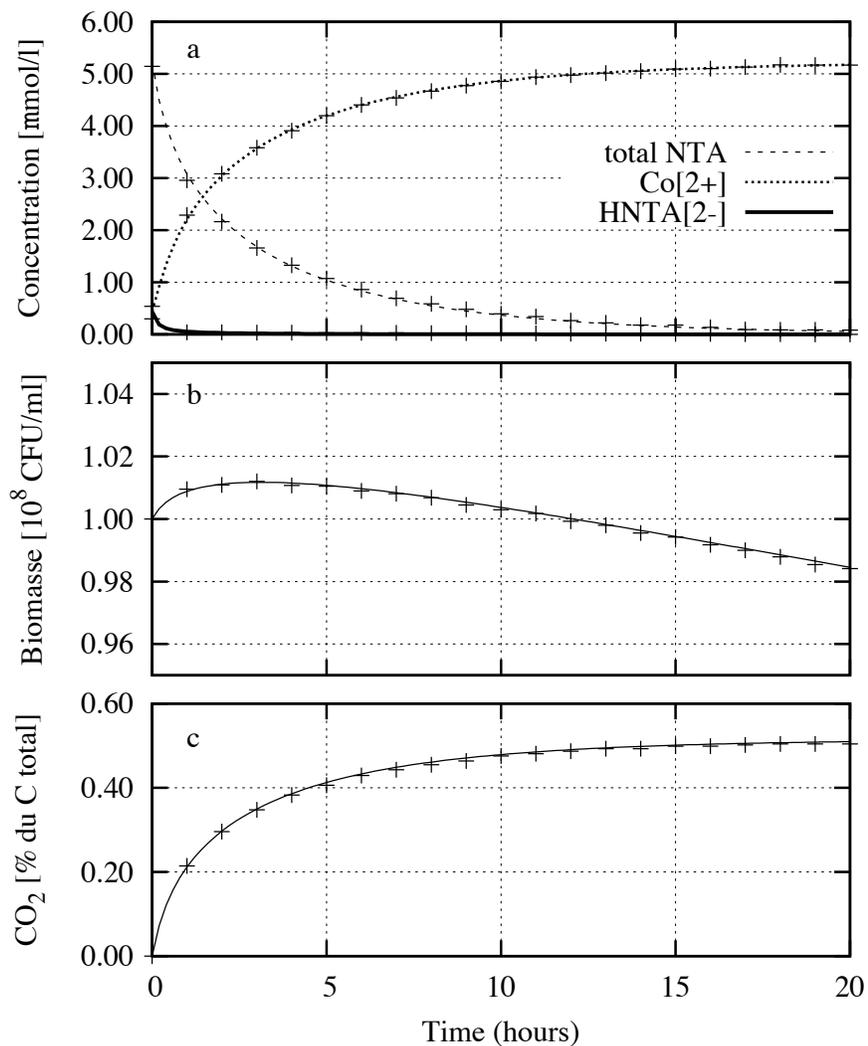
La figure 4.3 présente les résultats de simulation obtenus avec les deux codes. Ces résultats ne présentent pas de différences significatives, ce qui montre la bonne implémentation de CHESS en ce qui concerne les lois de Monod multiples. Dans cette modélisation, seule une espèce (HNTA<sup>2-</sup>) parmi la spéciation du NTA est considérée biodisponible. Une telle modélisation n'est possible qu'en couplant les équilibres chimiques et les cinétiques biologiques, ce qui est le cas pour CHESS.

### 4.3 Le couplage cinétique transport

Le code de calcul CHESS peut être couplé à un module de transport comme R2D2 [87]. Le couplage est réalisé par HYTEC qui permet d'échanger les informations entre le module de calcul réactionnel cinétique-équilibre (CHESS) et le module de calcul du transport (R2D2).

Dans un système couplant des processus réactionnels et de transport, l'évolution de la concentration de chaque espèce chimique suit une équation de conservation de la masse de la forme :

$$\frac{\partial wT}{\partial t} = \text{div}(D \overrightarrow{\text{grad}} C - C \vec{U}) + R \quad (4.22)$$



**Fig. 4.3** – Modélisation de la biodégradation du NTA dans un système CoNTA. Évolution (a) des concentrations en Co[2+] et en NTA total, (b) de la concentration bactérienne et (c) du dioxyde de carbone mesuré en pourcentage du total de carbone marqué  $^{14}\text{C}$ . La simulation CHES est présentée par les lignes et la simulation BIOKEMOD par les points, d'après [132].

avec  $T$  la concentration totale de l'espèce,  $C$  la concentration mobile de l'espèce,  $w$  la porosité,  $D$  le coefficient de diffusion,  $U$  la vitesse d'écoulement,  $R$  le terme source. L'équation 4.22 est discrétisée spatialement suivant les  $N$  éléments d'un maillage défini par l'utilisateur, et temporellement suivant un pas de temps  $\delta t$  variable.

Le couplage entre le transport et les réactions (chimiques et microbiologiques) est réalisé par une séparation des opérateurs. Chaque élément du maillage est caractérisé par une chimie calculée par CHESS selon les explications précédentes. Chaque espèce chimique est caractérisée par une équation de transport calculée par R2D2 sur l'ensemble du maillage.

Les calculs de transport et de réactions sont basés sur le même pas de temps. A chaque pas de temps, la chimie et le transport sont résolus itérativement jusqu'à convergence.

### *Une cinétique durant un transport 1D*

L'exemple suivant permet de tester le couplage entre la nouvelle version du module CHESS et le module de transport. On utilise une cinétique composée d'un terme thermodynamique (terme E du paragraphe 3.2.5). L'exemple concret choisi est la réaération d'un cours d'eau en dioxygène :



La concentration en oxygène de l'atmosphère est considérée constante. Le terme thermodynamique de la cinétique  $r$  n'est donc fonction que de la concentration en dioxygène dissous, noté  $C$ , et peut être défini par une constante cinétique  $k$  et une concentration saturante  $C_s$  :

$$r = k(1 - C/C_s) \quad (4.24)$$

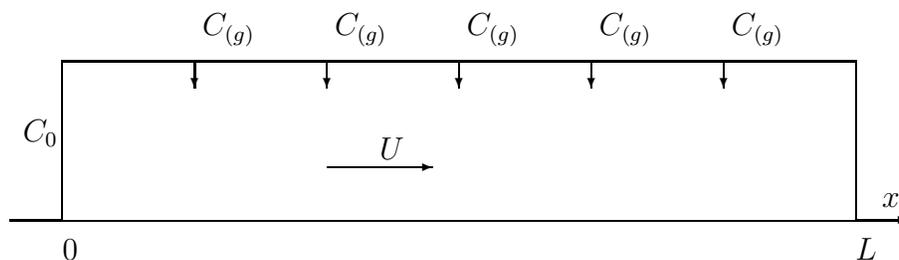
Cette réaction intervient dans un écoulement permanent 1D uniforme d'une longueur  $L$  (figure 4.3). Une concentration  $C_0$  est fixée à la limite gauche du système.

A l'état stationnaire, l'équation du transport (équation 4.22) s'écrit :

$$D \frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - U \frac{\partial C}{\partial x} + r = 0 \quad (4.25)$$

En négligeant le terme diffusif, une solution analytique simple s'écrit sous la forme :

$$C(x) = C_0 + (C_s - C_0)(1 - \exp(-kx/U)) \quad (4.26)$$



**Fig. 4.4** – Schéma conceptuel de la dissolution de l'oxygène atmosphérique  $C_{(g)}$  dans un écoulement 1D uniforme de vitesse  $U$ . Une concentration en oxygène dissous  $C_0$  est fixée à l'amont du système.

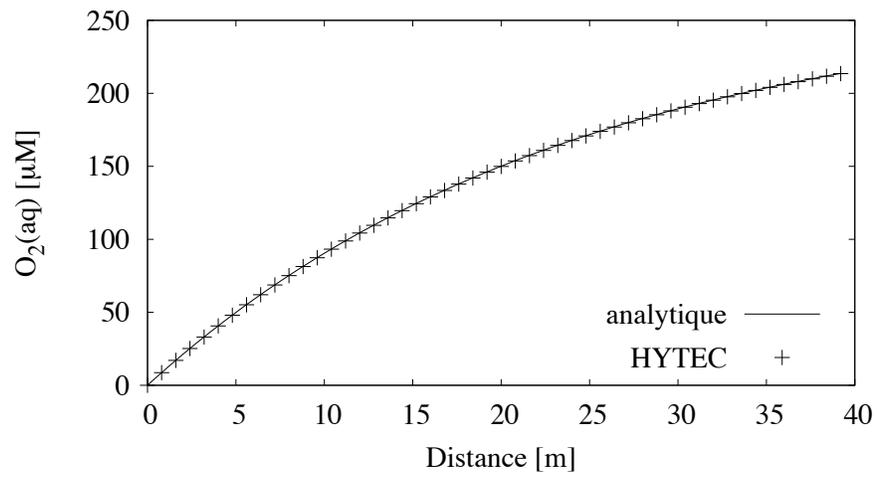
Les paramètres utilisés dans les modélisations sont les suivants :

Concentration fixée à la limite gauche	$C_0$	=	$0 \mu\text{molal}$
Concentration saturante	$C_s$	=	$265 \mu\text{molal}$
Constante cinétique de la dissolution	$k$	=	$1 \text{ s}^{-1}$
Vitesse d'écoulement	$U$	=	$24 \text{ m/h}$
Coefficient de diffusion	$D$	=	$10^{-9} \text{ m}^2/\text{s}$
Longueur du système	$L$	=	$40 \text{ m}$

La modélisation avec HYTEC utilise 300 mailles et atteint l'état stationnaire après environ 3 heures. La résolution numérique avec HYTEC est comparée à la solution analytique calculée pour l'état stationnaire (figure 4.5). Bien que la solution analytique ne tienne pas compte du terme de diffusion, aucune différence n'est observée entre les deux résultats.

## 4.4 Conclusion

Au travers de ces quelques exemples, les termes cinétiques E et M, nouvellement implémentés, ont été testés, tout en donnant un aperçu des possibilités de CHESSE et HYTEC. L'étude des cinétiques enzymatiques a permis d'entrevoir les différentes approximations réalisées lors des couplages équilibres-cinétiques. La biodégradation du NTA a permis de modéliser un métabolisme complet, incluant la croissance cellulaire. Enfin la dissolution du dioxygène a permis de tester le couplage de CHESSE avec un module de transport.



**Fig. 4.5** – Profil de la concentration en dioxygène  $C$  se dissolvant dans un écoulement 1D uniforme à l'état stationnaire (figure 4.3). Comparaison de la solution analytique (équation 4.26) et de la solution numérique (HYTEC).



## 5 Étude de la dissolution réductive biologique d'un hydroxyde de fer en présence d'arsenic.

**Objectif :** L'arsenic est un élément toxique naturellement très répandu qui pose des problèmes pour la santé humaine et pour l'environnement. Il se trouve souvent associé avec les hydroxydes de fer, dont la dissolution est en grande partie contrôlée par l'activité bactérienne. L'objectif de ce chapitre est d'étudier la dissolution d'un tel hydroxyde de fer, par l'interprétation, grâce au modèle CHESS, d'expériences de laboratoire.

### 5.1 Contexte

L'arsenic est un élément très répandu. Une forte concentration en arsenic dans l'eau naturelle pose des problèmes de santé pour l'homme et pour l'environnement [137]. La mobilité et la toxicité de l'arsenic dépendent largement de sa spéciation. En particulier l'As(III) est plus toxique que l'As(V). La mobilité de l'arsenic peut être réduite par la sorption ou la co-précipitation avec les hydroxydes de Fe(III) tels que la ferrihydrite ( $\text{Fe}(\text{OH})_3(\text{s})$ ) ou HFO pour Hydrous Ferric Oxide). L'activité biologique peut jouer un rôle important dans ces processus en modifiant la spéciation du fer et de l'arsenic.

Des expériences réalisées par le BRGM permettent d'étudier la réduction d'un hydroxyde de fer riche en arsenic par un consortium de bactéries ferro-réductrices [59]. On se propose de modéliser ces expériences afin de mieux comprendre le mécanisme réactionnel d'un tel processus.

### 5.2 Les expériences

#### *Les bactéries ferro- et arséno-réductrices*

Les bactéries ferro-réductrices sont les bactéries qui pratiquent la réduction dissimilatrice de fer (paragraphe 2.2.3). Elles sont répandues à travers un très large éventail phylogénétique (*Shewanella*, *Geobacter*, *Pelobacter*, *Pyrobaculum*) [98, 35, 81]. La réduction du fer est couplée à une oxydation de matière organique (peptone, glucose, lactate, acétate, pyruvate) ou à une oxydation de dihydrogène [26, 99, 131]. Leur activité peut provoquer la dissolution d'une phase solide de Fe(III) telle que la

goethite, l'hématite ou la ferrihydrite [95]. Elles sont anaérobies. La découverte de la réduction biologique de l'arsenic est plus récente. Quelques souches de bactéries ferro-réductrices ont révélé la capacité de réduire l'arsenic [90, 13].

Le consortium bactérien FR, utilisé dans cette étude, a été isolé à partir d'un sol contaminé en différents métaux lourds. Ces bactéries ont été sélectionnées sur milieu de Bromfield modifié (milieu de culture spécifique à la croissance des bactéries anaérobies ferro-réductrices [21]) pour leur capacité à réduire le Fe(III) [18, 19]. Des tests sur milieu sélectif ont montré que la population isolée est également capable d'utiliser l'arsenic comme accepteur d'électrons. A partir de ce consortium, 3 souches pures ont été isolées sur boîtes de Petri. Par analyses phylogénétiques de leur séquence d'ARN ribosomal, ces souches ont été identifiées comme *Sporolactobacillus nakayamae*, *Clostridium tyrobutyricum* et *Clostridium pasteurianum*. Cette dernière souche s'est révélée capable de réduire l'arsenic.

### ***La ferrihydrite arséniée***

La ferrihydrite arséniée est synthétisée par le BRGM en utilisant deux techniques : l'une favorisant la sorption, l'autre la co-précipitation [58, 159]. Dans ces protocoles de synthèse, le chlorate de fer est préféré aux nitrates de fer car les nitrates peuvent être utilisés comme accepteur d'électrons par les bactéries.

Des analyses par diffraction de rayons X (DRX) du minéral synthétisé montrent deux bandes diffuses à 2.55 et 1.45 angstrom, qui permettent de l'identifier comme de la 2-line ferrihydrite. L'extraction à l'acide chlorhydrique permet de mesurer la proportion d'arsenic et de fer de la phase minérale [65]. Quelle que soit la méthode de synthèse utilisée, le rapport molaire As/Fe est d'environ 5.5 %. Des analyses par X-ray Absorption Near Edge Structure (XANES) montrent que l'arsenic précipité ou sorbé est exclusivement au degré d'oxydation +5. De plus ces phases minérales contiennent une quantité d'eau d'environ 85-90 wt %.

Pour être utilisée dans les expériences de dissolution réductive biologique, la ferrihydrite ainsi synthétisée est stérilisée par 3 phases d'une heure à 100 °C séparées par des phases de refroidissement de 24 heures. Plusieurs auteurs rapportent une transformation de la ferrihydrite lors d'une augmentation de la température [38]. Mais la présence d'arsenic et de phosphate (issue du milieu de culture) stabilise la structure cristalline de la ferrihydrite et empêche sa transformation [156, 64]. Des tests permettent de vérifier que la ferrihydrite arséniée est stable même après stérilisation par chauffage.

La ferrihydrite est caractérisée par des groupes fonctionnels réactifs (-OH). De nombreuses molécules peuvent se sorber à sa surface. La complexation de surface peut modéliser la sorption. Suivant ce modèle, une base de données concernant la ferrihy-

drite a été élaborée par Dzombak et Morel [47]. Ce modèle, complété par la sorption de l'As(III), de l'As(V) [44], du Fe(II) et des carbonates [2], sera utilisé (tableau 5.1). La ferrihydrite a une grande surface spécifique et peut sorber de grandes quantités d'arsenic. Des valeurs d'absorptions maximales ont été rapportées de 0.31, 0.4 et 0.6 mol As/mol Fe pour l'As(III) et de 0.25 mol As/mol Fe pour l'As(V) [44, 125]. Ces valeurs sont bien supérieures au rapport molaire mesuré pour notre ferrihydrite arsénifiée (5.5 %). La complexation de surface suffit donc à expliquer la présence de fer lié à la ferrihydrite.

Les diverses analyses ne montrent pas de différence entre les phases minérales synthétisées par chacune des deux méthodes (favorisant la sorption ou la coprécipitation). Dans la suite, la modélisation sera identique qu'il s'agisse de ferrihydrite synthétisée par adsorption ou par co-précipitation. Dans les deux cas, le modèle de sorption de Dzombak et Morel sera considéré.

### *Le protocole expérimental*

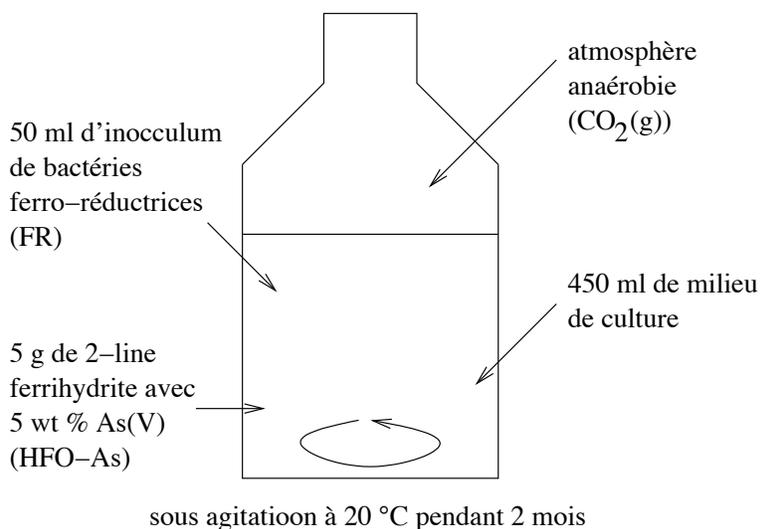
Pour les expériences biotiques, 50 ml d'une suspension du consortium bactérien FR sont mis en présence de 450 ml d'un milieu de culture et de 1 g ou 5 g de ferrihydrite arsénifiée (figure 5.1). Pour les expériences abiotiques ou expériences témoins, les 50 ml de suspension bactérienne sont remplacés par 50 ml de milieu de culture supplémentaire. Ce dernier contient entre autre de l'acétate et du lactate comme matière organique [6]. Le Fe(III) et l'As(V) contenus dans la ferrihydrite arsénifiée sont les seuls accepteurs d'électrons du système. Une culture bactérienne âgée joue le rôle d'inoculum. Elle permet d'obtenir une concentration bactérienne initiale d'environ  $1 \times 10^7$  B/ml mais apporte également d'autres éléments comme du Fe(II). Chaque expérience est mise à incuber pendant environ deux mois dans un flacon mélangé, à 20 °C et sous atmosphère de CO<sub>2</sub> (à la pression atmosphérique).

Quatre types d'expériences, notées CP1, CP5, AD1 et AD5, ont été réalisées en duplicats plus un témoin [59]. La ferrihydrite arsénifiée est issue soit d'une synthèse par adsorption (expériences AD) soit d'une synthèse par co-précipitation (expériences CP). Les analyses des phases solides synthétisées montrent que les expériences AD1 et CP1 contiennent 3.1 mM Fe et 0.17 mM As sous forme de ferrihydrite arsénifiée, tandis que les expériences AD5 et CP5 contiennent 15.3 mM Fe et 0.84 mM As sous forme de ferrihydrite arsénifiée.

Durant les deux mois d'incubation, 10 mL de surnageant sont prélevés chaque semaine et analysés. Le fer total est mesuré par spectrométrie d'absorption atomique avec une limite de détection de 0.06 mg/l. La concentration en Fe(II) a été mesurée par colorimétrie, c'est à dire par mesure d'absorbance à 562 nm après réaction avec la ferrozine [100, 81]. L'As(V) et l'As(III) sont séparés sur colonne anionique [78] et

**Tab. 5.1** – Réactions et constantes thermodynamiques utilisées pour la complexation à la surface de la ferrihydrite, d'après [47, 44, 2].

Réactions	log $K$ (25 C)
$\text{HFO(w/s)-O}^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{HFO(w/s)-OH}^-$	8.93
$\text{HFO(w/s)-OH}_2^+ \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{HFO(w/s)-OH}^-$	-7.29
$\text{HFO(w)-HAsO}_4^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{AsO}_4^- + \text{HFO(w)-OH}$	-5.15
$\text{HFO(w)-H}_2\text{AsO}_4 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{AsO}_4^- + \text{HFO(w)-OH} + \text{H}^+$	-10.95
$\text{HFO(w)-OHAso}_4^{3-} + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{AsO}_4^- + \text{HFO(w)-OH} + \text{H}^+$	7.78
$\text{HFO(w)-H}_2\text{AsO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{H}_2\text{AsO}_3^- + \text{HFO(w)-OH} + \text{H}^+$	-14.61
$\text{HFO(w)-HCO}_3 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{HFO(w)-OH} + \text{H}^+$	-10.04
$\text{HFO(w)-CO}_3^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HCO}_3^- + \text{HFO(w)-OH}$	-2.45
$\text{HFO(w)-OFe}^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+} + \text{HFO(w)-OH}$	2.98
$\text{HFO(w)-OFeOH} + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+} + \text{HFO(w)-OH} + \text{H}_2\text{O}$	11.55
$\text{HFO(s)-OFe}^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+} + \text{HFO(s)-OH}$	0.95
$\text{HFO(w)-H}_2\text{PO}_4 + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HPO}_4^{2-} + \text{HFO(w)-OH} + 2\text{H}^+$	-18.94
$\text{HFO(w)-HPO}_4^- + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HPO}_4^{2-} + \text{HFO(w)-OH} + \text{H}^+$	-13.04
$\text{HFO(w)-PO}_4^{2-} + \text{H}_2\text{O} \rightleftharpoons \text{HPO}_4^{2-} + \text{HFO(w)-OH}$	-5.37

**Fig. 5.1** – Schéma des expériences de dissolution réductive d'un hydroxyde de fer riche en arsenic réalisées aux BRGM.

**Tab. 5.2** – Constantes thermodynamiques des complexes de l'As(V) selon [158]

Réactions	log $K(25\text{ C})$
$\text{H}_3\text{AsO}_4(\text{aq}) \rightleftharpoons \text{H}^+ + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	2.24
$\text{HAsO}_4^{2-} + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	-6.96
$\text{AsO}_4^{3-} + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	-18.46
$\text{FeH}_2\text{AsO}_4^{2+} \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	4.04
$\text{FeHASO}_4^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	3.1017
$\text{FeAsO}_4(\text{aq}) + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	0.5455
$\text{FeH}_2\text{AsO}_4^+ + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	2.68
$\text{FeHASO}_4(\text{aq}) + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	-3.2183
$\text{FeAsO}_4^- + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	-11.2945
$\text{CaH}_2\text{AsO}_4^+ \rightleftharpoons \text{Ca}^{2+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	1.06
$\text{CaHASO}_4(\text{aq}) \rightleftharpoons \text{Ca}^{2+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	-4.086
$\text{CaAsO}_4^- + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Ca}^{2+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	-12.1345
$\text{MgH}_2\text{AsO}_4^+ \rightleftharpoons \text{Mg}^{2+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	1.52
$\text{MgHASO}_4(\text{aq}) + \text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Mg}^{2+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	-3.8983
$\text{MgAsO}_4^- + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Mg}^{2+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	-12.0145

quantifiés par spectrométrie d'absorption atomique avec une limite de détection de 1  $\mu\text{g/l}$ . La concentration bactérienne est suivie par comptage au microscope sur cellule de Thoma. Le pH et le potentiel redox sont également suivis.

### 5.3 La spéciation initiale

Un calcul de spéciation est réalisé pour l'état initial de l'expérience CP5. Le script d'entrée de CHESS pour ce calcul est présenté sur la figure 5.2. Les constantes thermodynamiques sont issues de la base de données du CTDP [151]. Cette base de données est complétée par les complexes aqueux de l'As(V) issus de [158] (tableau 5.2). Ce calcul est basé sur les hypothèses suivantes :

- La composition du milieu de culture permet de fixer les concentrations aqueuses de la matière organique (acétate et lactate) et de la plupart des ions.
- La température est fixée à 20 °C.
- Les analyses de la phase solide permettent de connaître les quantités de Fe(III) et d'As(V) apportées par la ferrihydrite. Celle-ci est considérée à l'équilibre avec la phase aqueuse et sa constante de dissolution ( $\log K = -2.1377$ ) est issue de Dzombak et Morel [47]. L'As(V), initialement sorbé à la surface de

```

tot Na[+] = 54.7 mmol/l
tot K[+] = 1.5 mmol/l
tot Cl[-] = 15 mmol/l
tot Mg[2+] = 0.5 mmol/l
tot Ca[2+] = 0.9 mmol/l
tot NH4[+] = 3.7 mmol/l
tot HCO3[-] = 11.9 mmol/l
tot H2PO4[-] = 1.5 mmol/l
tot Lactic_acid(aq) = 19.6 mmol/l
tot Acetic_acid(aq) = 14.7 mmol/l
temperature = 20 C
fug CO2(g) = 0.3
tot HFO = 15.3 mmol/l
tot H2AsO4[-] = 0.84 mmol/l
tot Fe[2+] = 0.035 mmol/l
pH = 5.2

```

**Fig. 5.2** – Scripts d'entrée CHESS pour la modélisation de l'expérience CP5.

la ferrihydrite, est également considéré à l'équilibre avec la phase aqueuse. La sorption est modélisée par le modèle de complexation de surface (tableau 5.1). Le nombre de sites de surface est fixé à 0.3 mol/mol Fe.

- La concentration en As(III) est sous le seuil de détection et n'est pas considérée dans cette spéciation.
- Les mesures du pH initial et de la concentration initiale en Fe(II) permettent de fixer les derniers paramètres nécessaires à la modélisation. Une concentration aqueuse de Fe(II) d'environ 3 mg/l est mesurée au début des expériences biotiques. Celle-ci n'est pas observée dans les témoins et provient probablement de l'inoculum.

L'équilibre avec la ferrihydrite donne une concentration aqueuse en Fe(III) de  $6 \times 10^{-8}$  mol/l, ce qui explique sa non détection lors des analyses de la phase aqueuse. En phase aqueuse,  $\text{FeAsO}_4(\text{aq})$  est l'espèce prédominante de Fe(III).

A partir des activités calculées par la spéciation et de la base de données du CTDP, les potentiels d'oxydoréduction des différents couples sont évalués par les équations suivantes :

**Tab. 5.3** – Concentrations aqueuses initiales de quelques éléments (mmol/l). Comparaison des valeurs mesurées au début de l’expérience CP5 et des valeurs calculées à partir de la spéciation initiale (DL : concentration inférieure à la limite de détection).

élément	mesuré	calculé
As(V)	0.04	0.037
PO <sub>4</sub> (tot)	0.25	0.013
HCO <sub>3</sub> (tot)	12.3	10.7
Fe(II)	0.035	0.035
Fe(III)	DL	7×10 <sup>-5</sup>

$$E_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}} = E_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{Fe}^{3+}]} \right) \quad (5.1)$$

$$E_{\text{AsV}/\text{AsIII}} = E_{\text{AsV}/\text{AsIII}}^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{H}_2\text{AsO}_3^-]^{1/2} [\text{H}_2\text{O}]^{1/2}}{[\text{H}_2\text{AsO}_4^-]^{1/2} [\text{H}^+]} \right) \quad (5.2)$$

$$E_{\text{Acet}/\text{CO}_2} = E_{\text{Acet}/\text{CO}_2}^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-]^{1/8} [\text{H}_2\text{O}]^{1/2}}{[\text{HCO}_3^-]^{1/4} [\text{H}^+]^{9/8}} \right) \quad (5.3)$$

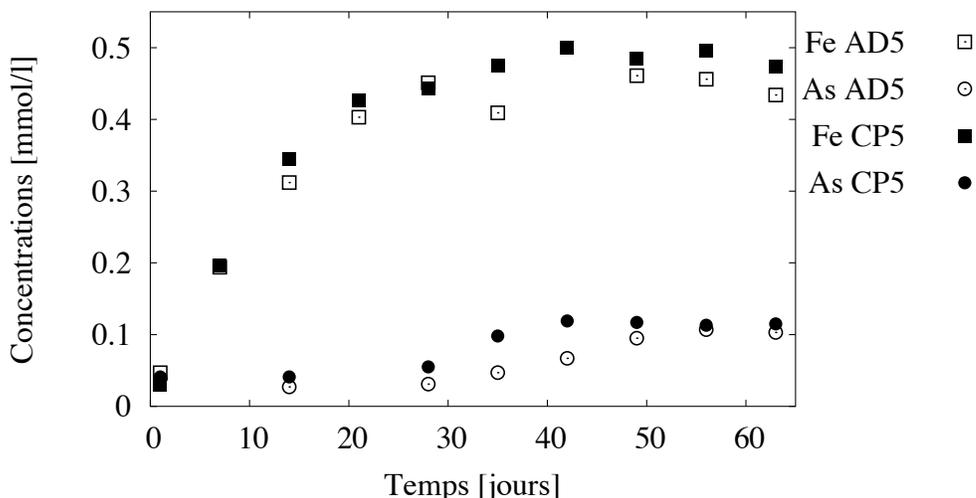
Le potentiel redox mesuré de 150 mV est situé entre les potentiels des couples Fe<sup>3+</sup>/Fe<sup>2+</sup> et acétate/CO<sub>2</sub>, évalués respectivement à 290 mV et -200 mV. Le calcul ne peut pas être réalisé pour le couple As(III)/As(V) car la concentration en As(III) est trop faible pour être modélisée. Néanmoins, à un potentiel redox de 290 mV la concentration en As(III) est évaluée à 7×10<sup>-8</sup> mol/l.

Dès l’état initial l’arséniate, le phosphate et les carbonates se sorbent de manière compétitive sur la ferrihydrite. La mobilité de l’arsenic est influencée par les anions se sorbant de manière compétitive avec l’arsenic [60]. Les concentrations mesurées et calculées révèlent quelques différences reportées dans le tableau 5.3.

## 5.4 Le mécanisme réactionnel

Une dissolution réductive de la ferrihydrite arsénée n’est observée qu’en présence des bactéries. Les expériences témoins ne montrent aucune activité.

Durant toutes les expériences, la phase solide reste de la 2-line ferrihydrite. En plus de cette phase minérale, à la fin des expériences AD1 et CP1, de



**Fig. 5.3** – Évolution des concentrations aqueuses totales en fer et en arsenic au cours des expériences AD5 et CP5.

la vivianite ( $\text{Fe}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) est identifiée par analyse DRX. De la bobierite ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ ) est également identifiée à la fin de l'expérience AD1. Les analyses XANES de la phase solide en fin d'expérience montrent la présence d'As(III), bien que l'As(V) reste prédominant.

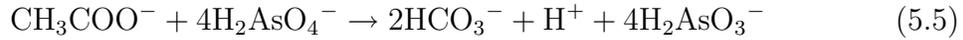
Les résultats des expériences CP5 et AD5 sont présentés sur la figure 5.3.

