N° _ _ _ _ _ _ _ _

THESE

Présentée à

L'Université de Pau et des Pays de l'Adour

Ecole Doctorale des Sciences Exactes et de leurs Applications

Par

Julie TOLU

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR

Spécialité : Chimie Analytique et Environnement

Spéciation et mobilité du sélénium présent dans les sols à l'état de traces : contribution aux prévisions à long terme

---

Soutenue le 10 Février 2012

Directrices de thèse

I. Le Hécho	Maître de conférences (Université de Pau et des Pays de l'Adour, France)
M. Potin-Gautier	Professeur (Université de Pau et des Pays de l'Adour, France)

Rapporteurs

L. Charlet	Professeur (Université de Grenoble, France)
N. Marmier	Professeur (Université de Nice Sophia-Antipolis, France)

Examinateurs

A. Bermond	Professeur (AgroParisTech, Paris, France)
M. Bueno	Maître de conférences (Université de Pau et des Pays de l'Adour, France)
F. Coppin	Chercheur (IRSN, Cadarache, France)
Y. Thiry	Chercheur (Andra, Châtenay-Malabry, France)

SOMMAIRE

CONTEXTE DE L'ETUDE ET OBJECTIF GENERAL 1

CHAPITRE A. ETAT DE L'ART ET PROBLEMATIQUES SCIENTIFIQUES 7

I. Le sélénium en milieu continental 9

I.1. Sources et concentrations 9
I.2. Spéciation 12
I.3. Bilan : Cycle du sélénium en milieu continental et importance du compartiment « sol » 17

II. Réactivité du sélénium dans les sols 19

II.1. Le système « sol »: un milieu complexe 19
II.2. Transformations du sélénium 24
II.3. Associations sélénium/constituants du sol 30
II.4. Bilan : Cycle biogéochimique du sélénium dans les sols 35

III. Comment évaluer la réactivité du sélénium dans le système « sol » ? 37

III.1. Le coefficient de distribution solide/liquide (Kd) 37
III.2. Les extractions chimiques 43

IV. Méthodologies analytiques pour l'analyse de spéciation de Se à l'état de traces et l'étude de son devenir dans les sols 47

IV.1. Extractions pour l'analyse des espèces séléniées présentes dans les sols 47
IV.2. Outils analytiques pour l'analyse des espèces séléniées extraites 49
IV.3. Traçage isotopique pour le suivi des transformations du sélénium dans l'environnement 58

V. Bilan et présentation du travail de recherche 63

CHAPITRE B. DEVELOPPEMENT METHODOLOGIQUE : ANALYSE DE SPECIATION DU SELENIUM DANS LES SOLS A L'ETAT DE TRACES 67

I. Selenium speciation analysis at trace level in soils *(Article 1 publié)* 71

II. Etude exploratoire du sélénium associé à la fraction colloïdale dans des extraits de sols 81

III. Synthèse 97

CHAPITRE C. REACTIVITE DU SELENIUM DANS LES SOLS : IMPACT DE LA MATIERE ORGANIQUE ET ASPECTS CINETIQUES 101

I. Speciation and mobility of native selenium in soils: a focus on its interactions with soil organic matter *(Article 2 en préparation)* 105

II. Tracing differential reactivity of native and freshly added Se in soils using stable isotopically enriched selenite *(Article 3 en préparation)* 137

III. Synthèse 163

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES 165

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES 171

ANNEXES 201

I. Informations topographique, géologique et pédologique pour les sols de la collection Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I) 203

II. Caractéristiques chimiques des sols Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I) 215

III. Rendements d'extraction et valeurs de Kd obtenus pour les sols Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I.) 219

IV. Spéciation de Se dans les sols Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I.) 223

V. Etude statistique de la distribution de Se dans les sols Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I) avec les rendements d'extraction calculés pour simuler un schéma d'extractions séquentielles 227

LISTE DES FIGURES

Figure 1. Scénarii de contamination de la biosphère en Se dans le contexte du stockage des déchets radioactifs à Haute Activité et à Vie Longue en formation géologique profonde 5

Figure 2. Gammes étendues des concentrations en Se total dans les différents compartiments continentaux 12

Figure 3. Diagramme Eh-pH de Se en milieu aqueux pour une activité de 10^{-7} mol L^{-1} (25°C , P=1 bar ; Séby et al., 1998) 15

Figure 4. Représentation schématique simplifiée du métabolisme de Se chez les plantes (Klein, 2010) 17

Figure 5. Représentation schématique du cycle de Se en milieu continental 18

Figure 6. Représentation schématique des interactions entre les quatre compartiments constituant les sols (phases solide, liquide et gazeuse, organismes vivants) 24

Figure 7. Cycle biogéochimique de Se dans les sols 36

Figure 8. Distribution de Se dans les fractions de sol : a) schéma d'extractions séquentielles ; b) fractionnement densité/taille (Coppin et al., 2006) 45

Figure 9. Schéma de spéciation pour la détermination de Se(IV), Se(VI) et (Se(0) + Se(-II)) à partir de techniques sélectives de Se(IV) 49

Figure 10. Principe de l'utilisation des traceurs isotopiques stables : application à l'étude des transformations redox de Se 59

Figure 11. Répartition des espèces de Se dans les extraits à l'eau ultrapure, au tampon phosphate à pH 7 et à la soude pour le sol de Rothamsted 80

Figure 12. Domaine de taille des colloïdes et particules naturels (Lead et Wilkinson, 2007) 82

Figure 13. Biodisponibilité des métaux dans les sols en fonction de leur forme « physico-chimique » (Adriano, 2001 ; *IUPAC, 1997) 83

Figure 14. Constituants d'un appareillage As4F (Dubascoux, 2007) 87

Figure 15. Principe de la séparation en taille des populations colloïdales par As4F 87

Figure 16. Schéma de principe du détecteur à Diffusion de Lumière Laser Multi-Angles *(Cas de l'appareillage de Wyatt Technologies utilisé - 18 angles de mesure)* 89

Figure 17. Représentation du rayon de giration 89

Figure 18. Schéma du couplage As4F-UV-ICP-MS pour un suivi qualitatif (configuration 1) ou quantitatif (configuration 2) des éléments associés aux populations colloïdales (Dubascoux et al., 2008 a) 90

Figure 19. Acquisition alternée de Se colloïdal et des étalons séléniés par As4F-UV-ICP-MS 91

Figure 20. Fractogrammes obtenus avec la méthode B pour les extraits à l'eau ultrapure du sol de Rothamsted et du sol de Bure : a) signal UV ; b) signal MALLS 92

Figure 21. Fractogrammes (méthode B) montrant la présence de Fe, Al et Mn associés à la population colloïdale de l'extrait à l'eau ultrapure du sol de Bure : a) signal MALLS ; b, c, d) signal ICP-MS 93

Figure 22. Fractogrammes FFF-UV-ICP-MS obtenus avec la méthode A pour les extraits à la soude a) du sol de Rothamsted ; b) du sol de Bure 93

Figure 23. Fractogrammes montrant la présence de Se associé à la population colloïdale de l'extrait à : a) l'eau ultrapure du sol de Bure : b) la soude du sol de Rothamsted ; c) la soude du sol de Bure 94

Figure 24. Répartition des espèces de Se dans les extraits à l'eau ultrapure et à la soude après étude exploratoire de Se associé à la fraction colloïdale pour les sols de Rothamsted et de Bure 95

Figure 25. Principe simplifié de la séparation des espèces de Se par la membrane Donnan 99

Article 1. Selenium speciation analysis at trace level in soils *(publié)*

Figure 1. Mass balances from single extractions 75

Figure 2. Example of HPLC-ICPMS mixed-mode chromatograms for: (a) Individual Se standards (200 ng L^{-1}) prepared in ultrapure water; (b) Ultrapure water extract from the Rothamsted soil and individual MeSeOOH, Se(IV) and Se(VI) standard additions (50 ng L^{-1}) 78

Article 2. Speciation and mobility of native selenium in soils: a focus on its interactions with soil organic matter *(en préparation)*

Figure 1. Box-and-Whisker plots and confident level of differences between soil land-use type for i) soil OC_{total}, ii) OC_{NaOH} and iii) pH 114

Figure 2. Box-and-Whisker plot for Se solid/liquid distribution coefficient (Kd) 116

Figure 3. Box-and-Whisker plots and confident level of differences between soil land-use type for Se_{NaOH} 120

Figure 4. Relationships between (a) unidentified Se_{water} and i) soil OC_{total} ($r=0.52$, $P<0.05$); ii) OC_{water} ($r=0.33$, $P<0.1$); (b) unidentified $Se_{phosphate}$ and i) soil OC_{total} ($r=0.54$, $P<0.05$);; ii) $OC_{phopshate}$ ($r=0.53$, $P<0.05$); (c) unidentified Se_{NaOH} and i) soil OC_{total} ($r=0.73$, $P<0.01$); ii) OC_{NaOH} ($r=0.66$, $P<0.01$) 124

Article 3. Tracing differential reactivity of native and freshly added Se in soils using stable isotopically enriched selenite *(en préparation)*

Figure 1. Kd values of native and freshly added Se for : a) culture soil; b) forest soil 149

Figure 2. Phosphate and NaOH-extracted added Se extractabilities 151

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1. Concentrations moyennes en Se dans les roches 9
Tableau 2. Sources naturelles et anthropiques d'émission atmosphérique de Se 11
Tableau 3. Principales formes chimiques de Se présentes en milieu continental 13
Tableau 4. Bactéries capables de réduire Se(VI) et/ou Se(IV) en Se(0) 26
Tableau 5. Bactéries et champignons capables de biométhyler Se (Chabroullet, 2005) 28
Tableau 6. Valeurs de Kd pour Se (L kg^{-1}) classées dans la littérature selon les caractères de texture et de teneur en matière organique des sols 39
Tableau 7. Caractéristiques et valeurs de Kd pour les trois sols étudiés par Ashworth et al. (2008) 40
Tableau 8. Réactifs communément utilisés dans la littérature pour accéder aux différentes fractions de Se présent dans les sols et les sédiments 43
Tableau 9. Exemples de changement de spéciation de Se au cours d'extractions 48
Tableau 10. Interférences spectrales pour les différents isotopes de Se (Darrouzès, 2005) 51
Tableau 11. Comparaison des techniques séparatives pour l'analyse de spéciation de Se 53
Tableau 12. Exemples d'analyses de spéciation de Se par couplage HPLC-ICP-MS 55
Tableau 13. Techniques de fractionnement appliquées à l'étude des colloïdes (Dubascoux, 2007) 84
Tableau 14. Caractéristiques des deux sols étudiés pour l'exploration de Se colloïdal 86
Tableau 15. Conditions opératoires pour la séparation des populations colloïdales par As4F 90
Tableau 16. Caractéristiques chimiques des 9 sols de culture de la collection de sol Andra/RMQS 216
Tableau 17. Caractéristiques chimiques des 9 sols de prairie de la collection de sol Andra/RMQS 217
Tableau 18. Caractéristiques chimiques des 9 sols de forêt de la collection de sol Andra/RMQS 218
Tableau 19. Rendements d'extraction et valeurs de Kd pour les 9 sols de culture de la collection de sol Andra/RMQS 220
Tableau 20. Rendements d'extraction et valeurs de Kd pour les 9 sols de prairie de la collection de sol Andra/RMQS 221

Tableau 21. Rendements d'extraction et valeurs de Kd pour les 9 sols de forêt de la collection de sol Andra/RMQS 222
Tableau 22. Spéciation de Se dans les 6 sols de culture de la collection Andra/RMQS 224
Tableau 23. Spéciation de Se dans les 6 sols de prairie de la collection Andra/RMQS 225
Tableau 24. Spéciation de Se dans les 6 sols de forêt de la collection Andra/RMQS. 226
Tableau 25. Matrice des corrélations de Spearman montrant l'existence d'associations organo-minérales dans les sols 229
Tableau 26. Caractéristiques statistiques et différences significatives de la variable OC_{NaOH}-$OC_{phosphate}$ pour/entre les sols de culture, de prairie et de forêt 229
Tableau 27. Matrice des corrélations de Spearman entre « $Se_{phopshate}$- Se_{eau} », « Se_{NaOH} – $Se_{phosphate}$ » et les caractéristiques des sols 231
Tableau 28. Caractéristiques statistiques et différences significatives de la variable Se_{NaOH}-$Se_{phosphate}$ pour/entre les sols de culture, de prairie et de forêt 232

Article 1. Selenium speciation analysis at trace level in soils *(publié)*

Table 1. Vessel washing and mineralization procedures 73
Table 2. Total Se concentrations in the Rothamsted and reference soils (in µg(Se) kg^{-1}, mean values on 9 analysis replicates, uncertainty represents the standard deviation of the 9 analysis replicates) 74
Table 3. Stability ratios (R_s) and associated uncertainties (U) as a function of selenium species and extractants 75
Table 4. Detection and quantification limits for total selenium and speciation analyses (^{78}Se) 76
Table 5. Comparison of extraction efficiencies reported for water, phosphate and sodium hydroxide extractants used as single extraction or included in a SES 76
Table 6. Comparison of selenium speciation reported in water, phosphate buffer and sodium hydroxide soil or sediment extracts 77

Article 2. Speciation and mobility of native selenium in soils: a focus on its interactions with soil organic matter *(en préparation)*

Table 1. Soil characteristics for each land-use type 112

Table 2. Spearman's correlation matrix indicating organo-mineral associations 113

Table 3. Water, phosphate and NaOH efficiencies and Kd values for each land-use type soils 115

Table 4. Spearman's correlation matrix for Kd and soil parameters representative of mineral fraction (i.e., total, oxalate and DCB-extracted Fe and Al) 118

Table 5. Spearman's correlation matrix for $Se_{phopshate}$, Se_{NaOH} and soil parameters 119

Table 6. Se speciation in water, phosphate and NaOH soil extracts, expressed in µg kg^{-1} and in % of total extracted Se 122

Article 3. Tracing differential reactivity of native and freshly added Se in soils using stable isotopically enriched selenite *(en préparation)*

Table 1. Soil characteristics 142

Table 2. Se_{native} extractabilities (expressed in % of total soil Se_{native}) and $Se(IV)_{native}$ proportions in soil extracts (expressed in % of total extracted Se_{native}) for each cycle of the incubation period and both soils 147

Table 3. $Se(IV)_{freshly\ added}$ proportions in soil extracts (expressed in % of total extracted $Se_{freshly\ added}$) for each cycle of the incubation period and both soils 152

GLOSSAIRE

Composés séléniés :

DESe : Diéthylséléniure
DMDSe : diméthyldiséléniure
DMSe : diméthylséléniure
DMSEP : diméthylsélénopropionate
MeSeCys : sélénométhylséléno-cystéine
MeSeH : méthane-sélénol
MeSeMet : sélénométhylséléno-méthionine
MeSeOOH : acide méthane séléninique
Se(0) : sélénium élémentaire
Se(IV) : sélénite
Se(VI) : séléniate
Se(-II) : séléniure
$Se(-II)_{org}$: séléniure organique
SeCys : séléno-cystine
SeCyst : séléno-cystéine
SeEt : séléno-éthionine
SeMet : séléno-méthionine
SeU : séléno-urée
$TMSe^+$: ion triméthylsélénonium

Réactifs chimiques et autres composés :

ATP : Adénosine Tri Phosphate
GSH : glutathion
HFBA : Acide heptafluorobutyrique
MeOH : méthanol

ATP : Adénosine Tri Phosphate
GSH : glutathion
HFBA : Acide heptafluorobutyrique
MeOH : méthanol

Constituants des sols :

AF : Acide Fulvique
AH : Acide Humique
AlO : Aluminium « actif », aluminosilicates amorphes et peu ordonnés, complexes humiques de Al
FeO : Fer « actif », minéraux de Fe amorphes et complexes humiques de Fe
MO : Matière Organique
MOF : Matière Organique Fraîche
MOP : Matière Organique Particulaire (50 à 200 µm)
SH : Substances Humiques

Méthodes analytiques :

AAS : Spectrométrie d'Absorption Atomique
AFS : Spectrométrie de Fluorescence Atomique
As4F : Fractionnement par couplage Flux-Force asymétrique à Flux croisé
C/RC : Cellule de Collision/Réaction
CE : Electrophorèse Capillaire
DPCSV : Voltamétrie de Redissolution Cathodique Pulsée
DRIFT : Spectroscopie Infrarouge à Transformée de Fourier à Réflexion Diffuse
EXAFS : Spectrométrie d'absorption des rayons X par rayonnement synchrotron
FFF : Fractionnement par couplage Flux-Force
GC : Chromatographie en phase Gazeuse
HG : Génération d'hydrures
HPLC : Chromatographie Liquide Haute Performance
ICP-AES : Spectrométrie d'Emission Atomique Couplée à un Plasma Inductif
ICP-MS : Spectrométrie de Masse Couplée à un Plasma Inductif
MALLS : Diffuseur de Lumière Laser Multi-Angle
MEB : Microscopie Electronique à Balayage
MET : Microscopie Electronique à Transmission
PFPD : Détecteur à Photométrie de Flamme **P**ulsée
SEC : Chromatographie d'Exclusion Stérique
UF : Ultra-filtration
UV : Spectrophotomètrie Ultra-Violet
XANES : Spectroscopie de structure près du front d'absorption de rayons X

Organismes :

Andra : Agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs
IAEA : Agence international de l'Energie Atomique
IUPAC : Union Internationale de Chimie Pure et Appliquée
INRA : Institut National de la Recherche Agronomique
IPREM : Institut Pluridisciplinaire de Recherche sur l'Environnement et les Matériaux
IRSN : Institut de Radioprotection et de Sûreté Nucléaire
LCABIE : Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement

Autres abréviations :

CEC : Capacité d'Echange Cationique
CSE : Complexe de Sphère Externe ;
CSI : Complexe de Sphère Interne
Eh : potentiel d'oxydo-réduction
F_O : Facteur d'oxydation
F_R : Facteur de réduction
Ft : Facteur de transfert sol/plante d'un élément
GC : Gradient de concentration
GP : Gradient de pH
HAVL : Déchets radioactifs à Haute Activité et à Vie Longue
I : Intensité d'un signal
Kd : Coefficient de distribution solide/liquide d'un élément
L.D. : Limite de Détection
L.Q. : Limite de Quantification
n.d. : non déteminé
OPE : Observatoire Pérenne de l'Environnement (OPE)
pH_{PZC} : point isoélectrique
r_g : rayon de giration

CONTEXTE DE L'ETUDE ET OBJECTIF GENERAL

Le sélénium (Se) est un élément trace essentiel pour les humains et les animaux (Tinggi, 2003). Il est notamment incorporé dans l'acide aminé séléno-cystéine intervenant dans le site actif d'un grand nombre d'enzymes impliquées dans la lutte contre le stress oxydatif (glutathions peroxydases), dans le métabolisme hormonal de la thyroïde (enzymes déiodinases) ou encore dans le contrôle redox des réactions intracellulaires (thiorédoxines-réductases) (Rayman, 2000). Il a également été montré qu'il pouvait constituer un agent préventif du cancer (Tapiero et al., 2003) et de maladies inflammatoires (Ducros et Favier, 2004). Les carences en Se entraînent des maladies cardiovasculaires et neuro-dégénératives (maladies de Keshan ou de Kashin-Beck), qui ont été, dans le passé, responsables de la mort de 10 millions d'habitants de la province d'Heilongjihang (Chine) en un siècle (Chen et al., 1980 ; Yang et al., 1984). Une analyse de Se dans des sols de cette région a montré un appauvrissement important et donc un apport alimentaire journalier (≤10 µg $jour^{-1}$) au minimum 5 fois plus faible que la dose journalière recommandée (50 à 80 µg $jour^{-1}$) (Peng et al., 1992). A partir de 1978, une supplémentation systématique en sélénite de sodium a permis l'éradication presque totale de la maladie (Cheng et Qian, 1990). Dans cette optique, les doses journalières recommandées sont de l'ordre de 55 µg kg^{-1} (Goldhaber, 2003). Cependant, Se devient toxique dès que l'ingestion quotidienne dépasse 350 µg kg^{-1} (Goldhaber, 2003). A l'opposé de ces quelques exemples démontrant le caractère essentiel de Se, sa toxicité dans l'environnement a déjà été montrée. Par exemple, aux Etats-Unis, dans la réserve naturelle « Kesterson Reservoir » (Vallée de San Joaquin, Californie), des baisses de la reproduction, des malformations et des cas de mortalité ont été mis en évidence sur les animaux (poissons, oiseaux) et ont été corrélés aux fortes teneurs en Se dans les sols (>5 mg kg^{-1}) et les eaux (≈330 µg L^{-1}) (Lemly, 2002 ; Hamilton, 2004 ; Wu, 2004).

L'aspect toxicité de Se devient prédominant dans le cadre de la problématique de la gestion des déchets nucléaires. En effet, son radio-isotope de longue vie, ^{79}Se (émetteur β ; période radioactive = $3{,}3.10^{5}$ ans ; Jörg et al., 2010), est un produit de fission de l'uranium 235 (production 0,049 % ; Nichols et al., 2008). Il est ainsi présent dans le combustible usagé et les déchets radioactifs provenant de son retraitement, appartenant à la catégorie des déchets les plus virulents, c'est-à-dire les déchets radioactifs à Haute Activité et à Vie Longue (HAVL). Aujourd'hui en France, ces derniers sont entreposés sur les sites de retraitement de La Hague (50) et de Marcoule (30). Ils sont vitrifiés, c'est-à-dire incorporés dans un verre spécial qui piège les radioéléments. Ces blocs de verre sont enfermés dans des containers en acier entreposés dans des puits bétonnés. Une solution adaptée à la gestion à long terme de ces déchets HAVL a donc dû être élaborée pour empêcher toute émission ou dissémination de matières radioactives et ainsi, protéger l'environnement et l'homme de leurs effets radioactifs et chimiques.

La loi Bataille du 30 décembre 1991, reprise dans l’article L.542 du Code de l’environnement, stipule la mission, confiée à l’Agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs (Andra), d’évaluer la possibilité d’un stockage des déchets radioactifs HAVL en formations géologiques profondes. La sécurité du stockage repose sur une succession de barrières imperméables : le colis de déchets (composé du déchet, du verre qui le stabilise et de l’emballage), la barrière ouvragée (alvéole en acier + béton) interposée entre le colis et la roche et la barrière géologique (roche).

La région de Meuse/Haute-Marne a été sélectionnée pour ce stockage car elle présente une formation argileuse (argilite du Callovo-Oxfordien, Bassin parisien) répondant à de nombreux critères de sûreté. L'argile présente notamment des propriétés favorables pour piéger et retenir les substances radioactives sur de longues durées. La couche du Callovo-Oxfordien est régulière et homogène sur une grande surface (absence de faille), suffisamment profonde (entre -420 et -550 m) pour mettre les déchets à l'abri des agressions diverses et présente des circulations d’eau lentes et réduites. Les résultats obtenus au niveau du laboratoire souterrain construit depuis 1999 mettent en évidence la faisabilité d'un stockage dans cette formation argileuse du Callovo-Oxfordien, ainsi que sur une zone de 250 km² à proximité de ce laboratoire souterrain (Andra, 2005).
Pour compléter cette étude de faisabilité, l’Andra doit également estimer les risques de franchissement des différentes barrières par les radioéléments et les conséquences de cette émission/dissémination potentielle au sein de la biosphère. Deux approches complémentaires sont menées pour évaluer les conséquences liées à une contamination de la biosphère par les radionucléides :

- Un observatoire pérenne de l'environnement (OPE) a été mis en place par l'Andra sur le site de Meuse/Haute-Marne afin d’assurer le suivi et la surveillance de l'environnement dès la construction des installations de stockage et ce durant au moins un siècle. Actuellement, il permet d'établir l’état initial de l’environnement, état qui sera intégré au dossier de demande d’autorisation de création du centre de stockage réversible en profondeur et de comprendre, entre autres, la relation homme-écosystèmes et l’évolution des écosystèmes dans le temps au niveau de cette région.
- Des modèles mathématiques sont utilisés pour prédire la dispersion des polluants métalliques et des radionucléides dans l’environnement sur une longue échelle de temps (≈10 000 ans). Ils utilisent des paramètres qui sont déterminés expérimentalement et qui représentent le comportement global de l’élément dans les différents compartiments des écosystèmes (sol, solution de sol, plantes, végétaux, etc.) ou à leur interface. Par exemple,

le paramètre utilisé pour le système sol est le coefficient de distribution solide/liquide (Kd) et pour l'interface sol/plante, il s'agit du coefficient de transfert (Ft) du sol vers la plante.

Dans le cadre des analyses de sûreté, Se est reconnu comme prioritaire car il fait partie des éléments susceptibles d'être remobilisés dans l'environnement. Le scénario pessimiste généralement considéré implique le relargage de ses formes oxydées (Se(IV) et Se(VI)) dans les nappes phréatiques proches du site de stockage, suivi de leur remobilisation dans les sols de surface par pompage des eaux de nappes pour l'irrigation des champs et des jardins (Figure 1 ; Andra, 2005).

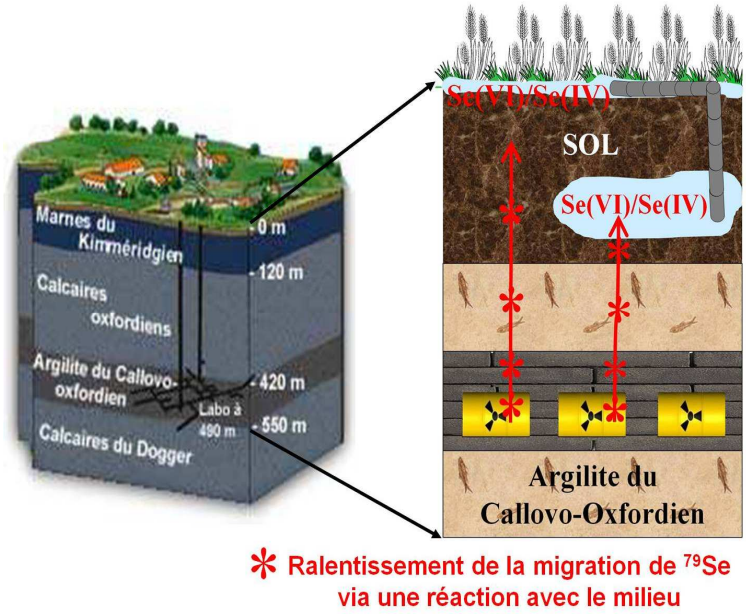


Figure 1. Scénarii de contamination de la biosphère en Se dans le contexte du stockage des déchets radioactifs à Haute Activité et à Vie Longue en formation géologique profonde

Il est donc nécessaire de comprendre et d'estimer les processus et facteurs impliqués dans la rétention et l'accumulation de Se dans les sols de surface, ainsi que ceux affectant sa remobilisation et son transfert vers les autres compartiments de la biosphère (eaux de surface et souterraines, végétaux). Les travaux de recherche menés dans le cadre de cette thèse ont été réalisés dans ce contexte et ont été financés par l'Andra.

Le chapitre A qui suit cette introduction est une synthèse bibliographique ayant pour objectif un bilan des connaissances et des incertitudes actuelles sur le cycle de Se dans les sols. Les avantages et inconvénients des outils analytiques et méthodologies expérimentales généralement utilisés pour comprendre le comportement de Se dans les sols sont ensuite comparés. Des méthodologies ayant montré leur efficacité pour l'étude d'autres matrices (eaux, échantillons biologiques) et/ou

d’autres éléments traces (Hg, Sn, etc.) y sont également présentées. A la fin de ce chapitre, les questions scientifiques auxquelles l'ensemble du travail de recherche mené a tenté de répondre sont précisées.

Que ce soit dans le cadre de l'OPE ou de la modélisation mathématique des risques, il est nécessaire d'évaluer les processus et facteurs affectant la rétention/remobilisation de Se lorsqu'il est présent à l'état de traces ($\mu g\ kg^{-1}$; contamination radiologique) et en intégrant toute la complexité du système « sol ». Cette problématique requiert une méthodologie analytique et expérimentale permettant, en plus de déterminer le paramètre d'intérêt pour l'Andra, (distribution solide/liquide, Kd), de préciser les phases de rétention de Se et d'identifier ses espèces chimiques. Ce dernier point a été peu exploré bien que les différentes espèces séléniées aient des comportements différents en termes de rétention/remobilisation. Le chapitre B concerne donc, dans un premier temps (Partie I), le développement d’une méthodologie permettant la détermination de la spéciation géochimique de Se, c'est-à-dire la répartition de ses espèces dans les sols. Il est présenté dans l'article « Selenium speciation analysis at trace level in soils » paru dans le journal « *Analytica Chimica Acta* ». Une étude complémentaire a ensuite été réalisée (Partie II) afin d'explorer la part de Se associé à la fraction colloïdale, du fait du rôle important de cette phase dans le transport et la disponibilité des métaux et métalloïdes pour les organismes vivants.

Deux stratégies d’investigation ont ensuite été menées, en appliquant cette méthodologie, pour préciser les relations entre les caractéristiques des sols et la mobilité/spéciation de Se, et explorer les cinétiques des processus impliqués dans la rétention/remobilisation à court et long terme. Ces deux stratégies d'investigation et les résultats qui leurs sont associés sont exposés au sein du chapitre C sous forme d'articles. Le premier article présenté est « Speciation and mobility of native selenium in soils: a focus on its interactions with soil organic matter », en préparation pour soumission dans le journal « *Geochimica et Cosmochimica Acta* ». La seconde étude est présentée dans l'article « Tracing differential reactivity of native and freshly added Se in soils using stable isotopically enriched selenite » en préparation pour soumission dans le journal « *Environmental Science and Technology* ».

Une conclusion générale est réalisée à la fin du manuscrit pour synthétiser les apports de ces travaux et faire émerger les questions soulevées par les résultats obtenus, d’un point de vue méthodologie et compréhension du cycle de Se dans les sols. Des propositions pour des recherches futures y sont également exposées.

CHAPITRE A.

ETAT DE L’ART ET

PROBLEMATIQUES SCIENTIFIQUES

Afin de situer Se dans un contexte plus global que le système « sol », ce chapitre commence par une présentation rapide de ses sources dans l'environnement, ainsi que des concentrations et espèces chimiques rencontrées dans les différents compartiments des milieux continentaux.

I. Le sélénium en milieu continental

I.1. Sources et concentrations

Se est un élément trace présent naturellement dans l'écorce terrestre avec une concentration moyenne allant de 0,03 à 0,8 mg kg^{-1} (Tamari, 1998). A l'échelle de la planète, les roches représentent la première source de Se (Neal, 1995 ; Fernández-Martínez et Charlet, 2009) avec des teneurs variables selon leur nature, les roches sédimentaires (schistes, calcaire, grès) étant les plus riches en Se (Tableau 1).

Tableau 1. Concentrations moyennes en Se dans les roches

	[Se] (mg kg^{-1})	Références
Croûte terrestre	0,03 - 0,8	[1]
Roches éruptives (granites, basaltes)	0,01 - 0,05	[2-3]
Roches volcaniques	0,35	[2]
Calcaires	0,03 - 2	[2 ; 4]
Calcaires carbonacés (Chine)	30	[4]
Schistes sédimentaires	0,05 - 0,06	[2]
Schistes sédimentaires carbonacés (Chine)	206 - 280	[2]
Schistes sédimentaires (USA)	1 - 675	[2]
Roches phosphatées	1 - 300	[2]
Grès	0,05 - 1	[3 ; 4]
Argiles	0,4 - 0,6	[3]

[1] (Tamari, 1998) ; [2] (Fernández-Martínez et Charlet, 2009) ; [3] (Séby, 1994) ; [4] (Simonoff et Simonoff, 1991)

Ainsi, les concentrations en Se dans les sols dépendent fortement de ses concentrations dans les roches mères d'origine. Par exemple, des teneurs élevées en Se, pouvant atteindre 100 voire 1000 mg kg^{-1}, ont été observées pour les sols, dérivés du calcaire du Précambrien, riches en composés organiques (Chine ; Ihnat, 1989), et pour ceux dérivés de schistes sédimentaires du Crétacé et du Tertiaire (Vallée de San Joaquin en Californie ; Tokunaga et al., 1991 ; Zawislanski et Zavarin, 1996 ; Martens et Suarez, 1997 a). Il existe donc des zones géographiques dites sélénifères avec des teneurs en Se dans les sols pouvant atteindre 1200 mg kg^{-1} (USA, Irlande, une partie de la Chine) et d’autres dites séléniprives, où les concentrations sont inférieures à 0,1 mg kg^{-1} (Europe, en particulier les pays Scandinaves ; une partie de la Chine).

Le sélénium apparaît dans les eaux naturelles superficielles et souterraines, comme le résultat de procédés biogéochimiques tels que l'érosion des sols et des roches. Il est généralement à l'état de traces, entre 0,05 à 10 µg L^{-1}, mais peut atteindre des concentrations plus élevées (>100 µg L^{-1}) dans les zones sélénifères. C'est le cas des sites de Kesterson (Vallée de San Joaquin, Californie, USA) et de Kendrick (Wyoming, USA) où les sols contiennent de fortes teneurs (>1 mg kg^{-1}) en Se naturel (Zawislanski et Zavarin, 1996 ; Martens et Suarez, 1997 a ; Ramirez et Rogers, 2002). De plus, ce sont des régions où l'agriculture est intense. L'altération des roches et des sols et le transfert de Se vers les eaux sont ainsi accentués par les pratiques d'irrigation.

Au sein des végétaux, la concentration moyenne en Se varie dans la gamme 0,1 - 15000 mg kg^{-1} selon la concentration en Se dans les sols et la capacité de l'espèce à absorber, accumuler et métaboliser Se (Coughtrey et al., 1983). Il existe :

- des plantes hyperaccumulatrices qui ne poussent que dans des sols très riches en Se et accumulent entre 1000 et 15000 mg kg^{-1}, comme *l'Astragalus* (Brown et Shrift, 1981), *l'Oonopsis condensata* et *Stanleya pinnata* (Fox et al., 2002).
- des plantes accumulatrices secondaires qui poussent dans des sols avec des teneurs en Se variables et qui peuvent accumuler 30 à 1000 mg kg^{-1}, comme les céréales, certaines plantes de la famille des crucifères (colza, brocoli), et des espèces d’*Allium* telles que l'ail et l'oignon (Terry et al., 2000 ; Montes-Bayón et al., 2006).
- des plantes non accumulatrices qui contiennent moins de 30 mg kg^{-1}. C'est le cas de la plupart des plantes utilisées pour l'alimentation animale et humaine (fourrage, légumes, fruits, etc.) qui contiennent entre 0,1 et 0,5 mg kg^{-1} (Terry et al., 2000).

L'atmosphère est une autre source importante de Se, avec environ 8600 à 19000 tonnes émises chaque année dans l’atmosphère (Ross, 1985 ; Mosher et Duce, 1987 ; Nriagu, 1989). Elle est à la fois d’origine naturelle et anthropique (Tableau 2).

Tableau 2. Sources naturelles et anthropiques d’émission atmosphérique de Se

Naturelles	Formation d’aérosols (océans)	40 - 400 tonnes de Se an^{-1}	[1-3]
	Biométhylation (océans)	5000 -8000 tonnes de Se an^{-1}	[1-3]
	Biométhylation (continents)	700 - 3600 tonnes de Se an^{-1}	[1 ; 3]
	Emanation volcanique	300 - 1000 tonnes de Se an^{-1}	[4]
Anthropiques	Combustion du charbon	50 % du flux anthropique de Se atmosphérique	[5]
	Industries de raffinage des métaux	25 % du flux anthropique de Se atmosphérique	[1]

[1] (Mosher et Duce, 1987) ; [2] (Nriagu, 1989) ; [3] (Wen et Carignan, 2007) ; [4] (Bourrelier et Berthelin, 1998) ; [5] (Yudovich et Ketris, 2006)

D’un point de vue mondial, la première source d'émission atmosphérique de Se est d'origine naturelle et représente 60 % de l'émission totale (Mosher et Duce, 1987). Par contre, au niveau de l’hémisphère Nord, où se situent principalement les activités anthropiques, l’inverse est observé puisque 67 à 79 % sont d'origine anthropique (Ross, 1985). Le sélénium émis de façon naturelle dans l'atmosphère provient essentiellement des océans (60 à 80 % de Se atmosphérique émis naturellement) (Mosher et Duce, 1987 ; Nriagu, 1989 ; Wen et Carignan, 2007), le reste étant apporté par la production de composés volatils issue des continents (biométhylation par les micro-organismes des sols, des eaux douces et par les plantes) et l’émanation volcanique. La combustion du charbon est la principale source d’émission anthropique de Se atmosphérique (Yudovich et Ketris, 2006), suivie par les industries de raffinage des métaux (Mosher et Duce, 1987). Il est principalement émis sous formes SeO_2(g), SeO(g), et Se(0) au sein de particules fines (Yan et al., 2001). Les facteurs d'enrichissement de Se dans le charbon (Se dans charbon/Se dans les sols et couches minérales environnantes) font partie des plus élevés de tous les éléments traces et peuvent dépasser 65 (Lemly, 2004). Se atmosphérique est transporté et déposé sur les continents et les océans par voie sèche (dépôt de particules) ou par voie humide (solubilisation des particules de Se par les précipitations). Cette dernière est la principale voie de déposition de Se, représentant environ 80 % du dépôt total (Ross, 1985 ; Haygarth et al., 1991).

La production d'énergie à partir du charbon n'est pas seulement à l'origine d'une contamination en Se via l'atmosphère. Par exemple, entre 1974 et 1986, une usine de combustion de charbon a

relargué entre 150 et 200 µg L^{-1} de Se dans le lac de Belews (Caroline du Nord, USA), entraînant la disparition de 19 espèces de poissons (Lemly, 1999, 2002). D'autres sources anthropiques sont, dans une moindre mesure, à l'origine du relargage de Se dans l'environnement sous différentes formes (liquide, particulaire ou gazeuse) : exploitation des mines, principalement de phosphates, de Ag, Ni, Cu et Zn ; décharges municipales ; fertilisation à des fins agricoles avec engrais contenant Se ; processus industriels (verres, métaux, papiers, composés électroniques, pigments) (Lemly, 2004). Cependant, les flux de Se associés à ces activités anthropiques sont peu étudiés car sa toxicité est considérée comme moins préoccupante que celle d'autres métaux et métalloïdes, en particulier le mercure, l'arsenic et l'étain (Lemly, 2004).

Les différentes sources mènent à une répartition très hétérogène de Se à l'échelle du globe terrestre (Figure 2).

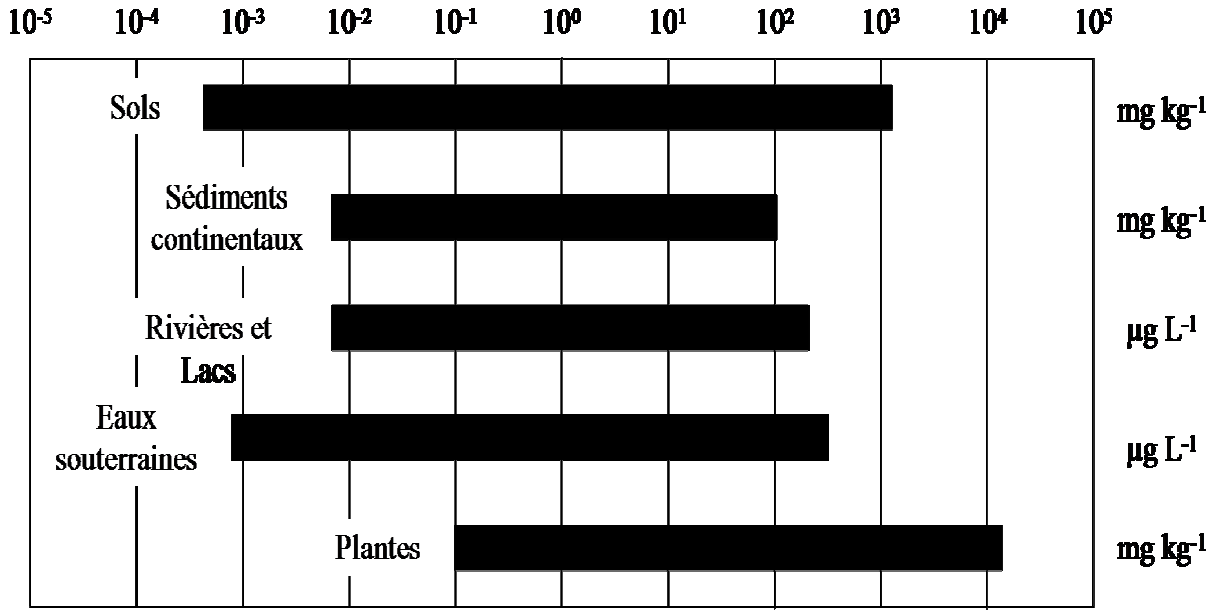


Figure 2. Gammes étendues des concentrations en Se total dans les différents compartiments continentaux

I.2. Spéciation

Dans les différents compartiments continentaux, le sélénium peut exister sous plusieurs états d'oxydation et sous formes inorganiques et organiques (Tableau 3). Les formes organiques séléniées (-II, -I) proviennent des réductions biologiques ayant lieu lors de la méthylation (diméthylséléniure, diméthyldiséléniure) ou lors de l'assimilation dans la biomasse (formations d'acides aminés séléniés et de métabolites).

Tableau 3. Principales formes chimiques de Se présentes en milieu continental

	Noms	Formes chimiques	Lieu/origine
Formes inorganiques			
Se(VI)	Séléniate	$HSeO_4^-$ / SeO_4^{2-}	Eaux, sols et sédiments
Se(IV)	Sélénite	H_2SeO_3 / $HSeO_3^-$ / SeO_3^{2-}	
Se(0)	Sélénium élémentaire	Se^0	
Se(-II)	Séléniure	Se^{2-}	Minéraux riches en Se (minéraux soufrés comme la pyrite) ; Précipités avec des métaux (Fe, Mn) dans les eaux, les sols et les sédiments
Se(-II)	Séléniure d'hydrogène	H_2Se	Composé volatil susceptible d'être formé lors de la biométhylation bactérienne et fongique dans les sols
Formes organiques : *formes méthylées*			
Se(-II)	Méthylsélénol	CH_3-SeH ; volatil	Composés formés lors de la biométhylation par les organismes vivants (bactéries, champignons, végétaux) au niveau des sols, des eaux continentales
Se(-II)	Diméthylséléniure	CH_3-Se-CH_3 ; volatil	
Se(-I)	Diméthyldiséléniure	CH_3-Se-Se-CH_3 ; volatil	
Se(-II)	Ion triméthyl-sélénonium	$(CH_3)_3$-Se^+ ; non volatil	
Formes organiques : *acides aminés*			
Se(-I)	Séléno-cystine	COOH-$CH(NH_2)$-Se-Se-CH_2-$CH(NH_2)$-COOH	Formes chimiques prédominantes dans les tissus des mammifères
Se(-II)	Séléno-cystéine	HSe-CH_2-$CH(NH_2)$-COOH	
Se(-II)	Séléno-méthionine	CH_3-Se-CH_2-CH_2-$CH(NH_2)$-COOH	Forme chimique prédominante dans les tissus des plantes et dans les levures
Formes organiques : *métabolites*			
Se(-II)	Se-méthylséléno-méthionine	$(CH_3)_2$-Se-CH_2-CH_2-$CH(NH_2)$-COOH	Formes chimiques intervenant dans le métabolisme de Se dans les plantes
Se(-II)	Se-méthylséléno-cystéine	CH_3-Se-CH_2-$CH(NH_2)$-COOH	
Se(-I)	Sélénocystamine	NH_2-CH_2-CH_2-Se-Se-CH_2-CH_2-NH_2	
Se(-II)	Sélénocystathionine	COOH-$CH(NH_2)$-CH_2-Se-CH_2-CH_2-$CH(NH_2)$-COOH	
Se(-II)	Sélénohomocystéine	HSe-CH_2-CH_2-$CH(NH_2)$-COOH	
Se(-II)	Se-adénosylséléno-homocystéine	NH_2-$C_4H_5O_3C_5N_4$-NH_2-CH_2-Se-CH_2-CH_2-$CH(NH_2)$-COOH	

- ✓ *Eaux*

Dans les eaux douces, le sélénium existe principalement sous forme inorganique. Se(VI) et Se(IV) sont les espèces majoritaires dans les eaux de surface, en conditions oxydantes à modérément oxydantes. Les formes réduites, Se(-II) et Se(0), sont essentiellement présentes dans les eaux anoxiques (Robberecht et al., 1982 ; Cutter, 1982). Certains composés organoséléniés, à savoir l'ion triméthylsélénonium ($TMSe^+$) (Oyamada et Ishizaki, 1986 ; Tanzer et Heumann, 1991), le diméthylséléniure (DMSe) et le diméthyldiséléniure (DMDSe) (Gómez-Ariza et al., 1999), ou encore la séléno-cystine (SeCys) (Bueno et Potin-Gautier, 2002), ont également été observés dans des eaux naturelles de rivières et lacustres ainsi que dans les eaux souterraines. Ils sont présents en faible quantité (<0,4 µg L^{-1}) et proviennent des transformations des espèces inorganiques par les organismes vivants, principalement les micro-organismes et les plantes (Cutter, 1982 ; Cutter et Bruland, 1984).

- ✓ *Roches-sols-sédiments*

Dans les roches, Se est concentré sous forme de Se(-II) dans les minéraux soufrés tels que la pyrite (FeS_2), la galène (PbS) ou encore la chalcopyrite ($CuFeS_2$) (Simonoff et Simonoff, 1991). Le relargage de Se, dans les sols et les sédiments, par altération des roches mères provient principalement de l'oxydation des minéraux soufrés contenant Se(-II) (Matamoros-Veloza et al., 2011) et peut se faire sous les formes Se(VI) et Se(IV) (Kulp et Pratt, 2004).

Pour les sols et les sédiments, les espèces séléniées présentes sont souvent prédites à partir, des conditions de potentiel-redox (Eh) et de pH, et des données thermodynamiques acquises en milieux aqueux (Diagramme Eh-pH ; Figure 3).

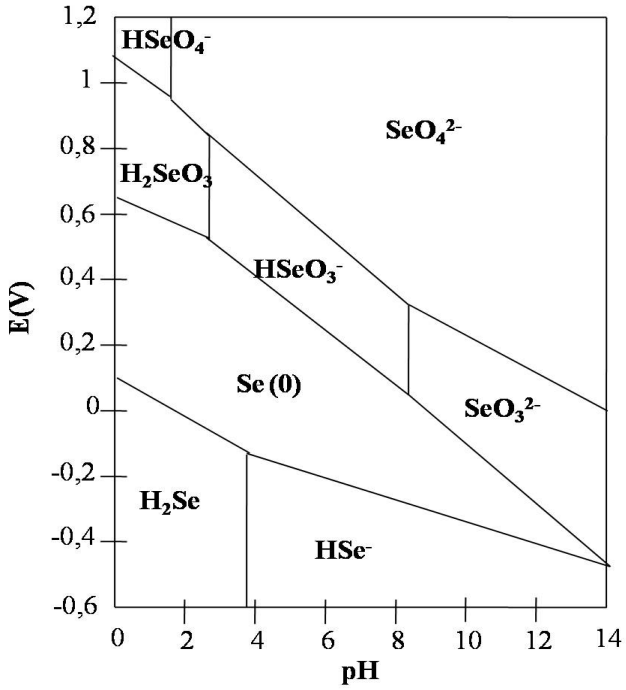


Figure 3. Diagramme Eh-pH de Se en milieu aqueux pour une activité de 10^{-7} mol L^{-1} (25°C , P=1 bar ; Séby et al., 1998)

Les quelques analyses de spéciation réalisées indiquent que, pour la plupart des sols de surface (sols aérés), Se(IV) et Se(VI) sont les espèces prédominantes (Tokunaga et al., 1991 ; Séby et al., 1997 ; Martens et Suarez, 1997 a ; Bujdoš al., 2000). Les espèces réduites Se(0) et Se(-II) sont les espèces qui prédominent dans les conditions réductrices des sols saturés en eau et riches en matière organique (Gustafsson et Johnsson, 1994 ; Zhang et al., 1999 a).

Dans les sédiments, Se est essentiellement présent sous forme réduite, Se(0) et Se(-II) (Zhang et Moore, 1996 ; Martens et Suarez, 1997 b ; Sappington, 2002; Zhang et Frankenberger, 2003). En ce qui concerne les espèces oxydées Se(IV) et Se(VI), elles sont généralement présentes en plus grande quantité à la surface des sédiments (0-5 cm) qu'en profondeur (Zhang et Moore, 1996 ; Martens et Suarez, 1997 b).

Comme dans les eaux, la présence de composés organiques de Se issus d'activités biologiques a été mise en évidence dans les sols et les sédiments (Zhang et Moore, 1996 ; Martens et Suarez, 1997 b). Ainsi, pour quelques sols et sédiments, des espèces organo-séléniées ont été identifiées : la séléno-méthionine (sols ; Abrams et al., 1990), la séléno-cystine (sols ; Pickering et al., 1995) et la séléno-urée (sédiments ; Ochsenkühn-Petropoulou et al., 2003).

D'après les travaux relatifs à la spéciation de Se dans les eaux, les sols et les sédiments, il semble que les données thermodynamiques acquises en milieu aqueux (Figure 3) permettent, à partir du

Eh et du pH, de prévoir les espèces inorganiques de Se majoritairement présentes dans ces compartiments continentaux. Le diagramme Eh-pH ne permet cependant pas de prédire toutes les espèces séléniées présentes puisqu’il ne prend pas en compte les espèces organiques. De plus, même si une espèce inorganique est thermodynamiquement instable dans les conditions de Eh-pH du milieu à un instant donné, elle peut

- persister du fait des cinétiques lentes des réactions abiotiques d'oxydo-réduction de Se.
- provenir de processus abiotiques réalisés sur une zone locale ou, de processus biotiques.

Ces différents processus seront détaillés pour les sols dans le paragraphe II.2.

✓ *Atmosphère*

Les espèces séléniées émises dans l'atmosphère, sous forme de SeO_2(g) et SeO(g) ou sous forme méthylée, sont rapidement piégées dans les particules atmosphériques. SeO_2(g) et SeO(g) sont liés aux particules de taille comprise entre 20 et 50 µm (Cutter, 1993) tandis que les composés méthylés sont généralement associés à des particules de taille inférieure au micromètre (Haygarth et al., 1991 ; Haygarth, 1994). Le sélénium particulaire est solubilisé et oxydé en Se(IV) et Se(VI) lors d'épisodes de précipitations qui représentent la principale voie de dépôt de Se atmosphérique sur les sols et les eaux de surface (Ross, 1985 ; Haygarth et al., 1991 ; Haygarth, 1994).

✓ *Plantes*

A partir des sols, des eaux et dans une moindre mesure, de l'atmosphère, les plantes sont capables d'incorporer le sélénium, majoritairement lorsqu'il est présent sous formes Se(IV) et Se(VI), et de le métaboliser (Bańuelos et al., 2002 ; Fox et al., 2002 ; Lin et al., 2002). Cette métabolisation suit des voies similaires à celle du soufre par utilisation des mêmes enzymes (Terry et al., 2000). Après absorption, les séléniates sont transportés jusqu'aux chloroplastes via la voie des sulfures. Ils sont transformés en adénosine 5’-phosphoséléniate par l’Adénosine Tri Phosphate (ATP) sulfurylase. Cette étape peut être une étape limitant l’assimilation de Se(VI) par les plantes (De Soueza et al., 1998). L’adénosine 5’-phosphoséléniate formée est ensuite réduite en sélénite (Se(IV)) puis en séléniure (Se(-II)) en présence de glutathion (GSH). La résultante de ces mécanismes est la production d’acides aminés séléniés, comme la séléno-méthionine (SeMet) et la séléno-cystéine (SeCyst), qui sont ensuite incorporés dans les protéines (Figure 4).

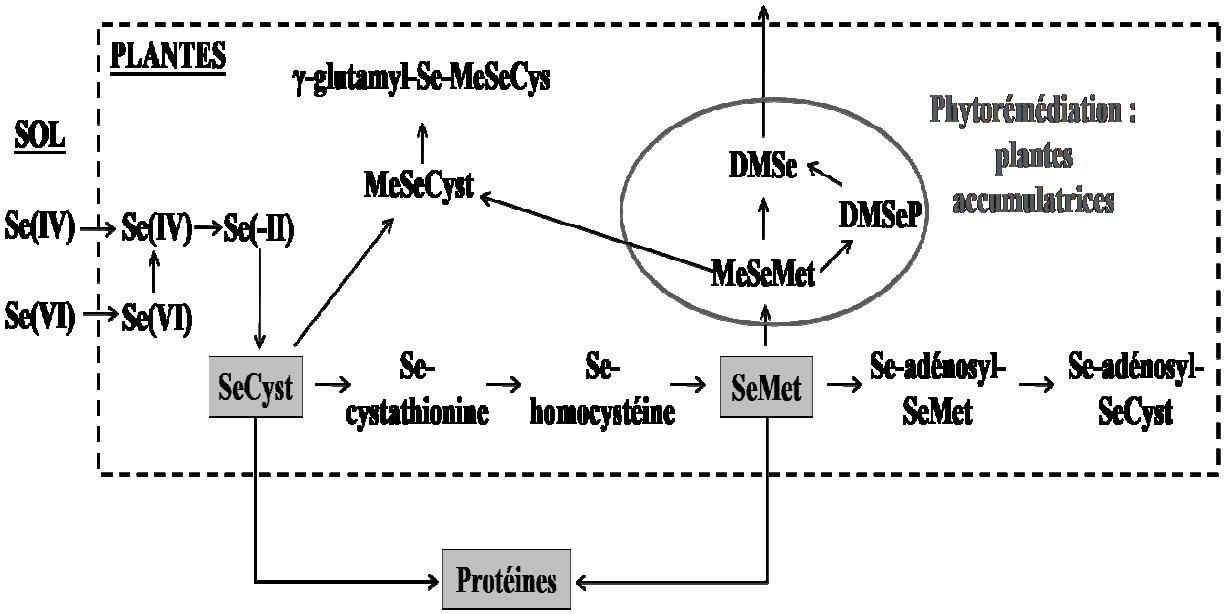


Figure 4. Représentation schématique simplifiée du métabolisme de Se chez les plantes (Klein, 2010)

*MeSeCyst : méthylséléno-cystéine ; MeSeMet : méthylséléno-méthionine ; DMSeP : diméthylsélénio*propionate

Pour les plantes, il n'existe pas, comme chez les animaux, de codon spécifique pour l'incorporation des acides aminés séléniés dans les protéines. Ces derniers rentrent donc en compétition avec leurs analogues soufrés. Par exemple, dans le cas des céréales, la séléno-méthionine est incorporée en compétition avec la méthionine (Hartikainen, 2005). Suite à une série d'étapes biochimiques, une partie du sélénium est transformée en espèces méthylées volatiles, en particulier chez les plantes accumulatrices (Chasteen et Bentley, 2003 ; Figure 4). Cette volatilisation est considérée comme un processus de détoxication. Le produit principal est le diméthylséléniure (DMSe) qui peut être formé à partir de la méthylsélénométhionine ou à partir du diméthylsélénopropionate (DMSeP).

I.3. Bilan : Cycle du sélénium en milieu continental et importance du compartiment « sol »

Les informations précédemment reportées, ont permis de schématiser le cycle du sélénium en milieu continental (Figure 5).

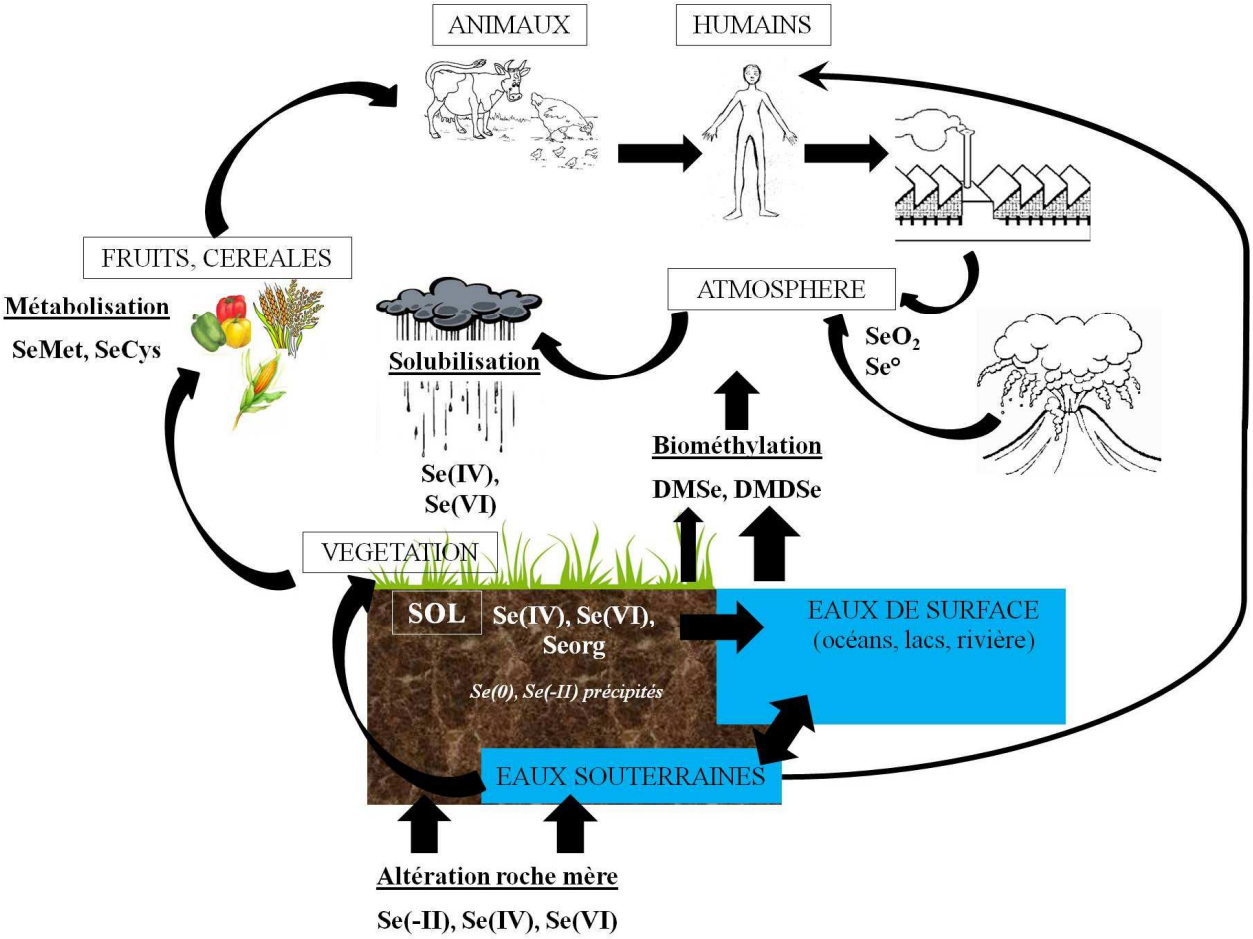


Figure 5. Représentation schématique du cycle de Se en milieu continental

Cette représentation schématique montre que le compartiment « sol » fait le lien entre les sources de Se dans l'environnement (altération des roches ; déposition de Se atmosphérique naturel et anthropique) et les végétaux, qui représentent la voie d'exposition essentielle de Se pour les animaux et les hommes, suivie de l'exposition par l'eau et enfin par l'air (Simonoff et Simonoff, 1991 ; Barclay et al., 1995). Il est donc indispensable d'étudier le devenir de Se dans le système « sol » pour prédire les risques chimiques liés à cet élément (carence ou toxicité) pour les animaux et les hommes.

II. Réactivité du sélénium dans les sols

La teneur en Se total des sols n'est pas une information suffisante pour prédire les risques liés à cet élément (carence ou toxicité). En effet, dans la province de Zhangjiakou (Chine), les individus sujets aux carences en Se et aux maladies associées vivaient à proximité des sols les plus riches en Se de la région (Johnson et al., 2000). Cette constatation donne une belle démonstration de la nécessité de :

- comprendre les transformations chimiques (changement de spéciation) que Se subit dans les sols, puisque ses différentes espèces ont des propriétés physico-chimiques spécifiques et donc des comportements différents (solubilité, interaction avec les constituants des sols).
- connaître les associations entre Se et les constituants des sols, regroupées sous le terme de « sorption », puisqu'elles vont être à l'origine de sa rétention et donc diminuer sa capacité à être transféré vers les eaux et à être prélevé par les végétaux.

Les transformations chimiques et les associations Se/constituants des sols dépendent de nombreux paramètres bio-physico-chimiques du sol, tels que le pH, le potentiel-redox, la nature de ses constituants ou encore l'activité microbienne.

II.1. Le système sol : un milieu complexe

Le sol est un milieu triphasique (solide, liquide, gaz) dans lequel une matrice solide complexe, constituée de phases minérales et organiques, alterne avec des pores dont certains sont occupés par de l'eau (solution de sol) et d'autres par de l'air. A ces trois phases, s'ajoute un compartiment vivant (Duchaufour, 2001).

- *La phase solide*

  - ✓ La fraction minérale

Si les sols contiennent encore une certaine quantité de minéraux hérités de la roche mère (minéraux primaires, tels que le quartz, la calcite), plus abondants dans les fractions « grossières » (>20 µm), ils sont surtout caractérisés par la présence de minéraux nouveaux (minéraux secondaires, tels que les oxydes, hydroxydes, argiles), qui constituent l'essentiel de la « fraction fine » (<20 µm) et résultent de la transformation biogéochimique de certains minéraux primaires.

Les oxydes et hydroxydes les plus abondants dans les sols sont la goethite (FeO(OH)) et l'hématite (Fe_2O_3), la gibbsite ($Al(OH)_3$) et dans une moindre mesure, la birnessite ($(Na_{0.3}Ca_{0.1}K_{0.1})(Mn^{4+},Mn^{3+})_2O_4 \cdot 1.5H_2O$) et la lithiophorite ($(Al_2Li)(OH)_2MnO_2$) (Duchaufour, 2001). Ces minéraux sont essentiels d'un point de vue réactivité du sol vis-à-vis de la sorption des métaux et métalloïdes. En effet, leurs sites de surface (≡ S-OH) étant amphotères, leur charge de surface dépend du pH. A pH acide, ils sont principalement sous forme protonée (≡ $S\text{-}OH_2^+$) conduisant ainsi à l'adsorption d'anions tels que le sélénite (SeO_3^{2-}) et le séléniate (SeO_4^{2-}). Plus le pH augmente, plus la charge de surface diminue jusqu'à devenir globalement nulle (point isoélectrique, pH = pH_{ZPC} ; Sposito, 1989). Pour des pH supérieurs à pH_{ZPC}, la charge globale est négative (≡ $S\text{-}O^-$), ce qui diminue la sorption des anions au profit de celle des cations (Sposito, 1989).

Les autres types de minéraux secondaires abondants dans les sols sont les argiles (kaolinite, smectites, illites). Ce sont des silicates d'aluminium dont la structure est sous forme de feuillet. Ils possèdent une charge globale permanente négative due à des substitutions isomorphiques d'ions dans leur structure (exemples, Al^{3+} pour Si^{4+}, Mg^{2+} ou Fe^{2+} pour Al^{3+}). Ces minéraux possèdent donc de fortes capacités de sorption des cations (Duchaufour, 2001). Cependant, la surface des argiles possède également quelques sites amphotères, tels que ≡ Si-OH et ≡ Al-OH, dont la charge est positive à pH acide, entraînant ainsi la sorption d'anions (Sposito, 1989).

- ✓ La fraction organique (MO)

Le sol représente la plus grande réserve de carbone organique à la surface de la terre, due aux apports répétés de matière organique fraîche (MOF). La MOF constitue la litière (organismes végétaux, animaux et microbiens en décomposition) qui se superpose au sol minéral (litières forestières) ou lui est incorporée (milieux cultivés). D'un point de vue moléculaire, la litière est constituée d'une grande diversité de composés allant des plus simples (sucres) aux plus complexes comme la lignine. Les molécules les plus simples sont rapidement métabolisées par les micro-organismes et souvent complètement transformées en composés minéraux solubles ou gazeux comme CO_2. Les composés les plus complexes sont en partie décomposés en molécules plus simples, à leur tour métabolisables, pouvant participer à la nutrition végétale ou microbienne et être prises en charge par les eaux circulant dans les sols. L'autre partie sert à l'édification de molécules nouvelles de plus en plus complexes (humification). Ces composés dits « humiques » se minéralisent à leur tour, plus lentement que les molécules de la MOF (sucres, acides aminés,

protéines, lipides) (Duchaufour, 2001). Ainsi, 80-90% de la MO des sols sont constitués de ces substances humiques (SH), macromolécules organiques formées de noyaux à structure condensée reliés entre eux par des chaînes aliphatiques (peptides, saccharides, alcanes) et des groupements fonctionnels (carboxyliques, phénoliques, hydroxyles).

Les SH peuvent être divisées en trois familles de composés, définies par leur solubilité. Les acides fulviques (AF) et les acides humiques (AH) sont solubilisés en milieu alcalin. Les AF restent solubles en milieu acide alors que les AH précipitent. Les humines sont les composés organiques du sol insolubles quelque soit le pH. La séparation entre ces trois types de SH est en fait basée sur des différences chimiques : plus le poids moléculaire et l'aromaticité des SH sont importants, moins les composés sont solubles. Ainsi, les SH forment une série continue qui évolue généralement dans le sens : AF – AH – Humines, par polymérisation progressive des noyaux, avec diminution relative des chaînes aliphatiques et des groupements fonctionnels (Duchaufour, 2001).
Aux pH environnementaux (5 à 8 en moyenne), les SH sont chargées globalement négativement et peuvent donc interagir avec de nombreux cations (Fe^{2+}, Cu^{2+}, Pb^{2+}, etc. ; Duchaufour, 2001). C'est pourquoi, contrairement aux cations, la sorption d'anions tels que les oxyanions séléniés par les SH ne semble pas prépondérante et est ainsi peu étudiée.

- ✓ Interactions entre les fractions minérale et organique

Dans les sols, les phases minérale et organique sont liées entre elles par des processus d'agrégation et/ou de sorption. Par exemple, les complexes argilo-humiques sont des micro-agrégats (taille « argile », environ 2 µm) très stables formés d'argiles minéralogiques et de substances humiques. Des macro-agrégats (>250 µm) peuvent être formés par association de différents complexes argilo-humiques liés entre eux et/ou par association de particules minérales (taille « limons », 20 à 50 µm) et de complexes argilo-humiques autour de MO particulaires (débris organiques) ou de micro-organismes.
L'agrégation est influencée par de nombreux facteurs, comme :

- la quantité de MO et sa qualité (type de composés organiques).
- la composition du matériau, notamment par les cations qu'il libère par altération. Par exemple, les ions calcium forment en particulier des complexes très stables avec les ciments des macro-agrégats.
- les micro-organismes qui jouent un rôle par leurs secrétions organiques.

- l'utilisation des sols. Par exemple, un travail excessif et mal conduit des sols détruit mécaniquement les macro-agrégats et accélère ainsi la minéralisation des ciments organiques, ce qui a pour effet de libérer les micro-agrégats (Duchaufour, 2001).

Les phases solides organique et/ou minérale, de par leurs groupements fonctionnels, peuvent sorber les métaux et métalloïdes tels que Se, les séquestrer sous forme stable au sein des agrégats, puis les relarguer dans les eaux circulant dans les sols suite à des modifications des conditions environnementales, comme par exemple une augmentation du pH et la désorption consécutive des oxyanions de Se adsorbés sur les minéraux.

- *La phase liquide*

Les précipitations donnent naissance à différentes « formes d'eau » dans les sols (Duchaufour, 2001) :

– l'eau de ruissellement superficielle ou « hypodermique » qui circule dans les horizons supérieurs parallèlement à la surface.
– l'eau de gravité qui, par la pesanteur, circule dans les pores grossiers et moyens (>10 µm), le plus souvent verticalement et parfois obliquement lorsqu'il y a une pente et que la perméabilité du sol diminue dans les horizons profonds. Cette eau de gravité alimente le drainage profond si le sol est perméable.
– l'eau retenue par le sol au sein de pores fins (<10 µm) grâce aux forces capillaires et d'adsorption suffisamment élevées pour s'opposer aux forces de gravité. Seule l'eau capillaire est absorbable par les racines, l'eau liée aux particules solides (eau d'adsorption) n'étant pas disponible.

L'ensemble des eaux de sol, en contact avec les phases gazeuse et solide, se charge en gaz dissous (O_2, CO_2), en substances minérales et organiques dissoutes, colloïdales (1 nm -1 µm) et/ou particulaires (>1 µm) (Duchaufour, 2001). Ainsi, elles véhiculent les substances nutritives (Na^+, Mg^{2+}, K^+, NO_3^-, Cl^-, etc.) nécessaires aux organismes vivants mais également les contaminants, au sein du système sol et vers les nappes phréatiques (eaux de gravité) et les eaux de surface (eaux de ruissellement).

- *La phase gazeuse*

L'atmosphère d'un sol bien aéré contient un peu moins de O_2 que l'atmosphère extérieure (18 à 20 %), mais plus de CO_2 (2 fois plus en moyenne, 0,3 à 5 %). La teneur en O_2 peut chuter à 2 % voire 0 % au voisinage des racines ou de résidus organiques en décomposition, au cœur des agrégats ou de zones saturées en eau et en profondeur si les horizons profonds minéraux sont mal structurés (échanges gazeux avec l'atmosphère terrestre difficiles). Inversement, la teneur en CO_2 peut atteindre 20 %, par exemple au voisinage des racines. L'atmosphère du sol contient également de l'azote et de la vapeur d'eau ainsi que d'autres gaz produits et/ou consommés biologiquement (NO, N_2O, NH_3, H_2 ou encore CH_4) (Duchaufour, 2001).

- *Les organismes vivants*

Le sol héberge une variété importante d'organismes vivants : de la macrofaune (vers de terre, insectes, araignées) à la microfaune (protozoaires, nématodes), la microflore (bactéries, actinomycètes, champignons et algues) et les racines des végétaux. L'ensemble de la faune du sol représente environ 10 à 15 % de la biomasse, le reste étant imputé à la microflore (Duchaufour, 2001).

Les activités des organismes vivants assurent le bon fonctionnement du sol et des écosystèmes par leurs activités complémentaires. Globalement, la macrofaune et la mésofaune renouvellent la structure du sol (organisation des particules, aération), régulant ainsi la distribution spatiale des ressources en MO et le transfert de l'eau, et créent des habitats pour les autres organismes. La microfaune contrôle la dynamique et l'activité de la microflore. Par exemple, la présence d'une diversité de prédateurs permet de limiter la prolifération de certains champignons ou bactéries pathogènes des cultures. Enfin, les bactéries et les champignons assurent les transformations chimiques, notamment la décomposition de la MO en éléments nutritifs assimilables par les plantes (N, P, etc.) et la formation des substances humiques, ce qui favorise l'aération des sols (formation d'agrégats) (Duchaufour, 2001).

La figure 6 illustre les interactions et les réactions bio-physico-chimiques possibles au niveau des différents compartiments des sols.

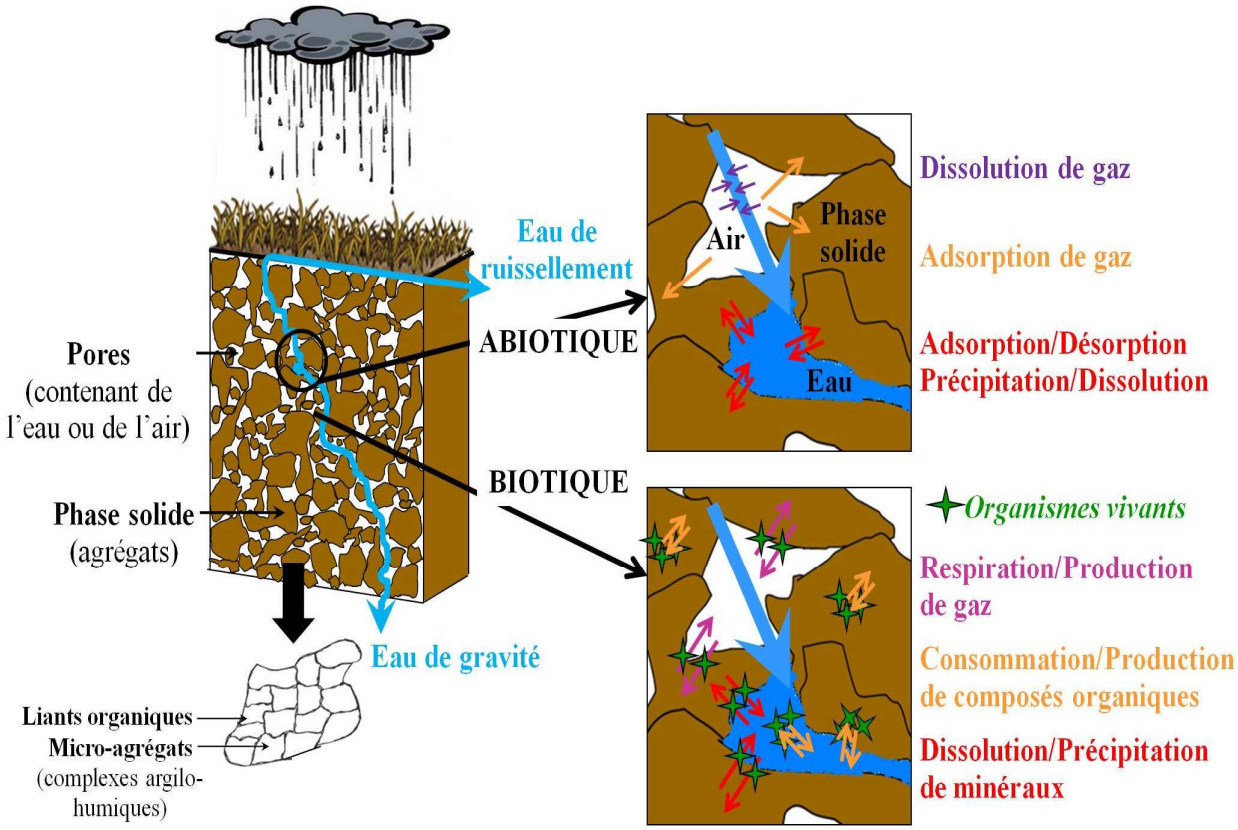


Figure 6. Représentation schématique des interactions entre les quatre compartiments constituant les sols (phases solide, liquide et gazeuse, organismes vivants)

Dans ce système complexe, les éléments traces tels que le sélénium subissent des transformations biochimiques (modification des espèces) et des transferts de phase (aqueuse-solide-gazeuse).

II.2. Transformations du sélénium

- *Les réactions d'oxydo-réduction*

Les sols et ses eaux interstitielles présentent une grande variabilité de potentiel redox (Eh) et de pH. Eh est généralement compris entre 0,1 et 0,4 V et le pH entre 4 et 9 (Sposito, 1989 ; Masscheleyn et Patrick, 1993 ; Duchaufour, 2001). Or, la répartition des espèces inorganiques de Se est fortement influencée par ces deux paramètres.

Outre le diagramme Eh-pH de Se en milieu aqueux (Figure 3 ; Paragraphe I.2.), les études de Masscheleyn et al. (1990, 1991), réalisées sur des suspensions de sédiments sélénifères ont permis de définir les conditions de prédominance des différentes espèces inorganiques de Se et servent de référence pour la prédiction de la spéciation de Se dans les sédiments et les sols en fonction de ces deux paramètres.

En conditions contrôlées fortement réductrices (Eh = -0,2 V), seuls Se(0) et Se(-II) sont détectés pour des pH allant de 6,5 à 9 et représentent 80 à 100 % de Se total dissous. L'oxydation de cette fraction séléniée en Se(IV) apparaît à 0 V. Cette espèce est ensuite oxydée en Se(VI) au dessus de 0,2 V. A partir de 0,45 V, Se(VI) est l'espèce prédominante en solution avec toutefois une forte dépendance au pH puisqu'elle représente 95 % des espèces dissoutes à pH ≥8,5 et seulement 75 % à pH ≤7,5. L'oxydation de Se(IV) en Se(VI) est donc plus importante à pH basique qu'à pH acide.

Les conditions de prédominance des espèces inorganiques de Se en fonction de Eh et pH, au sein du système « sédiment » correspondent à celles prédites par le diagramme thermodynamique Eh-pH réalisé en milieu aqueux (Figure 3 ; Paragraphe I.2.). Cependant, ces données prédictives ne peuvent être utilisées dans toutes les situations sans précaution pour plusieurs raisons.

- L'oxydation de Se(IV) en Se(VI) a une cinétique plus lente que la réduction (Jayaweera et Biggar, 1996). En effet, sur des sols sélénifères soumis à une séquence oxique/anoxique/oxique, il a été observé que la quantité de Se(VI) à la fin de la dernière transition (anoxique/oxique) n'atteint pas la concentration initiale (Jayaweera et Biggar, 1996). Se(IV), thermodynamiquement instable en milieu oxydant, peut donc persister, comme également observé en milieu marin à la surface des eaux en conditions oxydantes (Cutter et Bruland, 1984 ; Cutter, 1992).

- Certaines phases solides du sol interviennent dans les processus d'oxydo-réduction des oxyanions de Se. Par exemple, la sorption de Se(IV) sur des oxydes de Mn peut être à l'origine de son oxydation qui est associée à une réduction de Mn(IV) en Mn(II) (Scott et Morgan, 1996 ; Banerjee et Nesbitt, 2000). Au contraire, Fe(0) et les surfaces minérales contenant Fe(II) (rouille verte, magnétite -oxyde de fer-, mackinawite -sulfure de Fe et Ni-, sidérite -carbonate de Fe-, pyrite -sulfure de Fe-) peuvent être à l'origine de la réduction des oxyanions de Se (Myeni et al., 1997 ; Bruggeman et al., 2005 ; Loyo et al., 2008 ; Scheinost et Charlet, 2008). Il a été montré que la réduction de Se(VI) en Se(IV) en présence de Fe(0) se fait après sa sorption sur cette phase solide (Zhang et al., 2005). Dans le cas de la réduction des oxyanions de Se par les minéraux contenant Fe(II), la formation de Se(0) ou de Se(-II) précipités a pu être observée (Breynaert et al., 2008 ; Scheinost et Charlet, 2008 ; Scheinost et al., 2008).

- Les réactions d'oxydo-réduction de Se sont fortement influencées par l'activité microbienne. Certains micro-organismes (bactéries hétérotrophes, thiobacilles et probablement champignons) peuvent oxyder le sélénium élémentaire en sélénite et en séléniate (Sarathchandra et Watkinson, 1981 ; Dowdle et Oremland, 1998 ; Losi et Frankenberger Jr, 1998). En effet, l'énergie libérée

lors de l'oxydation de Se serait suffisante pour être utilisée comme source d'énergie par les micro-organismes. Cependant, l'oxydation microbienne de Se dans les sols semble être un phénomène relativement lent avec une cinétique inférieure d'environ 10^3 à celle de la bio-réduction (Dowdle et Oremland, 1998). Ce résultat peut expliquer le peu d'études portant sur l'oxydation biotique de Se. A partir de l'étude de quatre sols de la vallée de San Joaquin (USA), Losi et Frankenberger Jr (1998) ont cependant conclu que l'oxydation de Se(0) en Se(IV) et/ou Se(VI) est essentiellement un phénomène biotique et ont supposé un processus d'oxydation similaire à celui du soufre impliquant, par conséquent, le rôle de bactéries telles que *Thiobacillus* (Losi et Frankenberger Jr, 1998).

De nombreuses bactéries sont capables de réduire Se(IV) et Se(VI), que ce soit en conditions aérobies ou anaérobies (Tableau 4). Peu d'études ont été réalisées sur d'autres micro-organismes (champignons, levures).

Tableau 4. Bactéries capables de réduire Se(VI) et/ou Se(IV) en Se(0)

Bactéries	Origine	Formes de Se	Références
Acinetobacter sp	Sédiments	Se(IV)	[1]
Aeromonas hydrophilia	Sédiments	Se(IV)	[1]
Arthrobacter sp.	Eaux	Se(IV)	[1]
Bacillius selenitireducens	Eaux	Se(IV)	[2 - 3]
Bacillius sp.	Eaux	Se(IV)	[1]
Bacillius subtilis	non donné	Se(IV)/Se(VI)	[4]
Citrobacter freundii	Sédiments	Se(IV)	[1]
Corynebacterium sp.	Sédiments	Se(IV)	[1]
Cupriavidus metallidurans CH_3^{4+}	Sols	Se(IV)	[5]
Enterobacter cloacae	Eaux	Se(IV)/Se(VI)	[6 - 7]
Enterobacter taylorae	Eaux	Se(VI)	[8]
Flavobacterium sp.	Sédiments et eaux	Se(IV)	[1]
Pseudomonas aeruginosa	Sédiments	Se(IV)	[1]
Pseudomonas cepacia	Sédiments	Se(IV)	[1]
Pseudomonas fluorescens	non donné	Se(IV)/Se(VI)	[4]
Pseudomonas stutzeri	non donné	Se(IV)/Se(VI)	[9]
Rhodobacter sphaeroides	non donné	Se(IV)/Se(VI)	[11]
Rhodospirillum rubrum	non donné	Se(IV)	[2]
Selenihalanae robacter shriftii	Eaux de mer	Se(IV)	[4]
Stenotrophomonas sp.	Sol	Se(IV)	[12]
Stenotrophomonas maltophilia	Sédiments	Se(IV)/Se(VI)	[13]
Sulforospirillum barnesii	Eaux	Se(IV)	[4]
Thauera selenatis	Eaux	Se(VI)	[15]
Wolinella succinogenes	non donné	Se(IV)/Se(VI)	[16]

[1] (Burton et al., 1987) ; [2] (Oremland et al., 2004) ; [3] (Switzer Blum et al., 1998) ; [4] (Garbisu et al., 1996) ; [5] (Avoscan et al., 2006) ; [6] (Losi et Frankenberger Jr, 1997) ; [7] (Watts et al., 2003) ; [8] (Zhang et al., 2003) ; [9] (Lortie et al., 1992) ; [10] (Van Fleet-Stalder et al., 2000) ; [11] (Kessi et al., 1999) ; [12] (Di Gregorio et al., 2005) ; [13] (Dungan et al., 2003) ; [15] (Macy et al., 1993) ; [16] (Tomei et al., 1992)

Le sélénium élémentaire formé est sous forme de granules insolubles localisés :

- à l'intérieur des bactéries (cytoplasme, espace périplasmique) (Garbisu et al., 1996 ; Losi et Frankenberger Jr, 1997 ; Switzer Blum et al., 1998 ; Kessi et al., 1999 ; Van Fleet-Stalder et al., 2000 ; Oremland et al., 2004).
- dans le milieu de culture (Losi et Frankenberger Jr, 1997 ; Oremland et al., 2004).

Plus récemment, Siddique et al. (2006) ont isolé 9 bactéries pouvant réduire Se(VI) en Se(IV) et 14 bactéries réduisant Se(IV) en Se(0). Trois mécanismes de réduction microbienne de Se ont été identifiés. Le premier est une réduction avec gain énergétique pour les micro-organismes, réalisée en milieu anoxique (respiration anaérobie) (Stolz et Oremland, 1999). Le second est l'utilisation des oxyanions de Se comme accepteurs finaux d'électrons durant la respiration du carbone organique (Stolz et Oremland, 1999 ; Zhang et al., 2003). Le troisième est la réduction des oxyanions de Se, sans gain énergétique, observée en conditions oxiques (Hunter et Kuykendall, 2006) et anoxique (Ike et al., 2000) en présence d'un donneur d'électrons (Watts et al., 2003). Cependant, la plupart des études ont été réalisées avec des concentrations en Se très élevées, de l'ordre de 10^{-2} à 10^{-3} mol L^{-1}. La réduction de Se sans gain énergétique est alors considérée comme un mécanisme de détoxication permettant aux micro-organismes de résister à la présence de Se (Dungan et Frankenberger Jr, 1999).

- *La méthylation et la volatilisation*

Dans les sols, la méthylation de Se a lieu en conditions aérobies (Doran et Alexander, 1977 ; Frankenberger Jr et Karlson, 1994), aussi bien via des bactéries que des champignons (Tableau 5).

Tableau 5. Bactéries et champignons capables de biométhyler Se (Chabroullet, 2005)

Bactéries	Références	Champignons	Références
Aeromonas sp.	[2 - 4]	*Acremonium falciforme*	[2 ; 4]
Aeromonas verouii	[4]	*Altemaria alternata*	[2 ; 4]
*Citrobacter freundii**	[3]	*Aspergillus niger*	[2 ; 4]
Corynebacterium sp.	[1 - 4]	*Candida humicola*	[2 ; 4]
Flavobacterium sp.	[2 ; 4]	*Cephalosporium sp.*	[2 - 4]
Pseudomonas sp.	[1 - 4]	*Fusarium sp.*	[2 - 4]
Pseudomonas aeruginosa	[3]	*Penicillium sp.*	[2 - 4]
Pseudomonas cepacia	[3]	*Penicillium citrium*	[2 ; 4]
Pseudomonas fluorescens	[2 - 4]	*Penicillium chrysogenum*	[4]
Pseudomonas sphaeroides	[5]	*Penicillium notatum*	[4]
Rodocyclus tenuis	[4]	*Schizophillium commune*	[2 ; 4]
Rhodospirillum rubrum	[4]	*Scopulariopsis sp.*	[2 - 4]
		Scopulariopsis breviacaulis	[2 - 4]
		Ulocladium tuberculatum	[2]

** Les espèces de bactéries soulignées sont également connues pour réduire Se(IV) ou Se(VI) en Se(0).*
[1] (Doran et Alexander, 1977) ; [2] (Frankenberger Jr et Karlson, 1994) ; [3] (Chasteen, 1998) ; [4] (Dungan et Frankenberger, 1999) ; [5] (Van Fleet-Stalder et al., 2000)

Cette biotransformation est un phénomène impliquant plusieurs étapes dont des réactions de réduction de Se(VI) ou Se(IV) en Se(-II) suivies de réactions de méthylation entraînant la formation de plusieurs séléniures organiques volatils possédant 1 à 2 groupements méthyles. Le mécanisme de formation des composés volatils de Se est, au moins en partie, un phénomène enzymatique. Ainsi, l'intervention de la thiopurine méthyltransférase a été mise en évidence dans la formation des deux métabolites majoritaires issus de la biométhylation, le diméthylséléniure (DMSe) et le diméthyldiséléniure (DMDSe) (Ranjard et al., 2002). D'autres formes sont également obtenues : le diméthylsélénone, le méthane-sélénol (MeSeH) et le diméthyl-sélényl-sulfure (Chau et al., 1976 ; Reamer et Zoller, 1980 ; Chasteen et al., 1990). La volatilisation qui résulte de la méthylation est considérée comme un mécanisme de protection utilisé par les micro-organismes (Hansen et al., 1998).

Une fois formés, les deux métabolites volatils majoritaires de la biométhylation de Se, DMSe et DMDSe, peuvent être évacués dans l'atmosphère du sol puis dans l'atmosphère terrestre ou être solubilisés dans la solution de sol (Zhang et Frankenberger Jr, 2002 ; Azaizeh et al., 2003). En

particulier, DMSe est très soluble dans l'eau (Azaizeh et al., 2003) et peut, dans un sol saturé en eau, être piégé à 96 % dans la phase aqueuse (Zhang et al., 1999 b). Ces espèces peuvent également avoir un devenir différent. DMDSe peut être sorbé sur les constituants du sol et être transformé en espèce non volatile ainsi qu'en DMSe (Martens et Suarez, 1999 ; Zhang et Frankenberger Jr, 2002) alors que DMSe est peu sorbé (Guo et al., 1999).

La biométhylation de Se semble être un phénomène fréquent pour les sols riches en Se, avec des concentrations de plusieurs mg kg^{-1}. Dans ces milieux, des taux de volatilisation allant de 1 à 10 % de Se ont été reportés (Chau et al., 1976 ; Doran et Alexander, 1977 ; Doran, 1982 ; Karlson et Frankenberger Jr, 1988 ; Stork et al., 1999). Pour de faibles concentrations de Se dans les sols (µg kg^{-1}), la volatilisation semble être au contraire un phénomène quantitativement peu important, inférieur à 0,2 % de Se total sur une période de 42 jours ou 18 mois (Haudin et al., 2007 ; Chabroullet, 2007).

Le rendement de la volatilisation de Se semble être influencé par les facteurs qui augmentent l’activité microbiologique dans les sols comme la température, l'aération, le pH ou encore la teneur en eau (Abu-Erreish et al., 1968 ; Zieve et Peterson, 1981 ; Calderone et al., 1990 ; Frankenberger Jr et Karlson, 1994 ; Tan et al., 1994). La matière organique présente dans les sols est également un facteur important en termes de qualité et de quantité. En effet, le taux de volatilisation de Se peut être augmenté jusqu'à 17 fois par ajout de MO qui stimule la prolifération microbienne (paille de blé, L-méthionine, pectine, acide galacturonique) (Abu-Erreish et al., 1968 ; Karlson et Frankenberger Jr, 1988 ; Calderone et al., 1990 ; Stork et al., 1999). Au niveau qualitatif, les composés organiques les plus facilement biodégradables semblent conduire à une meilleure volatilisation de Se (Calderone et al., 1990 ; Stork et al., 1999), ainsi que les composés organiques partiellement méthylés (e.g., pectine) qui représentent alors une source directe de groupes méthyles pour la méthylation microbienne (Karlson et Frankenberger Jr, 1988). Cependant, les taux de volatilisation diminuent à nouveau au bout de quelques semaines après l'amendement en C organique jusqu'à retrouver un taux similaire à la condition sans amendement (Karlson et Frankenberger Jr, 1988 ; Stork et al., 1999). Ces résultats mettent donc en évidence l'importance de la biodisponibilité du carbone sur la volatilisation de Se.

La spéciation de Se présent dans les sols a également un impact sur sa volatilisation. La biométhylation de Se peut se faire à partir des formes inorganiques Se(VI) et Se(IV) et de composés séléniés organiques tels que SeMet (Abu-Erreish et al., 1968 ; Doran et Alexander,

1977 ; Thompson-Eagle et Frankenberger Jr, 1990 ; Azaizeh et al., 1997). Cependant, l'énergie nécessaire à la réduction de Se(VI) est supérieure à celle demandée pour la réduction de Se(IV). Ainsi, les taux de volatilisation de Se(IV) dans les sols sont majoritairement plus élevés que dans ceux liés à Se(VI) (Thompson-Eagle et Frankenberger Jr, 1990). De plus, le rendement de biométhylation est fonction de la quantité de Se soluble dans l'eau (Abu-Erreish et al., 1968). Sur des sols riches en Se (environ 30 mg kg^{-1}), la production de DMSe à partir du Se natif n'est pas détectable même après stimulation de l'activité microbienne (amendement organique) alors qu'après un apport de Se en solution (1 g kg^{-1}), 2 % de DMSe est produit (Francis et al., 1974). Ces résultats mettent en évidence que Se natif des sols est parfois non disponible pour les micro-organismes, tandis que celui apporté en solution, par exemple suite à une contamination, peut être facilement prélevé et ainsi volatilisé. En plus des paramètres environnementaux qui contrôlent les activités microbiennes, ceux qui affectent la disponibilité de Se pour les micro-organismes représentent donc des facteurs primordiaux dans la volatilisation de celui-ci.

II.3. Associations sélénium/constituants du sol

- *Sorption du sélénium sur les phases minérales*

  - ✓ La précipitation/co-précipitation

A partir de calculs d'équilibres thermodynamiques, Elrashidi et al. (1987, 1989) ont mis en évidence que les précipités métalliques de Se(VI) et Se(IV) sont trop solubles pour persister dans les sols aérés, excepté $MnSeO_3$(s) pour les sols fortement acides. Par contre, les séléniures métalliques limitent la solubilité de Se. Cu_2Se(s) est le plus stable pour les sols acides, alors que PbSe(s) et ZnSe(s) sont les plus stables en conditions neutres à alcalines (Elrashidi et al., 1987, 1989). La précipitation de Se a généralement lieu après réduction abiotique de Se(IV) ou Se(VI), en fonction des conditions de Eh/pH et/ou par Fe(0) ou des minéraux contenant Fe(II). Sous ces dernières conditions, la formation des précipités Se(0), FeSe(s), $FeSe_2$(s) et MnSe(s), insolubles dans l'eau, a été observée (cf. Paragraphe II.2.).

Ainsi, il est généralement admis que les mécanismes ou équilibres de précipitation gouvernent la solubilité de Se uniquement en conditions réductrices. Dans la majorité des sols de surface (milieux oxydants à modérément réducteurs), la rétention des espèces de Se solubles, Se(IV) et Se(VI), est donc gouvernée par d'autres mécanismes de sorption.

✓ L'échange anionique

Pour le sélénium, cet échange se fait au sein de l'hydroxyapatite ($Ca_5(PO_4)_3(OH)$) et de la calcite ($CaCO_3$). La sorption de Se au sein de l'hydroxyapatite résulte d'une substitution du phosphore dans la structure cristallographique de l'apatite par échange anionique avec les groupements phosphates (Monteil-Rivera et al., 2000 ; Duc et al., 2003), tandis que pour la calcite, elle résulte de l'échange de Se avec les ions carbonates (Cheng et al., 1997). Cependant, ces réactions semblent concerner Se(IV) et non Se(VI) (Cheng et al., 1997 ; Duc et al., 2003). De plus, ces minéraux, en particulier les hydroxyapatites, sont, dans la majorité des sols, très minoritaires par rapport aux oxydes, (oxy)hydroxydes et argiles. L'échange anionique ne représente donc pas un mécanisme important de rétention de Se dans les sols.

✓ La complexation de surface

Les deux espèces inorganiques de Se solubles dans l'eau, Se(IV) et Se(VI), peuvent se complexer à la surface des oxydes, des hydroxydes et des argiles, les phases minérales les plus réactives étant les oxydes/hydroxydes métalliques. Les capacités d'adsorption de ces espèces séléniées sur les oxydes de Mn sont inférieures à celles observées sur les oxydes d'Al et Fe (Balistrieri et Chao, 1990 ; Saeki et Matsumoto, 1994). En effet, le point isoélectrique (pH_{PZC}) des oxydes de Mn est faible, environ 1,5 - 2,5 contre environ 7,8 - 8,8 pour les oxydes de Fe. Leur charge de surface est donc globalement négative aux pH environnementaux, qui sont généralement supérieurs à 3 (Balistrieri et Chao, 1990).

Se(IV) et Se(VI) peuvent être adsorbés selon deux mécanismes :

- la complexation de sphère externe (CSE), caractérisée par des interactions électrostatiques (Sposito, 2004).
- la complexation de sphère interne (CSI), où Se est « spécifiquement » adsorbé sur les « sites cristallographiques », c'est-à-dire quand des liaisons covalentes sont créées avec les groupements fonctionnels présents à la surface des minéraux (Sposito, 2004).

Les liaisons sont beaucoup plus stables dans le cas de CSI (Sposito, 2004) et sont donc responsables d'une immobilisation de Se dans les sols à plus long terme (Duc et al., 2003).

La formation de CSE ou de CSI semble être dépendante de l'état d'oxydation de Se. De manière générale, il a été établi que des CSI sont formés avec Se(IV) et des CSE avec Se(VI), à partir :

- d'observations directes (Spectrométrie d'absorption des rayons X par rayonnement synchrotron, EXAFS ; Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier à réflexion diffuse, DRIFT, etc.) pour des concentrations élevées en Se, de l'ordre de la dizaine de mg kg^{-1} (Hayes et al., 1987 ; Hayes et al., 1988 ; Manceau et Charlet, 1994 ; Su et Suarez, 2000 ; Wijnja et Schulthess, 2000 ; Foster et al., 2003 ; Peak et al., 2006).

- de l'étude de l'effet de la force ionique sur l'adsorption de Se permettant de discriminer la formation de CSI ou de CSE (Su et Suarez, 2000 ; Schulthess et Hu, 2001). L'adsorption de Se est indépendante de la force ionique dans le cas de CSI, alors que pour CSE, l'adsorption de Se diminue quand la force ionique augmente (Hayes et al., 1988).

Ces observations sont généralement confirmées par une sorption plus quantitative de Se(IV) sur les phases minérales pures (oxydes et argiles) et les sols (Bar-Yosef et Meek, 1987 ; Balistrieri et Chao, 1990 ; Duc et al., 2003).

Cependant, par observations directes, il a été montré que Se(VI) peut également former des CSI avec la goethite (Manceau et Charlet, 1994 ; Wijnja et Schulthess, 2000), un oxyde de fer hydraté (Manceau et Charlet, 1994), un oxyde de Fe amorphe (am-$Fe(OH)_3$; Su et Suarez, 2000) et des oxydes d'Al (Boyle-Wight et al., 2002 ; Peak et al., 2006).

Ces différences ont été expliquées par plusieurs hypothèses (Fernández-Martínez et Charlet, 2009):

- l'influence des processus de séchage et d'humidification au cours du conditionnement de l'échantillon. En effet, l'assèchement du solide entraîne la perte de la sphère d'hydratation à la surface des minéraux et engendre la formation de CSI (Parfitt et Russell, 1977 ; Wijnja et Schulthess, 2000).
- l'influence de la force ionique. En effet, une force ionique faible est à l'origine de la formation d'une couche de surface épaisse favorisant ainsi la formation de CSE, alors qu'une force ionique élevée favorise la formation de CSI (Peak et Sparks, 2002).

Le pH et la présence d'anions compétiteurs sont les paramètres physico-chimiques principaux affectant l'adsorption de Se sur les phases minérales. Le pH est très influent car les sites de surface des phases minérales, en particulier les oxydes et hydroxydes (≡ S-OH) sont amphotères (cf. Paragraphe II.1.). Ainsi, l'augmentation du pH entraîne une diminution de l'adsorption des

oxyanions de Se sur les phases minérales pures (Hayes et al., 1987 ; Duc et al., 2003) ou sur des sols minéraux, comme les sols alluviaux pauvres en MO (<3 %) (Neal et al., 1987 a), les sols limono-sableux (Barrow et Whelan, 1989), les sols argilo-limoneux (Goh et Lim, 2004) et les sols limoneux (Ogaard et al., 2006 ; Eich-Greatorex et al., 2007). Cependant, l'adsorption de Se(IV) sur des oxydes de Fe pour des pH au dessus du $pH_{ZPC,}$ (≈8), bien que diminuée, n'est pas nulle jusqu'à des pH supérieurs à 11 (Su et Suarez, 2000 ; Duc et al., 2003). Ces résultats indiquent l'existence de charges locales positives pour des pH supérieurs au pH_{ZPC} permettant la sorption de Se.

Le pH influence également la nature des complexes formés. Par exemple, pour l'adsorption de Se(VI) sur la goethite, les complexes de sphère interne semblent prédominer pour des valeurs de pH inférieures à 6 (Duc et al., 2003), alors que pour des valeurs de pH supérieures, ce sont les complexes de sphère externe (Wijnja et Schulthess, 2000).

Les études concernant l'effet des anions sur l'adsorption de Se sont très importantes car un certain nombre d'anions est généralement ajouté aux sols via des fertilisants. L'effet des sulfates, des nitrates et des phosphates sur la sorption de Se(IV) a été testé sur différents sols (Neal et al., 1987 b ; Dhillon et Dhillon, 2000 ; Nakamaru et Sekine, 2008). La compétition de ces anions avec Se(IV) pour les sites d'adsorption semble suivre la séquence : SO_4^{2-} <NO_3^- <$H_2PO_4^-$, les phosphates entraînant une diminution de 30 à 50 % des quantités de Se sorbé. L'utilisation de fertilisants sur des sols riches en Se représente donc un risque de remobilisation de Se en solution.

- *Association sélénium/matière organique*

Etant donné que la matière organique des sols est considérée comme globalement chargée négativement aux pH environnementaux (groupements carboxyliques), les mécanismes d'association des oxyanions de Se avec celle-ci sont peu étudiés. De plus, les composés organiques présents dans les sols sont de nature très hétérogène, compliquant l'étude de la capacité de la MO des sols à complexer Se.

D'après les quelques études réalisées, trois types d'interactions sont suggérés :

(1) interactions indirectes résultant de l'adsorption de Se sur les phases minérales associées à la MO, par sorption et/ou agrégation, comme préalablement montré pour les phosphates (Jones et al., 1988). Il a été observé par microscope électronique à balayage (MEB) et microscope

électronique à transmission (MET) qu'au sein de la matière organique particulaire (MOP, 50 à 200 µm) d'un sol, Se(IV) ajouté est situé dans les mêmes zones que Fe et Al (Coppin et al., 2009).

(2) interactions directes entre les composés organiques et Se(IV)

Kamei-Ishikawa et al. (2008) ont mis en évidence que Se(IV) peut être sorbé sur les acides humiques. Par similarité avec une étude réalisée avec les oxyanions de As (Saada et al., 2003), les auteurs ont suggéré l'adsorption de Se(IV) au niveau des groupements amines présents au sein des substances humiques (Cohen et al., 1992 ; Kamei-Ishikawa et al., 2008). Kamei-Ishikawa et al. (2008) ont observé que la sorption de Se(IV) augmente quand la taille moléculaire des AH diminue du fait de la structure plus condensée des molécules de taille moléculaire élevée conduisant à moins de sites disponibles pour la sorption de Se. De plus, l'augmentation de l'agrégation des AH, par augmentation de la force ionique de la solution, entraîne une diminution de la sorption de Se(IV), montrant également l'impact de la conformation des AH sur l'association Se(IV)/MO (Kamei-Ishikawa et al., 2008).

Contrairement à Se(IV), il semble que Se(VI) ne présente aucune affinité envers les SH, même après trois mois de mise en contact (Bruggeman et al., 2007 ; Kamei-Ishikawa et al., 2008). Ainsi, Bruggeman et al. (2007) ont montré que Se(VI) est stable dans une eau souterraine riche en SH contrairement à Se(IV) pour lequel l'apparition d'un composé sélénié organique colloïdal (1 nm – 1 µm) semblant résulter d'une transformation abiotique, est observée. Les auteurs ont suggéré une association entre les composés humiques et Se(0) colloïdal et/ou la formation de complexes de surface avec Se(IV).

(3) incorporation de Se(IV) et Se(VI) dans la MO des sols après réduction biotique en Se(0) et/ou Se(-II), suggérée par Gustafsson et Johnsson (1994) car la présence d'agents antimicrobiens diminue significativement la quantité de Se associée à la MO (extraction par NaOH) dans des horizons de surface de podzosols de forêt (MO >30% ; Gustafsson et Johnsson, 1994).

Sur des sols de tourbe (MO = 46%), il a été observé qu'une augmentation du pH entraîne une augmentation de la sorption de Se alors qu'une diminution est observée sur un sol limoneux (MO = 2%) (Ogaard et al., 2006 ; Eich-Greatorex et al., 2007). Lors de l'augmentation du pH, les charges positives à la surface des minéraux diminuent, réduisant ainsi l'adsorption de Se sur ces phases pour le sol limoneux (sol minéral). Par contre, un pH élevé favorise également l'activité microbienne, ce qui pour le sol de tourbe est à l'origine d'une augmentation de l'incorporation de

Se au sein de la MO via sa réduction biotique. Ces travaux rejoignent ainsi l'hypothèse de Gustafsson et Johnsson (1994) (Ogaard et al., 2006 ; Eich-Greatorex et al., 2007).
Une fois réduit, Se serait incorporé à l'intérieur des SH, principalement dans les fractions à bas poids moléculaire (acides fulviques et humiques) (Gustafsson et Johnsson, 1994). Le mécanisme n'est pas clairement établi. Les auteurs suggèrent une interaction directe entre Se(-II) et les groupes hydroxyles en périphérie des SH, comme observé pour le soufre dans des sols de tourbes (Lowe, 1992). L’incorporation de Se au sein de la MO des sols pourrait également se faire après assimilation de celui-ci par les micro-organismes ou les plantes, sous forme de composés organiques, tels que les acides aminés, qui sont ensuite ajoutés à la fraction « substances humiques » (Gustafsson et Johnsson, 1994).

II.4. Bilan : Cycle biogéochimique du sélénium dans les sols

Un cycle de Se dans le système « sol » est proposé en Figure 7 à partir des différentes transformations bio-physico-chimiques qu’il peut subir au contact des quatre compartiments constituant ce milieu.

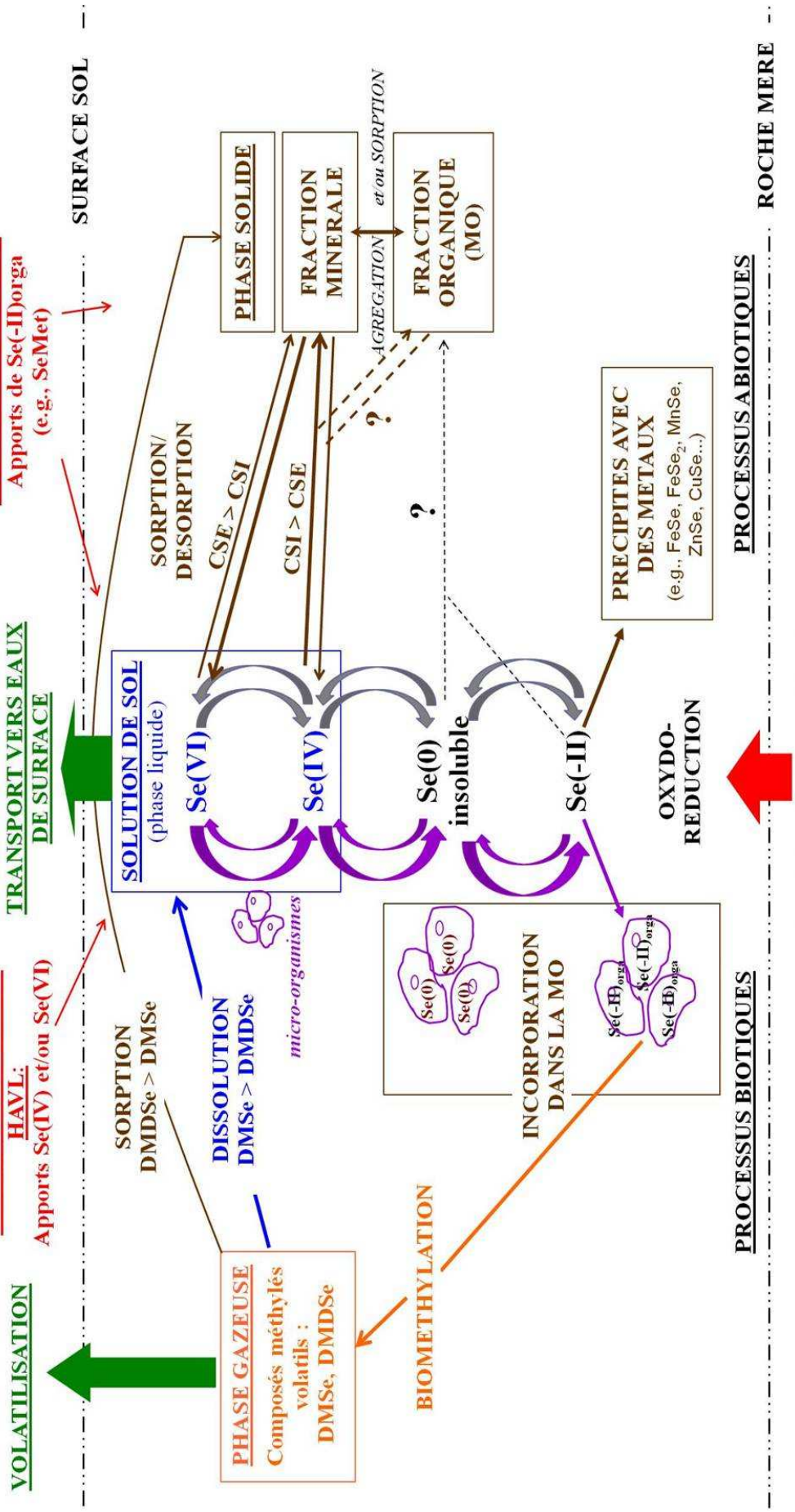


Figure 7. Cycle biogéochimique du sélénium dans les sols

CSE : complexe de sphère externe ; CSI : complexe de sphère interne

III. Comment évaluer la réactivité du sélénium dans le système « sol » ?

Les études présentées précédemment ont été généralement focalisées sur un seul composé de Se, un type de transformation biologique ou chimique et/ou sur la sorption de Se sur un type de phase solide. Elles ont ainsi permis de comprendre les mécanismes mis en jeu dans les conditions étudiées ou du moins de donner des hypothèses (cas de l'interaction Se/MO).
Cependant, le sol est un assemblage hétérogène et complexe de phases minérales diverses (oxydes, argiles, etc.) plus ou moins associées à la matière organique par sorption et/ou agrégation, auxquelles s'ajoute un compartiment vivant (micro-organismes). Cet ensemble ne donne probablement pas le même résultat final concernant le devenir de Se que les constituants des sols considérés indépendamment. Pour évaluer la capacité de Se à résider dans ce système ou à être transféré vers d'autres compartiments de la biosphère (eaux de surface, eaux souterraines, végétaux), il est donc nécessaire de comprendre sa réactivité dans les sols en intégrant toute leur complexité.

Ce paragraphe présente les méthodes qui peuvent être employées pour étudier la réactivité de Se en prenant en compte le système « sol » dans sa globalité. Bien qu'elles permettent une observation directe des espèces de Se dans les différents constituants des sols, les techniques d'analyse sur solide, comme la spectroscopie de structure près du front d'absorption de rayons X (XANES) et l'EXAFS, ne sont pas présentées puisqu'elles ne peuvent être appliquées qu'à des sols contenant des concentrations élevées en Se du fait de leurs limites de détection élevées, (dizaine de mg kg^{-1}). Le comportement de Se présent en concentrations élevées dans les sols peut être plus ou moins éloigné de celui retrouvé dans un contexte environnemental et radiologique où Se est présent à l'état de traces (µg kg^{-1}).

III.1. Le coefficient de distribution solide/liquide (Kd)

- *Kd et l'évaluation du risque radiochimique*

Dans le cadre des analyses de sûreté du stockage des déchets radioactifs, la mobilité des radionucléides dans les sols est évaluée selon un modèle utilisé et préconisé par l'IAEA (Agence Internationale de l'Energie Atomique).

Ce modèle intègre un paramètre hydrodynamique lié à la mobilité de la solution qui percole à travers le sol et un paramètre chimique (Kd, L kg^{-1} ; équation 1) lié à la sorption de l'élément dans le sol (Baes III et Sharp, 1983 ; Roussel-Debet et Colle, 2005).

$$Kd = \frac{C_S}{C_L} \qquad (1)$$

Avec,

Kd : coefficient de distribution solide/liquide (L kg^{-1})

C_S : concentration de l'élément dans le sol sec (mol kg^{-1})

C_L: concentration de l'élément dans la solution du sol (mol L^{-1})

Ainsi, une constante de lessivage (λ) est calculée (équation 2) et permet de déterminer le temps de résidence moyen de l'élément pour une hauteur de sol donnée (Baes III et Sharp, 1983 ; Kirchner, 1998).

$$\lambda = \frac{v}{h(\sigma + \rho Kd)} \qquad (2)$$

Avec,

λ : constante de lessivage (s^{-1})

v : vitesse de percolation de la solution aqueuse (L m^{-2} s^{-1})

h = hauteur de sol (m)

σ = degré de saturation en eau du sol (L m^{-3})

ρ = densité du sol (kg m^{-3})

Le Kd, paramètre clé dans la modélisation des risques associés à une contamination des sols par les radionucléides, est une grandeur macroscopique utilisée pour évaluer la mobilité d'un élément présent dans les sols quels que soient les processus impliqués. La rétention de l'élément dans le sol est d'autant plus forte que la valeur de Kd est élevée.

Dans le cas de la modélisation de la mobilité des radionucléides, comme pour les analyses de sûreté du stockage des déchets radioactifs, les valeurs de Kd utilisées sont choisies au sein de bases de données pour un radionucléide et un sol donnés. Ces dernières sont issues de compilations de valeurs de Kd qui, à l'heure actuelle pour Se, sont établies pour des classes de sols définies selon des caractères de texture et de teneur en matière organique (Tableau 6).

Tableau 6. Valeurs de Kd pour Se (L kg^{-1}) classées dans la littérature selon les caractères de texture et de teneur en matière organique des sols

Type de sol	Sols sableux Sable >70%	Sols limoneux Limons >80%	Sols argileux Argile >35%	Sols riches en MO MO >20%	Texture intermédiaire	Réf.
MG	**150**	**490**	**740**	**1800**	**n.d.**	[1 – 2]
MG	**55**	**150**	**115**	**170**	**n.d.**	[3]
(n)	**116** *(1)*		**23*** *(1)*	**274** *(1)*	**138** *(1)*	[4] ; *[5]
MG[a] ± EG[b] *(n)[c]* Min-Max	**56 ± 3** *(15)* 4 - 1616	**220 ± 5** *(101)* 12 – 1606	***240 ± 3*** *(33)* 2 - 2130	*(2)* 230 - 1800	**230 ± 2** *(21)* 20 - 618	[6]
MG ± EG *(n)* Min-Max	**56 ± 5** *(15)* 4 - 1600	**220 ± 3** *(134)* 12 - 2130		**1000** *(2)* 230 - 1800	**n.d.** n.d.	[7]

[a] **MG** : moyenne géométrique ; [b] **EG** : écart-type géométrique ; [c] *n* : nombre d'échantillons de sol ; [d] TRS : valeurs de référence publiées par l'IAEA

[1] (Sheppard et Thibault, 1990) ; [2] (IAEA, 1994) ; [3] (Yu et al., 2001) ; [4] (Ashworth et al., 2008) ; [5] (Février et al., 2007) ; [6] (Gil-García et al., 2009) ; [7] (IAEA, 2010)

Les premières valeurs de référence (« Technical Report Series »TRS n°364), proposées par l'IAEA (1994) et basées sur peu de données, indiquent que Kd pour Se est effectivement corrélé aux caractères de texture et de teneur en MO des sols (IAEA, 1994). Elles mettent en évidence une forte réactivité des sols organiques (MO >30%) vis-à-vis de la rétention de Se. Cependant, les quatre catégories de sols utilisées pour la classification des valeurs de Kd sont peu représentatives des sols « moyens », et notamment des sols agricoles français dont les textures médianes comportent 29 % de sables, 19 % d'argiles, 47 % de limons et 2,6 % de MO (Roussel-Debet et Colle, 2005). De plus, une compilation récente montre que parmi les quatre catégories de sols, seule la classe « sol sableux » présente des valeurs de Kd significativement plus faibles (Gil-García et al., 2009). Elle a permis la mise en place de nouvelles valeurs de référence de Kd (TRS n°472 ; IAEA, 2010) pour lesquelles les catégories « sols limoneux » et « sols argileux » ont fusionné.

Les valeurs de Kd pour Se varient de 4 à 2100 L kg^{-1} (172 sols), avec une moyenne géométrique de 200 L kg^{-1}. Elles présentent donc une dispersion moyenne par rapport aux autres radionucléides, dont les dispersions varient d'un facteur 10 (Cu, Fe, Nb, Pa, Pd, Rb, Sc, Si, Sm, Ta) à un facteur 10^5 (Cs, Co, U) (IAEA, 2010). L'hétérogénéité des valeurs de Kd indique différents degrés de rétention de Se en fonction des types de sols montrant la nécessité

d'améliorer leur classification pour une meilleure modélisation des risques associés au stockage des déchets radioactifs. Par exemple, la classification des valeurs de Kd pour Cd, Co, Ni et Zn en fonction du pH des sols apparaît plus efficace que celle définie par les caractères de texture et de teneur en MO (Gil-García et al., 2009). De plus, à notre connaissance, les valeurs de Kd de Se présentes dans la littérature ont été déterminées après dopage des sols, soit directement après un temps de mise à l’équilibre de la solution de dopage ($Kd_{sorption}$), soit après désorption à partir du sol dopé avec de l’eau ultrapure ($Kd_{désorption}$). Or, dans le cadre des analyses de sûreté du stockage des déchets radioactifs HAVL, il est nécessaire de prévoir l'impact d'une contamination potentielle en Se dans les sols sur une longue échelle de temps (≈10 000 ans). Une question reste donc en suspens : est ce que les valeurs de Kd déterminées avec ce type d’expériences à court-terme peuvent être utilisées pour prédire le comportement d’une contamination des sols en Se qui s'est stabilisée sur le long terme ?

- *Kd révélateur des processus affectant la rétention de Se dans les sols*

Du fait du principe de sa détermination, Kd permet seulement de quantifier le degré d’immobilisation de Se dans les sols sans différencier les mécanismes impliqués. Il a tout de même été utilisé avec succès pour discriminer le (ou les) processus de rétention majoritaire(s) de Se dans des sols aux caractéristiques distinctes ou soumis à des conditions particulières.

Par exemple, Ashworth et al. (2008) ont comparé des valeurs de Kd pour Se déterminées pour trois sols différents, incubés en conditions de saturation en eau ou en conditions non saturées. Pour le sol limono-sableux, les Kd ont également été déterminés après fumigation (Tableau 7).

Tableau 7. Caractéristiques et valeurs de Kd pour les trois sols étudiés par Ashworth et al. (2008)

						saturée en eau	non saturée en eau
Type de sol		Sable (%)	Limon (%)	Argile (%)	MO (%)	Kd (L kg^{-1})	
Limono-sableux	Non fumigé	71,5	19,0	4,8	4,7	116 ± 2	265 ± 1
	Fumigé					78 ± 2	206 ± 2
Limono-argileux		39,9	35,1	22,4	2,6	138 ± 2	157 ± 2
Organique		45,5	3,0	1,5	50,1	274 ± 2	219 ± 2

Les résultats indiquent que Kd augmente avec la teneur en matière organique du sol en conditions non saturées en eau (Ashworth et al., 2008). Ainsi, la plus grande réactivité des sols organiques vis à vis de la rétention de Se est mise en évidence par la détermination des Kd, comme préalablement observé (IAEA, 1994 ; Yu et al., 2001). En conditions de saturation en eau, la valeur du Kd dans le sol limono-sableux est doublée, ce qui n'est pas le cas pour les deux autres types de sols. De plus, une relation linéaire négative entre Eh et Kd existe seulement pour ce sol (Ashworth et al., 2008). Pour les deux conditions de teneur en eau, la fumigation entraîne une diminution du Kd. Cette diminution n'est cependant pas significative d'un point de vue statistique (test de student, $P>0,05$), indiquant que les processus impliquant les micro-organismes ne sont pas majoritaires dans la rétention de Se (Ashworth et al., 2008). L'utilisation du coefficient de distribution solide/liquide a donc permis de suggérer que la rétention de Se dans un sol limono-sableux saturé en eau implique principalement sa réduction abiotique en Se(0) et/ou Se(-II) qui sont des espèces peu mobiles.

L'utilisation de cette grandeur macroscopique a également permis de mettre en évidence la rétention de Se par la fraction minérale des sols de type « oxydes ». En effet, pour une large gamme de sols japonais (58 sols) utilisés en agriculture, les valeurs de Kd sont significativement corrélées aux teneurs en aluminium « actif » (aluminosilicates amorphes et peu ordonnés, complexes humiques de Al) et en fer « actif » (minéraux de Fe amorphes et complexes humiques de Fe), notés respectivement AlO et FeO (Nakamaru et al., 2005). Le terme « actif » est utilisé pour ces phases solides car elles présentent une surface spécifique extrêmement élevée en raison de leur caractère amorphe. Plus précisément, les proportions de Se lié à Al sont plus élevées dans les sols ayant les valeurs de Kd les plus fortes (>500 L kg^{-1}), indiquant que la mobilité et la bio-accessibilité potentielle de Se dans ces sols sont fortement affectées par la quantité de Al « actif ». Ainsi, dans les sols volcaniques agricoles japonais riches en AlO et FeO (respectivement, 0,08 à 6,5 % et 0,04 à 7,6 %) avec 0,1 à 10,9 % de carbone total, Se est principalement immobilisé par adsorption sur la fraction minérale. Sur ces mêmes sols, il a été montré que l'ajout de phosphate entraîne une diminution des valeurs de Kd de Se (Nakamaru et al., 2006). Ces résultats confirment ainsi que l'adsorption de Se sur la fraction minérale est le mécanisme de rétention majoritaire de Se dans les sols étudiés et mettent en évidence l'impact de l'ajout de fertilisants phosphatés sur sa mobilité. L'importance de la fraction minérale de type « oxydes » vis-à-vis de la rétention de Se a également été montrée pour des terres rouges par utilisation du Kd : 98 % de la rétention de Se est due aux oxydes de Fe qui représentent seulement 12 % de la masse totale du sol, le reste étant lié à la matière organique (0,78 %) et les argiles (38 %) (Dong et al., 1999).

Le modèle mathématique utilisé par les agences chargées de la gestion des déchets radioactifs pour estimer la mobilité des radionucléides à différentes échelles de temps présente des limites en raison de simplifications associées au paramètre chimique Kd.

En effet, la formulation de ce coefficient repose sur les hypothèses suivantes :

- les sites de sorption de la phase solide sont toujours en excès par rapport à la concentration totale de l'élément (sorption de l'élément linéaire avec la concentration de la solution de contamination). C'est généralement le cas lorsque l'on travaille avec des concentrations en Se à l'état de traces (< $\mu g\ kg^{-1}$).
- l'équilibre chimique de sorption est atteint.
- la sorption est instantanée et totalement réversible.

L'hypothèse de la sorption totalement réversible est particulièrement intéressante à discuter. En effet, celle-ci implique que l'élément sorbé à la surface du sol peut facilement se désorber suite à un lessivage par une eau non contaminée. Or, certains auteurs associent la formation de complexes de sphère externe, majoritairement créés avec Se(VI), à une sorption rapide et totalement réversible et, par conséquent, sensible au lessivage. Au contraire, la formation de complexes de sphère interne, créés avec Se(IV) et Se(VI), serait liée à une sorption beaucoup moins réversible et donc moins sensible au lessivage (Duc et al., 2003). Avec un sol prélevé au niveau de la future zone de stockage des déchets radioactifs HAVL en France (Bure, Meuse/ Haute-Marne), il a été montré que la quasi-totalité de Se(VI) ajouté est sorbée sous forme de complexes de sphère interne engendrant une sorption pseudo-irréversible quelle que soit la concentration initiale en Se(VI) et, que les cinétiques de sorption sont non instantanées (Loffredo, 2010). Pour un autre sol, les auteurs ont assimilé la sorption de Se(VI) à une sorption totalement réversible ($Kd_{sorption} = Kd_{désorption}$) pour des concentrations inférieures à 10^{-6} mol L^{-1} en raison d'une sorption sous la forme de complexes de sphère externe. Par contre, pour des concentrations supérieures, d'autres mécanismes entrent en jeu, engendrant une sorption pseudo- irréversible dans le sol. Ces exemples mettent en évidence que pour certains sols et dans certaines conditions, le modèle Kd présente des lacunes pour décrire le comportement de Se dans les sols. C'est pourquoi, un modèle cinétique (modèle EK), alternatif au modèle Kd, a été développé pour décrire le comportement de Se dans les sols, en considérant une fraction de Se associée au sol de façon réversible (potentiellement mobile) et une fraction stabilisée sur le sol (fixée pseudo-irréversiblement) (Loffredo, 2010).

Malgré les limites du modèle Kd, les études détaillées ci-dessus montrent que l'utilisation de ce paramètre permet de rendre compte de l'état de rétention de Se pour différents types de sols. Agrémenté par d'autres analyses et par l'étude de sols aux caractéristiques contrastées, il contribue à la compréhension des mécanismes majoritaires mis en jeu.

III.2. Les extractions chimiques

Le principe de cette approche repose sur l'utilisation de réactifs chimiques choisis pour extraire spécifiquement Se associé à une fraction identifiée du sol, soit en solubilisant Se lié uniquement à cette fraction soit en détruisant ses phases porteuses. Elle peut être réalisée en une étape (extraction simple) ou en séquence (schémas d'extractions séquentielles). Différents protocoles ont été développés selon les phases porteuses ciblées. Néanmoins, des protocoles d'extractions communs ont été identifiés ces dernières années et sont récapitulés dans le tableau 8.

Tableau 8. Réactifs communément utilisés dans la littérature pour accéder aux différentes fractions de Se présent dans les sols et les sédiments

Fraction de Se ciblée / Mécanisme mis en jeu	Extractant	Références
Se lessivable / Solubilisation dans l'eau	Eau ultrapure	[1 - 9]
	$CaCl_2$	[10]
	KCl	[11 - 15]
Se échangeable considéré comme Se adsorbé / Echange d'anions avec les ions phosphates	K_2HPO_4 (pH 7 ou pH 8)	[10 ; 12 ; 16 - 17]
	KH_2PO_4	[3 ; 11]
	Tampon phosphate KH_2PO_4/K_2HPO_4	[1 ; 6 ; 9 ; 18]
Se associé à la matière organique / Oxydation des composés organiques et relargage de Se associé à ceux-ci	NaOCl	[12 ; 17 ; 19]
	$K_2S_2O_8$	[1 ; 11 ; 18]
	NaOH	[1 - 3 ; 6 - 7 ; 10 ; 20 - 21]
	$Na_4P_2O_7$	[9]
	TMAH[a]	[6]
Se(0) / Oxydation de Se(0) insoluble en Se(IV) soluble	Na_2SO_3	[6 - 8 ; 10 ; 17]

[a] TMAH : Hydroxyde de triméthylammonium

[1] (Martens et Suarez, 1997 b) ; [2] (Séby et al., 1997) ; [3] Sharmasakar et Vance, 1997 ; [4] (Johnson et al., 2000) ; [5] (Ochsenkühn-Petropoulou et al., 2003) ; [6] (Ponce de Léon et al., 2003) ; [7] (Zhang et Frankenberger Jr, 2003) ; [8] (Kulp et al., 2004) ; [9] (Haudin et al., 2007) ; [10] (Coppin et al., 2006) ; [11] (Chao et Sanzolone, 1989) ; [12] (Zhang et Moore, 1996) ; [13] (Dhillon et Dhillon, 1999) ; [14] (Gao et al., 2000) ; [15] (Wang et Chen, 2003) ; [16] (Balistrieri et Chao, 1987) ; [17] (Wright et al., 2003) ; [18] (Bujdoš et al., 2000) ; [19] (Tokunaga et al., 1991) ; [20] (Abrams et Bureau, 1990) ; [21] (Kang et al., 1991)

La fraction de Se soluble dans l'eau (extraction eau ultrapure, $CaCl_2$ ou KCl) permet d'estimer la quantité de Se susceptible d'être présente dans la solution de sol et donc la plus mobile car la plus facilement transférée vers les nappes phréatiques ou les eaux de surface et plus accessible pour les micro-organismes et les végétaux. La concentration en $CaCl_2$ ou KCl peut être ajustée afin de simuler la force ionique de l'eau équilibrée avec le sol étudié et ainsi approcher les conditions environnementales (Coppin et al., 2006).

Les phosphates permettent d'extraire, par échange d’anions, le sélénium adsorbé à la surface des constituants des sols. Différents extractants contenant des phosphates sont donc utilisés pour déterminer Se échangeable. Etant donné que l'adsorption de Se dans les sols se fait principalement avec les phases minérales (cf. Paragraphe II.3.), Se échangeable est généralement considéré comme représentatif de Se associé aux minéraux. Cette fraction séléniée peut être accessible pour les organismes (Martens et Suarez, 1997 b). Ainsi, des expériences de prélèvement de Se du sol par des plantes *(Secale cereale L.)*, ont mis en évidence que l’extraction avec KH_2PO_4 est plus représentative de la quantité de Se prélevé par les plantes que l’extraction à l'eau ou au KCl (Zhao et al., 2005).

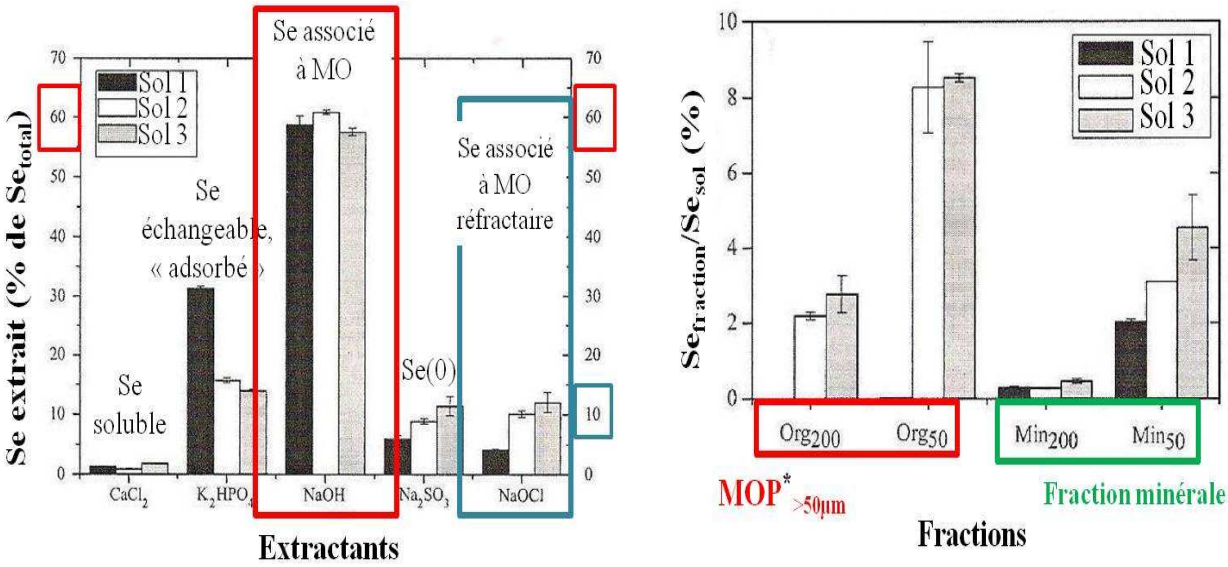
L'extraction de Se associé à la matière organique du sol se fait par oxydation (destruction) des composés organiques. Différents réactifs alcalins peuvent être utilisés. L'interaction Se/MO peut être précisée en déterminant, après acidification de l'extrait alcalin (HCl, pH 1), la part de Se associé aux acides fulviques (solubles à pH acide) et la part de Se associé aux acides humiques (précipités floconneux bruns à pH acide) (Kang et al., 1991 ; Gustafsson et Johnsson, 1994 ; Séby et al., 1997 ; Coppin et al., 2006).

Des extractions acides (HCl ou HNO_3) sont parfois utilisées. Cependant les fractions ciblées sont moins communément identifiées et peuvent correspondre au Se associé « fortement » aux oxydes de Fe, Al et Mn (Chao et Sanzolone, 1989 ; Wang et Chen, 2003), aux matériaux amorphes (Chao et Sanzolone, 1989), aux composés et minéraux de calcium (Chao et Sanzolone, 1989 ; Kang et al., 1991 ; Ponce De Léon et al., 2003), aux sulfures (Chao et Sanzolone, 1989) ou encore aux oxydes cristallins (Zhang et Moore, 1996).