Les bactéries ferro-réductrices dégradent la matière organique en utilisant le Fe(III) et l'As(V) comme accepteurs d'électrons. L'acétate et le lactate sont les deux molécules organiques présentes. Elles sont en fortes concentrations dans la phase aqueuse et ne constituent donc pas l'élément limitant des métabolismes. Seule la dégradation de l'acétate est considérée, mais la même modélisation pourrait être obtenue en utilisant le lactate comme donneur d'électrons.

Lorsque l'oxydation de l'acétate est couplée à la réduction du fer, la ferrihydrite se dissout selon la réaction globale :



Cette réaction explique l'augmentation de la concentration aqueuse en Fe(II) observée durant le premier mois de l'expérimentation (figure 5.3). La dégradation de l'acétate est couplée à la réduction de l'arsenic suivant la réaction :

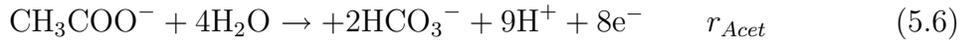


L'As(III) se sorbe moins sur la ferrihydrite que l'As(V). Ainsi, la réduction de l'arsenic provoque une augmentation de la concentration aqueuse en arsenic. La réduction de l'arsenic est observée après environ un mois d'expérimentation, lorsque le catabolisme du fer s'arrête (figure 5.3).

### *Le choix de l'accepteur d'électrons*

Après environ un mois, la concentration en fer se stabilise et la dissolution réductive de la ferrihydrite s'arrête. Au contraire, la réduction de l'arsenic n'intervient que durant le deuxième mois : la mobilisation de l'arsenic et du fer n'est donc pas concomitante. Les bactéries utilisent successivement les deux accepteurs d'électrons présents dans le milieu. Cette utilisation successive des accepteurs d'électrons a été décrite dans les panaches de contamination organique des aquifères (paragraphe 2.2.7). Dans les processus de choix de l'accepteur d'électrons, la dégradation de la matière organique utilise l'accepteur d'électrons le plus favorable énergétiquement, jusqu'à son épuisement.

Le choix de l'accepteur d'électrons est réalisé selon le principe de l'équilibre partiel (paragraphe 2.2.7). C'est à dire que les couples As(V)/As(III) et Fe(II)/Fe(III) sont considérés à l'équilibre redox, tandis que la demi-réaction d'oxydation de l'acétate est contrôlée par une cinétique  $r_{Acet}$  :



La cinétique  $r_{Acet}$  est constituée de deux termes  $r_{Fe}$  et  $r_{As}$  représentant respectivement l'utilisation du fer ou de l'arsenic comme accepteur d'électrons.

$$r_{Acet} = r_{Fe} + r_{As} \quad (5.7)$$

Les deux termes cinétiques d'oxydation de l'acétate sont formulés de telle sorte que lorsque le fer est utilisé comme accepteur d'électrons le terme  $r_{Fe}$  domine. Et réciproquement lorsque l'arsenic est utilisé comme accepteur d'électrons, le terme  $r_{As}$  domine. Les formulations utilisent les lois de Monod et les lois d'inhibition de la façon suivante :

$$r_{Fe} = k_{Fe} \frac{[\text{Fe}]}{K_{Fe} + [\text{Fe}]} \quad (5.8)$$

$$r_{As} = k_{As} \frac{K_I}{K_I + [Fe]} \frac{[As]}{K_{As} + [As]} \quad (5.9)$$

où  $k_{Fe}$  et  $k_{As}$  sont les cinétiques maximales d'oxydation de l'acétate lorsque respectivement le fer ou l'arsenic sont utilisés comme accepteur d'électrons. Les concentrations biodisponibles de ces accepteurs d'électrons sont représentées par  $[Fe]$  et  $[As]$ . Les constantes  $K_{Fe}$ ,  $K_I$  et  $K_{As}$  sont des constantes de demi-saturation ou d'inhibition.

Le fer est l'accepteur d'électrons le plus énergétique et selon le principe de l'équilibre partiel, il est réduit en premier. Initialement, le Fe(III) est biodisponible ( $[Fe] \gg K_{Fe}$ ) et seul le premier terme de la cinétique est actif. Lorsque le Fe(III) biodisponible s'épuise ( $[Fe] \ll K_{Fe}$ ) le premier terme de la cinétique s'annule et seul le deuxième terme est actif. La cinétique d'oxydation de l'acétate s'adapte donc suivant l'utilisation du fer ou de l'arsenic comme accepteur d'électrons.

L'As(V) dissous dans la phase aqueuse est considéré comme biodisponible et l'As(V) sorbé est considéré comme non biodisponible. En revanche, le Fe(III) est présent dans la phase solide et sa biodisponibilité dépend des mécanismes réactionnels à l'interface ferrihydrite-microorganisme.

### *La dissolution réductive de la ferrihydrite*

Les mécanismes réactionnels des dissolutions réductives sont peu connus (paragraphe 2.4.2). Un mécanisme réactionnel en deux étapes successives peut être considéré. La première étape consiste en une réaction de dissolution de la ferrihydrite biodisponible, notée HFO<sub>b</sub>, qui se déroule à l'interface solide-liquide :



La deuxième étape du mécanisme réactionnel est contrôlée par le principe de l'équilibre partiel. Dans ce mécanisme, l'intermédiaire réactionnel est le Fe(III), mais en réalité des transporteurs d'électrons de différentes natures peuvent intervenir. Ainsi la forme biodisponible du Fe(III) n'est pas clairement identifiée.

Dans notre étude, seule une petite quantité de ferrihydrite est considérée biodisponible. Sa concentration initiale est fixée à 0.45 mmol/l d'après la concentration finale en fer dans les expériences. La réaction de dissolution de la ferrihydrite biodisponible (réaction 5.10) est contrôlée par une cinétique de la forme :

$$r_{dis} = k_{dis} \frac{[\text{HFO}_b]}{K_{HFO} + [\text{HFO}_b]} \quad (5.11)$$

Tout le fer dissous par la première étape du mécanisme est utilisé comme accepteur d'électrons dans la deuxième étape. Les termes  $r_{Fe}$  et  $r_{As}$  de la cinétique d'oxydation de l'acétate (équation 5.8, 5.11 et 5.9) sont donc caractérisés par les égalités suivantes :

$$k_{dis} = 8k_{Fe} \quad (5.12)$$

$$K_{HFO} = K_{Fe} \quad (5.13)$$

$$[Fe] = HFO_b \quad (5.14)$$

### *La modélisation*

Seule l'expérience CP5 sera modélisée car de nombreuses données expérimentales sont disponibles pour cette expérience. La modélisation est réalisée avec les hypothèses suivantes :

- Au temps  $t = 0$ , le système est défini par la spéciation initiale calculée précédemment. La concentration en As(III) est fixée en considérant un équilibre redox avec le couple Fe(II)/Fe(III).
- Selon le principe de l'équilibre partiel, les demi-réactions de réduction des couples As(V)/As(III) et Fe(II)/Fe(III) sont à l'équilibre. La demi-réaction d'oxydation de l'acétate (réactions 5.6) est contrôlée par une cinétique de la forme :

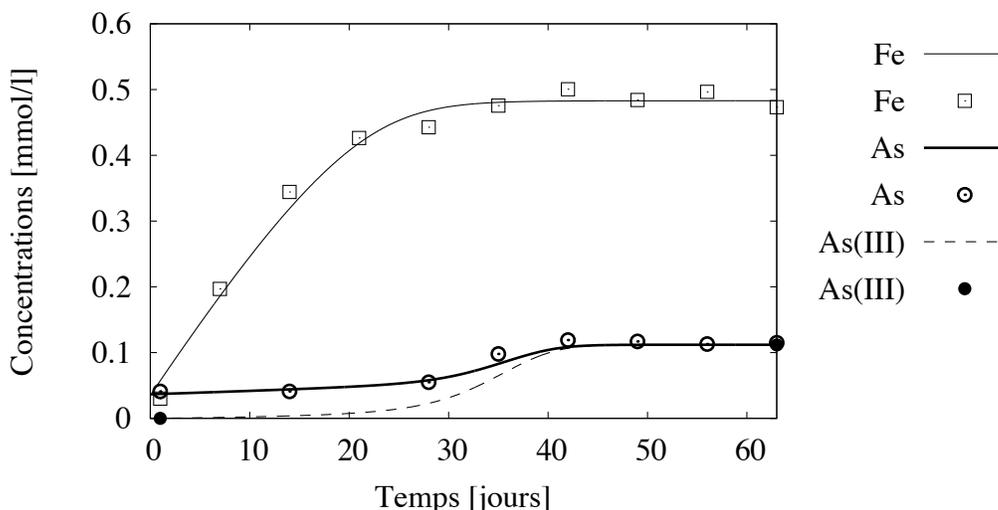
$$r_{Acet} = k_{Fe} \frac{[HFO_b]}{K_{Fe} + [HFO_b]} + k_{As} \frac{K_I}{K_I + [HFO_b]} \frac{[As(V)(aq)]}{K_{As} + [As(V)(aq)]} \quad (5.15)$$

- Seule une partie de l'HFO est considérée biodisponible et se dissout selon la cinétique suivante :

$$r_{dis} = 8k_{Fe} \frac{[HFO_b]}{K_{Fe} + [HFO_b]} \quad (5.16)$$

- l'expérience se déroulant sous atmosphère  $CO_2(g)$ , durant toute la modélisation la fugacité de dioxyde de carbone est constante.

Cette modélisation contient 6 paramètres de calage ajustés pour que l'évolution des concentrations en fer et en arsenic s'accorde le mieux possible aux données expérimentales :  $[HFO_b] = 0.45$  mmol/l,  $k_{Fe} = 3.5$   $\mu$ mol/l/j,  $k_{As} = 40$   $\mu$ mol/l/j,  $K_{Fe} = 0.1$  mmol/l,  $K_I = 4$   $\mu$ mol/l et  $K_{As} = 0.01$  mmol/l. Les résultats de cette modélisation permettent de reproduire de façon satisfaisante les données expérimentales comme le montre la figure 5.4.



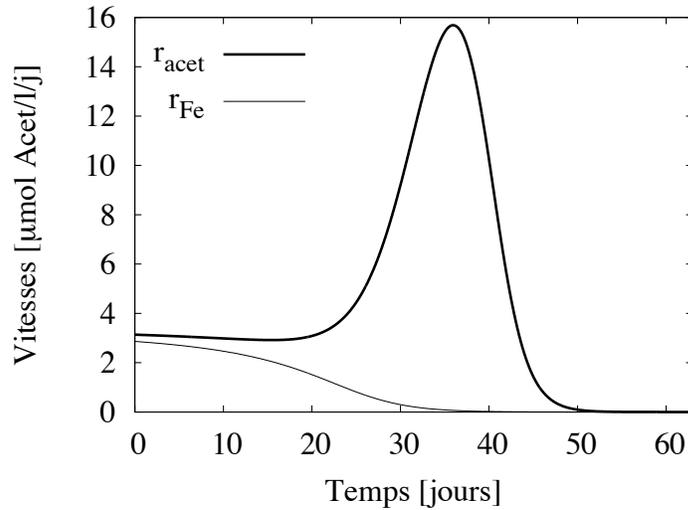
**Fig. 5.4** – Évolution des concentrations en fer total, en arsenic total et en As(III) modélisées (lignes). Comparaison avec les concentrations mesurées durant l'expérience CP5 (points).

L'évolution de chacun des termes de la cinétique d'oxydation de l'acétate est représentée sur la figure 5.5. L'oxydation de l'acétate est environ 5 fois plus rapide lorsque l'arsenic est utilisé comme accepteur d'électrons. Cette différence est modélisée par l'écart entre les constantes cinétiques  $k_{Fe}$  et  $k_{As}$ . L'augmentation de la vitesse d'oxydation de l'acétate n'intervient que lorsque la dissolution du fer s'arrête. Ce qui est modélisé par le paramètre  $K_I$ .

Les constantes de demi-saturation  $K_{Fe}$  et  $K_{As}$  correspondent à environ 1/4 de la concentration initiale de l'espèce intervenant dans la loi de saturation ( $[HFO_b]_i = 0.45$  mmol/l et  $[As(V)(aq)]_i = 0.037$  mmol/l). A ces concentrations, les lois de saturation sont proches de 1. Au cours de la disparition du  $[HFO_b]$  puis de l' $[As(V)(aq)]$  la courbure de la loi de Monod permet de diminuer la vitesse d'oxydation de l'acétate au fur et à mesure de la disparition des accepteurs d'électrons.

Dans cette modélisation, l'ordre d'utilisation des accepteurs d'électrons n'est pas fixé a priori. Il provient de l'équilibre redox entre les couples d'accepteurs d'électrons et la diminution du potentiel redox suivant le principe de l'équilibre partiel. Cette approche permet d'expliquer la réduction initiale du fer, et la réduction de l'arsenic dans un deuxième temps.

La mobilisation non-concomitante du fer et de l'arsenic est relativement bien comprise. En revanche, la réaction de dissolution réductive de la ferrihydrite révèle un mécanisme réactionnel peu connu.



**Fig. 5.5** – Évolution de la vitesse d'oxydation de l'acétate  $r_{Acet}$  (l'équation 5.15) et du terme  $r_{Fe}$  correspondant à la réduction du fer (premier terme de l'équation 5.15) au cours de la modélisation. La différence entre ces deux courbes représente le terme  $r_{As}$  correspondant à la réduction de l'arsenic (dernier terme de l'équation 5.15).

## 5.5 Les effets inhibiteurs de la dissolution réductive

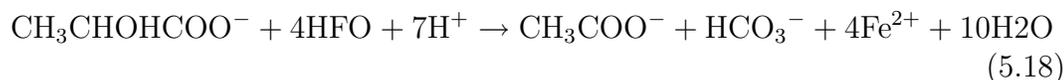
Dans cette étude la cinétique de dissolution réductive biologique est limitée en fixant a priori la quantité de ferrihydrite biodisponible. Plusieurs hypothèses peuvent être avancées pour justifier l'arrêt de la dissolution réductive du fer :

- La cinétique du catabolisme subit parfois une contrainte thermodynamique. Lorsque la réaction d'oxydoréduction atteint l'équilibre thermodynamique, le catabolisme s'arrête. A partir de la base de données du CTDP et des activités des espèces chimiques venant de la modélisation, l'énergie libre de la réaction 5.4 peut être calculée par l'équation suivante :

$$\Delta G = \Delta G^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{CH}_3\text{COO}^-][\text{H}^+]^{15}}{[\text{HCO}_3^-]^2[\text{Fe}^{2+}]^8} \right) \quad (5.17)$$

A l'état initial, une énergie libre d'environ  $\Delta G = -350$  kJ/mol d'acétate est calculée. Au cours de l'expérimentation cette énergie reste très inférieure à la limite biologique (environ  $-20$  kJ/mol d'acétate) nécessaire pour que les bactéries puissent synthétiser leur ATP (figure 5.6). Le catabolisme est très exergonique et l'hypothèse de la contrainte thermodynamique est peu vraisemblable.

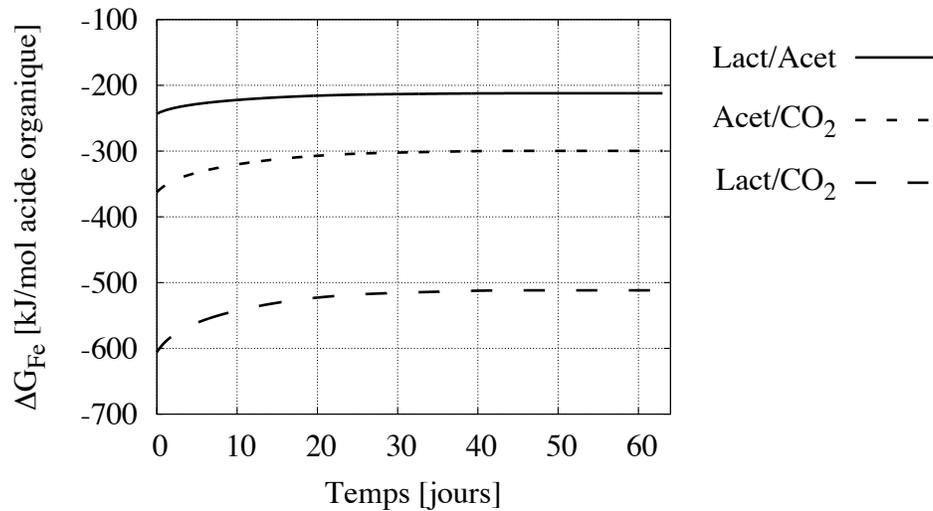
La modélisation prend en compte une oxydation complète de l'acétate. Néanmoins, d'autres métabolismes, tels que l'oxydation du lactate en dioxyde de carbone et acétate ou l'oxydation complète du lactate, sont possibles dans ce système. En particulier, la dégradation du lactate en acétate en utilisant la ferrihydrite comme accepteur d'électrons est régulièrement utilisée dans la littérature [26] :



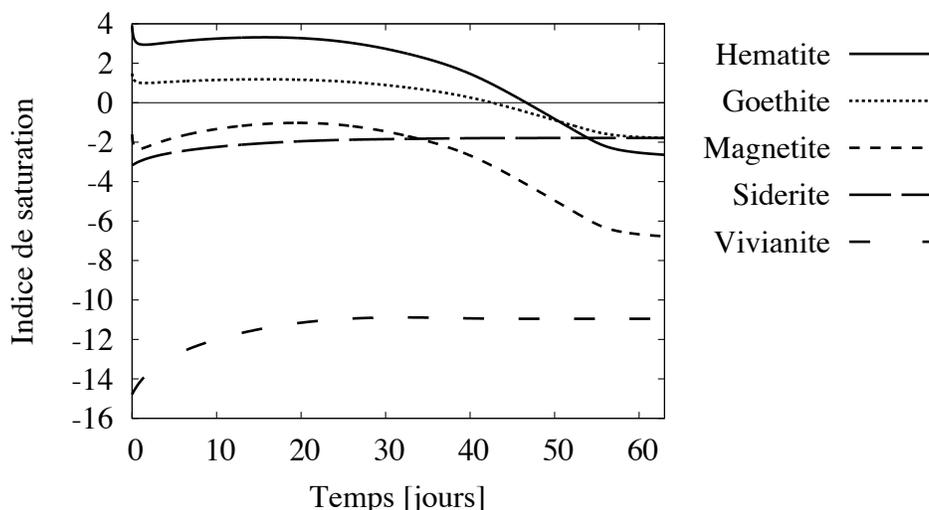
De la même façon, ces métabolismes ne sont pas non plus limités par la thermodynamique (figure 5.6).

- Plusieurs études permettent d'entrevoir une corrélation entre l'inhibition de la dissolution réductive et la diminution de la surface libre de la ferrihydrite par des phénomènes de sorption ou de précipitation [95, 130]. La réduction de la biodisponibilité du Fe(III) peut s'expliquer par une diminution de la surface libre de la ferrihydrite par les sorptions et par les précipitations.

Dans les expériences modélisées, on n'observe pas de néoformations minérales. Cette observation concorde avec l'évolution des indices de saturation au cours de la modélisation (figure 5.7). Seul l'hématite et la goethite peuvent précipiter,



**Fig. 5.6** – Évolution de l'énergie libre de plusieurs catabolismes utilisant le couple d'accepteur d'électrons HFO/Fe<sup>2+</sup> au cours de la simulation. Les catabolismes se différencient par la nature de leur couple de donneurs d'électrons : l'oxydation complète de l'acétate (Acet/CO<sub>2</sub>), l'oxydation complète du lactate (Lact/CO<sub>2</sub>) ou l'oxydation du lactate en acétate et dioxyde de carbone (Lact/Acet).



**Fig. 5.7** – Évolution des indices de saturation de différents minéraux au cours de la simulation.

mais la précipitation de ces phases bien cristallisées est lente. L'éventuelle diminution de la surface biodisponible de la ferrihydrite ne s'explique pas par les néoformations minérales.

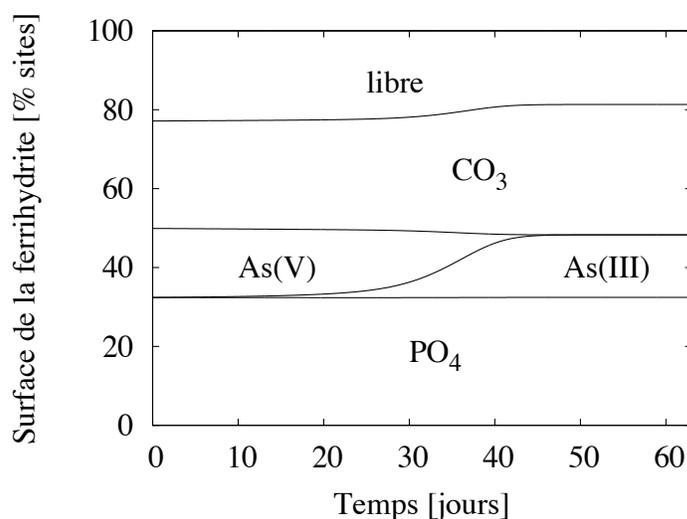
D'après le modèle de Dzombak et Morel, la concentration en sites libres évolue peu au cours de l'expérimentation (figure 5.8). Les phénomènes de sorption ne permettent pas non plus de justifier une réduction de la surface biodisponible de la ferrihydrite.

L'arrêt de la dissolution réductive ne peut pas dans notre cas s'expliquer par une réduction de la surface biodisponible de la ferrihydrite.

Contrairement à la modélisation de l'évolution des espèces sorbées (figure 5.8), les analyses de la phase solide en fin d'expériences montrent que l'arsenic sorbé est principalement sous le degré d'oxydation +5, ce qui tendrait à montrer que la réduction de l'arsenic n'est pas complète. Celle-ci serait également limitée par des processus d'interface solide-liquide.

- Différentes études ont montré l'importance que peuvent jouer les transporteurs d'électrons, tels que l'antraquinone-2,6-disulfonate, l'aminopolycarboxylate, ou encore les acides humiques, dans les dissolutions réductives biologiques [81, 117, 74]. Ceux-ci font probablement partie du mécanisme réactionnel des dissolutions réductives, mais ne sont pas suffisamment connus pour être modélisés.

Dans notre étude, les évolutions des pH et Eh (figures 5.9 et 5.10) témoignent de la complexité du mécanisme réactionnel. Les mesures du potentiel redox ne



**Fig. 5.8** – Répartition des éléments sorbés à la surface de la ferrihydrite au cours de la simulation, en pourcentage cumulé des sites de surface.

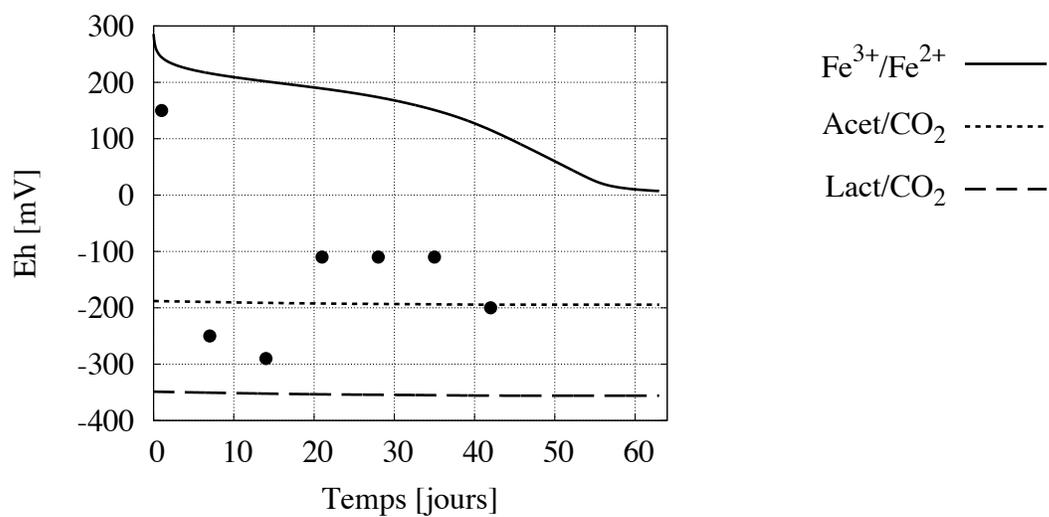
correspondent à aucun potentiel redox des couples modélisés. Le pH initial et final sont correctement modélisés, mais une sous-estimation apparaît entre 5 et 30 heures. Ce qui correspond à l'activité de la dissolution réductive de la ferrihydrite. L'évolution du pH et du Eh semble indiquer la présence d'intermédiaires réactionnels non modélisés.

- Les produits de réactions peuvent intervenir directement sur les cellules et provoquer une inhibition des catabolismes. Par exemple, chez *Shewanella putrefaciens*, la sorption du Fe(II) sur les cellules peut être responsable d'une phase de latence et d'une diminution de la cinétique de réduction [96, 15]. La modélisation de tel processus nécessiterait la réalisation d'études expérimentales de sorption de Fe(II) sur les bactéries de la communauté FR.

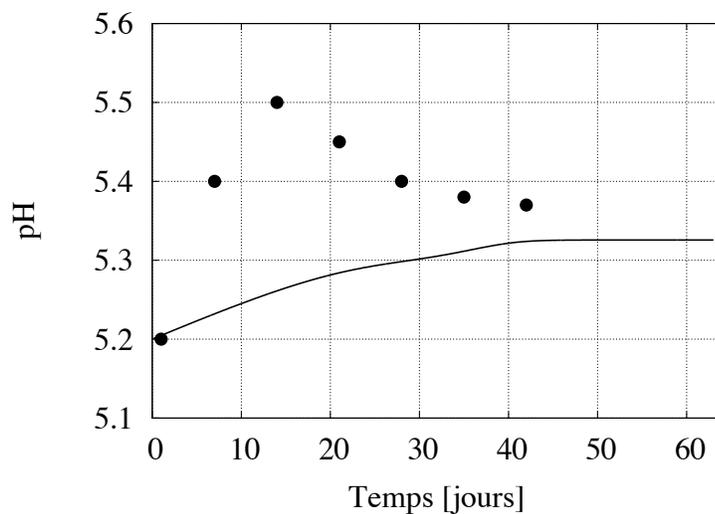
Davantage d'études expérimentales sont nécessaires à la compréhension de ces processus de dissolution réductive. Des avancées sont nécessaires à la fois dans les réactions biologiques, les enzymes et les transporteurs d'électrons impliqués, et également dans les propriétés des phases minérales porteuses.

## 5.6 Conclusion

Cette expérience permet d'étudier des mécanismes réactionnels complexes et peu connus. D'une part les processus de choix de l'accepteur terminal d'électrons. D'autre



**Fig. 5.9** – Évolution des potentiels des couples calculés à partir des équations 5.3 (lignes). Comparaison avec le potentiel d’oxydo-réduction mesuré durant l’expérience CP5 (points).



**Fig. 5.10** – Évolution du pH modélisé (ligne) et comparaison avec le pH mesuré durant l’expérience CP5.

part les processus contrôlant la dissolution réductive d'un hydroxyde de fer.

L'approche de l'équilibre partiel a permis de modéliser correctement le processus de choix entre les deux accepteurs d'électrons que sont l'As(V) et la ferrihydrite. Ce processus explique la non-concomitance de la mobilisation du fer et de l'arsenic et la mobilisation initiale du fer.

La modélisation de la dissolution réductive de la ferrihydrite est plus délicate. La quantité biodisponible de ferrihydrite a été fixée a priori. A la vue de la modélisation ainsi obtenue, différentes hypothèses d'inhibition sont discutées. Bien que certains effets inhibiteurs puissent être écartés, telle que la contrainte thermodynamique, la compréhension complète du mécanisme réactionnel nécessite davantage d'études expérimentales. En particulier sur la présence potentielle de transporteur d'électrons à l'interface solide-microorganisme.

Les hydroxydes de fer sont très répandus dans les systèmes naturels. Cette étude montre que les interactions des hydroxydes de fer avec l'arsenic sont liées à l'activité biologique. La modélisation permet d'appréhender ces systèmes en couplant les processus biologiques et géochimiques. Ainsi la compréhension des mécanismes réactionnels actifs dans de tels systèmes permettra d'envisager des solutions aux problèmes posés par la contamination des eaux de surface par l'arsenic.



## 6 Étude biogéochimique d'une eau acide de drainage minier

**Objectif :** Sur l'ancien site minier de Carnoulès, le drainage des stériles produit des eaux acides riches en sulfates, en fer et en arsenic. En sortie, des précipitations biologiques permettent une dépollution naturelle des eaux de drainage. Différentes études en laboratoire et sur site permettent de caractériser les espèces bactériennes et les précipitations minérales présentes. L'objectif de cette étude est de comprendre l'évolution bio-géochimique de l'eau de drainage par une modélisation des mécanismes réactionnels mis en jeu.

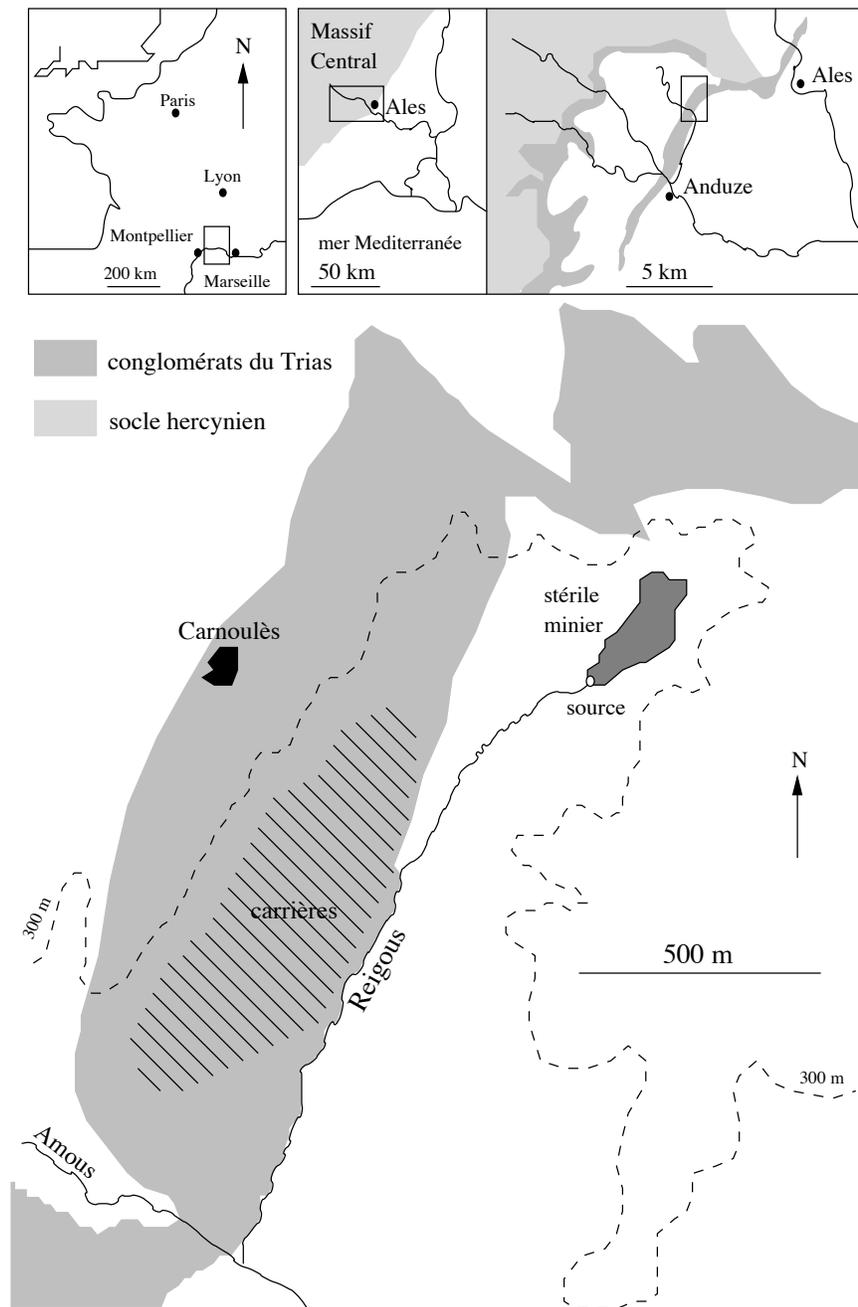
### 6.1 Présentation du site

Les conglomérats du Trias de la bordure sud-est du Massif Central présentent une minéralisation interstitielle constituée d'une association de pyrite ( $\text{FeS}_2$ ), d'arsénopyrite ( $\text{FeAsS}$ ), de galène ( $\text{PbS}$ ), de sphalérite ( $\text{ZnS}$ ) et de Barite ( $\text{BaSO}_4$ ). A Carnoulès (Gard, France), sur la commune de Saint Sébastien d'Aigrefeuille, ce minerai a été exploité pour le plomb et le zinc dès 1883. Le site de Carnoulès appartient au bassin versant hydrologique du Gardon. Ce dernier est marqué par un cours d'eau principal, le Gardon, qui se jette dans le Rhône. Le Gardon est alimenté par plusieurs petits cours d'eau dont l'Amous, lui même drainé par le Reigous (figure 6.1).