Les extractions chimiques présentent des limitations. Tout d’abord, il est possible que Se lié à la fraction étudiée ne soit pas extrait en totalité. C'est le cas, par exemple, pour Se associé à la MO des sols puisque les extractions alcalines ne permettent pas d'extraire les composés organiques

stables d'un point de vue structure chimique, tels que l'humine, et les composés organiques stabilisés par association avec les minéraux (agrégation et/ou sorption) (Kögel-Knabner et al., 2008 ; Marschner et al., 2008). Au contraire, la fraction étudiée peut être surestimée par l'extraction de Se associé à une autre phase, ce qui dans le cas des schémas d'extractions séquentielles entraîne la sous-estimation de cette dernière. Par exemple, NaOCl, qui est utilisé pour extraire Se associé à la MO, dissout aussi les séléniures métalliques insolubles dans l'eau (>1 %) (Wright et al., 2003). En raison de ce manque de sélectivité, cette méthodologie est très critiquée. Cependant, elle reste encore très utilisée pour étudier la distribution d'un élément trace dans les sols.

Malgré leurs limites, les extractions chimiques permettent de dégager des processus et des facteurs affectant la mobilité de Se dans les sols. Par exemple, Coppin et al. (2006) ont étudié, dans trois sols, la distribution de Se, préalablement ajouté sous forme ^{75}Se(IV), avec un schéma d'extractions séquentielles complété par un fractionnement par densité/taille (Figure 8 ; Coppin et al., 2006) ;



a) b)

Figure 8 : Distribution de Se dans les fractions de sol : a) schéma d'extractions séquentielles ; b) fractionnement densité/taille (Coppin et al., 2006) **MOP : matière organique particulaire*

Le schéma d'extractions séquentielles indique que Se ajouté est majoritairement associé à la MO de type acides humiques et fulviques (60% de Se_{total} est extrait par NaOH ; Figure 8-a) pour les trois sols étudiés. Cette association Se/MO est confirmée par les résultats du fractionnement par densité/taille, Se étant majoritairement retrouvé dans la matière organique particulaire (Figure 8-

b). Bien que les teneurs en substances humiques solubles pour les trois sols étudiés soient différentes (4, 15 et 16 mg(C) g^{-1}), la quantité de Se associée à celles-ci est similaire (59, 61 et 58 % de Se_{total}). Deux hypothèses sont données pour expliquer ce résultat :

- soit la teneur en Se total dans les sols (µg kg^{-1}) est négligeable par rapport à la teneur en SH solubles dans NaOH et, donc, à la quantité de sites disponibles pour Se. Dans ce cas, leur faible concentration (4,0 ± 0,1 mg(C) g^{-1}) dans le sol 1 est suffisante pour fixer 59 % de Se_{total}.
- Soit la nature des SH solubles dans NaOH des trois sols est différente et leur réactivité vis-à vis de Se est fonction de leur nature.

Après acidification des extraits NaOH (séparation acides humiques et fulviques), Se est préférentiellement lié aux AF (54 à 65 % de Se extrait par NaOH) orientant vers l'hypothèse 2.

En couplant les extractions chimiques spécifiques à d'autres analyses, ces auteurs ont mis en évidence l'implication de la MO dans la rétention de Se dans des sols non fortement enrichis en MO (<30 %), alors qu'elle est peu étudiée d'un point de vue « mécanismes mis en jeu» par rapport à l'implication des minéraux (cf. Paragraphe II.3.). De plus, leur étude suggère une influence de la nature des composés humiques solubles sur l'interaction Se/MO dans les sols, rejoignant les résultats de Kamei-Ishikawa et al. (2007) qui montrent que la sorption de Se(IV) sur les acides humiques dépend de leur structure et de leur taille (cf. Paragraphe II.3.).

En conclusion, l'utilisation du Kd et des extractions chimiques pour évaluer les processus impliqués dans la rétention de Se peut être critiquée du fait que ces approches présentent une moins grande sélectivité que les techniques d'analyse sur solide permettant une observation directe des interactions Se/phases porteuses. Cependant, ces deux approches peuvent être associées à une détermination de Se extrait par des outils analytiques très sensibles, tels que la spectrométrie de masse à plasma induit (ICP-MS), permettant ainsi l'estimation de la fraction lessivable et des phases de rétention de Se présent dans les sols à l'état de traces (µg kg^{-1}). Cependant, étant donné que la réactivité de Se dépend également de ses espèces chimiques, il est indispensable de compléter ces approches par une analyse de spéciation de Se dans les sols.

IV. Méthodologies analytiques pour l'analyse de spéciation de Se à l’état de traces et l'étude de son devenir dans les sols

Une analyse de spéciation de Se dans les sols est nécessaire pour :

- comprendre les processus affectant Se. Par exemple, la présence de séléno-méthionine et/ou de séléno-cystine dans les sols est indicative d'une utilisation de Se par les micro-organismes et/ou les plantes pour leur métabolisme.
- évaluer le devenir de Se dans les sols. En effet, les différentes espèces séléniées ont des propriétés physico-chimiques spécifiques et, donc, des comportements différents (solubilité, interaction avec les constituants des sols ; cf. partie II.)

Les techniques permettant une analyse de spéciation des métaux et métalloïdes présents à l'état de traces impliquent une mise en solution préalable de leurs espèces. Contrairement à d'autres éléments traces, il n'existe pas de méthode analytique de référence permettant d'extraire quantitativement les différentes formes chimiques de Se présentes dans des matrices solides, telles que les sols, pour son analyse de spéciation (Pyrzyńska, 2002). Cette préparation de l’échantillon représente une étape clé de l’analyse puisque l’extraction doit préserver la spéciation originelle de Se et être la plus quantitative possible.

IV.1. Extractions pour l'analyse des espèces séléniées présentes dans les sols

Bien qu'il n'y ait pas de réactif communément employé pour extraire quantitativement et identifier les espèces chimiques de Se présentes dans les sols et les sédiments, il existe dans la littérature des études couplant extractions spécifiques simples ou séquentielles, décrites au paragraphe III.2., et analyse de spéciation de Se dans les extraits.

Concernant l'aspect quantitatif de l'extraction des espèces de Se, il dépend de la nature des sols et de la répartition de Se au sein de leur phase solide. Pour les sols et les sédiments, les phosphates et les réactifs acides permettent d'extraire, respectivement 0,3 à 36 % de Se_{total} et 5 à 30 % de Se_{total}, tandis que NaOH ou TMAH permettent d'extraire 19 à 95% de Se_{total} (Chao et Sanzolone, 1989 ; Kang et al., 1991 ; Tokunaga et al., 1991 ; Séby et al., 1997 ; Sharmasarkar et Vance, 1997 ; Bujdoš et al., 2000 ; Ponce De Léon et al., 2003 ; Wang et Chen, 2003 ; Kulp et Pratt, 2004 ; Coppin et al., 2006).

D'après l'étude de Wright et al. (2003) réalisée sur des sédiments artificiels contenant Se ajouté sous différentes formes (Se(VI), Se(IV), Se(0) et Se(-II) précipités avec Fe), l'augmentation du pH de K_2HPO_4 de 7 à 8 permet d' augmenter l'efficacité de l'extraction de 64 % de Se_{total} à 81 % de Se_{total} (Wright et al., 2003).

Cependant, peu d'études ont appréhendé les changements de spéciation de Se au cours des extractions (Tableau 9).

Tableau 9. Exemples de changement de spéciation de Se au cours d'extractions

Extractant	Redistribution	Réf
KH_2PO_4 1 mol L^{-1} (pH 4,8)	22 % de Se organique extrait est transformé en Se inorganique (corrélation positive entre Se inorganique et Se organique dans ce réactif ; r=0,70, P<0,01)	[1]
K_2HPO_4/KH_2PO_4 0,1 mol L^{-1} (pH ≈ 7)	Pas de transformation des formes Se(IV) et Se(VI)	[2]
NaOH 2 mol L^{-1}	Pas de transformation des espèces de Se(IV), Se(VI) et SeMet ; 23 % de SeCys oxydée en Se(IV)	[3]
TMAH 2,5 à 5 %	Pas de transformation des espèces de Se(IV), Se(VI)	[4]

[1] (Sharmasarkar et Vance, 1997) ; [2] (Martens et Suarez, 1997 b) ; [3] (Séby et al., 1997) ; [4] (Ponce De Léon et al., 2003)

Concernant les extractions utilisées pour estimer la fraction de Se adsorbé sur les minéraux, il semble plus judicieux d'utiliser le tampon phosphate à pH 7 à la place de KH_2PO_4 qui présente un pH plus faible (pH 4,8), pouvant induire une redistribution des espèces de Se au cours de l'extraction. En ce qui concerne les réactifs généralement utilisés pour extraire Se associé à la MO des sols, $K_2S_2O_8$ et NaOCl ne semblent pas être appropriés pour déterminer la spéciation de Se car ces réactifs sont des oxydants forts. Par contre, NaOH et TMAH n'entraînent pas de transformation des espèces de Se inorganiques. NaOH à 2 mol L^{-1} est cependant à l'origine d'une oxydation de la séléno-cystine en Se(IV).

Ces études donnent des pistes pour choisir un ou des réactifs dans le but d'analyser la spéciation de Se dans les sols. Cependant, il est toujours indispensable d'appréhender les changements de spéciation au cours des extractions mises en œuvre, en particulier pour les espèces organiques de Se.

IV.2. Outils analytiques pour l'analyse des espèces séléniées extraites

Les analyses de spéciation de Se dans les extraits de sol ont été généralement réalisées avec des techniques sélectives de la forme Se(IV), comme les techniques électrochimiques (voltammétrie de redissolution cathodique pulsée, DPCSV) et la génération d'hydrures couplée à divers détecteurs (spectrométrie d'absorption atomique, AAS ; spectrométrie de fluorescence atomique, AFS) (Martens et Suarez, 1997 b ; Séby et al., 1997 ; Bujdoš et al., 2000 ; Zhang et Frankenberger Jr., 2003 ; Kulp et Pratt, 2004). Pour déterminer les autres espèces de Se, ces méthodes doivent être intégrées dans un schéma de spéciation. Différents traitements physico-chimiques sont appliqués à l'échantillon dans le but d'accéder à la mesure de Se(VI) et de (Se(0) + Se(-II)), souvent appelé « Se organique » (Figure 9).

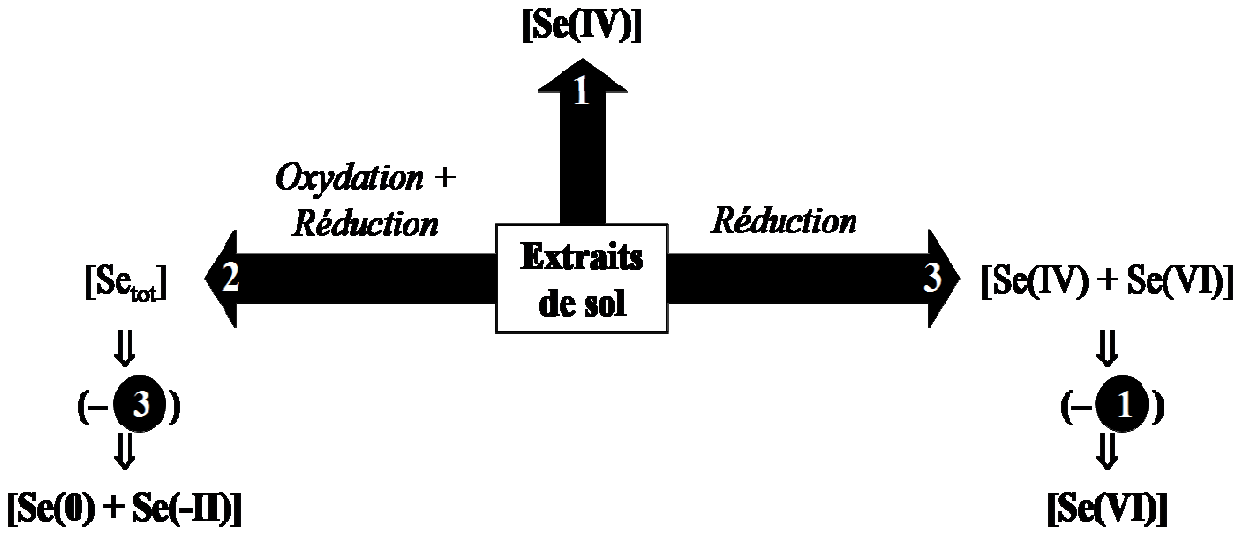


Figure 9. Schéma de spéciation pour la détermination de Se(IV), Se(VI) et (Se(0) + Se(-II)) à partir de techniques sélectives de Se(IV)

Ces traitements sont consommateurs de temps et peuvent entraîner des pertes et/ou des contaminations, ainsi que des redistributions entre les espèces chimiques. Par exemple, il a été observé que les acides aminés SeMet et SeCys sont transformés durant l'étape de réduction nécessaire à la détermination de Se(VI) (Heninger et al., 1998). De plus, ils ne permettent pas d'identifier les composés organiques, tels que les acides aminés ou les composés méthylés non volatils (MeSeOOH, $TMSe^+$), dans la fraction Se(0) + Se(-II) .

Les méthodes d'analyse de spéciation en ligne par séparation des espèces de Se suivie de leur détection individuelle, telles que le couplage chromatographie liquide à haute performance (HPLC) avec l'AFS ou l'ICP-MS, sont préférables puisqu'elles permettent l'identification et la quantification des espèces de Se, à partir d'étalons connus, avec une préparation minimale des échantillons. Deux équipes ont utilisé ce type de technique, en l'occurrence le couplage HPLC-ICP-MS, pour l'analyse de spéciation de Se dans des extraits de sédiments (Ochsenkühn-Petropoulou et al., 2003 ; Ponce De Léon et al., 2003). Les auteurs ont mis en évidence la présence de composés organo-séléniés connus, SeU (séléno-urée) et SeEt (séléno-éthionine) (Ochsenkühn-Petropoulou et al., 2003), et d'espèces inconnues de Se, probablement organiques (Ponce De Léon et al., 2003). A notre connaissance, aucune analyse de spéciation directe couplée n'a été réalisée pour les sols dans lesquels la biogéochimie de Se peut différer de celle des sédiments (conditions redox et activités microbiennes différentes).

- *Détection du sélénium par spectrométrie de masse à plasma induit (ICP-MS)*

Parmi les différents outils disponibles pour la détection de Se, c'est-à-dire AAS, AFS, spectrométrie d'émission optique à plasma induit -ICP-OES- ou encore ICP-MS, ce dernier est le détecteur le plus adapté à l'analyse de Se présent à l'état de traces dans des échantillons environnementaux tels que les extraits de sols, du fait de sa sélectivité, sa sensibilité, sa rapidité et sa précision (écart-type relatif généralement inférieur à 5 %). Ses capacités multi-élémentaire (40 à 60 éléments suivis lors d'une même analyse sous certaines conditions) et multi-isotopique associées à une gamme linéaire étendue (jusqu'à 9 ordres de grandeur) représentent également des atouts majeurs. Enfin, il permet de suivre des signaux transitoires et peut ainsi être couplé à différentes techniques de séparation des espèces des éléments métalliques, telles que les chromatographies en phase liquide et gazeuse (GC) et l'électrophorèse capillaire (CE).

Les ICP-MS les plus couramment utilisés sont équipés d'un analyseur de masse quadripolaire dont la résolution en masse est de l'ordre de l'unité. L'inconvénient majeur est dû aux interférences spectrales qui se traduisent par le recouvrement de signaux pour des ions atomiques ou moléculaires ayant des rapports m/z proches. Présent aux rapports m/z moyens (74, 76, 77, 78, 80 et 82), Se fait partie des éléments traces les plus interférés. Les interférences possibles sont rassemblées dans le tableau 10.

Tableau 10. Interférences spectrales pour les différents isotopes de Se (Darrouzès, 2005)

Isotopes de Se	**^{74}Se**	**^{76}Se**	**^{77}Se**	**^{78}Se**	**^{80}Se**	**^{82}Se**
Abondances (%)	***0,89***	***9,37***	***7,63***	***23,77***	***49,61***	***8,73***
Interférences isobariques	^{74}Ge	^{76}Ge		^{78}Kr	^{80}Kr	^{82}Kr
Interférences polyatomiques contenant Ar	**^{36}Ar^{38}Ar** ^{38}Ar^{36}S ^{40}Ar^{34}S	**^{38}Ar^{38}Ar** **^{40}Ar^{36}Ar** ‘^{0}Ar^{36}S ^{42}Ar^{34}S ^{40}Ca^{36}Ar	**^{36}Ar^{40}Ar^{1}H** ^{40}Ar^{37}Cl ^{41}K^{36}Ar ^{38}Ar$_2$^{1}H ^{39}K^{38}Ar	**^{38}Ar^{40}Ar** ^{38}Ar^{40}Ca ^{40}Ar^{37}ClH	**^{40}Ar^{40}Ar** ^{40}Ar^{40}Ca	^{40}Ar$_2$^{1}H$_2$ ^{38}Ar^{44}Ca ^{40}Ar^{42}Ca
Interférences polyatomiques ne contenant pas Ar	^{37}Cl^{37}Cl	^{64}Zn^{12}C ^{39}K^{37}Cl ^{40}Ca^{36}S ^{42}Ca^{34}S ^{41}K^{35}Cl ^{31}P$_2$^{14}N	^{42}Ca^{35}Cl ^{40}Ca^{37}Cl ^{65}Cu^{12}C ^{63}Cu^{14}N	^{44}Ca^{34}S ^{66}Zn^{12}C ^{41}K^{37}Cl ^{64}Ni^{14}N ^{64}Zn^{14}N ^{63}Cu^{14}N^{1}H ^{31}P$_2$^{16}O	^{32}S^{16}O$_3$ ^{68}Zn^{12}C ^{79}Br^{1}H	^{12}C$_{35}$Cl$_2$ ^{34}S^{16}O$_3$ ^{81}Br^{1}H ^{68}Zn^{14}N ^{12}C^{35}Cl$_2$
Interférences (formation d'oxydes)		^{60}Ni^{16}O^{+}	^{61}Ni^{16}O^{+}	^{62}Ni^{16}O^{+}	^{64}Ni^{16}O^{+} ^{64}Zn^{16}O^{+}	^{66}Zn^{16}O^{+}
Interférences (ions doublement chargés)	^{148}Nd^{++} ^{148}Sm^{++}	^{152}Sm^{++} ^{152}Eu^{++}	^{154}Sm^{++} ^{142}Gd^{++}	^{156}Gd^{++} ^{156}Dy^{++}	^{160}Gd^{++} ^{160}Dy^{++}	^{160}Dy^{++} ^{162}Er^{++}

Les dernières générations des ICP-MS quadripolaires sont, cependant, équipées d'une cellule de collision/réaction (C/RC) permettant de réduire fortement les interférences liées aux ions polyatomiques. Le fonctionnement de la C/RC est basé sur la pressurisation d'un multipôle, par un gaz ou un mélange de gaz, inséré entre les lentilles et le filtre quadripôlaire de l'ICP-MS. La pression est ajustée en contrôlant le débit de(s) gaz. Selon la nature du(es) gaz, différents mécanismes (réaction de transfert de charge ou d'atome, collision), permettent de supprimer les interférents polyatomiques (Paucot, 2006). Parmi les gaz de réaction testés (oxygène, méthane, monoxyde de carbone, oxyde nitrique, hélium et hydrogène), l'hydrogène (H_2) et le méthane (CH_4) semblent être les gaz les plus efficaces pour réduire les interférences de Se (Sloth et Larsen, 2000 ; Sloth et al., 2003 ; Darrouzès et al., 2005, 2007). L'hélium (He) peut être mélangé à H_2 pour une meilleure réduction des interférences (Darrouzès et al., 2005). Cependant, l'ajout de He entraîne une forte diminution de la sensibilité. Le choix des gaz ajoutés dans la cellule dépend également du type de technologie utilisé et donc du constructeur.

Après optimisation des conditions de la cellule de collision/réaction, des limites de détection, allant de 1 à 300 ng L^{-1}, ont été reportées pour Se total dans différentes matrices plus ou moins complexes, telles que des eaux de mer et de pluie (Leonhard et al., 2002 ; Darrouzès et al., 2005, 2007), des échantillons biologiques (sérum, sang, urine, plasma) (Nixon et al., 2003 ; Sloth et al., 2003 ; Sturup et al., 2005) et des végétaux (mousses, céréales) (Hinojosa Reyes et al., 2003 ; Niemelä et al., 2003 ; Kirby et al., 2008). Elles dépendent également du système d'introduction dans l'ICP-C/RC-MS et du type d'appareil utilisé et ne sont généralement reportées que pour un à trois isotopes, 77, 78, 80 et/ou 82 (Darrouzès, 2005). A notre connaissance, aucune étude n'a été réalisée sur des extraits de sol, qui sont des matrices très complexes du fait de la grande diversité d'éléments dissous (P, K, Ca, Cl, Zn, Ni, Cu, As, etc.) au cours de l'extraction de Se, susceptibles d'interférer les isotopes de Se.

L'utilisation d'une C/RC présente cependant des limites. D'une part, la nature et le débit de(s) gaz sont généralement adaptés à un élément et une matrice spécifique entraînant la perte de la capacité multi-élémentaire de l'ICP-MS et la nécessité d'optimiser ces paramètres pour chaque type d'échantillon. D'autre part, de nouvelles interférences peuvent être créées lors de l'ajout de gaz dans la cellule. C'est le cas pour Se, car l'utilisation de méthane ou d'hydrogène conduit à la création d'interférences de type SeH^+ ou BrH^+ pour les échantillons contenant du brome (Darrouzès et al., 2005) :

- Par l'hydruration de Se : les rapports m/z 77 et 78 sont interférés par la formation de, respectivement $^{76}Se^1H^+$ et $^{77}Se^1H^+$.
- Par l'hydruration de Br (2 isotopes : 79 et 81) : les rapports m/z 80 et 82 sont interférés par la formation de, respectivement, $^{79}Br^1H^+$ et $^{81}Br^1H^+$.

Il est donc nécessaire d'appliquer des corrections mathématiques pour l'utilisation des isotopes 77, 78, 80 et 82 de Se (Hinojosa Reyes et al., 2003 ; Darrouzès et al., 2005). Pour les corrections des interférences liées à l'hydruration, des étalons de Se et de Br sont analysés régulièrement au cours de l'analyse des échantillons dans le but de déterminer respectivement :

- le facteur d'hydruration de Se : $f_{Se} = {}^{83}I/{}^{82}I = {}^{82}Se^1H^+ / {}^{82}Se$.
- le facteur d'hydruration de Br : $f_{Br} = {}^{82}I/{}^{81}I = {}^{81}Br^1H^+/{}^{81}Br$.

Ainsi, les isotopes 77, 78, 80 et 82 de Se peuvent être corrigés selon les équations 3 à 8 (Hinojosa Reyes et al., 2003 ; Darrouzès et al., 2005).

$^{77}Se = {}^{77}I - (f_{Se} \cdot {}^{76}Se)$ (3)

$^{78}Se = {}^{78}I - (f_{Se} \cdot {}^{77}Se).$ (4)

$^{79}Br = {}^{79}I - (f_{Se} \cdot {}^{78}Se)$ (5)

$^{80}Se = {}^{80}I - (f_{Br} \cdot {}^{79}Br)$ (6)

$^{81}Br = {}^{81}I - (f_{Se} \cdot {}^{80}Se)$ (7)

$^{82}Se = {}^{82}I - (f_{Br} \cdot {}^{81}Br)$ (8)

avec,

^{x}I : intensité du signal du rapport *m/z* x

^{y}Se : intensité du signal de l'isotope y de Se sans interférence

^{z}Br : intensité du signal de l'isotope z de Br sans interférence

f_{Se} : facteur d'hydruration de Se

f_{Br} : facteur d'hydruration de Br

- *Séparation des espèces séléniées par chromatographie liquide à haute-performance (HPLC)*

L'électrophorèse capillaire (CE) et les chromatographies en phases gazeuse (GC) et liquide (HPLC) sont des techniques qui permettent de séparer les différentes espèces chimiques d'un élément. En couplage avec un détecteur sélectif et sensible tel que l'ICP-C/RC-MS, elles permettent une analyse directe des espèces séléniées. Le tableau 11 présente une comparaison de ces trois techniques.

Tableau 11. Comparaison des techniques séparatives pour l'analyse de spéciation de Se

	CE[a]	**GC[b]**	**HPLC[c]**
Types de composés	Non volatils	Volatils et stables thermiquement	Non volatils
Mécanismes de rétention	Peu nombreux	Peu nombreux	Nombreux
Pré-traitement	Minime	Requis	Minime
Résolution	Bonne	Bonne	Moyenne
Volume injecté	0,1 µL	1 à 2 µL	20 à 100 µL
Couplage avec l'ICP-MS	Très délicat	Délicat	Aisé
Références	(Pyrzyńska, 2001)	(Bouyssière et al., 2002)	(Montes-Bayón et al., 2003)

[a] CE : Electrophorèse capillaire ; [b] GC : Chromatographie Gazeuse ; [c] HPLC : Chromatographie Liquide Haute-Performance

La séparation électrophorétique, réalisée dans un capillaire soumis à un champ électrique, est basée sur différentes propriétés des espèces en solution (conductivité, pKa, etc.) porteuses ou non d'une charge électrique. Elle est très performante pour séparer les anions séléniés (Se(IV) et Se(VI)), sa sélectivité étant dix fois supérieure à celle de la chromatographie en phase liquide. Cependant, des modifications des temps de rétention des différentes espèces et des perturbations de la ligne de base ont été observées au cours de l'analyse de matrices chargées en sels (Pyrzyńska, 2001), ce qui est le cas des extraits de sols. Les limites de détection obtenues sont généralement supérieures à la dizaine de µg L^{-1}même avec un détecteur très sensible tel que l'ICP-MS (Pyrzyńska, 2001), ce qui est trop élevé pour l'étude d'échantillons contenant Se à l'état de traces (ng L^{-1} au µg L^{-1}). Enfin, le couplage de l'électrophorèse capillaire avec l'ICP-MS reste délicat à mettre en œuvre (Álvarez-Llamas et al., 2005).

La chromatographie en phase gazeuse (GC) ne permet de séparer que les espèces volatiles et stables thermiquement, ce qui n'est pas le cas de la plupart des espèces séléniées, exceptés DMSe, DMDSe et le diéthylséléniure (DESe). Avant analyse, les composés tels que Se(IV) et Se(VI) et les acides aminés séléniés doivent subir une dérivation (Bouyssière et al., 2002). Or, à l'heure actuelle, il n'existe pas de protocole permettant de dériver simultanément toutes ces espèces et cette étape de dérivation comporte un risque de pertes non négligeables (Haberhauer-Troyer et al., 2003).

La chromatographie liquide à haute performance (HPLC) ne nécessite pas d'étape de dérivation et offre un large éventail de mécanismes de séparation (échanges d'ions, phase normale ou inverse avec ou sans appariement d'ions, exclusion stérique) permettant de séparer des composés possédant différentes propriétés physico-chimiques (polarité, solubilité, charge ionique, masse moléculaire, taille) (Montes-Bayón et al., 2003) et donc d'identifier simultanément différentes espèces inorganiques et organiques de Se (Uden et al., 2004).

- *Le couplage HPLC-ICP-MS*

L'efficacité de ce couplage a largement fait ses preuves pour la détermination de la spéciation de Se présent dans divers types d'échantillons environnementaux (Tableau 12).

Tableau 12. Exemples d'analyses de spéciation de Se par couplage HPLC- ICP-MS

Mécanisme	Colonne	Conditions chromatographiques	Espèces séparées	Matrice	L.D.[c] (ng(Se))	Réf.
Echange d'anions	Hamilton PRP-X 100	Tampon citrate 5 mmol L^{-1} - pH 4,8 – MeOH* 2%	SeCys~MeSeCys~Se(IV)-SeMet – Se(VI)	Extraits de végétaux	n.d.[d]	[1]
	Sperisorb 5 ODS-AMINO	Tampon phosphate pH 6 – GC[a] = 3,5-7 mmol L^{-1}	$TMSe^+$~SeCyst~SeMet – Se(VI) – Se(VI)	Eau et urines humaines	0,1 – 0,2	[2 -3]
	Merck Polyspher ICAN	Ion salicylate 6 mmol L^{-1} pH 8,5 – MeOH* 3%	SeMet – SeCys – Se(IV) – Se(VI)	Eau et trèfles	0,07 – 0,11	[4]
	Hamilton PRP-X 100	Tampon phosphate – GC[a] = 6 – 25 mmol L^{-1} – GP[b] = 5,5-11	SeCys – SeMet – Se(IV) – Se(VI) (+ espèces de Te et As)	Etalons	0,07 – 0,23	[5]
	Hamilton PRP-X 100	Citrate d'ammonium 5,5 mmol L^{-1} - pH 4,2	$TMSe^+$~SeCys – Se(IV) – SeMet – Se(VI)	Huîtres	0,3 – 1,1	[6]
	Hamilton PRP-X 100	Tampon citrate 10 mmol L^{-1} - pH 5 – MeOH* 2%	SeCys – Se(IV) – SeMet – Se(VI)	Céréales	n.d.[d]	[7]
	Dionex AS10	Ion phosphate5 mmol L^{-1} pH 8 puis ion acetate 50 mmol L^{-1} pH 8	SeCys – SeMet – Se(IV) – Se(VI)	Extraits de levure	0,053 – 0,07	[8]
	Dionex AS7	HNO_3 – GC[a] = 6 – 300 mmol L^{-1}	Se(IV) – Se(VI) – SeMet – SeCys	Tissus de perche	0,002 – 0,005	[9]
	Hamilton PRP-X 100	Tampon phosphate 30 mmol L^{-1} – Na_2SO_4 10 mmol L^{-1} – GP[b] = 3,7-8	SeCys~Se(IV) – SeMet – Se(VI)	Biologiques	0,02 – 0,06	[10]
	Dionex CarboPac	Acide salicylique, salicylate sodium 6 mmol L^{-1} – pH 8	SeMet – SeCys – Se(IV) – Se(VI) + pic inconnu	Extraits de sédiments	n.d.[d]	[11]
	Hamilton PRP-X 100	Tampon de citrate d'ammonium pH 5,2 – MeOH* 2%	SeCys – SeMet – Se(IV) – Se(VI)	Etalons et eau de pluie certifiée	0,007 – 0,018	[12]
	Hamilton PRP-X 100	Tampon de citrate d'ammonium pH 5,2 – MeOH* 2%	SeCys – SeMet – Se(IV) – Se(VI)		0,002 – 0,028	[13]

[a] GC : gradient de concentration ; [b] GP : gradient de pH ; [c] L.D. : Limite de détection ; [d] n.d. : non déterminé ; * MeOH : méthanol

Espèces Se : MeSeCys : séléno-méthylsélénocystéïne ; SeCys : séléno-cystine ; SeEt : séléno-éthionine ; SeMet : séléno-méthionine ; SeU : séléno-urée ; $TMSe^+$: ion triméthylsélénonium

[1] (Ge et al., 1996) ; [2] (Quijano et al., 1996) ; [3] Quijano et al., 1999) ; [4] (Alsing Pedersen et al., 1997) ; [5] (Casiot et al., 1999) ; [6] (Moreno et al., 2001) ; [7] (Stadlober et al., 2001) ; [8] (Chassaigne et al., 2002) ; [9] (Jackson et al., 2002) ; [10] (Simon, 2003) ; [11] (Ponce de Léon et al., 2003) ; [12] (Darrouzès et al., 2005) ; [13] (Darrouzès et al., 2008)

Mécanisme	Colonne	Conditions chromatographiques	Espèces séparées	Matrice	L.D.[c] (ng(Se))	Réf.
Phase inverse avec appariement d'ions	Phenomenex C18	Hexanesulfonate 10 mmol L^{-1} – MeOH* 0,1% – pH 3,5	Se(VI) – Se(IV) – SeCys – SeMet	Thon	0,14 – 0,24	[14]
	Waters RP8	99/1 eau/méthanol – TFA** 0,6% - pH 2	Se(VI)~Se(IV) – SeCys – SeMet – SeEt	Biologiques	0,05 – 0,2	[15]
	Waters RP8	99/1 eau/méthanol – TFA** 0,1% - pH 2	Se(VI)~Se(IV) – SeCys – SeMet	Ail / Levure	n.d.[d]	[16-17]
	Nucleosil C18	Formate d'ammonium 30 mmol L^{-1} - pH 5 – MeOH* 5% - TBA*** 10 mmol L^{-1}	SeCys~SeMet ~Se(IV)~SeEt – Se(VI)	Compléments alimentaires	0,002 – 0,03	[18]
	LiChrosorb RP18	Sodium butanesulfonate 2,5 mmol L^{-1}– hydroxide tetramethylammonium 8 mmol L^{-1} – acide malonique 4 mmol L^{-1} – MeOH* 0,5% - pH 4,5	Se(VI)~Se(IV)~SeCys – SeUr – TMSe – SeMet – SeCM – SeEt	Suppléments nutritionnels	0,2	[19]
	Nucleosil C18	Tampon formate d'ammonium 30 mmol L^{-1}- pH 5 – MeOH* 5% – TBA*** 10 et 20 mmol L^{-1}	SeCys – SeMet – SeEt – Se(VI)	Urines humaines	0,002 – 0,08	[20]
	Inertsil ODS	Hydroxide tetraméthylammonium 10 mmol L^{-1} – acide malonique 4,5 mmol L^{-1} – pH 6,8	$TMSe^+$ – Se(IV)~SeUr~Se(VI) – SeMet – SeEt	Suppléments nutritionnels	0,1	[21]
	C8 Luna	HFBA**** 0,1% - MeOH*10%	Se(VI) ~Se(IV) – SeCys - SeMet	Extraits de sédiments	n.d.[d]	[11]
	Capcell-C18	Tris–HCl 10 mmol L^{-1}- GP[b] : pH 7,3-7,6 – MeOH* : GC[a] 1 - 50%	SeU – SeE -SeMet – Se(IV) - Se(VI)	Extraits de sédiments	n.d.[d]	[22]
	Thermo Hypercarb	Acide formique 240 mmol L^{-1} – pH 2,6 – MeOH* 10%	Se(IV) – Se(VI) – SeMet – SeCys - SeEt	Eaux naturelles	n.d.[d]	[23]
	Alltech C8	HFBA**** 0,1% – MeOH* 10%	SeMet – SeCys – Se(VI) – Se(IV)	Suppléments nutritionnel	n.d.[d]	[21]

[a] GC : gradient de concentration ; [c] GP : gradient de pH ; [c] L.D. : Limite de détection ; [d]n.d. : non déterminé

* MeOH : méthanol**TFA : acide trifluoroacétique ; *** TBA : acétate de tétrabutylammonium ; ****HFBA : Acide heptafluorobutyrique

Espèces Se : MeSeCys : séléno-méthylsélénocystéïne ; SeCys : séléno-cystine ; SeEt : séléno-éthionine ; SeMet : séléno-méthionine ; SeU : séléno-urée ; $TMSe^+$: ion triméthylsélénonium

[14] (Le et al., 1998) ; [15] (Kotrebai et al., 1999) ; [16] Kotrebai et al., 2000 a) ; [17] (Kotrebai et al., 2000 b) ; [18] (Marchante-Gayón et al., 2000) ; [19] (Zheng et al., 2000) ; [20] (Marchante-Gayón et al., 2001) ; [21] (Zheng et al., 2003) ; [22] (Ochsenkühn-Petropoulou et al., 2003) ; [22] (Dauthieu et al., 2006) ; [23] (Kirby et al., 2008)

Des limites de détection de l'ordre du ng L^{-1} ont pu être obtenues et ceci pour les deux mécanismes chromatographiques les plus utilisés, à savoir le mécanisme de partage en phase inverse avec appariement d'ions et le mécanisme d'échange d'anions.

Le mécanisme de partage en phase inverse met en jeu une phase stationnaire apolaire. Il existe différentes colonnes de même type dont les phases stationnaires diffèrent selon la longueur de la chaîne alkyle (C8 ou C18) greffée à la surface d'un support solide (silice ou polymère). Ce mécanisme est donc le plus adapté à la rétention des composés organiques de Se. Afin de mieux retenir les acides aminés et pouvoir analyser les espèces inorganiques souvent ioniques, une alternative consiste à utiliser un agent entraînant la formation de paires d'ions hydrophobes qui interagissent avec la chaîne carbonée de la phase stationnaire. De cette manière, l'ajout d'hydroxyde de tétrabutylammonium (TBAH), agent cationique, permet une meilleure rétention des espèces inorganiques (Yang et Jiang, 1995). L'utilisation d'acide heptafluorobutyrique (HFBA) ou d'acide trifluoroacétique (TFA) comme agent anionique permet une élution plus tardive de l'ion triméthylsélénonium ($TMSe^+$) et éventuellement des acides aminés séléniés (Wrobel et al., 2003). Le mécanisme en phase inverse avec appariement d'ions permet donc de séparer un grand nombre d'espèces organiques de Se en complément des espèces inorganiques Se(IV) et Se(VI). Cependant, la phase mobile nécessaire pour le mécanisme « phase inverse » (méthanol, acétonitrile, etc.) et l'agent de paires d'ions (acide trifluoroacétique, acide heptafluorobutyrique, etc.) peuvent représenter une limite pour la détection par ICP-MS. En effet, l'introduction d'une teneur trop élevée en solvant organique et/ou en agent de paire d'ion, dans le plasma de l'ICP-MS, peut entraîner l'altération de l'ionisation caractéristique du plasma d'argon et la diminution du signal des espèces séléniées (Michalke, 2002).

En échange d'anions, la phase mobile ne nécessite pas de solvant organique mais sa teneur en sels doit être inférieure à 1 g L^{-1}, teneur maximale acceptable par l'ICP-MS. Ce mécanisme est généralement réalisé à l'aide d'une phase stationnaire de groupements échangeurs ammonium quaternaire (R-N(CH_3^+)) et de phases mobiles contenant des ions phosphates, citrates ou de la soude. Il permet de séparer les espèces inorganiques Se(IV) et Se(VI) ainsi que quelques espèces organiques (SeMet, SeCys).

Globalement, l'échange d'anions est plus robuste que le partage en phase inverse vis-à-vis de la sensibilité de la détection par ICP-MS (Michalke, 2002) et est moins sensible aux phénomènes d'interférences dûs aux constituants de la matrice des échantillons (Beauchemin et al., 1989). Il est donc très utilisé pour identifier les espèces inorganiques de Se et quelques espèces organiques

(SeMet et SeCys) dans les matrices chargées telles que les extraits de sols. Par contre, la phase inverse avec appariement d'ions permet d'identifier un plus grand nombre d'espèces organiques en complément de Se(IV) et Se(VI). Ces deux types de chromatographies peuvent donc être utilisés de manière complémentaire en fonction des espèces observées et de la matrice des échantillons étudiés.

IV.3. Traçage isotopique pour le suivi des transformations du sélénium dans l'environnement

La détermination de la distribution (fractionnement par extractions spécifiques) et de la spéciation du sélénium dans différents types de sols permet d'estimer les phases solides majoritairement impliquées dans la rétention des espèces séléniées et de corréler la répartition des espèces aux caractéristiques physico-chimiques et/ou biologiques des sols. Cependant, pour prédire la réactivité et la mobilité de Se dans un sol ou un écosystème donné, il est également judicieux de suivre l'évolution de sa distribution et les transformations de ses espèces dans le temps. Si, pour Se dans les sols, aucune étude n’existe dans ce sens, l'utilisation conjointe de traceurs isotopiques stables et d'une technique de détection précise, typiquement la spectrométrie de masse, a largement montré son efficacité pour le suivi de la dynamique d'autres contaminants, notamment le mercure et l'étain, sujets, dans l'environnement, à des mécanismes complexes et antagonistes tels que adsorption/désorption (Hintelmann et Harris, 2004), méthylation/déméthylation (Rodriguez Martin-Doimeadios et al., 2004), oxydation/réduction (Whalin et Mason, 2006) ou encore assimilation/excrétion (Rodriguez-Gonzalez et al., 2005 a).

- *L'intérêt des traceurs isotopiques stables pour les études environnementales*

Les premières méthodes expérimentales pour le traçage des processus environnementaux des éléments traces (métaux et métalloïdes) utilisaient des espèces marquées radioactives. La manipulation d'espèces radioactives demande un équipement spécifique, notamment pour la protection des manipulateurs. L'utilisation de traceurs isotopiques stables ne demande pas d'équipement spécifique pour leur manipulation. Ce sont des espèces enrichies artificiellement avec un des isotopes de l'élément étudié, par exemple ^{77}Se(IV), de manière à obtenir une empreinte isotopique différente de l'abondance naturelle (Monperrus et al., 2004).

Le traceur isotopique stable peut être employé à de faibles concentrations si l'on souhaite rester dans les conditions d'un milieu non contaminé ou à de fortes concentrations dans le cas où l'on cherche à évaluer la réponse d'un milieu à des changements environnementaux (contamination importante). Plusieurs espèces enrichies avec différents isotopes stables peuvent être utilisées simultanément (exemple, ^{77}Se(IV) + ^{82}Se(VI)), ce qui permet de connaître la contribution de chacun des mécanismes antagonistes (adsorption/désorption, oxydation/réduction) sur le résultat net. En utilisant ce type de méthode, il est aussi possible de suivre simultanément l'évolution des espèces ajoutées et des espèces naturellement présentes et donc de tirer des conclusions environnementales sur leurs comportements respectifs (Hintelmann et Evans, 1997). Ces traceurs isotopiques stables permettent également de suivre les transformations et les inter-conversions entre espèces durant les différentes étapes de préparation des échantillons pour leur analyse de spéciation (Monperrus et al., 2004). Du fait de tous ces avantages, leur utilisation s'est largement développée pour améliorer notamment la compréhension du cycle biogéochimique du mercure, de l'étain et du chrome dans l'environnement (Rodriguez-Gonzalez et al., 2005 b).

- *Le suivi des transformations : principe et mise en œuvre*

La figure 10 illustre le principe de l'utilisation des traceurs isotopiques stables

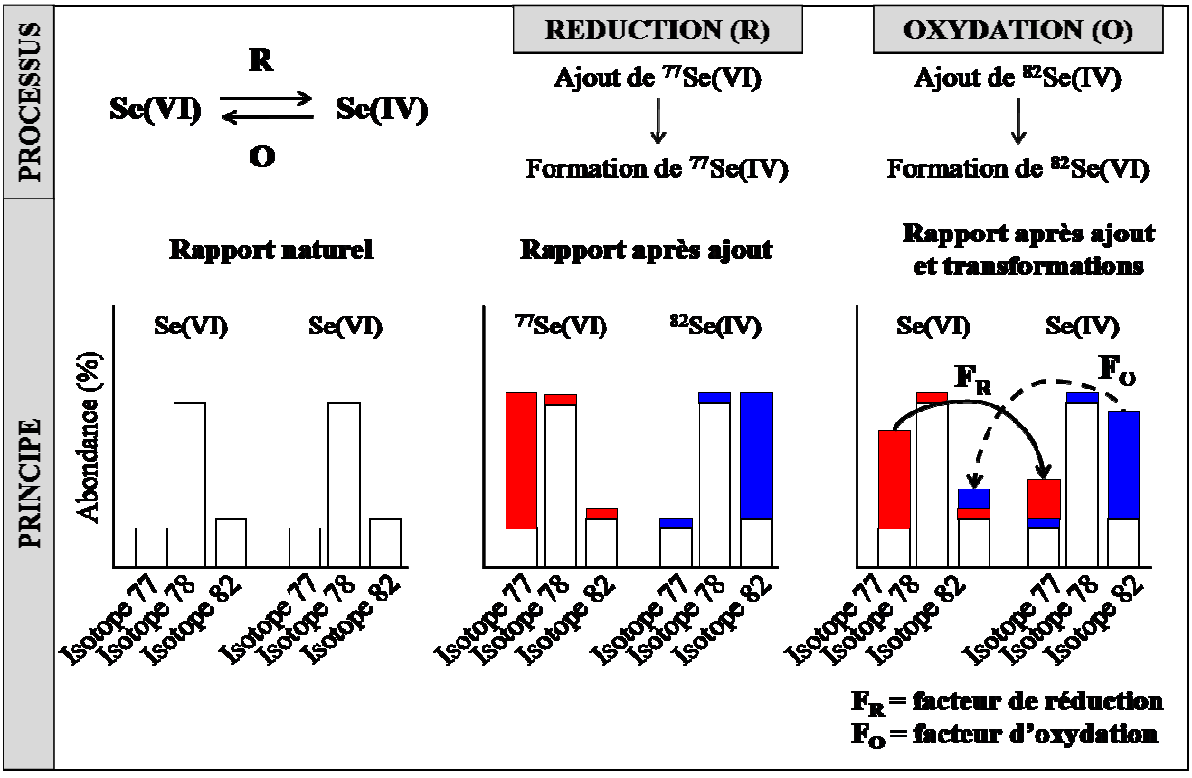


Figure 10. Principe de l'utilisation des traceurs isotopiques stables : application à l'étude des transformations redox de Se

La transformation des espèces marquées isotopiquement est détectable par la mesure des rapports isotopiques de Se pour chaque espèce. L'obtention de rapports isotopiques précis est donc indispensable, notamment lorsque des concentrations en traceur très faibles sont utilisées et que la détection de transformations minimes est recherchée.

Les paramètres instrumentaux de la détection par ICP-MS doivent donc être optimisés (Rodriguez-Gonzalez et al., 2005 b). Cette étape est critique pour le sélénium dont tous les isotopes sont très interférés (cf. Paragraphe IV.2.). Ces interférences doivent être totalement éliminées en optimisant les paramètres de la cellule de collision/réaction et en corrigeant mathématiquement les interférences restantes (cf. Paragraphe IV.2.). Cela implique un choix judicieux du traceur isotopique stable de Se en fonction des éléments, susceptibles d'interférer, présents dans la matrice de l'échantillon étudié. D'autres paramètres de l'ICP-MS doivent également être contrôlés : le temps mort du détecteur et le biais de masse (Rodriguez-Gonzalez et al., 2005 b). Le temps mort du détecteur correspond au temps avant et après chaque « pulse » d'acquisition pendant lequel le détecteur n'enregistre aucun signal. Si des ions arrivent sur la surface du détecteur pendant le temps mort, ils ne sont pas détectés. Le temps mort optimum d'un détecteur doit donc être fixé de manière à ce que les rapports isotopiques soient constants sur une gamme de concentration. Le biais de masse est caractérisé par la différence entre la mesure du rapport isotopique expérimental et le rapport théorique qui provient de la variation de transmission de l'instrument. Cette discrimination instrumentale est due au procédé d'ionisation ou à une différence de détection par le spectromètre de masse. Pour un ICP-MS, ce biais est dépendant du temps. Le facteur correctif du biais de masse doit donc être déterminé périodiquement pendant l'analyse. Deux méthodes existent pour le déterminer (Rodriguez-Gonzalez et al., 2005 b):

- la méthode de «l'encadrement» qui consiste à analyser un échantillon de composition isotopique certifiée entre chaque mesure de l'échantillon étudié.
- la méthode simultanée avec ajout d'un étalon interne de composition isotopique certifiée.

Pour Se, cette deuxième méthode est plus complexe, puisqu'il faut trouver un élément de masse isotopique proche de Se, qui est donc choisi parmi les éléments les plus interférés en ICP-MS. Les paramètres de la séparation chromatographique des différentes espèces chimiques doivent également être optimisés pour atteindre une résolution convenable entre les pics ainsi que des pics symétriques pour minimiser les erreurs sur l'intégration (Rodriguez-Gonzalez et al., 2005 b). En effet, la forme des pics est très importante car la méthode la plus simple et la plus rapide pour déterminer les rapports isotopiques de chaque espèce est basée sur la mesure des aires des pics.

- *Exemples d'études utilisant les traceurs isotopiques stables du sélénium*

Se étant un élément essentiel pour les hommes, les méthodologies employant des traceurs isotopiques stables de Se a, en très grande majorité, été développée pour l'étude du métabolisme des différentes espèces de Se inorganiques (Se(IV), Se(VI)) et organiques (SeMet, SeCys) chez les mammifères (souris, humains) afin de comprendre les différentes étapes de leur transformation, leurs fonctions biologiques et l'intérêt de leur utilisation comme compléments alimentaires (Suzuki et al., 2006 a, b, c ; Gonzalez Iglesias et al., 2007 ; Suzuki et al., 2008). Une des études les plus récentes a été menée dans le but de comparer simultanément la distribution et le métabolisme de quatre espèces séléniées, ^{76}Se-méthylsélénocystéine (MeSeCys), ^{77}Se-séléno-méthionine (SeMet), ^{78}Se(VI) et ^{82}Se(IV), chez des rats grâce à l'utilisation des traceurs isotopiques stables et une analyse de spéciation par HPLC-ICP-MS (Suzuki et al., 2008).
Dans ces études, les protocoles de synthèse des traceurs isotopiques stables spécifiques d'une espèce séléniée à partir de la forme chimique commercialement disponible, Se(0), ont été développés pour les espèces inorganiques et certaines formes organiques de Se. Ainsi, les protocoles d'obtention des espèces Se(IV) et Se(VI) ont été validés (Van Dael et al., 2004), ce qui constitue une étape indispensable à l'étude du devenir de ces espèces dans l'environnement.

Seules deux équipes, à notre connaissance, ont utilisé les traceurs isotopiques stables pour l'étude du comportement de Se dans l'environnement. La première étude présente le développement d'une méthodologie analytique permettant de déterminer des coefficients de distribution solide/liquide pour l'espèce Se(IV) et pour l'espèce Se(VI) présentes simultanément dans les sols et les sédiments (Collins et al., 2006). Pour valider leur méthodologie, les auteurs ont vérifié l'absence de réactions d'oxydo-réduction entre les oxyanions de Se durant 48h, en suivant l'évolution des rapports isotopiques ^{78}Se(VI)/^{80}Se(VI) et ^{76}Se(IV)/^{80}Se(IV) en solution. Les résultats obtenus montrent que lorsque les deux oxyanions sont présent simultanément dans la solution de sol ou de sédiment, les Kd obtenus pour Se(IV) sont largement supérieurs à ceux obtenus pour Se(VI) (Collins et al., 2006), comme préalablement observé par comparaison des résultats obtenus pour Se(IV) et Se(VI) individuellement (Loffredo, 2010). Cette étude représente une avancée considérable pour la prise en compte du facteur « spéciation » dans la modélisation de la mobilité de Se pour les analyses de sûreté du stockage des déchets radioactifs HAVL, bien que mise en oeuvre pour des concentrations en Se très élevées (0,8 à 25 mg kg^{-1}). La seconde étude présente l'évolution de ^{82}Se(IV) fraîchement ajouté par voie liquide dans un mésocosme simulant une zone humide (colonne d'eau + sédiment). La concentration en ^{82}Se(IV) fraîchement

ajouté dans la colonne d'eau diminue fortement, de 25 à moins de 2 µg L^{-1} au cours des 20 premiers jours, et devient inférieure à la limite de détection (0,18 µg L^{-1}) au bout de 50 jours. Cette diminution peut s'expliquer par l'incorporation de Se(IV) dans les sédiments et/ou par sa volatilisation. L'analyse des sédiments confirme l'incorporation de ^{82}Se(IV) et indique sa migration de la surface vers la profondeur des sédiments avec le temps (Hu et al., 2009).

Depuis les années 1990, le développement de protocoles d’analyses de spéciation ultra-traces et des méthodologies utilisant les traceurs isotopiques stables spécifiques d’un composé ont offert de nouvelles possibilités expérimentales pour l’étude de la réactivité des éléments traces dans les différents compartiments environnementaux. Contrairement à d’autres éléments traces (Hg, Sn) ou à d’autres matrices (eaux, échantillons biologiques), l’étude de Se dans les sols n’a pas hérité de ce regain probablement dû au fait qu’il est un élément toxique pour des concentrations plus élevées que Hg ou As et que le sol est une matrice complexe contenant de nombreux éléments en concentrations élevées (mg kg^{-1}) interférant ses isotopes en ICP-MS.

V. Bilan et présentation du travail de recherche

Le sol est un compartiment de la biosphère primordial dans l'étude des risques (carence ou toxicité) associés au sélénium, puisqu'il contrôle son transfert vers les végétaux qui représentent la principale source de Se pour les animaux et les hommes. Dans le contexte du stockage des déchets radioactifs HAVL, le sol est considéré comme le premier compartiment de la biosphère à être affecté en cas de relargage potentiel de Se à partir du lieu de stockage, via l'irrigation des cultures avec de l’eau des nappes phréatiques contaminées. Il est donc nécessaire de comprendre les processus impliqués dans la rétention et l'accumulation de Se dans les sols de surface, ainsi que ceux affectant sa capacité à être remobilisé et transféré vers les autres compartiments de la biosphère (eaux de surface et souterraines, végétaux).

Les analyses de sûreté du stockage doivent prévoir les risques sur une longue échelle de temps (≈10 000 ans). La prédiction sur le long terme requiert de tenir compte des variations subies par les sols du site d'étude (exemple : nature et teneur en MO). Ces variations peuvent être d'autant mieux simulées quand la réactivité de Se est étudiée pour une large gamme de sols aux caractéristiques contrastées.

Actuellement, il est clair que l'immobilisation de Se dans les sols riches en oxydes de Fe et Al et pauvres en matière organique (MO <1 %), tels que les sols volcaniques japonais et les terres rouges (cf. Paragraphe III.1.), est principalement due à son adsorption sur ces phases minérales. A l'opposé, la MO est un réservoir primordial de rétention de Se dans les sols riches en MO, tels que les sols de tourbe et les podzosols de forêt suédois (>30 %) (cf. Paragraphes II.3. et III.1.). Dans ces sols, le mécanisme suggéré est l’incorporation de Se au sein des substances humiques après sa réduction microbienne. Cependant, la MO semble influencer également la rétention de Se dans les sols minéraux (MO <10 %) non spécifiquement enrichis en oxydes de Fe ou Al (cf. Paragraphe III.2.). Pour ces sols, le ou les mécanismes mis en jeu ne sont pas établis et pourraient correspondre à la sorption directe de Se sur les acides humiques, probablement au niveau des groupements amines et/ou à l'incorporation de Se après sa réduction microbienne, comme pour les sols riches en MO (cf. Paragraphe II.3.). Une étude récente questionne l’existence d’une interaction directe entre Se et la MO pour les sols minéraux puisque Se présent au sein de la MO particulaire (50 à 200 µm) d'un sol contenant 3,9 % de MO, est corrélé à la présence de Fe et Al (observations directes par microscopie). Une des interactions Se/MO pourrait donc avoir lieu via l'adsorption de Se sur les minéraux associés à la MO par sorption/agrégation.

En plus de Se associé ou incorporé aux composés humiques, d'autres espèces organiques de Se peuvent être présentes dans les sols suite à sa métabolisation par les micro-organismes et/ou les plantes (acides aminés, composés méthylés non volatils). De tels composés ont été identifiés dans quelques échantillons de sol, mais leur présence systématique n'est pas assurée et leur quantité indéterminée. En effet, peu d'études ont mis en œuvre une analyse de la spéciation de Se dans les sols et les quelques analyses de spéciation reportées ont été réalisées à partir de techniques sélectives de Se(IV) ne permettant pas l'identification des composés organiques de Se.

Cet état de l'art pose trois premières questions :

1. Quels sont les processus affectant la rétention de Se dans des sols de surface ne présentant pas de phase prédominante (oxyde / MO) ?

2. Quel est particulièrement le rôle de la MO sur la rétention et la spéciation de Se dans ces sols ?

3. Quelle est l'abondance des espèces organiques séléniées connues, provenant des processus de métabolisation et/ou de détoxication ?

Une prédiction correcte à long terme repose également sur la compréhension des processus lents impliqués dans son immobilisation et les changements de sa spéciation. C'est pourquoi, Sheppard (2011) préconise l'utilisation, au sein des modèles de prédiction, des valeurs de Kd déterminées après désorption de l'élément natif des sols. En effet, pour certains radionucléides et/ou éléments traces, en particulier le césium et le chlore, les valeurs de Kd déterminées à partir de la désorption de l'élément natif sont significativement plus élevées que celles déterminées à partir d'un ajout de l'élément dans les sols. Au contraire, la distribution solide/liquide du molybdène semble identique à court et long terme (Kd_{Mo} natif = Kd_{Mo} ajouté). Les études sur Se ont été focalisées soit sur le comportement de Se natif dans des zones fortement contaminées (>10 mg kg^{-1}), soit sur le comportement de Se fraîchement ajouté à l'état de traces puisque réalisées dans un contexte de contamination radiologique (risques de toxicité) ou de fertilisation (risques de carence) des sols. Le dopage des sols est généralement réalisé avec l'isotope radioactif ^{75}Se car il permet une détection aisée à des concentrations environnementales (µg kg^{-1}), mais ne permet pas un suivi des transformations chimiques affectant Se.

Ainsi, d’autres questions doivent être posées pour une prédiction robuste des risques à long terme :

1. Quelle est la distribution et la spéciation de Se natif dans les sols ? Existe-il des processus lents, comme pour Cs et Cl, impliqués dans l’accumulation et la transformation chimique de Se dans les sols ?

2. Est-ce que l’étude de Se natif permettrait d’explorer le comportement d’une contamination des sols en Se sur le long terme ?

Le travail de recherche mené au cours de cette thèse a eu pour objectif de contribuer à répondre à l'ensemble de ces questions et s’est articulé autour de deux axes.

Dans un premier temps, une méthodologie analytique a été développée pour déterminer quelles sont les espèces chimiques inorganiques et organiques de Se présentes dans les sols à l'état de traces, tout en estimant leur capacité à être lessivées (extraction à l'eau) ou leurs phases de rétention (extraction au tampon phosphate et à la soude). Pour compléter cette analyse de spéciation, une étude exploratoire de Se associé à la fraction colloïdale présente dans les extraits de sol a été menée.

Par la suite, deux stratégies d'investigation complémentaires ont été menées en s’appuyant sur la méthodologie développée préalablement.

La première étude a été focalisée sur la compréhension des paramètres affectant la distribution et la spéciation de Se natif dans 27 sols représentatifs des écosystèmes français. Ces sols proviennent de cultures, de prairies et de forêts et possèdent des caractéristiques contrastées distribuées de manière homogène (gradients). Ils présentent, en particulier, un gradient de teneur en MO compris entre 1 et 32 %, afin d’améliorer la compréhension de son rôle dans la rétention et la spéciation de Se dans les sols ne présentant pas de prédominance de phase.

La seconde étude concerne la réactivité différentielle de Se natif et Se fraîchement ajouté dans un sol de culture et un sol de forêt soumis pendant 3 mois à des cycles de séchage et d'inondation. Pour cette étude, les méthodologies employant les traceurs isotopiques stables ont été utilisées après avoir été adaptées à l’élément (Se) et la matrice (sol) étudiés, notamment en ce qui concerne l'obtention de rapports isotopiques précis (correction et contrôle des interférences au niveau des concentrations faibles étudiées). Cette méthodologie permet de suivre simultanément les évolutions de la distribution et de la spéciation de Se natif et Se fraîchement ajouté à l’état de traces.

CHAPITRE B.

DEVELOPPEMENT METHODOLOGIQUE : ANALYSE DE SPECIATION DU SELENIUM DANS LES SOLS A L'ETAT DE TRACES

Les études de spéciation de Se dans les sols sont basées sur des analyses du solide pour les échantillons contenant de fortes teneurs en Se (> dizaine de mg kg^{-1}) ou effectuées dans des extraits de sol obtenus par extractions séquentielles ou simples.

Dans ce second cas, les analyses de spéciation ont été réalisées via des techniques sélectives de Se(IV), telles que la génération d'hydrures couplée à des spectrométries d'absorption ou de fluorescence atomiques, méthodes suffisamment sensibles pour la détection de Se présent dans les sols à l'état de traces ($\mu g\ kg^{-1}$).

Cependant, ces techniques doivent être intégrées dans des schémas de spéciation afin d'avoir accès aux autres espèces séléniées. Ainsi, la quantification de l'espèce Se(VI) est obtenue après réduction de l'échantillon tandis que la fraction (Se(0) + Se(-II)), considérée comme étant représentative de « Se organique » est obtenue après oxydation/réduction de l'échantillon (cf. Paragraphe A.IV.2). Cette approche, impliquant plusieurs traitements de l'échantillon, peut entraîner des pertes, des contaminations et/ou des redistributions entre espèces et ne permet pas d'identifier les composés constituant la fraction « Se organique ».

Les analyses de spéciation de Se dans d'autres types d'échantillons environnementaux (eaux de pluie, eaux de mer…) et dans des échantillons biologiques (tissus et fluides animaux, humains et végétaux), développées depuis le début des années 1990, mettent en évidence l'efficacité du couplage chromatographie liquide à haute performance - spectrométrie de masse à plasma induit (HPLC-ICP-MS) pour l'identification des composés inorganiques et organiques de Se présents à faibles concentrations (limites de détection de l'ordre de quelques ng L^{-1} ; cf. Paragraphe A.IV.2).

L'optimisation d'une méthodologie basée sur l'utilisation d'extractions simples effectuées en parallèle et l'identification/quantification directe des espèces de Se dans les extraits par couplage HPLC-ICP-MS a donc été menée pour essayer de palier aux inconvénients identifiés. Ce travail a conduit à une publication dans le journal « *Analytica Chimica Acta* » en 2011, qui fait l'objet de la partie I de ce chapitre.

Partie I.

Selenium speciation analysis at trace level in soils

Julie Tolu[a, b], Isabelle Le Hécho[a *], Maïté Bueno[a], Yves Thiry[b] and Martine Potin-Gautier[a]

[a] Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement (LCABIE), Université de Pau et des Pays de l'Adour/CNRS, UMR 5254, IPREM, Hélioparc, 2 Avenue du Président Angot, 64053 Pau Cedex 9, France

[b] Agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs (Andra), Parc de la Croix Blanche, 1/7 rue Jean Monnet, 92298 Châtenay-Malabry Cedex, France

Article publié : « *Analytica Chimica Acta, 684 : 126 - 133* »

Analytica Chimica Acta 684 (2011) 126–133

Contents lists available at ScienceDirect

Analytica Chimica Acta

journal homepage: www.elsevier.com/locate/aca

Selenium speciation analysis at trace level in soils

Julie Tolu[a,b], Isabelle Le Hécho[a,*], Maïté Bueno[a], Yves Thiry[b], Martine Potin-Gautier[a]

[a] Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement (LCABIE), Université de Pau et des Pays de l'Adour/CNRS, UMR 5254, IPREM, Hélioparc, 2 Avenue du Président Angot, 64053 Pau Cedex 9, France
[b] Agence Nationale pour la gestion des Déchets RAdioactifs (Andra), Parc de la Croix Blanche, 1/7 rue Jean Monnet, 92298 Châtenay-Malabry Cedex, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 23 July 2010
Received in revised form 5 October 2010
Accepted 31 October 2010
Available online 9 November 2010

Keywords:
Selenium speciation
Soil
Trace level
Single extractions
Hyphenated analytical technique

ABSTRACT

This paper describes the development of an analytical methodology to determine speciation of selenium present in soils at trace level (μg kg^{-1}). The methodology was based on parallel single extractions and high performance liquid chromatography hyphenated to inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC–ICPMS). Two complementary chromatographic separations were used to confirm Se species identity. Different extractants, selected on the basis of sequential extraction schemes, were compared. Ultrapure water, 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer (KH_2PO_4/K_2HPO_4) at pH 7 and 0.1 mol L^{-1} sodium hydroxide extractants were finally chosen owing to their efficiency in extracting Se and compatibility with Se species stability. These extractants allow also assessing respectively water-soluble Se (i.e. the most mobile Se fraction), exchangeable Se (i.e. sorbed onto soil component surface) and Se bound to soil organic matter. This methodology gives thus information on Se mobility related to its distribution in soil with preservation of original Se speciation. Detection limits range from 3 to 29 ng(Se) L^{-1} and from 0.1 to 10 μg(Se) kg^{-1}, allowing determination of Se species concentrations in extracts from soils containing native Se at trace level. The methodology was applied to three soils with total Se concentrations between 210 and 1560 μg(Se) kg^{-1}.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Selenium is an element of environmental interest owing to the narrow range between its nutritionally required and toxic concentrations in many organisms [1]. Its mobility and bioavailability differ greatly depending on individual Se species [2]. In soil compartment, the most mobile Se forms, selenate (Se(VI)) and selenite (Se(IV)), can exist as aqueous species in solution or sorbed onto soil component surfaces [3–8]. Se(0) and metal selenides (Se(−II)) are insoluble and thus poorly mobile [9–11]. The abundance and mobility of organoselenium compounds, generally produced by biologic reduction of oxidized forms (e.g. selenoamino acids, selenoproteins, trimethylselenonium ion or volatile methylated compounds), are not well known [6,12,13]. Information about total Se content is thus not sufficient to assess Se mobility and behavior in soils and the determination of individual species in soils appears necessary.

Analytical methodology and validation for the determination of Se speciation, according to IUPAC recommendations [14], in soils are not available in the literature [1]. In order to understand and evaluate Se distribution and ensuing mobility, sequential extraction schemes (SES) have been generally used. They include three to six successive extractions with washing steps between each extraction, leading to a large dilution factor [15]. These procedures seem thus not adapted to soils containing relatively low Se concentrations (μg kg^{-1} level). Moreover, they require a series of shaking, centrifuge and filtration processes that increase the risk of Se loss, contamination and Se species redistribution. As a solution, Zhang and Frankenberger [15] suggested the use of parallel single extractions, which were applied to sediments. To determine water-soluble Se fraction, ultrapure water [13,15–20] or KCl or $CaCl_2$ solutions [8,21–23] have been employed. Various authors reported the effectiveness of phosphate solutions (K_2HPO_4 or KH_2PO_4) to recover exchangeable Se, considered generally as sorbed onto soil component surfaces [17,21,24–27]. Martens and Suarez [17] suggested the use of KH_2PO_4/K_2HPO_4 buffer at pH 7 to prevent Se redistribution that may result from the acid pH value (≈4.8) of a KH_2PO_4 solution. According to the results of Balistrieri and Chao [3] and Wright et al. [26], an increase to pH 8 could lead to higher recoveries. Se fraction associated to soil organic matter has been recovered with the help of NaOH [6,7,13,15,16,18,20,23,25], NaOCl [8,26,27] or $K_2S_2O_8$ solutions [17,21,28,29]. However, due to their oxidant characteristics, $K_2S_2O_8$ and NaOCl reagents may lead to Se species redistribution and appear thus not appropriated for Se speciation determination [17]. Moreover, Wright et al. [26] have shown that NaOCl may dissolve metal selenides (>1%). Extraction

* Corresponding author. Tel.: +33 5 59 40 76 72; fax: +33 5 59 40 76 74.
E-mail addresses: julie.tolu@etud.univ-pau.fr (J. Tolu), isabelle.lehecho@univ-pau.fr (I. Le Hécho), maite.bueno@univ-pau.fr (M. Bueno), yves.thiry@andra.fr (Y. Thiry), martine.potin@univ-pau.fr (M. Potin-Gautier).