L'exploitation a concerné 2.5 Mt de minerai contenant 3.5 % Pb et 0.8 % Zn [1]. Les résidus miniers (1.5 Mt) contenant encore 0.7 % Pb et 10 % de sulfure de fer ont été entreposés le long des 1500 m de la vallée du Reigous. La mine fut fermée en 1962 laissant des carrières sur 1 km<sup>2</sup>. En 1976, une inondation transporta des déchets miniers à plusieurs kilomètres en aval, polluant toute la vallée de l'Amous. Par la suite, le matériel transporté ainsi que le reste du stock initial fut récupéré et stocké derrière un barrage construit en amont de la petite vallée du Reigous.

Aujourd'hui le stock de stériles miniers est entreposé sur 5500 m<sup>2</sup>, sur une épaisseur de 10-24 m et contient environ 1.5 Mt de matériels. Les phases minérales dominantes sont le quartz (75 wt %) et la pyrite (5-15 wt %). La pyrite contient 1-4 wt % d'As [91]. D'autres phases minérales telles que K-feldspath, biotite, barite et galène sont également présentes [1]. Le stock est constitué de plusieurs couches :

- à la base une couche de 2-3 m d'épaisseur de sable grossier recouvert de



**Fig. 6.1** – Localisation du site minier de Carnoulès [91].

précipitation ferrugineuse

- au dessus, un sable fin gris, riche en pyrite de faible granulométrie (taille de grain d'environ 30  $\mu\text{m}$ )
- L'ensemble du stock est recouvert d'une fine épaisseur d'argile (0.3 m) afin de limiter la percolation des eaux météoritiques.

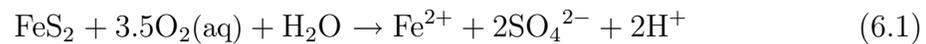
Le réseau de piézomètres implanté dans le stock de déchets miniers montre la présence d'une nappe permanente reposant sur le socle imperméable. Le niveau de la nappe varie selon la saison et la pluviométrie. Malgré la couche argileuse protégeant les déchets miniers, de l'eau d'infiltration parvient à alimenter cette nappe. Des études hydrologiques tendent à montrer la présence d'une fracture souterraine apportant de l'eau d'infiltration. L'eau de la nappe est évacuée par le drain disposé dans le fond du stock de déchets. L'état du drain est inconnu et il est possible qu'il soit couvert de précipitation [82].

La perméabilité du stock de stérile possède une grande hétérogénéité. Une valeur moyenne de  $1 \times 10^{-6}$  m/s est mesurée par Leblanc [91].

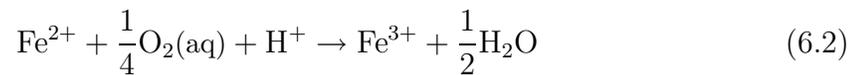
### *La réactivité du stock de déchets et formation des eaux acides*

Les phases minérales des stériles miniers, qui sont exposées à des conditions oxydatives ne sont pas à l'équilibre. Un réseau complexe de réactions s'initie alors aboutissant à des transformations minérales.

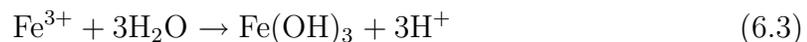
Les processus d'oxydation de la pyrite ont été largement étudiés [116, 140]. Dans leur description, le terme pyrite réfère à tous les disulfures de fer cristallisés. Les réactions généralement utilisées par la communauté scientifique sont les suivantes. L'oxydation de la pyrite s'initie par le dioxygène et apporte du Fe(II), de l'acidité et des sulfates :



Le Fe(II) mobilisé est oxydé en Fe(III) par les bactéries ferro-oxydatives :



Selon le pH, le Fe(III) peut précipiter sous forme d'hydroxyde de fer (ferrihydrite) en augmentant davantage l'acidité :



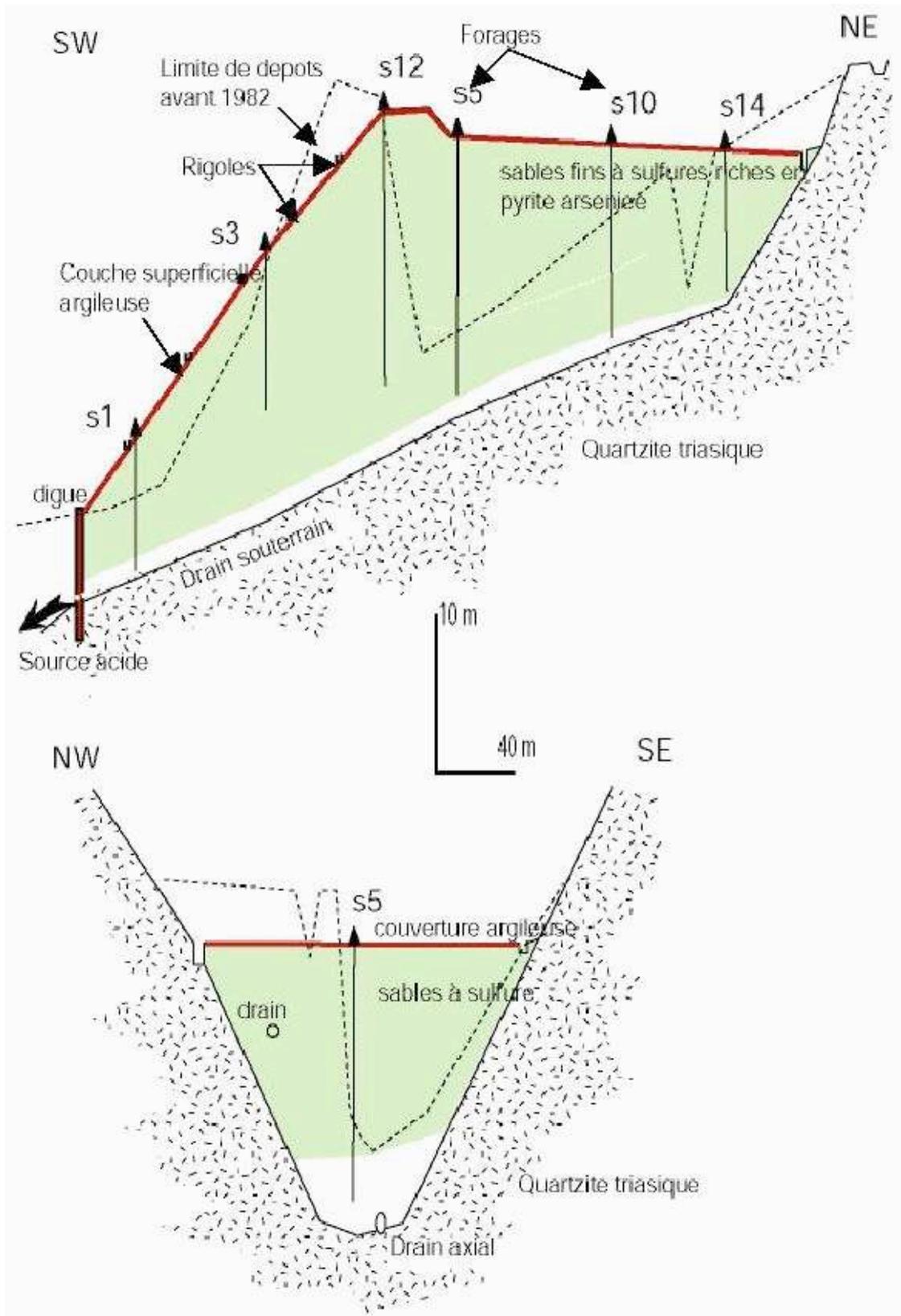
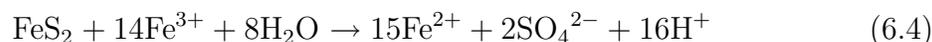


Fig. 6.2 – Coupes transversale et longitudinale du stock de déchets miniers [82].

Pour un pH inférieur à 3.5 environ, l'hydroxyde de fer ne précipite pas et le Fe(III) reste en solution. Pour des pH supérieurs, un précipité se forme. La réaction 6.1 est lente et ne fait qu'initier le processus. Le Fe(III) en solution oxyde la pyrite de façon plus rapide selon la réaction :



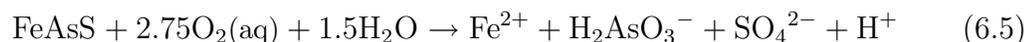
La génération d'acidité se poursuit suivant le cycle d'oxydation-réduction du fer jusqu'à épuisement du Fe(III) ou de la pyrite. Ce mécanisme de dissolution de la pyrite est l'un des processus les plus générateurs d'acidité se déroulant dans la nature.

Les études en laboratoire montrent que l'activité biologique augmente la vitesse de dissolution de la pyrite de 2 à 6 ordres de grandeur [136]. Plusieurs phénomènes peuvent expliquer l'augmentation de la cinétique de dissolution de la pyrite en présence de bactéries.

D'abord, plusieurs espèces bactériennes telle que *Thiobacillus ferrooxidans* vivent dans ces conditions particulières en utilisant l'énergie d'oxydation du fer (réaction 6.2). Ce métabolisme permet de maintenir une concentration élevée en Fe(III) qui est responsable de l'oxydation de la pyrite [136].

Mais d'autres phénomènes biologiques sont susceptibles de favoriser la dissolution de pyrite [135]. Par exemple tous les processus permettant de maintenir un pH élevé à la surface du minéral favoriseront également la réaction 6.4 [54].

La pyrite contient de l'arsenic sous forme d'arsénopyrite. La dissolution de ce minéral se réalise selon la réaction :



Les drainages acides miniers résultent de l'oxydation des sulfures (tels que pyrite et arsénopyrite) par l'oxygène atmosphérique. Ce dernier est apporté par diffusion ou par infiltration des eaux météoritiques. C'est pourquoi l'évolution saisonnière des concentrations du drainage minier de Carnoulès (mesurées à la source) est mise en relation avec la pluviométrie [82]. Plusieurs phénomènes régissent le chimisme des eaux de la source acide. D'une part, les eaux météoritiques apportent de l'oxygène qui initie les réactions d'oxydations. D'autres part une forte pluviométrie augmente le débit de la source, ce qui a tendance à diminuer les concentrations par effet cinétique.

Les réactions de dissolution semblent être essentiellement actives dans la zone non saturée où l'oxygène atmosphérique peut diffuser. Ainsi, en période sèche, le débit faible provoque des concentrations relativement importantes à la source. Dans le même temps dans la zone non saturée, de fortes concentrations en fer, sulfates, arsenic, et protons s'accumulent dans la fine pellicule d'eau qui recouvre les particules.



**Fig. 6.3** – Photographies des stromatolites du Reigous à 30 mètres de la source.

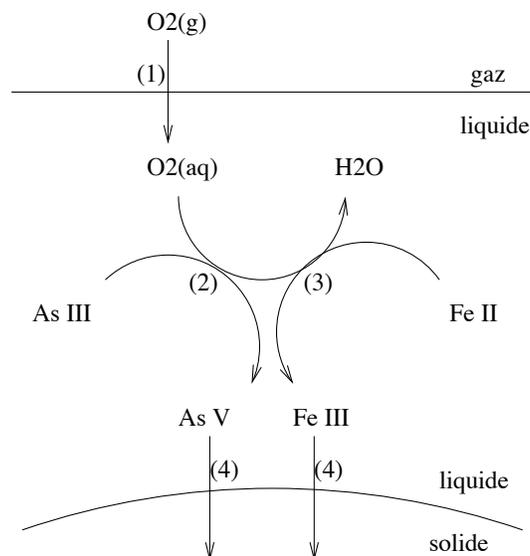
Lors des premières pluies, toute l'eau de cette zone est lessivée et de fortes concentrations sont enregistrées à la source accompagnées par un débit important. En période d'intense pluviométrie, les phénomènes de dilution prennent le dessus et un débit important transporte de faibles concentrations.

#### *Évolution des eaux acides le long du Reigous*

Plusieurs études se sont intéressées à l'évolution bio-géochimique des eaux acides issues du drainage du stock de déchets miniers de Carnoulès [91, 92, 46, 31, 112, 29, 30, 25]. De l'eau acide (pH 2-4) sort par le drain à la base du stock de stérile constituant la source du Reigous. Elle se caractérise par une forte acidité et de fortes concentrations en sulfates, en Fe(II) et en As(III).

Le long du Reigous, on observe une diminution de la concentration en fer et en arsenic et la précipitation de phases minérales orangées. En particulier les précipités se forment au niveau des concrétions bactériennes formant des stromatolites [91] (figures 6.3). Selon la saison et la distance avec la source, différentes phases minérales ont été identifiées [112]. On distingue en particulier :

- Dans les 40 premiers mètres : tooeleite et phase amorphe de Fe(III) et d'As(III)/(V) avec différents rapports As/Fe. Les précipitations contiennent essentiellement de l'As(III) en hiver et de l'As(V) en été [112]. L'absence de schwertmannite dans cette zone s'explique par son instabilité aux fortes concentrations en arsenic [28].
- Après les 40 premiers mètres : schwertmannite et phase amorphe de Fe(III) et d'As(V) avec différents rapports As/Fe.



**Fig. 6.4** – Schéma simplifié du mécanisme réactionnel intervenant dans les expériences. (1) Dissolution du dioxygène, (2) oxydation de l'arsenic, (3) oxydation du fer, (4) précipitation de Fe(III) et d'As(V).

- A la confluence du Reigous et de l'Amous : ferrihydrite

Le mécanisme réactionnel mis en jeu (figure 6.4) consiste en : (1) la dissolution du dioxygène atmosphérique dans la phase aqueuse ; (2 et 3) ce dernier, qui constitue un accepteur d'électrons universel, est utilisé par deux réactions biologiques d'oxydation du fer et de l'arsenic ; (4) la modification de l'état redox du fer et de l'arsenic favorise la précipitation de phases minérales de Fe(III) et d'As (essentiellement de l'As(V)).

Le débit à la source varie entre 0.2 et 1.3 l/s en fonction de la saison et en particulier de la pluviométrie [91, 31]. A 40 mètres de la source se situe la confluence des eaux acides et des eaux de ruissellement ; ce qui modifie l'hydrodynamique de la rivière. Plus loin, le Reigous collecte des ruissellements acides descendant des anciennes carrières (figure 6.1). Dans le contexte de ce travail, seuls les quarantes premiers mètres du Reigous seront modélisés. De plus dans cet intervalle, les précipitations minérales sont particulièrement importantes.

La figure 6.5 schématise le profil du Reigous dans ses quarantes premiers mètres et situe les différents points de prélèvements (1,A,C,E,F et 2). Les eaux prélevées au cours de l'année 2001 sont caractérisées par les analyses de l'oxygène dissous, le pH, le Fe(II), l'arsenic total et l'As(III) [31]. Ces analyses (figure 6.6) seront utilisées pour la modélisation.

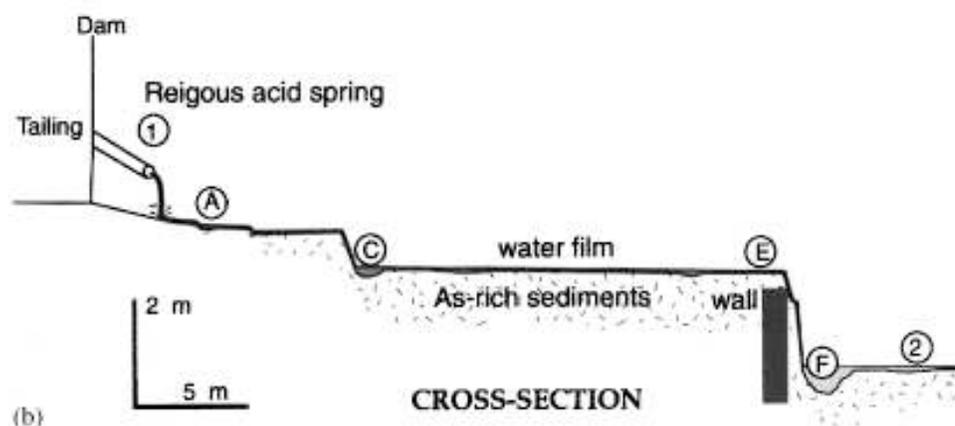


Fig. 6.5 – Situation hydrologique de la source du Reigous et des différents points de prélèvements (1,A, C, E, F, 2) [31].

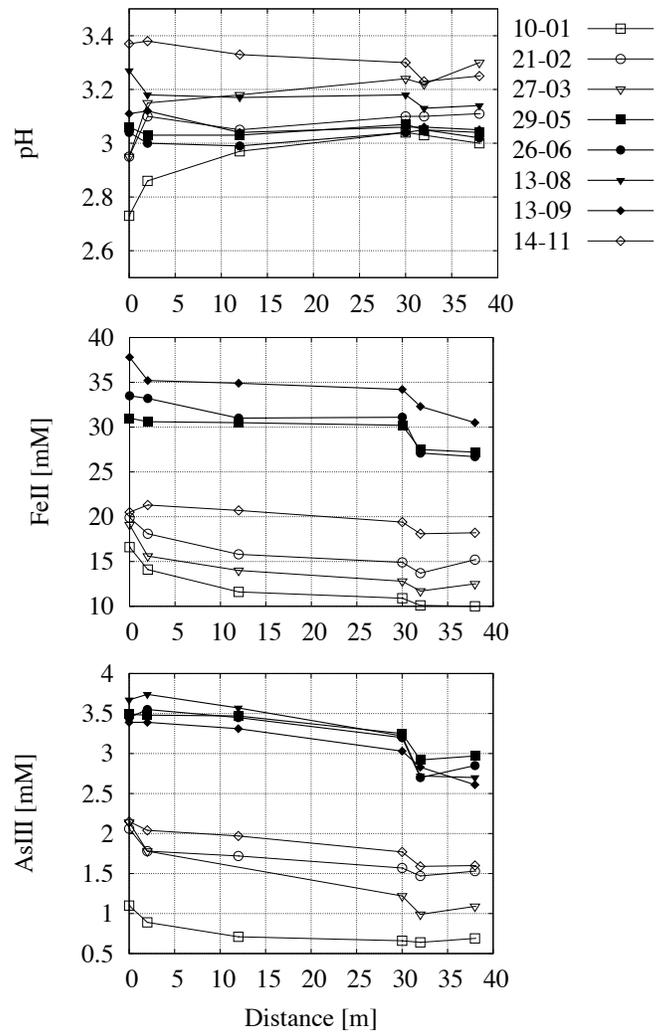
## 6.2 Les expériences de laboratoire

Afin de mieux comprendre l'évolution chimique de l'eau de drainage minier le long du Reigous, et en particulier le rôle des microorganismes dans cette évolution, différentes expériences de laboratoire ont été réalisées [46, 31] (figure 6.7) :

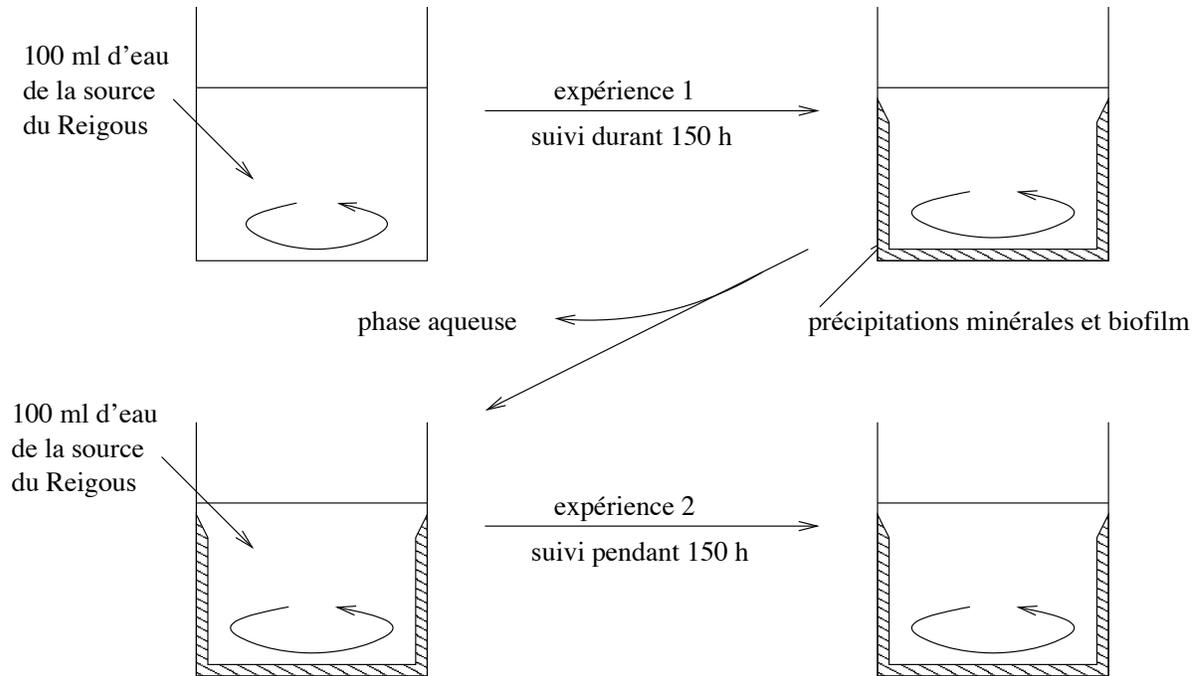
- Expérience 1. 100 ml d'eau de la source non-filtrée sont prélevés et incubés à 20 °C dans un flacon mélangé au contact de l'atmosphère. L'évolution chimique de l'eau est suivie pendant 150h en prélevant régulièrement un aliquot et en y dosant l'As(III), l'arsenic total, le Fe(II), le fer total, le sulfate. Le pH et le potentiel d'oxydo-réduction des solutions sont également mesurés.
- Expérience 2. La deuxième expérience est du même type que la première. Mais alors que la première est réalisée dans des flacons propres, la deuxième est réalisée dans les flacons dont les parois sont recouvertes des précipitations minérales de la première expérience. Ces précipitations minérales renferment également le biofilm fixé et acclimaté.

Pour chaque expérience, des témoins consistent à réaliser la même expérience avec une étape de stérilisation par filtration. Les résultats des deux expériences sont présentés sur la figure 6.8. De telles expériences permettent d'étudier l'activité du consortium bactérien présent naturellement dans l'eau du Reigous. Cette activité est plus importante si l'expérience est réalisée en présence du précipité riche en bactéries.

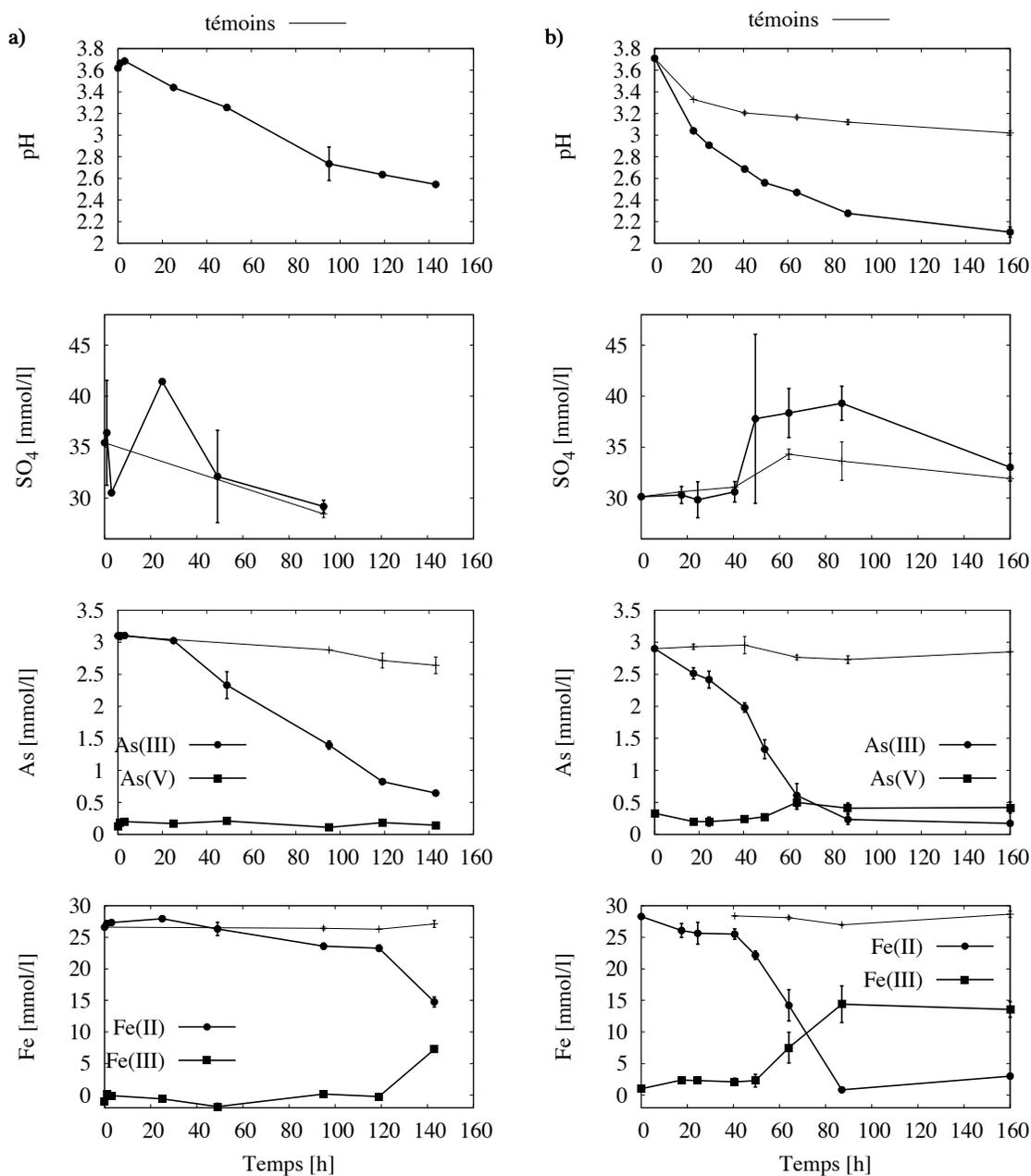
D'autres expériences sont réalisées avec des souches pures isolées sur le site de Carnoulès. De telles expériences permettent d'étudier les activités bactériennes



**Fig. 6.6** – Mesures du pH, des concentrations en Fe(II) et en As(III) le long des quarantes premiers mètres du Reigous au cours de l'année 2001 [31].



**Fig. 6.7** – Schéma des expériences d'oxydations aérobie du fer et de l'arsenic dans l'eau de la source du Reigous.



**Fig. 6.8** – Évolution du pH, des concentrations en Fe(II), Fe(III), As(III), arsenic V et sulfate en conditions biotiques ou abiotiques (témoins) sans la présence initiale d'un précipité (expérience 1) (a) ou avec (expérience 2) (b).

indépendamment les unes des autres [25]. Elles ne seront pas utilisées ici. D'une part parce qu'il n'y a pas eu de suivi des concentrations tout au long de ces expériences mais seulement des mesures initiales et finales. D'autre part, parce que la cinétique d'un métabolisme réalisé par une souche pure s'exporte difficilement à la même souche au sein du consortium bactérien. En effet les interactions entre les différentes souches du consortium jouent un rôle important [55].

Dans la suite nous nous intéresserons à la modélisation hydro-bio-géochimique des quarantes mètres après la source du Reigous. La modélisation s'aidera des expériences de suivi en laboratoire de l'évolution de l'eau de la source. Ces expériences permettent en effet de caler certains paramètres des lois cinétiques utilisées, avant l'intervention d'un transport. Afin d'orienter la réflexion sur les choix des concepts susceptibles de modéliser ce cas d'étude, un calcul de spéciation est réalisé.

### *La spéciation*

A partir des concentrations mesurées (concentrations totales) en un point, la spéciation est la détermination des concentrations et activités de chaque espèce chimique présentes en ce point. Ces calculs ont été réalisés avec CHESS en chaque point de mesure des expériences et du Reigous, moyennant quelques hypothèses :

- En chaque point, les différents paramètres mesurés (Fe(II), Fe(III), As(III), As(V), sulfate, pH, température, oxygène dissous) permettent de fixer les concentrations utiles à la modélisation.
- Les concentrations totales en chlore, calcium, magnésium, sodium et potassium sont fixées d'après les différents dosages en ions majeurs effectués à la source.
- La température n'a pas été mesurée durant les expériences, qui sont réalisées à température ambiante. Une température de 20 °C est utilisée pour la modélisation.
- L'oxygène dissous n'a pas été mesuré durant les expériences, qui sont mélangées et au contact avec l'atmosphère. La phase aqueuse est considérée à l'équilibre avec les principaux constituants de l'atmosphère (O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub> et CO<sub>2</sub>). Le dioxygène dissous est donc supposé à saturation, soit une concentration aqueuse de 0.27 mmolal.
- Dans l'expérience 1, le Fe(II) et fer total ont été dosés, mais selon les erreurs analytiques (évaluées à 5% pour le Fe(II) et à 3% pour le fer total), les valeurs de ces deux concentrations ne sont pas toujours significativement différentes. Ces mesures permettent de montrer la prédominance du fer à un degré d'oxydation +2 mais ne permettent pas de fixer une concentration en Fe(III) fiable. Dans ce cas, la spéciation est réalisée en supposant l'équilibre avec la ferrihydrite. Cette

hypothèse permet de fixer une concentration en Fe(III) dont la valeur est trop faible pour être mesurée. La même hypothèse est utilisée dans le Reigous.

- Le même problème apparaît dans le Reigous avec l'As(V) dont la concentration est parfois trop faible pour être mesurée. Dans ce cas, la spéciation est réalisée en supposant également un équilibre avec la scorodite amorphe.

Pour le calcul, seules la ferrihydrite et la scorodite amorphe peuvent précipiter. Le choix de ces deux minéraux sera justifié dans la suite (paragraphe 6.4). La base de données du CTDP est utilisée [151], complétée par différentes phases minérales et par les complexes aqueux fer-arsenic. La constante de dissolution de la scorodite amorphe a été calculée par CHESS selon les données de la littérature (annexe A). Les constantes thermodynamiques de la spéciation de l'As(V) viennent de [158] (tableau 5.2).

### 6.3 Les réactions d'oxydo-réduction

Le dioxygène dissous joue le rôle d'accepteur d'électrons et modifie l'état redox du milieu (une augmentation du potentiel redox est observée durant l'expérience 1). Les principaux couples d'oxydo-réduction mis en jeu sont O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O, AsV/AsIII et FeIII/FeII. Analysons l'évolution des potentiels d'oxydo-réduction de ces couples. A partir de la spéciation calculée en chacun des points expérimentaux, les potentiels d'oxydo-réduction sont déterminés selon les équations :

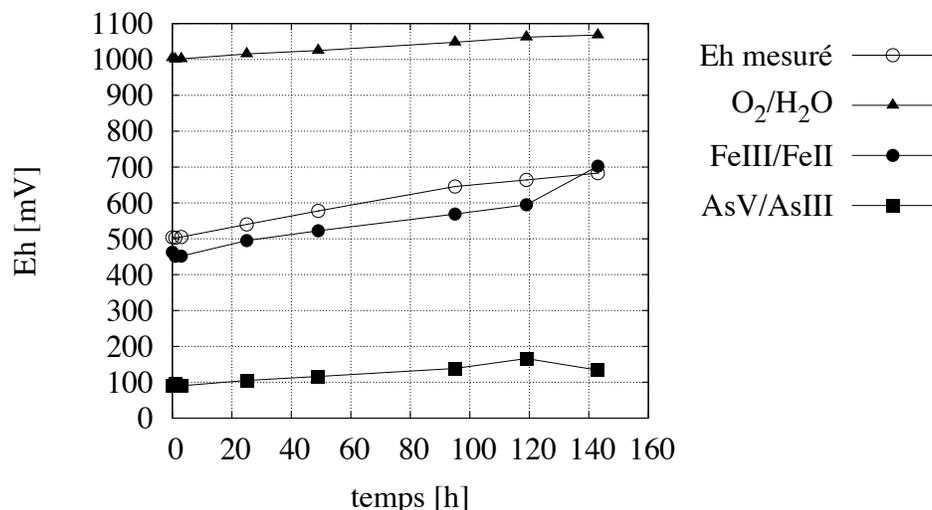
$$E_{\text{FeIII/FeII}} = E_{\text{FeIII/FeII}}^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{Fe}^{2+}]}{[\text{Fe}^{3+}]} \right) \quad (6.6)$$

$$E_{\text{AsV/AsIII}} = E_{\text{AsV/AsIII}}^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{H}_2\text{AsO}_3^-]^{1/2} [\text{H}_2\text{O}]^{1/2}}{[\text{H}_2\text{AsO}_4^-]^{1/2} [\text{H}^+]} \right) \quad (6.7)$$

$$E_{\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}} = E_{\text{O}_2/\text{H}_2\text{O}}^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{H}_2\text{O}]^{1/2}}{[\text{O}_2(\text{aq})]^{1/4} [\text{H}^+]} \right) \quad (6.8)$$

La figure 6.9 présente les résultats de ces calculs pour l'expérience 1. La mesure du potentiel d'oxydo-réduction de la solution s'accorde bien au potentiel calculé pour le couple FeIII/FeII (figure 6.9). Ce qui suggère que le potentiel redox est contrôlé par ce couple.

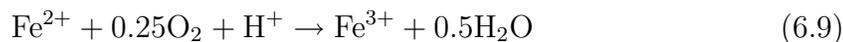
Les larges différences entre les potentiels redox des différents couples montrent que l'équilibre redox n'est pas respecté. On prendra l'hypothèse d'un équilibre redox découplé, hypothèse courante dans la modélisation des systèmes géochimiques. En effet, la plupart des réactions d'oxydo-réduction subissent un blocage cinétique bien



**Fig. 6.9** – Évolution des potentiels d'oxydo-réduction durant l'expérience 1. Les potentiels des couples O<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>O, FeIII/FeII et AsV/AsIII sont calculés à partir de la spéciation en chaque point de mesure.

qu'elles soient thermodynamiquement possibles. Ces cinétiques sont contrôlées par les activités bactériennes.

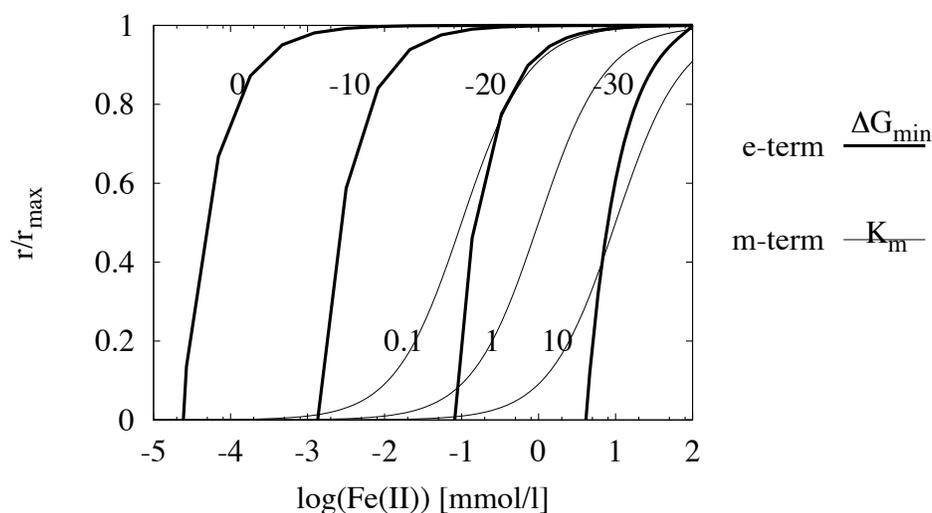
De nombreux genres bactériens ont été isolés à partir de la population bactérienne du Reigous [24]. En particulier l'eau de la source contient des bactéries capables d'oxyder le fer (*Acidithiobacillus ferrooxidans* et *Gallionella ferruginea*), d'autres capables d'oxyder l'arsenic (*Thiomonas sp.*) et certaines capables de réaliser les deux oxydations (*Thiomonas sp.*) [24, 31, 25]. Les oxydations biologiques du fer et de l'arsenic sont donc prises en compte :



Les réactions d'anabolismes sont négligées car l'activité biologique semble essentiellement due au biofilm dont la croissance n'a pas été mesurée. De plus, d'autres expériences similaires ont montré une concentration bactérienne en phase aqueuse constante aux alentours de 10<sup>6</sup> cellules/ml.

**Le catabolisme du fer**

Parmi les bactéries oxydatives du fer présentes dans l'eau du Reigous, *Acidithiobacillus ferrooxidans* a été largement étudiée de telle sorte que la cinétique du catabolisme aérobie de cette espèce est assez bien caractérisée [141, 114, 110, 63]. De nombreuses lois cinétiques ont été proposées pour caractériser le métabolisme d'*Acidithiobacillus ferrooxidans*. Celles-ci proviennent d'expériences très diverses par leur nature (en batch, en chemostat, en réacteur à potentiel redox contrôlé [63]), leurs conditions physico-chimiques (pH, température, concentrations en sulfates et en fer), leurs matériels biologiques (provenance et concentration de la souche bactérienne, population libre ou fixée) et leurs méthodes d'analyses (suivi de la consommation de Fe(II), de la consommation de dioxygène, de la production de biomasse). La plupart des auteurs utilisent des lois de Monod afin d'obtenir une loi cinétique fonction de la concentration en Fe(II) [141, 63, 114]. Selon les auteurs, la constante de demi-saturation  $K_m$  varie de 0.43 mM à 9.4 mM [141]. De telles lois de Monod sont représentées sur la figure 6.10.



**Fig. 6.10** – Évolution des termes cinétiques susceptibles de modifier l'oxydation biologique du fer en fonction de la concentration en Fe(II). Comparaison des termes énergétiques (e-term) définis par la spéciation du Reigous et par différentes valeurs de l'énergie minimale d'activation ( $\Delta G_{\min}$  en kJ/mol), et des termes de Monod (m-term) définis par différentes valeurs de la constante de demi-saturation ( $K_m$  en mM). La principale différence est l'annulation du e-term en dessous d'une concentration limite en Fe(II).

Mais le métabolisme du consortium bactérien présent dans le Reigous ne peut être exclusivement associé à *A. ferrooxidans*. De plus, à la fin de l'expérience 2, l'oxydation du fer s'arrête et le système semble atteindre un état d'équilibre pour lequel une concentration non négligeable en Fe(II) (environ 1 mmol/l) est toujours disponible (figure 6.8). Cette observation suggère que la cinétique est plutôt contrôlée par l'énergie de la réaction que par une loi de Monod sur le Fe(II). Les termes énergétiques (e-term) et de Monod (m-term) sont représentés sur la figure 6.10 pour différentes valeurs de leur paramètre. Le terme énergétique est calculé en considérant une spéciation simplifiée : un pH de 3.5 et des équilibres avec la ferrihydrite, la scorodite amorphe et l'oxygène atmosphérique. On remarque que le terme énergétique est relativement proche du terme de Monod mis à part qu'il permet d'atteindre une cinétique nulle pour des concentrations non négligeables en Fe(II). Pour la suite, nous n'utiliserons pas de terme de Monod mais un terme énergétique seul.

L'arrêt du catabolisme du fer alors qu'il reste des donneurs d'électrons biodisponibles, s'explique par la diminution de l'énergie libre de réaction. En effet, l'énergie libérée par le catabolisme est utilisée par les bactéries pour leur croissance (anabolisme) et/ou leur maintenance cellulaire. Lorsque le catabolisme n'est plus susceptible de libérer suffisamment d'énergie pour permettre la vie bactérienne, il s'arrête. Pour visualiser ce phénomène, l'évolution des énergies libres de réaction (figures 6.11) a été calculée à partir de la spéciation en chaque point de mesure (paragraphe 6.2).

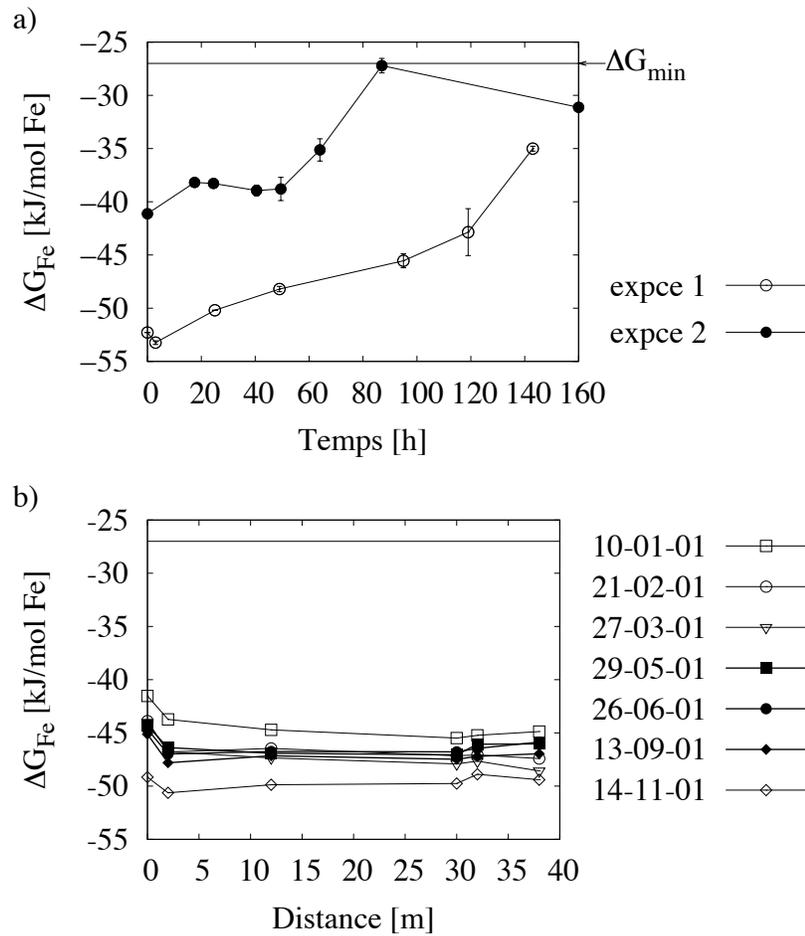
Pour tenir compte de l'énergie de réaction, la cinétique réactionnelle  $r_1$  du catabolisme du fer prend la forme suivante [67] :

$$r_1 = k_1 \left( 1 - \exp \left( \frac{\Delta G_{Fe} - \Delta G_{Fe}^m}{RT} \right) \right) \quad (6.11)$$

Avec  $R$  constante des gaz parfaits et  $T$  température en Kelvin. L'énergie libre  $\Delta G_{Fe}$  de la réaction du catabolisme du fer est évaluée en fonction de l'énergie libre standard  $\Delta G_{Fe}^0$  et des activités des espèces aqueuses calculées par CHESS selon la formule de Nernst :

$$\Delta G_{Fe} = \Delta G_{Fe}^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{Fe}^{2+}][\text{O}_2(\text{aq})]^{1/4}[\text{H}^+]}{[\text{Fe}^{3+}][\text{H}_2\text{O}]^{1/2}} \right) \quad (6.12)$$

L'énergie libre standard de cette réaction est de 48.36 kJ/mol Fe (base de données du CTDP). L'énergie  $\Delta G_{Fe}^m$  correspond à l'énergie minimale nécessaire à l'activation du catabolisme du fer. Cette énergie minimale est fonction de l'énergie libre de la réaction de synthèse d'une molécule d'Adénosine Tri-Phosphate (ATP). En effet la réaction précédente est en réalité couplée à la réaction de synthèse d'ATP :



**Fig. 6.11** – Évolution de l'énergie libre de la réaction d'oxydation aérobie du fer au cours des expériences (a) et le long du Reigous (b), calculée à partir de la spéciation en chaque point de mesure.



Dans les conditions cellulaires classiques, l'énergie libre de cette réaction est d'environ  $\Delta G_{ATP} = 50$  kJ/mol ATP [143]. Selon le mécanisme réactionnel supposé du catabolisme du fer, 1 mol d'ATP est synthétisée pour 3 mol de fer oxydées [110]. La réaction devrait donc s'arrêter lorsque l'énergie de la réaction d'oxydation du fer atteint  $-0.33 * 50 \simeq -16.5$  kJ/mol Fe. Mais l'efficacité thermodynamique de la cellule n'est pas parfaite. C'est pourquoi la réaction de métabolisme s'arrête avant la limite théorique de  $-16.5$  kJ/mol. D'après la figure 6.11a, l'énergie libre minimale a été fixée à  $\Delta G_{Fe}^m = -27$  kJ/mol Fe. Ce qui correspond à une efficacité énergétique cellulaire de 60 %.

Durant l'expérience 2, le métabolisme d'oxydation aérobie du fer semble bien limité par l'énergie de la réaction. En revanche, l'expérience 1 est plus lente et l'oxydation du fer est toujours active au bout de 150h comme en témoigne les évolutions des concentrations (figure 6.8). Le long du Reigous, l'énergie libre de réaction reste plus ou moins stable entre  $-40$  et  $-50$  kJ/mol (figures 6.11). Ce qui tend à montrer qu'in situ, la cinétique d'oxydation du fer n'est pas limitée par la thermodynamique mais par d'autres facteurs comme par exemple la biodisponibilité du dioxygène dissous.

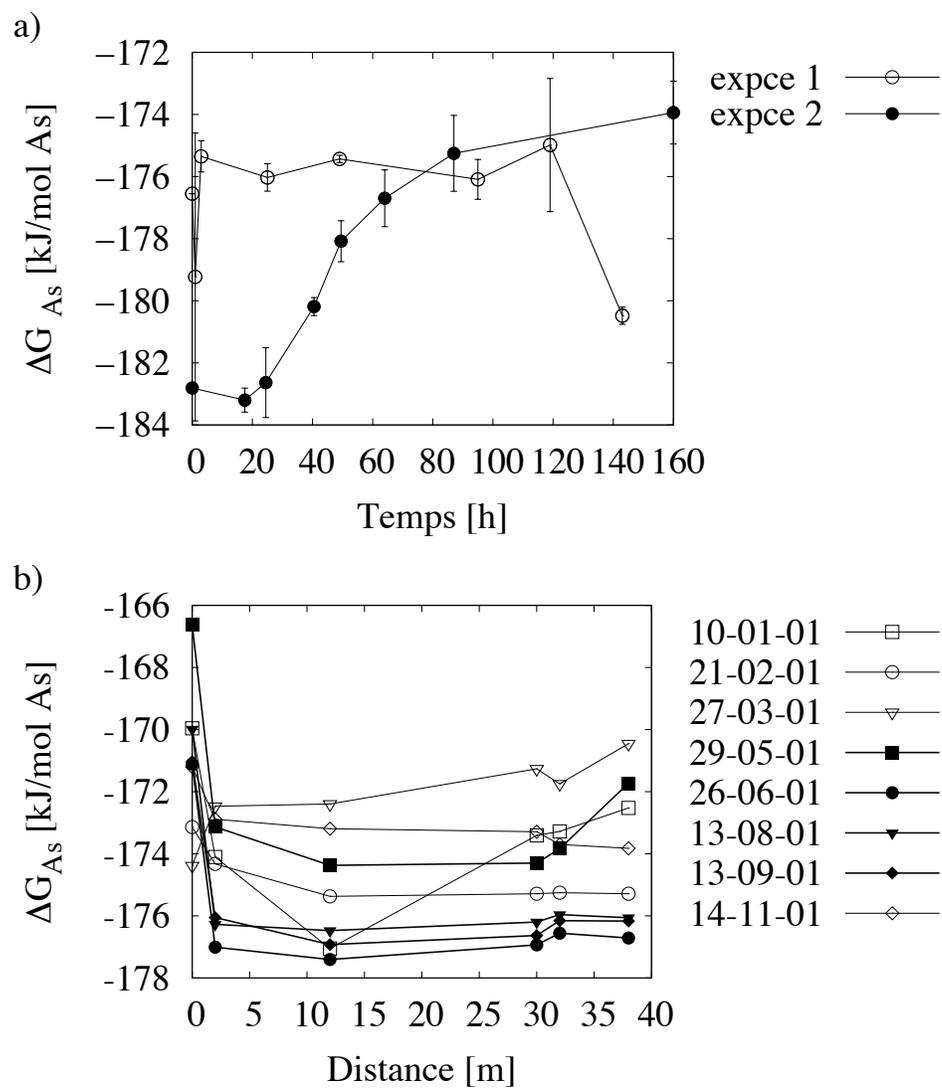
### *L'oxydation de l'arsenic*

De même que pour le fer, l'oxydation biologique de l'arsenic s'arrête en fin d'expérience alors qu'il reste de l'As(III) biodisponible (environ 0.1 mmol/l). L'évolution de l'énergie libre d'oxydation aérobie de l'arsenic déterminée à partir du calcul de spéciation (figure 6.12) montre que cette réaction reste très loin de l'équilibre que ce soit durant les expériences ou le long du Reigous. Néanmoins, devant le peu de connaissances du mécanisme biologique précis, cette réaction est modélisée par le même type de cinétique que pour le fer :

$$r_2 = k_2 \left( 1 - \exp \left( \frac{\Delta G_{As} - \Delta G_{Fe}^m}{RT} \right) \right) \quad (6.14)$$

L'énergie libre est calculée en utilisant l'énergie libre standard issue de la base de données du CTDP [151] et les activités issues du calcul de spéciation :

$$\Delta G_{As} = \Delta G_{As}^0 + RT \ln \left( \frac{[\text{H}_2\text{AsO}_3^-][\text{O}_2(\text{aq})]^{1/2}}{[\text{H}_2\text{AsO}_4^-]} \right) \quad (6.15)$$



**Fig. 6.12** – Évolution de l'énergie libre de la réaction d'oxydation aérobie de l'arsenic au cours des expériences (a) et le long du Reigous (b), calculée à partir de la spéciation en chaque point de mesure.

D'après la figure 6.12, on fixe  $\Delta G_{Fe}^m$  à  $-174$  kJ/mol As. Une telle valeur ne pourra être discutée tant qu'une description précise des mécanismes biologiques d'oxydation de l'arsenic ne sera pas disponible. Néanmoins, cette valeur semble trop grande pour représenter une énergie minimale de catabolisme de l'arsenic. S'il ne s'agit pas d'une réaction de catabolisme, l'oxydation biologique de l'arsenic peut être un processus de détoxification. L'As(III) étant plus toxique que l'As(V), son oxydation permet aux bactéries de réduire la toxicité du milieu dans lequel elles vivent. Cette oxydation s'arrêterait lorsque la concentration en As(III) n'est plus limitante pour les bactéries (0.2 mmol/l en fin d'expérience 2). D'autres études seront nécessaires à la compréhension de cette oxydation biologique.

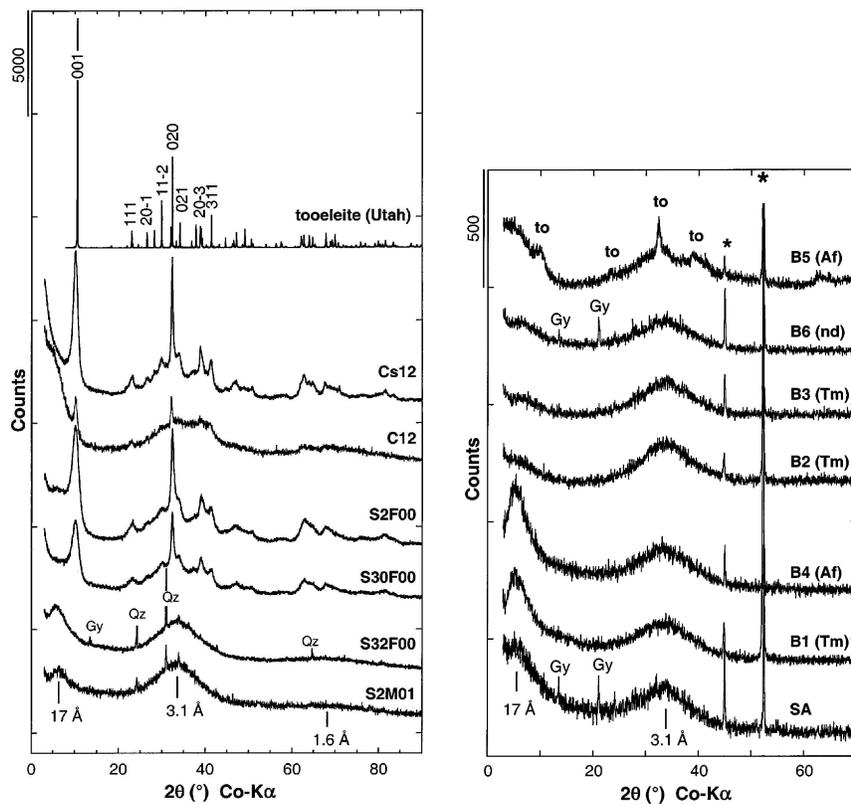
Les oxydations du fer et de l'arsenic modifient la chimie dans le biofilm et sont responsables de précipitations minérales. Celles-ci sont intimement liées au biofilm. Afin de les modéliser, analysons leur nature.

## 6.4 Les phases minérales

Deux processus physiques peuvent expliquer la disparition concomitante de fer et d'arsenic de la phase aqueuse : la sorption d'arsenic à la surface d'une phase solide ; la co-précipitation d'arsenic et de fer dans une même phase solide. Ces deux processus peuvent intervenir ensemble et sont alors difficilement distinguables. Les analyses DRX des phases solides prélevées in situ ou en fin d'expérience produisent un motif général (sharp pattern) correspondant à une phase amorphe de fer et d'arsenic (figure 6.13). Ces analyses ont permis d'identifier la tooeleite dans certains échantillons [112]. Ces observations semblent indiquer que ce sont des processus de co-précipitation plutôt que de sorption qui sont responsables de la disparition de fer et d'arsenic de la phase aqueuse. Des phénomènes de sorption peuvent également intervenir en plus de la co-précipitation, néanmoins ceux-ci seront négligés dans nos modélisations.

Les analyses de cette phase amorphe par micro-sonde électronique ont montré la présence d'arsenic à des degrés d'oxydation +5 et +3 [112]. Dans les expériences, l'As(V) est prédominant dans la phase solide. Seules les cultures de quelques souches pures (B5 et B20) ont donné des phases minérales contenant de l'As(III) (oxyde de Fe(III) et d'As(III) amorphe et/ou tooeleite). Dans les quarantes premiers mètres en aval de la source, la présence d'As(III) précipité est identifié essentiellement en hiver [112]. Notre but premier étant de modéliser les expériences, seule la phase amorphe de Fe(III) et d'As(V) sera modélisée.

Les analyses par micro-sonde électronique de cette phase amorphe donnent des rapports molaires As/Fe compris entre 0.37 et 0.8 [112]. A partir de l'évolution des concentrations aqueuses en Fe et en As, le rapport As/Fe de la phase solide peut également être calculé. Celui-ci est d'environ 0.6 à la fin de l'expérience 1 et de 0.3 à



**Fig. 6.13** – Analyses DRX des phases solides prélevées in situ (à gauche) et en fin d'expériences (à droite) [112].

la fin de l'expérience 2. Le rapport As/Fe de la phase solide évolue selon les quantités de fer et d'arsenic qui précipitent. Et la phase amorphe n'a donc pas une formule chimique constante.

Une telle phase amorphe n'est pas présente dans les bases de données. Le tableau 6.1 synthétise les données thermodynamiques de quelques minéraux se rapprochant de cette phase.

- la ferrihydrite ( $\text{Fe}(\text{OH})_3$ ) précipite à des pH proches de la neutralité. Elle est observée à la confluence du Reigous et de l'Amous, ainsi qu'à la base du stock de déchets. Elle est modélisée par des  $\log K$  variant de  $-2$  à  $-5$ . Elle possède une grande surface spécifique [47]. Elle peut sorber de nombreux ions de la solution et des modèles de complexation de surface existent [47]. La sorption de l'arsénite a également été étudiée [119].
- La schwertmannite est un oxyhydroxysulfate de fer faiblement cristallisé [10]. Elle possède une formule chimique variable :  $\text{Fe}_8\text{O}_8(\text{OH})_x(\text{SO}_4)_y$  avec  $8 - x = 2y$  et  $1.0 \leq y \leq 1.75$  [12]. Avec une fenêtre de solubilité de  $18 \pm 2.5$ , elle précipite à des pH acides si la concentration en sulfate le permet [11]. Le sulfate est à la fois intégré à la structure cristalline et sorbé à la surface [10]. La schwertmannite a une grande surface spécifique (de 175 à 225  $\text{m}^2/\text{g}$ ) [10]. Elle peut sorber de l'As(V) [28]. La structure cristalline de la schwertmannite permet l'incorporation d'As(V) [28, 126]. Des modèles de complexation de surface et de solutions solides ont été proposés [56, 57]. La co-précipitation d'As(V) donne de nouvelles formulations chimiques telles que  $\text{Fe}_8\text{O}_8(\text{OH})_{3.9}(\text{SO}_4)_{0.9}(\text{AsO}_4)_{0.75}$  [56]. La modification structurale qui en résulte provoque une diminution de la constante de solubilité jusqu'à  $\log K = 13.5$  [126]. La schwertmannite arsénifiée a des rapports As/Fe qui n'excèdent pas 0.15 [28]. Ce qui n'est pas suffisant pour notre cas d'étude. Elle est observée dans le Reigous après les 40 premiers mètres [112].
- l'arséniate ferrique amorphe précipite aux fortes concentrations en arsenic. Il peut prendre des rapports As/Fe de 0.07 à 1 [154]. Les rapports As/Fe des phases solides prélevées in situ ou en laboratoire se situent bien dans cet intervalle. D'après les analyses DRX, l'arséniate ferrique semble le plus proche des phases minérales prélevées dans les 40 premiers mètres du Reigous et en laboratoire (figure 6.14).
- la goethite ( $\alpha\text{-FeOOH}$ ) se retrouve à des pH proches de la neutralité. La schwertmannite et la ferrihydrite sont métastables vis-à-vis de la goethite [161]. C'est une phase bien cristallisée qui précipite lentement.
- la jarosite se trouve généralement à des pH acides ( $\text{pH} > 2.5$ ) si l'activité des sulfates le permet. Selon les concentrations en contre-ion ( $\text{K}^+$ ,  $\text{Na}^+$  ou  $\text{H}_3\text{O}^+$ ), la jarosite peut prendre plusieurs formulations.

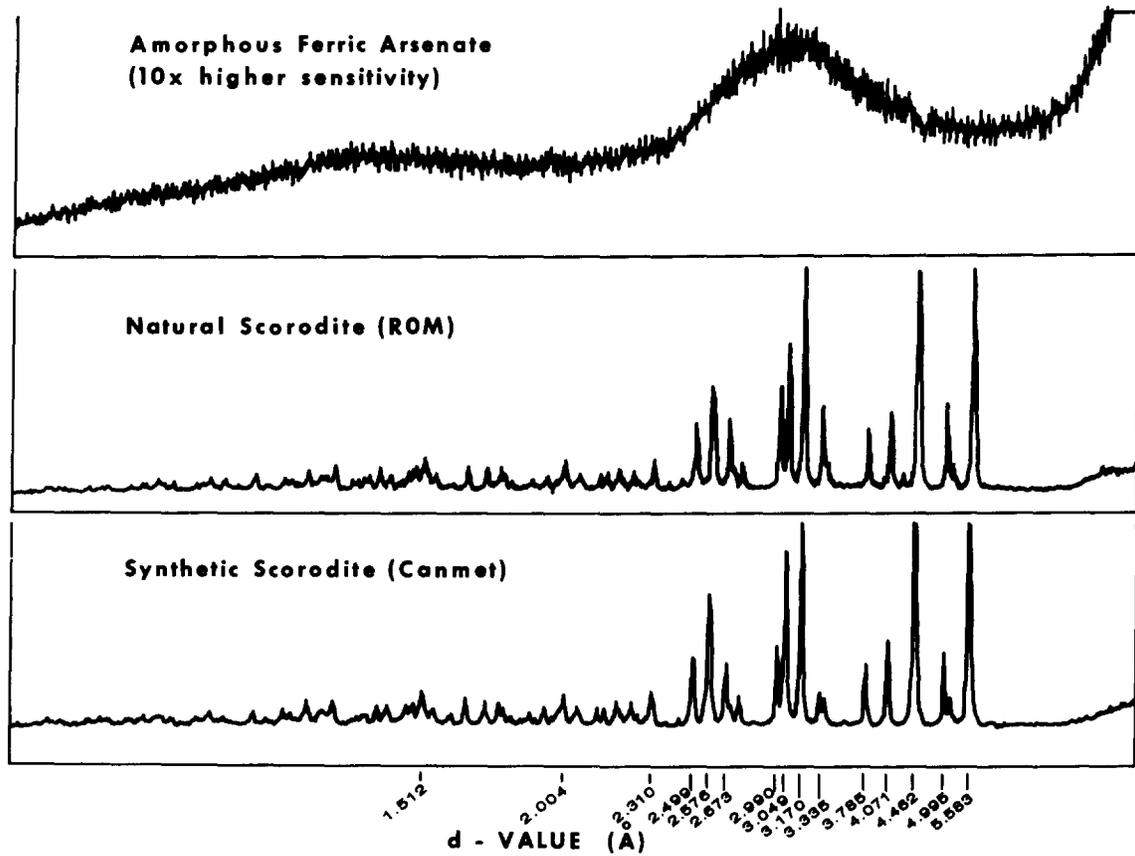
- La scorodite ( $\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) précipite aux pH acides et aux fortes concentrations en arsenic. C'est une phase bien cristallisée qui précipite lentement. Pour des pH supérieurs à 3, la dissolution n'est plus congruente car couplée à la précipitation de ferrihydrite ou de goethite [85, 163]
- la tooeleite ( $\text{Fe}_6(\text{AsO}_3)_4(\text{SO}_4)(\text{OH})_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ). C'est la seule phase bien cristallisée qui est identifiée dans les quarantes premiers mètres du Reigous. Elle est composée d'As(III). Sa constante de dissolution n'est pas connue.