0003-2670/$ – see front matter © 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.aca.2010.10.044

step using HCl or HNO_3 solutions has been also performed but these extractants were associated to different Se fractions by the authors: "strongly" associated to Al, Fe, Mn oxide surfaces [21,22], amorphous materials [21], calcium compounds or minerals [7,18,21], some sulphide minerals [21] or crystalline oxides [8].

Determination of selenium species in soil fractions was reported only in few of these works. Se(IV) selective techniques, i.e. hydride generation hyphenated to atomic absorption spectrometry (HG-AAS) and electrochemical methods, were generally used [8,13,15–17,27,28]. A combination of direct mineralized, reduced and oxidized sample analysis is thus needed to complete Se speciation, increasing the possibilities of element loss or contamination from the reagents and the risk of Se species redistribution. Se(IV), Se(VI) and only total Se(−II) (i.e. metal Se(−II) and organoSe(−II) compounds) are thus determined and organoselenium compounds remain unidentified. Hence, methods, which separate all individual species followed by their direct detection, are preferred. Indeed, they need only minimal sample pre-treatment and allow individual Se species identification [1]. To our knowledge such methods have never been applied to Se species determination in soils.

This study was thus conducted using high performance liquid chromatography–inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC–ICPMS) coupling for the determination of Se species extracted from soils after parallel single extractions. Different extractants, selected from SES, were tested and evaluated on the basis of extraction efficiency and compatibility with Se speciation preservation. Finally, the optimized analytical methodology was applied to different soils containing native Se at trace level ($\mu g\,kg^{-1}$), and corresponding data for Se species are reported.

2. Materials and methods

2.1. Reagents and samples

All reagents used were analytical grade. The solutions were prepared with ultrapure water obtained from a Milli-Q System (18.2 Ω cm). D,L-Selenomethionine (SeMet), L-selenocystine ($SeCys_2$), methane seleninic acid (MeSeOOH), sodium selenite (Se(IV)) and sodium selenate (Se(VI)) were obtained from Sigma–Aldrich (SigmaUltra, ≥99.0%). Stock standard solutions containing 1000 mg(Se) L^{-1} were prepared in ultrapure water, except $SeCys_2$, which was dissolved in 0.2% HCl for stabilisation. They were stored in the dark at 4 °C. Working standard solutions were prepared daily by dilution in ultrapure water.

An English meadow clay loam soil (Rothamsted), containing 423 $\mu g(Se)\,kg^{-1}$ of native selenium according to INRA analysis (Arras, France), was used for methodology optimization. It was air dried, sieved (<2 mm) and grinded in zirconium oxide bowl during 7 min at 30 Hz (Retsch MM200, Fisher Bioblock Scientific) before mineralization or extraction.

Two reference soil materials were used to validate the mineralization procedure and total selenium determination by ICPMS. The ZC-73001 (NCS, National Analysis Center for Iron and Steel, Beijing, China) soil reference material has total Se certified value of $210 \pm 20\,\mu g(Se)\,kg^{-1}$. The San Joaquin 2709a (NIST, National Institute of Standards and Technology, USA) soil reference material has a total Se indicative value of 1500 $\mu g(Se)\,kg^{-1}$. These two reference soils were chosen as corresponding total Se concentrations enclosing the Rothamsted one.

2.2. Soil mineralization procedure

Soils were mineralized by microwave-assisted acid digestion (Ethos Touch Control, Milestone). To avoid cross-contamination, all microwave vessels (PTFE) were washed according to the procedure described in Table 1-a. They were then rinsed with ultrapure water prior to sample digestions. Mineralization procedure is presented in Table 1-b. Digested samples were diluted to a final volume of 50 mL and boric acid was added to neutralize HF and avoid erosion of quartz parts of ICPMS sample introduction device. They were stored in polypropylene tubes at 4 °C until analysis. Sample digestion was realized in triplicate and a blank was added in each mineralization run.

Table 1
Vessel washing and mineralization procedures.

	Heating program
(a) Vessel washing	
ultrapure water: 5 mL HF: 2 mL–HNO_3: 6 mL HNO_3: 5 mL	Stage 1: 10 min, 1000 W, temperature/pressure ramp until 200 °C/10 bar Stage 2: 10 min, 1000 W, 200 °C/10 bar
(b) Soil	
Soil: 250 mg HF: 2 mL–HNO_3: 6 mL *Blank*	Stage 1: 20 min, 1000 W, temperature/pressure ramp until 200 °C/40 bar Stage 2: 20 min, 1000 W, 200 °C/40 bar

2.3. Parallel single extraction procedure

Six selective chemical solutions were tested on the basis of SES: ultrapure water, calcium chloride (5×10^{-4} mol L^{-1}), phosphate buffer (KH_2PO_4/K_2HPO_4, 0.1 mol L^{-1}) with pH 7 or 8, nitric acid (1 mol L^{-1}) and sodium hydroxide (0.1 mol L^{-1}).

Each extraction was realized in triplicate with following operating conditions: soil was placed in polypropylene centrifuge tube with extractant solution ($v : m = 5/150$ mL mg^{-1}), the mixture was mechanically stirred at 250 rpm (KS15, Edmund Bühler GmbH) during 24 h (room temperature). Then, the suspension was centrifuged at 15,000 × *g* for 30 min at 4 °C (Jouan). The supernatant was taken up and stored in a polypropylene tube at 4 °C until analysis. The residual solid phase was mineralized as described in Table 1-b in order to quantify unextracted selenium.

2.4. Total selenium determination by ICPMS

Total selenium was determined with an Agilent 7500ce ICPMS instrument equipped with an octopole collision/reaction cell. Sample introduction system was constituted of a concentric nebulizer (Meinhard Associates, CA, USA) and a Scott double pass spray chamber cooled to 2 °C. The parameter settings were as follows: Ar plasma gas flow, 15 L min^{-1}; Ar auxiliary gas flow, 0.86 L min^{-1}; Ar nebulizer gas flow, 1–1.1 L min^{-1}; H_2 gas flow, 4 L min^{-1}; radio frequency forward power, 1500 W; nickel sampler and skimmer cones, according to Darrouzès et al. [30]. These parameters were optimized daily using a solution of 1 $\mu g\,L^{-1}$ of gallium, yttrium, thallium and cerium. Acquisition parameters were: integration time, 100 ms per isotope; 10 replicates; monitored *m/z* 77 and 78. External calibrations in reconstituted extractants and standard additions were performed the same day in order to control matrix effects during Se quantification. Results indicated that standard additions were needed to compensate for matrix effects in extractant solutions.

Sample pre-treatments. Supernatants and digested solutions (total soil and residual solid phase) were filtered at 0.45 µm. As the sensitivity of the ICPMS detection can be decreased by high salt or acidity of samples, the samples were diluted as a function of salt concentration or acidity, i.e. twentyfold dilution for phosphate buffer supernatants and digested samples, and tenfold dilution for sodium hydroxide supernatants. All samples were acidified with concentrated HNO_3 at 2% before analysis.

2.5. Selenium speciation determination by HPLC–ICPMS

Chromatographic separation was carried out using an Agilent 1100 series HPLC pump, equipped with an autosampler and a variable volume sample loop. Chromatographic conditions were: anion exchange chromatography on a Hamilton PRP-X100 column (25 cm × 4.1 mm i.d.; mobile phase: 5 mmol L^{-1} ammonium citrate, 2% methanol with pH 5.2 and 7.7, according to Darrouzès et al. [30]) and mixed-mode chromatography (reversed phase and anion exchange) on a Thermo Hypercarb column (10 cm × 4.6 mm i.d.; mobile phase: 240 mmol L^{-1} formic acid, 1% methanol with pH 2.4, according to Dauthieu et al. [31]). The mobile phases were delivered at 1 mL min^{-1} isocratically for both conditions. The injection volumes varied from 100 μL to 400 μL depending on selenium concentrations. As previously detailed for total selenium determination, external calibration in reconstituted extractants and standard additions were compared to control matrix effects during individual species quantification. Results indicated that standard additions were needed to compensate for matrix effects only for selenocystine species.

Sample pre-treatments. Supernatants were diluted in mobile phase used for selenium species separation.

2.6. Determination of detection and quantification limits

Instrumental detection (D.L.) and quantification limits (Q.L.) were determined for mineralization and extraction procedures according to IUPAC recommendations [32]:

$$\text{D.L.} = \frac{3\text{s.d.}}{S} \quad (1)$$

$$\text{Q.L.} = \frac{10\text{s.d.}}{S} \quad (2)$$

with D.L. and Q.L. respectively being detection and quantification limits in ng(Se) L^{-1}; s.d. is the standard deviation of the background signal (10 blank measurements in reconstituted matrix) in counts s^{-1}; S is the calibration slope in (counts s^{-1})(ng(Se) L^{-1})$^{-1}$ for total analysis and (peak height)(ng(Se) L^{-1})$^{-1}$ for speciation analysis. Such instrumental D.L. and Q.L. were then converted in μg(Se) kg^{-1} of soil, taking into account sample (extracts or digested solution) dilution, soil mass and volume used for extraction or mineralization.

3. Results and discussion

3.1. Analytical methodology optimization

Firstly, the protocol for total selenium determination was validated with reference materials. Total ^{78}Se determination in the Rothamsted and reference soils was in complete agreement with theoretical values, supporting the reliability of mineralization and ICPMS quantification procedures (Table 2). Considering ^{77}Se, total Se concentrations showed upper values that could be due to polyatomic interferences ($^{41}K^{36}Ar$; $^{39}K^{38}Ar$; $^{40}Ar^{37}Cl$; $^{42}Ca^{35}Cl$; $^{40}Ca^{37}Cl$; $^{65}Cu^{12}C$; $^{63}Cu^{14}N$ [33]) in spite of the collision/reaction cell use. In consequence, only ^{78}Se based results were considered.

Secondly, the relevance of the six tested extractants was evaluated from: (i) their extraction efficiencies (total Se), obtained from the Rothamsted soil containing native Se at trace level; (ii) their compatibility with Se speciation preservation, assessed from a stability study.

Table 2
Total Se concentrations in the Rothamsted and reference soils (in μg(Se) kg^{-1}, mean values on 9 analysis replicates, uncertainty represents the standard deviation of the 9 analysis replicates).

	Certified values[a]	Obtained ^{78}Se values	Obtained ^{77}Se values
Rothamsted	423[b]	431 ± 21	559 ± 30
ZC-73001 (NCS)	210 ± 20	220 ± 15	599 ± 86
San Joaquin 2709a (NIST)	1500	1422 ± 87	1877 ± 204

[a] Uncertainty is given when available.
[b] Value obtained by Arras Laboratory (INRA, France).

3.1.1. Comparison of extractant efficiencies based on total Se mass balances

Total Se concentrations in supernatant ([Extracted Se]) and in residual solid phase ([Residual Se]) were determined for the six extractants (Fig. 1). Mass balances, i.e. [Extracted Se] + [Residual Se], were thus calculated and compared with total Se content in the soil (Fig. 1). These results indicated that no contamination or loss occurred during single-step extractions. Extracted Se amounts increased as follows: ultrapure water ≈ calcium chloride < phosphate buffer < (nitric acid <) sodium hydroxide, which is consistent with the successive use of these reagents in sequential extraction schemes [8,13,17,18,20,21,23,27,34].

Low levels of Se were extracted with ultrapure water and calcium chloride respectively 1.4 ± 0.2 and 0.9 ± 0.1% of total Se. However, water-soluble Se determination is important as it is considered as the most mobile and bioavailable Se fraction [35,36]. The concentration of the calcium chloride extractant (5×10^{-4} mol L^{-1}) was chosen in this study as resulting ionic strength corresponds to the one of water equilibrated with the Rothamsted soil. The use of calcium chloride extractant avoids thus ionic strength modifications that could occur during extraction with ultrapure water extractant [23]. Similar extraction efficiencies were obtained with ultrapure water and $CaCl_2$, indicating that water-soluble Se fraction was not affected by ionic strength variation in the studied range. In the literature, reported extraction efficiencies for soil samples obtained with ultrapure water varied from 0.3 to 19% of total Se [16,23,25,35] including those obtained by $CaCl_2$ or KCl extraction (from 1 to 5% of total Se) [21,22,34]. Phosphate buffer solutions with pH 7 or 8, commonly used for recovery of exchangeable Se, showed equal extraction efficiencies respectively 20 ± 1 and 21 ± 1% of total Se. pH adjustment to 8 did not lead to increase extraction efficiency contrary to the results of Balistrieri and Chao obtained by sorption/desorption experiment on goethite [3]. NaOH is usually used, after water and phosphate extractions in SES, to dissolve soil organic fraction [13,18,20,23,27,34]. Associated selenium content is thus considered as less mobile than water-soluble and exchangeable Se. This extractant allowed recovering the highest quantity of Se in the Rothamsted soil, i.e. 58 ± 5% of total Se. This result is in agreement with the literature that reported high NaOH efficiencies (from 30 to 70% of total Se), indicating that soil organic matter can generally represent a significant pool of Se [13,18,20,23,27,34]. Nitric acid extraction recovered Se amounts close to those obtained with phosphate buffers, i.e. 31 ± 8% of total Se but with a bad reproducibility (relative standard deviation ≈20%). Acidic extraction step using HNO_3 or HCl has been used in SES to solubilise Se remaining in soils after phosphate buffer and/or sodium hydroxide extractants [8,18,21,22], but it was not associated to one defined soil Se fraction [29].

3.1.2. Selenium species stability in single-step extractions

Before application of speciation analysis to soil extracts, Se species stability during extraction was controlled with individual species standard (Se(IV), Se(VI), $SeCys_2$, SeMet, MeSeOOH and $TMSe^+$) solutions prepared in tested extractants. For each extractant, species concentration was chosen according to total Se level measured in corresponding Rothamsted soil extract. Standard solutions were analysed by HPLC–ICPMS the day of preparation (d = 0 day), then after 7 and 20 days of storage at 4 °C in the

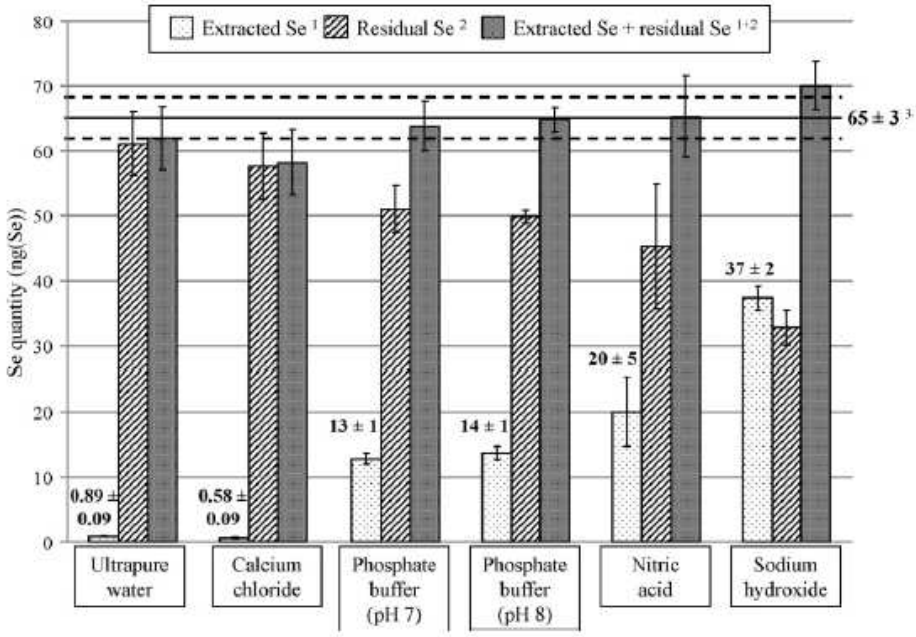


Fig. 1. Mass balances from single extractions. [1]Quantity of extracted Se from 0.150 g of soil with 5 mL of extractant (in ng); mean values and standard deviations (6 replicates) are indicated on the top of the histogram. [2]Quantity of residual (non extracted) Se from 0.150 g of soil with 5 mL of extractant (in ng) (standard deviations were calculated on 6 replicates). [3]Quantity of Se in 0.150 g of the Rothamsted soil (in ng): mean values (——) and standard deviations (– – –) on 9 replicates.

dark. Speciation conservation was evaluated using the method of Kramer et al. [37] and thus, the stability ratio (R_s) was calculated following Eq. (3):

$$R_s = \frac{[\text{Se species}]_{\text{at } d \text{ days}}}{[\text{Se species}]_{\text{at 0 days}}} \quad (3)$$

with $[\text{Se species}]_{\text{at } d \text{ days}}$ being mean value of Se species concentration for three replicate analyses at d days of storage (d = 7 or 20); $[\text{Se species}]_{\text{at 0 days}}$ being mean value of initial Se species concentration for three replicate analyses.

The uncertainty of measurement (U) was obtained from Eq. (4):

$$U = R_s \cdot (CV^2_{\text{at } d \text{ days}} + CV^2_{\text{at 0 days}})^{1/2} \quad (4)$$

with CV being variation coefficient calculated for three replicate analyses.

The stability of Se species can be concluded when the value "1" is comprised in the range $R_s \pm U$.

Strong matrix effects on chromatographic separation were observed in the case of nitric acid solution that prevented Se species identification. In consequence, stability study could not be performed for this extractant. The stability ratio and associated uncertainty are presented in Table 3 for the six Se species in the other tested extractants. Results indicated that selenite (Se(IV)), selenate (Se(VI)), selenocystine ($SeCys_2$), methane seleninic acid (MeSeOOH) and trimethylselenonium ion ($TMSe^+$) were stable in extractant solutions up to 20 days. Depending on the extractant, 10–25% of selenomethionine (SeMet) was oxidized between 0 and 7 days. During studies on selenium speciation, we have already experienced that SeMet in solution was degraded during storage. However, this rate remained constant from 7 to 20 days.

From these results and being associated to bad efficiency reproducibility, HNO_3 extractant was not used in the following part of this work. On contrary, NaOH which allows extracting the highest Se quantity with preservation of Se species stability was maintained. As phosphate buffers showed similar results concerning total Se recovery and species stability, only pH 7 buffer was selected for further applications. In the same way, ultrapure water was finally chosen instead of calcium chloride. The optimized methodology to determine soil Se speciation, involves thus ultrapure water, 0.1 mol L^{-1} phosphate buffer (KH_2PO_4/K_2HPO_4) with pH 7 and 0.1 mol L^{-1} sodium hydroxide, used as single parallel extractants. As water-soluble, exchangeable and bound to organic matter Se fractions were determined, this methodology is also indicative of soil Se content impact at short-term and long-term with preservation of original Se species.

Table 3
Stability ratios (R_s) and associated uncertainties (U) as a function of selenium species and extractants.

	Days	Ultrapure water	Calcium chloride	Phosphate buffer (pH 7)	Phosphate buffer (pH 8)	Sodium hydroxide
Se(IV)	7	0.99 ± 0.05	0.99 ± 0.04	0.98 ± 0.02	0.98 ± 0.06	1.00 ± 0.04
	20	1.02 ± 0.05	1.00 ± 0.04	0.99 ± 0.02	1.01 ± 0.04	1.02 ± 0.03
Se(VI)	7	1.00 ± 0.03	1.00 ± 0.03	0.99 ± 0.04	1.00 ± 0.05	0.99 ± 0.04
	20	0.99 ± 0.05	1.02 ± 0.03	0.99 ± 0.04	0.99 ± 0.04	0.98 ± 0.04
$SeCys_2$	7	0.97 ± 0.04	0.99 ± 0.04	1.00 ± 0.02	0.99 ± 0.02	0.98 ± 0.03
	20	0.99 ± 0.04	0.97 ± 0.04	0.99 ± 0.02	1.00 ± 0.02	0.99 ± 0.02
SeMet	7	0.75 ± 0.03	0.89 ± 0.03	0.82 ± 0.04	0.78 ± 0.03	0.80 ± 0.03
	20	0.75 ± 0.03	0.91 ± 0.02	0.73 ± 0.05	0.79 ± 0.03	0.83 ± 0.03
MeSeOOH	7	0.99 ± 0.01	0.97 ± 0.04	0.99 ± 0.03	0.99 ± 0.03	1.02 ± 0.03
	20	0.99 ± 0.08	0.97 ± 0.03	0.98 ± 0.06	0.98 ± 0.03	1.01 ± 0.03
$TMSe^+$	7	0.97 ± 0.03	1.00 ± 0.01	0.99 ± 0.01	0.99 ± 0.02	1.00 ± 0.02
	20	1.02 ± 0.03	1.01 ± 0.01	0.99 ± 0.02	1.00 ± 0.02	1.00 ± 0.03

Table 4
Detection and quantification limits for total selenium and speciation analyses (^{78}Se).

	Total analysis				Speciation analysis			
	Instrumental		In soil		Instrumental		In soil	
	D.L.	Q.L.	D.L.	Q.L.	D.L.	Q.L.	D.L.	Q.L.
	(ng(Se) L^{-1})		(μg(Se) kg^{-1})		(ng(Se) L^{-1})		(μg(Se) kg^{-1})	
Ultrapure water	9	32	0.3	1.1	4–23	12–77	0.1–0.7	0.3–3
Phosphate buffer (pH 7)	11	36	7	24	3–29	10–95	1–10	4–33
Sodium hydroxide	16	52	5	17	3–23	10–75	1–8	3–25

3.1.3. Analytical performances

Detection and quantification limits for both total and speciation analyses are presented in Table 4. For total analyses, they were respectively from 0.3 to 5 (D.L.) and from 1.1 to 24 (Q.L.) μg(Se) kg^{-1} as a function of extractant solutions. For speciation analyses, they varied respectively from 0.1 to 10 (D.L.) and from 0.3 to 33 (Q.L.) μg(Se) kg^{-1} as a function of extractant solutions and Se species. Such D.L. and Q.L. allow thus determining total and Se species concentrations in ultrapure water, phosphate buffer and sodium hydroxide extracts from soils containing native Se at trace level (μg(Se) kg^{-1}). Obtained instrumental or converted in μg(Se) kg^{-1} D.L. were lower than some mentioned ones in the literature for ultrapure water solution, i.e. respectively from 25 ng L^{-1} to 2 mg L^{-1} [15,16,20] and from 1 μg(Se) kg^{-1} to 7 mg(Se) kg^{-1} [8,13,19].

3.2. Application to different soils

The optimized methodology was applied to the analysis of Se species extracted from the Rothamsted soil and two reference soils (ZC-73001 and San Joaquin 2709a). Total Se recoveries and Se species proportions in soil extracts are presented respectively in Tables 5 and 6. These tables report also results concerning published data that authors have used in similar extraction methods.

Ultrapure water extraction. Water-soluble Se fraction accounted for 1.4–14% of total Se for the three studied soils, which is in agreement with previously reported values for soils (from 0.3 to 16% of total Se). For the Rothamsted soil, detected water-soluble Se species included both inorganic and organic compounds, i.e. Se(IV), Se(VI), and MeSeOOH, accounting for respectively 21 ± 7, 11 ± 1 and 16 ± 1%. These results are in agreement with some literature data that reported Se(IV) and Se(VI) in similar concentrations [8,18]. Se(IV) was present as the single Se species in water-soluble fraction of the two reference soils. Casiot [38] has also obtained this result for the San Joaquin 2709a reference soil. Generally, Se(VI) was determined as the major species with respect to Se(IV) in water-soluble soil or sediment fraction [8,13,15–17,19–21,27]. As a matter of fact, some authors explained such species repartition by Se(VI) weak component surface sorption [4,13,16,21,27,39]. To our knowledge, the presence of organoselenium compounds in water-soluble Se fraction was never reported for soil samples. On contrary, water-soluble fraction of sediments can contain significant proportion of organoselenium compounds, i.e. >30%. This high proportion of organic Se content has been generally attributed to Se uptake by wetland organisms and incorporation of these organisms into sediments [8,15,20]. As speciation analysis being based on Se(IV) selective methods, organic species remained unidentified. In the case of the Rothamsted soil, methane seleninic acid species was identified and quantified by standard additions (Fig. 2), accounting for 16% of total water-soluble Se. To our knowledge, this is the first time that MeSeOOH is reported as water-soluble Se species in soils. Methane seleninic acid is a supposed intermediate species in selenium microbial methylation process [40] and also an oxidation product of various Se species, i.e. selenomethionine, Se-methylselenocysteine, γ-glutamyl-Se-methylselenocysteine, involved in the metabolism of Se in plants [41,42].

Phosphate buffer extraction. For the three studied soils, phosphate-soluble Se content range from 15 to 34% of total Se. These results are comprised in the large literature range, reported for phosphate solution extractions, from <D.L. to 36% of total Se.

Table 5
Comparison of extraction efficiencies reported for water*, phosphate** and sodium hydroxide extractants used as single extraction or included in a SES.

Samples(*n* = sample number)	$[Se]_{total}$ (in mg kg^{-1})	Extraction type	Water in % of total Se (in μg kg^{-1})	Phosphate in % of total Se (in μg kg^{-1})	Sodium hydroxide in % of total Se (in μg kg^{-1})	
Rothamsted soil (1)	0.431 ± 0.021	Single	1.4 ± 0.2 (5.9 ± 0.7)[a]	20 ± 1 (85 ± 5)[d]	58 ± 5 (248 ± 12)	This study
ZC-73001 (NCS) (1)	0.220 ± 0.015		14.0 ± 1.4 (31 ± 1)[a]	34 ± 3 (77 ± 6)[d]	42 ± 4 (89 ± 8)	
San Joaquin 2709a (NIST) (1)	1.422 ± 0.087		7.7 ± 0.9 (110 ± 7)[a]	15 ± 2 (217 ± 11)[d]	19 ± 2 (270 ± 24)	
Soils (7)	0.24–1.23	Single	Not performed	Not performed	41–63	[7]
Soil (1)	5.9	Single	2.0 ± 0.1[a]	Not performed	50 ± 1	[16]
Coal mine soils (40)	1.73–26.13	Single	0.3–16.3[a]	Not performed	4.1–48.5	[25]
Soils (5)	0.043–0.263	Single	<D.L.[a]	Not performed	Not performed	[34]
Soils (7)	1–18	SES	<D.L.–2[b]	1–7[e]	Not performed	[21]
Soil (1)	n.d.	SES	n.d.	n.d.	70	[27]
Soils (4)	6.70–47.80	SES	1.1–7.5[a]	5.29–7.7[d]	Not performed	[17]
Soils (6)	5.2–83.8	SES	Not performed	7–36[d]	Not performed	
Soil (6 depth ranges)	0.20–0.36	SES	Not performed	14–29[d]	Not performed	[28]
Soils (3)	0.17–0.74	SES	<D.L.–5[b]	<1–7[e]	Not performed	[22]
Soils (9)	0.44–4.25	SES	Not performed	<D.L.–5[d]	Not performed	[29]
Spiked soils (3)	SeIV: 0.4×10^{-8}	SES	2[c]	15–35[f]	60	[23]
Soils (2)	0.07–0.348	SES	<D.L.[b]	15–20[f]	43–52	[33]

n.d., not determined by the author (cannot be calculated).
* Water: [a]ultrapure water; [b]KCl solution; [c]$CaCl_2$ solution.
** Phosphate: [d]KH_2PO_4/K_2HPO_4 (pH 7); [e]K_2HPO_4 (pH 7); [f]K_2HPO_4 (pH 8).

Table 6
Comparison of selenium speciation reported in water, phosphate buffer and sodium hydroxide soil or sediment extracts.

Samples (n= sample number)	$[Se]_{EDTA}$ (in mg kg^{-1})	Extraction type and speciation detection		Water in % of total extracted Se (in µg kg^{-1})			Phosphate buffer in % of total extracted Se (in µg kg^{-1})			Sodium hydroxide in % of total extracted Se (in µg kg^{-1})			
				Se(IV)	Se(VI)	Se_{org}	Se(IV)	Se(VI)	Se_{org}	Se(IV)	Se(VI)	Se_{org}	
Rothamsted soil (1)	0.431 ± 0.021	Single	HPLC-ICPMS	21 ± 7 (23 ± 6)	11 ± 1 (13 ± 2)	16 ± 1[a] (18 ± 2)	96 ± 6 (84 ± 6)	N.D.	N.D.	81 ± 5 (204 ± 15)	N.D.	N.D.	This study
ZC-73001 (NCS) (1)	0.220 ± 0.015			73 ± 3 (22 ± 1)	N.D.	N.D.	92 ± 9 (70 ± 2)	N.D.	N.D.	100 ± 10 (88 ± 2)	N.D.	N.D.	
San Joaquin 2709a (NIST) (1)	1.422 ± 0.087			96 ± 8 (106 ± 3)	N.D.	N.D.	92 ± 7 (200 ± 5)	N.D.	N.D.	96 ± 7 (260 ± 4)	N.D.	N.D.	
Soil (1)	5.9	Single	DPCSV and HG-AAS	28 ± 1	67 ± 6	N.D.		Not performed		44[b]	15[b]	41	[16]
Soil (1)	n.d.	SES	HG-AAS	23	77	N.D.	65	35	N.D.		n.d.		[27]
Soils (4)	6.70–47.80	SES	HG-AAS	SeIV< SeVI (n.d.)	N.D.	4–80	19–63	0.7–70			n.d.		[17]
Marine shales (2) and alluvial soils (3)	0.45–10.90	SES	HG-AAS	N.D.–23	77–100	N.D.	33–79	N.D.	21–67	5–57	N.D.	43–95	[13]
Soil (6 depth ranges)	0.20–0.36	SES	HG-AAS	Not performed		N.D.–8		8–29		Not performed			[28]
Sediments (5)	1.14–3.92	Single	HG-AAS	55–71	4–11	23–39	Not performed		20–65	0.5–4.8	12–54		[15]
Sediments (5)	5.71–22.2	Single	HG-AAS	35–62	32–61	3–6	Not performed	64–81	2–10	1–10			
Sediment (1)	1.82	Single	HPLC-ICPMS	6.2 ± 0.6	28 ± 1	2.5 ± 0.5[c]	Not performed			Not performed			[19]
Sediments (7)	0.4–10.4	SES	HG-AAS	N.D.	33–58	42–67	N.D.–9	40–73	10	Not performed			[8]
Sediments (2)	8 and 22	SES	HPLC-ICPMS	45 and 47	55 and 53	N.D.	N.D.	Observed (n.d.)	28	97	N.D.	N.D.	[18]
Chalk core and outcrops (5)	3.76–40.91			N.D.–4	2.4–59	40–96	15–86	N.D.	13–85	16–48	N.D.	52–87	[20]
Shale core and outcrops (6)	15.84–70.70	SES	HG-AAS	N.D.–47	19–50	26–71	38–86	N.D.	14–62	16–80	N.D.	20–84	

n.d., not determined by the author (cannot be calculated); N.D., not detected.
[a] Se species identified as MeSeOOH.
[b] In fulvic acid fraction (after extract acidification).
[c] Se species identified as selenourea (SeU).

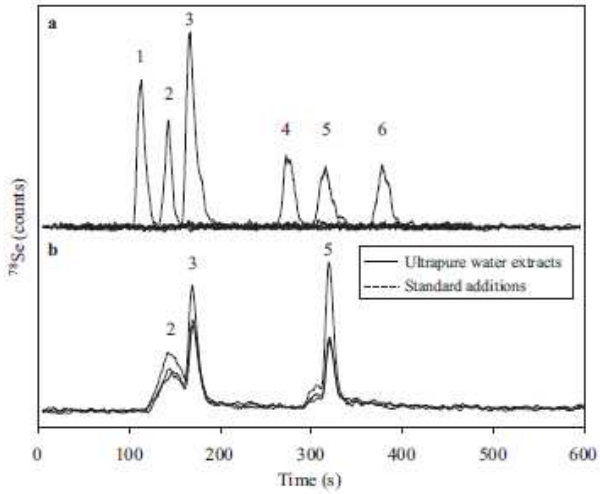


Fig. 2. Example HPLC–ICPMS mixed-mode chromatograms for: (a) individual Se standards (200 ng L^{-1}) prepared in ultrapure water; (b) ultrapure water extract from the Rothamsted soil and individual MeSeOOH, Se(IV) and Se(VI) standard additions (50 ng L^{-1}); 1, $TMSe^+$; 2, MeSeOOH; 3, Se(IV); 4, SeMet; 5, Se(VI); 6, $SeCys_2$.

Se species recovered from phosphate buffer extraction was Se(IV), close to 100% of total extracted Se for the three studied soils. These results reflect the greater tendency of Se(IV) to be sorbed onto the surface of soil or sediment components [3–5,13,22,24,27,39]. Some authors also observed the presence of organoselenium compounds in phosphate-soluble Se fraction, generally explained by the capacity of phosphate buffer to extract either seleniferous proteins from no decomposed plant material [17,18,20] or a part of humic soil content [28]. In Zhang and Moore's [8] study, Se(VI) was the major Se species in the phosphate-soluble fraction of Benton Lake sediments because there is an important natural input of this Se species into the lake (weathering of Se-rich marine shales).

Sodium hydroxide extraction. Se extraction efficiencies range from 19 to 58% of total Se, which is in good agreement with literature values (from 4 to 70%). Se(IV) was present as single detected species in NaOH extracts of the three studied soils, indicating that inorganic Se was associated with organic soil components. In the literature, Se(IV) was generally found as predominant inorganic Se species in NaOH-extracted soil fraction. This fraction can also contain organoselenium compounds, generally in the range from 1 to 50% [13,15,16,20] and can represent up to 95% in alluvial soils [13] and in shale and chalk core and outcrops samples [20]. Selenomethionine has been identified by Abrams et al. [6] using a gas chromatography–mass spectrometry detection in NaOH extracts from soils, but no quantification was reported. In this study, organoselenium compounds were not detected. However, for the Rothamsted soil, Se(IV) species accounted only for 81% of total NaOH-soluble Se, whereas it represents 100% for the two reference soils. These results could indicate the presence of Se species either in lower concentration than detection limits or not eluted by the two chromatographic separations used. Not eluted Se species may correspond to dissolved and/or colloidal unknown Se compounds. Indeed, colloidal compounds can be present in soil extracts filtered at 0.45 μm because the term "colloidal" covers the 1 nm–1 μm size range according to IUPAC definition [43]. Incomplete mass balances were also observed in water-soluble Se fraction, where detected species represent only 48 and 73% of total Se respectively for the Rothamsted and the ZC-73001 reference soils. As part of a future study, orthogonal chromatography and colloidal fraction characterization will be explored to complement this work, according to procedures developed in our laboratory [44–46].

4. Conclusion

The developed analytical methodology, based on parallel single extractions coupled with a sensitive detection (HPLC–ICPMS), allows determining selenium species present in soils at trace level (μg(Se) kg^{-1}) with preservation of the original speciation. Indeed, the three selected extractants, i.e. ultrapure water, pH 7 phosphate buffer and sodium hydroxide, did not lead to Se species redistribution and allow obtaining information on Se mobility related to its soil distribution among water-soluble, exchangeable and bound to organic matter Se fractions. Moreover, Se species were individually detected by HPLC–ICPMS in soil extracts, including known organoselenium compounds. Methane seleninic acid was thus identified with commercial standard. This on-line speciation analysis highlighted also the presence of dissolved and/or colloidal unknown compounds in some ultrapure water and sodium hydroxide soil extracts. They could be characterized by orthogonal chromatography and/or colloidal fraction exploration.

Acknowledgement

This research was financially supported by the French national radioactive waste management agency (ANDRA).

References

[1] K. Pyrzyńska, Microchim. Acta 140 (2002) 55.
[2] F. Séby, M. Potin-Gautier, E. Giffaut, O.F.X. Donard, Analusis 26 (1998) 193.
[3] L.S. Balistrieri, T.T. Chao, Soil Sci. Soc. Am. J. 51 (1987) 1145.
[4] B. Bar-Yosef, D. Meek, Soil Sci. 144 (1987) 11.
[5] R.H. Neal, G. Sposito, K.M. Holtzclaw, S.J. Traina, Soil Sci. Soc. Am. J. 51 (1987) 1161.
[6] M.M. Abrams, R.G. Burau, R.J. Zasoski, Soil Sci. Soc. Am. J. 54 (1990) 979.
[7] Y. Kang, H. Yamada, K. Kyuma, T. Hattori, S. Kigasawa, Soil Sci. Plant Nutr. 37 (1991) 241.
[8] Y. Zhang, J.N. Moore, Environ. Sci. Technol. 30 (1996) 2613.
[9] M.A. Elrashidi, D.C. Adriano, S.M. Workman, W.L. Lindsay, Soil Sci. 144 (1987) 141.
[10] P.H. Masscheleyn, R.D. Delaune, W.H. Patrick Jr., Environ. Sci. Technol. 24 (1990) 91.
[11] P.H. Masscheleyn, R.D. Delaune, W.H. Patrick Jr., J. Environ. Qual. 20 (1991) 522.
[12] K. Pyrzyńska, Anal. Sci. 14 (1998) 479.
[13] D.A. Martens, D.L. Suarez, J. Environ. Qual. 26 (1997) 424.
[14] D.M. Templeton, F. Ariese, R. Cornelis, L.-G. Danielsson, H. Muntau, H.P. Van Leeuwen, R. Lobiński, Pure Appl. Chem. 72 (2000) 1453.
[15] Y. Zhang, W.T. Frankenberger jr., Int. J. Environ. Anal. Chem. 83 (2003) 315.
[16] F. Séby, M. Potin-Gautier, G. Lespès, M. Astruc, Sci. Total Environ. 207 (1997) 81.
[17] D.A. Martens, D.L. Suarez, Environ. Sci. Technol. 31 (1997) 133.
[18] C.A. Ponce de León, K. DeNicola, M. Montes-Bayón, J.A. Caruso, J. Environ. Monit. 5 (2003) 435.
[19] M. Ochsenkühn-Petropoulou, B. Michalke, D. Kavouras, P. Schramel, Anal. Chim. Acta 478 (2003) 219.
[20] T.R. Kulp, L.M. Pratt, Geochim. Cosmochim. Acta 68 (2004) 3687.
[21] T.T. Chao, R.F. Sanzolone, Soil Sci. Soc. Am. J. 53 (1989) 385.
[22] M.C. Wang, H.M. Chen, Chemosphere 52 (2003) 585.
[23] F. Coppin, C. Chabroullet, A. Martin-Garin, J. Balesdent, J.P. Gaudet, Biol. Fertil. Soils 42 (2006) 379.
[24] R.H. Neal, G. Sposito, K.M. Holtzclaw, S.J. Traina, Soil Sci. Soc. Am. J. 51 (1987) 1165.
[25] S. Sharmasarkar, G.F. Vance, Environ. Geol. 29 (1997) 17.
[26] M.T. Wright, D.R. Parker, C. Amrhein, Environ. Sci. Technol. 37 (2003) 4709.
[27] T.K. Tokunaga, D.S. Lipton, S.M. Benson, A.W. Yee, J.M. Oldfather, E.C. Duckart, P.W. Johannis, K.E. Halvorsen, Water Air Soil Pollut. 57/58 (1991) 31.
[28] M. Bujdoš, J. Kubová, V. Streško, Anal. Chim. Acta 408 (2000) 103.
[29] M. Bujdoš, A. Mul'ová, J. Kubová, J. Medved', Environ. Geol. 47 (2005) 353.
[30] J. Darrouzès, M. Bueno, S. Simon, F. Pannier, M. Potin-Gautier, Talanta 75 (2008) 362.
[31] M. Dauthieu, M. Bueno, J. Darrouzès, N. Gilon, M. Potin-Gautier, J. Chromatogr. A 1114 (2006) 34.
[32] IUPAC, Analyst 112 (1987) 199.
[33] E.H. Evans, J.J. Giglio, J. Anal. At. Spectrom. 8 (1993) 1.
[34] R. Keskinen, P. Ekholm, M. Yli-Halla, H. Hartikainen, Geoderma 153 (2009) 87.
[35] C.C. Johnson, X. Ge, K.A. Green, X. Liu, Appl. Geochem. 15 (2000) 385.
[36] H. Yamada, T. Hattori, Soil Sci. Plant Nutr. 36 (1990) 163.
[37] K.J.M. Kramer, G.N. Kramer, H. Muntau, Training on Production and Use of Laboratory Reference Materials for Use in Routine Quality Control (TRAP-LRM), Contract G6MA-CT2000-02006, MERMAYDE, Bergen, Netherlands, 2001.

[38] C. Casiot, Développement de techniques analytiques couplées (HPLC–ICP-MS et EC-ICP-MS) pour la spéciation de métalloïdes (Arsenic, Sélénium, Antimoine et Tellure), Thesis, Université de Pau et des Pays de l'Adour, 1999.
[39] P.H. Masscheleyn, W.H. Patrick, Environ. Toxicol. Chem. 12 (1993) 2235.
[40] T.G. Chasteen, R. Bentey, Chem. Rev. 103 (2003) 1.
[41] M. Kotrebai, J.F. Tyson, E. Block, P.C. Uden, J. Chromatogr. A 866 (2000) 51.
[42] P.D. Whanger, Br. J. Nutr. 91 (2004) 11.
[43] IUPAC, 2nd edition, Blackwell Scientific, 1997.
[44] S. McSheehy, P. Pohl, J. Szpunar, M. Potin-Gautier, R. Lobiński, J. Anal. At. Spectrom. 16 (2001) 68.
[45] S. McSheehy, F. Pannier, J. Szpunar, M. Potin-Gautier, R. Lobiński, Analyst 127 (2002) 223.
[46] S. Dubascoux, J. Heroult, I. Le Hécho, M. Potin-Gautier, G. Lespès, Anal. Bioanal. Chem. 390 (2008) 1805.

La méthodologie développée pour l'analyse de spéciation par HPLC-ICP-MS de Se natif présent dans les sols a mis en évidence, par la réalisation de bilans de masse précis, la présence d'espèces séléniées non identifiées dans les extraits de sol à l'eau ultrapure et à la soude, comme résumé dans la figure 11.

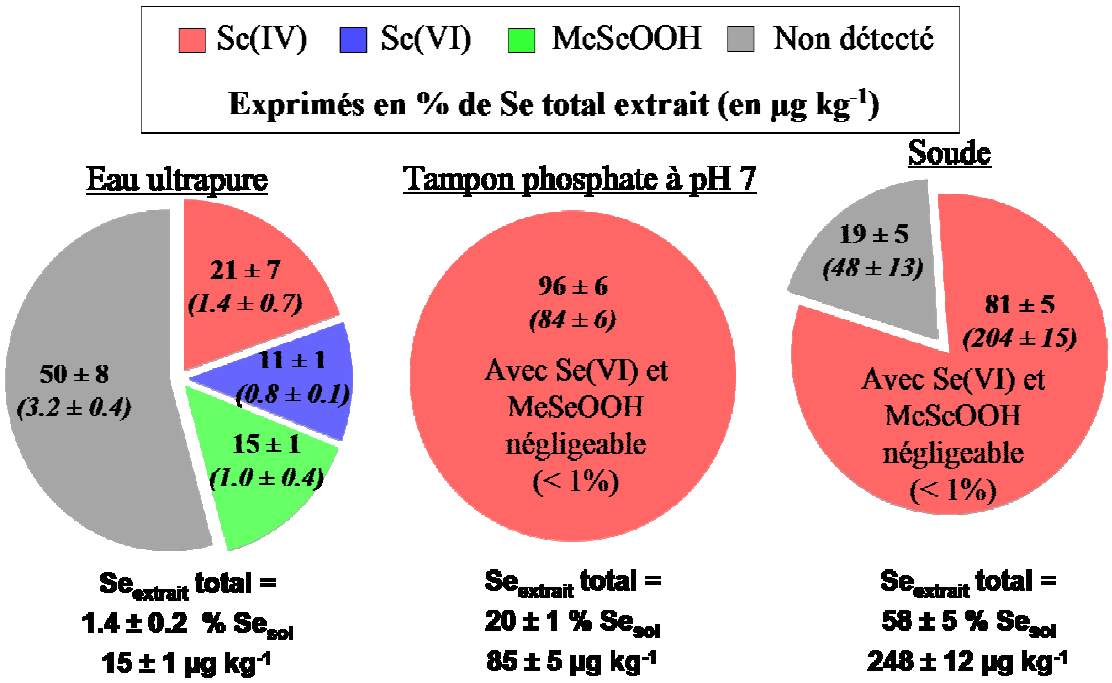


Figure 11. Répartition des espèces de Se dans les extraits à l'eau ultrapure, au tampon phosphate à pH 7 et à la soude pour le sol de Rothamsted

Les espèces non identifiées pourraient correspondre à des composés ou complexes séléniés dissous et/ou à du sélénium sorbé et/ou incorporé au sein de particules colloïdales (1 nm à 1 µm dans au moins une de ses dimensions ; IUPAC, 1997). Etant donné le rôle important de la phase colloïdale des sols dans le transport et la biodisponibilité des éléments traces et, pour vérifier la seconde hypothèse, une étude exploratoire de Se associé à la fraction colloïdale présente dans les extraits de sol a été menée. Elle fait l'objet de la partie II de ce chapitre.

Partie II.

Etude exploratoire du sélénium associé à la fraction colloïdale dans des extraits de sols

Travaux réalisés dans le cadre d'un stage de Master 2 Recherche

(Oihan Garagalza)

Equipe encadrante :

Julie Tolu, Isabelle Le Hécho, Maïté Bueno et Martine Potin-Gautier

II.1. Introduction

Les colloïdes sont naturellement présents en grande quantité (>10^6 cm^{-3}) dans les eaux de surface, les eaux souterraines et dans l'eau de sol (Stumm et Morgan, 1996). Ils proviennent essentiellement du système « sol » via le transport, par les eaux de ruissellement et les eaux gravitaires, de particules minérales provenant de l'altération des argiles, oxydes, hydroxydes, carbonates, etc., de substances humiques, de composés produits par les micro-organismes et de débris biologiques (Buffle et Leppard, 1995). Ils existent ainsi sous différentes tailles et sont de natures diverses (Figure 12 ; Lead et Wilkinson, 2007).

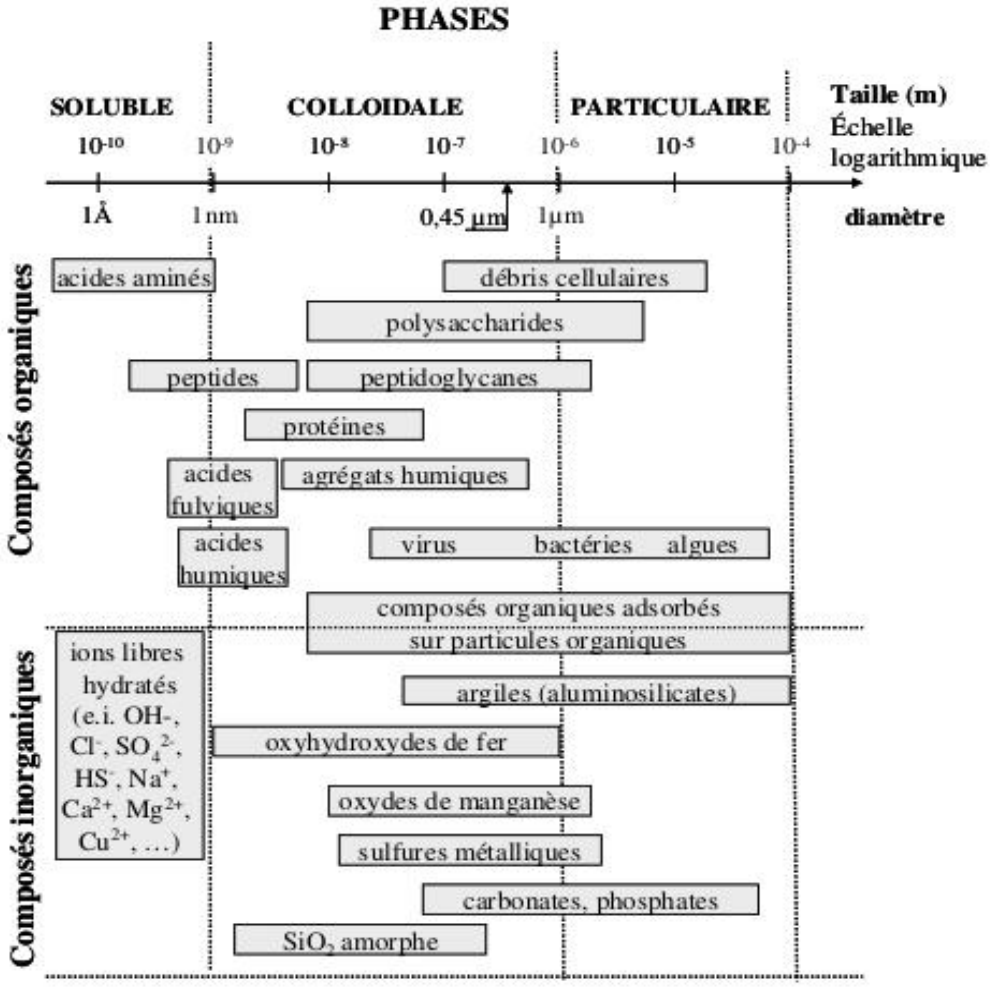


Figure 12. Domaine de taille des colloïdes et particules naturels (Lead et Wilkinson, 2007)

De plus, les colloïdes présents dans les solutions de sol participent aux processus de sorption (complexation, précipitation) des polluants organiques et inorganiques (Buffle et Leppard, 1995 ; Moulin, 1995).

Ils possèdent une surface spécifique très importante. Par exemple, des colloïdes de 5 à 200 nm de diamètre peuvent avoir une surface totale supérieure à 18 m^2 m^{-3} (Stumm et Morgan, 1996). Cette propriété leur confère une grande réactivité vis-à-vis de la sorption des éléments. Le sélénium qui arrive en solution au sein du système « sol » peut donc être sorbé sur les colloïdes présents dans la solution de sol et, ainsi, être transporté vers les eaux de surface et les eaux souterraines. Les colloïdes de la solution de sol pourraient donc être à l'origine d'une plus grande mobilité de Se. Par contre, Se colloïdal pourrait être moins disponible pour un organisme vivant que Se dissous, entres autres en raison de sa plus grande taille diminuant sa capacité à diffuser ou à passer à travers les membranes biologiques (Figure 13 ; Adriano, 2001).

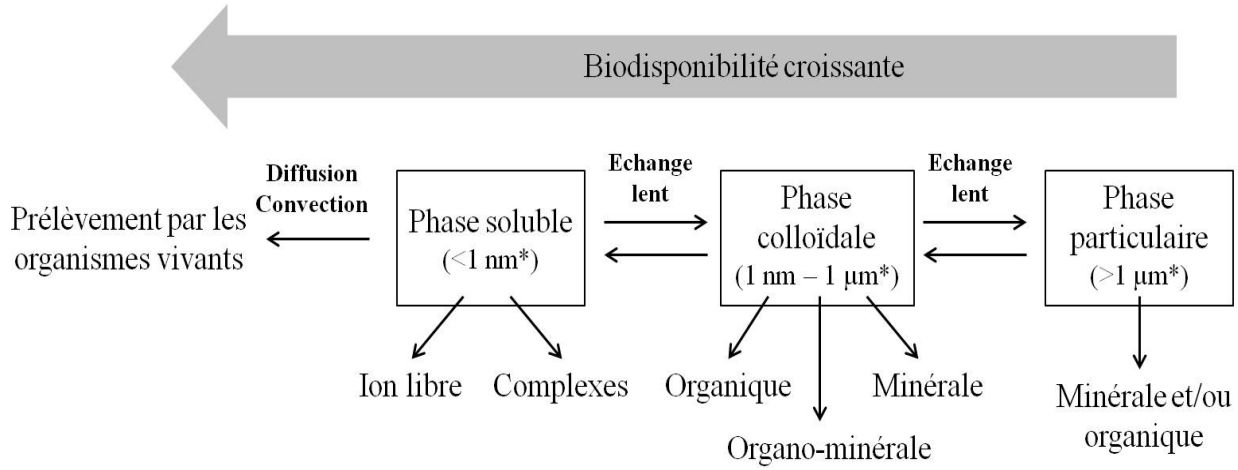


Figure 13. Biodisponibilité des métaux dans les sols en fonction de leur forme « physico-chimique » (Adriano, 2001 ; * IUPAC, 1997)

Dans le cadre de l'analyse des risques liés à Se (carence ou toxicité), l'étude de son interaction avec la fraction colloïdale des sols apparaît importante puisque les végétaux représentent la principale voie d'exposition de cet élément trace pour les animaux et les hommes,

L'étude de la fraction colloïdale nécessite des techniques de fractionnement en fonction de la taille et/ou de la masse moléculaire dont les plus couramment utilisées sont présentées et comparées dans le tableau 13.

Tableau 13. Techniques de fractionnement appliquées à l'étude des colloïdes (Dubascoux, 2007)

Méthodes	Gammes M[a],T[b]	Avantages	Inconvénients
Ultra-filtration (UF)	Taille T : 1 - 100 nm	Simplicité expérimentale ; Enrichissement des fractions	Résolution médiocre ; Interactions fortes membrane/solutés ; Larges volumes d'échantillons (L) ; Pas de couplage en ligne avec un système de détection
Chromatographie d'Exclusion Stérique (SEC)	Masse molaire M : 1 - 50 000 g mol^{-1} (T : 1 - 100 nm)	Couplage en ligne à un système de détection ; Faibles volumes d'échantillons (µL)	Interactions avec la phase stationnaire
Fractionnement par couplage Flux-Force (FFF)	M : 10^3 - 10^{18} g mol^{-1} T : 1 nm - 50 µm	Couplage en ligne à un système de détection ; Faibles volumes d'échantillons (µL)	Forte dilution de l'échantillon
Electrophorèse Capillaire (CE)	M : 1 – 50 000 g mol^{-1} T : 1 nm – 100 µm	Couplage en ligne à un système de détection ; Très faibles volumes d'échantillons (nL)	Problèmes d'adsorption et d'agrégation des particules au cours de l'analyse Peu de théorie sur les colloïdes

[a] M : masse molaire ; [b] T : taille

Les techniques de fractionnement, telles que la chromatographie d'exclusion stérique (SEC), le fractionnement par couplage flux-force (FFF) et l'électrophorèse capillaire (CE) se révèlent plus performantes en termes de résolution, de rapidité d'analyse, de sélectivité et de fiabilité que l'ultrafiltration car elles peuvent être couplées à un système de détection en ligne (UV, ICP-MS). De plus, elles nécessitent des quantités plus faibles d'échantillon. Alors que la CE et la SEC sont efficaces pour séparer les macromolécules, le système FFF s'adresse à la fois aux macromolécules et aux nanoparticules. Il apparaît donc être la technique de séparation en taille la plus adaptée pour une première exploration des populations colloïdales et de Se associé. De plus, cette technique peut être couplée à plusieurs détecteurs conduisant à des informations complémentaires, un spectrophotomètre ultra-violet (nature organique ou non), un diffuseur de lumière laser multi-angle, MALLS (taille et forme), et un ICP-MS, (éléments associés à la fraction colloïdale) (Dubascoux et al., 2008 a, b ; Claveranne-Lamolère, 2010).

Le but de cette étude a été de vérifier l'hypothèse de la présence de Se associé à la fraction colloïdale dans les extraits de sol pour lesquels l'existence d'espèces de Se inconnues a été mise en évidence (extraits à l'eau ultrapure et à la soude ; cf. Partie B.I.). Ces extraits peuvent contenir à la fois des particules minérales, des substances humiques et des particules organo-minérales, dont les tailles peuvent varier de 1 nm à plusieurs µm (Figure 12). A notre connaissance, aucune étude n'a été focalisée sur Se associé à la fraction colloïdale, que ce soit dans des solutions de sol ou des extraits de sol. Les caractéristiques, en termes de taille et de nature organique ou non, des populations colloïdales avec lesquelles Se interagit, sont donc actuellement inconnues. C'est pourquoi, dans un premier temps, les populations colloïdales des extraits de sol à l'eau ultrapure et à la soude ont été distinguées et caractérisées par couplage FFF-UV-(MALLS). Dans un second temps, la présence et la quantité de Se associé à ces populations ont été recherchées par couplage FFF-UV-ICP-MS.

II.2. Matériel et Méthode

- *Réactifs et échantillons de sol*

Les réactifs utilisés ont été de qualité analytique (pureté >99 %). Les solutions furent préparées avec de l'eau ultrapure obtenue à partir d'un système Milli-Q System (18,2 Ω cm). Le sélénite de sodium (Se(IV)) provenait de chez Sigma-Aldrich (SigmaUltra, pureté ≥99,0 %). Une solution étalon mère contenant 1000 mg(Se) L^{-1} a été préparée dans de l'eau ultrapure et stockée à l'obscurité à 4 °C. Les solutions étalons de concentrations plus faibles furent préparées avant chaque analyse par dilution de la solution mère avec de l'eau ultrapure.

Deux sols de prairie ont été sélectionnés pour cette étude : le sol de Rothamsted utilisé au cours du développement analytique pour l'analyse de spéciation de Se natif des sols (cf. Chapitre B.I.) et un sol d'intérêt pour l'Andra qui a été prélevé à Bure au sein de la future zone de stockage des déchets radioactifs à haute activité et à longue vie. Avant analyse, les sols ont été séchés à l'air libre sous hotte, tamisés à 2 mm et broyés (Vibro Broyeur MN200, Retsch) dans un bol en zirconium pendant 7 minutes à une fréquence de 30 Hz. Les caractéristiques principales des deux sols sont présentées dans le tableau 14.

Tableau 14. Caractéristiques des deux sols étudiés

	Rothamsted (U.K.)*	**Bure (France)****
Occupation du sol	Prairie	Prairie permanente
Texture	Argilo-limoneux	Argilo-limoneux
Argiles (<2 µm) (%)	29	31
Limons (2 - 50 µm) (%)	57	53
Sables (50 - 2000 µm) (%)	14	16
Carbone organique total en g kg^{-1} (*Matière organique en %)*	9,9 *(1,7)*	51,7 *(8,9)*
Fe total (g kg^{-1})	23	32
Al total (g kg^{-1})	22	50
Mn total (g kg^{-1})	0,8	1,3
Se total (g kg^{-1})	769	423
pH eau	5,2	8,0
CEC ($cmol^{+}$ kg^{-1})	9,9	25,3

** analyses réalisées par le laboratoire d'analyse des sols d'Arras (INRA, Arras)*

*** analyses réalisées par le laboratoire « Ultra Traces Analyses Aquitaine » (UT2A, Pau)*

- *Extractions parallèles et analyses de Se dans les extraits*

L'analyse de Se dans les extraits a été menée selon la méthodologie présentée au chapitre B, partie I. Deux extractions ont été réalisées : eau ultrapure et soude 0,1 mol L^{-1}.

Les extraits de sol ont été analysés par ICP-MS et HPLC-ICP-MS pour déterminer respectivement, les concentrations de Se total extrait et des espèces séléniées. Les culots ont été minéralisés et analysés par ICP-MS afin de déterminer la quantité de Se non extrait et réaliser des bilans de masse permettant de vérifier l'absence de pertes et de contaminations.

- *Principe de la séparation en taille des populations colloïdales par fractionnement par couplage flux-force asymétrique à flux croisé (As4F)*

Contrairement aux techniques chromatographiques en phase liquide, le principe de séparation du fractionnement par couplage flux-force ne repose pas sur des interactions entre l'analyte, la phase mobile et la phase stationnaire. Les analytes sont entraînés par une phase mobile liquide mais la séparation se fait grâce à un champ de force appliqué perpendiculairement au canal dans lequel l'échantillon circule. Le champ de force peut être de diverses natures (hydraulique, électrique, centrifuge, thermique, etc.). Dans cette étude, le fractionnement par couplage flux-force asymétrique à flux croisé (As4F) a été utilisé : la force appliquée perpendiculairement au sens

d'élution des solutés est une force hydraulique, dite « flux croisé ». L'appareillage est composé de deux blocs (matériau inerte), entre lesquels sont mis en place un film « espaceur » et une membrane semi-perméable définissant le canal (Figure 14).

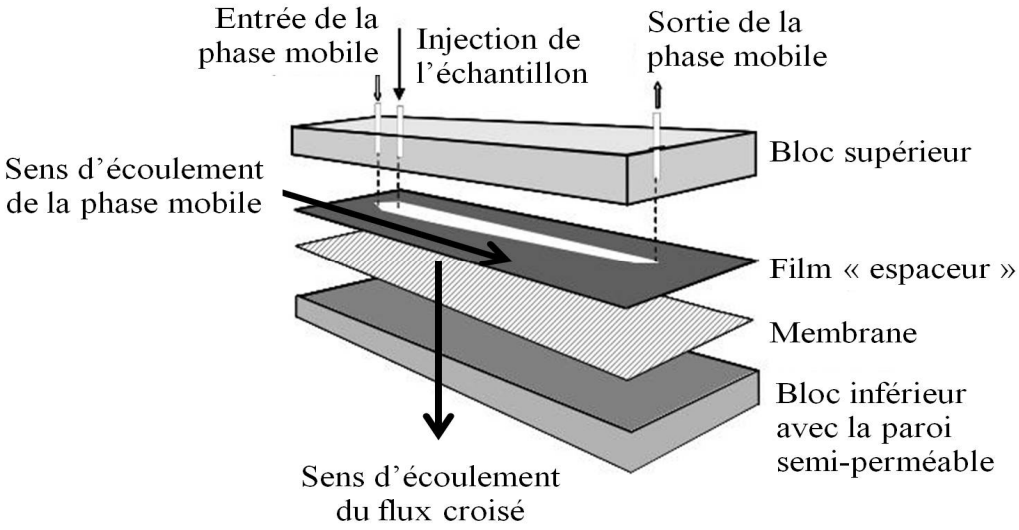


Figure 14. Constituants d'un appareillage As4F (Dubascoux, 2007)

La phase mobile circule horizontalement dans le canal et le flux croisé est appliqué perpendiculairement à son écoulement. Ce flux est généré à partir d'une différence de pression à travers le fritté et la membrane, et est évacué via le bloc inférieur composé d'une paroi semi-perméable. La membrane semi-perméable ne laisse passer que le solvant et la phase de l'échantillon de taille inférieure à son seuil de coupure (considérée comme la phase dissoute).

L'échantillon est introduit en tête de canal puis transporté par la phase mobile. Le flux croisé, force hydraulique appliquée perpendiculairement à l'écoulement de la phase mobile, entraîne un déplacement des analytes vers la paroi opposée du canal (Figure 15).

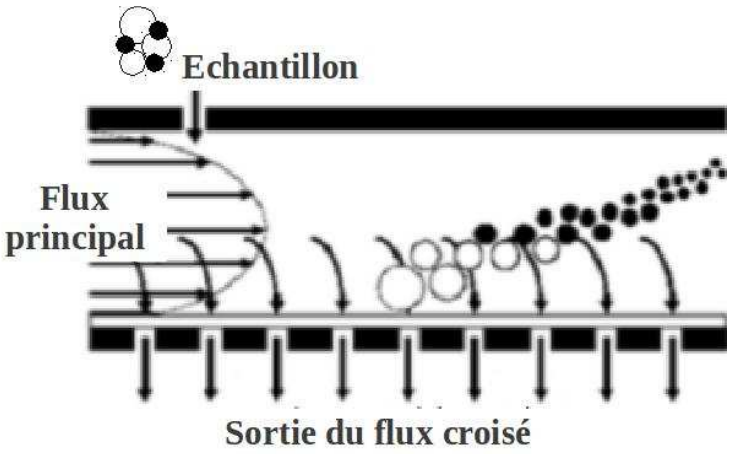


Figure 15. Principe de la séparation en taille des populations colloïdales par As4F

Le gradient de vitesse de l'écoulement (phase mobile) à l'intérieur du canal n'est pas uniforme et a un profil parabolique : il est plus important au centre du canal qu'à proximité des parois. Les analytes sont alors séparés en fonction de leur réponse à la force (flux croisé), c'est-à-dire de leur coefficient de diffusion, qui est inversement proportionnel à la taille. L'ordre d'élution se fait donc des plus petites fractions colloïdales aux plus grosses.

Une séquence analytique est composée de différentes étapes :

- Avant injection de l'échantillon, une étape d'élution sans flux croisé est réalisée pour équilibrer le système
- Après injection, une étape de « focus/relaxation » de l'échantillon en tête du canal est effectuée sans élution et sans flux croisé (séparation), afin d'éviter une dispersion trop importante des analytes dans le canal. Pour cela, pendant un laps de temps plus ou moins long (quelques minutes à quelques dizaines de minutes en fonction du type d'échantillon et de la quantité injectée), le flux axial de la phase mobile est opposé à un flux venant en sens inverse et de débit plus fort, de manière à pré-concentrer les analytes en tête de canal. Dans le même temps, l'échantillon se « relaxe », c'est-à-dire que les analytes trouvent leur position d'équilibre dans l'épaisseur du canal, en fonction du flux croisé appliqué et de leur capacité à diffuser à contre-flux.
- L'élution et la séparation commencent dès que le flux opposé au flux axial de la phase mobile est stoppé.
- Quand le fractionnement est terminé, une étape de rinçage sans flux croisé est programmée.