De nombreuses études de solubilité de la scorodite ( $\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ont été réalisées avec de la scorodite mal cristallisée (c'est à dire de l'arséniate ferrique) [37, 115, 129, 154]. Ces études ont permis de déterminer une constante de solubilité pour la scorodite amorphe (annexe A). Mais la précipitation de scorodite amorphe (As/Fe=1) ne peut pas décrire seule les disparitions de fer et d'arsenic aqueux observées et doit être associée à une phases minérale avec un rapport As/Fe faible. La ferrihydrite sera utilisée en association avec la scorodite amorphe afin d'obtenir une phase solide d'arséniate ferrique avec des rapports As/Fe variables. Une solution solide serait envisageable : la scorodite amorphe formant le pôle arsénié, le pôle opposé étant occupé par la ferrihydrite. Néanmoins, les solutions solides n'étant pas prise en compte dans CHESS, les deux phases seront supposées distinctes.

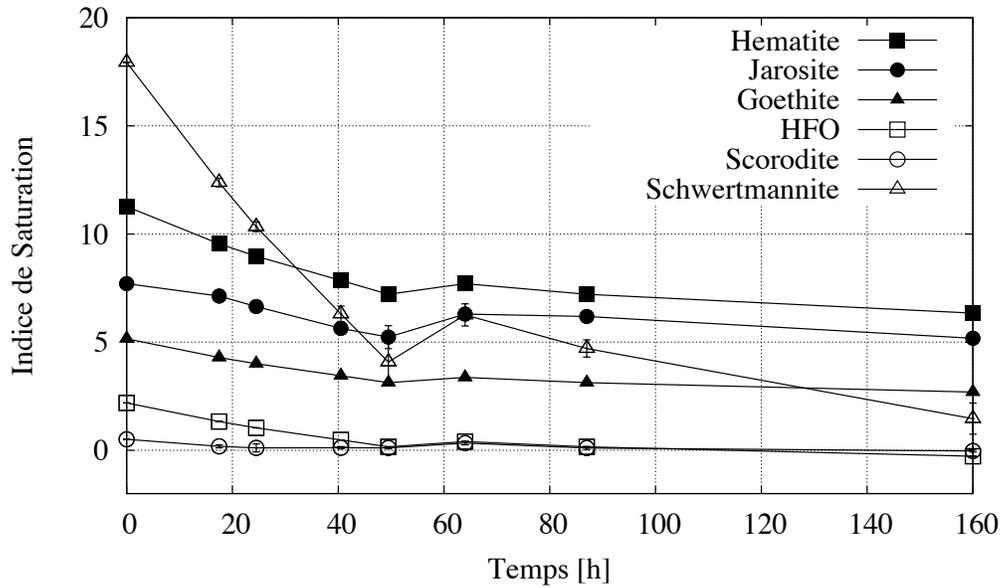
La spéciation permet de déterminer les indices de saturations de ces différents minéraux (figures 6.15 et 6.16). Pour le Reigous, les points pour lesquels la spéciation est basée sur un équilibre vis-à-vis de la scorodite amorphe n'ont pas été utilisés. Au cours de l'expérience 2, plusieurs minéraux ont un indice de saturation positif : la schwertmannite, la scorodite amorphe, l'hématite, la goethite, la jarosite, la magnétite, la lépidocrocite et la ferrihydrite. Ces résultats sont proches de ceux obtenus le long du Reigous (figure 6.16), ce qui semble valider l'hypothèse d'équilibre avec la scorodite amorphe pour le calcul de spéciation.

Dans l'expérience 2, l'indice de saturation de la schwertmannite varie beaucoup du fait des grandes variations dans les mesures de la concentration en sulfate. Tous les autres indices de saturation sont stables (figures 6.15 et 6.16). Des phases bien cristallisées telles que l'hématite, la goethite ou la jarosite sont sursaturées et peuvent précipiter. Mais leur précipitation est lente et souvent précédée par la précipitation de phases amorphes dont la cinétique est plus rapide [97, 28, 161, 75]. Une meilleure cristallisation intervient ensuite pour former des phases thermodynamiquement stables telles que la goethite et la jarosite [9]. La règle d'Ostwald prévoit que c'est le minéral le plus soluble qui précipite en premier [140].

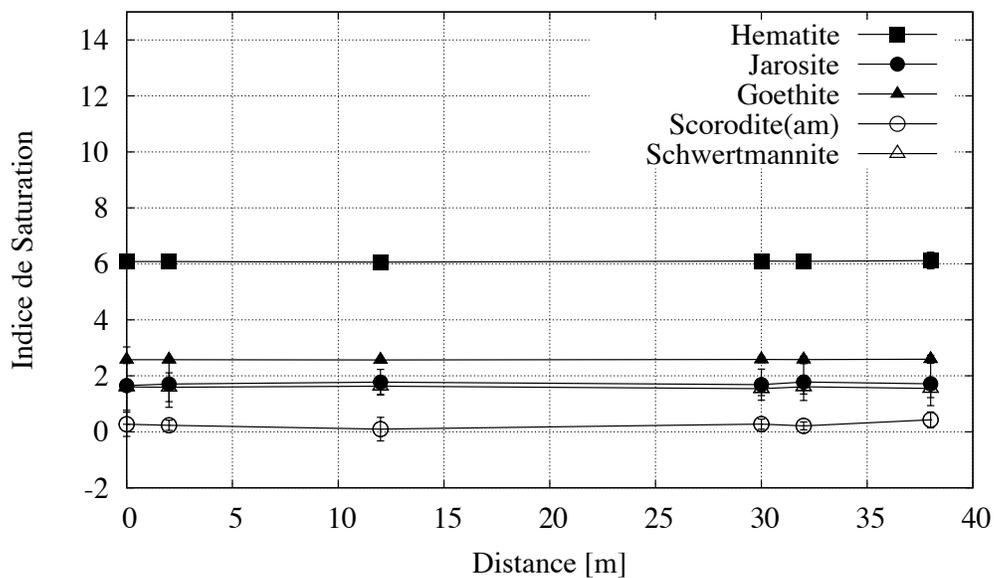
En fin d'expérience 2, le système semble avoir atteint un équilibre géochimique. Dans cet équilibre, la scorodite amorphe et la ferrihydrite ont des indices de saturation proches de zéro. Ce qui confirme l'hypothèse de précipitation de ces deux phases.



**Fig. 6.14** – Analyses DRX de la scorodite cristallisée et de l'arséniate ferrique amorphe [85].



**Fig. 6.15** – Évolution des indices de saturations de l'hématite, la jarosite, la goéthite, la ferrihydrite (HFO), la scorodite amorphe et la schwertmannite au cours l'expérience 2, calculés selon la spéciation en chaque point de mesure.



**Fig. 6.16** – Évolution des indices de saturations de l'hématite, la jarosite, la goethite, la scorodite amorphe et la schwertmannite le long des quarantes premiers mètres du Reigous, calculés selon la spéciation en chaque point de mesure (les calculs reposent sur l'hypothèse de l'équilibre vis-à-vis de la ferrihydrite).

Les observations montrent que les précipitations interviennent au sein du biofilm près des bactéries [52]. Ce qui suggère que le fer et l'arsenic précipitent immédiatement après leur oxydation. Les précipitations de ferrihydrite et de scorodite amorphe seront considérées suffisamment rapides pour être modélisées par des équilibres.

## 6.5 La modélisation des expériences

La plupart des hypothèses posées pour le calcul de la spéciation sont réutilisées ici. Seules la ferrihydrite et la scorodite amorphe peuvent précipiter. Ces deux phases sont considérées à l'équilibre avec la phase aqueuse et fixent les concentrations initiales en Fe(III) et As(V). L'expérience 2 est réalisée avec les précipitations minérales de l'expérience 1. Les concentrations initiales en minéraux de l'expérience 2 sont donc fixées par rapport aux disparitions de fer et d'arsenic de l'expérience 1. Les scripts d'entrée de CHESS pour ces deux simulations sont présentés sur la figure 6.17. A l'échelle de temps des expériences, les réactions de précipitation de phases minérales bien cristallisées sont suffisamment lentes pour être négligées. Les deux réactions biologiques (réaction 6.9 et 6.10) sont les deux réactions cinétiques responsables de

**Tab. 6.1** – Constantes de dissolution à 25 °C et rapport molaire As/Fe des phases solides testées dans la modélisation.

solide	réaction	log $K$	As/Fe
schwertmannite	$\text{Fe}_8\text{O}_8(\text{OH})_6\text{SO}_4 + 22\text{H}^+ \rightleftharpoons 8\text{Fe}^{3+} + \text{SO}_4^{2-} + 14\text{H}_2\text{O}$	-18	0
schwertmannite-As	$\text{Fe}_8\text{O}_8(\text{OH})_{3.9}(\text{SO}_4)_{0.85}(\text{AsO}_4)_{0.8} + 21.5\text{H}^+ \rightleftharpoons 8\text{Fe}^{3+} + 0.85\text{SO}_4^{2-} + 0.8\text{H}_2\text{AsO}_4^- + 11.9\text{H}_2\text{O}$	-13.5	0.1
scorodite(c)	$\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	6.2669	1
scorodite(am)	$\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O} + 2\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{AsO}_4^-$	4.4377	1
magnétite	$\text{Fe}_3\text{O}_4 + 8\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + \text{Fe}^{2+} + 4\text{H}_2\text{O}$	-10.4724	0
hématite	$\text{Fe}_2\text{O}_3 + 6\text{H}^+ \rightleftharpoons 2\text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O}$	-0.1086	0
goethite	$\text{FeOOH} + 3\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O}$	-0.5345	0
lépidocrocite	$\text{FeOOH} + 3\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + 2\text{H}_2\text{O}$	-1.3710	0
ferrihydrite	$\text{Fe}(\text{OH})_3 + 3\text{H}^+ \rightleftharpoons \text{Fe}^{3+} + 3\text{H}_2\text{O}$	-3.5	0
jarosite	$\text{KFe}_3(\text{SO}_4)_2(\text{OH})_6 + 6\text{H}^+ \rightleftharpoons 3\text{Fe}^{3+} + \text{K}^+ + 2\text{SO}_4^{2-} + 6\text{H}_2\text{O}$	9.3706	0
tooeleite	$\text{Fe}_6(\text{AsO}_3)_4(\text{SO}_4)(\text{OH})_4 : 4\text{H}_2\text{O} + 12\text{H}^+ \rightleftharpoons 6\text{Fe}^{3+} + \text{H}_2\text{AsO}_3^- + \text{SO}_4^{2-} + 8\text{H}_2\text{O}$	?	0.66

temperature = 25	temperature = 25
tot Cl[-] = 11.7 mg/l	tot Cl[-] = 11.7 mg/l
tot Ca[2+] = 345.7 mg/l	tot Ca[2+] = 345.7 mg/l
tot Mg[2+] = 141.3 mg/l	tot Mg[2+] = 141.3 mg/l
tot Na[+] = 7.6 mg/l	tot Na[+] = 7.6 mg/l
tot K[+] = 27.4 mg/l	tot K[+] = 27.4 mg/l
pH = 3.62	pH = 3.71
tot SO4[2-] = 35.43 mmol/l	tot SO4[2-] = 30.14 mmol/l
tot H2AsO3[-] = 3.1 mmol/l	tot H2AsO3[-] = 2.9 mmol/l
tot Fe[2+] = 26.61 mmol/l	tot Fe[2+] = 28.29 mmol/l
conc Ferrihydrite = 1e-9 molal	conc Ferrihydrite = 7 mmol/l
conc Scorodite = 1e-9 molal	conc Scorodite = 3 mmol/l
fug O2(g) = 0.21	fug O2(g) = 0.21
fug N2(g) = 0.78	fug N2(g) = 0.78
fug CO2(g) = 0.00035	fug CO2(g) = 0.00035
fix CO2(g), O2(g), N2(g)	fix CO2(g), O2(g), N2(g)

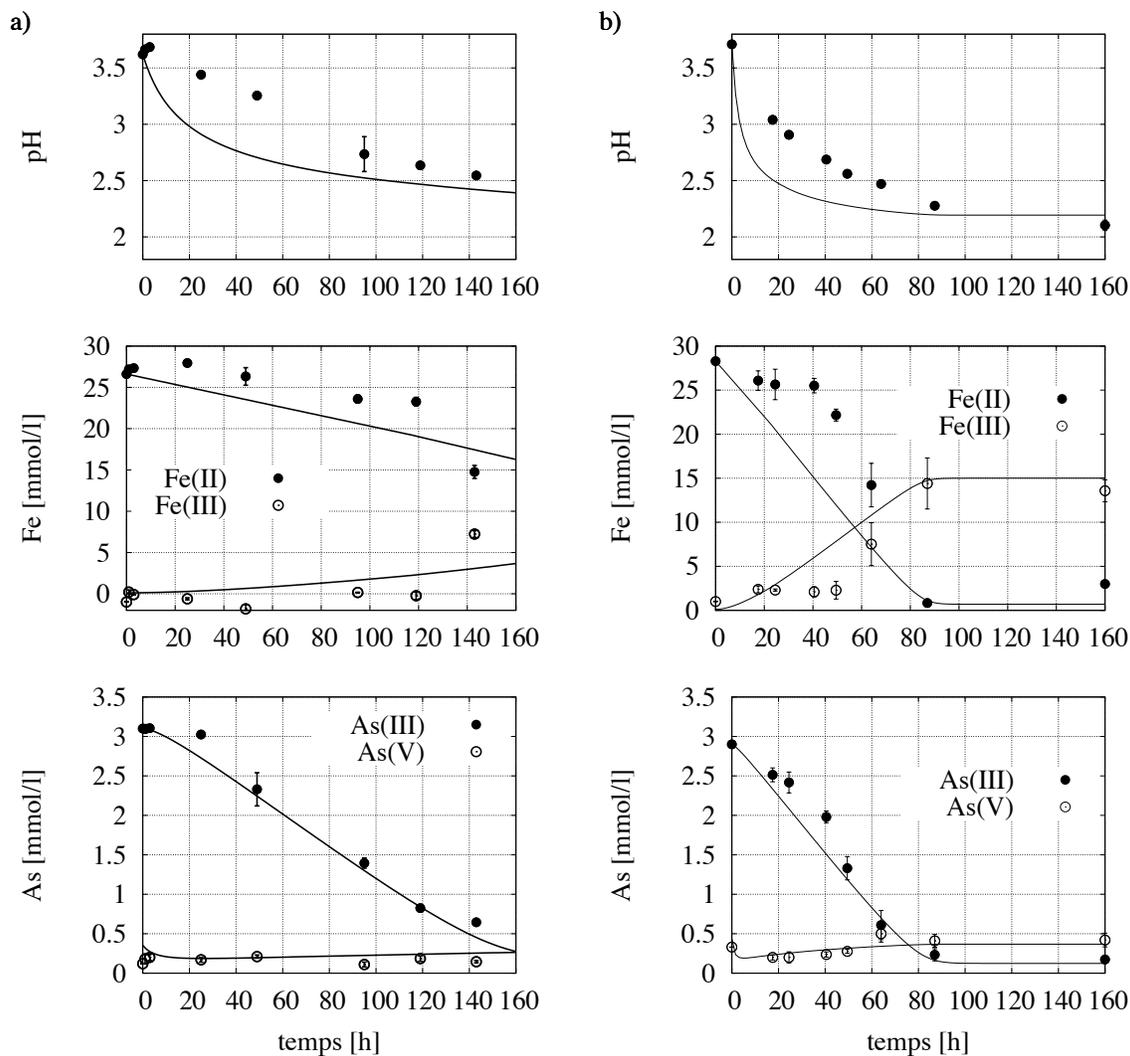
**Fig. 6.17** – Scripts d'entrée CHESS pour la modélisation de l'expérience 1 (à gauche) et de l'expérience 2 (à droite).

l'évolution du système géochimique. Chacune de ces deux cinétiques fait intervenir un terme thermodynamique. L'énergie libre minimale d'activation du métabolisme du fer est fixée à  $\Delta G_{Fe}^m = -27$  kJ/mol Fe (voire paragraphe 6.3).

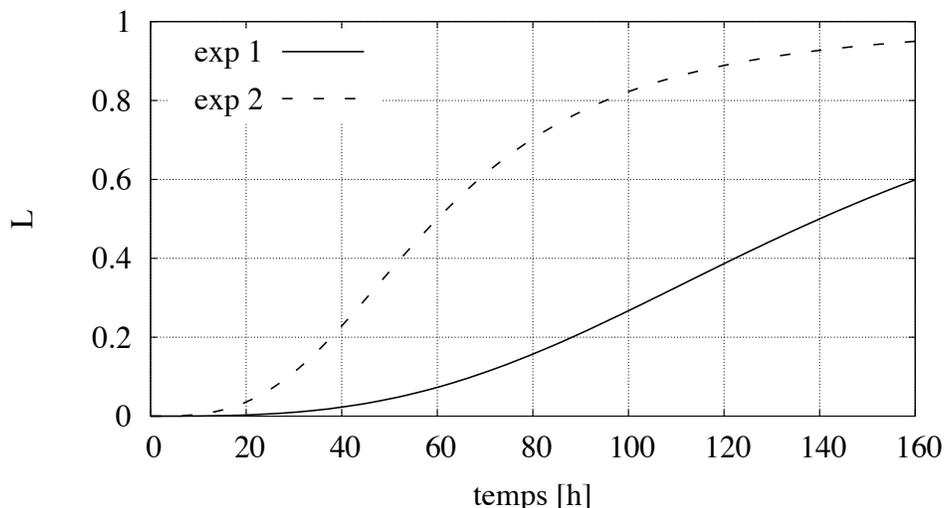
Avec les hypothèses précédentes, la modélisation de chaque expérience a été ajustée en utilisant les deux paramètres de calage  $k_1$  et  $k_2$ . Les résultats de ces modélisations sont présentés sur la figure 6.18. Les valeurs des constantes de vitesses  $k_1$  et  $k_2$  sont reportées dans le tableau 6.2. Les évolutions des concentrations simulées suivent les mêmes tendances que les concentrations expérimentales. Néanmoins, les cinétiques semblent trop rapides en début d'expérience. Ce qui se matérialise par un pH et une concentration en Fe(II) sous-estimés en début d'expérience. Cette discordance peut être le résultat de plusieurs processus :

- Un temps de latence avant le début de l'activité biologique dû au changement rapide du milieu subi par les microorganismes en début d'expérience. Leur activité ne commence que lorsqu'ils sont complètement acclimatés à leurs nouvelles conditions environnementales, c'est à dire lorsqu'ils ont synthétisé toute la machinerie cellulaire nécessaire aux catabolismes. Une nouvelle modélisation est réalisée en intégrant le terme de latence  $L(t)$  suivant sur la cinétique biologique d'oxydation du fer :

$$L(t) = \frac{t^n}{\tau^n + t^n} \quad (6.16)$$



**Fig. 6.18** – Évolutions expérimentales et modélisées du pH, des concentrations en Fe(II) et (III) et en As(III) et (V) pour l'expérience 1 (a) et l'expérience 2 (b). La phase solide est modélisée par la ferrihydrite et la scorodite amorphe.



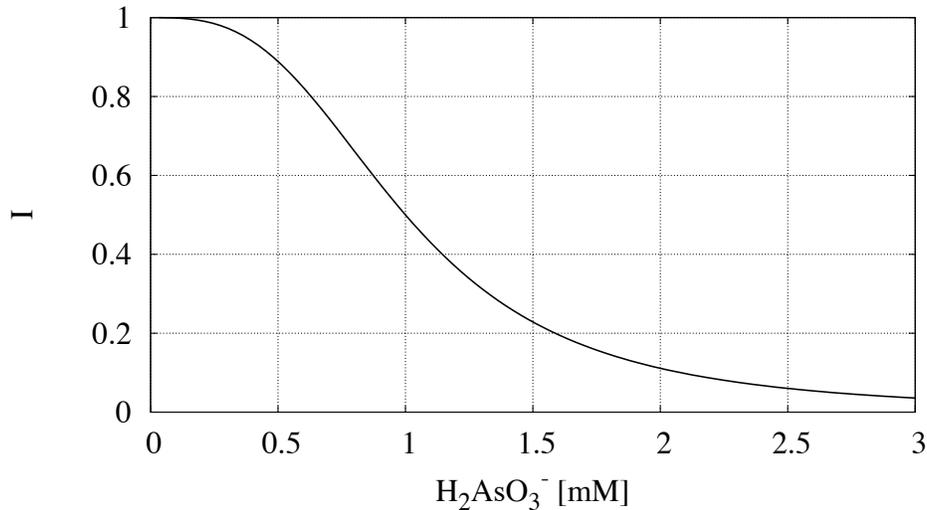
**Fig. 6.19** – Représentation graphique du terme de latence utilisé pour la modélisation de l'expérience 1 et de l'expérience 2.

Les paramètres  $n$  et  $\tau$ , ainsi que la constante cinétique  $k_1$ , sont ajustés afin que la modélisation s'accorde le mieux possible avec les données. On fixe alors  $\tau = 150$  h dans l'expérience 1 et  $\tau = 40$  h dans l'expérience 2. Un exposant  $n = 2$  est choisi. Ce terme de latence est représenté sur la figure 6.19. Les résultats de cette modélisation sont représentés sur la figure 6.21. La nouvelle constante cinétique  $k_{1L}$  est reportée dans le tableau 6.2.

- L'inhibition du métabolisme du fer par l'As(III). Certains auteurs ont en effet rapporté qu'à partir d'une concentration de 1.46 mmol/l, l'arsenic pouvait inhiber l'oxydation du Fe(II) par *Thiobacillus ferrooxidans* [114]. Les concentrations importantes en As(III) en début d'expérience peuvent être responsables de la cinétique moins importante. Une nouvelle modélisation est réalisée en intégrant le terme d'inhibition  $I([\text{H}_2\text{AsO}_3^-])$  suivant sur la cinétique biologique d'oxydation du fer :

$$I([\text{H}_2\text{AsO}_3^-]) = \frac{K_i^n}{K_i^n + [\text{H}_2\text{AsO}_3^-]^n} \quad (6.17)$$

Les paramètres  $K_i$  et  $n_i$ , ainsi que la constante cinétique  $k_1$ , sont ajustés afin que la modélisation s'accorde le mieux possible avec les données. On fixe alors  $K_i = 1$  mM et  $n = 3$ . Ce terme d'inhibition est représenté sur la figure 6.20. Les résultats de cette nouvelle modélisation sont représentés sur la figure 6.22. La nouvelle constante cinétique  $k_{1I}$  est reportée dans le tableau 6.2.



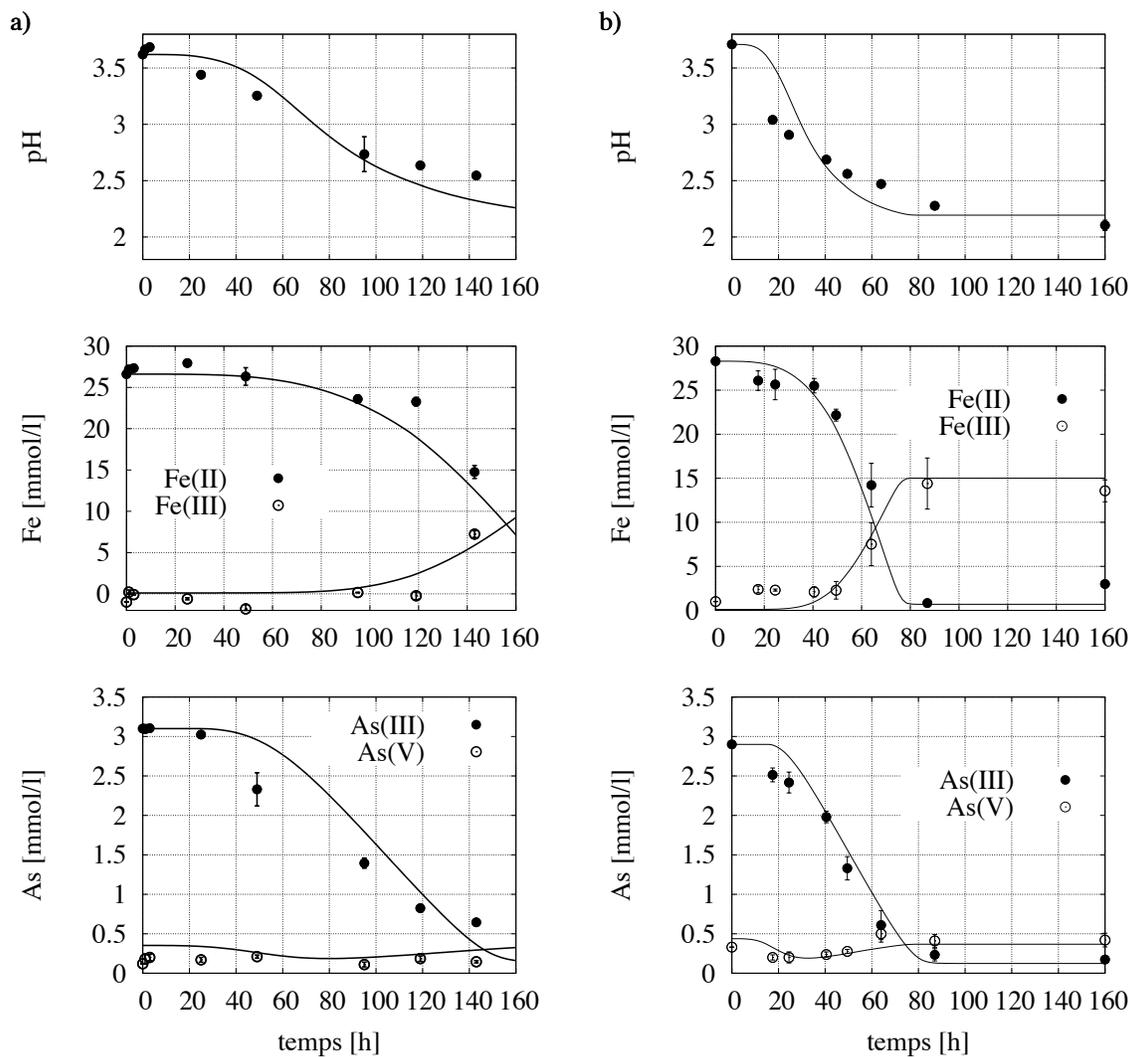
**Fig. 6.20** – Représentation graphique du terme d'inhibition utilisé pour la modélisation des expériences.

**Tab. 6.2** – Vitesses d'oxydation du fer et de l'arsenic (en mmol Fe/l/h ou mmol As/l/h). Comparatif des constantes cinétiques utilisées dans les simulations avec le terme de latence ( $k_L$ ), avec le terme d'inhibition ( $k_I$ ) ou sans termes supplémentaires ( $k_S$ ).

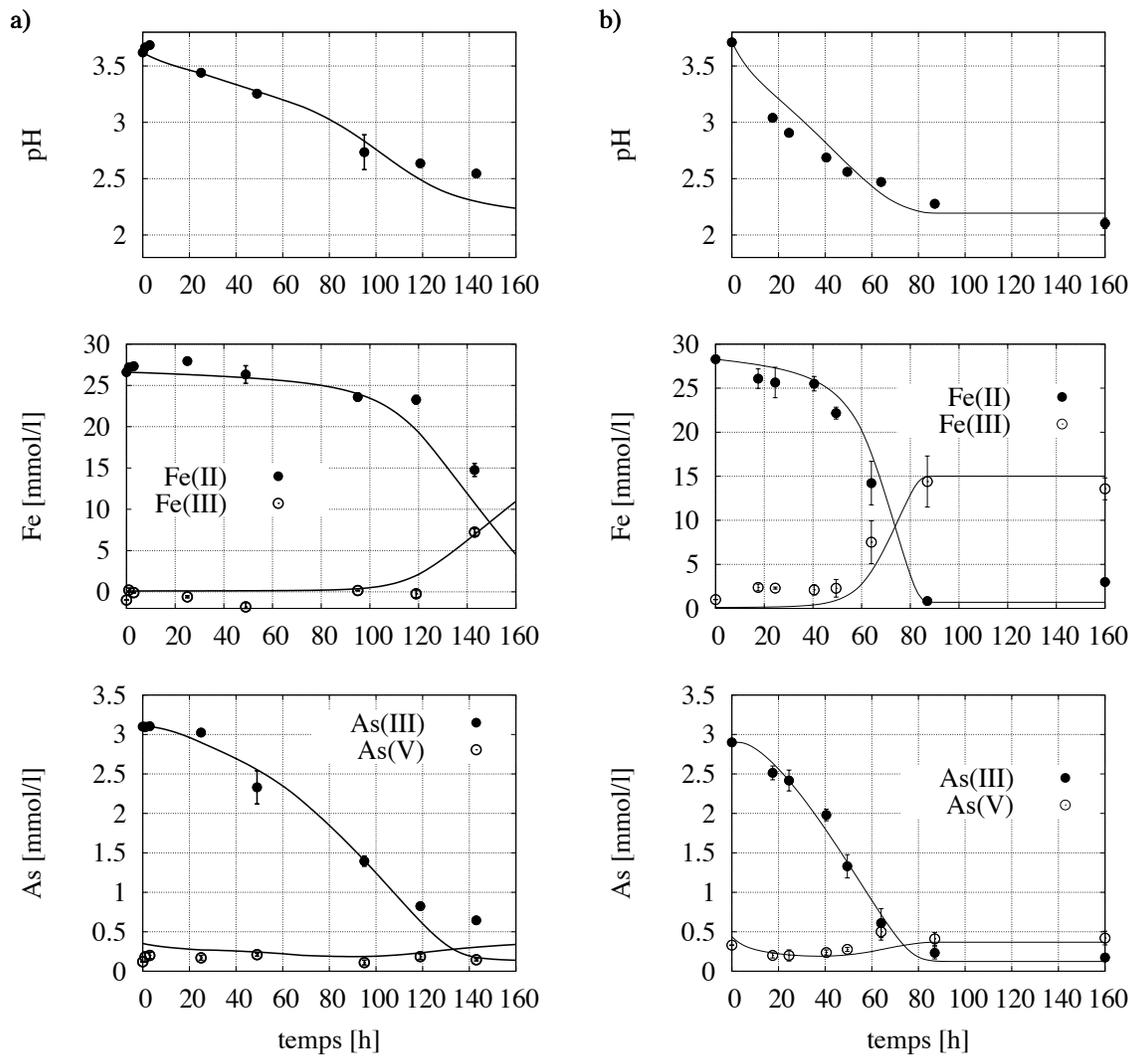
	$k_S$		$k_L$		$k_I$	
	exp.1	exp.2	exp.1	exp.2	exp.1	exp.2
Fe	0.07	0.35	0.6	1.5	0.4	1
As	0.025	0.04	0.05	0.06	0.04	0.06

Qu'un terme d'inhibition ou de latence soit utilisé, les vitesses d'oxydation du fer durant l'expérience 2 suivent des évolutions similaires (figure 6.23). L'utilisation de l'un de ces termes permet de corriger à la fois la sous-estimation du pH et du Fe(II). Aucune des deux hypothèses ne peut être exclue. Néanmoins, s'il s'agit d'un temps de latence, celui-ci devrait également s'appliquer à l'oxydation de l'arsenic, ce qui à la vue des données ne semble pas être le cas. De plus, l'utilisation des mêmes paramètres d'inhibition ( $n$  et  $K_i$ ) pour les deux expériences renforce l'idée que ces paramètres sont généralisables.