➢ *Détecteurs utilisés pour la caractérisation des populations colloïdales séparées par As4F*

Trois détecteurs ont été utilisés pour caractériser les différentes populations colloïdales séparées :

✓ Spectrophotomètre ultra-violet (UV) :

Il a été couplé en sortie du système As4F et a permis la détection de composés absorbant dans la gamme UV-visible et donc de discriminer le caractère organique ou non des populations colloïdales séparées. La longueur d'onde a été fixée à 254 nm, valeur choisie afin d'augmenter la sensibilité et minimiser l'absorption possible de la phase mobile (Dubascoux, 2007).

✓ Diffuseur de lumière laser multi-angle (MALLS) :

Son principe est basé sur le postulat simple que lorsqu'un objet est éclairé par de la lumière, il réémet le faisceau incident dans toutes les directions de l'espace (Figure 16).

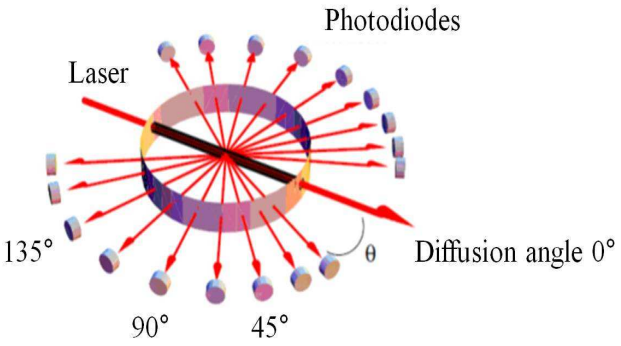


Figure 16. Schéma de principe du détecteur à diffusion de lumière laser multi-angles

(Cas de l'appareillage de Wyatt Technologies utilisé - 18 angles de mesure)

Grâce à des traitements mathématiques des signaux à l'aide du logiciel du constructeur (Astra, Wyatt Technologies), le rayon de giration (r_g), défini comme la distance moyenne pondérée entre le centre de masse (M) et les masses m_i situées à sa périphérie (Figure 17), a été déterminé.

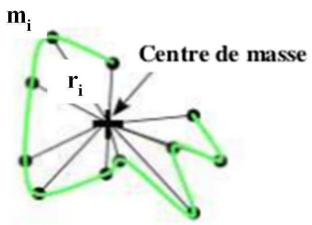


Figure 17. Représentation du rayon de giration (trait vert)

Par la détermination du rayon de giration, le MALLS a permis une estimation moyenne de la taille des différentes populations colloïdales séparées par As4F sans étalonnage.

✓ Spectromètre de masse à plasma induit (ICP-MS)

Le principe de l'ICP-MS est détaillé au sein de la synthèse bibliographique (cf. Chapitre A, paragraphe IV.2.). Dans le cadre du suivi qualitatif d'éléments associés aux populations colloïdales séparées, le couplage As4F-UV-ICP-MS s'est apparenté au couplage HPLC-ICP-MS : la sortie du système As4F-UV a été directement connectée au nébuliseur de l'ICP-MS (Dubascoux et al., 2008 a). Cependant, une méthode plus sophistiquée, mise au point et validée par Dubascoux et al. (2008 a), a permis de quantifier Se (Figure 18).

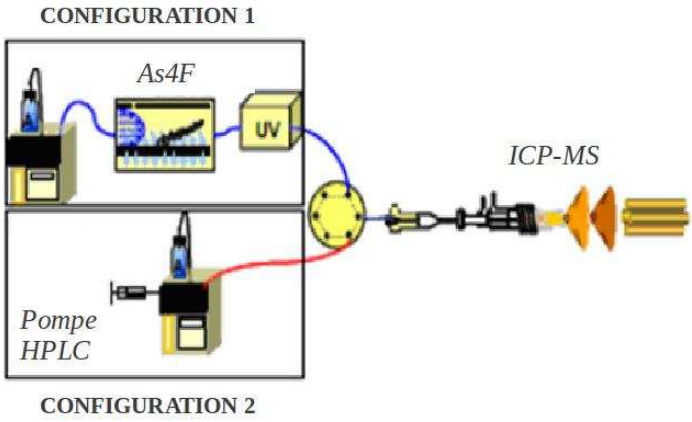


Figure 18. Schéma du couplage As4F-UV-ICP-MS pour un suivi qualitatif (configuration 1) ou quantitatif (configuration 2) des éléments associés aux populations colloïdales (Dubascoux et al., 2008 a)

Une pompe HPLC a alors été ajoutée au dispositif et a été configurée dans les mêmes conditions d'injection, de phase mobile et de débit que celles du As4F (Figure 18). Une vanne à 6 voies a permis d'injecter, alternativement dans l'ICP-MS, l'échantillon ayant subi la séparation par As4F (configuration 1) ou des solutions étalons de Se(IV) issues de la pompe HPLC (configuration 2) permettant de quantifier, par étalonnage externe, Se associé aux populations colloïdales.

- *Conditions opératoires pour la séparation des populations colloïdales par As4F*

Deux méthodes complémentaires de fractionnement des populations colloïdales par As4F ont été mises en œuvre selon la méthodologie optimisée par Dubascoux et al. (2007). Les conditions opératoires sont présentées dans le Tableau 15.

Tableau 15. Conditions opératoires pour la séparation des populations colloïdales

	Méthode A	**Méthode B**
Flux croisé (mL min^{-1})	3	0,3 ou 0,4
Flux principal (mL min^{-1})	1	1
Phase mobile (mol L^{-1})	NH_4NO_3 1.10^{-2}	NH_4NO_3 1.10^{-4}
Force ionique (mol L^{-1})	1.10^{-2}	1.10^{-4}
Film « espaceur » (µm)	350	250
Membrane	1 kDa polyéthersulfone	10 kDa cellulose régénérée
Volume injecté (µL)	100	100
Détecteur	UV	UV-MALLS

La méthode A a permis de séparer les populations colloïdales de « petites tailles » (de 1 nm à ≈20 nm). La méthode B a permis de séparer les populations colloïdales de plus « grandes tailles », allant de ≈20 à 450 nm (seuil de coupure utilisé lors de la filtration). Seul le détecteur UV a été utilisé pour la méthode A car le MALLS ne permet pas la détection de colloïdes dans la gamme de taille concernée alors que les deux détecteurs ont été employés pour la méthode B.

- *Quantification de Se associé aux populations colloïdales par (As4F/HPLC)-ICP-MS*

Le volume d'injection de l'échantillon a été adapté (100 à 500 µL) afin de pouvoir détecter et quantifier Se associé aux populations colloïdales présentes dans les extraits de sol à l'état d'ultra-traces (ng L^{-1}). La quantification a été réalisée, selon la méthode détaillée précédemment, à partir d'étalons séléniés (Se(IV)) injectés (même volume que celui utilisé pour l'échantillon)m et ce en duplicat afin de s'assurer de la reproductibilité des injections (Figure 19).

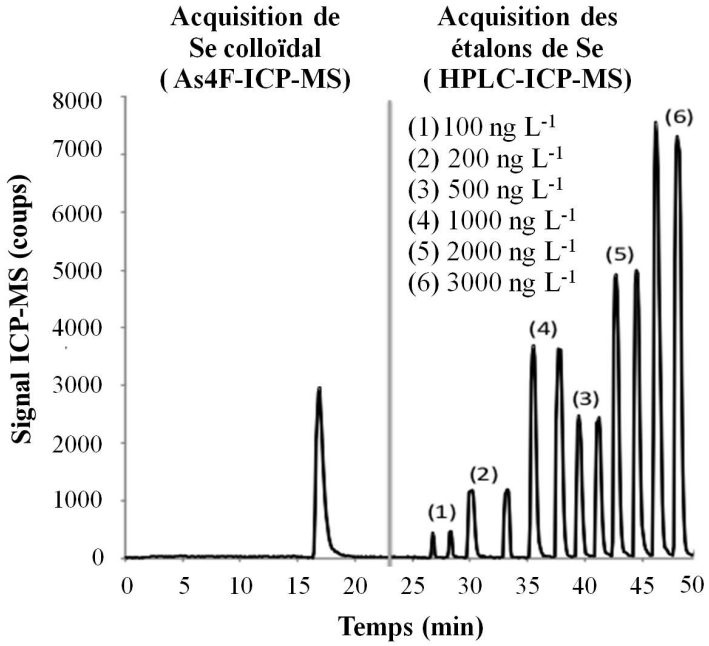


Figure 19. Acquisition alternée de Se colloïdal et des étalons séléniés

Les réglages/optimisations des paramètres de l'ICP-MS ont été réalisés selon les méthodes présentées au chapitre B, Partie I.

II.3. Résultats et discussion

- *Présence de colloïdes dans les extraits de sol*

Pour les deux sols, la méthode A n'a pas permis de mettre en évidence la présence de colloïdes dans les extraits à l'eau ultrapure puisque aucun signal UV n'a été mis en évidence. Ces résultats indiquent l'absence ou la faible quantité de populations colloïdales de petites tailles (1 à ≈20 nm) à caractère organique dans ces extraits.

L'analyse As4F-UV-MALLS (méthode B) des extraits à l'eau ultrapure a cependant montré la présence de colloïdes répondant au détecteur MALLS (>≈20 nm), pour les deux sols étudiés (Figure 20).

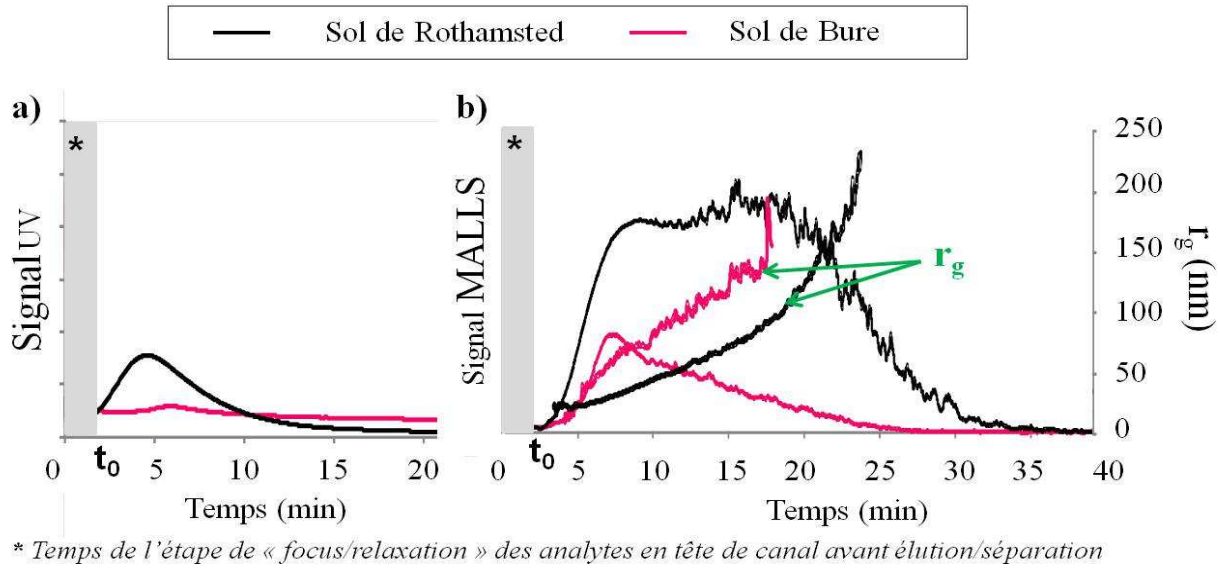


Figure 20. Fractogrammes obtenus avec la méthode B pour les extraits à l'eau ultrapure du sol de Rothamsted et du sol de Bure : a) signal UV ; b) signal MALLS

A partir des signaux du MALLS, les rayons de giration ont été estimés. Ils sont compris entre 20 et 250 nm environ pour le sol de Rothamsted et entre 12 et 140 nm environ pour le sol de Bure. La fraction colloïdale observée dans ces extraits à l'eau ultrapure se situe donc dans la gamme des petites tailles par comparaison avec la gamme de taille totale de la fraction colloïdale (1 nm –1 µm ; IUPAC, 1997). Pour le sol de Rothamsted, le signal MALLS est accompagné d'un signal UV indiquant un caractère organique de la population colloïdale extraite. Enfin, la présence des éléments Fe, Al, et Mn au sein des populations colloïdales des extraits à l'eau ultrapure a été mise en évidence par couplage As4F-ICP-MS pour les deux sols étudiés (Figure 21).

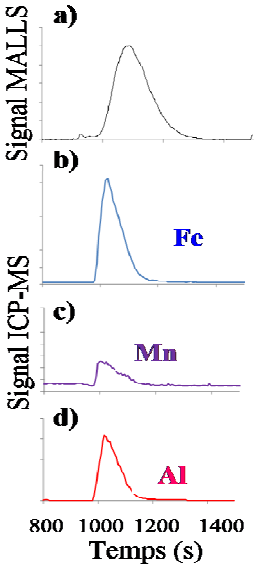


Figure 21. Fractogrammes (méthode B) montrant la présence de Fe, Al et Mn associés à la population colloïdale de l'extrait à l'eau ultrapure du sol de Bure :
a) signal MALLS ; b, c, d) signal ICP-MS

Les populations colloïdales présentes dans les extraits à l'eau ultrapure correspondent donc principalement à des particules minérales et/ou organo-minérales (micro-agrégats constitués de particules minérales et de substances humiques).

Pour les extraits à la soude des deux sols, les signaux UV obtenus avec la méthode A mettent en évidence la présence de populations colloïdales de taille comprise entre 1 à ≈20 nm présentant un caractère organique (Figure 22).

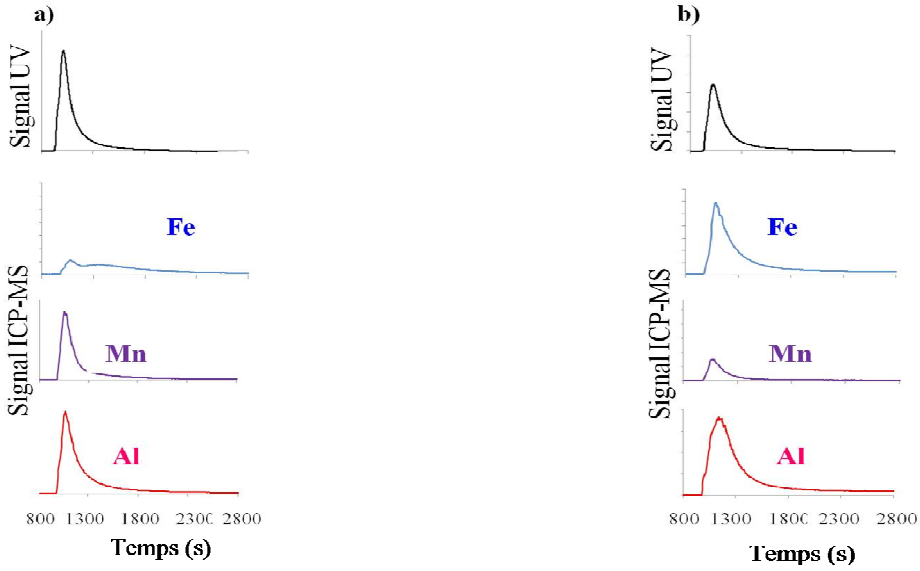


Figure 22. Fractogrammes FFF-UV-ICP-MS obtenus avec la méthode A pour les extraits à la soude a) du sol de Rothamsted ; b) du sol de Bure

En plus du caractère organique, les populations colloïdales contiennent les éléments Fe, Al, et Mn. Ces caractéristiques sont en accord avec l'action de la soude sur la MO des sols, c'est-à-dire l'extraction des acides fulviques et humiques, auxquels sont associés les éléments Fe, Al et Mn. Contrairement aux extraits à l'eau ultrapure, aucun signal (UV et MALLS) n'a été observé avec la méthode B pour les extraits de sol à la soude.

- *Se associé à la fraction colloïdale et bilan sur la spéciation de Se*

Pour l'extrait à l'eau ultrapure du sol de Rothamsted, aucun signal n'a été observé pour Se par As4F-UV-ICP-MS (méthode B). Malgré les faibles limites de détection obtenues pour Se avec l'ICP-MS (0,1 - 10 µg kg^{-1} ; cf. Partie B.I.), la technique As4F entraîne une forte dilution des échantillons (estimée à un facteur 100). Il est donc, pour ce sol, impossible de conclure quant à l'absence ou la présence de Se associé à la fraction colloïdale dans l'extrait à l'eau ultrapure.
Par contre, la présence de Se associé aux populations colloïdales a été mise en évidence pour l'extrait à l'eau ultrapure du sol de Bure et pour les extraits à la soude des deux sols (Figure 23).

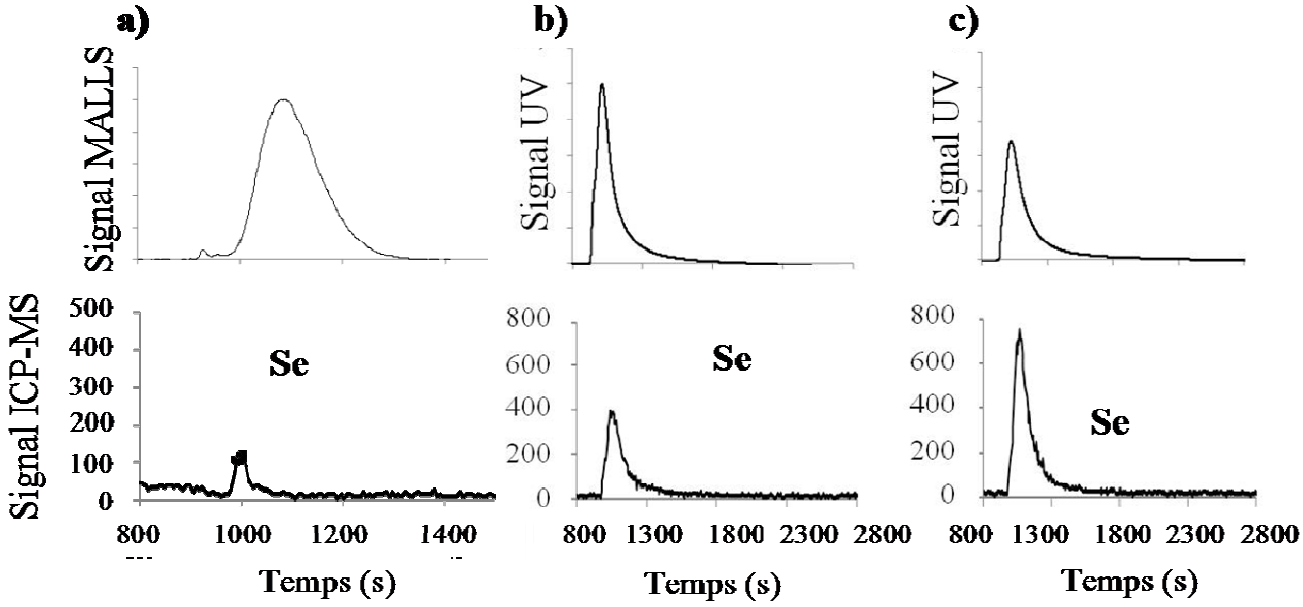


Figure 23. Fractogrammes montrant la présence de Se associé à la population colloïdale de l'extrait à : a) l'eau ultrapure du sol de Bure : b) la soude du sol de Rothamsted ; c) la soude du sol de Bure

Les quantifications de : Se total extrait et Se total non extrait (ICP-MS), espèces dissoutes connues, telles que Se(IV), Se(VI) ou MeSeOOH (HPLC-ICP-MS) et Se associé à la fraction colloïdale (As4F-(HPLC)-ICP-MS), ont permis de déterminer la répartition de Se pour chaque extrait, eau ultrapure et soude, des sols de Rothamsted et de Bure (Figure 24).

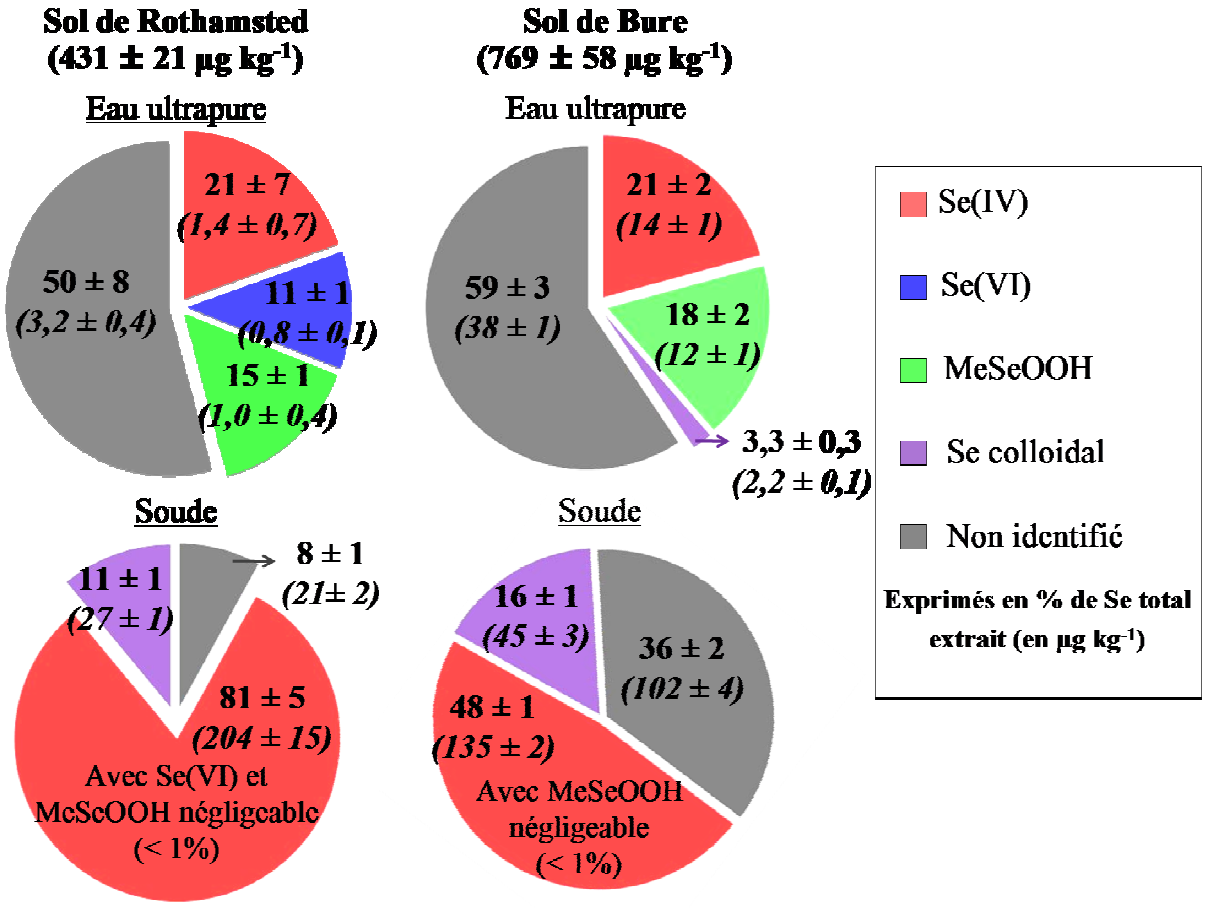


Figure 24. Répartition des espèces de Se dans les extraits à l'eau ultrapure et à la soude après étude exploratoire de Se associé à la fraction colloïdale pour les sols de Rothamsted et de Bure

Les quantités de Se associé à la fraction colloïdale dans les deux types d'extrait pour les deux sols sont inférieures aux espèces dissoutes et représentent 3 à 16 % de Se total extrait. Elles ne permettent pas d'expliquer la totalité de la quantité de Se non élué par HPLC-ICP-MS. 8 à 59 % de Se total extrait reste donc non identifié en fonction des sols et des extractants.

II.4. Conclusion

Cette étude exploratoire a montré l'existence de Se associé à la fraction colloïdale présente dans les extraits de sol, filtrés à 0,45 µm, à l'eau ultrapure et à la soude. Elle permet donc de confirmer une des deux hypothèses émises concernant les espèces séléniées inconnues mises en évidence dans les extraits des sols étudiés.

Les résultats obtenus indiquent que les populations colloïdales présentes correspondent principalement à :

- pour les extraits à l'eau ultrapure, des particules minérales et/ou organo-minérales (micro-agrégats constitués de particules minérales et de substances humiques) de tailles comprises entre 20 et 250 nm.
- pour les extraits à la soude, des composés organiques de types acides fulviques et humiques de tailles comprises entre 1 et 20 nm, auxquels sont associés les éléments Fe, Al et Mn.

Cependant, la quantité de Se associé à la fraction colloïdale (3 à 16 % de Se total extrait), présente à l'origine dans les sols ou formée au cours des extractions, n'explique pas la totalité des espèces de Se inconnues. Ce résultat pourrait être indicatif de la présence de composés ou complexes de Se inconnus dissous. Il est également possible que la quantification de Se colloïdal présent dans les extraits de sol soit incomplète pour deux raisons :

- la forte dilution des échantillons (facteur 100) par la technique de fractionnement par As4F. Cette forte dilution peut entraîner des difficultés pour la détection de Se par ICP-MS (exemple, extrait à l'eau ultrapure du sol de Rothamsted) ou la détection de faibles quantités de colloïdes par les détecteurs UV et MALLS. L'absence de signaux As4F-UV (méthode A ; 1 à ≈20 nm) pour les extraits à l'eau ultrapure et As4F-UV-MALLS (méthode B ; ≈20 à 450 nm) pour les extraits à la soude peut donc être indicatif à la fois, de l'absence de colloïdes dans ces gammes de taille ou de leur présence en quantités non détectables suite à la dilution.
- une interaction entre des espèces de Se dissoutes et/ou colloïdales et les membranes utilisées pour le fractionnement par As4F. Une étude réalisée au laboratoire a mis en évidence, grâce à la réalisation de bilans de masse, que 43 % de l'uranium total présent dans un lixiviat de sol était retenu par la membrane As4F au cours du fractionnement des colloïdes (Claveranne-Lamolère, 2010). Ces phénomènes d'interaction (adsorption ou absorption en fonction de la taille des analytes) ont déjà été observés par Guo et al. (2007) et expliqués par la présence de charges au niveau de la surface des membranes. Etant donné les niveaux de concentrations en Se dans les extraits de sol étudiés, la quantité de Se ayant interagi avec la membrane au cours du fractionnement des colloïdes n'a pas pu être estimée, empêchant ainsi la réalisation de bilans de masse précis.

Une des pistes de recherche actuelle au laboratoire pour palier à l'inconvénient majeur de la méthode As4F (dilution forte) est la mise au point de techniques de pré-concentration de la fraction colloïdale en respectant l'intégrité de l'échantillon. D'autres pistes de recherche pour améliorer la compréhension des espèces inconnues de Se sont discutées au sein des conclusions et perspectives de ce manuscrit.

Partie III. Synthèse

Le développement méthodologique réalisé dans cette première partie de l'étude montre plusieurs avantages.

Une méthodologie en ligne fiable a été mise en place pour la détermination des espèces inorganiques et organiques connues de Se présentes dans les sols à l'état de traces

L'identification et la quantification des espèces séléniées sont effectuées sans prétraitement contrairement aux techniques sélectives de Se(IV). Les espèces organiques de Se connues, telles que les acides aminés séléniés (SeMet, SeCys) ou encore des espèces méthylées non volatiles (MeSeOOH, $TMSe^+$) peuvent être identifiées et quantifiées, précisant les composants de la fraction « Se organique ». Ainsi, la présence de MeSeOOH, pouvant provenir de processus microbiologiques ou de l'oxydation de SeMet, a été observée dans un sol de prairie et représente 4,2 ± 0,4 % de Se_{total} du sol.
Comme attendu d'après la littérature (cf. Paragraphe A.IV.1), aucune transformation des espèces séléniées inorganiques, Se(IV) et Se(VI), n'a été observée pour les trois extractants utilisés, eau ultrapure, tampon phosphate à pH 7 et soude. Cependant, nous avons également vérifié la stabilité des espèces organiques de Se susceptibles d'être présentes dans les sols et dont les étalons sont disponibles (SeMet, SeCys, MeSeOOH et $TMSe^+$).
Enfin, cette méthodologie présente de faibles limites de détection et de quantification (0,1 - 10 et 0,3 - 33 µg kg^{-1} en fonction des espèces et des extractants), permettant de déterminer la spéciation de Se présent à l'état de traces (µg kg^{-1}) dans les sols (contexte radiologique).

Une méthodologie complète a été développée pour estimer la réactivité de Se présent dans les sols

La méthodologie développée permet également de déterminer le coefficient de distribution solide/liquide (Kd ; extraction à l'eau), d'intérêt particulier pour les analyses de sûreté du stockage des déchets radioactifs HAVL car il est un paramètre clé dans la modélisation des risques associés à une contamination des sols par les radionucléides. D'après la littérature, les

extractions au tampon phosphate et à la soude permettent d'estimer respectivement Se adsorbé (généralement sur les phases minérales) et Se associé à la MO des sols (cf. Paragraphe A.III.2.). L'estimation des phases de rétention associée à une analyse de spéciation de Se permet d'améliorer la compréhension des mécanismes impliqués. Par exemple, la prédominance de Se(IV) dans les extraits au tampon phosphate et à la soude serait indicative de l'implication majoritaire des processus d'adsorption.

D'un point de vue transfert de Se des sols vers les autres compartiments de la biosphère (eaux de surface et souterraine, végétaux), l'extraction à l'eau ultrapure permet d'estimer la part de Se qui est directement lessivée. Les deux autres réactifs sont indicatifs de la part de Se sorbé susceptible de recharger la solution de sol, par comparaison au Se sorbé extrait par des attaques chimiques plus fortes comme la digestion acide. L'analyse de spéciation dans ces extraits permet donc d'estimer la nature (degré d'oxydation, ions libres, phase dissoute ou colloïdale, caractère organique ou minéral) des espèces de Se susceptibles d'être présentes dans la solution de sol.

Des informations supplémentaires pour la compréhension de la fraction complexe « Se organique »

Il se dégage de la littérature que la fraction « Se organique » peut représenter jusqu'à 95 % de Se_{total} extrait par l'eau, le tampon phosphate et la soude (Table 6 ; cf. Partie B.1.). La méthodologie développée permet de préciser en partie les composants de cette fraction puisqu'elle conduit à l'identification et la quantification des acides aminés séléniés et des formes méthylées non volatiles.
Cependant, pour le sol de prairie étudié au cours du développement analytique, seule l'espèce organique MeSeOOH a été identifiée, ne représentant pas la totalité de la fraction « Se organique ». En effet, la présence d'espèces non identifiées a été mise en évidence (cf. Partie B.1.) et l'analyse de la fraction colloïdale présente dans les extraits de sol (eau ultrapure et soude), a montré la présence de Se associé à des entités colloïdales organo-minérales (cf. Partie B.2.).
Les résultats obtenus par nos recherches, notamment ceux pour les extraits à l'eau ultrapure, rejoignent de très près les observations récentes de Weng et al. (2011) sur des extraits de sols avec $CaCl_2$ (réactif utilisé pour estimer Se présent dans la solution de sol), à partir d'une méthode d'analyse de spéciation de Se différente (Technique de la membrane Donnan, Figure 25).

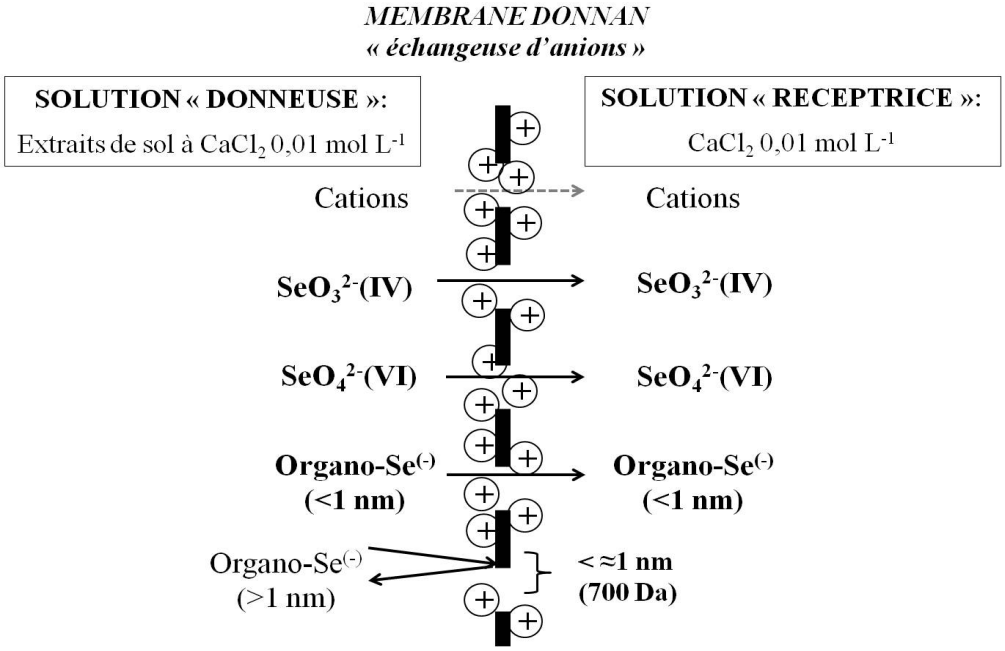


Figure 25. Principe simplifié de la séparation des espèces de Se par la membrane Donnan

Cette membrane permet le transport des espèces anioniques dissoutes et retarde celui des espèces cationiques. Les particules de taille colloïdale, comme les substances humiques, ne passent pas à travers la membrane du fait de leur taille. Le sélénium mesuré dans la solution réceptrice inclut donc Se(IV), Se(VI) et les composés organo-séléniés de taille inférieure à 1 nm (700 Da). Ces espèces peuvent être identifiées grâce à leurs cinétiques de transport qui sont significativement différentes (Weng et al., 2011). En étudiant quinze sols, ces auteurs ont mis en évidence que, dans les extraits à $CaCl_2$, les espèces Se(IV), Se(VI) et les composés organo-séléniés de taille <1 nm, pouvant correspondre aux acides aminés séléniés et aux composés méthylés non volatils, représentent seulement 13 à 34 % de Se_{total} extrait. Se restant (67 à 86 %) ne passe pas à travers la membrane Donnan et correspond donc à Se lié ou incorporé à des colloïdes (>1 nm), dont le caractère organique a été précisé à partir d'une étude statistique (corrélation avec le carbone organique extrait). La quantité de Se colloïdal qu'ils ont estimée est du même ordre de grandeur que la quantité d'espèces de Se non identifiées observée dans cette étude pour les extraits à l'eau ultrapure (55 % pour le sol de Rothamsted et 62 % pour le sol de Bure).

Cependant, la quantité de Se associé à la fraction colloïdale, déterminée par couplage As4F-ICP-MS, est inférieure à la quantité d'espèces de Se non identifiées par HPLC-ICP-MS. En effet, pour le sol de Rothamsted, Se colloïdal n'a pas pu être détecté, probablement dû aux faibles teneurs en Se dans cet extrait de sol et au fort facteur de dilution de la technique de fractionnement As4F. Pour le sol de Bure, il a été observé que seulement 8 % de Se total extrait est sous forme colloïdale.

Par comparaison avec les résultats de Weng et al. (2011) montrant 67 à 86 % de Se extrait sous forme colloïdale, il est possible que :

- la quantification de Se colloïdal par As4F-ICP-MS soit incomplète (cf. Conclusion chapitre B.II.).
- l'hypothèse de Weng et al. (2011), à savoir que la totalité de Se qui ne passe pas à travers la membrane Donnan est sous forme colloïdale, nécessite des vérifications. En effet, il est probable que des composés ou complexes séléniés dissous inconnus de Se présentent des charges positives, ce qui limiterait leur transport à travers la membrane Donnan.

A partir de ces informations, des pistes de recherches sont discutées au sein des conclusions et perspectives pour améliorer la caractérisation de ces espèces séléniées.

CHAPITRE C.

REACTIVITE DU SELENIUM DANS LES SOLS : IMPACT DE LA MATIERE ORGANIQUE ET ASPECTS CINETIQUES

Ce chapitre présente deux stratégies d'investigation menées pour améliorer la connaissance des facteurs influençant la rétention et la remobilisation de Se présent dans les sols de surface et explorer les cinétiques de sa distribution et de sa spéciation. Pour ces deux études, la méthodologie précédemment développée a été mise en œuvre.

La première approche (Partie I.) a été focalisée sur la détermination de la distribution et de la spéciation de Se natif présent à l'état de traces dans 27 sols représentatifs des écosystèmes français (culture, prairie et forêt) et ne présentant pas de prédominance de phase organique ou minérale. En effet, la littérature a déjà mis en évidence que, pour les sols riches en oxydes de Fe ou d'Al et très pauvres en MO (<1 %), le mécanisme principal de rétention de Se est l'adsorption sur les oxydes (cf. Paragraphe A.III.1.). Au contraire, pour les sols très riches en MO (>30 %), la phase organique représente le principal réservoir de rétention de Se ; le mécanisme suggéré est la réduction de Se par les micro-organismes suivie de son incorporation au sein des substances humiques, principalement de faibles poids moléculaires (cf. Paragraphes A.II.3. et A.III.2.).
La collection de sols étudiée présente des teneurs en MO intermédiaires (1 - 32 %), distribuées de manière homogène (gradient), l'objectif étant d'améliorer en particulier la compréhension du rôle de la MO dans le comportement de Se dans ces sols sans prédominance de phase.
L'abondance des espèces organiques séléniées connues, provenant des processus de métabolisation et/ou de détoxication dans les sols, a également été déterminée alors que, jusqu'à aujourd'hui, ces espèces ont été identifiées dans quelques échantillons de sol et n'ont jamais été quantifiées.
L'originalité de ce travail réside également dans l'étude de Se natif des sols. En effet, la majorité des études sur le comportement de Se dans les sols a été réalisée à partir de Se fraîchement ajouté, pour se placer dans un contexte de contamination radiologique (risques de toxicité) ou de fertilisation (risques de carence). Or, la compréhension du comportement de Se natif pourrait permettre d'appréhender les processus impliqués sur le long terme dans l'accumulation, la remobilisation en solution et les changements de spéciation de Se, suite à une contamination des sols.

Ce travail fait l'objet de l'article « Speciation and mobility of native selenium in soils: a focus on its interactions with soil organic matter », préparé pour soumission dans le journal « *Geochimica*

et Cosmochimica Acta » et présenté ci-après (Partie I). Les caractéristiques topographique, géologique, pédologique et chimiques, ainsi que les résultats obtenus concernant Se (valeurs de Kd, rendements d'extraction et spéciation), sont détaillés pour chaque sol étudié, au sein des annexes I à IV, puisque regroupés selon le type d'utilisation des sols (culture, prairie et forêt) au sein de l'article présenté ci-après. L'étude statistique (corrélations et différences significatives) présentée au sein de cet article a été réalisée à partir des rendements des extractions simples. L'annexe IV présente les résultats obtenus en utilisant les rendements des extractions calculés pour simuler les résultats qui seraient obtenus après réalisation de ces mêmes extractions en séquence, comme majoritairement effectuées dans la littérature. Les mêmes corrélations et les mêmes différences significatives ont ainsi été observées indiquant une similarité des conclusions sur le comportement de Se dans les sols

Partie I.

Speciation and mobility of native selenium in soils: a focus on its interactions with soil organic matter

Julie Tolu[a, b*], Yves Thiry[b], Maïté Bueno[a], Claudy Jolivet[c], Martine Potin-Gautier[a], and Isabelle Le Hécho[a *]

[a] Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement (LCABIE), Université de Pau et des Pays de l'Adour/CNRS, UMR 5254, IPREM, Hélioparc, 2 Avenue du Président Angot, 64053 Pau Cedex 9, France

[b] Andra, Research and Development Division, Parc de la Croix Blanche, 1/7 rue Jean Monnet, 92298 Châtenay-Malabry Cedex, France

[c] Institut National de La Recherche Agronomique (INRA), US 1106 INFOSOL, 2163 avenue de la Pomme de Pin - CS 40001 – Ardon, 45075 Orléans Cedex 2, France

[*]Corresponding author: julie.tolu@etud.univ-pau.fr

Article en préparation pour soumission dans « *Geochimica et Cosmochimica Acta* »

ABSTRACT

Minerals were shown to be the major Se retention phases in volcanic soils and red earth, both rich in oxides and poor in soil organic matter (SOM), while the organic phase was more important in forest podzol and peat soils. It is thus important to investigate the behavior of native Se present at trace level (µg kg^{-1}) in soils showing no predominance of mineral or organic phases. An analytical methodology previously developed in our laboratory to determine Se speciation in soils at trace level was applied to 27 soils presenting a strong organic matter (OM) content gradient (1 to 32 %) and lesser extensive gradients of pH, Fe, Al and Mn content. Based on three parallel single extractions targeting Se associated with different soil phases, the methodology enables the determination of total extracted Se and its speciation allowing a direct identification of inorganic Se(IV) and Se(VI) and known organo-Se compounds (Se-amino acids; non volatile methylated compounds). Solid/liquid distribution coefficients (Kd), generally used to model trace contaminant and radionuclide mobility, were determined from ultrapure water extraction. Obtained Kd values appeared significantly higher than those previously reported on the basis of Se-spiked soils. The study of native Se allows thus to take into account kinetically limited processes involved in long term Se retention in soils compared to short-term experiments. Statistical studies of native Kd values highlighted that minerals represent the major components responsible for native Se retention despite a strong OM content gradient throughout the soil collection. The soil organic phase was nevertheless found to influence native Se extractability by phosphate buffer and sodium hydroxide, considered to be relevant for Se adsorbed to minerals and Se associated to SOM, respectively. A statistical study allowed concluding that SOM is controlling the stability of native Se bearing phases via aggregation and/or sorption with minerals. SOM affects thus the capacity of retained Se to be desorbed to soil solutions. Native Se speciation in ultrapure water, phosphate buffer and NaOH soil extracts depended also on SOM, that could be explained by Se incorporation and/or bounding to colloidal-sized OM.

Keywords: Native selenium; Soils; Speciation; Organic matter

1. INTRODUCTION

Selenium is a trace element of environmental concern because of the narrow range between its essential and toxic levels (Pyrzyńska, 2002). A radioactive isotope of selenium, ^{79}Se, was also shown to be among the most critical radionuclide for safety assessment of nuclear waste repositories in case of hypothetical soil contamination (Andra, 2005) In that context, Se speciation and reactivity in soils (e.g., interactions with solid phase) must be clearly understood since they control its mobility towards surface and ground-waters as well as its bio-availability for plants, and hence animals and human being exposure (Séby et al., 1998).

In soils, Se can exist under inorganic and organic forms. Inorganic Se is observed under various oxidation states, i.e. Se(VI), Se(IV), Se(0) and Se(-II), redox species distribution depending on pH/Eh conditions and microbial activity. In reduced conditions, Se(0) and metallic-precipitated Se(-II) (e.g., FeSe(-II), $FeSe(-II)_2$), are predominant. They are water insoluble and thus poorly mobile (Séby et al., 1998). In most of surface soils (oxidized conditions), the major Se species, Se(IV) and Se(VI), can exist as aqueous species in soil solution or sorbed onto mineral fraction and soil organic matter (SOM). They are specifically adsorbed onto soil minerals, i.e. metal oxy(hydr)oxides (Su and Suarez, 2000; Duc et al., 2003; Foster et al., 2003; Peak, 2006; Hiemstra et al., 2007), clays (Bar-Yosef and Meek, 1987; Peak et al., 2006), and to a lesser extent calcareous components (Cheng et al., 1997). Se interaction with SOM was suggested to involve i) direct Se(IV) adsorption onto humic substances (HS), probably by binding to the amino group (Bruggeman et al., 2007; Kamei-Ishikawa et al., 2007; Kamei-Ishikawa et al., 2008); ii) indirect Se(IV) and/or Se(VI) adsorption onto oxide minerals sorbed/aggregated with SOM (Coppin et al., 2009); iii) Se microbial reduction to Se(0) and/or Se(-II) and subsequent incorporation into humic substances (Gustafsson and Johnsson, 1994). In addition to Se associated to SOM, organo-Se(-II) compounds originating from Se metabolism (e.g., seleno-amino acids, seleno-proteins) or detoxification (volatile methyl Se compounds) by microorganisms and plants could also be present in soils (Pyrzyńska, 1998). Indirect speciation analyses, i.e. sample redox treatments in combination with Se(IV) selective detection, have indicated that a large part of Se is of organic nature in various soil extracts (until 95 % of extracted-Se total; Martens et Suarez, 1997; Séby et al., 1997). But, only few organo-Se compounds have been isolated from soils and identified: seleno-methionine (Abrams et al., 1990), seleno-cystine (Pickering et al., 1995) and a non volatile methylated compound (MeSeOOH; Tolu et al., 2011).

Soil/Se interactions have been often studied with experiments performed on pure solid phases (Fe, Al oxides, clay minerals and humic substances) or typical soils. The major role of soil mineral fraction was emphasized in Japanese volcanic soils and red earth, rich in Al, Fe and Mn oxides and poor in OM (Dong et al., 1999; Nakamaru et al., 2005). SOM was rather considered as the most important Se bearing phase in soils rich in OM (>30 %), like forest podzol or peat soil (Gustafsson and Johnsson, 1994; IAEA, 1994; Eich-Greatorex et al., 2007). In less contrasted soils, the processes controlling Se mobility and bio-availability can be more complex because of the lack of a predominant phase and interactions between the mineral fraction and SOM (e.g., sorption and/or aggregation; Kögel-Knabner et al., 2008). Most of soil/Se interactions were also described for Se-spiked or seleniferous soils (>1 mg kg^{-1}). Native Se, generally present at trace level (µg kg^{-1}) in soils is at steady state, and could depict a different mobility compared to that reported for freshly added Se or concentrated native Se. Understanding native Se distribution and speciation in soil is particularly relevant when the consequences of a potential Se release in soils must be predicted on a long time span, as for environmental assessment of radioactive waste repository (Sheppard, 2011).

The objective of this study is to understand which soil parameters affect the mobility and speciation of native Se in soils showing no predominance of mineral or organic phases. For this purpose, 27 soils representative of major terrestrial ecosystems (culture, grassland, forest) of the French metropolitan territory were studied. This soil collection presented a strong OM content gradient (1 to 32 %) and lesser extensive gradients of pH, Fe, Al and Mn content. Se distribution and speciation in the different soil components were determined using the analytical methodology previously optimized to determine speciation of Se present in soils at trace level (Tolu et al., 2011). Firstly, solid/liquid distribution coefficients (Kd), commonly used for modelling trace contaminant and radionuclide mobility in soils, were determined from ultrapure water extraction. To refine our understanding of soil factors affecting the overall Se mobility, specific fractions of sorbed Se, i.e. adsorbed Se and Se associated to SOM, were further explored by phosphate buffer and NaOH extractions. These two approaches were completed with quantification of detected Se species in soil extracts, using a direct Se speciation analysis (High Performance Liquid Chromatography hyphenated to Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry), allowing identification of some organo-Se compounds.

2. MATERIAL AND METHODS

2.1. Reagents

All reagents used were of analytical grade. The solutions were prepared with ultrapure water obtained from a Milli-Q System (18.2 Ω cm; Elix, Millipore). D,L-seleno-methionine (SeMet), L-seleno-cystine ($SeCys_2$), methane seleninic acid (MeSeOOH), sodium selenite (Se(IV)) and sodium selenate (Se(VI)) were obtained from Sigma-Aldrich (SigmaUltra, ≥ 99.0 %). Stock standard solutions containing 1000 mg(Se) L^{-1} were prepared in ultrapure water, except $SeCys_2$ which was dissolved in 0.2 % HCl for stabilization and kept in the dark at 4°C. Working standard solutions were prepared daily by appropriate dilution in ultrapure water.

2.2. Soil samples and physicochemical characteristics

Soil collection was composed of 9 culture, 9 grassland and 9 forest soils selected to obtain a significant OM gradient for each land-use type at the scale of the French metropolitan territory. Most of these soils was obtained from the French National Soil Quality Monitoring Network "Réseau de Mesures de la Qualité des Sols", which encompasses 2200 sampling sites based on a 16 km regular grid covering the French metropolitan territory. At each site, 25 individual core samples were taken from the topsoil layer (0–30 cm), using a stratified random sampling design within a 20×20 m area. Core samples were bulked to obtain a composite sample for each site. The other soils were collected (0-25 cm surface depth) at experimental and monitoring sites managed by Andra in the Bure area (Meuse/Haute-Marne, France) selected for possible installation of a deep underground disposal of radioactive wastes. All soil samples were air-dried, sieved to 2 mm, grinded and stored in the dark at room temperature before analysis.

The following geochemical characteristics were measured in studied soils:

- pH (H_2O), measured at a soil:water ratio of 1:5 (NF ISO 10390)
- Cation Exchange Capacity (CEC), determined by spectrophotometry after cobaltihexamine chloride extraction (NFX 31-130)
- Content of total organic carbon (OC_{total}), determined by dry combustion (NF ISA 10694).
- Content of total nitrogen (N_{total}), determined by dry combustion (NF ISO 13878)
- Content of total major elements (K_{total}, Ca_{total}, Na_{total}, Fe_{total}, Al_{total}, Mn_{total}, P_{total} and Mg_{total}), determined after digestion with $HF/HClO_4$ (NFX 31-147) by Inductively Coupled

Plasma Atomic Emission Spectrometry (ICP-AES) (NF 11-885)

- Size fractions, i.e. clay <2 µm, fine silt 2-20 µm, large silt 20-50 µm, fine sand 50-200 µm and large sand 200-2000 µm, determined by sedimentation and sieving under water without decarbonation (NF 31 107)
- Fe and Al extracted by acid oxalate ($Fe_{oxalate}$ and $Al_{oxalate}$) and dithionite-citrate-bicarbonate (DCB- Fe_{DCB} and Al_{DCB}) were also quantified by ICP-AES. The acid oxalate method extracts free amorphous oxides and hydrous oxides (its attack on crystalline oxides and crystalline clay minerals is very limited) and Fe and Al-humus complexes. For Al, short-range-ordered alumino-silicates are also dissolved (Deb, 1950). The DCB method extracts $Fe_{oxalate}$, $Al_{oxalate}$ and free crystalline Fe and Al oxides phases (Mehra and Jackson, 1960).
- Extracted organic carbon was also determined in the soil extracts (OC_{water}, $OC_{phosphate}$ and OC_{NaOH}) after measurements of total C and inorganic C in soil extracts (TOC-V CSN, Shimadzu). Total C (i) and inorganic C (ii) were determined by detection of evolved CO_2 with an Infra-Red cell after, respectively, (i) catalytic oxidation at 700°C; (ii) HCl addition.

2.3. Selenium chemical extractions and analyses

Determination of Se speciation and assessment of its associations with different soil fractions were performed based on the complete methodology previously developed for native Se present in soils at trace level (Tolu et al., 2011).

Briefly, soil aliquots were mineralized by microwave-assisted acidic (HNO_3-HF) digestion (Ethos Touch Control, Milestone) to determine total soil Se concentrations. Then, three parallel single specific extractions were applied: ultrapure water (water-soluble Se soil fraction); phosphate buffer (KH_2PO_4/K_2HPO_4 0.1 mol L^{-1}) with pH 7 (exchangeable Se soil fraction considered as adsorbed or sorbed Se); sodium hydroxide (0.1 mol L^{-1}) (Se associated to SOM). For each soil extract, the residual solid phase was mineralized for the determination of residual Se. Mass balance (extracted Se + residual Se = total soil Se) was further calculated in order to control that no contamination or loss occurred during extractions.

Total Se concentrations were determined in digested soils, soil extracts and digested residual solid phases by Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (ICP-MS; 7500ce, Agilent). Se species were identified and quantified in soil extracts by hyphenating High Performance Liquid Chromatography (1100 series, Agilent) with ICP-MS.

2.4. Calculation for the determination of solid/liquid distribution coefficient

Selenium distribution coefficients Kd, expressed in L kg^{-1}, were determined from the ultrapure water extraction results following equation (1):

$Kd = [Se_{water}\ residual] / [Se_{water}\ ext.]$ (1)

with $[Se_{water}$ residual] and $[Se_{water}$ ext.] are respectively, total Se concentrations in the residual solid phase (µg kg^{-1}) and in the extraction solution (µg L^{-1}).

2.5. Statistical analyses

Statistical analyses were performed with STATBOX 7 software (Grimmer soft). As any parameter displayed normal or log-normal distribution, non parametric tests were used. Significant correlations between extracted Se efficiencies and soils parameters were highlighted from Spearman's coefficient correlation test. For each significant correlation, the correlation coefficient (r) and the value for which this correlation is significant (P-value <) are given. Significant differences between soils from different land-use type (culture, grassland and forest) were studied for soil parameters, extracted Se and OC, using Mann-Whitney's comparison tests. For those tests, the confident levels for which differences are statistically valid are given. All statistical analyses were performed for confidence levels between 80.0 and 99.9 %.

3. RESULTS AND DISCUSSION

3.1. Soil physico-chemical characteristics and evidences for organo-mineral associations

Major soil parameters expected to affect Se reactivity are presented in Table 1. Extracted organic carbon proportions (OC_{water}, $OC_{phosphate}$ and OC_{NaOH}) are also reported.

Table 1. Soil characteristics for each land-use type

		pH	CEC[f]	Fe_{total}	$Fe_{oxalate}$	Fe_{DCB}	Al_{total}	$Al_{oxalate}$	Al_{DCB}	Mn_{total}	OC_{total}	OC_{water} ext.[g]	OC_{water} ext.[g]	$OC_{phosphate}$ ext.[g]	$OC_{phosphate}$ ext.[g]	OC_{NaOH} ext.[g]	OC_{NaOH} ext.[g]	Clay[h]	Fine silt[i]	Large silt[j]	Sand[k]
			$Cmol^{+}\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	% OC_{total}	$g\ kg^{-1}$	% OC_{total}	$g\ kg^{-1}$	% OC_{total}	%	%	%	%
Culture (n^{a} = 9)	**M**[b]	**7**	**20**	**32**	**4**	**20**	**45**	**2**	**2**	**0.8**	**26**	**2**	**11**	**3**	**18**	**8**	**36**	**33**	**30**	**16**	**21**
	SD[c]	**1**	**10**	**10**	**2**	**8**	**19**	**2**	**1**	**0.5**	**17**	**1**	**7**	**4**	**10**	**4**	**18**	**13**	**12**	**10**	**12**
	Min[d]	*5*	*6*	*15*	*2*	*8*	*21*	*1*	*1*	*0.3*	*7*	*1*	*4*	*2*	*7*	*3*	*16*	*14*	*17*	*2*	*5*
	Max[e]	*8*	*30*	*48*	*9*	*33*	*76*	*7*	*4*	*1.5*	*58*	*3.0*	*23*	*6*	*38*	*14*	*66*	*54*	*49*	*32*	*43*
Grassland (n^{a} = 9)	**M**[b]	**7**	**28**	**40**	**5**	**19**	**48**	**2**	**5**	**0.9**	**59**	**3**	**7**	**8**	**15**	**27**	**40**	**39**	**34**	**12**	**15**
	SD[c]	**1**	**18**	**20**	**3**	**10**	**18**	**1**	**7**	**0.5**	**36**	**1**	**3**	**5**	**7**	**29**	**18**	**21**	**13**	**6**	**16**
	Min[d]	*5*	*9*	*20*	<DL[l]	*9*	*16*	<DL[l]	*1*	*0.2*	*12*	*2*	*3*	*3*	*7*	*3*	*18*	*11*	*18*	*1*	*3*
	Max[e]	*8*	*64*	*83*	*12*	*37*	*66*	*5*	*22*	*1.6*	*133*	*6*	*14*	*21*	*30*	*94*	*71*	*80*	*51*	*24*	*52*
Forest (n^{a} = 9)	**M**[b]	**5**	**21**	**34**	**6**	**26**	**31**	**4**	**5**	**0.9**	**55**	**4**	**10**	**9**	**20**	**29**	**56**	**25**	**25**	**10**	**39**
	SD[c]	**1**	**19**	**27**	**8**	**19**	**24**	**6**	**6**	**0.7**	**48**	**2**	**8**	**7**	**10**	**32**	**21**	**17**	14	**5**	**33**
	Min[d]	*4*	*1*	*0.4*	*0.1*	*0.2*	*6*	*0.2*	*0.2*	*0.002*	*9*	*2*	*2*	*3*	*11*	*8*	*27*	*1*	*1*	*1*	*7*
	Max[e]	*8*	*62*	*80*	*27*	*54*	*63*	*19*	*19*	*1.6*	*158*	*8*	*24*	*22*	*38*	*111*	*90*	*48*	*37*	*18*	*97*

(a) n: number of soil samples; (b) **M**: arithmetic mean; (c) **SD**: arithmetic standard deviation; (d) *Min*: minimum value; (e) *Max*: maximum value; (f) CEC: Cation Exchange Capacity; (g) Ext. : extracted; (h) Clay: size <2 µm; (i) Fine silt: size 2-20 µm; (j) Large silt: size 20-50 µm; (k) Sand: size 50-2000 µm; (l) DL: detection limit

Although the soil collection exhibited a strong OM content gradient (OC from 7 to 158 g kg^{-1}), other soils parameters, such as pH (4.0-8.3), Fe_{total} (0.4-83 g kg^{-1}), Al_{total} (8-76 g kg^{-1}), Mn_{total} (0.002-1.6 g kg^{-1}) and texture (fraction of clay, silt and sand), also varied extensively and exhibited homogeneous distributions (Fig. in Electronic Annex 1). These soil parameters values are in the range of those reported in the literature cited along the article, allowing relevant inter-comparisons, except volcanic Japanese soils and red earth (Dong et al., 1999; Nakamaru et al., 2005), for which the mineral fraction is highly dominant and, Swedish podzol and peat soils which are much richer in OM (Gustafsson and Johnsson, 1994; Eich-Greatorex et al., 2007).

As a function of soils, from 16 to 90 % of OC_{total} were extracted by NaOH (Table 1), with arithmetic mean and median values of 44 ± 21 and 45 % of OC_{total} respectively. NaOH-extracted OC (OC_{NaOH}) is considered representative of soluble organic fraction (humic and fulvic acids) while the residual organic carbon has been shown to contain compounds inherently stable against chemical attack (e.g. fossil or black C, aliphatic biopolymers, humine) (Duchaufour, 2001). More recently, intimate associations between organic and mineral soil fractions (covalent binding and aggregate formations) were shown to impact OC extractability by NaOH and water (Marschner et al., 2008). Despite a large set of soils with contrasted properties, OC_{total} and Fe_{total} are correlated to soil CEC (P <0.01; Table 2).

Table 2. Spearman's correlation matrix indicating organo-mineral associations

	CEC[(a)]	pH	Fe_{total}	Mn_{total}	Al_{total}	OC_{total}	OC_{NaOH}[(b)]	Clay size[(c)]	Fine silt size[(d)]
CEC[(a)]	1								
pH	**+0.45**	1							
Fe_{total}	**+0.59**	-0.00	1						
Mn_{total}	**+0.45**	-0.04	**+0.76**	1					
Al_{total}	+0.25	+0.27	+0.22	+0.07	1				
OC_{total}	**+0.56**	-0.25	+0.33	+0.23	+0.26	1			
OC_{NaOH}[(b)]	**-0.56**	**-0.85**	-0.09	-0.01	-0.11	+0.08	1		
Clay size[(c)]	**+0.77**	**+0.47**	**+0.45**	+0.20	**+0.40**	+0.12	**-0.69**	1	
Fine silt size[(d)]	+0.26	*+0.34*	+0.24	**+0.50**	-0.03	+0.02	*-0.37*	+0.11	1

(a) CEC: Cation Exchange Capacity; (b) OC_{NaOH}: expressed in % of OC_{total}; ; (c) Clay: size <2 µm; (d) Fine silt: size 2-20 µm;

The police style determine correlation's significance according to:

no significant; *significant for P <0.10* ; **significant for P <0.05**; **significant for P <0.01**

Such correlation combinations give evidences of intimate organo-mineral interactions in studied soils, through cation exchange as the dominant SOM/mineral bounding mechanism (Kahle et al., 2003; Kögel-Knabner et al., 2008). OC_{NaOH} was negatively correlated to i) clay size fraction (<2 µm) ($P < 0.01$) ii) fine silt size fraction (2-20 µm) ($P < 0.1$), giving emphasis to a relation between organo-mineral associations and SOM stability against chemical attack. The important role of clay and silt size fractions as the main soil compartments containing stabilized SOM by sorption/micro-aggregation with minerals was further illustrated by Gerzabek et al. (2006) and Moni et al. (2010). The significant and negative correlation between OC_{NaOH} and soil pH ($P < 0.01$) can be explained by higher amount of stabilized OM (lower OC_{NaOH} proportions) at high pH values due to i) higher microbial activity leading to molecular (humification) and physical (mucilage favoring holding particles together) stabilization (Kögel-Knabner et al., 2008) and/or ii) formation of inner-sphere cation binding between the organic and the mineral fractions rather than ligand exchange reactions, which is the major binding mechanism in acidic medium due to higher surface protonation (Mikutta et al., 2006; Kaiser et al., 2011).

In addition, OC_{total} was significantly lower in culture soils than in forest ones at 85 % confident level, but this difference was even more significant when considering OC_{NaOH} (98 % confident level; Fig. 1).

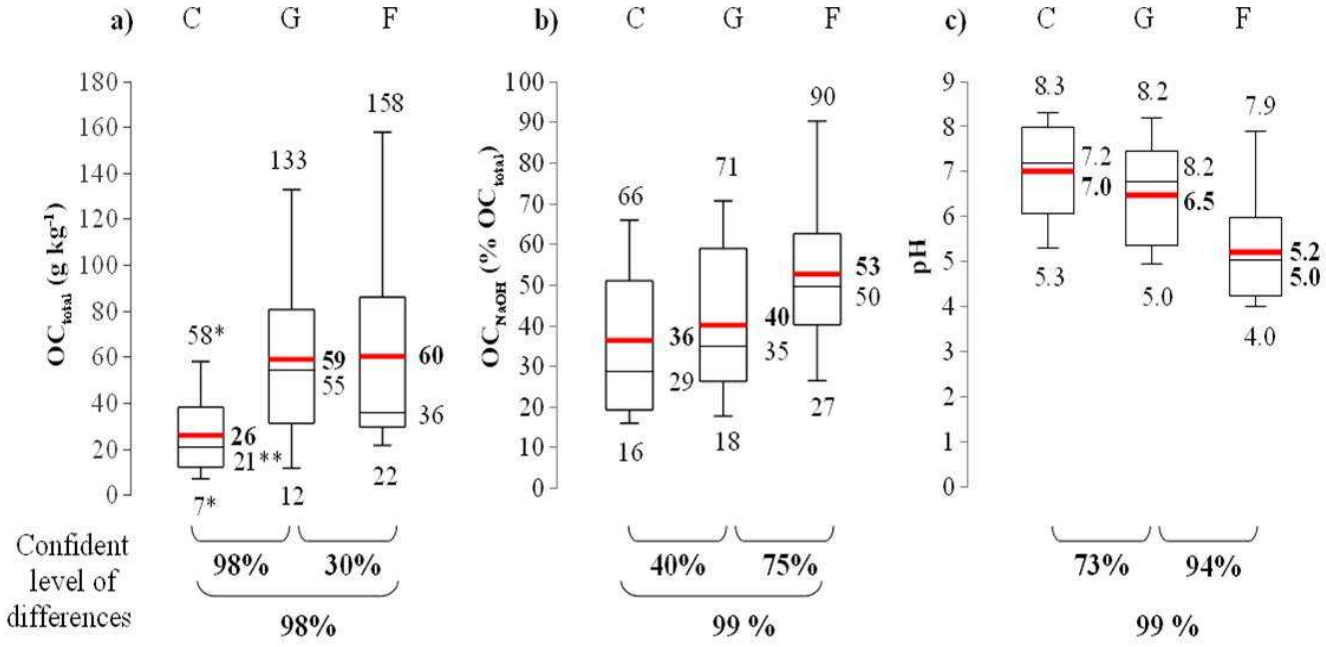


Fig. 1. Box-and-Whisker plots and confident level of differences between soil land-use type for i) soil OC_{total}, ii) OC_{NaOH} and iii) pH

*(C: culture soils; G: grassland soils; F: forest soils; *: minimal and maximal values; **: median value; in bold: arithmetic mean value)*

SOM stability is known to be affected by land-use type (Kögel-Knabner et al., 2008), its variations being mainly attributed to differences in organo-mineral associations (Kaiser et al., 2011). A higher SOM stability in culture soils was thus explained by their higher pH values (mean of 7.0 for our soils; Fig. 1) promoting inner-sphere cation binding, while ligand exchange reactions and less stable organo-mineral associations prevail in acidic forest soils (mean pH value of 5.0 for our soils; Fig. 1) (Kaiser et al., 2011).

3.2. Se distribution and speciation

Total extracted and residual Se (Se_{water}, $Se_{phopshate}$ and Se_{NaOH}) concentrations (µg kg^{-1}), extracted proportions (% of Se_{total} in soils) and solid/liquid distribution coefficient values (Kd), calculated from ultrapure water extraction results, are presented Table 3.