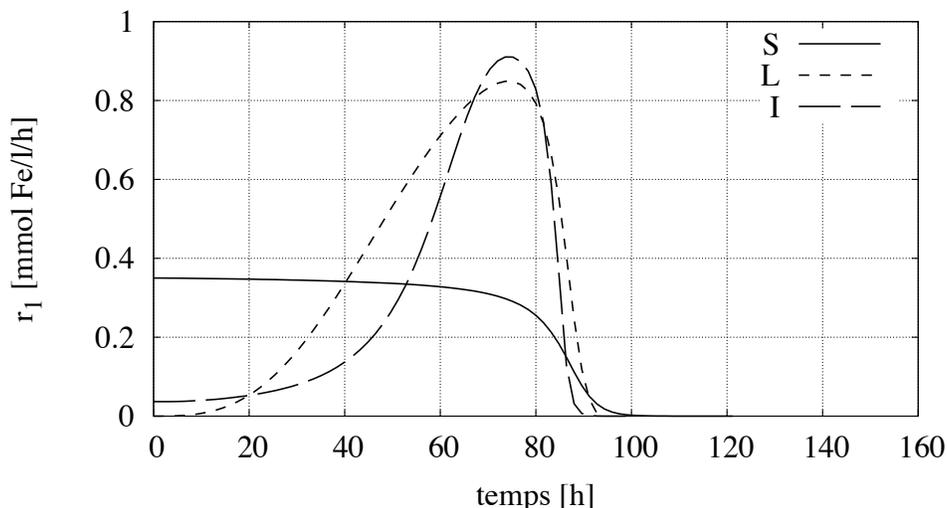
Pour chaque modélisation, les constantes cinétiques d'oxydation du fer  $k_1$  et de l'arsenic  $k_2$  sont ajustées afin de s'accorder au mieux aux données. Leurs valeurs sont données dans le tableau 6.2. Les termes thermodynamiques, de latence et d'inhibition des cinétiques étant compris entre 0 et 1, ces constantes cinétiques représentent les vi-



**Fig. 6.21** – Évolutions expérimentales et modélisées du pH, des concentrations en Fe(II) et (III) et en As(III) et (V) pour l'expérience 1 (a) et l'expérience 2 (b). La phase solide est modélisée par la ferrihydrite et la scorodite amorphe. Par rapport à la simulation présentée sur la figure 6.18, un terme de latence est ajouté à la cinétique d'oxydation du fer.



**Fig. 6.22** – Évolutions expérimentales et modélisées du pH, des concentrations en Fe(II) et (III) et en As(III) et (V) pour l'expérience 1 (a) et l'expérience 2 (b). La phase solide est modélisée par la ferrihydrite et la scorodite amorphe. Par rapport à la simulation présentée sur la figure 6.18, un terme d'inhibition par l'As(III) est ajouté à la cinétique d'oxydation du fer.



**Fig. 6.23** – Comparaison des vitesses d'oxydation du fer ( $r_1$ ) durant l'expérience 2, modélisées par l'équation 6.11 seule (S), avec un terme de latence (L) ou avec un terme d'inhibition (I).

tesses maximales théoriques que peuvent prendre chacune des cinétiques. Cette vitesse maximale est théorique et n'est pas toujours atteinte durant la modélisation. Dans l'expérience 2, la vitesse maximale d'oxydation du fer est d'environ 0.8 mmol Fe/l/h (figure 6.23). Pour *Acidithiobacillus ferrooxidans* fixé dans un biofilm, des vitesses d'oxydation du fer ont été rapportées comprises entre 1.8 et 7.16 mmol Fe/l/h [114]. Le large domaine de valeurs de vitesse d'oxydation s'explique par des différences de conditions expérimentales, de souches bactériennes et de concentrations bactériennes. Ainsi en réacteurs biologiques optimisés cette vitesse peut atteindre 1.4 mol Fe/l/h [63]. Mais les vitesses biologiques sont différentes selon qu'il s'agisse de l'activité d'un consortium ou d'une souche pure. Le consortium bactérien formant le biofilm est composé de différentes populations bactériennes. Les oxydations du fer et de l'arsenic sont probablement réalisées par des espèces différentes [24] et les interactions entre ces populations sont inconnues. Sur d'autres sites que Carnoulès, quelques mesures in situ des cinétiques d'oxydation du fer ont été publiées en utilisant un réacteur mélangé [80]. Les vitesses mesurées couvrent un large intervalle (de 0.0036 à 11.7 mmol Fe/l/h) qui englobe les valeurs obtenues dans cette étude.

Dans l'expérience 2, le Fe(III) est sous-estimé en début d'expérience (figures 6.21 et 6.22). Cela vient du fait que la modélisation considère un équilibre avec la ferrihydrite (indice de saturation nul), alors que son indice de saturation mesuré par la spéciation est positif dans les premières dizaines d'heures de cette expérience (figure 6.15). La modélisation pourrait être améliorée par l'utilisation de

cinétiques de précipitation plutôt que d'équilibres. Néanmoins cela nécessiterait de nouvelles hypothèses quant aux cinétiques de précipitation et des paramètres de calage supplémentaires, sans pour autant être applicables aux systèmes naturels avec des temps caractéristiques plus longs.

## 6.6 La modélisation in situ

Les paramètres précédents vont être utilisés pour la modélisation in situ. Mais auparavant, un modèle hydrologique doit être construit et certaines hypothèses prises pour les expériences de laboratoire doivent être réévaluées (la température et l'oxygène dissous). Une modélisation sera réalisée à chaque date de prélèvement, effectuée au cours de l'année 2001 (figure 6.6).

### *Le modèle hydrologique du Reigous*

Le profil de la rivière est variable le long des quarantes premiers mètres du Reigous. Par exemple, la profondeur est de quelques millimètres au niveau des stromatolites, tandis qu'elle peut atteindre quelques dizaines de centimètres aux endroits les plus profonds. Plus le profil est aplati (rivière peu profonde mais très large), plus les cinétiques microbiologiques seront importantes. En effet, d'une part la faible profondeur facilitera la diffusion du dioxygène jusqu'au biofilm actif au fond de la rivière. D'autre part, la largeur du profil augmente la surface de biofilm en activité. Ainsi, on observe une forte activité microbiologique au niveau de la cascade sur les constructions stromatolitiques, qui correspond également à la lame d'eau la plus large et la moins profonde.

L'hydrologie a donc une influence non négligeable sur l'évolution des réactions biogéochimiques et un couplage de l'ensemble de ces processus est nécessaire. L'utilisation d'une hydrologie relativement simple permet, dans un premier temps, d'évaluer les tendances d'un tel système couplé. On supposera un cours d'eau de 40 m de long, de 1 m de large et d'une profondeur de 10 cm. Ce qui donne une section constante de 10 dm<sup>2</sup>.

Les débits sont fixés par des mesures à la période du prélèvement. Les débits et la section du cours d'eau permettent de calculer la vitesse moyenne du fluide  $U$ . Les débits et vitesses pour chaque date sont reportés dans le tableau 6.3.

La vitesse d'écoulement, mesurée par suivi d'un flotteur, est d'environ 30 m/h [31]. Les méthodes plus précises n'ont pas pu être utilisées du fait de la spécificité chimique de l'eau et de la fragilité microbiologique. La vitesse de 30 m/h est une évaluation de la vitesse d'écoulement à la surface de la lame liquide, c'est à dire là où l'écoulement

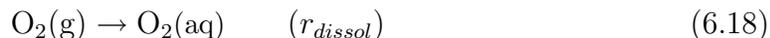
**Tab. 6.3** – Débits mesurés  $Q$  (l/s) permettant de calculer la vitesse d'écoulement  $U$  (m/h) et la constante cinétique de dissolution de l'oxygène  $k_{dissol}$  ( $\text{h}^{-1}$ ) à chaque date.

date	$Q$ [l/s]	$U$ [m/h]	$k_{dissol}$ [ $\text{h}^{-1}$ ]
10-01	0.6	28.8	-0.911
21-02	1.1	52.8	-1.233
27-03	0.8	38.4	-1.052
29-05	0.9	48.0	-1.176
26-06	0.9	43.2	-1.115
13-08	0.85	40.8	-1.084
13-09	0.8	38.4	-1.052
14-11	0.75	36.0	-1.018

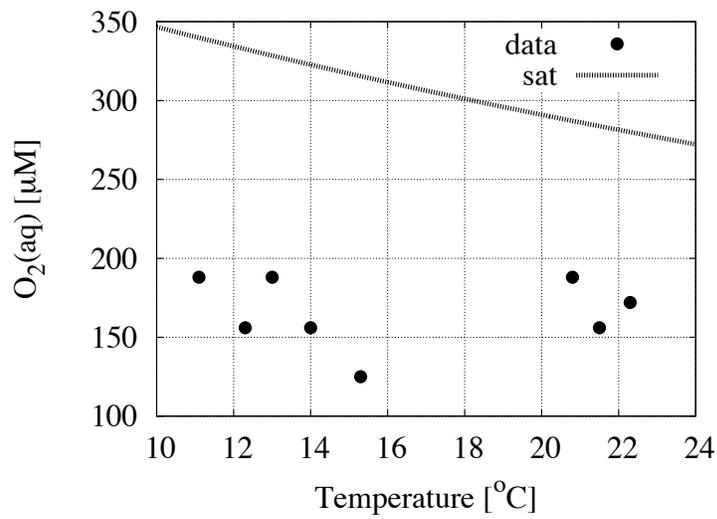
est le plus rapide. La vitesse moyenne d'écoulement est plus faible (de 60 à 80% de la vitesse à la surface). Les vitesses moyennes calculées (tableau 6.3) sont dans le bon ordre de grandeur.

#### *La dissolution du dioxygène atmosphérique*

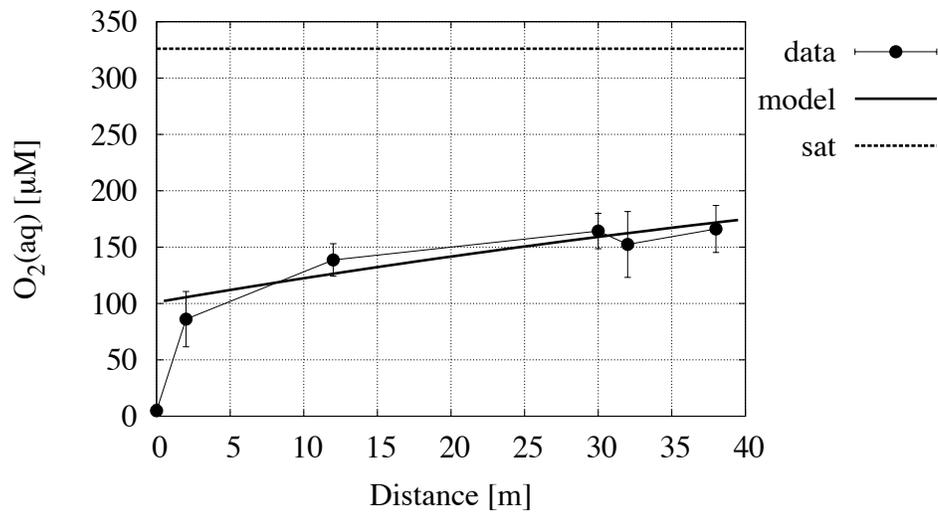
La concentration en oxygène dissous (OD) est mesurée à chaque date et à chaque point de prélèvement. Ces mesures sont comparées à la concentration saturante en dioxygène, i.e. lorsque la phase aqueuse est à l'équilibre avec l'atmosphère selon la loi de Henry. La concentration saturante dépend donc de la température par sa constante thermodynamique. En plus de la température, la concentration saturante dépend également de la salinité. Ce phénomène est particulièrement visible en zone littorale où l'eau de mer et l'eau douce ont des saturations en dioxygène différentes [7]. Mais la conductivité (qui est liée à la salinité) de l'eau du Reigous (1 à 6 mS) est assez faible et constante pour que ce paramètre puisse être négligé. Quelque soit la saison, la concentration en OD reste toujours inférieure à la concentration saturante, comme en témoignent les concentrations mesurées à 38 m de la source (figure 6.24). La dissolution du dioxygène atmosphérique n'est donc pas modélisée par un équilibre, mais par une cinétique  $r_{dissol}$  :



Un profil de concentration est observé (figure 6.25) mettant en évidence une augmentation de la concentration en OD. Cette augmentation est le résultat de la dissolution du dioxygène atmosphérique d'une part et de la consommation biologique du dioxygène d'autre part. Parmi les nombreuses réactions biologiques modifiant la



**Fig. 6.24** – Mesures des concentrations en dioxygène dissous à 38 mètres de la source (data) en fonction de la température. Comparaison avec la concentration saturante (sat).



**Fig. 6.25** – Évolution des moyennes et écart-types annuels des mesures des concentrations en OD le long des 40 premiers mètres du Reigous.

teneur en OD (respiration, photosynthèse, ...), les oxydations du fer et de l'arsenic sont importantes et seront considérées ici. Les variations de la concentration en OD sont donc contrôlées par trois termes :

$$\frac{d[\text{O}_2(\text{aq})]}{dt} = r_{\text{dissol}} - 0.25r_1 - 0.5r_2 \quad (6.19)$$

où  $r_1$  et  $r_2$  représentent respectivement les vitesses d'oxydation du fer et de l'arsenic (équations 6.11 et 6.14), tandis que  $r_{\text{dissol}}$  représente la vitesse de dissolution de l'oxygène atmosphérique.

Un calcul moyen permet de vérifier que le long du Reigous, les vitesses de dissolution et de consommation sont du même ordre de grandeur et qu'aucun des termes ne peut être négligé. Une diminution moyenne de 0.37 mmol Fe/l/m est observée le long du Reigous. Selon la réaction d'oxydation du Fe(II) par l'oxygène, cette diminution correspond à une consommation moyenne de 0.09 mmol O<sub>2</sub>/l/m. De même si la diminution moyenne des concentrations en As(III) est imputable à son oxydation par les bactéries, elle correspond à une consommation moyenne de 0.02 mmol O<sub>2</sub>/l/m. L'augmentation moyenne de l'oxygène dissous est de 0.01 mmol O<sub>2</sub>/l/m. Les vitesses de dissolution et de consommation ont donc des moyennes respectives de 0.12 et 0.11 mmol O<sub>2</sub>/l/m. Les mesures de l'OD correspondent à un état quasi-stationnaire car situé entre deux cinétiques de même ordre de grandeur.

La cinétique de dissolution  $r_{\text{dissol}}$  est fonction de l'écart entre les concentrations saturante  $C_{\text{sat}}$  et réelle  $C$  en OD [144] :

$$r_{\text{dissol}} = k_{\text{dissol}}(C_{\text{sat}} - C) \quad (6.20)$$

Les concentrations  $C$  et  $C_{\text{sat}}$  sont en [molal] et les vitesses  $r$  en [molal/h]. L'unité de la constante cinétique  $k$  est donc [h<sup>-1</sup>]. La constante cinétique  $k$  correspond à un coefficient de transfert de masse. Il est lié de façon intime à l'état du cours d'eau, c'est à dire à la nature de l'écoulement, à la forme du lit de la rivière, à la turbulence de l'eau. Ainsi ce coefficient dépend de certains paramètres tels que la vitesse d'écoulement, la hauteur d'eau et la surface de contact eau-atmosphère. Une expression classique permet de déterminer ce coefficient en fonction de divers paramètres physiques du cours d'eau [118] :

$$k_{\text{dissol}} = \sqrt{\frac{UD}{h}}S \quad (6.21)$$

La vitesse d'écoulement  $U$  a une influence sur la turbulence du cours d'eau et donc sa réaération.



**Fig. 6.26** – Photographies de la source du Reigous.

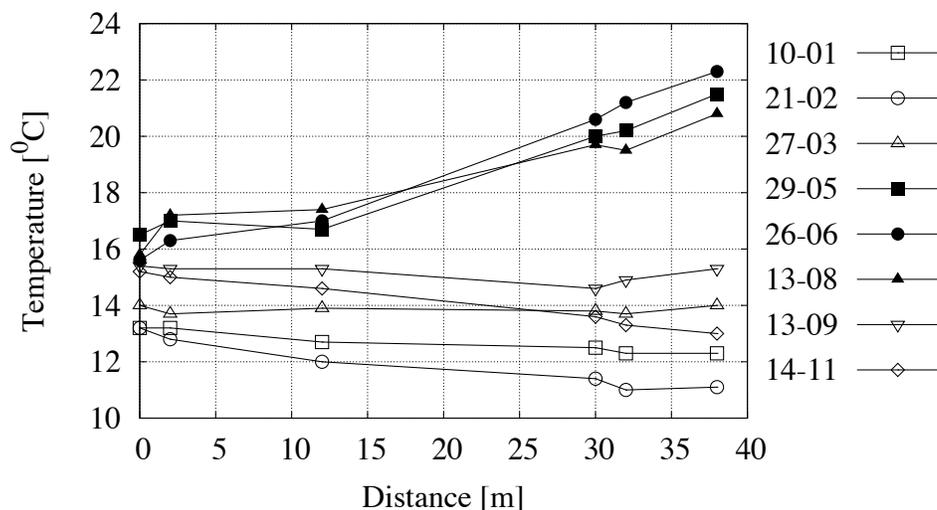
La longueur caractéristique  $h$  correspond à la hauteur d'eau. Plus elle est faible, plus les turbulences créées par les irrégularités du fond favorisent la réaération. Dans les 40 premiers mètres du Reigous, la hauteur d'eau est faible (de 1 à 20 cm) et sera fixée à 10 cm dans la modélisation. Cette valeur est plus faible au niveau des stromatolites.

La surface de contact  $S$  entre l'air et l'eau est évaluée dans chaque maille par le rapport entre le volume de la maille et la hauteur de la maille.

$D$  est le coefficient de diffusion moléculaire et correspond aux mouvements aléatoires des molécules. Il faut le distinguer de la diffusion due à la turbulence qui résulte des variations spatio-temporelles du champ de vitesse [53]. Selon les rayons atomiques des différentes molécules, la diffusion du dioxygène dans l'eau à 20 °C fait intervenir un coefficient de diffusion moléculaire d'environ  $1 \times 10^{-9}$  m<sup>2</sup>/s [43].

La constante cinétique de dissolution  $k_{dissol}$  est calculée pour chaque date à partir des paramètres précédents. Les valeurs sont reportées dans le tableau 6.3.

L'oxygène se dissout davantage lors des chutes d'eau même de petites tailles. C'est le cas à la source et au niveau des stromatolites (à 30 m). La source se matérialise par une chute d'eau d'environ 30 cm entre l'extrémité du drain qui traverse le stock de déchets et le socle rocailleux formant le lit du cours d'eau (figure 6.26). Lors d'une chute d'eau, la vitesse de dissolution ( $k$ ) est plus importante car la longueur caractéristique  $h$ , qui représente dans ce cas l'épaisseur de la lame d'eau, est très faible. Ce phénomène explique la forte augmentation (100  $\mu$ M environ) de la concentration en OD entre les mesures à la source (avant la chute d'eau) et à 2 mètres de la source



**Fig. 6.27** – Évolution de la température le long des 40 premiers mètres du Reigous à différentes époques de l'année.

(après la chute d'eau). Pour la modélisation, la condition au limite au niveau de la source est une condition de concentration en OD fixée à  $100 \mu\text{M}$ .

### *La température*

A la source, la température de l'eau, qui varie peu avec la saison, est de 14 à 16 °C. Dans les quarantes premiers mètres en aval de la source, l'eau du Reigous s'équilibre thermiquement avec l'atmosphère. Selon la saison, des évolutions différentes de température du Reigous sont observées (figure 6.27).

Les constantes thermodynamiques dépendent de la température et l'évolution biogéochimique est susceptible d'être modifiée selon la saison. CHES adaptte ces constantes par rapport à la température utilisée. La température de modélisation est constante et fixée par la moyenne des températures mesurées à cette date le long du Reigous.

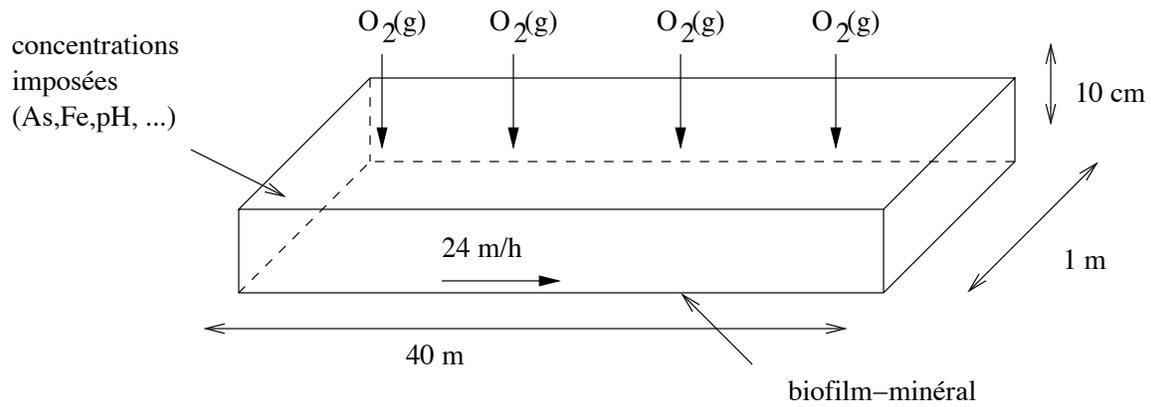
L'activité biologique dépend également de la température. Mais aucune donnée de ce type n'est disponible pour la population bactérienne étudiée ici. Les cinétiques bactériennes seront identiques à celles utilisées en laboratoire (à 20 °C).

Etant donné que les cinétiques sont considérées indépendantes de la température, les transferts thermiques et les variations spatiales de température peuvent être négligés.

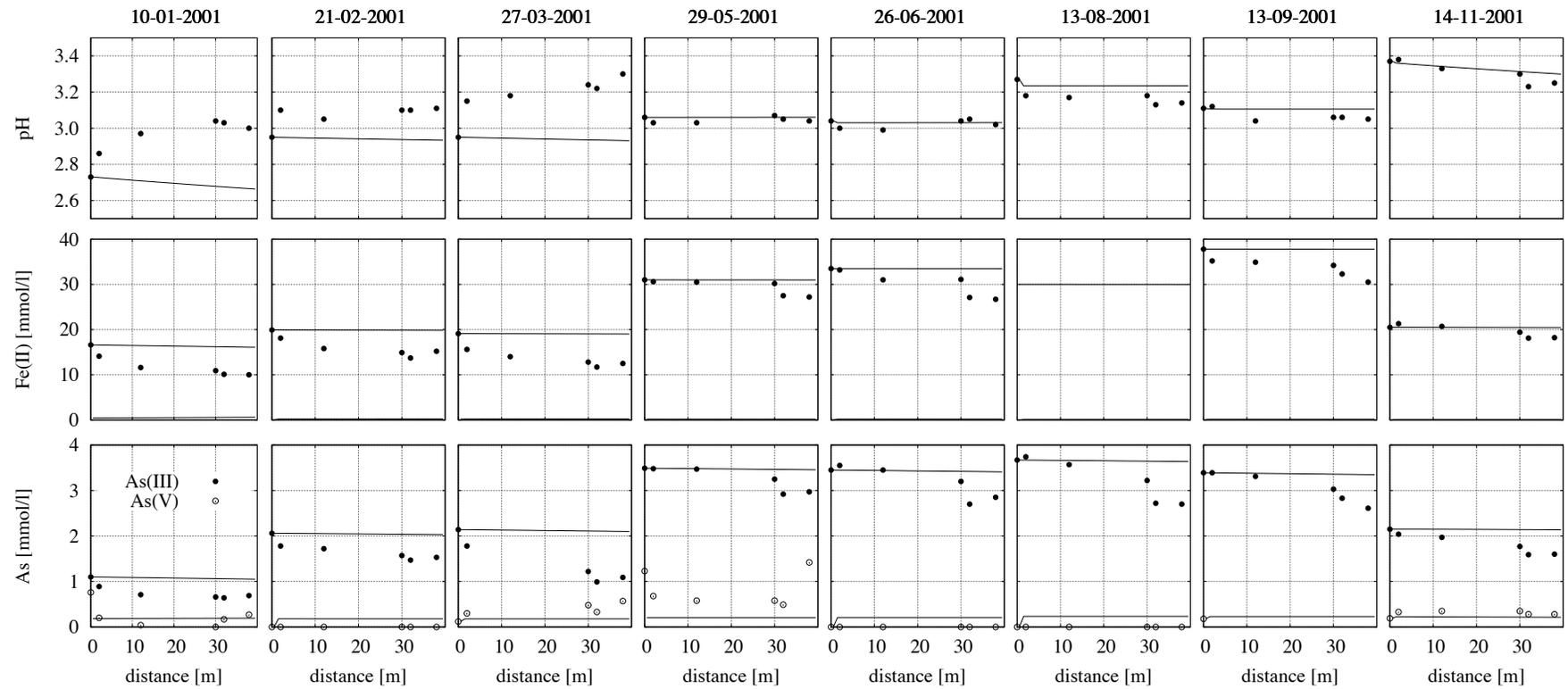
### *La modélisation*

Les paramètres utilisés dans la modélisation des expériences sont appliqués à l'échelle du terrain. Les hypothèses de modélisation sont les suivantes :

- la rivière est représentée par un parallélépipède de 1 m de large et 10 cm de haut sur 40 m de long. Ce système est découpé par un maillage uniforme 1D de 40 mailles (figure 6.6).
- on suppose une hydrodynamique 1D en régime stationnaire avec un débit fixé par les mesures à la période du prélèvement (tableau 6.3).
- la température est fixée par la moyenne des températures mesurées à la période du prélèvement.
- A chaque date, la spéciation de la source est fixée par :
  - les mesures des concentrations de la source à cette date
  - les équilibres avec la scorodite amorphe et la ferrihydrite
  - une concentration fixée en OD de 100  $\mu\text{M}$
- Les précipitations sont contrôlées par des équilibres avec la ferrihydrite et la scorodite amorphe.
- les paramètres cinétiques d'oxydations sont issus de la modélisation de l'expérience 2 avec le terme d'inhibition par l'As(III). En effet, l'expérience 2 a des cinétiques plus rapides du fait de l'importance des précipités riches en bactéries qui se retrouvent in situ. De plus, un temps de latence ne se justifie pas in situ où aucun changement brutal de conditions de vie des bactéries n'intervient. En revanche, si il y a une inhibition par l'As(III), celle-ci devrait également apparaître in situ.
- la dissolution de l'oxygène atmosphérique est contrôlée par une cinétique paramétrée par les équations 6.20 et 6.21.



**Fig. 6.28** – Schéma conceptuel de la modélisation hydro-bio-géo-chimique du Reigous montrant un écoulement stationnaire uniforme de 24 m/h, des concentrations imposées par les analyses à la source à la limite gauche, et une dissolution continue du dioxygène atmosphérique.



**Fig. 6.29** – Évolution mesurée (points) et modélisée (ligne) du pH, des concentrations en Fe(II), en As(V) et en As(III) le long du Reigous aux dates de prélèvement de l'année 2001.

Avec ces hypothèses, l'évolution des concentrations modélisées en As(III), As(V), Fe(II) et pH est comparée à l'évolution observée (figure 6.29). Pour chaque date, on vérifie que le dioxygène dissous suit l'évolution observée.

En été (à partir du 29-05), une bonne modélisation d'ensemble est observée. Néanmoins, les vitesses d'oxydation semblent légèrement plus rapides in situ que dans les expériences, en particulier au niveau des stromatolites (situés à la source et à 30 m de la source) où les vitesses de précipitation sont maximales. Cette différence peut s'expliquer par plusieurs phénomènes non pris en compte dans la modélisation :

- L'activité bactérienne située dans le biofilm est corrélée à la surface de contact eau-sédiment [5]. Cette surface est d'environ  $1 \text{ cm}^2/\text{ml}$  dans le cas des expériences de laboratoire. In situ la surface volumique est difficile à évaluer car le fond du Reigous comporte de nombreuses irrégularités. En première approximation (selon les hypothèses posées pour l'hydrologie), on peut l'évaluer à  $5 \text{ cm}^2/\text{ml}$ . En plus de sa surface active, l'épaisseur du biofilm peut également jouer un rôle [114]. Etant en place depuis plus longtemps et sur une surface plus grande, le biofilm in situ est plus efficace que celui des expériences. Ce qui peut expliquer la plus grande activité bactérienne in situ.
- La dissolution du dioxygène atmosphérique est plus efficace lorsque la hauteur d'eau est faible et la vitesse d'écoulement rapide. Elle est donc maximale au niveau des stromatolites. En supposant que l'activité bactérienne est limitée par l'OD, une réaération plus grande provoque une activité bactérienne plus rapide. Il serait alors intéressant d'étudier également l'impact des organismes photosynthétiques qui produisent du dioxygène durant la journée et en consomment durant la nuit. Ceux-ci peuvent également avoir une influence sur la concentration en OD et donc sur les activités bactériennes d'oxydation du fer et de l'arsenic.
- Les précédents travaux ont montré la présence dans le Reigous d'autres espèces telles que *Euglena mutabilis* qui ont révélé une activité sur la spéciation de l'arsenic, en particulier une oxydation et une sorption sur les cellules [29]. Ces espèces non présentes dans les expériences de laboratoires peuvent expliquer les cinétiques de disparition d'arsenic plus rapides in situ.