Table 3. Water, phosphate and NaOH efficiencies and Kd values for each land-use type soils

		Se_{total}	Se_{water} ext.(f)	Se_{water} res.(g)	Se_{water} ext.(f)	Kd	$Se_{phosphate}$ ext.(f)	$Se_{phosphate}$ res.(g)	$Se_{phosphate}$ ext.(f)	Se_{NaOH} ext.(f)	Se_{NaOH} res.(g)	Se_{NaOH} ext.(f)
		µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}	L kg^{-1}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}
Culture (n(a) = 9)	**M**(b)	**385**	**17**	**355**	**5**	**614**	**53**	**323**	**15**	**131**	**262**	**35**
	SD(c)	**207**	**5**	**216**	**1**	**172**	**22**	**193**	**4**	**68**	**192**	**12**
	Min(d)	*198*	*8*	*168*	*3*	*332*	*22*	*145*	*6*	*39*	*99*	*19.6*
	Max(e)	*815*	*23*	*850*	*8*	*868*	*95*	*760*	*20*	*278*	*734*	*51*
Grassland (n(a) = 9)	**M**(b)	**557**	**28**	**534**	**5**	**689**	**95**	**468**	**18**	**301**	**274**	**55**
	SD(c)	**258**	**19**	**254**	**2**	**44**	**44**	**222**	**7**	**148**	**172**	**22**
	Min(d)	*323*	*14*	*313*	*3*	*37*	*37*	*276*	*8*	*92*	*65*	*28*
	Max(e)	*1119*	*61*	*1100*	*8*	*161*	*161*	*995*	*30*	*486*	*648*	*87*
Forest (n(a) = 9)	**M**(b)	**460**	**17**	**404**	**4**	**865**	**88**	**359**	**24**	**298**	**189**	**65**
	SD(c)	**293**	**8**	**283**	**1**	**497**	**59**	**261**	**13**	**220**	**116**	**19**
	Min(d)	*82*	*1*	*78*	*2*	*512*	*31*	*60*	*12*	*32*	*68*	*44*
	Max(e)	*1041*	*26*	*1007*	*6*	*2066*	*225*	*912*	*48*	*819*	*347*	*108*

(a) n: number of soil samples; (b) **M**: arithmetic mean; (c) **SD**: arithmetic standard deviation; (d) *Min*: minimum value; (e) *Max*: maximum value; (f) Ext.: extracted; (g) Res.: residual

3.2.1. Solid/liquid distribution coefficients (Kd)

Kd is a empirical parameter commonly used for modelling trace contaminant and radionuclide retention in soils whatever the processes involved. Overall Kd values ranged from 335 to 2066 L kg^{-1}(Table 3), but according to Kd's distribution there is one high outlier value (Kd = 2066 L kg^{-1}; Fig. 2). The corresponding soil sample was thus discarded in whole paper in order to get a homogeneous distribution for further statistical treatments.

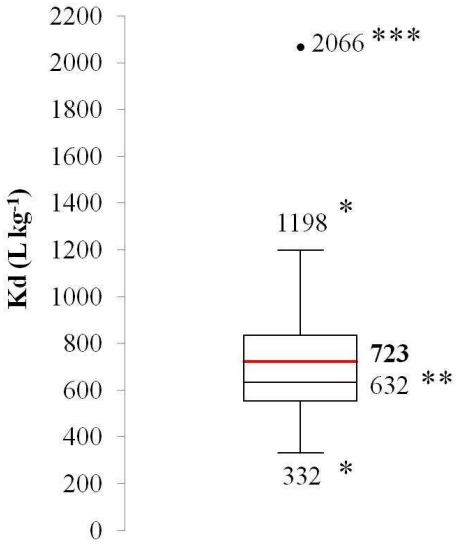


Fig. 2. Box-and-Whisker plot for Se solid/liquid distribution coefficient (Kd)
(: minimal and maximal values; **: median value; in bold: arithmetic mean value; ***outlier value)*

Kd values varied from 332 to 1198 L kg^{-1} with geometric mean and median values of 642 ± 1 and 626 L kg^{-1} respectively. Those values do not match well with the recent reference Kd compilation from IAEA (172 soils), ranging from 4 to 2130 L kg^{-1} with a geometric mean of 200 ± 3 L kg^{-1} (Gil-García et al., 2009; IAEA, 2010) or with other literature values (27 soils) ranging from 0.3 to 602 L kg^{-1} with a geometric mean of 44 ± 2 L kg^{-1} (Tao et al., 1996; Dhillon and Dhillon, 1999; Dong et al., 1999; Thorne et al., 2001; Wang and Liu, 2005; Chabroullet, 2007; Ashworth et al., 2008; Darcheville et al., 2008;). In our case, we obtained a geometric mean value of 642 ± 1 L kg^{-1} which is more than 3 and 13 times higher, respectively.

It is worth to point out that in this study, Kd values were determined for native Se present at trace level in soils while reported literature Kd values were determined for soils enriched in Se(IV) in a range of native Se concentrations (µg kg^{-1}) (Tao et al., 1996; Dhillon and Dhillon, 1999; Dong et al., 1999; Thorne et al., 2001; Wang and Liu, 2005; Chabroullet, 2007; Ashworth et al., 2008; Darcheville et al., 2008; Gil-García et al., 2009; IAEA, 2010). Recently, Loffredo et al. (2011)

provided Kd values for soils spiked with Se(VI), which were even lower (geometric mean of 13 ± 1 L kg^{-1}) than those reported after Se(IV) spiking. As Se(IV) was the predominant native Se species regards to Se(VI) (results shown below), it seems more relevant to compare the Kd values with those obtained with Se(IV) experiments.

In most cases, literature Kd values were calculated after Se sorption (ratio between Se remaining in solution and Se sorbed onto solid phase), and only few studies reported additional Kd values based on desorption. When $Kd_{sorption}$ and $Kd_{desorption}$ were available for same soil samples, $Kd_{sorption}$ were systematically lower than $Kd_{desorption}$ by factors varying between 1.3-5 for Se(IV) (Tao et al., 1996; Dong et al., 1999; Chabroullet, 2007) confirming the existence of non-reversible Se sorption processes (Loffredo et al., 2011). Few values have been reported for $Kd_{desorption}$ varying from 32 to 602 L kg^{-1} with a geometric mean value of 117 ± 2 L kg^{-1} (Tao et al., 1996; Dong et al., 1999; Chabroullet, 2007; Ashworth et al., 2008), which is still lower in comparison with set of Kd values obtained in this work. In fact, obtained geometric mean (642 ± 1 L kg^{-1}) is very close to the one obtained for native Se in 9 Canadian soils, i.e. 670 ± 2 L kg^{-1} (Sheppard et al., 2009).

These comparisons suggest that key-processes involved in Se retention are kinetically limited and equilibration times commonly used after Se spiking (from 1 to 60 h) are insufficient to correctly consider such processes. As for many other trace elements or radionuclides with a long physical half-live (Sheppard, 2011), the determination of Kd values for native Se better reflects steady state conditions and are thus particularly relevant for long-term impact assessment, whereas Kd from Se-spiking experiments must be used for short-term predictions.

3.2.2. Parameters affecting native Se mobility and speciation in soils

- *Importance of the mineral soil fraction on native Se capacity to be leached*

Statistical studies dedicated to water-soluble Se and Kd values gave similar results and thus only Kd ones are reported. After discarding outlier value (2066 L kg^{-1}; Fig. 2), Kd values were positively correlated to total Fe, Mn and Al contents in soils ($P < 0.1$) and Fe_{DCB} ($P < 0.01$), which were both indicative of Se adsorption onto oxide (Fe, Al, Mn) and clay (Al) minerals (Table 4; Fig. A and B in Electronic Annex 2).

Table 4. Spearman's correlation matrix for Kd and soil parameters representative of mineral fraction (i.e., total, oxalate and DCB-extracted Fe and Al)

	Kd (L kg^{-1})	Fe_{total} (g kg^{-1})	Fe_{DCB} [(a)] (g kg^{-1})	$Fe_{oxalate}$ [(b)] (g kg^{-1})	Al_{total} (g kg^{-1})	Mn_{total} (g kg^{-1})
Kd (L kg^{-1})	1					
Fe_{total} (g kg^{-1})	**+0.62**	1				
Fe_{DCB} [(a)] (g kg^{-1})	**+0.60**	**+0.81**	1			
$Fe_{oxalate}$ [(b)] (g kg^{-1})	+0.15	+0.29	+0.20	1		
Al_{total} (g kg^{-1})	*+0.36*	+0.22	-0.04	+0.29	1	
Mn_{total} (g kg^{-1})	**+0.62**	**+0.76**	**+0.88**	+0.27	+0.07	1

(a) Fe_{DCB}: $Fe_{oxalate}$ + free crystalline Fe and Al oxides; (b) $Fe_{oxalate}$: free amorphous oxides and hydrous oxides + Fe-humus complexes

The police style determine correlation's significance according to:
no significant; *significant for P <0.10* ; **significant for P <0.05**; **significant for P <0.01**

Kd values were not significantly correlated to the contents of oxalate-extracted Fe representative of amorphous oxide forms. As a consequence, it seems that amorphous oxide forms are not predominantly involved in native Se retention. This contrast with a predominating role of the most reactive amorphous oxides as inferred in previous works using Se-spiked experiments (John et al., 1976; Nakamaru et al., 2005). As a matter of fact, native Se has longer time to interact with stable minerals compared to added Se and/or amorphous minerals on which Se was sorbed could crystallize in soils with time.

In soils containing SOM content between 1 and 32 %, native Se capacity to be leached appears thus to be predominantly controlled by oxide fraction. However, it is necessary to refine the understanding of soil factors affecting remobilization of sorbed Se towards waters and the chemical form of leached species.

- *An influence of SOM on sorbed native Se stability*

Although Se extracted by phosphate buffer through an anion exchange mechanism is considered to be specific of Se adsorbed onto soil minerals (Martens and Suarez, 1997; Bujdoš et al., 2000; Kulp and Pratt, 2004), any positive correlation could be found between $Se_{phosphate}$ values and parameters representative of mineral soil fraction (Table 5).

Table 5. Spearman's correlation matrix for $Se_{phopshate}$, Se_{NaOH} and soil parameters

	$Se_{phosphate}$ (% Se_{total})	Se_{NaOH} (% Se_{total})	OC_{total} (g kg^{-1})	$OC_{phosphate}$ (% OC_{total})	OC_{NaOH} (% OC_{total})	Fe_{total} (g kg^{-1})	Mn_{total} (g kg^{-1})	Al_{total} (g kg^{-1})	$Fe_{oxalate}$ [a] (g kg^{-1})	Fe_{DCB} [b] (g kg^{-1})	$Al_{oxalate}$ [a] (g kg^{-1})	Al_{DCB} [b] (g kg^{-1})	pH
$Se_{phosphate}$ (% Se_{total})	1												
Se_{NaOH}(% Se_{total})	+0.27	1											
OC_{total} (g kg^{-1})	+0.12	**+0.50**	1										
$OC_{phosphate}$ (% OC_{total})	***+0.37***	+0.04	**-0.41**	1									
OC_{NaOH} (% OC_{total})	+0.22	**+0.67**	+0.08	**+0.47**	1								
Fe_{total} (g kg^{-1})	***-0.37***	-0.09	*+0.33*	**-0.41**	-0.09	1							
Mn_{total} (g kg^{-1})	*-0.33*	-0.01	+0.23	**-0.40**	-0.01	**+0.76**	1						
Al_{total} (g kg^{-1})	0.08	-0.11	+0.26	-0.13	-0.11	+0.22	0.07	1					
$Fe_{oxalate}$ [a] (g kg^{-1})	-0.11	+0.30	***+0.38***	-0.24	+0.04	+0.29	+0.20	*+0.34*	1				
Fe_{DCB} [b] (g kg^{-1})	**-0.44**	+0.16	+0.19	**-0.43**	+0.07	**+0.81**	**+0.87**	-0.01	+0.20	1			
$Al_{oxalate}$ [a] (g kg^{-1})	-0.21	+0.26	**+0.51**	**-0.50**	-0.09	+0.24	+0.37	+0.16	**+0.67**	*+0.34*	1		
Al_{DCB} [b] (g kg^{-1})	-0.01	**+0.42**	**+0.43**	**-0.41**	+0.25	**+0.70**	**+0.82**	+0.04	*+0.31*	**+0.88**	**+0.57**	1	
pH	-0.20	**-0.84**	-0.25	-0.22	**-0.85**	-0.00	-0.04	+0.27	-0.26	-0.15	-0.11	*-0.34*	1

(a) $Fe_{oxalate}$ and $Al_{oxalate}$: free amorphous oxides and hydrous oxides + Fe and Al-humus complexes + for Al, short-range-ordered alumino-silicates; (b) Fe_{DCB} and Al_{DCB}: $Fe_{oxalate}$ and $Al_{oxalate}$ + free crystalline Fe and Al oxides

The police style determine correlation's significance according to:

no significant; *significant for P <0.15;* ***significant for P <0.10***; **significant for P <0.05; significant for P <0.01**

$Se_{phosphate}$ values were even negatively correlated to i) Fe_{total} (P <0.10) and Mn_{total} (P <0.15) (Fig. D in EA 2); ii) Fe_{DCB} (P <0.05). From 7 to 38 % of OC_{total} were extracted by the phosphate buffer extractant (Table 1), due to a partial solubility of humic and fulvic acids at pH 7 as already observed by Bujdoš et al. (2000). A significant and positive correlation was found between $Se_{phosphate}$ and $OC_{phosphate}$ proportions (P <0.1; Fig. E in Electronic Annex 2), indicating an influence of OM status in soils on Se extractability, supported by the NaOH extraction results.

Se_{NaOH} values were found to be significantly positively correlated to soil OC_{total} (P <0.01; Table 5), in agreement with known capacity of NaOH to dissolve part of SOM and by extension to release associated Se (Abrams et al., 1990; Gustafsson and Johnsson, 1994; Martens and Suarez, 1997; Séby et al., 1997). However, the variance explained by OC_{NaOH} was higher than OC_{total} (r= 0.67 vs 0.50; Table 5; Fig. F in Electronic Annex 2). This strongly suggests that mechanisms controlling SOM stability also impact Se extractability. Another evidence was that Se_{NaOH} was significantly lower for culture soils than for forest soils (99.9 % confident level) (Fig. 3). That difference may be linked with a higher stability of organo-mineral associations in culture soils where a higher pH prevails compared to acidic forest soils (paragraph 3.1.).

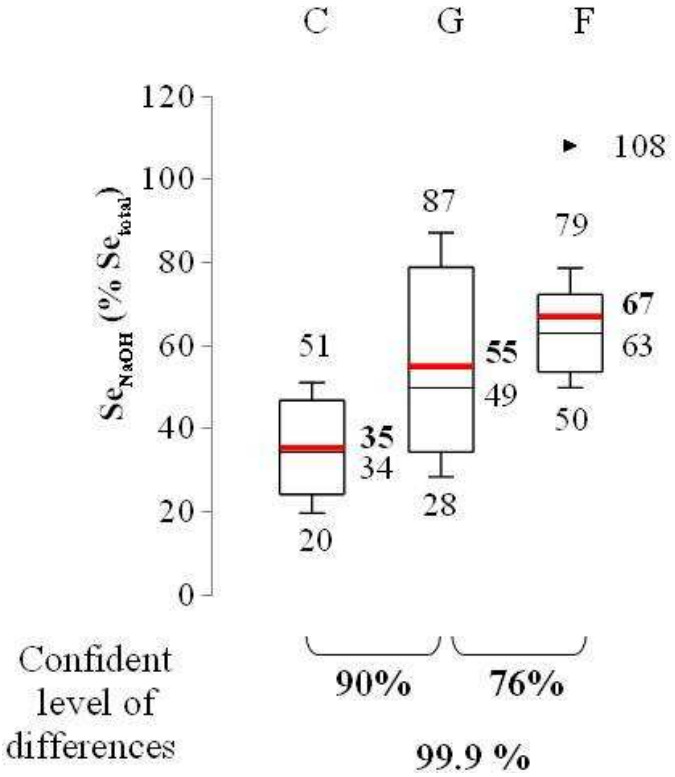


Fig. 3. Box-and-Whisker plots and confident level of differences between soil land-use type for Se_{NaOH}

Sorbed Se seems thus to be protected against chemical attacks (phosphate, NaOH) and water leaching through its incorporation in stable organo-mineral associations. In agreement with these observations, a recent study has shown for one soil containing 4% of OM, co-occurence of Se hot spots and high Fe-Al concentrations in 50-200 µm particulate OM (Coppin et al., 2009), indicating Se immobilization onto minerals sorbed/agregated with SOM. As a rule, changes in SOM chemical properties due to modification of related soil parameters (pH, land-use type, microbial activity) can lead to higher or lower stability of organo-mineral associations. This indirect impact of SOM on Se mobility concurs with the recent work of Weng et al. (2011) suggesting that Se bio-availability in soils is mainly dependent on mineralization (microbial degradation) of soil OM. Indeed, the variability of Se content in grass was explained in majority by soluble OC content (Weng et al., 2011).

- *Native Se speciation in soil extracts*

Se speciation in the three types of soil extracts are presented in Table 6.

Table 6. Se speciation in water, phosphate and NaOH soil extracts, expressed in µg kg^{-1} and in % of total extracted Se

			Water-soluble Se						Phosphate-extracted Se			NaOH-extracted Se		
		Se_{total}	Se_{water}	Se(IV)	Se(VI)	SeMet[f]	MeSeOOH[g]	Se no detected[h]	$Se_{phosphate}$	Se(IV)	Se no detected[h]	Se_{NaOH}	Se(IV)	Se no detected[h]
		µg kg^{-1}	in µg kg^{-1} (in % Se_{total})	in µg kg^{-1} (in % Se_{water})					in µg kg^{-1} (in % Se_{total})	in µg kg^{-1} (in % $Se_{phosphate}$)		in µg kg^{-1} (in % Se_{total})	in µg kg^{-1} (in % Se_{NaOH})	
Culture	n[a]	6	6	6	3	0	0	6	6	6	6	6	6	6
	M[b]	**369**	**18 (6)**	**5.5 (35)**	**4(22)**			**9 (55)**	**49 (16)**	**34 (60)**	**20 (41)**	**120 (37)**	**70 (56)**	**49 (44)**
	SD[c]	**229**	**4 (1)**	**2.1 (19)**	**1 (12)**			**5 (27)**	**12 (5)**	**14 (28)**	**12 (27)**	**36 (11)**	**41 (18)**	**22 (18)**
	Min[d]	*202*	*13 (5)*	*3.3 (15)*	*2 (12)*			*0 (0)*	*32 (6)*	*17 (30)*	*0 (0)*	*70 (20)*	*30 (37)*	*17 (11)*
	Max[e]	*815*	*23 (8)*	*8.9 (70)*	*4 (35)*			*15 (75)*	*70 (20)*	*57 (104)*	*33 (70)*	*166 (51)*	*142 (89)*	*75 (63)*
Grassland	n[a]	6	6	5	2	2	3	6	6	6	6	6	6	6
	M[b]	**783**	**33 (4)**	**7.7 (23)**	**1.7 (4.8)**	**7 (32)**	**5 (9)**	**18 (64)**	**107 (16)**	**50 (58)**	**58 (43)**	**306 (40)**	**119 (46)**	**188 (54)**
	SD[c]	**296**	**21 (4)**	**3.9 (10)**	**0.8 (1.7)**	**3 (7)**	**6 (8)**	**17 (23)**	**46 (9)**	**12 (33)**	**49 (32)**	**151 (18)**	**40 (19)**	**136 (19)**
	Min[d]	*323*	*17 (2*	*4.2 (14)*	*1.2 (3.6)*	*5 (27)*	*1 (3)*	*8 (39)*	*38 (3)*	*34 (25)*	*0 (0)*	*92 (29)*	*68 (17)*	*23 (26)*
	Max[e]	*1119*	*61 (8)*	*13.7 (40)*	*2.3 (6.0)*	*9 (38)*	*12 (18)*	*52 (100)*	*161 (30)*	*66 (104)*	*107 (75)*	*486 (73)*	*182 (74)*	*403 (83)*
Forest	n[a]	6	6	1	3	0	0	6	6	6	6	6	6	6
	M[b]	**462**	**16 (4)**	**6.0 (59)**	**3.8 (27)**			**13 (76)**	**94 (23)**	**40 (53)**	**54 (47)**	**332 (72)**	**97 (35)**	**235 (65)**
	SD[c]	**307**	**5 (1)**	**0.4 (4)**	**0.5 (10)**			**7 (39)**	**69 (15)**	**10 (20)**	**63 (20)**	**247 (20)**	**36 (12)**	**213 (12)**
	Min[d]	*172*	*10 (3)*		*3.3 (18)*			*0 (0)*	*47 (12)*	*28 (21)*	*13 (23)*	*108 (53)*	*60 (20)*	*48 (44)*
	Max[e]	*1041*	*26 (6)*		*4.3 (38)*			*17 (100)*	*225 (48)*	*55 (77)*	*177 (79)*	*819 (108)*	*162 (56)*	*657 (80)*

(a) n: number of soils in which the Se species was observed; (b) **M**: arithmetic mean; (c) **SD**: arithmetic standard deviation; (d) *Min*: minimum value; (e) *Max*: maximum value; (f) SeMet: Seleno-methionine; (g) MeSeOOH: Methane seleninic acid; (h) Se no detected: concentrations of no detected Se species were determined from subtraction between total extracted-Se and the sum of detected Se species

Se(IV) was the major identified Se species, ranging from 11 to 35 % of soil Se_{total} (based on NaOH-extracted Se(IV) results) and was mainly extracted by phosphate and NaOH. Se(VI), accounting for 1 to 4 % of soil Se_{total}, was totally extracted by ultrapure water. In fact, Se(VI) was only detected in 8 soil extracts corresponding to 3 acidic forest soils (pH 4.0 to 4.6) and the most acid culture and grassland soils (pH 5.3 to 7.9). Se(IV) has been previously reported to represent the major inorganic Se species in soil extracts (Tokunaga et al., 1991; Martens and Suarez, 1997; Séby et al., 1997; Rietra et al., 1999; Duc et al., 2003). Se(VI) was mainly found in acidic soils in agreement with the fact that Se(VI) is known to be readily desorbed and thus leached at alkaline pH due to adsorption through external sphere complexes (electrostatic binding) rather than internal sphere complexes (Van der Waals binding) for Se(IV) (Su and Suarez, 2000; Peak et al., 2006).

Only two known organo-selenium compounds, SeMet and MeSeOOH, were observed in water extracts of three grassland soils. They represented only 0.1-1.5 and 4.8-8.6 % of soil Se_{total}, respectively. SeMet is a seleno-amino acid involved in plants Se metabolism. MeSeOOH is considered to be an intermediate in Se microbial methylation processes (Chasteen and Bentley, 2003) as well as an oxidation product of various organic Se species (i.e., SeMet, Se-methylselenocysteine, γ-glutamyl-Se-methylselenocysteine) involved in plants Se metabolism (Kotrebai et al., 2000; Whanger, 2004).

High contents of Se remained unidentified in the different soil extracts, varying from 0 to 100 % of Se_{water}, from 0 to 79 % of $Se_{phosphate}$ and from 11 to 83 % of Se_{NaOH}, with mean values of, respectively, 65 ± 30, 43 ± 25 and 54 ± 18 % of extracted Se. It is worth noting that any unknown chromatographic peaks was detected even with an elution gradient of polarity modifier (methanol) up to 90%, questioning the presence of known, low-molecular weight species in those extracts. Moreover, amounts of unidentified Se species in soil extracts were positively correlated to both soil OC_{total} and extracted OC in the three extractants (Fig. 4), indicating a link between unidentified Se and soluble organic compounds.

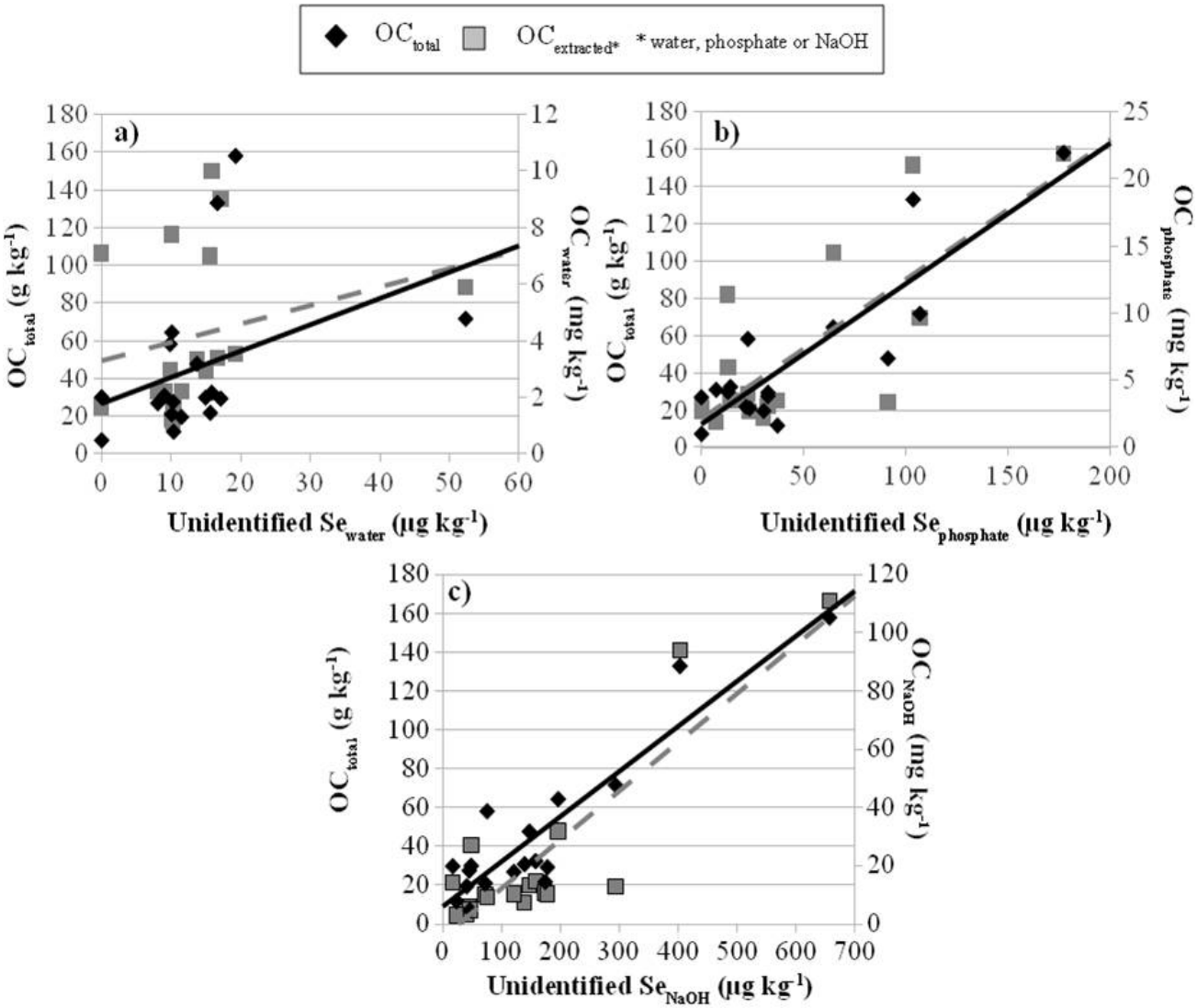


Fig. 4. Relationships between (a) unidentified Se_{water} and i) soil OC_{total} (r=0.52, P <0.05); ii) OC_{water} (r=0.33, P <0.1); (b) unidentified $Se_{phosphate}$ and i) soil OC_{total} (r=0.54, P <0.05);; ii) $OC_{phopshate}$ (r=0.53, P <0.05); (c) unidentified Se_{NaOH} and i) soil OC_{total} (r=0.73, P <0.01); ii) OC_{NaOH} (r=0.66, P <0.01)

These undetected Se species would correspond to organic colloidal (1 nm – 1 µm; IUPAC 1997) Se compounds, as indicated by the recent results of Weng et al. (2011) based on the use of anion Donnan Membrane technique. These authors have shown that a high proportion of Se in $CaCl_2$ extracts of 15 grassland soils was present as Se bound to or incorporated in colloidal-sized OM, while only 13 to 34 % of extractable Se was present as Se(VI), Se(IV) and small organic Se compounds (<1 µm) (Weng et al., 2011).

4. CONCLUSION

The comparison of native Se Kd values with Kd resulting from Se spiked soils suggested a significant higher retention degree for native Se compared to “freshly added” Se. Some of the processes involved in Se retention in soils are thus kinetically limited and are not taken into account by short-term experiments. To predict and understand the impact of a Se contamination stabilized on the long-time scale of interest for the radioactive waste geological repository context (≈10 000 years), it seems thus advisable to study native Se behavior in soils and used native Se Kd values for modeling.

Soil collection exhibited extensive and homogeneously distributed ranges for various parameters known to be involved in Se reactivity (e.g., SOM, Fe_{total}, $Al_{total,}$ Mn_{total}, pH and texture) and gave evidences for organo-mineral associations. Statistical studies with water-soluble Se and Kd values indicated that mineral soil fraction was the major phase affecting immediate native Se mobility. Although the direct influence of SOM on Se capacity to be leached is ruled out by these statistical evaluations, results obtained from phosphate and NaOH extractions demonstrated that mechanisms which control SOM solubility/stability impact also native Se extractabilities. We suggest that organo-mineral associations protect sorbed Se onto both inorganic and organic bearing phases against chemical attacks (phosphate and NaOH). Soil pH and land-use types were shown to impact the stability of organo-mineral associations (impact on bounding nature) and the related protection of sorbed Se against chemical attacks. SOM affects thus the amount of sorbed Se susceptible to be desorbed to soil solution by forming associations with soil mineral phase. It has also an impact on native Se speciation by bounding and/or incorporating high quantities of Se (>35%) in colloidal-sized OM. This SOM impact on Se species susceptible to be leached has an important implication on its mobility and bio-availability because these colloidal-sized organic species have probably not the same capacity to be transferred to surface and ground waters and to be taken-up by plants than soluble Se(IV) and Se(VI) oxyanions due to their different chemical (e.g., functional groups, hydrophobicity) and physical (e.g., size) properties.

Acknowledgements. This research was financially supported by the French national radioactive waste management agency (Andra).

REFERENCES

Abrams M.M., Burau R.G. and Zasoski R.J. (1990) Organic selenium distribution in selected California soils. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **54**, 979-982.

Andra (2005) Dossier Argile : Synthèse. Evaluation de la faisabilité du stockage géologique en formation argileuse. *Collection Les Rapports.*

Ashworth D.J., Moore J. and Shaw G. (2008) Effects of soil type, moisture content, redox potential and methyl bromide fumigation on K_d values of radio-selenium in soil. *J. Environ. Radioact.* **99**, 1136-1142.

Bar-Yosef B. and Meek D. (1987) Selenium sorption by kaolinite and montmorillonite. *Soil Sci.* **144**, 11-19.

Bruggeman C., Maes A. and Vancluysen J. (2007) The interaction of dissolved Boom Clay and Gorbelen humic substances with selenium oxyanions (selenite and selenate). *Applied Geochem.* **22**, 1371-1379.

Bujdoš M., Kubová J. and Streško V. (2000) Problems of selenium fractionation in soils rich in organic matter. *Anal. Chim. Acta* **408**, 103-109.

Chabroullet C., 2007. Etude de la remobilisation d'éléments traces à partir d'un sol de surface contaminé : influence du vieillissement des composés organiques du sol sur la remobilisation du sélénium. Ph. D. thesis, Grenoble Univ.

Chasteen T.G. and Bentey R. (2003) Biomethylation of selenium and tellurium: microorganisms and plants. *Chem. Rev.* **103**, 1-25.

Cheng L., Lyman P.F., Sturchio N.C. and Bedzyk M.J. (1997) X-ray standing wave investigation of the surface structure of selenite anions adsorbed on calcite. *Surf. Sci.* **382**, L690-L695.

Coppin F., Chabroullet C. and Martin-Garin A. (2009) Selenite interactions with some particulate organic and mineral fractions isolated from a natural grassland soil. *Eur. J. Soil Sci.* **60**, 369-376.

Darcheville O., Février L., Haichar F.Z., Berge O., Martin-Garin A. and Renault P. (2008) Aqueous, solid and gaseous partitioning of selenium in an oxic sandy soil under different microbiological states. *J. Environ. Radioact.* **99**, 981-992.

Deb B.C. (1950) Estimation of free iron oxides in soils and their removal. *J. Soil Sci.* **1**, 212-220.

Dhillon K.S. and Dhillon S.K. (1999) Adsorption-desorption reactions of selenium in some soils of India. *Geoderma* **93**, 19-31.

Dong W., Wang X., Du J., Wang D.C. and Tao Z. (1999) Sorption and desorption of radioselenium on red earth and its solid components. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **240**, 715-719.

Duc M., Lefevre G., Fedoroff M., Jeanjean J., Rouchaud J.C., Monteil-Rivera F., Dumonceau J. and Milonjic S. (2003) Sorption of selenium anionic species on apatites and iron oxides from aqueous solutions. *J. Environ. Radioact.* **70**, 61-72.

Duchaufour P., 2001. *Introduction à la science du sol. Sol, végétation, environnement. 6ème édition de l'abrégé de pédologie*. Dunod Press, Paris.

Eich-Greatorex S., Sogn T.A., Ogaard A.F. and Aasen I. (2007) Plant availability of inorganic and organic selenium fertiliser as influenced by soil organic matter content and pH. *Nutr. Cycl. Agroecosyst.* **79**, 221-231.

Février L., Martin-Garin A. and Leclerc E. (2007) Variation of the distribution coefficient (K_d) of selenium in soils under various microbial states. *J. Environ. Radioact.* **97**, 189-205.

Foster A.L., Brown Jr G.E. and Parks G.A. (2003) X-ray absorption fine structure study of As(V) and Se(IV) sorption complexes on hydrous Mn oxides. *Geochim. Cosmochim. Acta* **67**, 1937-1953.

Gerzabek M.H., Antil R.S., Kögel-Knabner I., Knicker H., Kirchmann H. and Haberhauer G. (2006) How are soil use and management reflected by soil organic matter characteristics: A spectroscopic approach. *Eur. J. Soil Sci.* **57**, 485-494.

Gil-García C., Tagami K., Uchida S., Rigol A. and Vidal M. (2009) New best estimates for radionuclide solid-liquid distribution coefficients in soils. Part 3: Miscellany of radionuclides (Cd, Co, Ni, Zn, I, Se, Sb, Pu, Am, and others). *J. Environ. Radioact.* **100**, 704-715.

Gustafsson J.P. and Johnsson L. (1994) The Association between Selenium and Humic Substances in Forested Ecosystems-Laboratory Evidence. *Applied Organomet. Chem.* **8**, 141-147.

Hiemstra T., Rietra R.P.J.J. and Van Riemsdijk W.H. (2007) Surface complexation of selenite on goethite: MO/DFT geometry and charge distribution. *Croat. Chem. Acta* **80**, 313-324.

IAEA (1994) *Handbook of Parameter Values for the Prediction of Radionuclides Transfer in Temperate Environments - Technical Report Series No. 364.* International Atomic Energy Agency Press, Vienna.

IAEA (2010) *Handbook of Parameter Values for the Prediction of Radionuclides Transfer in Terrestrial and Freshwaters Environments - Technical Report Series No. 472.* International Atomic Energy Agency Press, Vienna.

Kahle M., Kleber M. and Jahn R. (2003) Retention of dissolved organic matter by illitic soils and clay fractions: Influence of mineral phase properties. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **166**, 737-741.

Kaiser M., Walter K., Ellerbrock R.H. and Sommer M. (2011) Effects of land use and mineral characteristics on the organic carbon content, and the amount and composition of Na-pyrophosphate-soluble organic matter, in subsurface soils. *Eur. J. Soil Sci.* **62**, 226-236.

Kamei-Ishikawa N., Tagami K. and Uchida S. (2007) Sorption kinetics of selenium on humic acid. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* **274**, 555-561.

Kamei-Ishikawa N., Nakamaru Y., Tagami K. and Uchida S. (2008) Sorption behavior of selenium on humic acid under increasing selenium concentration or increasing solid/liquid ratio. *J. Environ. Radioact.* **99**, 993-1002.

Kögel-Knabner I., Guggenberger G., Kleber M., Kandeler E., Kalbitz K., Scheu S., Eusterhues K. and Leinweber P. (2008) Organo-mineral associations in temperate soils: Integrating biology, mineralogy, and organic matter chemistry. *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **171**, 61-82.

Kotrebai M., Tyson J.F., Block E. and Uden P.C. (2000) High-performance liquid chromatography of selenium compounds utilizing perfluorinated carboxylic acid ion-pairing agents and inductively coupled plasma and electrospray ionization mass spectrometric detection. *J. Chrom., A* **866**, 51-63.

Kulp T.R. and Pratt L.M. (2004) Speciation and weathering of selenium in Upper Cretaceous chalk and shale from South Dakota and Wyoming, USA. *Geochim. Cosmochim. Acta* **68**, 3687-3701.

Loffredo N., Mounier S., Thiry Y. and Coppin F. (2011) Sorption of selenate on soils and pure phases: Kinetic parameters and stabilisation. *J. Environ. Radioact.* **102**, 843-851

Marschner B., Brodowski S., Dreves A., Gleixner G., Gude A., Grootes P.M., Hamer U., Heim A., Jandl G., Ji R., Kaiser K., Kalbitz K., Kramer C., Leinweber P., Rethemeyer J., Schäffer A., Schmidt M.W.I., Schwark L. and Wiesenberg G.L.B. (2008) How relevant is recalcitrance for the stabilization of organic matter in soils? *J. Plant Nutr. Soil Sci.* **171**, 91-110.

Martens D.A. and Suarez D.L. (1997) Selenium Speciation of Soil/Sediment Determined with Sequential Extractions and Hydride Generation Atomic Absorption Spectrophotometry. *Environ. Sci. Technol.* **31**, 133-139.

Mehra O.P. and Jackson M.L. (1960) Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. *Clays Clay Miner.* **7**, 317-327.

Mikutta R., Kleber M., Torn M.S. and Jahn R. (2006) Stabilization of soil organic matter: Association with minerals or chemical recalcitrance? *Biogeochemistry* **77**, 25-56.

Moni C., Rumpel C., Virto I., Chabbi A. and Chenu C. (2010) Relative importance of sorption versus aggregation for organic matter storage in subsoil horizons of two contrasting soils. *Eur. J. Soil Sci.* **61**, 958-969.

Nakamaru Y., Tagami K. and Uchiga S. (2005) Distribution coefficient of selenium in Japanese agricultural soils. *Chemosphere* **58**, 1347-1354.

Peak D. (2006) Adsorption mechanisms of selenium oxyanions at the aluminum oxide/water interface. *J. Colloid Interface Sci.* **303**, 337-345.

Peak D., Saha U.K. and Huang P.M. (2006) Selenite adsorption mechanisms on pure and coated montmorillonite: An EXAFS and XANES spectroscopic study. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **70**, 192-203.

Pickering I.J., Brown Jr G.E. and Tokunaga T.K. (1995) Quantitative speciation of selenium in soils using X-ray absorption spectroscopy. *Environ. Sci. Technol.*, 2456-2459.

Pyrzyńska K. (1998) Speciation of Selenium Compounds. *Anal. Sci.* **14**, 479-483.

Pyrzyńska K. (2002) Determination of selenium species in environmental samples. *Microchim. Acta* **140**, 55-62.

Rietra R.P.J.J., Hiemstra T. and Van Riemsdijk W.H. (1999) The relationship between molecular structure and ion adsorption on variable charge minerals. *Geochim. Cosmochim. Acta* **63**, 3009-3015.

Séby F., Potin-Gautier M., Lespés G. and Astruc M. (1997) Selenium speciation in soils after alkaline extraction. *Sci. Total. Environ.* **207**, 81-90.

Séby F., Potin-Gautier M., Giffaut E. and Donard O.F.X. (1998) Assessing the speciation and the biogeochemical processes affecting the mobility of selenium from a geological repository of radioactive wastes to the biosphere. *Analusis* **26**, 193-198.

Sheppard S.C., Grant C.A. and Drury C.F. (2009) Trace elements in Ontario soils - mobility, concentration profiles, and evidence of non-point-source pollution. *Can. J. Soil Sci.* **89**, 489-499.

Sheppard S.C. (2011) Robust Prediction of Kd from Soil Properties for Environmental Assessment. *Hum. Ecol. Risk Assess.* **17**, 263-279.

Su C. and Suarez D.L. (2000) Selenate and selenite sorption on iron oxides: an infrared and electrophoretic study. *Soil Sci. Soc. Am. J.* **64**, 101-111.

Tao Z., Du J., Dong W. and Zheng L. (1996) Sorption and desorption of radioselenium on calcareous soil and its solid components. *J. Radioanal. Nucl. Chem Letters* **214**, 245-254.

Thorne M., Kelly M., Rees J.H. and Sanchez-Friera P., 2001. *Review of Kd and transfert factors for selenium relevant to a temperate biosphere and the site-specificity of the Meuse/Haute-Marne underground laboratory*. **C RP 0AET 01-04** AEA Technology Press.

Tokunaga T.K., Lipton D.S., Benson S.M., Yee A.W., Oldfather J.M., Duckart E.C., Johannis P.W. and Halvorsen K.E. (1991) Soil selenium fractionation, depth profiles and time trends in a vegetated site at Kesterson Reservoir. *Water Air Soil Pollut.* **57/58**, 31-41.

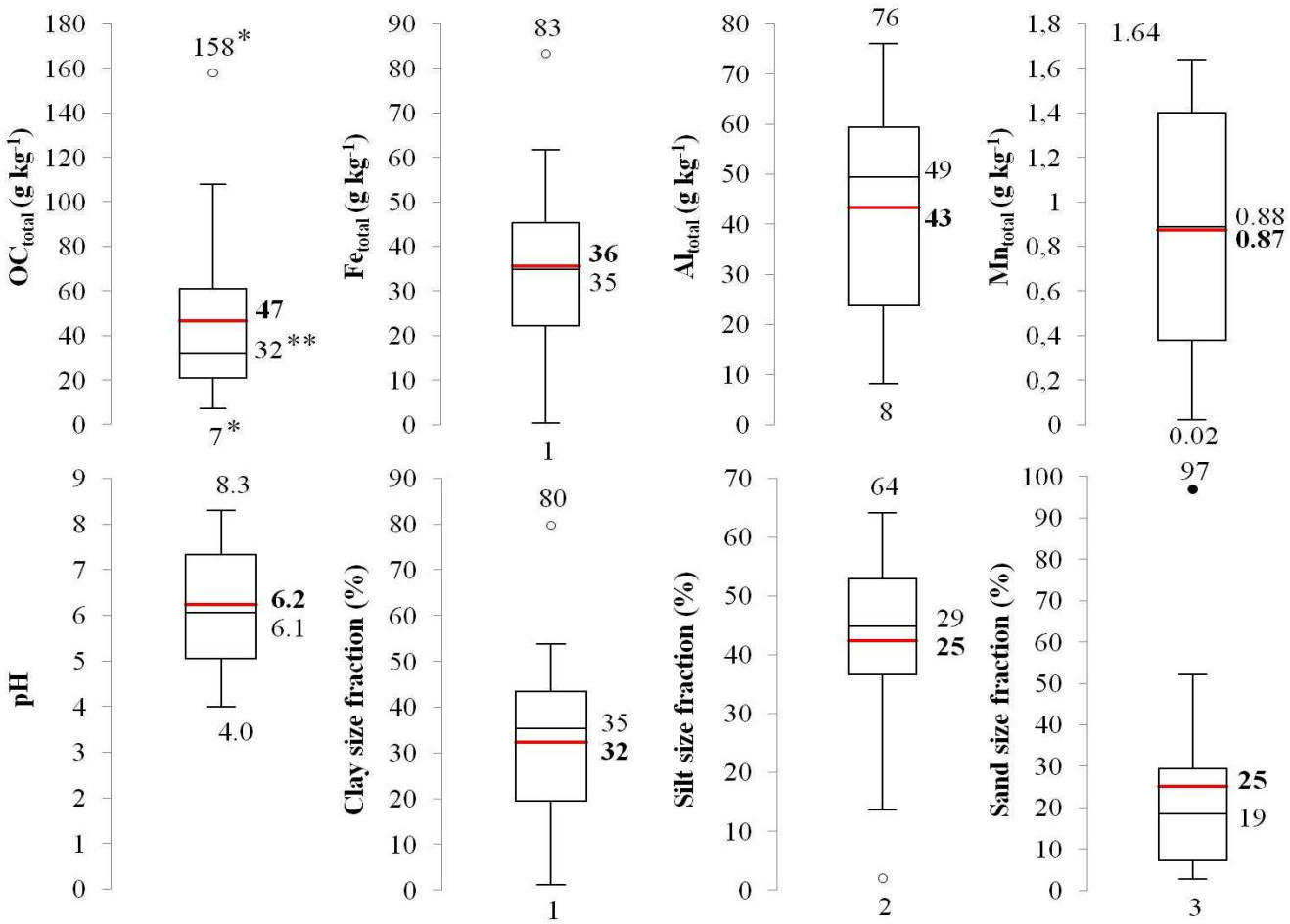
Tolu J., Le Hécho I., Bueno M., Thiry Y. and Potin-Gautier M. (2011) Selenium speciation analysis at trace level in soils. *Anal. Chim. Acta* **684**, 126-133.

Wang X. and Liu X. (2005) Sorption and desorption of radioselenium on calcareous soil and its solid components studied by batch and column experiments. *Appl. Radiat. Isot.* **62**, 1-9.

Weng L., Vega F.A., Supriatin S., Bussink W. and Van Riemsdijk W.H. (2011) Speciation of Se and DOC in soil solution and their relation to Se bioavailability. *Environ. Sci. Technol.* **45**, 262-267.

Whanger P.D. (2004) Selenium and its relationship to cancer: An update. *Br. J. Nutr.* **91**, 11-28.

ELECTRONIC ANNEXE 1



Box-and-Whisker plots of main soil characteristics to observe their range and homogeneous distribution

**: minimal and maximal values; **: median value; in bold: arithmetic mean value*

ELECTRONIC ANNEXE 2

- **Figures for correlations between Se Kd and soil characteristics**

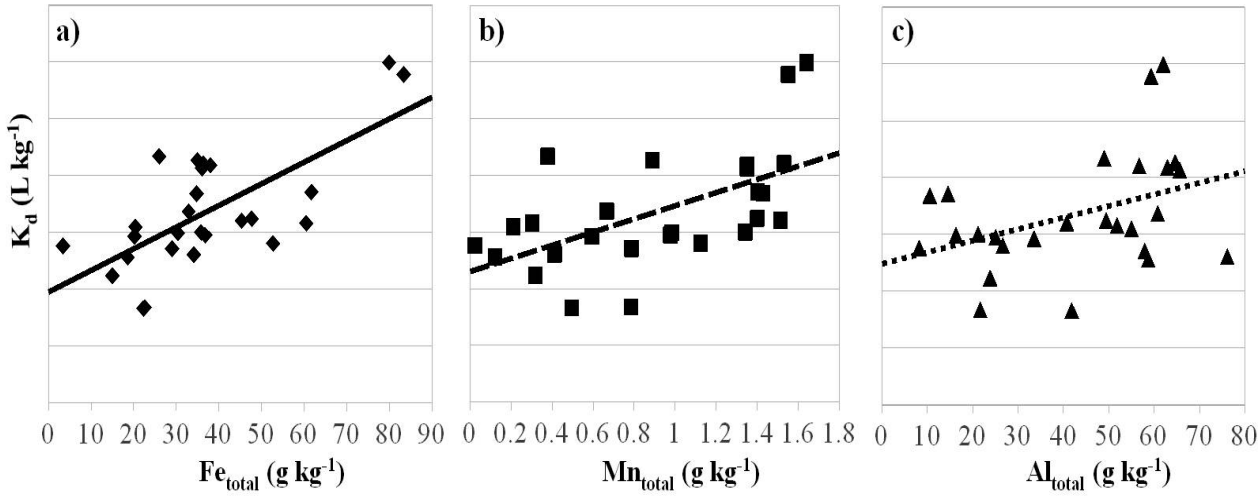


Fig. A. Relationships between Kd and (a) soil Fe_{total} (r=0.62, P <0.01); (b) soil Mn_{total} (r=0.62, P <0.01); (c) soil Al_{total} (r=0.36, P <0.1)

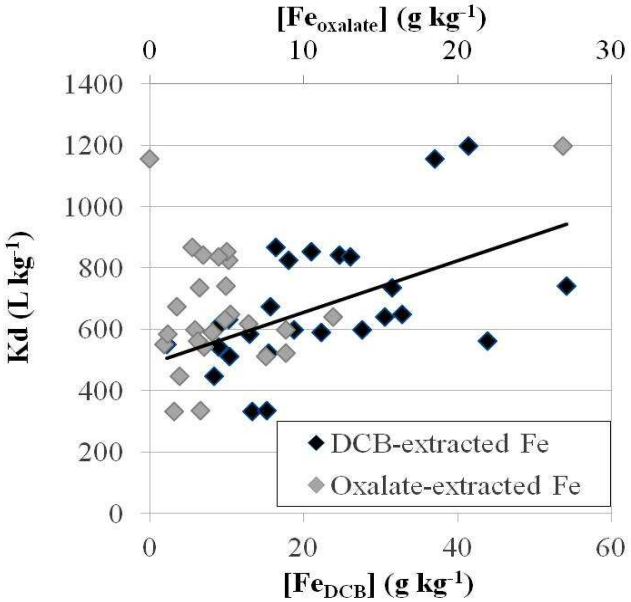


Fig. B. Relationships between Kd and i) soil Fe_{DCB} (significant correlation, r=0.60, P <0.01); ii) soil $Fe_{oxalate}$ (no significant correlation, r=0.15, P >0.4)

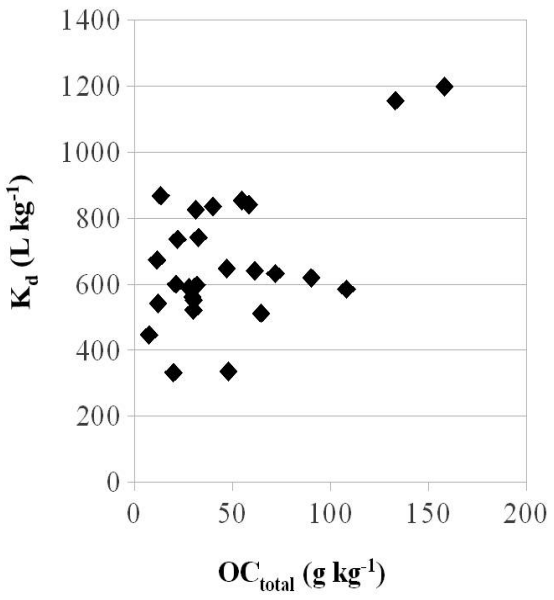


Fig. C. Relationships between Kd and soil OC_{total} (r =+0.33, P <0.1)

- **Figures for correlations between phosphate-extracted Se and soil characteristics**

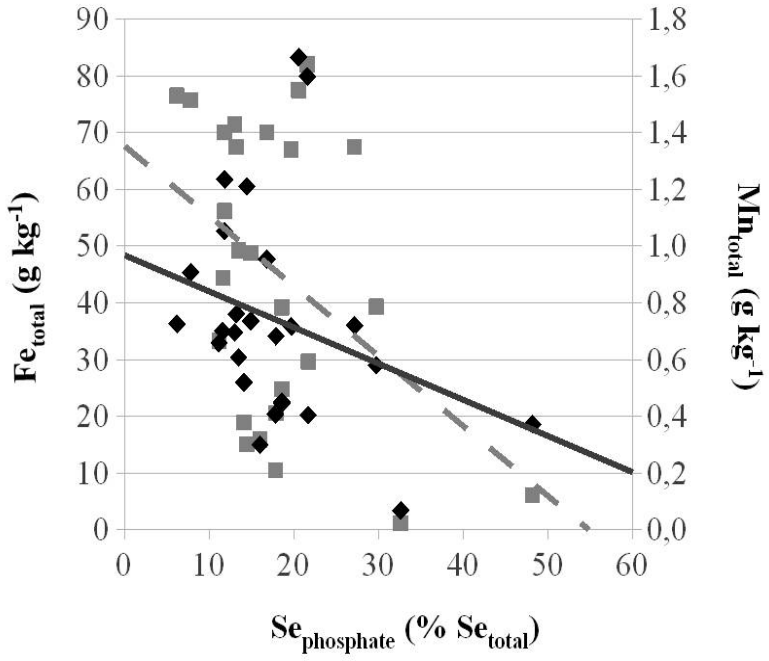


Fig. D. Relationships between $Se_{phosphate}$ and i) soil Fe_{total} (r=-0.37, P <0.1); ii) Mn_{total} (r=-0.33, P <0.15)

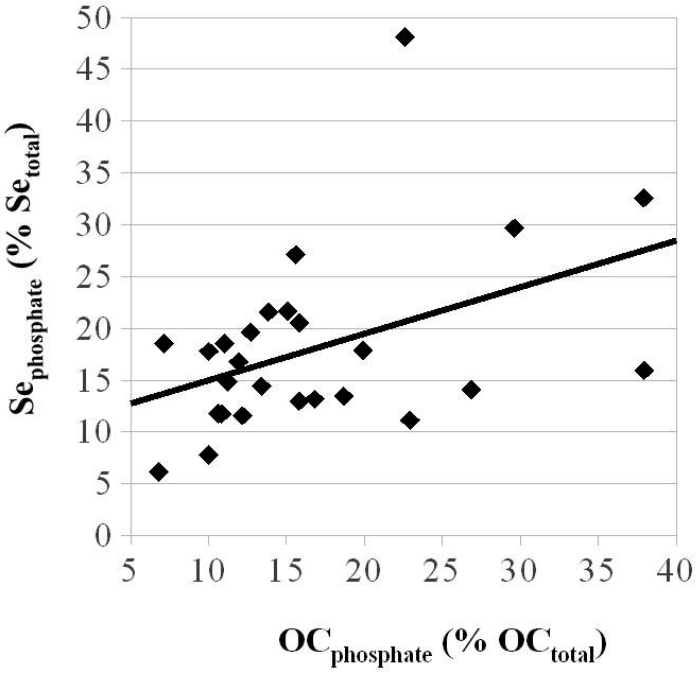


Fig. E. Relationships between $Se_{phosphate}$ and $OC_{phosphate}$ (r=+0.37, P <0.1)

- **Figures for correlations between NaOH-extracted Se and soil characteristics**

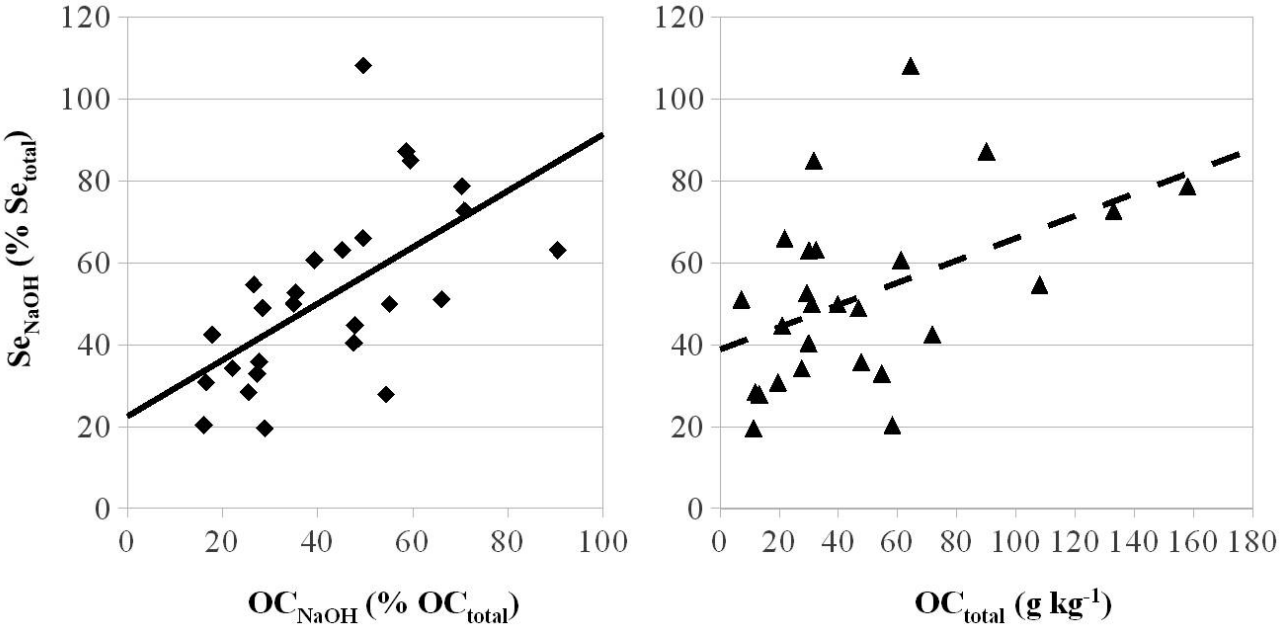


Fig. F. Relationships between Se_{NaOH} and a) OC_{NaOH} (r=+0.67; P <0.01); b) OC_{total} (r=+0.50; P <0.01)

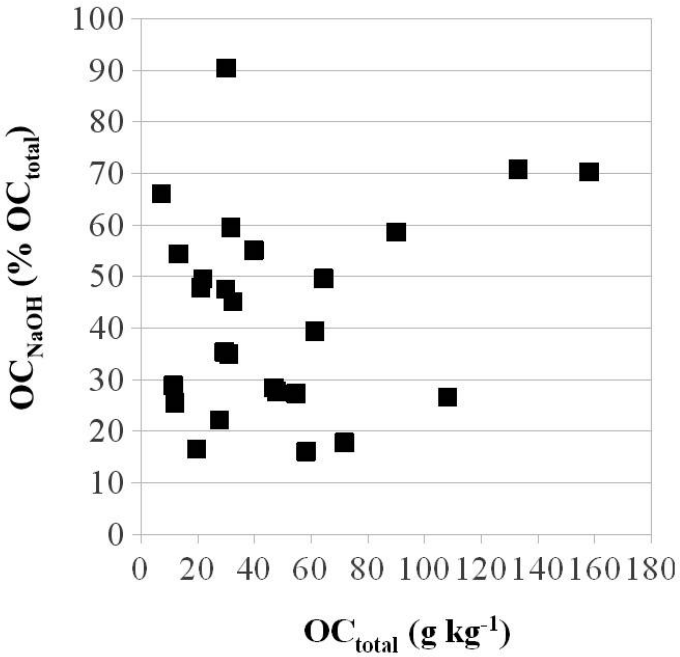


Fig. G. Relationships between OC_{NaOH} and OC_{total} (no significant correlation, r= +0.08; P >0.7)

Par l'investigation du comportement de Se natif, l'étude précédente suggère l'existence de processus lents impliqués dans la rétention de Se dans les sols. En effet, les valeurs de Kd pour Se natif sont supérieures (3 à 13 fois) à celles reportées dans la littérature pour Se fraîchement ajouté, comme observé par Sheppard et al. (2009) pour le césium et le chlore. Les valeurs plus élevées de Kd natif du césium ont été expliquées par sa diffusion lente au sein des couches interfoliaires des micas tandis que la rétention progressive du chlore a été reliée à des réactions de chloruration de la MO.

Suite à ces résultats, une seconde étude (Partie II.) a été menée avec pour but l'investigation de l'aspect cinétique des évolutions de la distribution et de la spéciation de Se dans un sol de culture et un sol de forêt soumis à des cycles de séchage/inondation pendant 3 mois (simulation d'un vieillissement de sol).

Une approche originale a été mise en œuvre par l'utilisation d'un traceur isotopique stable, ^{77}Se(IV), préparé à partir de l'espèce commercialement disponible (^{77}Se(0)). Cette stratégie d'investigation permet d'étudier la réactivité différentielle de Se natif et de Se(IV) fraîchement ajouté à l'état de traces, à partir de la détermination des rapports isotopiques au cours de l'analyse de Se total (ICP-MS) et de sa spéciation (HPLC-ICP-MS) dans les différents extraits de sol (cf. Paragraphe A.IV.3.). Le sol étant une matrice complexe, les extraits de sol présentent de fortes teneurs (> mg kg^{-1}) en différents éléments (Br, As, Fe, etc.) interférant la détection par ICP-MS des isotopes de Se. Afin d'obtenir des rapports isotopiques justes et précis pour nos échantillons, les paramètres d'analyse et les méthodes d'élimination des interférences ont été optimisés.
Ce travail fait l'objet de l'article « Tracing differential reactivity of native and freshly added Se in soils using stable isotopically enriched selenite », préparé pour soumission dans le journal « *Environmental Science and Technology* » et présenté ci-après (Partie II).

Partie II.

Tracing differential reactivity of native and freshly added Se in soils using stable isotopically enriched selenite

Julie Tolu[a, b], Maïté Bueno[a], Yves Thiry[b], Martine Potin-Gautier[a], and Isabelle Le Hécho[a *]

[a] Laboratoire de Chimie Analytique Bio-Inorganique et Environnement (LCABIE), Université de Pau et des Pays de l'Adour/CNRS, UMR 5254, IPREM, Hélioparc, 2 Avenue du Président Angot, 64053 Pau Cedex 9, France

[b] Andra, Research and Development Division, Parc de la Croix Blanche, 1/7 rue Jean Monnet, 92298 Châtenay-Malabry Cedex, France

Article en préparation pour soumission dans « *Environmental Science and Technology* »

ABSTRACT

Soil solid/liquid partition coefficients (Kd) reported in literature for Se spiked soils in short-term experiments differ from those reported for native Se, suggesting slow soil Se retention processes. Stable isotopically enriched tracer methodology was performed for the first time to simultaneously monitor the differential reactivity of native and added (^{77}Se(IV)) Se in two soil types (culture and forest). Time courses of their respective Kd and distribution among soil fractions (specific extractions) were determined. High performance liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry (HPLC-ICP-MS) was used for Se speciation determination. The results show that native Se was stable in terms of distribution and speciation. For both soils, in less than one month, freshly added ^{77}Se(IV) reached steady Kd values. However, ^{77}Se(IV) phosphate buffer and NaOH extractabilities, indicative of exchangeable Se and Se associated to soil organic matter, decreased from around 1 month without reaching the native Se steady state at 3 months. Speciation analyses indicated that spiked ^{77}Se was present under Se(IV) forms in superior proportions than native Se. This study gave thus evidences that prediction of Se behavior with short-term experiments can lead to overestimation of both Se mobility and bio-availability on long time span.

1. INTRODUCTION

Selenium is an essential trace element for human and animal health and for vegetation. However, its overabundance may also cause serious biological and ecological problems (ASTDR, 2003; Hamilton, 2004). As a ^{235}U fission degradation product, ^{79}Se is found in high and intermediate level long-lived nuclear wastes for which a geological repository in deep clay formations is considered to be a safe and feasible option (Andra, 2005). The safety assessment of any radioactive waste repository involves the determination of radiological and chemical consequences in biosphere of an hypothetical soils contamination following irrigation using contaminated groundwaters. Se transformations and interactions with soil components must be clearly understood to predict its transfer to other biosphere compartments, as surface waters (mobility) and vegetation (bio-availability). This information could also be relevant in the field of soils selenized fertilization as practiced to reduce deficiency risks in Se deficient regions (Eich-Greatorex et al., 2007).

In reduced conditions, Se oxyanions can be transformed into insoluble, and thus poorly mobile, Se(0) and metal Se(-II). In most of surface soils (oxidized conditions), Se(VI) and Se(IV) can exist as aqueous species in soil solutions or sorbed onto mineral fraction (e.g., aluminum and iron (oxy)hydroxides, clays, calcareous component) and soil organic matter (SOM). Se(VI) behaves mainly as a non sorbing solute, whereas Se(IV) can be strongly sorbed to soil solid phase resulting in a lower solubility in the soil solution (Fernández-Martínez et Charlet, 2009). Se oxyanions can also be microbially-reduced in Se(0) and organo-Se(-I, -II) for their metabolism (e.g., seleno-amino acids, seleno-proteins) and/or detoxification (volatile methyl Se compounds). Such compounds, like seleno-methionine, methane-seleninic acid, were observed in small proportions (<50 %) in ultrapure water and $CaCl_2$ soil extracts (simulating soil pore water) and in soil pore-waters (Li et al., 2010; Tolu et al., 2011; Tolu et al., submitted). The major part of the soluble organic Se fraction was not completely identified but recent works, conducted with different analytical methodologies, concur on the hypothesis that it may correspond to Se incorporated or bounded to colloidal-size OM (Weng et al., 2011; Tolu et al., submitted).
The processes involved in soil Se retention have been generally studied with short term experiments (1h-1 month) after Se addition (µg kg^{-1} level), in majority as Se(IV) form. Se distribution among soil fractions (specific extractions) and solid/liquid distribution coefficient (Kd) have been determined for different soil types (mineral or organic soils) or for soils submitted to various incubation conditions such as adjusted acidic or alkaline pH, aerobic,

anaerobic (flooded soils) and different microbial activity stimulation (carbon and/or nitrate amendments) (Tao et al., 1996; Dong et al., 1999; Dhillon et Dhillon, 1999; Tao et al., 2000; Nakamaru et al., 2005; Coppin et al., 2006; Haudin et al., 2007; Février et al., 2007; Ashworth et al., 2008; Li et al., 2010). Kd parameter is often evaluated because of its use to assess soil Se retention degree in models predicting trace element and radionuclide contamination consequences in the biosphere system on a long-time span (≈10 000 years; Andra, 2005). A recent study suggested that long term Se retention in soils involved processes kinetically dependent since native Se Kd values are higher (factors 3 to 13) than those determined from Se spiking short term experiments (1h-1month) (Tolu et al., submitted). Differences between native and short term spiked Kd values were also observed for other radionuclides (Sheppard et al., 2011). The slow cesium retention mechanism was attributed to its progressive reaction with frayed edge and clay interlayer sorption sites in soils (Dumat and Staunton 1999), whereas chlorine is progressively incorporated into quasi-stable organic compounds in soils (Bastviken et al. 2007). Conversely, insoluble thorium may become mobilized by ligands and colloids over long time periods (Sheppard et al., 2009). For these elements, it was thus clear that native Kd allowed robust long term prediction while Kd determined from spiking experiments were useful for predicting short term contamination impact (Sheppard, 2011).

The use of stable enriched isotope tracers in conjunction with inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) allows simultaneous monitoring of the behavior of freshly added and native species by isotope ratio determination. It offers several other benefits to study environmental processes. As isotope ratios are determined very precisely, the samples can be spiked at concentrations close to natural-occurring and radiological concentration levels (µg kg^{-1}; Hintelmann and Evans, 1997; Monperrus et al, 2004). Furthermore, speciation changes can also be monitored by hyphenating chromatographic separation with ICP-MS (HPLC-ICP-MS). As stable isotopic tracers are not dangerous for human and animal health at the opposite of radioactive ones, they have been used for selenium in metabolic studies (Suzuki et al., 2006 a; González Iglesias et al, 2007; Suzuki et al., 2008). To our knowledge, this approach has never been applied to trace Se species distribution and transformations in soils. This can be due to the difficulty in determining precise isotope ratios for Se at environmental concentration levels, because Se detection by ICP-MS can be interfered by various elements (Br, Fe, Ca, P…) which are present in huge concentrations in soils and resulting extracts. Collins et al. (2006) have used isotopically enriched selenite and selenate at high concentration levels (> mg kg^{-1}) to determine species-specific Kd and isotopically exchangeable concentrations in soils and sediments

suspensions. These authors concluded that for correct determination of these parameters and subsequent valid estimation of Se reactivity, the knowledge of Se speciation in soils and sediment suspensions is mandatory.

In this work, isotopically enriched tracers were used from a different point of view. The objective was to differentiate the fate of added Se(IV) tracer (^{77}Se labeled) from the behavior of native Se present in two soils while simulating aging process (wetting/drying cycles) during three months. For this purpose, after addition of isotopically enriched Se(IV) tracer to soils, the respective distributions of native and spiked Se in soils were evaluated by specific extractions: ultrapure water to determine Kd and capacity of Se to be leached; phosphate buffer for the exchangeable Se fraction, corresponding to Se adsorbed; NaOH for Se fraction associated to soil organic matter (SOM). To complete system description and monitor changes in Se speciation, species-specific stable isotopes measurements were obtained by HPLC-ICP-MS analyses.

2. EXPERIMENTAL

2.1. Analytical reagents, natural abundance and isotopically enriched Se standards

All reagents used were of analytical grade. The solutions were prepared with ultrapure water obtained from a Milli-Q System (18.2 Ω cm; Elix, Millipore).

Natural abundance Se standards

D,L-seleno-methionine, L-selenocystine, methane seleninic acid, sodium selenite (Se(IV)) and sodium selenate (Se(VI)) were obtained from Sigma-Aldrich (SigmaUltra, ≥99.0 %). Stock standard solutions containing 1000 mg L^{-1} were prepared in ultrapure water, except L-selenocystine which was dissolved in 0.2 % HCl for stabilization and kept in the dark at 4°C. Working standard solutions were prepared daily by appropriate dilution in ultrapure water.

Isotopically enriched Se(IV) standard

Elemental ^{77}Se powder was purchased from Isoflex (Moscow, Russia). Isotopically enriched ^{77}Se(IV) was prepared according to Van Dael et al. (2004) and stored in the dark at 4°C. The ^{77}Se(IV) standard was characterized in terms of concentrations (calculated by reverse isotope dilution) and isotopic composition : 511 ± 5 mg kg^{-1}; 98.3 % ^{77}Se and 0.7 % ^{78}Se. Moreover,

HPLC-ICP-MS analysis (described below) showed that only Se(IV) species was present in isotopically enriched ^{77}Se(IV) standard solutions. Working standard solutions were prepared daily by appropriate dilution in ultrapure water.

2.2. Soil samples and ^{77}Se(IV) spiking

One culture and one forest French soils were collected (0-25 cm surface depth) at experimental and monitoring sites managed by Andra in frame of its environmental monitoring in the Bure area (Meuse/Haute-Marne, France) selected for possible installation of a deep underground radioactive wastes repository. The fresh soils were air-dried during 24 h, homogenized and sieved at 2 mm. The resulting fractions were spiked with ^{77}Se(IV) with following operating conditions: the soil and ^{77}Se(IV) solution were placed in a polypropylene flask with a solid:liquid ratio of 1:1 kg:L; the mixture was rotary stirred during 24 h (room temperature) to allow spike homogenization before the beginning of ageing experiment. ^{77}Se(IV) spike concentrations were 238 ± 23 and 297 ± 28 µg kg^{-1} for the culture and the forest soils respectively. These values are close to native Se concentrations (Table 1) allowing comparison of the reactivity of both native and spiked Se, named “freshly added Se” in whole paper. Major soil characteristics are presented in Table 1.

Table 1. Soil characteristics

	Culture soil	Forest soil
Total native Se (µg kg^{-1})	402 ± 38	431 ± 36
pH	8.6	4.8
Total organic carbon (g kg^{-1})	19.6	19.9
Total Fe (g kg^{-1})	48	37
Total Al (g kg^{-1})	38	36
Total Mn (g kg^{-1})	1.0	0.8

2.3. Aging experiment and soil sampling

^{77}Se(IV) spiked soils were placed in glass recipients (22 x 35 cm and 5 cm deep) resulting in 3 cm soil thickness, under clean hood. They were subjected to nine wetting and drying cycles with following operating conditions (Han et al., 2001; Rosén et al., 2006): 3 days of wetting with ultrapure water up to 3 cm height over soil surface and covering the recipients with shrink-wrap double layers to prevent evaporation; from 4 to 10 days of air-drying at room temperature, by removing the shrink-wrap layers, in order to reach residual soil water content inferior to 10 %.

Soils were sampled after each drying step between the cycles 1 and 6, then at the end of the experiment (cycle 9). For each sampling, whole soil thickness was taken up at three different positions in the recipient to have triplicate representative samples. Before analyses, samples were grinded in zirconium oxide bowl during 7 min at 30 Hz (Retsch MM200, Fisher Bioblock Scientific).

2.4. Determination of soil Se distribution and speciation

Parallel-single extraction methodology

To determine trace level Se distribution and speciation in soils, three parallel single specific extractions were applied according to Tolu et al. (2011): ultrapure water (water-soluble Se soil fraction); phosphate buffer (KH_2PO_4/K_2HPO_4 0.1 mol L^{-1}) with pH 7 (exchangeable Se soil fraction considered as adsorbed Se); sodium hydroxide (0.1 mol L^{-1}) (Se associated to SOM). The soil samples and the residual solid phases after extractions were mineralized in order to determine "total soil" and "residual" Se. Mass balance (extracted Se + residual Se = total soil Se) was further calculated in order to control that no contamination or loss occurred during extractions. Extraction and mineralization conditions are detailed in Tolu et al., 2011. Supernatants and digested solutions were filtered at 0.45 µm before analyses.

Total Se analyses

Total Se was analyzed in supernatants and digested solutions with an Agilent 7500ce ICP-MS instrument equipped with an octopole collision/reaction cell (C/RC). Sample introduction system was constituted of a concentric nebulizer (Meinhard Associates, CA, USA) and a Scott double pass spray chamber cooled to 2 °C. The setting parameters were as follow: platinum sampler and skimmer cones; radio frequency forward power, 1500 W; Ar plasma gas flow, 15 L min^{-1}; Ar auxiliary gas flow 0.85-1.15 L min^{-1}; Ar nebulizer gas flow, 0.10-0.20 L min^{-1}; Quadrupole Bias, -17 V; Octopole Bias, -18 V; H_2 gas flow, 3.5-4.5 L min^{-1}; He gas flow, 0.5-1 L min^{-1};. The parameters (XY torch position, gas flow rates and lenses voltage) were optimized daily using a solution of 1 µg L^{-1} of gallium, yttrium, thallium and cerium to maximize both sensibility and interferences removal. Acquisition parameters were, points per isotope: 3; integration time per point: 1 s; 3 replicates; monitored *m/z*, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82 and 83.

Selenium speciation analyses

Chromatographic separation was carried out using an Agilent 1100 series HPLC pump. Operating conditions were: anion exchange chromatography (Hamilton PRP-X100 column, 25 cm×4.1 mm i.d.; mobile phase, 5 mmol L^{-1} ammonium citrate, 2 % methanol with pH 5.2, according to Darrouzès et al., 2005) and mixed-mode (reversed phase and anion exchange) chromatography (Thermo Hypercarb column, 10 cm×4.6 mm i.d.; mobile phase: 240 mmol L^{-1} formic acid, 1 % methanol with pH 2.4, according to Dauthieu et al., 2006) delivered at 1 mL min^{-1}; injection volume of 200–400 µL. Acquisition parameters were: integration time, 0.2 s per isotope; monitored *m/z*, 74, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82 and 83.

Se concentration determinations

Total and Se species concentrations determination was carried out by reverse isotope dilution (RID) with the $^{78}Se/^{77}Se$ isotope ratio (equation 1) using natural abundance Se standard.

$$C = \frac{C' \cdot w' \cdot W_{at} \cdot \left(R \cdot {}^{77}A_{spike} - {}^{78}A_{spike} \right)}{w \cdot W_{at}' \cdot \left({}^{78}A_{sample} - R\,{}^{77}A_{sample} \right)} \qquad (1)$$

with, C: Se concentration in the sample (g L^{-1}); C': Se concentration in the RID spike (g L^{-1}); w: sample weight (g); w': spike weight (g); W_{at}: sample atomic weight; W_{at}': RID spike atomic weight; R: $^{78}Se/^{77}Se$ ratio measured after RID spike; $^{78}A_{sample}$: abundance of ^{78}Se in the sample; $^{78}A_{spike}$: abundance of ^{78}Se in the RID spike; $^{77}A_{sample}$: abundance of ^{77}Se in the sample; $^{77}A_{spike}$: abundance of ^{77}Se in the RID spike

The amount of the Se standard addition for RID was chosen in order to have optimal $^{78}Se/^{77}Se$ ratio ($R_{optimal}$; equation 2) allowing minor error propagation during RID calculation (Webster, 1960).

$$R_{optimal} = \sqrt{(R_{spike} * R_{sample})} \qquad (2)$$

with, R_{spike}: $^{78}Se/^{77}Se$ in natural abundance standard used for the RID; R_{sample}: $^{78}Se/^{77}Se$ in the sample before RID.

For accurate concentration determinations by RID, Se isotopes have to be free of significant spectral interferences. Although C/RC parameters were optimized daily (cf. “Total Se analyses”

paragraph), some remaining interferences must be corrected as Se hydridation (SeH^+ formation) occuring in the octopole cell, which affects the isotope ratio measurement accuracy by influencing Se ions of m/z+1 (i.e. ^{77}Se and ^{78}Se). The Se hydridation factor was evaluated with ^{82}Se by measuring the m/z 83/82 ratio in 10 µg L^{-1} natural abundance Se standard. ^{77}Se and ^{78}Se can thus be accurately determined in samples from m/z 77 and 78 intensities corrected of $^{76}Se^1H^+$ and $^{77}Se^1H^+$ respectively (equations are described in supporting information; Hinojosas-Reyes et al., 2003; Darrouzès et al., 2005).

Hydridation of Br resulting in $^{79}Br^1H^+$ and $^{81}Br^1H^+$ formation must also be corrected because it affects ^{80}Se and ^{82}Se determination due to high bromine concentration in soils. The Br hydridation factor was evaluated by measuring the *m/z* 82/81 and 80/79 ratios in a 10 µg L^{-1} natural abundance Br standard solution. ^{80}Se and ^{82}Se can thus be accurately determined in samples from *m/z* 80 and 82 intensities corrected of $^{79}Br^1H^+$ and $^{81}Br^1H^+$ respectively (equations are described in supporting information; Hinojosa-Reyes et al., 2003; Darrouzès et al., 2005).

Mass discrimination is another effect causing deviations of measured isotopic ratios from theoretical ones. Correction factors for mass discrimination were calculated from free of spectral interferences Se isotope ratios determined for a 10 µg L^{-1} natural abundance Se standard solution. They were then used to correct isotope ratios in measured samples by employing an exponential model (Hinojosas-Reyes et al., 2003; equations are described in supporting information).

We observed that Se and Br standard solutions must be analyzed every three samples to have accurate correction factors, on contrary to previous recommendation (Hinojosa-Reyes et al., 2003), due to ultra-trace level Se concentrations in soil extracts (ng L^{-1}) and high Br concentrations (100 times higher than Se concentrations).

Thanks to these key conditions (corrections and C/RC optimizations), exact and accurate ratios were obtained with 4 isotopes, ^{77}Se, ^{78}Se, ^{80}Se and ^{82}Se. The less abundant Se isotopes, ^{74}Se and ^{76}Se, could not be obtained correcly in measured samples due to supplementary interferences. Isotopic composition of samples (abundances and atomic weight), required for Se concentration determination, was thus determined from *m/z* 77, 78, 80 and 82 wih calculations detailed in supporting information.

2.5. Calculation method for determination of native and freshly added Se distribution and speciation

Se concentrations determination

The equations employed for the calculation of Se_{native} (equation 3) and $Se_{freshly\ added}$.(equation 4) concentrations, for total Se and its species, were based on those developed by Hintelmann and Evans (1997). ^{78}Se was used as the reference isotope of Se_{native} and ^{77}Se as the reference isotope of $Se_{freshly\ added}$.

$$Se_{native} = \frac{C \cdot {}^{78}A_{sample}}{{}^{78}A_{natural}} \qquad (3)$$

$$Se_{freshly\ added} = \frac{\left(C \cdot {}^{78}A_{sample}\right) - \left(\left(\frac{{}^{78}A_{natural}}{{}^{77}A_{natural}}\right) \cdot C \cdot {}^{77}A_{sample}\right)}{\left(\frac{{}^{78}A_{tracer}}{{}^{77}A_{tracer}}\right) - \left(\frac{{}^{78}A_{natural}}{{}^{77}A_{natural}}\right)} \qquad (4)$$

with C: Se concentration in the sample (g L^{-1}); $^{78}A_{sample}$: abundance of ^{78}Se in the sample; $^{78}A_{natural}$: natural abundance of ^{78}Se; $^{78}A_{tracer}$: abundance of ^{78}Se in the tracer; $^{77}A_{sample}$: abundance of ^{77}Se in the sample; $^{77}A_{natural}$: natural abundance of ^{77}Se; $^{77}A_{tracer}$: abundance of ^{77}Se in the tracer.

Se concentrations were then expressed in µg kg^{-1} on the basis of precise weights of soil and liquid used for extraction or mineralization taking into account the residual water content of sampled soils. The residual water content was calculated after drying at 105°C in an air oven until constant mass. Obtained detection limits for both native and freshly added Se were given in supporting information.

2.6. Determination of solid/liquid distribution coefficient

Selenium distribution coefficients Kd, expressed in L kg^{-1}, were determined from the ultrapure water extraction results following equation (7).

$Kd = [Se_{water}\ res.] / [Se_{water}\ ext.]$ (7)

with $[Se_{water}$ res.]: total Se concentration in the residual solid phase (µg kg^{-1}); $[Se_{water}$ ext.]: total extracted Se concentration (µg L^{-1})

3. RESULTS AND DISCUSSION

Total Se_{native} and $Se_{freshly\ added}$ concentrations in soils were constant during the entire incubation period within 11 % standard deviation (respectively 402 ± 38 and 210 ± 18 µg kg^{-1} for the culture soil; 431 ± 36 and 304 ± 30 µg kg^{-1} for the forest soil; values for each cycle are detailed Table A in supporting information).

3.1. Equilibrium of native Se soil distribution

Time-courses of Se_{native} extraction efficiencies and speciation in soil extracts are presented Table 2 for both soils (concentrations details are presented Table A in supporting information).

Table 2. Se_{native} extractabilities (expressed in % of total soil Se_{native}) and $Se(IV)_{native}$ proportions in soil extracts (expressed in % of total extracted Se_{native}) for each cycle of the incubation period and both soils

		Culture soil				Forest soil		
		Water-soluble	Phosphate-extracted	NaOH-extracted		Water-soluble	Phosphate-extracted	NaOH-extracted
T_0 [(a)]	**Total Se**	**3.2 ± 0.4**	**9 ± 1**	**32 ± 2**	T_0 [(a)]	**4.8 ± 0.5**	**15 ± 1**	**55 ± 6**
	Se(IV)	*46 ± 6*	*52 ± 6*	*34 ± 1*		*11 ± 2*	*38 ± 3*	*48 ± 7*
Cycle 1	**Total Se**	**3.8 ± 0.6**	**18 ± 2**	**35 ± 2**	Cycle 1	**4.7 ± 0.1**	**30 ± 3**	**68 ± 5**
(day 7)	***Se(IV)***	***42 ± 4***	***57 ± 5***	***55 ± 4***	*(day 7)*	***11 ± 2***	***41 ± 2***	***44 ± 3***
Cycle 2	**Total Se**	**5.6 ± 0.3**	**13 ± 1**	**36 ± 4**	Cycle 2	**3.0 ± 0.1**	**28 ± 2**	**69 ± 3**
(day 14)	*Se(IV)*	*43 ± 1*	*53 ± 10*	*53 ± 3*	*(day 18)*	*6 ± 1*	*35 ± 4*	*52 ± 5*
Cycle 3	**Total Se**	**6.7 ± 1.4**	**20 ± 2**	**37 ± 4**	Cycle 3	**2.3 ± 0.1**	**18 ± 2**	**64 ± 3**
(day 21)	*Se(IV)*	*47 ± 8*	*48 ± 5*	*57 ± 4*	*(day 25)*	*12 ± 2*	*44 ± 2*	*46 ± 4*
Cycle 4	**Total Se**	**3.4 ± 0.4**	**16 ± 1**	**39 ± 6**	Cycle 4	**2.5 ± 0.2**	**21 ± 2**	**62 ± 2**
(day 32)	*Se(IV)*	*40 ± 5*	*48 ± 3*	*53 ± 3*	*(day 35)*	*11 ± 2*	*36 ± 2*	*40 ± 1*
Cycle 5	**Total Se**	**3.4 ± 0.3**	**13 ± 1**	**30 ± 2**	Cycle 5	**2.6 ± 0.2**	**18 ± 1**	**62 ± 1**
(day 39)	*Se(IV)*	*50 ± 3*	*50 ± 2*	*57 ± 9*	*(day 45)*	*<D.L.*	*45 ± 3*	*38 ± 1*
Cycle 6	**Total Se**	**3.4 ± 0.1**	**12 ± 1**	**27 ± 4**	Cycle 6	**2.3 ± 0.3**	**18 ± 1**	**71 ± 1**
(day 49)	*Se(IV)*	*54 ± 6*	*55 ± 6*	*65 ± 5*	*(day 55)*	*<D.L.*	*42 ± 4*	*35 ± 2*
Cycle 9	**Total Se**	**3.3 ± 0.4**	**13 ± 1**	**26 ± 4**	Cycle 9	**1.9 ± 0.2**	**16 ± 1**	**70 ± 6**
(day 89)	*Se(IV)*	*51 ± 5*	*64 ± 7*	*63 ± 2*	*(day 77)*	*<D.L.*	*44 ± 5*	*35 ± 4*

(a) T_0: start of the wetting/drying cycles incubation after $^{77}Se(IV)$ spiking and 24h homogenization

For the culture soil, water-soluble, phosphate and NaOH-extracted Se_{native} proportions were constant during the entire incubation period, with mean values of respectively, 4 ± 1, 14 ± 4 and 33 ± 5 % of total soil Se_{native}. These values are in agreement with previously reported mean values

for native Se in nine culture soils, i.e. 5 ± 1, 15 ± 4 and 35 ± 12 % of total Se (Tolu et al., submitted). Se_{native} species repartition in soil extracts was also stable during the entire incubation period. Only Se(IV) was detected in the three soil extracts with mean proportions values of 47 ± 5, 53 ± 6 and 55 ± 10 % of total extracted Se_{native} respectively, for ultrapure water, phosphate and NaOH extracts. These values are thus indicative that native Se has reached partitioning equilibrium in terms of retention processes and chemical transformations. Culture soil partitioning equilibrium was thus unaffected by the conditions of soil ageing used. The stability of native Se towards water-leaching and chemical attacks has been also reported for two culture soils using experimental conditions of aerobic incubation, moisture content, 20-70 % of water-holding capacity; 42-100 days (Haudin et al., 2007; Li et al., 2010).

For the forest soil, water-soluble Se_{native} proportions decreased between T_0 and cycle 3, from 4.8 ± 0.5 to a plateau around 2.3 ± 0.3 % (mean value from cycles 3 to 9) of total soil Se_{native}. However, phosphate and NaOH-extracted Se_{native} proportions were constant throughout the experiment indicating a steady distribution of Se_{native} in soil solid phases. The mean values, respectively, 21 ± 5 and 65 ± 5 % of total extracted Se, are in agreement with previously reported mean values in nine forest soils, i.e. 24 ± 13 and 65 ± 19 % of total soil native Se (Tolu et al., submitted). Se(IV) proportion in phosphate and NaOH was also constant during the time-course of experiment (mean values of respectively 41 ± 4 and 42 ± 6 % of total extracted native Se). In the water-soluble fraction, Se(IV) proportion decreased during the incubation period to undetectable levels from cycle 5. Se mass balances in soils extracts for both soils indicate the presence of unidentified Se species in proportions varying between 35 and 100 % of total extracted Se. Previous works have reported similar unidentified Se proportions (Li et al., 2010; Tolu et al., 2011; Tolu et al., submitted) and the most probable hypotheses for these unknown Se compounds are Se bound/incorporated into colloidal-size organic compounds or organo-mineral colloids (Gustafsson et Johnsson, 1994; Weng et al;, 2011; Tolu et al., submitted).Considering the forest soil, aging simulation conditions applied in this work (wetting/drying cycles) seem thus to decrease the capacity of native Se to be leached as well as influence the nature of species present in leachate. This would therefore indicate a modification of Se speciation and/or location within the forest soil such as diffusion towards more thermodynamically stable binding sites less affected by water leaching. In contrast, Li et al. (2010) have reported an increase of leached Se after 100 days soil flooding. They suggested that a reductive dissolution of iron oxyhydroxides and subsequent release of sorbed Se occurred during the time period of their experiment.

3.2. Soil distribution of freshly added Se

3.2.1. Water-soluble fraction and resulting Kd

Ultrapure water extraction was used to determine solid/liquid distribution coefficients (Kd). Values obtained for native Se and freshly added Se during the time-course of experiment are presented in Fig. 1.

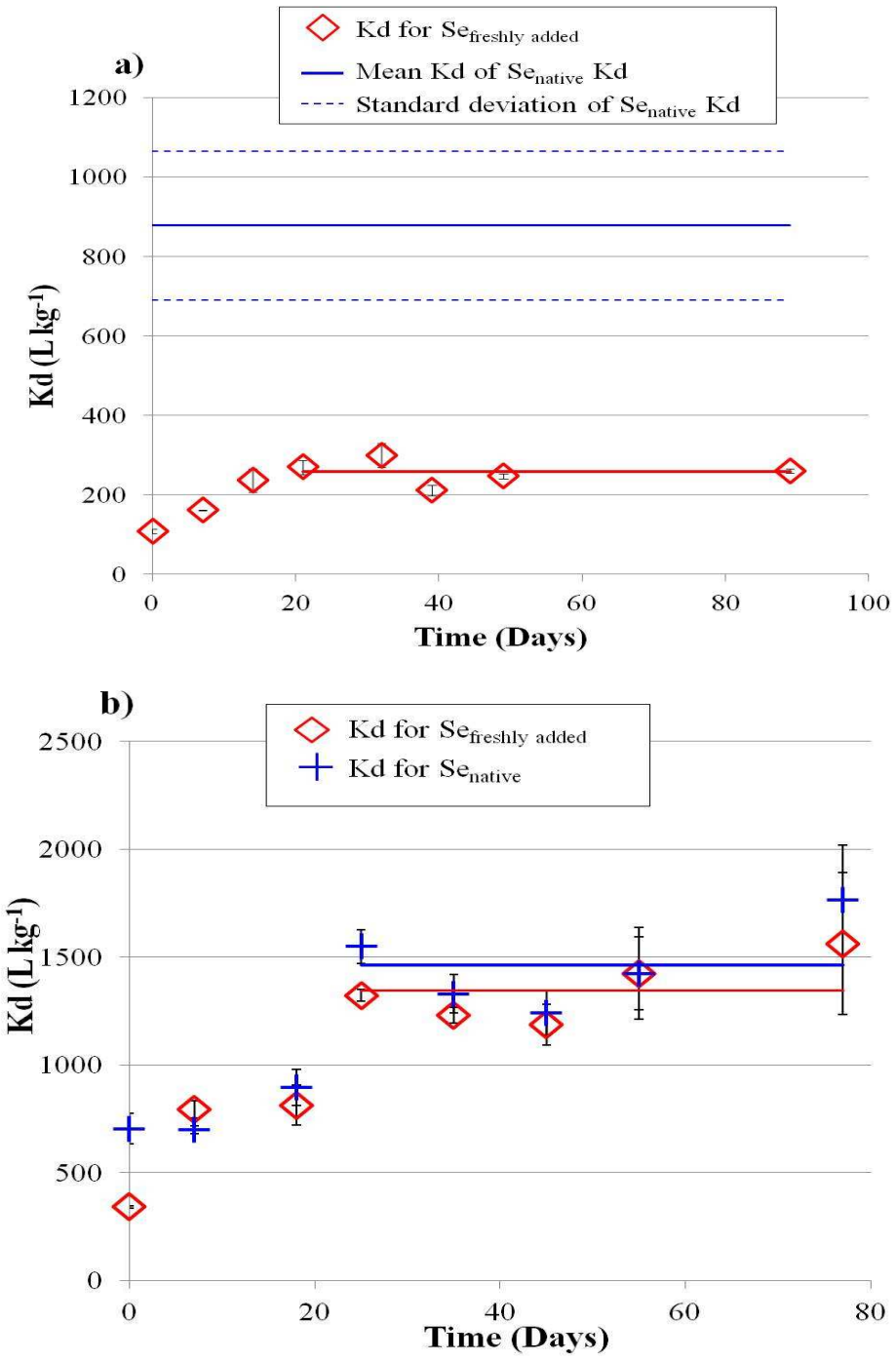


Fig. 1. Kd values of native Se and freshly added Se(IV) : a) culture soil; b) forest soil

After 24h ^{77}Se(IV)-spike homogenization (T_0), $Se_{freshly\ added}$ Kd values (culture soil: 109 ± 5 L kg^{-1}; forest soil: 341 ± 6 L kg^{-1}) were significantly lower than those obtained for Se_{native} (culture soil: 828 ± 191 L kg^{-1}; forest soil: 704 ± 70). However, the increase of $Se_{freshly\ added}$ Kd value with time, corresponding to a decrease of water-soluble $Se_{freshly\ added}$, indicates that 24 h homogenization time is insufficient to mimic native Se leachability. A stabilization of freshly added Se Kd values appeared from cycle 3 (21-25 days) with mean plateau values of 258 ± 33 and 1462 ± 215 L kg^{-1} respectively for culture and forest soils. In less than one month of soil aging, the leachability of freshly added Se was thus reduced by factors 2.5 (culture soil) and 4 (forest soil), and remained stable until the end of experiment (3 months). Similar orders of magnitude (factors 3-4) and time periods (20-40 days) have been previously reported for reduction and stabilization of added Se capacity to be leached on the basis of Kd values, ultrapure water-extracted proportions or soil pore-water concentrations (Février et al., 2007; Haudin et al., 2007; Li et al., 2010).

Although $Se_{freshly\ added}$ Kd value increased with time, its reached stable value at around 1 month was still lower (factor 3) than the one of native Se for the culture soil. In contrast, for the forest soil, $Se_{freshly\ added}$ Kd reached the same value than native Se. Indeed, as discussed in paragraph 3.1., water-soluble Se_{native} proportion of forest soil decreased during the time-course of experiment resulting in Kd increase. On the basis of Kd data, these results would thus suggest an apparent similar behavior of native Se and freshly added Se(IV) towards water leaching for this soil.

Overall, those results gave direct evidences of the existence of slow processes involved in Se retention at long-term as previously detailed (Tolu et al., submitted). Indeed, the statistical comparison of native Se Kd values obtained for twenty seven soils showed that values were significantly higher (factor 3 to 13) than those obtained and reported for Se-spiked soils after 1 to 60 h of spike-equilibration time (Tao et al., 1996; Dong et al., 1999; Dhillon and Dhillon, 1999; Thorne et al., 2001; Nakamaru et al., 2005; Wang and Liu, 2005; Chabroullet, 2007; Darcheville et al., 2008; Ashworth et al., 2008; Gil-García et al., 2010; IAEA, 2010). The kinetic and/or nature of presumed slow processes seem to depend on soil types. Thereby, according to previous study on twenty seven soils and results presented here, it is very likely that the commonly used equilibration time of 1-60 h to determine Kd is too short for robust long-term prediction of Se mobility in soils.

3.2.2. Se redistribution in soil solid phases

Phosphate and hydroxide efficiencies to extract added Se are presented Fig. 2 for both soils.

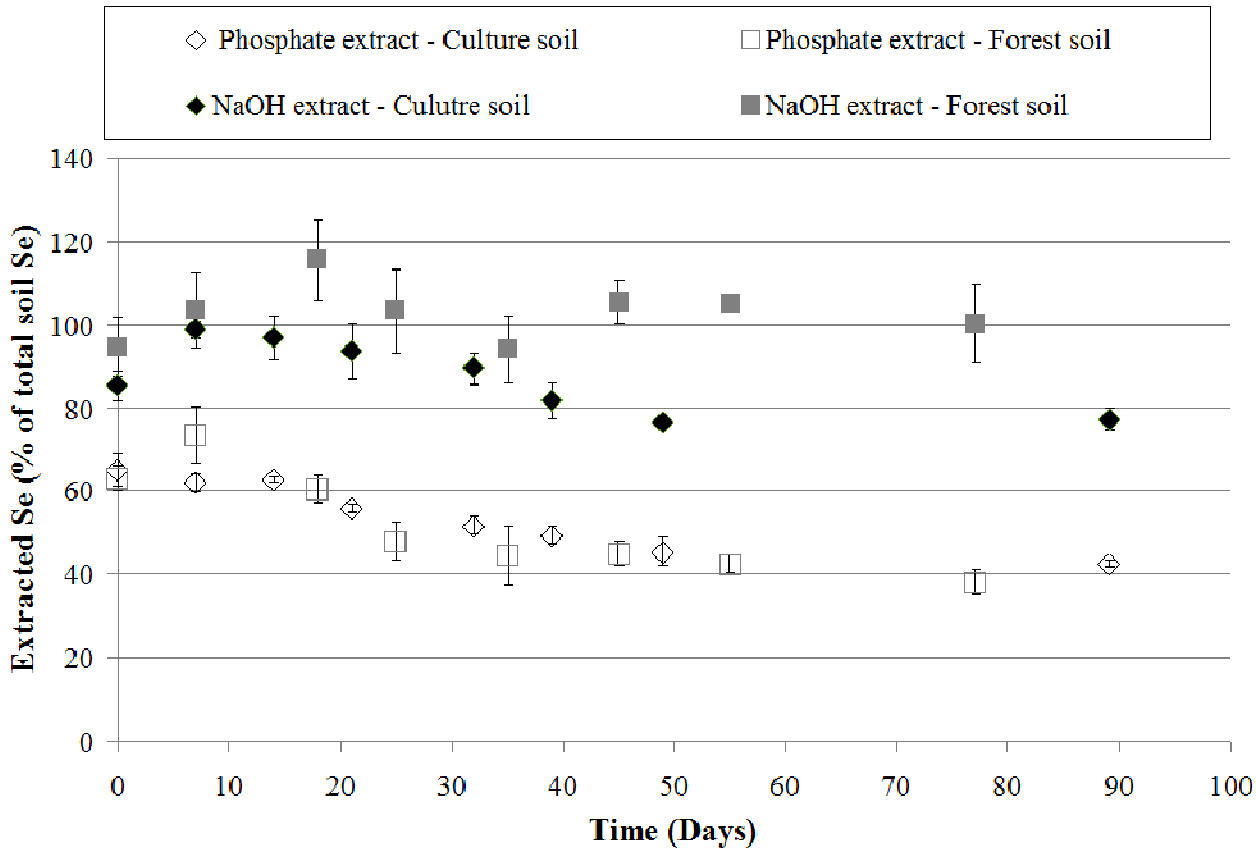


Fig. 2. Phosphate and NaOH-extracted added Se extractabilities

Phosphate-extracted $Se_{freshly\ added}$ proportions showed similar values and behavior for both soils, decreasing from cycle 3 until the end of the incubation period. The decrease was from 64 ± 3 (mean value from T_0 to cycle 3) to 40 ± 4 % of total soil $Se_{freshly\ added}$. NaOH-extracted $Se_{freshly\ added}$ proportions also decreased for the culture soil from cycle 3 (94 ± 8 % of total soil $Se_{freshly\ added}$) until the end of the incubation period (77 ± 4 % of total soil $Se_{freshly\ added}$). A different behavior was observed for the forest soil since NaOH allowed extracting 100% of total added Se during the entire experiment.

The observed decrease of extractabilities is indicative of a modification of Se location within the soil solid phases such as diffusion towards more thermodynamically stable binding sites leading to higher retention strength. Involved redistribution processes appeared once added leachability was stabilized (around cycle 3, 20-25 days), giving evidences that observed Kd stabilization does not reflect steady state for $Se_{freshly\ added}$ retention. At 3 months, added Se retention was not yet

stabilized (no apparent plateau in Fig. 3) and remained different from retention state of native Se for both soils as final phosphate and NaOH-extracted $Se_{freshly\ added}$ proportions were superior to those of native Se by respectively factors 2.7 and 1.6-1.9. In the same time-course, soil aging did not lead to modification of native Se fractions extracted by phosphate buffer and hydroxide (cf. Table 2, paragraph 3.1.). With parallel experiments to distinguish native and added Se behavior, Haudin et al. (2007) observed the same order of magnitude of $Se_{freshly\ added}/Se_{native}$ ratios in phosphate and pyrophosphate (NaOH alternative reagent for Se associated to SOM) extracts of a culture soil incubated 42 days in aerobic conditions, i.e. respectively 2.5 and 1.8.

NaOH-extracted Se proportions, considering either native or added Se, were always higher for forest than culture soil. This result is not unusual. In our previous study on twenty seven soils, significantly higher proportions of Se were extracted by NaOH for forest soils than for culture ones ($P<0.01$), while both soil types presented similar total organic carbon content. This difference was attributed to a stronger immobilization of Se corresponding to an higher stability of organo-mineral associations in alkaline culture soils (inner sphere binding) compared to acidic forest soils (ligand exchange reactions) (Tolu et al., submitted).

3.2.3. Transformation of $Se_{freshly\ added}$ species

For both soils, the time-courses of $Se(IV)_{freshly\ added}$ proportions in soil extracts were presented Table 3.

Table 3. $Se(IV)_{freshly\ added}$ proportions in soil extracts (expressed in % of total extracted $Se_{freshly\ added}$) for each cycle of the incubation period and both soils

	Culture soil			Forest soil		
	Water-soluble Se	Phosphate-extracted Se	NaOH-extracted Se	Water-soluble Se	Phosphate-extracted Se	NaOH-extracted Se
T_0 [(a)]	***92 ± 6***	***109 ± 1***	***103 ± 3***	***49 ± 1***	***99 ± 4***	***99 ± 9***
Cycle 1	***91 ± 9***	***95 ± 9***	***114 ± 6***	***50 ± 1***	***98 ± 5***	***109 ± 4***
Cycle 2	***101 ± 11***	***108 ± 5***	***101 ± 5***	***40 ± 5***	***103 ± 7***	***103 ± 4***
Cycle 3	***100 ± 10***	***102 ± 8***	***92± 7***	***49 ± 6***	***100 ± 5***	***97 ± 2***
Cycle 4	***101 ± 5***	***99 ±5***	***91 ± 5***	***44 ± 3***	***95 ± 3***	***95 ± 11***
Cycle 5	***88 ± 2***	***102 ± 10***	***93 ± 6***	***45 ± 3***	***104 ± 6***	***89 ± 8***
Cycle 6)	***90 ± 6***	***97 ± 6***	***96 ± 3***	***36 ± 4***	***97 ± 3***	***88 ± 2***
Cycle 9	***85 ± 4***	***104 ± 4***	***101 ± 6***	***21 ± 3***	***93 ± 2***	***91 ± 8***

(a) T_0: start of the wetting/drying cycles incubation after $^{77}Se(IV)$ spike and 24h homogenization

For both soils, Se(IV) accounted for 100% of extracted $Se_{freshly\ added}$ in phosphate and NaOH extracts during the entire incubation period. By contrast, a modification of added Se speciation was observed in water extracts. This modification occurred from cycle 5 for the culture soil, accounting for around 15% loss of initial water-soluble Se(IV) proportion at the end of the experiment. For the forest soil, it occurred from the cycle 6, accounting for around 28 % loss of initial (T_0) water-soluble Se(IV) proportion at the end of the experiment. For this soil, around 50% of water-soluble $Se_{freshly\ added}$ were present as unidentified Se species just after the 24h Se(IV)-spike equilibration (T_0) indicating a rapid Se reactivity with forest soil in terms of speciation modification.

The increase of ^{77}Se Kd previously discussed occurred for both soils while the proportions of freshly added Se(IV) were constant (T_0-cycle 3). Février et al. (2007) observed same phenomenon for a spiked culture soil incubated in aerobic conditions and concluded that both Se species pools were similarly immobilized in the soil. The present results would thus lead to the same conclusion considering Se retention based on Kd determination.

Although, some speciation modifications of added Se(IV) were observed, its final species repartition remained very different and highly superior from the one of Se_{native} after three months soil aging, since Se_{native} presented less than 65% of Se(IV) in the three soil extract types (Table 2).

3.3. Implications for prediction and future understanding of long term Se behavior in soils

It has been demonstrated in this work that added and native Se, submitted to same incubation conditions, presented a different behavior during three months aging experiment. Se_{native} retention in culture soil showed to be at steady state, in terms of leachability, distribution in soil solid phases and speciation, while some leachability and water-soluble species modifications were observed for the forest soil. At the opposite, the retention and speciation of added Se in the form of ^{77}Se(IV) was modified during the time-course of aging experiment for both soils. $Se_{freshly\ added}$ behavior tended to native Se one but, at three months, it did not reach native Se state and remained less strongly retained. Speciation analyses also indicated that ^{77}Se(IV) species proportions are superior to native Se(IV) ones in soils extracts, with 100% recovery of added ^{77}Se(IV) in phosphate and hydroxide extracts. Unidentified Se_{native} compounds were present in the three soils extracts while they exist only in water extracts for added Se. Such compounds may correspond to Se bound or incorporated into colloidal-size organic compounds or organo-mineral colloids (Weng et al;, 2011; Tolu et al., submitted). These colloidal-sized organic species have probably not the same capacity to be transferred to surface and ground waters and to be taken-up

by plants than soluble Se(IV) and Se(VI) oxyanions due to their different chemical (e.g., functional groups, hydrophobicity) and physical (e.g., size) properties.

The simultaneous tracing of 77-labeled and native Se reactivity by using isotopically enriched tracer gave thus direct evidences that the determination of global Se retention and speciation parameters with short-term experiments for their used in mathematical modelling prediction of Se behavior on long-time span can lead to overestimation of both Se mobility and bio-availability. It is now clear that, as for Cs and Cl, native Se must be used for this purpose, as suggested previously (Tolu et al., 2011).

For both soils, processes affecting $Se_{freshly\ added}$ capacity to be leached, retention strength and speciation presented different kinetics. Solid phase redistribution processes leading to higher $Se_{freshly\ added}$ retention strength and, speciation transformations appeared while leachability, i.e Kd, was stable. Redistribution was first observed without speciation transformations and then associated to speciation changes, indicating successive steps in Se retention. Some processes can be suggested from results obtained in this work. As for both soils steady Kd was only associated to a decrease of water soluble total ^{77}Se without detectable speciation transformations (speciation results Table 3), it can be suggested that leachability decreases only involved irreversibility of sorption process(es). Redistribution processes could involve progressive incorporation of added Se in soil mineral phases as indicated by phosphate extractability decrease. Concerning hydroxide extractability, culture and forest soils have to be distinguished, as a decrease was only observed for culture soil while 100% added Se was extracted for the forest soil during the time of experiment. This difference can be due to higher stability of organo-mineral associations in culture than forest soils (Kaiser et al., 2011).

Our investigative strategy combining, for the first time, the use of isotopically enriched tracer for simultaneous kinetic monitoring of distribution/speciation changes of native and added Se was demonstrated to be very promising for a better understanding and prediction of processes involved in long term Se cycling in soils. In this first experiment, Se reactivity was studied in the laboratory with soils incubation to simulate aging. As isotopically enriched tracers are not dangerous for ecosystems and human beings (no radioactivity), they can be used in the field in real aging conditions. The parallel monitoring of soils characteristics modifications with time will be necessary to better identify soil solid phases and related processes involved in Se retention.

Acknowledgements. This research was financially supported by the French national radioactive waste management agency (Andra).

REFERENCES

Andra, 2005. Referentiel du comportement des radionucleides et des toxiques chimiques d'un stockage dans le Callovo-Oxfordien jusqu'a l'homme, Site de Meuse Haute-Marne., Dossier HAVL-Argile 2005, Châtenay-Malabry (France).

Ashworth D.J., Moore J. and Shaw G. (2008) Effects of soil type, moisture content, redox potential and methyl bromide fumigation on K_d values of radio-selenium in soil. *Journal of Environmental Radioactivity* **99**, 1136-1142.

ATSDR, 2003. Toxicological profile for selenium, in: SERVICES, U.S.D.O.H.A.H. (Ed.). Agency for Toxic Substances and Disease Registry, Atlanta.

Bastviken D., Thomsen F. and Svensson T. (2007) Chloride retention in forest soil by microbial uptake and by natural chlorination of organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **71**, 3182-3192.

Collins R.N., Tran N.D., Bakkaus E., Avoscan L. and Gouget B. (2006) Assessment of isotope exchange methodology to determine the sorption coefficient and isotopically exchangeable concentration of selenium in soils and sediments. *Environmental Science and Technology* **40**, 7778-7783.

Darrouzès J., Bueno M., Lespès G. and Potin-Gautier M. (2005) Operational optimisation of ICP-octopole collision/reaction cell-MS for applications to ultratrace selenium total and speciation determination. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **20**, 88-94.

Dauthieu M., Bueno M., Darrouzès J., Gilon N. and Potin-Gautier M. (2006) Evaluation of porous graphitic carbon stationary phase for simultaneous preconcentration and separation of organic and inorganic selenium species in "clean" water systems. *Journal of Chromatography A* **1114**, 34-39.

Dhillon K.S. and Dhillon S.K. (1999) Adsorption-desorption reactions of selenium in some soils of India. *Geoderma* **93**, 19-31.

Dong W., Wang X., Du J., Wang D.C. and Tao Z. (1999) Sorption and desorption of radioselenium on red earth and its solid components. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **240**, 715-719.

Dumat C. and Staunton S. (1999) Reduced adsorption of caesium on clay minerals caused by various humic substances. *Journal of Environmental Radioactivity* **46**, 187-200.

Eich-Greatorex S., Sogn T.A., Ogaard A.F. and Aasen I. (2007) Plant availability of inorganic and organic selenium fertiliser as influenced by soil organic matter content and pH. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **79**, 221-231.

Fernández-Martínez A. and Charlet L. (2009) Selenium environmental cycling and bioavailability: A structural chemist point of view. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* **8**, 81-110.

Février L., Martin-Garin A. and Leclerc E. (2007) Variation of the distribution coefficient (K_d) of selenium in soils under various microbial states. *Journal of Environmental Radioactivity* **97**, 189-205.

Gil-García C., Tagami K., Uchida S., Rigol A. and Vidal M. (2009) New best estimates for radionuclide solid-liquid distribution coefficients in soils. Part 3: Miscellany of radionuclides (Cd, Co, Ni, Zn, I, Se, Sb, Pu, Am, and others). *Journal of Environmental Radioactivity* **100**, 704-715.

González Iglesias H., Fernández Sánchez M.L., García Alonso J.I. and Sanz-Medel A. (2007) Use of enriched 74Se and 77Se in combination with isotope pattern deconvolution to differentiate and determine endogenous and supplemented selenium in lactating rats. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **389**, 707-713.

Gustafsson J.P. and Johnsson L. (1994) The Association between Selenium and Humic Substances in Forested Ecosystems-Laboratory Evidence. *Applied Organometallic Chemistry* **8**, 141-147.

Hamilton S.J. (2004) Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of the Total Environment* **326**, 1-31.

Han F.X., Banin A. and Triplett G.B. (2001). Redistribution of heavy metals in arid-zone soils under a wetting-drying cycle soil moisture regime. *Soil Science* **166**, 18-28.

Haudin C.S., Renault P., Hallaire V., Leclerc-Cessac E. and Staunton S. (2007) Effect of aeration on mobility of selenium in columns of aggregated soil as influenced by straw amendment and tomato plant growth. *Geoderma* **141**, 98-110.

Hinojosa Reyes L., Marchante-Gayón J.M., García Alonso J.I. and Sanz-Medel A. (2003) Determination of selenium in biological materials by isotope dilution analysis with an octopole reaction system ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **18**, 11-16.

Hintelmann H. and Evans R.D. (1997) Application of stable isotopes in environmental tracer studies - Measurement of monomethylmercury (CH_3Hg^+) by isotope dilution ICP-MS and detection of species transformation. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **358**, 378-385.

IAEA, 2010. Handbook of Parameter Values for the Prediction of Radionuclides Transfer in Terrestrial and Freshwaters Environments. International Atomic Energy Agency, Vienna.

IUPAC. (1987) Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit *Analyst* **112**, 199-204

Kaiser M., Walter K., Ellerbrock R.H. and Sommer M. (2011) Effects of land use and mineral characteristics on the organic carbon content, and the amount and composition of Na-pyrophosphate-soluble organic matter, in subsurface soils. *Eur. J. Soil Sci.* **62**, 226-236.

Li H.F., Lombi E., Stroud J.L., McGrath S.P. and Zhao F.J. (2010) Selenium speciation in soil and rice: influence of water management and Se fertilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**, 11837-11843.

Monperrus M., Krupp E., Amouroux D., Donard O.F.X. and Rodriguez Martin-Doimeadios R.C. (2004) Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for metrology and assessing environmental reactivity. *Trends in Analytical Chemistry* **23**, 261-272.

Nakamaru Y., Tagami K. and Uchiga S. (2005) Distribution coefficient of selenium in Japanese agricultural soils. *Chemosphere* **58**, 1347-1354.

Rosén K., Shand C.A., Haak E.and Cheshire M.V. (2006). Effect of clay content and wetting-and-drying on radiocaesium behaviour in a peat and a peaty podzol. *Science of the Total Environment* **368**, 795-803.

Sheppard S.C., Grant C.A. and Drury C.F. (2009) Trace elements in Ontario soils - mobility, concentration profiles, and evidence of non-point-source pollution. *Canadian Journal of Soil Science* **89**, 489-499.

Sheppard S.C. (2011) Robust Prediction of Kd from Soil Properties for Environmental Assessment. *Human and Ecological Risk Assessment* **17**, 263-279.

Suzuki K.T., Somekawa L., Kurasaki K. and Suzuki N. (2006) Absolute labeling and simultaneous speciation in tracer experiments with multiple stable isotopes. *Journal of Health Science* **52**, 590-597.

Suzuki K.T., Doi C. and Suzuki N. (2008) Simultaneous tracing of multiple precursors each labeled with a different homo-elemental isotope by speciation analysis: Distribution and metabolism of four parenteral selenium sources. *Pure and Applied Chemistry* **80**, 2699-2713.

Tao Z., Du J., Dong W. and Zheng L. (1996) Sorption and desorption of radioselenium on calcareous soil and its solid components. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry Letters* **214**, 245-254.

Tolu J., Le Hécho I., Bueno M., Thiry Y. and Potin-Gautier M. (2011) Selenium speciation analysis at trace level in soils. *Analytica Chimica Acta* **684**, 126-133.

Tolu J., Bueno M., Thiry Y., Potin-Gautier M. and Le Hécho I. (submitted) Speciation and mobility of native selenium in soils with a focus on its interactions with soil organic matter.

Van Dael P., Lewis J. and Barclay D. (2004) Stable isotope-enriched selenite and selenate tracers for human metabolic studies: A fast and accurate method for their preparation from elemental selenium and their identification and quantification using hydride generation atomic absorption spectrometry. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **18**, 75-80.

Weng L., Vega F.A., Supriatin S., Bussink W. and Van Riemsdijk W.H. (2011) Speciation of Se and DOC in soil solution and their relation to Se bioavailability. *Environmental Science and Technology* **45**, 262-267.

SUPPORTING INFORMATION

1. Equation series for interference corrections of Se isotopes

$^{77}Se = {}^{77}I - (f_{Se} . {}^{76}Se)$

$^{78}Se = {}^{78}I - (f_{Se} . {}^{77}Se)$

$^{79}Br = {}^{79}I - (f_{Se} . {}^{78}Se)$

$^{80}Se = {}^{80}I - (f_{Br} . {}^{79}Br)$

$^{81}Br = {}^{81}I - (f_{Se} . {}^{80}Se)$

$^{82}Se = {}^{82}I - (f_{Br} . {}^{81}Br)$

with, ^{x}I: gross signal intensity at the *m/z* x measured in the sample; ^{x}Se: signal intensity of the x Se isotope without interference in the sample; ^{x}Br: signal intensity of the x Br isotope without interference in the sample; f_{Se}: Se hydriding factor determined by measuring the *m/z* 83/82 ($^{82}Se^{1}H^{+}/^{82}Se$) ratio in 10 µg L^{-1} Se standard (natural abundance); f_{Br}: Br hydriding factor determined by measuring the *m/z* 80/79 ($^{79}Br^{1}H^{+}/^{79}Br$) and 82/81 ($^{81}Br^{1}H^{+}/^{81}Br$) ratios in 10 µg L^{-1} Br standard (natural abundance)

2. Equation for mass bias correction

The mass bias correction was determined from 10 µg L^{-1} natural abundance Se standard analyses, using the exponential model, as used by Hinojosa-Reyes et al (2003). The relative error $\ln(R_{exp}/R_{theo})$ of the experimentally measured isotope ratio in the natural abundance Se standard (R_{exp}) compared to the theoretical natural abundance ratio (R_{theo}) with respect to ^{78}Se was plotted against the mass difference (ΔM) between the measured isotopes (76, 77, 78, 80 and 82) (Fig. A). The result was a linear relationship. The mass bias factor (K), derived from the slope of the regression line. Once K has been determined (Fig. A), the corrected isotope ratios (R_{corr}) can be calculated using:

$R_{corr} = R_{exp} . \exp(-K.\Delta M)$

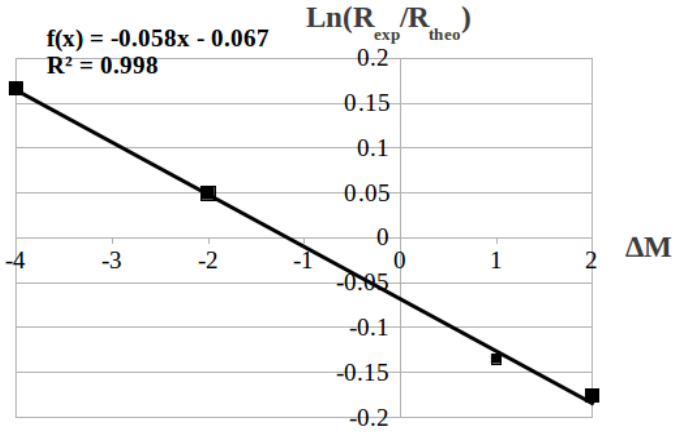


Figure A: Linear relationship between the relative error $\ln(R_{exp}/R_{theo})$ in the experimental isotope ratios and the mass difference between the measured isotopes from the ^{78}Se reference isotope (K = 0.058)

3. Determination of isotope abundances in samples without ^{74}Se

For Se concentrations determination by RID, the isotopic composition of samples, i.e. isotope abundance and atomic weight, are required. The isotopic composition of samples, containing native selenium (natural abundance) and spiked ^{77}Se (98.7 % of ^{77}Se and 1.3% of ^{78}Se) was determined, after interferences and mass bias corrections from the Se isotopes 77, 78, 80 and 82, as follows:

- the sum of $^{77}Se/^{80}Se$, $^{78}Se/^{80}Se$, $^{80}Se/^{80}Se$ and $^{82}Se/^{80}Se$ ($\sum$ Se isotope ratio) were calculated
- the abundance of ^{80}Se ($^{80}A_{sample}$) is : $^{80}A_{sample} = 100/(\sum \text{Se isotope ratio})$
- the abundances of ^{77}Se, ^{78}Se and ^{82}Se are, respectively:

$^{77}A_{sample} = {}^{77}Se/^{80}Se * {}^{80}A_{sample}$; $^{78}A_{sample} = {}^{78}Se/^{80}Se * {}^{80}A_{sample}$; $^{82}A_{sample} = {}^{82}Se/^{80}Se * {}^{80}A_{sample}$

- the atomic weight of the sample is: $M_{sample} = (\sum {}^{x}A_{sample} * {}^{x}M)/100$, with x = 77, 78, 80, 82

4. Detection limits

For Se_{native}, the detection limit (D.L., ng L^{-1}) was calculated with ^{78}Se according to IUPAC recommendations (IUPAC, 1987):

$$D.L._{78native} = \frac{3 \cdot s.d._{78blank}}{S}$$

with $s.d._{78\ blank}$: standard deviation of the background signal (10 blank measurements in reconstituted matrix) in counts s^{-1} ; S: the external calibration slope in (counts s^{-1}) ($\mu g\ L^{-1}$)$^{-1}$ for total analysis and in ($\mu g\ L^{-1}$)$^{-1}$ for speciation analysis.

Such instrumental D.L.s were then converted in $\mu g\ kg^{-1}$ of dried soil taking into account sample soil extract dilution, soil mass and volume used for extraction or mineralization. Obtained $D.L.s_{native}$ were, for total analyses: 10, 20 and 30 ng L^{-1} (i.e. 0.5, 6, 7 $\mu g\ kg^{-1}$); for Se(IV) analyses: 13, 30 and 15 ng L^{-1} (i.e. 0.4, 10, 1 $\mu g\ kg^{-1}$) respectively in ultrapure water, phosphate and NaOH soil extracts.

For $Se_{freshly\ added}$, D.L. was calculated according to Hintelmann and Evans (1997) from the natural background concentrations:

$$D.L._{77\ freshlyadded} = 3 \cdot s.d_{77\ Senative}$$

with, $D.L._{77\ Se\ formed}$: detectable concentrations of freshly added ^{77}Se ($\mu g\ L^{-1}$ or $\mu g\ kg^{-1}$); $s.d._{77}$ Se_{native}: standard deviation for $^{77}Se_{native}$ concentrations ($\mu g\ L^{-1}$ or $\mu g\ kg^{-1}$).

For both total and Se(IV) analyses, $D.L._{freshly\ added}$ were 10, 80 and 160 ng L^{-1} (i.e., 0.5, 3 and 6 $\mu g\ kg^{-1}$) for ultrapure water, phosphate and NaOH soil extracts respectively.

5. Total soil, extracted total Se and Se(IV) concentrations at each cycles of the incubation period

Table A. Native and freshly added Se concentrations (µg kg^{-1}) in both soils and soil extracts at each cycle of the incubation period

				T_0 [a]	Cycle 1	Cycle 2	Cycle 3	Cycle 4	Cycle 5	Cycle 6	Cycle 9
Native		***Soil***	***Total Se***	***395 ± 18***	***383 ± 23***	***n.d.*** [b]	***416 ± 8***	***n.d.*** [b]	***408 ± 40***	***n.d.*** [b]	***Actually n.d.*** [c]
	Culture	Water-soluble	*Total Se*	13 ± 2	15 ± 2	22 ± 1	27 ± 6	21 ± 2	14 ± 1	14 ± 1	13 ± 1
			Se(IV)	6 ± 2	6.3 ± 0.4	10 ± 1	10 ± 4	8.2 ± 0.2	6.8 ± 0.3	7.3 ± 0.9	6.8 ± 0.3
		Phosphate-extracted	*Total Se*	33 ± 6	71 ± 9	52 ± 3	81 ± 7	66 ± 5	54 ± 5	47 ± 3	52 ± 2
			Se(IV)	17 ± 2	40 ± 4	28± 6	39 ± 7	31 ± 3	26 ± 1	26 ± 2	33 ± 4
		NaOH-extracted	*Total Se*	128 ± 4	141 ± 6	146 ± 15	148 ± 17	158 ± 23	119 ± 10	108 ± 16	106 ± 15
			Se(IV)	45 ± 3	79 ± 7	77 ± 4	78 ± 7	84 ± 13	63 ± 10	71 ± 16	88 ± 11
	Forest	***Soil***	***Total Se***	***443 ± 41***	***447 ± 36***	***n.d.*** [b]	***418± 24***	***n.d.*** [b]	***Actually n.d.*** [c]	***n.d.*** [b]	***Actually n.d.*** [c]
		Water-soluble	*Total Se*	21 ± 2	20 ± 1	14 ± 1	10 ± 1	11 ± 1	11 ± 1	10 ± 1	8 ± 1
			Se(IV)	2.2 ± 0.4	2.3 ± 0.4	0.9 ± 0.2	1.2 ± 0.2	1.1 ± 0.1	<D.L. [d]	<D.L. [d]	<D.L. [d]
		Phosphate-extracted	*Total Se*	65 ± 4	129 ± 11	119 ± 19	78 ± 70	91 ± 8	77 ± 6	77 ± 4	70 ± 4
			Se(IV)	25 ± 1	53 ± 7	42 ± 2	35 ± 6	33 ± 2	35 ± 3	33 ± 3	30 ± 4
		NaOH-extracted	*Total Se*	251 ± 26	293 ± 24	296 ± 13	275 ± 13	268 ± 10	267 ± 2	308 ± 5	301 ± 25
			Se(IV)	120 ± 9	129 ± 10	102 ± 15	125 ± 6	108 ± 6	101 ± 3	108 ± 6	106 ± 3
Freshly added		***Soil***	***Total Se***	***238 ± 31***	***195 ± 8***	***n.d.*** [b]	***214 ± 15***	***n.d.*** [b]	***222 ± 19***	***n.d.*** [b]	***Actually n.d.*** [c]
	Culture	Water-soluble	*Total Se*	68 ± 3	43 ± 1	43 ± 1	26 ± 1	23 ± 2	30 ± 3	28 ± 1	27 ± 2
			Se(IV)	62 ± 3	39 ± 3	46 ± 3	36 ± 4	24 ± 2	26 ± 2	25 ± 2	23 ± 1
		Phosphate-extracted	*Total Se*	137± 8	130 ± 5	132 ± 1	117 ± 2	109 ± 5	104 ± 4	95 ± 7	89 ± 2
			Se(IV)	156 ± 3	124 ± 8	143 ± 6	119 ± 11	107 ± 4	106 ± 7	93 ± 2	93 ± 2
		NaOH-extracted	*Total Se*	180 ± 7	208 ± 4	204 ± 11	197 ± 14	189 ± 8	172 ± 10	161 ± 2	162 ± 5
			Se(IV)	185 ± 10	202 ± 19	205 ± 12	181 ± 5	170 ± 4	159 ± 2	154 ± 6	175 ± 15
	Forest	***Soil***	***Total Se***	***297 ± 28***	***328 ± 34***	***n.d.*** [b]	***303± 6***	***n.d.*** [b]	***Actually n.d.*** [c]	***n.d.*** [b]	***Actually n.d.*** [c]
		Water-soluble	*Total Se*	30 ± 1	13 ± 1	11 ± 1	8 ± 1	8 ± 1	8 ± 1	7 ± 1	6 ± 1
			Se(IV)	14 ± 1	6.3 ± 0.3	4.2 ± 0.6	3.9 ± 0.5	3.6 ± 0.6	3.7 ± 0.5	2.6 ± 0.2	1.3 ± 0.1
		Phosphate-extracted	*Total Se*	192 ± 9	224 ± 21	184 ± 10	146 ± 14	135 ± 22	137 ± 9	129 ± 7	116 ± 9
			Se(IV)	190 ± 13	219 ± 12	175 ± 17	146 ± 17	128 ± 17	142 ± 9	124 ± 4	108 ± 11
		NaOH-extracted	*Total Se*	288 ± 22	315 ± 27	351 ± 29	314 ± 30	286 ± 24	321 ± 16	319 ± 5	305 ± 29
			Se(IV)	285 ± 21	343 ± 20	344 ± 30	304 ± 31	283 ± 20	286 ± 9	282± 3	276 ± 6

(a) T_0: start of the wetting/drying cycles incubation after ^{77}Se(IV) spiking and 24h homogenization; (b) n.d.: no determined; (c) actually n.d.: actually no determined but it will be determined for the final article; (d) D.L.: detection limit

Partie III. Synthèse

Les résultats obtenus lors de ces deux études ont contribué à répondre aux questions initialement posées. Il s'agissait :

- *dans un premier temps, de vérifier et d'explorer le rôle de la matière organique dans la rétention de Se, ainsi que son impact sur sa spéciation, dans des sols contenant 1 à 30 % de MO ; de quantifier les espèces organiques connues provenant des processus de métabolisation et/ou de détoxication*

L'approche « extractions spécifiques et analyse de spéciation de Se » appliquée à des sols de culture, de prairie et de forêt, présentant des caractéristiques physico-chimiques contrastées (teneur en MO, en Fe, Al et Mn total, pH) et distribuées de manière homogène (gradient), met en lumière de nouvelles relations entre la MO et Se dans les sols :

- une relation entre la stabilité de la MO et la rétention de Se dans les sols, attribuée à l'interaction entre Se et les composés organiques stables d'un point de vue moléculaire et/ou à la stabilisation des phases porteuses (organiques ou minérales) par sorption et/ou agrégation de la MO avec la phase minérale des sols. Le fait que la distribution solide/liquide de Se soit affectée par des paramètres représentatifs de la fraction minérale (Fe, Al et Mn total, Fe libre) et non par la teneur en MO amène à penser que la stabilisation des phases porteuses minérales par la MO joue un rôle important sur la mobilité de Se dans les sols. Une rétention plus forte de Se dans les sols de culture a également été mise en évidence et attribuée à une plus forte stabilité des associations organo-minérales dans ces sols (pH alcalin ; formation de liaison de sphère interne) en comparaison aux sols de forêt acides (échanges de ligands). La MO des sols présente donc un impact sur la mobilité de Se via la formation d'associations avec les minéraux.

- une relation entre la quantité d'espèces séléniées inconnues et la quantité de carbone extrait avec les trois réactifs d'extraction utilisés, suggérant l'existence de Se associé à des populations colloïdales à caractères organiques, en partie mise en évidence et discutée au sein du Chapitre B. Cette fraction « organique » de Se représente pour les 27 sols étudiés une forte proportion de Se (en moyenne, 47 à 76 % de Se extrait), notamment dans la fraction soluble dans l'eau où elle atteint, pour les sols de forêt, 100 % de Se extrait. Des espèces organiques connues (SeMet, MeSeOOH), liées à la métabolisation de Se par les micro-organismes et/ou les plantes, ont été seulement observées dans deux sols de prairie et ne représentent que 0,2 à 3 % de Se_{total}.

Les résultats obtenus indiquent donc un rôle de la matière organique sur la mobilité et la spéciation de Se pour des sols contenant des teneurs en MO inférieures à 30 %.

- *dans un second temps, de vérifier l'existence de processus lents impliqués dans l'accumulation et la transformation chimique à long terme de Se dans les sols ; d'explorer l'aspect cinétique des évolutions de la distribution et de la spéciation de Se natif et fraîchement ajouté et estimer si l'étude de Se natif permet de mieux évaluer et prendre en compte ces processus lents.*

Les coefficients de distribution solide/liquide déterminés pour Se natif dans 27 sols sont significativement plus élevés (facteur 3 à 13) que ceux reportés dans la littérature après ajout de Se et temps d'équilibre compris entre 1 et 60 h. Ces résultats suggèrent l'existence de processus lents impliqués dans la rétention de Se dans les sols. L'étude cinétique, sur 3 mois, des évolutions de la distribution et de la spéciation de Se natif et de Se(IV) fraîchement ajouté, grâce à l'utilisation d'un traceur isotopique stable (^{77}Se(IV)), confirme et précise ces premiers résultats. Elle indique que Se natif est globalement stable d'un point de vue capacité à être lessivé (Kd), distribution dans la phase solide (extractions au tampon phosphate et à la soude) et spéciation. Au contraire, pour Se fraîchement ajouté, ces différents points évoluent au cours du temps. Même si en moins d'un mois, ^{77}Se(IV) ajouté présente des valeurs de Kd stables, comme pour Se natif, sa distribution dans les phases solides évolue au cours du temps (augmentation de la rétention) sans atteindre un état d'équilibre (pas de plateau). L'extractabilité de ^{77}Se ajouté apparaît supérieure à Se natif pendant les 3 mois d'incubation pour les deux sols. De plus, ^{77}Se(IV) ajouté est peu transformé chimiquement ; ses taux de transformations en espèces inconnues sont, après 3 mois d'incubation, inférieurs à 5 %. Au contraire pour Se natif, Se(IV) représente moins de 60 % de Se natif extrait ; le reste correspond aux espèces inconnues.

Cette étude met donc en évidence que la prédiction du comportement de Se à long terme à partir d'expériences à court terme peut entraîner une surestimation de la mobilité et de la bio-disponibilité de Se. Les résultats obtenus indiquent que le comportement de Se ajouté tend vers celui de Se natif bien qu'il subsiste encore des différences importantes au bout de trois mois d'incubation. Il semble donc approprié et judicieux d'étudier Se natif pour comprendre les processus et facteurs impliqués dans l'accumulation et la remobilisation en solution de Se à long terme.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

L'objectif de cette étude était d'améliorer la compréhension du cycle de Se dans les sols afin de répondre à une problématique actuelle de l'Andra, la prédiction à long terme des risques associés à une contamination potentielle des sols de surface par cet élément.