En hiver (10-01,21-02 et 27-03), la modélisation n'explique pas l'évolution observée du pH et des concentrations en As(III), As(V) et Fe(II). En particulier, les vitesses de disparition du fer et de l'arsenic sont largement sous-estimées, et les évolutions du pH observé et modélisé suivent des directions contraires. Ces différences peuvent être expliquées par plusieurs phénomènes :

- De l'As(III) est présent dans les prélèvements hivernaux de sédiment du Reigous [112]. La disparition d'As(III) de la phase aqueuse est donc imputable à

deux processus : la précipitation directe d'As(III) et l'oxydation en As(V) suivi de précipitation d'As(V). Une caractérisation plus fine de la phase solide est nécessaire à la prise en compte de la phase amorphe de Fe(III) et d'As(III) dans la modélisation. Ceci peut expliquer la surestimation des concentrations en As(III) en hiver. Une diminution de la concentration en As(III) diminuerait l'inhibition de la cinétique d'oxydation du Fe(II), qui à son tour serait plus rapide. Enfin la précipitation de phases minérales contenant de l'As(III) peut diminuer l'acidité.

- La modélisation du pH serait modifiée par la prise en compte de nouvelles phases minérales et de la matière organique qui sont capables de tamponner le pH. Le Reigous présente en effet un Carbone Organique Dissous d'environ 2.5 mg/l.
- Les constantes cinétiques biologiques sont calées à partir d'expériences réalisées à la température de la pièce (20 °C environ) et s'appliquent donc aux alentours de cette température. CHESS adapte les constantes thermodynamiques mais l'influence de la température sur l'activité du consortium bactérien n'est pas connue et donc pas prise en compte.

## 6.7 Conclusion

La mise à l'air libre de stériles miniers crée un environnement à fort déséquilibre redox. De nombreux microorganismes chemolithotrophes exploitent cet environnement extrême. Leur activité provoque dans un premier temps (dans le stock de stériles) la mobilisation de fer et d'arsenic, et dans un deuxième temps (le long du Reigous) la fixation de ces mêmes éléments dans de nouvelles phases minérales.

Expérimentalement, l'évolution bio-géochimique des eaux du Reigous est relativement bien comprise. La contrainte thermodynamique semble être le principal responsable de l'arrêt de l'oxydation du fer, en laboratoire. In situ, d'autres paramètres tels que la biodisponibilité de l'oxygène dissous peuvent intervenir. La fonction biologique de l'oxydation de l'arsenic n'est pas encore déterminée entre catabolisme ou détoxification mais la modélisation apporte des éléments de réponse. D'abord la valeur de l'énergie minimale d'oxydation semble trop élevée pour correspondre à un catabolisme. Ensuite, une bonne corrélation des données avec la modélisation est obtenue en utilisant un terme d'inhibition par l'As(III).

Les paramètres cinétiques déterminés par les expériences ont été appliqués in situ. Les cinétiques expérimentales s'exportent relativement bien à l'évolution bio-géochimique estivale des quarantes premiers mètres du Reigous. En revanche, en hiver, d'autres phénomènes doivent être pris en compte, en particulier la présence d'As(III) dans la phase solide et une modélisation hydrologique plus fine.

Cette étude permet de dégager les paramètres clés gouvernant les processus biogéochimiques le long du Reigous. Ces paramètres peuvent fournir des pistes de réflexion quant à la gestion optimale de la source du Reigous :

- Le dioxygène qui est l'accepteur d'électrons universel provoque les oxydations du soufre, du fer et de l'arsenic. Il est indésirable dans le stock de déchets afin d'éviter la trop forte mobilisation de polluants tels que le fer ou l'arsenic ; puis nécessaire dans le Reigous afin de catalyser les précipitations oxydatives de ces mêmes éléments. Au niveau du Reigous, une hydrologie qui permet une réaération efficace du cours d'eau (chute d'eau, eaux peu profondes) est un avantage pour l'oxydation et la fixation des polluants tels que le fer et l'arsenic.
- Les paramètres hydrologiques tels que le débit, la largeur et la profondeur du cours d'eau, mais aussi la diffusion dans le biofilm sont des paramètres importants car ils contrôlent la biodisponibilité des réactifs que ce soit dans la lame liquide ou au sein du biofilm.
- Les microorganismes catalysent les réactions d'oxydo-réduction thermodynamiquement possibles. Ils jouent un rôle dans la formation des drainages miniers acides par l'oxydation des sulfures au sein du stock de déchets. Ils jouent également un rôle dans les oxydations du fer et de l'arsenic en aval du stock de déchets. Afin d'envisager une optimisation de leur activité, il est nécessaire de bien comprendre leurs interactions et les mécanismes réactionnels qu'ils mettent en place (anabolismes et formation du biofilm, interactions entre bactéries fixées et libres, catabolisme et/ou détoxification de l'arsenic, métabolisme du soufre). Les activités bactériennes sont intimement liées à la géochimie du milieu et une modélisation couplée est donc nécessaire.
- La connaissance plus approfondie de la nature des phases minérales qui fixent l'arsenic est primordiale. L'augmentation du potentiel redox provoque en amont des dissolutions des formes réduites (pyrite, arsénopyrite) et en aval des précipitations des formes oxydées (am-As(V)-Fe(III)-ox, am-As(III)-Fe(III)-ox, tooeleite, schwertmannite). La nature de ces phases et leurs transformations gouvernent la fixation plus ou moins définitive des polluants. Il est donc important de bien comprendre les mécanismes de précipitation et de dissolution.

La modélisation a permis d'appréhender de façon couplée la biologie, l'hydrodynamique et la géochimie d'un système naturel. Ce couplage est particulièrement utile pour prendre en compte les effets cinétiques de l'énergie de réactions ou de la présence de toxiques. Une bonne modélisation est obtenue en laboratoire où la plupart des processus sont compris et simulés. Mais le passage à l'échelle du terrain est délicat et nécessite en particulier la prise en compte plus fine de l'hétérogénéité des propriétés hydrologiques.

## 7 Conclusion et perspectives

### Conclusion sur les outils de modélisation

Ce travail avait pour objectif d'étendre CHESH et HYTEC à la prise en compte de l'activité microbiologique, en particulier les réactions des métabolismes bactériens. Les cinétiques biologiques sont résolues avec les équilibres chimiques selon un schéma de Newton Raphson. Le couplage avec les phénomènes de transport (HYTEC) a été maintenu.

Les utilisateurs de CHESH peuvent désormais définir (1) n'importe quelle réaction biologique stoechiométriquement équilibrée, et (2) n'importe quelle formulation cinétique biologique incluant des lois de Monod, des lois d'inhibition et des lois thermodynamiques.

Divers exemples de réactions biologiques et de lois cinétiques ont été présentés dans la première partie de ce document et peuvent servir de base aux utilisateurs de CHESH ayant besoin de modéliser l'activité biologique. Un aperçu de l'étendue des possibilités de CHESH et HYTEC a été donné par les exemples, démonstrations et applications.

Avant cette étude la modélisation des systèmes contenant une activité biologique était limitée par la performance des outils. Désormais la pertinence de la modélisation est limitée par la compréhension des processus physiques, chimiques et microbiologiques du système étudié.

### Conclusion sur les expériences de dissolution réductive

Les expériences réalisées au BRGM ont permis de décrire la dissolution réductive biologique d'un hydroxyde de fer riche en arsenic. Cette phase solide est correctement modélisée en utilisant la base de données de Dzomback et Morel. L'activité biologique provoque une dissolution non concomitante du fer et de l'arsenic. Celle-ci est bien expliquée par la modélisation des processus de choix de l'accepteur final d'électrons. Ce qui semble indiquer que l'arsenic est utilisé ici par une respiration.

Des interrogations subsistent sur les processus responsables de l'inhibition de la dissolution réductive du fer. Différentes hypothèses peuvent être discutées :

- L'hypothèse d'une contrainte thermodynamique a été écartée car cette étude montre que les énergies fournies par les catabolismes sont très supérieures à l'énergie nécessaire pour la synthèse d'ATP.
- La vérification de l'hypothèse de la diminution de la surface biodisponible nécessiterait (1) une évaluation précise de la surface spécifique de la ferrihydrite

utilisée et (2) un suivi dans le temps des concentrations sorbées en arséniate, arsénite, carbonate et phosphate.

- L'hypothèse de la présence de transporteur d'électrons ne peut pas être infirmée. Certains tests permettent de vérifier si la dissolution réductive utilise un transporteur d'électrons ou si elle nécessite un contact direct entre les microorganismes et la phase solide [81]. Si la présence de transporteur d'électrons est vérifiée, il serait intéressant de tester la pertinence d'une modélisation de la présence d'un hypothétique transporteur d'électrons, et en particulier de tester si une telle modélisation permet d'expliquer les évolutions de pH et Eh observés.

Les expériences étudiées utilisent l'acétate et le lactate comme donneur d'électrons. A partir de ces deux molécules organiques, de nombreux métabolismes peuvent intervenir, y compris des fermentations. Afin d'être sûr de pouvoir écarter les métabolismes non étudiés (acidogenèse, méthanogenèse, ...), il conviendrait dans les expérimentations futures d'utiliser un milieu de culture sans lactate, et de vérifier la production éventuel de gaz tels que le dihydrogène et le méthane.

### Conclusion sur le site de Carnoulès

Les systèmes biogéochimiques contenant du fer et de l'arsenic posent de nombreux problèmes en menaçant l'écologie des milieux et la santé humaine. En particulier à l'ouest du Bengal et au Bangladesh, des dizaines, voir des centaines, de milliers de personnes consomment de l'eau dont la concentration en arsenic dépasse la valeur de  $10 \mu\text{g/l}$  fixée par l'organisation mondiale de la santé [162]. Au niveau mondial, une forte demande existe quant à une méthode de traitement économique et écologique des eaux polluées à l'arsenic. En Europe, des fortes concentrations en arsenic sont observés, en particulier sur les anciens sites miniers. Sur le site de Carnoulès, les eaux de drainage acide subissent un traitement passif par des précipitations biologiques de phases minérales de Fe(III) et d'As(V).

Les expériences sur les eaux acides de drainage minier permettent de décrire les précipitations oxydatives biologiques. La modélisation montre que l'oxydation biologique du fer subit une contrainte thermodynamique. En revanche l'oxydation biologique de l'arsenic semble avoir un rôle de détoxification. L'application des cinétiques expérimentales à l'échelle du terrain montre l'importance de processus non pris en compte dans la modélisation. Cette étude a permis de préciser les paramètres clés auxquels il convient de prêter une attention particulière :

- L'oxygène dissous est nécessaire à l'oxydation biologique du fer et de l'arsenic. Sa biodisponibilité dépend de la ré-aération du cours d'eau. La vitesse globale du processus est limitée par la vitesse de dissolution de l'oxygène atmosphérique.

Cette étape limitante semble moins contraignante au niveau des chutes d'eau, pour lesquelles les vitesses de précipitations biologiques sont maximales. Une analyse quantitative des processus de précipitations biologiques in situ nécessite donc un modèle hydrologique plus précis, et une analyse des cinétiques biologiques pour différentes concentrations en dioxygène dissous.

- Les précipitations minérales ont des rapports molaires As/Fe variables. La modélisation de tel processus nécessiterait une approche 'solution solide' qui n'est pas à ce jour disponible dans CHESS. La prise en compte de la précipitation de l'As(III) et des sulfates serait également nécessaire. Des expériences de dissolution des phases minérales observées permettraient d'évaluer les cinétiques de dissolution, et ainsi d'appréhender la pérennité de la fixation des métaux et métalloïdes.
- Les mécanismes biologiques liés à l'arsenic sont peu connus et il serait utile d'établir si la population bactérienne du Reigous oxyde l'arsenic par un catabolisme ou par une détoxification. Une expérience de suivi de la croissance bactérienne dans un milieu contenant seulement l'As(V) comme donneur d'électrons permettrait de donner des éléments de réponses. Si l'oxydation de l'arsenic est corrélée à la croissance bactérienne par l'analyse énergétique de ces deux réactions, il est probable qu'il s'agisse d'un catabolisme.

Afin de prendre en compte l'évolution saisonnière du site de Carnoulès, la modélisation précédente devra être étendue au stock de déchets miniers. En effet, c'est la pluviométrie et les processus couplés au sein de cette zone qui contrôlent le débit et les concentrations de l'eau de source du Reigous.

A plus long terme l'objectif de cette étude est d'obtenir une représentation précise, au sein du modèle de transport réactif HYTEC, des phénomènes géochimiques, biologiques et hydrologiques expliquant le relargage, le transport et la rétention de l'acidité, des métaux et des métalloïdes des eaux de drainage miner acides. Une fois implémenté, testé et validé, un modèle spécifique pour la gestion des anciens sites miniers pourra être développé. Il permettra la réalisation de prédictions à plus ou moins long terme sur l'évolution des sites miniers et se révélera alors être une aide à la décision pour la gestion de ces sites.

## Perspectives

Les applications décrites dans cette étude ont utilisé des réactions globales représentant des métabolismes bactériens et des cinétiques fonctions de la concentration bactérienne et de la spéciation chimique du milieu.

D'abord il faut rappeler que chaque réaction globale est en réalité la conséquence extracellulaire de mécanismes intracellulaires peu connus. Lorsque la description précise

de ces mécanismes réactionnels sera établie, les modélisations micro-biologiques pourront être affinées. Dans le cas de souches bien étudiées, certains mécanismes réactionnels au sein des cellules ont déjà fait l'objet de modélisation [93].

Ensuite des paramètres d'ordre écologique interviennent également dans les cinétiques microbiologiques. L'activité d'une espèce bactérienne dépend des interactions de cette espèce avec les autres (prédation, symbiose, compétition, ...). Lorsque la description précise des interactions entre espèces biologiques sera établie, les modélisations microbiologiques pourront également être affinées dans ce sens.

# Bibliographie

- [1] A. Alkaaby, M. Leblanc, and M. Perissol. Minéralisation diagénétique précoce (Pb-Zn-Ba) dans un environnement détritique continental : cas du Trias de Carnoulès (Gard, France). *Compte rendu de l'Académie des Sciences de Paris*, 300 :919–922, 1985.
- [2] C.A.J. Appelo, M.J.J. van der Weiden, C. Tournassart, and L.Charlet. Surface complexation of ferrous iron and carbonate on ferrihydrite and the mobilization of arsenic. *Environ. Sci. Technol.*, 36(14) :3096–3103, 2002.
- [3] D.E. Atkinson. *Cellular energy metabolism and its regulation*. Academic Press, 1977.
- [4] J. Baranyi and T.A. Roberts. A dynamic approach to predicting bacterial growth in food. *International Journal of food microbiology*, 23 :277–294, 1994.
- [5] R.C. Barry, J.L. Schnoor, B. Sulzberger, L. Sigg, and W. Stumm. Iron oxydation kinetics in an acidic alpine lake. *Water Research*, 28(2) :323–333, 1994.
- [6] F. Battaglia-Brunet, M. Dictor, F. Garrido, C. Crouzet, D. Morin, K. Dekeyser, M. Clarens, and P. Baranger. An arsenic(III)-oxydizing bacterial population : selection, characterization, and performance in reactors. *J. Appl. Microbiol.*, 93 :656–667, 2002.
- [7] B.B. Benson and D. Jr. Krause. The concentration and isotopic fractionation of oxygen dissolved in fresh water and seawater in equilibrium with the atmosphere. *Limnol. Oceanogr.*, 29 :620–632, 1984.
- [8] C.M. Bethke. *Geochemical Reaction Modeling*. Oxford university Press, 1996.
- [9] J.M. Bigham and D.K. Nordstrom. Iron and aluminium hydrosulfates from acid sulfate waters. *Reviews in mineralogy and geochemistry*, 40 :351–403, 2000.
- [10] J.M. Bigham, U. Schwertmann, L. Carlson, and E. Murad. A poorly cristallized oxyhydroxysulfate of iron formed by bacterial oxidation of Fe(II) in acid mine water. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 54 :2743–2758, 1990.
- [11] J.M. Bigham, U. Schwertmann, and G. Pfab. Influence of pH on mineral speciation in a bioreactor simulating acid mine drainage. *Applied geochemistry*, 11 :845–849, 1996.
- [12] J.M. Bigham, U. Schwertmann, S.J. Traina, R.L Winland, and M. Wolf. Schwertmannite and the chemical modeling of iron in acid sulfate waters. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 60 :2111–2121, 1996.
- [13] J.S. Blum, A.B. Bindi, J. buzzelli, J.F. Stolz, and S. Oremland. *Bacillus arsenicoselenatis*, sp. nov., and *bacillus selenitireducens*, sp. nov. : two haloalkaliphiles

- from mono lake, california that respire oxyanions of selenium and arsenic. *Archives of Microbiology*, 171(1) :19–30, december 1998.
- [14] H. Bolton, D.C. Girvin, A.E. Plymale, S.D Harvey, and D.J. Workman. Degradation of metal-nitrilotriacetate complexes by chelatobacter heintzii. *Environ. Sci. Technol.*, 30 :931–938, 1996.
- [15] S. Bonneville. *Kinetics of microbial Fe(III) oxyhydroxide reduction : The role of mineral properties*. Proefschrift Universiteit Utrecht, 2005.
- [16] R.C. Borden and P.B. Bedient. Transport of dissolved hydrocarbons influenced by oxygen limited biodegradation :1. theoretical development. *Water Resources Research*, 22 :1973–1982, 1986.
- [17] P.M. Borer, B. Sulzberger, P. Reichard, and S.M. Kraemer. Effect of siderophores on the light-induced dissolution of colloidal iron(III) (hydr)oxides. *Marine Chemistry*, 93 :179–193, 2005.
- [18] N. Bousserrhine. *Etude des paramètres de la réduction bactérienne du fer et application à la déferrification de minéraux industriels*. PhD thesis, université de Nancy, 1995.
- [19] N. Bousserrhine, U.G. Gasser, E. Jeanroy, and J. Berthelin. Bacterial and chemical reductive dissolution of Mn-, Co-, Cr-, and Al-substituted goethites. *Geomicrobiol. J.*, 16 :245–258, 1999.
- [20] G.E. Briggs and J.B.S Haldane. A note on the kinetics of enzyme action. *Biochemical Journal*, 19 :338–339, 1925.
- [21] S.L. Bromfield. The reduction of ferric compounds by soil bacteria oxide by bacteria. *J. Gen. Microbiol.*, 11 :1–6, 1954.
- [22] A. Brun and P. Engesgaard. Modelling of transport and biogeochemical processes in pollution plumes : literature review and model development. *Journal of Hydrology*, 256 :211–227, 2002.
- [23] A. Brun, P. Engesgaard, T.H. Christensen, and D. Rosbjerg. Modelling of transport and biogeochemical processes in pollution plumes : Vejen landfill, Denmark. *Journal of Hydrology*, 256 :228–247, 2002.
- [24] O. Bruneel. *Contribution à l'étude des mécanismes couplés géochimiques et bactériologiques de transfert de la pollution minière sur le site de Carnoulès (Gard)*. PhD thesis, Université de Montpellier, 2004.
- [25] O. Bruneel, R. Duran, C. Casiot, F. Elbaz-Poulichet, and J.-C. Personné. Diversity of microorganisms in Fe-As-rich acid mine drainage waters of Carnoulès, France. *Applied and environmental microbiology*, 72(1) :551–556, 2006.
- [26] F. Caccavo, R.P. Blakemore, and D.R. Lovely. A hydrogen-oxidizing, Fe(III)-reducing microorganism from the great bay estuary, New Hampshire. *Applied and Environmental Microbiology*, 58(10) :3211–3216, October 1992.

- [27] S.R. Caplan and A. Essig. *Bioenergetics and linear nonequilibrium thermodynamics : the steady state*. Cambridge, Massachusetts : Harvard University press, 1977.
- [28] L. Carlson, J.M. Bigham, U. Schwertmann, A. Kyek, and F. Wagner. Scavenging of As from acid mine drainage by schwertmannite and ferrihydrite : A comparison with synthetic analogues. *Environ. Sci. Technol.*, 36(8) :1712–1719, 2002.
- [29] C. Casiot, O. Bruneel, J.-C. Personne, M. Leblanc, and F. Elbaz-Poulichet. Arsenic oxidation and bioaccumulation by the acidophilic protozoan, *euglena mutabilis* in acid mine drainage (Carnoules, France ). *Science of the Total Environment*, 320 :259–267, 2004.
- [30] C. Casiot, S. Lebrun, G. Morin, O. Bruneel, J.C. Personné, and F. Elbaz-Poulichet. Sorption and redox processes controlling arsenic fate and transport in a stream impacted by acid mine drainage. *Science of the Total Environment*, 347 :122–30, 2005.
- [31] C. Casiot, G. Morin, F. Juillot, O. Bruneel, J.-C. Personne, M. Leblanc, K. Dumesne, V. Bonnefoy, and F. Elbaz-Poulichet. Bacterial immobilization and oxidation of arsenic in acid mine drainage (Carnoules creek, France). *Water Research*, 37 :2929–2936, 2003.
- [32] F.H. Chapelle. *Ground-Water microbiology and geochemistry*. John Wiley & Sons, Inc., 2001.
- [33] A. Chilakapati, S. Yabusaki, J. Szecsody, and W. MacEvoy. Groundwater flow, multicomponent transport and biogeochemistry : development and application of a coupled process model. *J. Contam. Hydrol.*, 43 :303–325, 2000.
- [34] N. Chilakapati. RAFT a simulator for reactive flow and transport of groundwater contaminants. Technical Report 10636, PNL Report, 1995.
- [35] S.E. Childers and D.R. Lovely. Differences in Fe(III) reduction in the hyperthermophilic archaeon, *Pyrobacterium islandicum*, versus mesophilic Fe(III)-reducing bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, pages 253–258, 2001.
- [36] T.H. Christensen, P. Kjeldsen, P.L. Bjerg, D.L. Jensen, J.B. Christensen, A. Baun, H.J. Albrechtsen, and G. Heron. Biogeochemistry of landfill leachate plumes. *Appl. Geochem.*, 16 :659–718, 2001.
- [37] V.G. Chukhlantsev. The solubility products of a number of arsenates. *Journal of Analytical chemistry*, 11 :565–571, 1956.
- [38] R.M. Cornell and U. Schwertmann. *The iron oxides*. Wiley-VCH, Weinheim, 2003.
- [39] A. Cornish-Bowden, M. Jamin, and V. Saks. *Cinétique enzymatique*. EDP Sciences, 2005.

- [40] G.P. Curtis. Comparison of approach for simulating reactive solute transport involving organic degradation reactions by multiple terminal electron acceptors. *Computers & Geosciences*, 29 :319–329, 2003.
- [41] A.W. Dale, P. Regnier, and P. van Cappellen. Bioenergetic controls on anaerobic oxidation of methane (aom) in coastal marine sediments : a theoretical analysis. *American Journal of Science*, 306 :246–294, 2006.
- [42] F. Dassonville and P. Renault. Interactions between microbial processes and geochemical transformations under anaerobic conditions : a review. *Agronomie*, 22 :51–68, 2002.
- [43] G. de Marsily. *Quantitative hydrogeology*. Academic Press, 1981.
- [44] S. Dixit and J.G. Hering. Comparison of arsenic(V) arsenic(III) sorption into iron oxyde minerals : Implications for arsenic mobility. *Environ. Sci. Technol.*, 37 :4182–4189, 2003.
- [45] M.P. Dove and J.D. Rimstidt. The solubility of scorodite,  $\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ . *American mineralogist*, 70 :838–844, 1985.
- [46] K. Duquesne, S. Lebrun, C. Casiot, O. Bruneel, J.-C. Personne, M. Leblanc, F. Elbaz-Poulichet, G. Morin, and V. Bonnefoy. Immobilization of arsenite and ferric iron by acidithiobacillus ferrooxidans and its relevance to acid mine drainage. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(10) :6165–6173, 2003.
- [47] D.A. Dzombak and F.M.M. Morel. *Surface Complexation modeling : Hydrous ferric oxyde*. John Wiley & Sons, 1990.
- [48] H.I. Essaid, B.A. Bekins, E.M. Godsy, E. Warren, M.J. Bardecker, and I.M. Cozzarelli. Simulation of anaerobic biodegradation processes at a crude oil spill site. *Water Resources Research*, 31(12) :3309–3327, 1995.
- [49] S. Even. *Modélisation d'un écoulement fluvial : La Seine. Le modèle ProSe*. PhD thesis, Ecole des mines de Paris, 1995.
- [50] Y. Fang. *Reactive Chemical transport under multiphase system*. PhD thesis, The Pennsylvania State University, 2003.
- [51] Y. Fang, G.T. Yeh, and W.D. Burgos. A general paradigm to model reaction-based biogeochemical processes in batch systems. *Water Resources Research*, 39(4), 2003.
- [52] F.G. Ferris, K. Tazaki, and W.S. Fyfe. iron oxides in acid mine drainage environments and their association with bacteria. *Chemical Geology*, 74 :321–330, 1989.
- [53] H.B. Fisher, E.J. List, R.C.Y. Koh, J. imberger, and N.H. Brooks. *Mixing in Inland water and coastal waters*. Academic Press, New York, 1979.

- [54] T.A. Fowler, P.R. Holmes, and F.K. Crundwell. Mechanism of pyrite dissolution in the presence of thiobacillus ferrooxidans. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7) :1987–2993, 1999.
- [55] A.G. Fredrickson. Behavior of mixed cultures of microorganisms. *Annual Reviews of Microbiology*, 31 :63–87, 1977.
- [56] K. Fukushi, T. Sato, and N. Yanase. Solid-solution reactions in As(V) sorption by schwertmannite. *Environ. Sci. Technol.*, 37 :3581–3586, 2003.
- [57] K. Fukushi, T. Sato, N. Yanase, J. Minato, and H. Yamada. Arsenate sorption on schwertmannite. *American Mineralogist*, 89 :1728–1734, 2004.
- [58] C.C. Fuller, J.A. davis, and G.A. Waychunas. Surface chemistry of ferrihydrite ; part 2, kinetics of arsenate adsorption and coprecipitation. *Geochimica and Cosmochimica Acta*, 57 :2271–2282, 1993.
- [59] F. Garrido, A. Burnol, M.C. Dictor, G. Morin, and P. Baranger. Bacterial co-reduction of As(V) and hydrous Fe(III) oxide : experiments and numerical simulation. In *14th Annual Goldschmidt conference*, Copenhagen, 6-11 June 2004.
- [60] K.-H. Goh and T.-T. Lim. Arsenic fractionation in a fine soil fraction and influence of various anions on its mobility in the subsurface environment. *Applied Geochemistry*, 20 :229–239, 2005.
- [61] J.P. Gwo, E.F. D’Azevedo, H. Frenzel, M. Mayes, G.T. Yeh, P.M. Jardine, K.M. Salvage, and F.M. Hoffman. HBGC123D : a high-performance computer model of coupled hydrogeological and biogeochemical processes. *Computer & Geosciences*, 27 :1231–1242, 2001.
- [62] J. Happel. study of kinetics structure using marked atoms. *catalysis reviews*, 6 :221–260, 1972.
- [63] P.I. Harvey and F.K. Crundwell. Growth of thiobacillus ferrooxidans : a novel experimental design for batch growth and bacterial leaching studies. *Applied and Environmental Microbiology*, 63(7) :2586–2592, 1997.
- [64] Q.H. He, G.G. Leppard, C.R. Paige, and W.J. Snodgrass. Transmission electron microscopy of a phosphate effect on the colloid structure of iron hydroxyde. *Water Research*, 30 :1345–1352, 1996.
- [65] G. Heron, C. Cruzet, A.C.M Bourg, and T.H. Christensen. Speciation of Fe(II) and Fe(III) in contaminated aquifer sediments sing chemical extraction techniques. *Environ. Sci. Technol.*, 28 :1698–1705, 1994.
- [66] L.E. Hersman, J.H. Forsythe, L.O. Ticknor, and P.A. Maurice. Growth of *Pseudomona mendicina* on Fe(III)(hydr)oxides. *Applied and Environmental Microbiology*, 67(10) :4448–4453, October 2001.

- [67] T.L. Hill. *Free energy transduction in biology : the steady-state kinetics and thermodynamic formalism*. New York : Academic press, 1977.
- [68] P.C. Houtsma, B.J. Kusters, J.C. de Wit, F.M. Rombouts, and M.H. Zwietering. Modelling growth rates of *Listeria innocua* as a function of lactate concentration. *International Journal of Food Microbiology*, 24(1–2) :113–123, 1994.
- [69] K.S. Hunter, Y. Wang, and P. Van Cappellen. Kinetic modeling of microbially-driven redox chemistry of subsurface environments : coupling transport, microbial metabolism and geochemistry. *Journal of Hydrology*, 209 :53–80, 1998.
- [70] J. Islam and N. Singhal. A one-dimensional reactive multi-component landfill leachate transport model. *Environmental Modelling & Software*, 17 :531–543, 2002.
- [71] Q. Jin and C.M. Bethke. Kinetics of electron transfer through the respiratory chain. *Biophysical Journal*, 83 :1797–1808, 2002.
- [72] Q. Jin and C.M. Bethke. A new rate law describing microbial respiration. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(4) :2340–2348, 2003.
- [73] Q. Jin and C.M. Bethke. Predicting the rate of microbial respiration in geochemical environments. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 69(5) :1133–1143, 2005.
- [74] A. Kappler, M. Benz, B. Schink, and A. Brune. Electron shuttling via humic acids in microbial iron(III) reduction in a fresh water sediment. *FEMS Microbiol. Ecol.*, 47 :85–92, 2004.
- [75] D.G. Karamanev. Model of the biofilm structure of *Thiobacillus ferrooxidans*. *Journal of Biotechnology*, 20(1) :51–64, 1991.
- [76] A. Keshtkar, H. Ghaforian, G. Abolhamd, and B. Meyssami. Dynamic simulation of cyclic batch anaerobic digestion of cattle manure. *Bioresour. Technol.*, 80 :9–17, 2001.
- [77] A. Keshtkar, B. Meyssami, G. Abolhamd, H. Ghaforian, and M.K. Asadi. Mathematical modeling of non-ideal mixing continuous flow reactors for anaerobic digestion of cattle manure. *Bioresour. Technol.*, 87 :113–124, 2003.
- [78] M.J. Kim. Separation of inorganic arsenic species in ground water using ion exchange method. *Bull. Environ. Toxicol.*, 67 :46–51, 2001.
- [79] W. Kinzlerbach, W. Schafer, and J. Herzer. Numerical method of natural and enhanced denitrification processes in aquifers. *Water Resources Research*, 27(6) :1123–1135, 1991.
- [80] C.S. Kirby and J.A. Elder Brady. Field determination of Fe<sup>2+</sup> oxidation rates in acid mine drainage using a continuously-stirred tank reactor. *Applied Geochemistry*, 13(4) :509–520, 1998.
- [81] K.L. Straub and B. Schink. Evaluation of electron-shuttling compounds in microbial ferric iron reduction. *FEMS Microbiology Letters*, 220 :229–233, 2003.

- [82] Kouadio koffi. *Contribution à l'étude des processus couplés hydrogéochimiques dans les stocks de déchets miniers : Le cas du site de Carnoulès (Gard, France)*. PhD thesis, Université de Montpellier, 2004.
- [83] S.M. Kraemer. Iron oxide dissolution in the presence of siderophores. *Aquatic sciences*, 66(1) :3–18, 2004.
- [84] S.M. Kraemer, S.F. Cheah, R. Zapf, J. Xu, K.N. Raymond, and G. Sposito. Effect of hydroxamate siderophores on Fe release and Pb(II) adsorption by goethite. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 63 :3003–3008, 1999.
- [85] E. Krause and V.A. Ettl. The solubility of scorodite,  $\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  : New data and further discussion. *American mineralogist*, 73 :850–854, 1988.
- [86] J.-U. Kreft, C. Picioreanu, J.W.T. Wimpenny, and M.C.M. van Loosdrecht. Individual-based modelling of biofilms. *Microbiology*, 147 :1897–2912, 2001.
- [87] V. Lagneau. R2d2 - reactive transport and waterflow on an odd dimension 2 grid - notice technique et vérification. Technical Report LHM/RD/03/05, ENSMP, 2003.
- [88] C. Lancelot and S. Mathot. Dynamics of a phaeocystis-dominated spring bloom in belgian coastal waters. i. phyto-planktonic activities and related parameters. *Mar. Ecol. Prog. Ser.*, 37 :239–248, 1987.
- [89] A.C. Lasaga. *Kinetic theory in earth sciences*. Princeton University Press, 1998.
- [90] A.M. Laverman, J.S. Blum, J.K. Schaefer, E. Phillips, D.R. Lovely, and R.S. Oremland. Growth of strain SES-3 with arsenate and other diverse electron acceptors. *Applied and Environmental Microbiology*, 61(10) :3556–3561, October 1995.
- [91] M. Leblanc, B. Achard, D.B. Othman, and J.M. Luck. Accumulation of arsenic from acidic mine waters by ferruginous bacterial accretions (stromatolites). *Pergamon Applied Geochemistry*, 11 :541–554, 1996.
- [92] M. Leblanc, C. Casiot, F. Elbaz-Poulichet, and C. Personné. Arsenic removal by oxidizing bacteria in a heavily arsenic-contaminated acid mine drainage system (Carnoulès, France). In P.L. Younger and N.S. Robins, editors, *Mine water Hydrogeology and Geochemistry*, volume 198, pages 267–274. Geological Society Special Publication, 2002.
- [93] F. Lei, M. Rotboll, and S.B. Jorgensen. A biochemically structured model for *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of biotechnology*, 88 :205–221, 2001.
- [94] C.W. Lindenmeier, M.J. Lindberg, K.N. Geiszler, R.J. Serne, R.E. Clayton, C.F. Brown, B.N. Bjornstad, V.L. LeGore, M.M. Valenta, G.W. Gee, I.V. Kutnyakov, T.S. Vickerman, H.T. Schaefer, S.R. Baum, L.J. Royack, and D.C. Lanigan. Characterization of vadose zone sediment : RCRA borehole 299-E33-338

- located near the B-BX-BY waste management area. Technical report, PNNL, 2003.
- [95] C. Liu, S. Kota, J.M. Zachara, J.K. Fredrickson, and C.K. Brinkman. Kinetic analysis of the bacterial reduction of goethite. *Environ. Sci. Technol.*, 35(12) :2482–2490, 2001.
- [96] C. Liu, J.M. Zachara, Y.A. Gorby, J.E. Szecsody, and C.F. Brown. Microbial reduction of Fe(III) and sorption/precipitation of Fe(II) on shewanella putrefaciens strain CN32. *Environ. Sci. Technol.*, 35(7) :1385–1393, 2001.
- [97] M. Loan, J.M. Cowley, R. Hart, and G.M. Parkinson. Evidence on the structure of synthetic schwertmannite. *American Mineralogist*, 89 :1735–1742, 2004.
- [98] D.J. Lonergan, H.L. Jenter, J.D. Coates, E.J.P. Phillips, T.M. Schmidt, and D.R. Lovely. Phylogenetic analysis of dissimilatory Fe(III)-reducing bacteria. *Journal of Bacteriology*, 178(8) :1402–2408, april 1996.
- [99] D.R. Lovely and J.D. Coates. Novel forms of anaerobic respiration of environmental relevance. *Current Opinion in Microbiology*, 3 :252–256, 2000.
- [100] D.R. Lovely and E.J.P. Phillips. Rapid assay for microbially reducible ferric iron in aquatic sediments. *Applied and Environmental Microbiology*, 53(12), 1987.
- [101] D.R. Lovely, E.J.P. Phillips, and D.J. Lonergan. Enzymatic versus nonenzymatic mechanisms for Fe(III) reduction in aquatic sediments. *Environ. Sci. Technol.*, 25(6) :1062–1067, june 1991.
- [102] J. H. T. Luong. Generalization of monod kinetics for analysis of growth data with substrate inhibition. *Biotechnology and Bioengineering*, 29(2) :242–248, 1987.
- [103] M.Z. Makhmetov, A.K. Sagadieva, and V.I. Chuprakov. Solubility of iron arsenate. *Journal of Applied Chemistry*, 54 :823–824, 1981.
- [104] P.K. Malakar, D.E. Martens, M.H. Zwietering, C. Béal, and K. van't Riet. Modelling the interaction between *Lactobacillus curvatus* and *Enterobacter cloacae* II. Mixed cultures and shelf life predictions. *International Journal of Food Microbiology*, 51 :67–79, 1999.
- [105] D.E. Martens, C. Béal, P. Malakar, M.H. Zwietering, and K. van't Riet. Modelling the interactions between *Lactobacillus curvatus* and *Enterobacter cloacae* I. Individual growth kinetics. *International Journal of Food Microbiology*, 51 :53–65, 1999.
- [106] K.U. Mayer, S.G. Benner, E.O. Frind, S.F. Thornton, and D.N. Lerner. Reactive transport modeling of processes controlling the distribution and natural attenuation of phenolic compounds in a deep sandstone aquifer. *J. Contam. Hydrol.*, 53 :341–368, 2001.

- [107] J.T. McGuire, E.W. Smith, D.T. Long, D.W. Hynman, S.K. Haack, M.J. Klug, and M.A. Velbel. Temporal variations in parameters reflecting terminal-electron-accepting processes in an aquifer contaminated with waste fuel and chlorinated solvents. *Chemical Geology*, 169 :471–485, 2000.
- [108] W.W. McNab and T.N. Narasimhan. Modeling reactive transport of organic compounds in groundwater using a partial redox disequilibrium approach. *Water Resources Research*, 30(9) :2619–2635, 1994.
- [109] L. Michaelis and M.L. Menten. Die kinetik der invertinwirkung. *Biochemische Zeitschrift*, 49 :333–369, 1931.
- [110] C.F. Mignone and E.R. Donati. ATP requirements for growth and maintenance of iron-oxidizing bacteria. *Biochemical Engineering Journal*, 18 :211–216, 2004.
- [111] J. Monod. *Recherches sur la croissance des cultures bactériennes*. Hermann and Cie, 1942.
- [112] G. Morin, F. Juillot, C. Casiot, O. Bruneel, J.C. Personne, F. Elbaz-Poulichet, M. Leblanc, P. Ildefonse, and G. Calas. Bacterial formation of tooeleite and mixed arsenic(III) or arsenic(V)-iron(III) gels in the carnoulés acid mine drainage, France. A XANES, XRD, and SEM study. *Environ. Sci. Technol.*, 37(9) :1705–1712, 2003.
- [113] A. Moser. Kinetics of batch fermentations. In *Biotechnology*, pages 243–283. Rehm HJ, Reed G, 1985.
- [114] M. Nemati, S.T.L. Harrison, G.S. Hansford, and C. Webb. Biological oxidation of ferrous sulphate by thiobacillus ferrooxidans : a review on the kinetic aspects. *Biochemical Engineering Journal*, 1 :171–190, 1998.
- [115] T. Nishimura and K. Tozawa. On the solubility products of ferric, calcium and magnesium arsenates. *Bulletin of the research Institute of Mineral Dressing and Metallurgy*, 34 :20–26, 1978.
- [116] D.K. Nordstrom, E.A. Jenne, and J.W. Ball. *Redox equilibria of iron in acid mine waters.*, chapter Chemical modeling in aqueous systems, chapter 3, pages 51–79. 93. American Chemical Society Symposium, 1979.
- [117] B. Nowack. Environmental chemistry of aminopolycarboxylate chelating agents. *Environ. Sci. Technol.*, 36(19) :4004–4016, 2002.
- [118] D.J. O'Connor and W.E. Dobbins. Mechanisms of reaeration in natural streams. *ASCE Transactions*, 123 :641–666, 1958.
- [119] G. Ona-Nguema, G. Morin, and F. Juillot ans G. Calas ans G.E. Brown Jr. EXAFS analysis of arsenite adsorption onto two-line ferrihydrite, hematite, goethite, and lepidocrocite. *Environ. Sci. Technol.*, 39 :9147–9155, 2005.
- [120] N.S. Panikov. *Microbial growth kinetics*. Chapman et Hall, 1995.

- [121] N.S. Panikov. Understanding and prediction of soil microbial community dynamics under global change. *Applied Soil Ecology*, 11 :161–176, 1999.
- [122] J. Pelmont. *Bactéries et environnement. Adaptations physiologiques*. Université Joseph Fourier, 1993.
- [123] T. Platt, C.L. Gallegos, and W.G. Harrison. Photo-inhibition of photosynthesis in natural assemblages of marine phytoplankton. *Journal of Marine Research*, 38 :687–701, 1980.
- [124] D. Postma and R. Jakobsen. Redox zonation : Equilibrium constraints on the Fe(III)/SO<sub>4</sub>-reduction interface. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 60(17) :3169–3175, 1996.
- [125] K.P. Raven, A. Jain, and R.H. Loeppert. Arsenite and arsenate adsorption on ferrihydrite : kinetics, equilibrium and adsorption envelopes. *Environ. Sci. Technol.*, 32 :344–349, 1998.
- [126] S. Regenspurg and S. Peiffer. Arsenate and chromate incorporation in schwertmannite. *Applied Geochemistry*, 20(6) :1226–1239, 2005.
- [127] P. Regnier, J.P. O’Kane, C.I. Steefel, and J.P. Vanderborght. Modeling complex multi-component reactive-transport systems : towards a simulation environment based on concept of a knowledge base. *Applied mathematical modeling*, 26 :913–927, 2002.
- [128] B.E. Rittman and J.M. VanBriesen. Microbiological processes in reactive modeling. In P.C Lichtner, C.I Steefel, and E.H. Oelkers, editors, *Reactive Transport in Porous media, Reviews in Mineralogy*, volume 34, pages 311–334. Mineralogical Society of America, Washington, DC, 1996.
- [129] R.G. Robins. Solubility and stability of scorodite, FeAsO<sub>4</sub>-2H<sub>2</sub>O : Discussion. *American Mineralogist*, 75(7–8) :842–844, 1987.
- [130] E.E. Roden. Analysis of long-term bacterial vs. chemical Fe(III) oxide reduction kinetics. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 68(15) :3205–3216, 2004.
- [131] E.E. Roden and M.M.Urrutia. Influence of biogenic Fe(II) on bacterial crystalline Fe(III)oxide reduction. *Geomicrobiology Journal*, 19(2) :209–251, mars-april 2002.
- [132] K.M. Salvage and G.T. Yeh. Development and application of a numerical model of kinetic and equilibrium microbiological and geochemical reactions (BIOKE-MOD). *Journal of Hydrology*, 209 :27–52, 1998.
- [133] A. Schnurer, B.H. Svensson, and B. Schink. Enzyme activities in and energetics of acetate metabolism by the mesophilic syntrophically acetate-oxidizing anaerobe clostridium ultunense. *FEMS Microbiology Letters*, 154 :331–336, 1997.
- [134] S. Seeliger, P.H. Janssen, and B. Schink. Energetics and kinetics of lactate fermentation to acetate and propionate via methylmalonyl-coa or acrylyl-coa. *FEMS Microbiology Letters*, 211 :65–70, 2002.

- [135] M.P. Silverman and H.L. Ehrlich. Microbial formation and degradation of minerals. *Advances in Applied Microbiology*, 6 :153–206, 1964.
- [136] P.C. Singer and W. Stumm. Acidic mine drainage : The rate-determining step. *Science*, 167(3921) :1121–1123, 1970.
- [137] P.L. Smedley and D.G. Kinniburgh. A review of the source, behaviour and distribution of arsenic in natural waters. *Applied Geochemistry*, 17 :517–568, 2002.
- [138] M.J. Spence, S.H. Bottrell, J.J.W Higgs, I. Harrison, and A.E. Fallick. Denitrification and phenol degradation in a contaminated aquifer. *J. Contam. Hydrol.*, 53 :305–318, 2001.
- [139] C.I. Steefel and P. van Cappellen. Reactive transport modeling of natural systems. *Journal of hydrology*, 209 :1–7, 1998.
- [140] W. Stumm and J.J. Morgan. *Aquatic chemistry : an introduction emphasizing chemical equilibria in natural waters*. Wiley, 1981.
- [141] I. Suzuki, H.M. Lizama, and P.D. Tackaberry. Competitive inhibition of ferrous iron oxidation by thiobacillus ferrooxidans by increasing concentrations of cells. *Applied and Environmental Microbiology*, 55(5) :1117–1121, 1989.
- [142] C.L. Tebes-Stevens, A.J. Valocchi, J.M. VanBriesen, and B.E. Rittmann. Multi-component transport with coupled geochemical and microbiological reactions : model description and example simulations. *Journal of Hydrology*, 209 :8–26, 1998.
- [143] R.K. Thauer, K. Jungermann, and K. Decker. Energy conservation in chemotrophic anaerobic bacteria. *Bacteriological Reviews*, 41(1) :100–180, 1977.
- [144] L. Thibodeaux, M. Poulin, and S. Even. A model for enhanced aeration of the streams by motor vessels with application to the Seine river. *Journal of Hazardous Materials*, 37 :459–473, 1994.
- [145] S.F. Thornton, D.N. Lerner, and S.A. Banwart. Assessing the natural attenuation of organic contaminants in aquifers using plume-scale electron and carbon balances : model development with analysis of certainty and parameter sensitivity. *J. Contam. Hydrol.*, 53 :199–232, 2001.
- [146] S.F. Thornton, S. Quigley, M.J. Spence, S.A. Banwart, S. Bottrell, and D.N. Lerner. Processes controlling the distribution and natural attenuation of dissolved phenolic compounds in a deep aquifer. *J. Contam. Hydrol.*, 53 :233–267, 2001.
- [147] M. Thullner, P. van Cappellen, and P. Regnier. Modeling the impact of microbial activity on redox dynamics in porous media. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 69(21) :5005–5019, 2005.

- [148] J. Tonnelat. *Thermodynamique et biologie. 1, Entropie, désordre et complexité*, volume 1. Maloine-Doin, Paris, 1978.
- [149] P.M. van Bodegom and J.C.M. Scholten. Microbial processes of CH<sub>4</sub> production in a rice paddy soil : Model and experimental validation. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 65(13) :2055–2066, 2001.
- [150] P.M. van Bodegom and A.J.M. Stams. Effects of alternative electron acceptors and temperature on methanogenesis in rice paddy soils. *Chemosphere*, 39(2) :167–182, 1999.
- [151] J. van der Lee and C. Lomenech. Towards a common thermodynamic database for speciation models. *Radiochim. Acta*, 2004.
- [152] M. Vargas, K. Kashefi, E.L. Blunt-Harris, and D.R. Lovely. Microbiological evidence for Fe(III) reduction on early earth. *Nature*, 395 :65, 1998.
- [153] P.F. Verhulst. Notice sur la loi que la population poursuit dans son accroissement. *Correspondance mathématique et physique*, 10 :113–121, 1838.
- [154] E. Vircikova, J. Molnar, P. Lech, and E. Reitznerova. Solubilities of amorphous Fe-As precipitates. *Hydrometallurgy*, 38 :111–123, 1995.
- [155] Y. Wang and H.S. Papenguth. Kinetic modelling of microbially-driven redox chemistry of radionucleides in subsurface environments : coupling transport, microbial metabolism and geochemistry. *J. Contam. Hydrol.*, 47 :297–309, 2001.
- [156] G.A. Waychunas, C.C. Fuller, B.A. Rea, and J.A. Davis. Wide angle X-ray scattering (WAXS) study of two-line ferrihydrite structure; effect of arsenate sorption and counterion variation and comparison with axafs results. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 60 :1765–1781, 1995.
- [157] N.J. Welham, K.A. Malatt, and S. Vukcevic. The stability of iron phases presently used for disposal from metallurgical systems—a review. *Minerals Engineering*, 13(8–9) :911–931, 2000.
- [158] K.S. Whiting. The thermodynamics and the geochemistry of arsenic, with application to subsurface waters at the sharon steel superfund site at midvale, utah. Master’s thesis, Colorado School of Mines, 1992.
- [159] J.A. Wilkie and J.G. Hering. Adsorption of arsenic into hydrous ferric oxide : effects of adsorbate/adsorbent ratios and co-occurring solutes. *Colloids Surf. Physicochem. Eng. Aspects*, 107 :97–110, 1996.
- [160] G.M. Williams, R.W. Pickup, S.F. Thornton, D.N. Lerner, H.E.H. Mallinson, Y. Moore, and C. White. Biogeochemical characterisation of a coal tar distillate plume. *J. Contam. Hydrol.*, 53 :175–197, 2001.
- [161] J.Y. Yu, B. Heo, I.K. Choi, J.P. Cho, and H.W. Chang. Apparent solubilities of schwertmannite and ferrihydrite in natural stream waters polluted by mine drainage. *Geochim. Cosmochim. Acta*, 63(19/20) :3407–3416, 1999.

- [162] W.H. Yu, C.M Harvey, and C.F. Harvey. Arsenic in groundwater in bangladesh : A geostatistical and epidemiological framework for evaluating health effects and potential remedies. *Water Resources Research*, 39 :1146, 2003.
- [163] Y. Zhu and B.J. Merkel. The dissolution and solubility of scorodite,  $\text{FeAsO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  evaluation and simulation with PHREEQC2. *Wiss.Mitt.Inst.fur Geologie*, 2001.



## A Calcul de la solubilité de la scorodite

Les analyses DRX permettent de distinguer aisément entre une scorodite naturelle ou synthétique et une phase amorphe d'arséniate ferrique [85]. Néanmoins de nombreuses mesures de solubilité ont été réalisés à partir de scorodite mal cristallisée [37, 115, 103, 45, 129, 154, 157, 163].

Chukhlantsev semble être le premier à avoir publié une valeur pour la solubilité de la Scorodite. Le  $\log K$  de  $-20.24$  qu'il a rapporté est encore beaucoup utilisé. D'autres auteurs ont calculés une solubilité pour la scorodite en utilisant des conditions (pH et température) et des méthodes de synthèse minérale différentes. Les valeurs de  $\log K$  varient entre  $-20$  [129],  $-21$  [115],  $-22$  [129], et  $-24$  [85].

A partir des concentrations mesurées par leurs prédécesseurs, Zhu et Merkel ont recalculé tous les  $\log K$  en utilisant un même code de calcul et une même base de donnée. Ils en déduisent un  $\log K$  moyen pour la scorodite cristallisée de  $-23.44$ . Vircikova et al. utilise de la Scorodite amorphe et trouve un  $\log K$  d'environ  $-22$ .

Comparé au  $\log K$  de la scorodite cristallisée rapportée par Krause et Ettel [85], la scorodite amorphe a une solubilité supérieure d'environ deux ordres de grandeur [154].

La phase amorphe de Fe(III) et d'As(V) a un rapport As/Fe variable, contrairement à la scorodite pour laquelle ce rapport vaut 1. Vircikova et al. a étudié la solubilité d'arséniates ferriques amorphes avec des rapports As/Fe variant entre 0.07 et 0.63 [154].

La scorodite amorphe est différente de la scorodite cristallisée essentiellement par deux caractéristiques : la scorodite cristallisée a un rapport As/Fe de 1 et une constante de solubilité d'environ 24 ( $\Delta G_f^0 = 1280$  kJ/mol) ; la scorodite amorphe a un rapport As/Fe variable (entre 0.07 et 0.63 [154]) et une constante de solubilité d'environ 22 ( $\Delta G_f^0 = 1267$  kJ/mol). Ces valeurs de constantes de solubilité sont calculées entre 20 et 25 °C comme le produit des activités des espèces  $\text{Fe}^{3+}$  et  $\text{AsO}_4^{3-}$  [154, 157, 85].

Les constantes de solubilité sont calculées avec CHESS et la base de données du CTDP comme le produit ionique suivant :

$$K = \frac{[\text{Fe}^{3+}][\text{H}_2\text{AsO}_4^-]}{[\text{H}^+]^2} \quad (\text{A.1})$$

Les tableaux A.1 et A.2 résument les données de la littérature. Celles-ci sont représentées sur la figure A.1. La constante de solubilité utilisée dans le chapitre 6 est

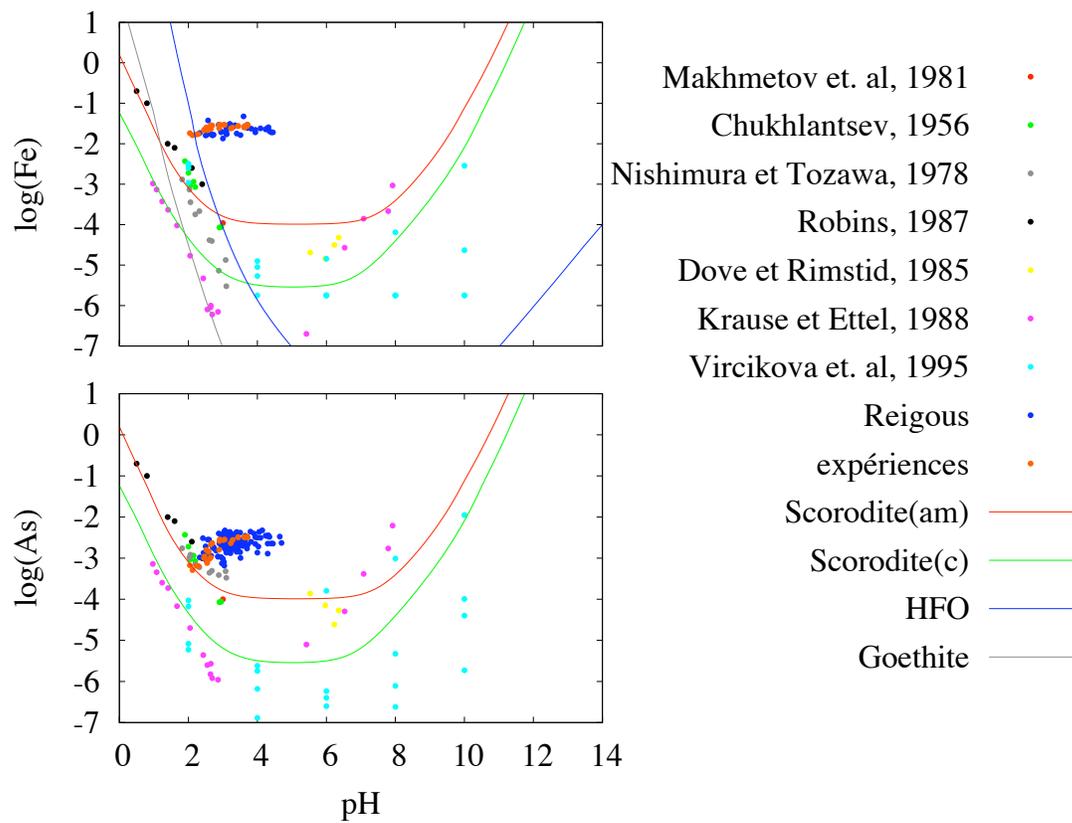
la moyenne des constantes de solubilité calculées pour les expériences de [37, 115, 129]. Seules ces expériences ont été choisies car elles utilisent à la fois de la scorodite amorphe et des pH faibles. Ces conditions sont celles qui correspondent à la chimie de l'eau du Reigous. La figure A.1 compare les concentrations de l'eau du Reigous avec les données de la littérature.

**Tab. A.1** – Conditions expérimentales et calcul avec CHESS des constantes de solubilité de la scorodite amorphe (am) ou cristallisée (c).

nature	As/Fe	pH	Temp	$-\log\text{FeII}$	$-\log\text{AsV}$	$\log K$	ref
am		2.90	20	4.07	4.01	-4.725	[37]
am		2.20	20	3.07	2.94	-4.079	[37]
am		2.05	20	3.03	2.12	-4.187	[37]
am		2.95	20	4.06	4.01	-4.695	[37]
am		2.15	20	2.94	2.94	-3.986	[37]
am		2.00	20	2.12	2.12	-3.905	[37]
am		1.90	20	2.43	2.43	-3.712	[37]
am		3.10	25	5.52	3.48	-6.050	[115]
am		2.88	25	5.13	3.41	-5.718	[115]
am		2.61	25	4.39	3.36	-5.072	[115]
am		2.20	25	3.75	3.15	-4.699	[115]
am		1.82	25	2.88	2.16	-4.516	[115]
am		0.50	25	0.70	0.70	-4.447	[129]
am		0.80	25	1.00	1.00	-4.179	[129]
am		1.40	25	2.00	2.00	-4.015	[129]
am		1.60	25	2.10	2.10	-3.781	[129]
am		2.10	25	2.60	2.60	-3.676	[129]
am		2.40	25	3.00	3.00	-3.847	[129]
?		6.36	25	4.30	4.304	-4.814	[45]
?		6.23	25	4.52	4.699	-5.105	[45]
?		5.97	25	5.00	4.155	-5.278	[45]
?		5.53	25	4.70	3.854	-5.124	[45]
am		3.00	25	3.958	4.00	-4.606	[103]
c		2.43	23	5.33	5.36	-6.787	[85]
c		2.05	23	4.77	4.70	-6.439	[85]
c		1.67	23	4.02	4.11	-6.227	[85]
c		1.41	23	3.63	3.73	-6.215	[85]
c		1.24	23	3.42	3.60	-6.418	[85]
c		1.08	23	3.14	3.34	-6.443	[85]
c		0.97	23	2.98	3.14	-6.485	[85]

**Tab. A.2** – Conditions expérimentales et calcul avec CHESS des constantes de solubilité de la scorodite amorphe pour les expériences de [154] (suite du tableau A.1).

nature	As/Fe	pH	Temp	$-\log\text{FeII}$	$-\log\text{AsV}$	$\log K$	ref
am	0.625	2.00	23	2.96	4.03	-5.169	[154]
am	0.323	2.00	23	2.54	4.18	-5.314	[154]
am	0.169	2.00	23	2.49	5.08	-6.222	[154]
am	0.069	2.00	23	2.60	5.20	-6.364	[154]
am	0.625	4.00	23	5.27	5.60	-6.158	[154]
am	0.323	4.00	23	5.05	5.74	-6.235	[154]
am	0.169	4.00	23	4.90	6.18	-6.653	[154]
am	0.069	4.00	23	5.75	7.00	-7.505	[154]
am	0.625	6.00	23	4.84	3.80	-5.277	[154]
am	0.323	6.00	23	5.75	6.23	-6.891	[154]
am	0.169	6.00	23	5.75	6.43	-7.040	[154]
am	0.069	6.00	23	5.75	6.60	-7.235	[154]
am	0.625	8.00	23	4.19	3.00	-4.760	[154]
am	0.323	8.00	23	5.75	5.32	-7.986	[154]
am	0.169	8.00	23	5.75	6.62	-9.270	[154]
am	0.069	8.00	23	5.75	6.10	-8.760	[154]
am	0.625	10.00	23	2.54	1.95	-6.185	[154]
am	0.323	10.00	23	4.63	5.73	-11.746	[154]
am	0.169	10.00	23	5.75	3.99	-11.144	[154]
am	0.069	10.00	23	5.75	4.40	-11.536	[154]



**Fig. A.1** – Représentation de la solubilité des différentes expériences de la littérature et des données du chapitre 6 de cette étude (Reigous et expériences).







## Résumé

La géochimie, telle que celle des anciens sites miniers, est souvent influencée par les activités biologiques. Des logiciels, tels que CHESS et HYTEC, modélisent la plupart des processus géochimiques et hydrodynamiques et permettent d'analyser, puis de prédire l'évolution de ces systèmes complexes. L'objectif est d'étendre ces logiciels à la prise en compte des activités microbiologiques.

Dans CHESS, la méthode modifiée de Newton-Raphson, qui calcule la spéciation géochimique à l'équilibre, a été étendue à la modélisation de systèmes réactionnels composés de cinétiques biologiques (termes de Monod, d'inhibition, thermodynamique). Les autres options de cet outil, comme le couplage avec le module de transport (HYTEC), ont été maintenues.

L'implémentation du code a été vérifiée par la modélisation de plusieurs cas tirés de la littérature. L'outil a ensuite été utilisé pour la modélisation d'expériences réalisées par le BRGM, dans lesquelles un consortium bactérien réalise une dissolution réductive d'un hydroxyde de fer (HFO) riche en arsenic. La mobilisation non congruente de Fe et As est expliquée par la sorption sur l'HFO et par la réduction biologique de Fe(III) et d'As(V).

L'ancien site minier de Carnoulès (Gard, France) a été étudiée par des expériences réalisées à l'université de Montpellier. Celles-ci retracent l'évolution biogéochimique naturelle de l'eau acide de drainage minier. Leur modélisation prend en compte les oxydations aérobie biologiques de Fe(II) et d'As(III) et la précipitation d'une phase amorphe de Fe(III) et d'As(V). Les paramètres thermodynamiques et cinétiques fixés par la modélisation des expériences, sont utilisés dans une modélisation hydrodynamique à l'échelle du terrain.

Les applications montrent l'intérêt de la modélisation dans l'étude de l'interface eau-minéral, qui est souvent colonisée par un biofilm. Au delà de ce domaine d'étude, la prise en compte des activités biologiques dans les outils CHESS et HYTEC va permettre d'étendre considérablement le champs de leurs applications.

---

## Abstract

Geochemistry, as in old mine site, is influenced by biological activity. Only informatics tools taking into account geochemistry, hydrodynamic and microbiology will be able to analyze, and then predict, the evolution of those complex systems. Numeric tools, as CHESS and HYTEC, can calculate most of the geochemical and hydrodynamical processes present in soil. The goal of this work is to extend this tools to take into account microbiological activity.

CHESS calculate geochemical equilibrium speciation using a modified Newton-Raphson process. The same method of resolution is extended to the calculation of reactions mechanism containing biological kinetics. Most of the biological kinetics laws can now be used : Monod law, inhibition law, thermodynamic law. Moreover, others options of this tools are maintained, in particular, the coupling with transport process (HYTEC).

The implementation of this code is first verified by the calculation of several cases from literature. The tools is then used for the calculation of experimental study realized at the BRGM, involving a bacterial consortium responsible of the reductive dissolution of an hydrous ferric oxide enriched in arsenic. The non-congruent mobilization of iron en arsenic is explained by the absorption on hydrous ferric oxide and the activity of two bacterial metabolisms which degrades organic matter and reduce Fe(III) and As(V).

The old site mine of Carnoules (Gard, French) is studied. Experiments, realized at the university of Montpellier, permitted to study the natural biogeochemical evolution of natural acid mine drainage. The calculation take into account the biological oxidations of iron and arsenic by atmospheric oxygen, and the precipitation of amorphous Fe(III)-As(V)gel. The thermodynamic and kinetics parameters are then used in a hydrodynamical simulation at the field scale, in order to understand the geochemical evolution of acid drainage water.

Several applications prove the interest of computational tools in the understanding of water-mineral interface, which is often colonized by bacterias implies in precipitation-dissolution processes. Moreover, CHESS and HYTEC extension permitted to considerably extend the fields of applications.