Les travaux effectués ont apporté :

- des nouvelles méthodologies permettant l'investigation des facteurs et processus impliqués dans le comportement, à court et long terme, de Se présent dans les sols à l'état de traces ($\mu g\ kg^{-1}$; contexte radiologique)
- des données et informations directement utilisables par l'Andra dans le cadre de la modélisation mathématique des risques mais aussi du projet de l'observatoire pérenne de l'environnement (OPE ; surveillance de l'environnement du stockage pendant au moins un siècle)
- des précisions sur les relations entre la mobilité de Se, sa spéciation, les caractéristiques des sols et leur utilisation (culture, prairie et forêt)

La première méthodologie développée permet une identification directe, par HPLC-ICP-MS, de Se(IV), Se(VI) et des espèces organiques de Se connues, présentes à l'état d'ultra-traces ($ng\ L^{-1}$), dans la fraction de Se susceptible d'être lessivée immédiatement (extraction à l'eau), ainsi que dans les fractions de Se plus fortement sorbées et pouvant être remobilisées en cas de modification des conditions environnementales (Se adsorbé sur les minéraux et lié à la MO, extractions tampon phosphate et soude).

La seconde méthodologie a été mise au point en combinant la première avec l'utilisation de traceurs isotopiques stables. Elle permet de suivre simultanément les évolutions de la distribution et de la spéciation de Se fraîchement ajouté et de Se natif. Les résultats obtenus indiquent que le comportement de Se ajouté tend vers celui de Se natif bien qu'il subsiste encore des différences importantes au bout de trois mois d'incubation. Ceci valide également l'hypothèse selon laquelle l'étude de Se natif est une approche judicieuse pour comprendre les processus de rétention et les transformations qui se font sur de longues échelles de temps. La méthodologie développée montre qu'il sera ultérieurement possible de suivre simultanément 2 espèces séléniées enrichies isotopiquement (exemple, ^{77}Se(IV), ^{82}Se(VI)) et Se natif, offrant ainsi un gain de temps et assurant une similitude des conditions d'évolution. Les étalons séléniés enrichis avec un isotope stable ne représentent pas de danger (pas de radioactivité). La méthodologie de traçage isotopique

mise au point peut donc être appliquée à des expériences sur le terrain afin d'obtenir des conditions réelles de vieillissement.

En ce qui concerne les données directement utilisables par l'Andra, 27 nouvelles valeurs de Kd ont été déterminées pour des sols représentatifs du territoire français et présentant des caractéristiques contrastées (pH, teneurs en MO, Fe, Al et Mn total). Ces valeurs vont permettre d'améliorer la classification des valeurs de Kd, qui, actuellement pour Se, est toujours effectuée seulement en fonction de la texture et la teneur en MO des sols. De plus, ces Kd ont été déterminés à partir de Se natif et vont donc contribuer à une meilleure modélisation à long terme.

Les travaux focalisés sur l'investigation des facteurs et processus impliqués dans le comportement de Se natif présent à l'état de traces dans les sols confirment le rôle de la MO pour les sols ne présentant pas de caractère organique marqué. Pour les 27 sols étudiés, contenant 1 à 30 % de MO, la capacité de Se natif à être remobilisé dépend à la fois de son interaction avec la fraction minérale et des facteurs affectant la stabilité de la MO. Les résultats obtenus suggèrent l'implication des associations organo-minérales dans la rétention de Se. A ce rôle indirecte, s'ajoute un impact de la MO sur la spéciation de Se natif susceptible d'être remobilisé en solution. La MO semble en effet entraîner la formation de composés de type substances humiques-Se (organiques et colloïdaux), qui peuvent représenter jusqu'à 100 % de Se extrait par les trois réactifs utilisés (eau, tampon phosphate et soude).

Le rôle de la MO sur la mobilité et la spéciation de Se dans les sols étant mieux démontré, il semble important de se focaliser sur les interactions Se/MO afin de déterminer précisément les mécanismes mis en jeu. Pour prolonger cette recherche, il serait judicieux de s'inspirer des travaux réalisés pour d'autres métaux et métalloïdes, aux comportements similaires à Se. Par exemple, il a été récemment montré que le mécanisme principal d'interaction entre As et la MO dans les sols aérés (conditions oxiques) était la formation de complexes ternaires (As(V)-Fe(III)-substances humiques) via des liaisons covalentes, mises en évidence par analyses XANES et EXAFS sur des acides humiques et fulviques après complexation de Fe(III) et dopage avec As (Mikutta et al., 2011). Ce mécanisme pourrait expliquer les différents résultats concernant la présence, dans les extraits de sols à la soude, de Se associé à des colloïdes de type substances humiques contenant les éléments Fe, Al et Mn (cf. Chapitre B, Partie II) et l'action combinée MO-minéraux dans la mobilité de Se (cf. Chapitre C, Partie I.). Les associations Se-S devraient également être envisagées comme mécanisme d'interaction entre Se et la MO des sols. En effet,

au sein des minéraux, il est connu que les formes réduites de Se peuvent se complexer au soufre ou le remplacer. Dans les levures, la présence de Se associé à des composés soufrés de la glutathione (GS-Se-SG) et de la cystéinylglycine (GS-Se-SCG) a été identifiée, suggérant une complexation entre Se et le soufre réduit au sein de molécules organiques (Lindemman et Hintelmann, 2002). Enfin, il vient également d'être démontré que le mécanisme majoritaire de rétention de As dans les sols de tourbes implique la formation de liaisons covalentes entre As(III) et les groupements soufrés réduits des composés organiques du milieu (Langner et al., 2011).

A partir de ces suggestions, deux méthodologies analytiques et expérimentales pourraient être mises en œuvre pour clarifier les mécanismes d'interaction entre Se et la MO :

- *des expériences de sorption de Se sur des acides humiques et fulviques extraits de divers types de sols.* Elles pourraient être réalisées dans différentes conditions, par exemple, en conditions oxiques et anoxiques, après complexation de Fe ou Al sur les substances humiques ou encore avec différentes espèces de Se (Se(IV), Se(0) et Se(-II)). Des analyses XANES et EXAFS des échantillons obtenus permettraient alors d'identifier les groupements impliqués dans la sorption de Se, la longueur des liaisons mises en jeu et donc la nature covalente ou électrostatique de l'interaction Se/MO.

- *l'identification des composés séléniés inconnus présents dans les extraits de sol, dont la formation est probablement en lien avec l'interaction Se/MO.* Des méthodologies de chromatographies orthogonales associées à des analyses en spectrométrie de masse moléculaire devraient alors être développées. Le principe de la chromatographie orthogonale est de séparer en série, à partir de mécanismes chromatographiques complémentaires, les composés de Se inconnus selon leurs propriétés (taille, caractères ioniques et/ou hydrophobes). La séparation de ces composés selon différentes méthodes permet également de les purifier (élimination de la matrice « extrait de sol ») et d'aboutir à des fractions contenant chacune une partie des composés inconnus de Se facilitant leur identification structurelle par spectrométrie de masse moléculaire.
Les travaux réalisés dans le cadre de la thèse permettent d'orienter un futur développement méthodologique, en donnant des pistes sur la nature de ces espèces inconnues séléniées : organiques et colloïdales de petites tailles (<250 nm pour les extraits à l'eau et <20 nm pour les extraits à la soude). La chromatographie d'exclusion stérique permettant une séparation en taille des composés allant du dissous jusqu'au colloïdal de taille inférieure à 100 nm, serait judicieuse pour une première séparation de ces espèces inconnues. Les différentes fractions de Se obtenues

par cette technique pourraient être ensuite séparées à l'aide d'une chromatographie de partage en phase inverse (caractère organique des composés inconnus) ou d'échange ionique.

L'identification de la structure de ces composés organiques inconnus de Se qui sont susceptibles d'être lessivés à partir des sols, pourrait amener à une meilleure compréhension des mécanismes impliqués dans la bio-disponibilité de Se présent dans les sols. En effet, Weng et al. (2011) ont suggéré que la minéralisation du carbone contrôle sa bio-disponibilité via les composés organiques colloïdaux de Se présents dans les extraits de sols. Nos travaux ont également révélé une relation entre la stabilité de la MO et la capacité de Se à être remobilisé en solution, avec des différences entre les sols de culture, prairie et forêt.
Des questions apparaissent alors :
- Quel est le rôle de la plante dans les interactions Se/MO dans les sols ?
- Les plantes sont-elles capables d'incorporer Se au sein d'une fraction organique pour, éviter son lessivage par les eaux et ensuite le libérer pour son prélèvement ?

Pour répondre à ces questions, des expériences en « mésocosmes » (sols + plantes) ou sur le terrain pourraient être réalisées en ajoutant Se sous différentes formes (Se(IV), Se(VI), SeMet, etc.) et avec ou sans amendement en résidus de végétaux. Une expérience pourrait également être envisagée avec un ajout de sélénium préalablement incorporé au sein de végétaux. Pour ces travaux de recherche, il serait judicieux d'employer la méthodologie mise au point pour le traçage isotopique de la distribution et de la spéciation de Se natif et Se ajouté dans les sols et de la compléter par des méthodes permettant de caractériser les processus affectant la MO.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abrams M.M., Burau R.G. and Zasoski R.J. (1990). Organic selenium distribution in selected California soils. *Soil Science Society of America Journal* **54**: 979-982.

Abu-Erreish G.M., Whitehead E.I. and Olson O.E. (1968). Evolution of volatile selenium from soils. *Soil Science* **106**: 415-420.

Adriano D.C. (2001). Trace elements in terrestrial environments. *Springer*, New York (USA).

Alsing Pedersen G. and Larsen E.H. (1997). Speciation of four selenium compounds using high performance liquid chromatography with on-line detection by inductively coupled plasma mass spectrometry or flame atomic absorption spectrometry. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry* **358**: 591-598.

Álvarez-Llamas G., Fernández De LaCampa M.D.R. and Sanz-Medel A. (2005). ICP-MS for specific detection in capillary electrophoresis. *Trends in Analytical Chemistry* **24**: 28-36.

Andra (2005). Referentiel du comportement des radionucleides et des toxiques chimiques d'un stockage dans le Callovo-Oxfordien jusqu'à l'homme, Site de Meuse Haute-Marne. *Agence nationale pour la gestion des déchets radioactifs*, Châtenay-Malabry (France). **C RP ASTR 04 0032/A**.

Ashworth D.J. and Shaw G. (2006). Soil migration, plant uptake and volatilisation of radio-selenium from a contaminated water table. *Science of the Total Environment* **370**: 506-514.

Ashworth D.J., Moore J. and Shaw G. (2008). Effects of soil type, moisture content, redox potential and methyl bromide fumigation on K_d values of radio-selenium in soil. *Journal of Environmental Radioactivity* **99**: 1136-1142.

Azaizeh H.A., Gowthaman S. and Terry N. (1997). Microbial selenium volatilization in rhizosphere and bulk soils from a constructed wetland. *Journal of Environmental Quality* **26**: 666-672.

Azaizeh H.A., Salhani N., Sebesvari Z. and Emons H. (2003). The potential of rhizosphere microbes isolated from a constructed wetland to biomethylate selenium. *Journal of Environmental Quality* **32**: 55-62.

Baes III C.F. and Sharp R.D. (1983). A proposal for estimation of soil leaching and leaching constants for use in assessment models. *Journal of Environmental Quality* **12**: 17-28.

Baize D. and Girard M.C. (1995). Référentiel Pédologique Français. *INRA*, Paris (FRANCE).

Balistrieri L.S. and Chao T.T. (1987). Selenium adsorption by goethite. *Soil Science Society of America Journal* **51**: 1145-1151.

Balistrieri L.S. and Chao T.T. (1990). Adsorption of selenium by amorphous iron oxyhydroxide and maganese dioxide. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **54**: 739-751.

Banerjee D. and Nesbitt H.W. (2000). XPS study of reductive dissolution of birnessite by H_2SeO_3 with constraints on reaction mechanism. *American Mineralogist* **85**: 817-825.

Bańuelos G.S., Lin Z.Q., Wu L. and Terry N. (2002). Phytoremediation of selenium-contaminated soils and waters: Fundamentals and future prospects. *Reviews on Environmental Health* **17**: 291-306.

Bar-Yosef B. and Meek D. (1987). Selenium adsorption by kaolinite and montmorillonite. *Soil Science* **144**: 11-19.

Barclay M.N.I., MacPherson A. and Dixon J. (1995). Selenium Content of a Range of UK Foods. *Journal of Food Composition and Analysis* **8**: 307-318.

Barrow N.J. and Whelan B.R. (1989). Testing a mechanistic model. VII. The effects of pH and of electrolyte on the reaction of selenite and selenate with a soil. *Journal of Soil Science* **40**: 17-28.

Bastviken D., Thomsen F. and Svensson T. (2007). Chloride retention in forest soil by microbial uptake and by natural chlorination of organic matter. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **71**: 3182-3192.

Beauchemin D., Siu K.W.M., McLaren J.W. and Berman S.S. (1989). Determination of arsenic species by high-performance liquid chromatography - Inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **4**: 285-287.

Bourrelier P.H. and Berthelin J. (1998). Contamination des sols par les éléments en traces - Les risques et leur gestion. *Académie des sciences*, Paris (France).

Bouyssière B., Szpunar J. and Lobinski R. (2002). Gas chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric detection in speciation analysis. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy* **57**: 805-828.

Boyle-Wight E.J., Katz L.E. and Hayes K.F. (2002). Spectroscopic studies of the effects of selenate and selenite on cobalt sorption to gAl_2O_3. *Environmental Science and Technology* **36**: 1219-1225.

Breynaert E., Bruggeman C. and Maes A. (2008). XANES-EXAFS analysis of se solid-phase reaction products formed upon contacting Se(IV) with FeS_2 and FeS. *Environmental Science and Technology* **42**: 3595-3601.

Brown T. and Shrift A. (1981). Exclusion of selenium from proteins of selenium-tolerant Astragalus species. *Plant Physiology* **67**: 1051-1061.

Bruggeman C., Maes A., Vancluysen J. and Vandemussele P. (2005). Selenite reduction in Boom clay: Effect of FeS2, clay minerals and dissolved organic matter. *Environmental Pollution* **137**: 209-221.

Bruggeman C., Maes A. and Vancluysen J. (2007). The interaction of dissolved Boom Clay and Gorbelen humic substances with selenium oxyanions (selenite and selenate). *Applied Geochemistry* **22**: 1371-1379.

Bueno M. and Potin-Gautier M. (2002). Solid-phase extraction for the simultaneous preconcentration of organic (selenocystine) and inorganic [Se(IV), Se(VI)] selenium in natural waters. *Journal of Chromatography A* **963**: 185-193.

Buffle J. and Leppard G.G. (1995). Characterization of aquatic colloids and macromolecules. 1. Structure and behavior of colloidal material. *Environmental Science and Technology* **29**: 2169-2175.

Bujdoš M., Kubová J. and Streško V. (2000). Problems of selenium fractionation in soils rich in organic matter. *Analytica Chimica Acta* **408**: 103-109.

Bujdoš M., Mul'ová A., Kubová J. and Medved' J. (2005). Selenium fractionation and speciation in rocks, soils, waters and plants in polluted surface mine environment. *Environmental Geology* **47**: 353-360.

Burton G.A.j., Giddings T.H., DeBrine P. and Fall R. (1987). High incidence of selenite-resistent bacteria from a site polluted with selenium. *Applied and Environmental Microbiology* **53**: 185-188.

Calderone S.J., Frankenberger Jr W.T., Parker D.R. and Karlson U. (1990). Influence of temperature and organic amendments on the mobilization of selenium in sediments. *Soil Biology & Biochemistry* **22**: 615-620.

Casiot C. (1999). Développement de techniques analytiques couplées (HPLC-ICP-MS et EC-ICP-MS) pour la spéciation de métalloïdes (Arsenic, Sélénium, Antimoine et Tellure). *Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour.*

Casiot C., Donar O.F.X. and Potin-Gautier M. (1999). Analyse de spéciation simultanée par coulage HPLC-ICP-MS appliquée aux métalloïdes (As, Se, Sb, Te). *Spectra Analyse* **206**: 17-22.

Chabroullet C. (2007). Etude de la remobilisation d'éléments traces à partir d'un sol de surface contaminé : influence du vieillissement des composés organiques du sol sur la remobilisation du sélénium. *Thèse de l'Université Joseph Fourier-Grenoble I.*

Chao T.T. and Sanzolone R.F. (1989). Fractionation of soil selenium by sequential partial dissolution. *Soil Science Society of America Journal* **53**: 385-391.

Chassaigne H., Chéry C.C., Bordin G. and Rodriguez A.R. (2002). Development of new analytical methods for selenium speciation in selenium-enriched yeast material. *Journal of Chromatography A* **976**: 409-422.

Chasteen T.G., Silver G.M., Birks J.W. and Fall R. (1990). Fluorine-induced chemiluminescence detection of biologically methylated tellurium, selenium, and sulfur compounds. *Chromatographia* **30**: 181-185.

Chasteen T.G. (1998). Volatile chemical species of selenium, in: *Environmental Chemistry of Selenium*, *Marcel Dekker*, New York (USA). pp. 589-612.

Chasteen T.G. and Bentey R. (2003). Biomethylation of selenium and tellurium: microorganisms and plants. *Chemical Reviews* **103**: 1-26.

Chau Y.K., Wong P.T.S., Silverberg B.A., Luxon P.L. and Bengert G.A. (1976). Methylation of selenium in the aquatic environment. *Science* **192**: 1130-1131.

Chen X., Yang G. and Chen J. (1980). Studies on the relations of selenium and Keshan disease. *Biological Trace Element Research* **2**: 91-107.

Cheng L., Lyman P.F., Sturchio N.C. and Bedzyk M.J. (1997). X-ray standing wave investigation of the surface structure of selenite anions adsorbed on calcite. *Surface Science* **382**: L690-L695.

Cheng Y.Y. and Qian P.C. (1990). The effect of selenium-fortified table salt in the prevention of Keshan disease on a population of 1.05 million. *Biomedical and environmental sciences* **3**: 422-428.

Claveranne-Lamolère C. (2010). Evaluation et caractérisation des interactions colloïdes-actinides dans les sols par une approche multi-technique : exemple de l'uranium en milieu carbonaté. *Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour*.

Cohen R., Schuhmann D., Sinan F. and Vanel P. (1992). The role of organic coatings in the enrichment of marine particles with selenium. The fixation of selenite on an adsorbed amino acid. *Marine Chemistry* **40**: 249-271.

Collins R.N., Tran N.D., Bakkaus E., Avoscan L. and Gouget B. (2006). Assessment of isotope exchange methodology to determine the sorption coefficient and isotopically exchangeable concentration of selenium in soils and sediments. *Environmental Science and Technology* **40**: 7778-7783.

Conde J.E. and Sanz Alaejos M. (1997). Selenium concentrations in natural and environmental waters. *Chemical Reviews* **97**: 1979-2003.

Coppin F., Chabroullet C., Martin-Garin A., Balesdent J. and Gaudet J.P. (2006). Methodological approach to assess the effect of soil ageing on selenium behavior: first results concerning mobility and solid fractionation of selenium. *Biology and Fertility of Soils* **42**: 379-386.

Coppin F., Chabroullet C. and Martin-Garin A. (2009). Selenite interactions with some particulate organic and mineral fractions isolated from a natural grassland soil. *European Journal of Soil Science* **60**: 369-376.

Coughtrey P.J., Jackson D. and Thorne M.C. (1983). Selenium, in: *Radionuclide distribution and transport in terrestrial and aquatic ecosystems: a critical review of data, A.A. Balkema,* Rotterdam (Netherlands). pp. 102-184.

Cutter G.A. (1982). Selenium in reducing waters. *Science* **217**: 829-831.

Cutter G.A. and Bruland K.W. (1984). The marine biogeochemistry of selenium: a re-evaluation. *Limnology & Oceanography* **29**: 1179-1192.

Cutter G.A. (1992). Kinetic controls on metalloid speciation in seawater. *Marine Chemistry* **40**: 65-80.

Cutter G.A. (1993). Metalloids in wet deposition on Bermuda: concentrations, sources, and fluxes. *Journal of Geophysical Research* **98**: 16,777-716,786.

Darcheville O., Février L., Haichar F.Z., Berge O., Martin-Garin A. and Renault P. (2008). Aqueous, solid and gaseous partitioning of selenium in an oxic sandy soil under different microbiological states. *Journal of Environmental Radioactivity* **99**: 981-992.

Darrouzès J. (2005). Amélioration des étapes analytiques pour la spéciation du sélénium au niveau ultra-trace - Apport d'un spectrometre de masse à couplage inductif équipé d'une cellule de collision/réaction (ICP-C/CR/-MS). *Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour*.

Darrouzès J., Bueno M., Lespès G. and Potin-Gautier M. (2005). Operational optimisation of ICP-octopole collision/reaction cell-MS for applications to ultratrace selenium total and speciation determination. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **20**: 88-94.

Darrouzès J., Bueno M., Lespès G., Holeman M. and Potin-Gautier M. (2007). Optimisation of ICPMS collision/reaction cell conditions for the simultaneous removal of argon based interferences of arsenic and selenium in water samples. *Talanta* **71**: 2080-2084.

Darrouzès J., Bueno M., Simon S., Pannier F. and Potin-Gautier M. (2008). Advantages of hydride generation interface for selenium speciation in waters by high performance liquid chromatograhy-inductively coupled plasma mass spectrometry coupling. *Talanta* **75**: 362-368.

Dauthieu M., Bueno M., Darrouzès J., Gilon N. and Potin-Gautier M. (2006). Evaluation of porous graphitic carbon stationary phase for simultaneous preconcentration and separation of organic and inorganic selenium species in "clean" water systems. *Journal of Chromatography A* **1114**: 34-39.

Deb B.C. (1950). Estimation of free iron oxides in soils and their removal. *Journal of Soil Science* **1**: 212-220.

Dhillon K.S. and Dhillon S.K. (1999). Adsorption-desorption reactions of selenium in some soils of India. *Geoderma* **93**: 19-31.

Dhillon S.K. and Dhillon K.S. (2000). Selenium adsorption in soils as influenced by different anions. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **163**: 577-582.

Di Gregorio S., Lampis S. and Vallini G. (2005). Selenite precipitation by a rhizospheric strain of Stenotrophomonas sp. isolated from the root system of Astragalus bisulcatus: A biotechnological perspective. *Environment International* **31**: 233-241.

Dong W., Wang X., Du J., Wang D.C. and Tao Z. (1999). Sorption and desorption of radioselenium on red earth and its solid components. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **240**: 715-719.

Doran J.W. and Alexander M. (1977). Microbial formation of volatile selenium compounds in soil. *Soil Science Society of America Journal* **41**: 70-73.

Doran J.W. (1982). Microorganisms and the biological cycling of selenium. *Advances in Microbial Ecology* **6**: 1-32.

Dowdle P.R. and Oremland R.S. (1998). Microbial oxidation of elemental selenium in soil slurries and bacterial cultures. *Environmental Science and Technology* **32**: 3749-3755.

Dubascoux S. (2007). Développement d'une méthode de fractionnement par couplage flux force (FFF) multi détection pour la caractérisation de colloïdes naturels. *Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour*.

Dubascoux S., Heroult J., Le Hécho I., Potin-Gautier M. and Lespes G. (2008a). Evaluation of a combined fractionation and speciation approach for study of size-based distribution of organotin species on environmental colloids. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **390**: 1805-1813.

Dubascoux S., Le Hécho I., Potin-Gautier M. and Lespès G. (2008b). On-line and off-line quantification of trace elements associated to colloïds by As-Fl-FFF and ICP-MS. *Talanta* **77**: 60-65.

Dubascoux S., Von Der Kammer F., Le Hécho I., Gautier M.P. and Lespes G. (2008c). Optimisation of asymmetrical flow field flow fractionation for environmental nanoparticles separation. *Journal of Chromatography A* **1206**: 160-165.

Duc M., Lefevre G., Fedoroff M., Jeanjean J., Rouchaud J.C., Monteil-Rivera F., Dumonceau J. and Milonjic S. (2003). Sorption of selenium anionic species on apatites and iron oxides from aqueous solutions. *Journal of Environmental Radioactivity* **70**: 61-72.

Duchaufour P. (2001). Introduction à la science du sol. Sol, végétation, environnement. 6ème édition de l'abrégé de pédologie. *Dunod*, Paris (France).

Ducros V. and Favier A. (2004). Selenium metabolism. *EMC - Endocrinologie* **1**: 19-28.

Dumat C. and Staunton S. (1999). Reduced adsorption of caesium on clay minerals caused by various humic substances. *Journal of Environmental Radioactivity* **46**: 187-200.

Dungan R.S. and Frankenberger Jr W.T. (1999). Microbial transformations of selenium and the bioremediation of seleniferous environments. *Bioremediation Journal* **3**: 171-188.

Dungan R.S., Yates S.R. and Frankenberger Jr W.T. (2003). Transformations of selenate and selenite by Stenotrophomonas maltophilia isolated from a seleniferous agricultural drainage pond sediment. *Environmental Microbiology* **5**: 287-295.

Eich-Greatorex S., Sogn T.A., Ogaard A.F. and Aasen I. (2007). Plant availability of inorganic and organic selenium fertiliser as influenced by soil organic matter content and pH. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **79**: 221-231.

Elrashidi M.A., Adriano D.C., S.M.Workman and Lindsay W.L. (1987). Chemical equilibria of selenium in soils: a theoretical development. *Soil Science* **144**: 141-152.

Elrashidi M.A., Adriano D.C. and Lindsay W.L. (1989). Solubility Speciation and Transformations of Selenium in Soils, in: *Selenium in Agriculture and the Environment, Soil Science Society of America*, Madison (USA). pp. 51-63.

Evans E.H. and Giglio J.J. (1993). Interferences in inductively coupled plasma mass spectrometry. A review. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **8**: 1-18.

Fernández-Martínez A. and Charlet L. (2009). Selenium environmental cycling and bioavailability: A structural chemist point of view. *Reviews in Environmental Science and Biotechnology* **8**: 81-110.

Février L., Martin-Garin A. and Leclerc E. (2007). Variation of the distribution coefficient (K_d) of selenium in soils under various microbial states. *Journal of Environmental Radioactivity* **97**: 189-205.

Foster A.L., Brown Jr G.E. and Parks G.A. (2003). X-ray absorption fine structure study of As(V) and Se(IV) sorption complexes on hydrous Mn oxides. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **67**: 1937-1953.

Fox P.M., LeDuc D.L., Hussein H., Lin Z.Q. and Terry N. (2002). Selenium Speciation in Soils and Plants, in: *Biogeochemistry of Environmentally Important Trace Elements, ACS Symposium Series* **835:** 339-354.

Francis A.J., Duxbury J.M. and Alexander M. (1974). Evolution of dimethylselenide from soil. *Applied Microbiology* **28**: 248-250.

Frankenberger Jr W.T. and Karlson U. (1994). Microbial Volatilization of selenium from soils and sediments, in: *Selenium in the Environment, Marcel Dekker*, New York (USA). pp. 369-387.

Gao S., Tanii K.K., Peters D.W. and Herbel M.J. (2000). Water selenium speciation and sediment fractionation in a California flow-through wetland system. *Journal of Environmental Quality* **29**: 1275-1283.

Garbisu C., Ishii T., Leighton T. and Buchanan B.B. (1996). Bacterial reduction of selenite to elemental selenium. *Chemical Geology* **132**: 199-204.

Ge H., Cai X.-J., Tyson J.F., Uden P.C., Denoyer E.R. and Block E. (1996). Identification of selenium species in selenium-enriched garlic, onion and broccoli using high-performance ion chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometry detection. *Analytical Communications* **33**: 279-281.

Gerzabek M.H., Antil R.S., Kögel-Knabner I., Knicker H., Kirchmann H. and Haberhauer G. (2006). How are soil use and management reflected by soil organic matter characteristics: A spectroscopic approach. *European Journal of Soil Science* **57**: 485-494.

Gil-García C., Tagami K., Uchida S., Rigol A. and Vidal M. (2009). New best estimates for radionuclide solid-liquid distribution coefficients in soils. Part 3: Miscellany of radionuclides (Cd, Co, Ni, Zn, I, Se, Sb, Pu, Am, and others). *Journal of Environmental Radioactivity* **100**: 704-715.

Goh K.H. and Lim T.T. (2004). Geochemistry of inorganic arsenic and selenium in a tropical soil: Effect of reaction time, pH, and competitive anions on arsenic and selenium adsorption. *Chemosphere* **55**: 849-859.

Goldhaber S.B. (2003). Trace element risk assessment: Essentiality vs. toxicity. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **38**: 232-242.

Gómez-Ariza J.L., Pozas J.A., Giráldez I. and Moralesa E. (1999). Use of solid phase extraction for speciation of selenium compounds in aqueous environmental samples. *Analyst* **124**: 75-78.

González Iglesias H., Fernández Sánchez M.L., García Alonso J.I. and Sanz-Medel A. (2007). Use of enriched 74Se and 77Se in combination with isotope pattern deconvolution to differentiate and determine endogenous and supplemented selenium in lactating rats. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **389**: 707-713.

Guo L., Frankenberger Jr W.T. and Jury W.A. (1999). Adsorption and degradation of dimethyl selenide in soil. *Environmental Science and Technology* **33**: 2934-2938.

Gustafsson J.P. and Johnsson L. (1994). The Association between Selenium and Humic Substances in Forested Ecosystems-Laboratory Evidence. *Applied Organometallic Chemistry* **8**: 141-147.

Haberhauer-Troyer C., Ãlvarez-Llamas G., Zitting E., Rodríguez-González P., Rosenberg E. and Sanz-Medel A. (2003). Comparison of different chloroformates for the derivatisation of seleno amino acids for gas chromatographic analysis. *Journal of Chromatography A* **1015**: 1-10.

Hamilton S.J. (2004). Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of the Total Environment* **326**: 1-31.

Han F.X., Banin A. and Triplett G.B. (2001). Redistribution of heavy metals in arid-zone soils under a wetting-drying cycle soil moisture regime. *Soil Science* **166**: 18-28.

Hansen D., Duda P.J., Zayed A.M. and Terry N. (1998). Selenium removal by constructed wetland : tole of biological volatilization. *Environment Science and Technology* **32**: 591-597.

Hartikainen H. (2005). Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **18**: 309-318.

Haudin C.S., Renault P., Hallaire V., Leclerc-Cessac E. and Staunton S. (2007). Effect of aeration on mobility of selenium in columns of aggregated soil as influenced by straw amendment and tomato plant growth. *Geoderma* **141**: 98-110.

Hayes K.F., Roe A.L., Brown Jr G.E., Hodgson K.O., Leckie J.O. and Parks G.A. (1987). In situ x-ray absorption study of surface complexes: Selenium oxyanions on Î±-FeOOH. *Science* **238**: 783-786.

Hayes K.F., Papelis C. and Leckie J.O. (1988). Modeling ionic strength effects on anion adsorption at hydrous oxide/solution interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* **125**: 717-726.

Haygarth P.M., Jones K.C. and Harrison A.F. (1991). Selenium cycling through agricultural grasslands in the UK: Budgeting the role of the atmosphere. *Science of the Total Environment* **103**: 89-111.

Haygarth P.M. (1994). Global importance and global cycling of selenium, in: *Selenium in the Environment, Marcel Dekker*, New York (USA). pp. 1-27.

Heninger I., Potin-Gautier M., Astruc M., Galvez L. and Vignier V. (1998). Mise au point de techniques analytiques pour la spéciation du sélénium dans les boues de stations d'épuration d'eaux résiduaires urbaines. *Journal of Water Science* **11**: 333-346.

Hiemstra T., Rietra R.P.J.J. and Van Riemsdijk W.H. (2007). Surface complexation of selenite on goethite: MO/DFT geometry and charge distribution. *Croatica Chemica Acta* **80**: 313-324.

Hinojosa Reyes L., Marchante-Gayón J.M., García Alonso J.I. and Sanz-Medel A. (2003). Determination of selenium in biological materials by isotope dilution analysis with an octopole reaction system ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **18**: 11-16.

Hintelmann H. and Evans R.D. (1997). Application of stable isotopes in environmental tracer studies - Measurement of monomethylmercury (CH_3Hg^+) by isotope dilution ICP-MS and detection of species transformation. *Fresenius Journal of Analytical Chemistry* **358**: 378-385.

Hintelmann H. and Harris R. (2004). Application of multiple stable mercury isotopes to determine the adsorption and desorption dynamics of Hg(II) and MeHg to sediments. *Marine Chemistry* **90**: 165-173.

Hu X., Wang F. and Hanson M.L. (2009). Selenium concentration, speciation and behavior in surface waters of the Canadian prairies. *Science of the Total Environment* **407**: 5869-5876.

Hunter W.J. and Kuykendall L.D. (2006). Identification and characterization of an Aeromonas salmonicida (syn Haemophilus piscium) strain that reduces selenite to elemental red selenium. *Current Microbiology* **52**: 305-309.

IAEA (1994). Handbook of Parameter Values for the Prediction of Radionuclides Transfer in Temperate Environments. *International Atomic Energy Agency*, Vienna (Austria). **Technical Report Series No. 364**.

IAEA (2010). Handbook of Parameter Values for the Prediction of Radionuclides Transfer in Terrestrial and Freshwaters Environments. *International Atomic Energy Agency*, Vienna (Austria). **Technical Report Series No. 472**.

Ihnat M. (1989). Occurrence and distribution of Selenium. *CRC Press*, Boca Baton (USA).

Ike M., Takahashi K., Fujita T., Kashiwa M. and Fujita M. (2000). Selenate reduction by bacteria isolated from aquatic environment free from selenium contamination. *Water Research* **34**: 3019-3025.

IUPAC (1987). Recommendations for the definition, estimation and use of the detection limit. *Analyst* **112**: 199-204.

IUPAC (1997). Compendium of Chemical Terminology, *Blackwell Scientific Publication* **2nd edition**.

Jackson B.P., Shaw Allen P.L., Hopkins W.A. and Bertsch P.M. (2002). Trace element speciation in largemouth bass (Micropterus salmoides) from a fly ash settling basin by liquid chromatography-ICP-MS. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **374**: 203-211.

Jayaweera G.R. and Biggar J.W. (1996). Role of redox potential in chemical transformations of selenium in soils. *Soil Science Society of America Journal* **60**: 1056-1063.

John M.K., Saunders W.M. and Watkinson J.H. (1976). Selenium adsorption by New Zealand soils: I. relative adsorption of selenite by representative soils and the relationship to soil properties. *New Zealand Journal of Agricultural Research* **19**: 143-151.

Johnson C.C., Ge X., Green K.A. and Liu X. (2000). Selenium distribution in the local environment of selected villages of the Keshan Disease belt, Zhangjiakou District, Hebei Province, People's Republic of China. *Applied Geochemistry* **15**: 385-401.

Jones R.I., Salonen K. and De Haan H. (1988). Phosphorus transformations in the epilimnion of humic lakes: abiotic interactions between dissolved humic materials and phosphate. *Freshwater Biology* **19**: 357-369.

Jörg G., Bühnemann R., Hollas S., Kivel N., Kossert K., Van Winckel S. and Gostomski C.L.V. (2010). Preparation of radiochemically pure 79Se and highly precise determination of its half-life. *Applied Radiation and Isotopes* **68**: 2339-2351.

Kahakachchi C., Boakye H.T., Uden P.C. and Tyson J.F. (2004). Chromatographic speciation of anionic and neutral selenium compounds in Se-accumulating Brassica juncea (Indian mustard) and in selenized yeast. *Journal of Chromatography A* **1054**: 303-312.

Kahle M., Kleber M. and Jahn R. (2003). Retention of dissolved organic matter by illitic soils and clay fractions: Influence of mineral phase properties. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **166**: 737-741.

Kaiser M., Walter K., Ellerbrock R.H. and Sommer M. (2011). Effects of land use and mineral characteristics on the organic carbon content, and the amount and composition of Na-pyrophosphate-soluble organic matter, in subsurface soils. *European Journal of Soil Science* **62**: 226-236.

Kamei-Ishikawa N., Tagami K. and Uchida S. (2007). Sorption kinetics of selenium on humic acid. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry* **274**: 555-561.

Kamei-Ishikawa N., Nakamaru Y., Tagami K. and Uchida S. (2008). Sorption behavior of selenium on humic acid under ioncreasing selenium concentration or increasing solid/liquid ratio. *Journal of Environmental Radioactivity* **99**: 993-1002.

Kang Y., Yamada H., Kyuma K., Hattori T. and Kigasawa S. (1991). Selenium in soil humic acid. *Soil Science and Plant Nutrition* **37**: 241-248.

Karlson U. and Frankenberger Jr W.T. (1988). Effects of carbon and trace element addition on alkylselenide roduction by soil. *Soil Science Society of America Journal* **52**: 1640-1644.

Keskinen R., Ekholm P., Yli-Halla M. and Hartikainen H. (2009). Efficiency of different methods in extracting selenium from agricultural soils of Finland. *Geoderma* **153**: 87-93.

Kessi J., Ramuz M., Wehrli E., Spycher M. and Bachofen R. (1999). Reduction of selenite and detoxification of elemental selenium by the phototrophic bacterium Rhodospirillum rubrum. *Applied and Environmental Microbiology* **65**: 4734-4740.

Kirby J.K., Lyons G.H. and Karkkainen M.P. (2008). Selenium Speciation and Bioavailability in Biofortified Products Using Species-Unspecific Isotope Dilution and Reverse Phase Ion Pairing-Inductively Couled Plasma-Mass Spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **56**: 1771-1779.

Kirchner G. (1998). Applicability of compartmental models for simulating the transport of radionuclides in soil. *Journal of Environmental Radioactivity* **38**: 339-352.

Klein M. (2010). Identification et quantification de métabolites séléniés dans l'urine humaine. *Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour*.

Kögel-Knabner I., Guggenberger G., Kleber M., Kandeler E., Kalbitz K., Scheu S., Eusterhues K. and Leinweber P. (2008). Organo-mineral associations in temperate soils: Integrating biology, mineralogy, and organic matter chemistry. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **171**: 61-82.

Kotrebai M., Bird S.M., Tyson J.F., Block E. and Uden P.C. (1999). Characterization of selenium species in biological extracts by enhanced ion-pair liquid chromatography with inductively coupled plasma-mass spectrometry and by referenced electrospray ionization-mass spectrometry. *Spectrochimica acta, Part B: Atomic spectroscopy* **54**: 1573-1591.

Kotrebai M., Birringer M., Tyson J.F., Block E. and Uden P.C. (2000a). Selenium speciation in enriched and natural samples by HPLC-ICP-MS and HPLC-ESI-MS with perfluorinated carboxylic acid ion-pairing agents. *Analyst* **125**: 71-78.

Kotrebai M., Tyson J.F., Block E. and Uden P.C. (2000b). High-performance liquid chromatography of selenium compounds utilizing perfluorinated carboxylic acid ion-pairing agents and inductively coupled plasma and electrospray ionization mass spectrometric detection. *Journal of Chromatography A* **866**: 51-63.

Kramer K.J.M., Kramer G.N. and Muntau H. (2001). Practical manual for the production of laboratory reference materials, Training on Production and Use of Laboratory Reference Materials for Use in Routine Quality Control (TRAP-LRM). *MERMAYDE, Bergen (Netherlands)* **Contract G6MA-CT2000-02006**.

Kulp T.R. and Pratt L.M. (2004). Speciation and weathering of selenium in Upper Cretaceous chalk and shale from South Dakota and Wyoming, USA. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **68**: 3687-3701.

Langner, P., Mikutta, C. and Kretzschmar, R. (2011). Arsenic sequestration by organic sulphur in peat. *Nature Geoscience* **1329**: 1-8.

Le X.C., Li X.-F., Lai V., Ma M., Yalcin S. and Feldmann J. (1998). Simultaneous speciation of selenium and arsenic using elevated temperature liquid chromatography separation with inductively coupled plasma mass spectrometry detection. *Spectrochimica acta, Part B: Atomic spectroscopy* **53**: 899-909.

Lead J.R. and Wilkinson K.J. (2007). Environmental colloïds and particles : current knowledge and future developments. Environmental colloïds and particles - Behaviours, separation and characterization. *K. J. Wilkinson and J. R. Lead. Chichester, John Wiley and sons* **10**: 1-15.

Lemly A.D. (1999). Selenium impacts on fish: An insidious time bomb. *Human and Ecological Risk Assessment* **5**: 1139-1151.

Lemly A.D. (2002). Symptoms and implications of selenium toxicity in fish: The Belews Lake case example. *Aquatic Toxicology* **57**: 39-49.

Lemly A.D. (2004). Aquatic selenium pollution is a global environmental safety issue. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **59**: 44-56.

Leonhard P., Pepelnik R. and Prange A., Yamada, N., Yamada, T. (2002). Analysis of diluted sea-water at the ng L-1 level using an ICP-MS with an octopole reaction cell. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **17**: 189-196.

Li H.F., Lombi E., Stroud J.L., McGrath S.P. and Zhao F.J. (2010). Selenium speciation in soil and rice: influence of water management and Se fertilization. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **58**: 11837-11843.

Lin Z.Q., De Souza M., Pickering I.J. and Terry N. (2002). Evaluation of the macroalga, muskgrass, for the phytoremediation of selenium-contaminated agricultural drainage water by microcosms. *Journal of Environmental Quality* **31**: 2104-2110.

Lindemann, T. and Hintelmann, H. (2002). Identification of selenium-containing glutathione S-conjugates in a yeast extract by two-dimensional liquid chromatography with inductively coupled plasma MS and nanoelectrospray MS/MS detection. *Analytical Chemistry* **74**: 4602-4610.

Loffredo N. (2010). Devenir du séléniate dans les sols : mise en évidence expérimentale et modélisation des phénomènes d'hystérèse de sorption/désorption. *Thèse de l'Université du Sud (Toulon-Var).*

Loffredo N., Mounier S., Thiry Y. and Coppin F. (2011) Sorption of selenate on soils and pure phases: Kinetic parameters and stabilisation. *J. Environ. Radioact.* **102**, 843-851

Lortie L., Gould W.D., Rajan S., McCready R.G.L. and Cheng K.J. (1992). Reduction of selenate and selenite to elemental selenium by a Pseudomonas stutzeri isolate. *Applied and Environmental Microbiology* **58**: 4042-4044.

Losi M.E. and Frankenberger Jr W.T. (1997). Reduction of selenium oxyanions by *Enterobacter cloacae* SLD1a-1: isolation and growth of the bacterium and its expulsion of selenium particles. *Applied and Environmental Microbiology* **63**: 3079-3084.

Losi M.E. and Frankenberger Jr W.T. (1998). Microbial oxidation and solubilization of precipitated elemental selenium in soil. *Journal of Environmental Quality* **27**: 836-843.

Loyo R.L.D.A., Nikitenko S.I., Scheinost A.C. and Simonoff M. (2008). Immobilization of selenite on Fe_3O_4 and Fe/Fe_3C ultrasmall particles. *Environmental Science and Technology* **42**: 2451-2456.

Macy J.M., Lawson S. and DeMoll-Decker H. (1993). Bioremediation of selenium oxyanions in San Joaquin drainage water using Thauera selenatis in a biological reactor system. *Applied Microbiology and Biotechnology* **40**: 588-594.

Maillant S. (2005). Conséquence d'un refroidissement climatique sur le comportement de radionucléides dans les sols du Barrois. *Thèse de l'Institut National Polytechnique de Lorraine – Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires.*

Manceau A. and Charlet L. (1994). The Mechanism of Selenate Adsorption on Goethite and Hydrous Ferric Oxide. *Journal of Colloid and Interface Science* **168**: 87-93.

Marchante-Gayón J.M., Thomas C., Feldmann I. and Jakubowski N. (2000). Comparison of different nebulizers and chromatographic techniques for the speciation of selenium in nutritional commercial supplements by hexapole collision and reaction cell ICP-MS. *Journal of analytical atomic spectrometry* **15**: 1093-1102.

Marchante-Gayón J.M., Feldmann I., Thomas C. and Jakubowski N. (2001). Speciation of selenium in human urine by HPLC-ICP-MS with a collision and reaction cell. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **16**: 457-463.

Marschner B., Brodowski S., Dreves A., Gleixner G., Gude A., Grootes P.M., Hamer U., Heim A., Jandl G., Ji R., Kaiser K., Kalbitz K., Kramer C., Leinweber P., Rethemeyer J., Schäffer A., Schmidt M.W.I., Schwark L. and Wiesenberg G.L.B. (2008). How relevant is recalcitrance for the stabilization of organic matter in soils? *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* **171**: 91-110.

Martens D.A. and Suarez D.L. (1997a). Selenium speciation of soil/sediment determined with sequential extractions and Hydride Generation Atomic Absorption Spectrophotometry. *Environmental Science and Technology* **31**: 133-139.

Martens D.A. and Suarez D.L. (1997b). Selenium speciation of marine shales, alluvial soils, and evaporation basin soils of California. *Journal of Environmental Quality* **26**: 424-432.

Martens D.A. and Suarez D.L. (1999). Transformations of volatile methylated selenium in soil. *Soil Biology and Biochemistry* **31**: 1355-1361.

Masscheleyn P.H., Delaune R.D. and Patrick Jr. W.H. (1990). Transformations of selenium as affected by sediment oxidation-reduction potential and pH. *Environment Science and Technology* **24**: 91-96.

Masscheleyn P.H., Delaune R.D. and Patrick W.H. (1991). Arsenic and Selenium Chemistry as Affected by Sediment Redox Potential and pH. *Journal of Environmental Quality* **20**: 522-527.

Masscheleyn P.H. and Patrick W.H. (1993). Biogeochemical processes affecting selenium cycling in wetlands. *Environment Toxicology and Chemistry* **12**: 2235-2245.

Matamoros-Veloza A., Newton R.J. and Benning L.G. (2011). What controls selenium release during shale weathering? *Applied Geochemistry* **26**: S222-S226.

McSheehy S., Pohl P., Szpunar J., Potin-Gautier M. and Lobiński R. (2001). Analysis for selenium speciation in selenized yeast extracts by two-dimensional liquid chromatography with ICP-MS and electrospray MS-MS detection. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **16**: 68-73.

McSheehy S., Pannier F., Szpunar J., Potin-Gautier M. and Lobiński R. (2002). Speciation of seleno compounds in yeast aqueous extracts by three-dimensional liquid chromatography with inductively coupled plasma mass spectrometric and electrospray mass spectrometric detection. *Analyst* **127**: 223-229.

Mehra O.P. and Jackson M.L. (1960). Iron oxide removal from soils and clays by a dithionite-citrate system buffered with sodium bicarbonate. *Clays and Clay Minerals* **7**: 317-327.

Michalke B. (2002). The coupling of LC to ICP-MS in element speciation: I. General aspects. *Trends in Analytical Chemistry* **21**: 142-153.

Mikutta, C. and Kretzschmar, R. (2011). Spectroscopic evidence for ternary complex formation between arsenate and ferric iron complexes of humic substances. *Environmental Science and Technology* **45**: 9550-9557

Mikutta R., Kleber M., Torn M.S. and Jahn R. (2006). Stabilization of soil organic matter:Association with minerals or chemical recalcitrance? *Biogeochemistry* **77**: 25-56.

Moni C., Rumpel C., Virto I., Chabbi A. and Chenu C. (2010). Relative importance of sorption versus aggregation for organic matter storage in subsoil horizons of two contrasting soils. *European Journal of Soil Science* **61**: 958-969.

Monperrus M., Krupp E., Amouroux D., Donard O.F.X. and Rodriguez Martin-Doimeadios R.C. (2004). Potential and limits of speciated isotope-dilution analysis for metrology and assessing environmental reactivity. *Trends in Analytical Chemistry* **23**: 261-272.

Monteil-Rivera F., Masset S., Dumonceau J., Fedoroff M. and Jeanjean J. (1999). Sorption of selenite ions on hydroxyapatite. *Journal of Materials Science Letters* **18**: 1143-1145.

Monteil-Rivera F., Fedoroff M., Jeanjean J., Minel L., Barthes M.G. and Dumonceau J. (2000). Sorption of Selenite (SeO_3^{2-}) on Hydroxyapatite: An Exchange Process. *Journal of Colloid and Interface Science* **221**: 291-300.

Montes-Bayón M., DeNicola K. and Caruso J.A. (2003). Liquid chromatograhy-inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Chromatography A* **1000**: 457-476.

Montes-Bayón M., Molet M.J.D., González E.B. and Sanz-Medel A. (2006). Evaluation of different sample extraction strategies for selenium determination in selenium-enriched plants (Allium sativum and Brassica juncea) and Se speciation by HPLC-ICP-MS. *Talanta* **68**: 1287-1293.

Moreno P., Quijano M.A., Gutiérrez A.M., Pérez-Conde M.C. and Cámara C. (2001). Fractionation studies of selenium compounds from oysters, and their determination by high-performance liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **16**: 1044-1050.

Mosher B.W. and Duce R.A. (1987). A global atmospheric selenium budget. *Journal of Geophysical Research* **92**: 13289–13298.

Moulin V. (1995). Importance des phases colloïdales et particulaires presents dans les environnements marins. *Radioprotection* **30**: 233-246.

Myneni S.C.B., Tokunaga T.K. and Brown Jr G.E. (1997). Abiotic selenium redox transformations in the presence of Fe(II,III) oxides. *Science* **278**: 1106-1109.

Nakamaru Y., Tagami K. and Uchiga S. (2005). Distribution coefficient of selenium in Japanese agricultural soils. *Chemosphere* **58**: 1347-1354.

Nakamaru Y., Tagami K. and Uchida S. (2006). Effect of phosphate addition on the sorption-desorption reaction of selenium in Japanese agricultural soils. *Chemosphere* **63**: 109-115.

Nakamaru Y.M. and Sekine K. (2008). Sorption behavior of selenium and antimony in soils as a function of phosphate ion concentration. *Soil Science and Plant Nutrition* **54**: 332-341.

Neal R.H., Sposito G., Holtzclaw K.M. and Traina S.J. (1987a). Selenite adsorption on alluvial soils: I. Soil composition et pH effects. *Soil Science Society of America Journal* **51**: 1161-1165.

Neal R.H., Sposito G., Holtzclaw K.M. and Traina S.J. (1987b). Selenite adsorption on alluvial soils: II. Solution composition effects. *Soil Science Society of America Journal* **51**: 1165-1169.

Neal R.H. (1995). Selenium. *Blackie Academic & Professional*, London (England).

Nichols A.L., Aldama D.L. and Verpelli M. (2008). Handbook of Nuclear Data for Safeguards *International Atomic Energy Agency*, Vienna (Austria). **INDC(NDS)-0534**.

Niemelä M., Perämäki P., Kola H. and Piispanen J. (2003). Determination of arsenic, iron and selenium in moss samples using hexapole collision cell, inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **493**: 3-12.

Nixon D.E., Neubauer K.R., Eckdahl S.J., Butz J.A. and Burrit M.F. (2003). Evaluation of a tunable bandpass reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometer for the determination of selenium in serum and urine. *Spectrochimica Acta - Part B* **58**: 97-110.

Nriagu J.O. (1989). Global cycling of selenium, in: *Occurrence and Distribution of Selenium, CRC Press*, Boca Baton (USA). pp. 327–340.

Ochsenkühn-Petropoulou M., Michalke B., Kavouras D. and Schramel P. (2003). Selenium speciation analysis in a sediment using strong anion exchange and reversed phase chromatography coupled with inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Analytica Chimica Acta* **478**: 219-227.

Ogaard A.F., Sogn T.A. and Eich-Greatorex S. (2006). Effect of cattle manure on selenate and selenite retention in soil. *Nutrient Cycling in Agroecosystems* **76**: 39-48.

Olin A. (2005). Chemical thermodynamics of selenium. *Chemical Thermodynamics* **1**: 39-66.

Oremland R.S., Blum J.S., Culbertson C.W., Visscher P.T., Miller L.G., Dowdle P. and Strohmaier F.E. (1994). Isolation, growth, and metabolism of an obligately anaerobic, selenate- respiring bacterium, strain SES-3. *Applied and Environmental Microbiology* **60**: 3011-3019.

Oremland R.S., Herbel M.J., Blum J.S., Langley S., Beveridge T.J., Ajayan P.M., Sutto T., Ellis A.V. and Curran S. (2004). Structural and Spectral Features of Selenium Nanospheres Produced by Se-Resiring Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* **70**: 52-60.

Oyamada N. and Ishizaki M. (1986). Fractional determination of dissolved selenium compounds of trimethylselenonium ion, SeIV and SeVI in environmental water samples. *Analytical sciences* **2**: 365-369.

Parfitt R.L. and Russell J.D. (1977). Adsorption on Hydrous oxides. IV. Mecanisms of adsorption of various ions on goethite. *Journal of Soil Science* **28**: 297-305.

Paucot H. (2006). Les dispositifs de collision/réaction en ICP-MS: Revue descriptive et modes de fonctionnement. *Spectra Analyse* **252**: 23-27.

Peak D. and Sparks D.L. (2002). Mechanisms of selenate adsorption on iron oxides and hydroxides. *Environmental Science and Technology* **36**: 1460-1466.

Peak D. (2006). Adsorption mechanisms of selenium oxyanions at the aluminum oxide/water interface. *Journal of Colloid and Interface Science* **303**: 337-345.

Peak D., Saha U.K. and Huang P.M. (2006). Selenite adsorption mechanisms on pure and coated montmorillonite: an EXAFS and XANES spectroscopic study. *Soil Science Society of America Journal* **70**: 192-203.

Peng A., Yang C., Rui H. and Li H. (1992). Study on the pathogenic factors of Kashin-Beck disease. *Journal of Toxicology and Environmental Health* **35**: 79-90.

Pickering I.J., Brown Jr G.E. and Tokunaga T.K. (1995). Quantitative speciation of selenium in soils using X-ray absorption spectroscopy. *Environmental Science & Technology*: 2456-2459.

Ponce de Léon C.A., DeNicola K., Montes-Bayon M. and Caruso J.A. (2003). Sequential extractions of selenium soils from Stewart Lake: total selenium and speciation measurements with ICP-MS detection. *Journal of Environmental Monitoring* **5**: 435-444.

Pyrzyńska K. (1998). Speciation of selenium compounds. *Analytical Sciences* **14**: 479-483.

Pyrzyńska K. (2001). Analysis of selenium species by capillary electrophoresis. *Talanta* **55**: 657-667.

Pyrzyńska K. (2002). Determination of selenium species in environmental samples. *Microchimica Acta* **140**: 55-62.

Quijano M.A., Gutiérrez A.M., Pérez-Conde M.C. and Cámara C. (1996). Determination of selenocystine, selenomethionine, selenite and selenate by high-performance liquid chromatography coupled to inductively coupled plasma mass spectrometry. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **11**: 407-411.

Quijano M.A., Gutiérrez A.M., Pérez-Conde M.C. and Cámara C. (1999). Determination of selenium species in human urine by high performance liquid chromatography and inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta* **50**: 165-173.

Ramirez P. and Rogers B.P. (2002). Selenium in a Wyoming grassland community receiving wastewater from an in situ uranium mine. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **42**: 431-436.

Ranjard L., Prigent-Combaret C., Nazaret S. and Cournoyer B. (2002). Methylation of inorganic and organic selenium by the bacterial thiopurine methyltransferase. *Journal of Bacteriology* **184**: 3146-3149.

Rayman M.P. (2000). The importance of selenium to human health. *The Lancet* **356**: 233-241.

Reamer D.C. and Zoller W.H. (1980). Selenium biomethylation products from soil and sewage sludge. *Science* **208**: 500-505.

Rietra R.P.J.J., Hiemstra T. and Van Riemsdijk W.H. (1999). The relationship between molecular structure and ion adsorption on variable charge minerals. *Geochimica et Cosmochimica Acta* **63**: 3009-3015.

Robberecht H. and Van Grieken R. (1982). Selenium in environmental waters: Determination, speciation and concentration levels. *Talanta* **29**: 823-844.

Rodriguez-Gonzalez P., Marchante-Gayon J.M., Garcia Alonso J.I. and Sanz-Medel A. (2005a). Isotope dilution analysis for elemental speciation: A tutorial review. *Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy* **60**: 151-207.

Rodriguez-Gonzalez P., Rodriguez-Cea A., Garcia Alonso J.I. and Sanz-Medel A. (2005b). Species-Specific Isotope Dilution Analysis and Isotope Pattern Deconvolution for Butyltin Compounds Metabolism Investigations. *Analytical Chemistry* **77**: 7724-7734.

Rodriguez Martin-Doimeadios R.C., Tessier E., Amouroux D., Guyoneaud R., Duran R., Caumette P. and Donard O.F.X. (2004). Mercury methylation/demethylation and volatilization pathways in estuarine sediment slurries using species-specific enriched stable isotopes. *Marine Chemistry* **90**: 107-123.

Rosén K., Shand C.A., Haak E.and Cheshire M.V. (2006). Effect of clay content and wetting-and-drying on radiocaesium behaviour in a peat and a peaty podzol. *Science of the Total Environment* **368**: 795-803.

Ross H.B. (1985). An atmospheric selenium budget for the region 30°N to 90°N. *Tellus, Series B* **37 B**: 78-90.

Roussel-Debet S. and Colle C. (2005). Comportement de radionucléides (Cs, I, Sr, Se, Tc) dans le sol : proposition de valeurs de K_d par défaut. *Radioprotection* **40**: 203-229.

Roux M., Sarret G., Pignot-Paintrand I., Fontecave M. and Coves J. (2001). Mobilization of selenite by *Ralstonia metallidurans* CH34. *Applied and Environmental Microbiology* **67**: 769-773.

Saada A., Breeze D., Crouzet C., Cornu S. and Baranger P. (2003). Adsorption of arsenic (V) on kaolinite and on kaolinite-humic acid complexes role of humic acid nitrogen groups. *chemosphere* **51**: 757-763.

Saeki K. and Matsumoto S. (1994). Selenite adsorption by a variety of oxides. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* **25**: 2147-2158.

Sappington K.G. (2002). Development of aquatic life criteria for selenium: A regulatory perspective on critical issues and research needs. *Aquatic Toxicology* **57**: 101-113.

Sarathchandra S.U. and Watkinson J.H. (1981). Oxidation of elemental selenium to selenite by Bacillus megaterium. *Science* **211**: 600-601.

Scheinost A.C. and Charlet L. (2008). Selenite reduction by mackinawite, magnetite and siderite: XAS characterization of nanosized redox products. *Environmental Science and Technology* **42**: 1984-1989.

Scheinost A.C., Kirsch R., Banerjee D., Fernandez-Martinez A., Zaenker H., Funke H. and Charlet L. (2008). X-ray absorption and photoelectron spectroscopy investigation of selenite reduction by FeII-bearing minerals. *Journal of Contaminant Hydrology* **102**: 228-245.

Schulthess C.P. and Hu Z. (2001). Impact of chloride anions on proton and selenium adsorption by an aluminum oxide. *Soil Science Society of America Journal* **65**: 710-718.

Scott M.J. and Morgan J.J. (1996). Reactions at oxide surfaces. 2. Oxidation of Se(IV) by synthetic birnessite. *Environmental Science and Technology* **30**: 1990-1996.

Séby F. (1994). Optimisation de méthodes analytiques pour la spéciation du sélénium inorganique dans les eaux et les sols. *Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour*.

Séby F., Potin-Gautier M., Lespés G. and Astruc M. (1997). Selenium speciation in soils after alkaline extraction. *The Science of the Total Environment* **207**: 81-90.

Séby F., Potin-Gautier M., Giffaut E. and Donard O.F.X. (1998). Assessing the speciation and the biogeochemical processes affecting the mobility of selenium from a geological repository of radioactive wastes to the biosphere. *Analusis* **26**: 193-198.

Sharmasarkar S. and Vance G.F. (1997). Extraction and distribution of soil organic and inorganic selenium in coal mine environments of Wyoming, USA. *Environmental Geology* **29**: 17-22.

Sheppard M.I. and Thibault D.H. (1990). Default solid/liquid partition coefficients, Kds, for four major soil types: a compendium. *Health Physics* **59**: 471-482.

Sheppard S.C., Grant C.A. and Drury C.F. (2009). Trace elements in Ontario soils - mobility, concentration profiles, and evidence of non-point-source pollution. *Canadian Journal of Soil Science* **89**: 489-499.

Sheppard S.C. (2011). Robust Prediction of Kd from Soil Properties for Environmental Assessment. *Human and Ecological Risk Assessment* **17**: 263-279.

Siddique T., Zhang Y., Okeke B.C. and Frankenberger Jr W.T. (2006). Characterization of sediment bacteria involved in selenium reduction. *Bioresource Technology* **97**: 1041-1049.

Simon S. (2003). Développement de méthodes de spéciation de l'arsenic et du sélénium par couplage HPLC-AFS. *Thèse de l'Université de Pau et des Pays de l'Adour*.

Simonoff M. and Simonoff G. (1991). Le cycle du sélénium dans la nature, in: *Le sélénium et la vie, Masson,* Paris (France). pp. 20-30.

Sloth J.J. and Larsen E.H. (2000). The application of inductively coupled plasma dynamic reaction cell mass spectrometry for measurement of selenium isotopes, isotope ratios and chromatographic detection of selenoamino acids. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **15**: 669-672.

Sloth J.J., Larsen E.H., Bu□gel S.H. and Moesgaard S. (2003). Determination of total selenium and 77Se in isotopically enriched human samples by ICP-dynamic reaction cell-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* **18**: 317-322.

Sposito G. (1989). The chemistry of soils. *Oxford University Press*, New York (USA).

Sposito G. (2004). The surface chemistry of natural particles. *Oxford University Press*, New York (USA).

Stadlober M., Sager M. and Irgolic K.J. (2001). Effects of selenate supplemented fertilisation on the selenium level of cereals - Identification and quantification of selenium compounds by HPLC-ICP-MS. *Food Chemistry* **73**: 357-366.

Stolz J.F. and Oremland R.S. (1999). Bacterial respiration of arsenic and selenium. *FEMS Microbiology Reviews* **23**: 615-627.

Stork A., Jury W.A. and Frankenberger Jr W.T. (1999). Accelerated volatilization rates of selenium. *Biological Trace Element Research* **69**: 217-234.

Stumm W. and Morgan J.J. (1996). Aquatic chemistry : Chemical equilibria and rates in natural waters. *Wiley Interscience*.

Sturup S., Hayes R.B. and Peters U. (2005). Development and application of a simple routine method for the determination of selenium in serum by octopole reaction system ICP. *Analytical Bioanalytical Chemistry* **381**: 686-694.

Su C. and Suarez D.L. (2000). Selenate and selenite sorption on iron oxides: an infrared and electrophoretic study. *Soil Science Society of America Journal* **64**: 101-111.

Suzuki K.T., Doi C. and Suzuki N. (2006a). Metabolism of 76Se-methylselenocysteine compared with that of 77Se-selenomethionine and 82Se-selenite. *Toxicology and Applied Pharmacology* **217**: 185-195.

Suzuki K.T., Somekawa L., Kurasaki K. and Suzuki N. (2006b). Simultaneous tracing of 76Se-selenite and 77Se-selenomethionine by absolute labeling and speciation. *Toxicology and Applied Pharmacology* **217**: 43-50.

Suzuki K.T., Somekawa L., Kurasaki K. and Suzuki N. (2006c). Absolute labeling and simultaneous speciation in tracer experiments with multiple stable isotopes. *Journal of Health Science* **52**: 590-597.

Suzuki K.T., Doi C. and Suzuki N. (2008). Simultaneous tracing of multiple precursors each labeled with a different homo-elemental isotope by speciation analysis: Distribution and metabolism of four parenteral selenium sources. *Pure and Applied Chemistry* **80**: 2699-2713.

Switzer Blum J., Burns Bindi A., Buzzelli J., Stolz J.F. and Oremland R.S. (1998). 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**: 19-30.

Tamari Y. (1998). Methods of analysis for the determination of selenium in biological, geological, and water sample, in: *Environmental Chemistry of Selenium, Marcel Dekker*, New York (USA). 27-46.

Tan J.A., Wang W., Wang D.C. and Hau S.F. (1994). Adsorption, volatilization, and speciation of selenium in different types of soils in China, in: *Selenium in the environment, Marcel Dekker*, New York (USA). 47-68.

Tanzer D. and Heumann K.G. (1991). Determination of dissolved selenium species in environmental water samples using isotope dilution mass spectrometry. *Analytical Chemistry* **63**: 1984-1989.

Tao Z., Du J., Dong W. and Zheng L. (1996). Sorption and desorption of radioselenium on calcareous soil and its solid components. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry Letters* **214**: 245-254.

Tao Z., Wang X., Dai X. and Du J. (2000). Adsorption characteristics of 47 elements on a calcareous soil, a red earth and an alumina: a multitracer study. *Applied Radiation and Isotopes* **52**: 821-829.

Tapiero H., Townsend D.M. and Tew K.D. (2003). The antioxidant role of selenium and seleno-compounds. *Biomedicine and Pharmacotherapy* **57**: 134-144.

Templeton D.M., Ariese F., Cornelis R., Danielsson L.-G., Muntau H., Van Leeuwen H.P. and Lobiński R. (2000). Guidelines for terms related to chemical speciation and fractionation of elements. Definitions, structural aspects, and methodological approaches. *Pure and Applied Chemistry* **72**: 1453-1470.

Terry N., Zayed A.M., De Souza M.P. and Tarun A.S. (2000). Selenium in higher plants. *Annual Review of Plant Biology* **51**: 401-432.

Thompson-Eagle E.T. and Frankenberger Jr W.T. (1990). Volatilization of selenium from agricultural evaporation pond water. *Journal of Environmental Quality* **19**: 125-131.

Thorne M., Kelly M., Rees J.H. and Sanchez-Friera P. (2001). Review of Kd and transfert factors for selenium relevant to a temperate biosphere and the site-specificity of the Meuse/Haute-Marne underground laboratory. *AEA Technology* **C RP 0AET 01-04/A**.

Tinggi U. (2003). Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: A review. *Toxicology Letters* **137**: 103-110.

Tokunaga T.K., Lipton D.S., Benson S.M., Yee A.W., Oldfather J.M., Duckart E.C., Johannis P.W. and Halvorsen K.E. (1991). Soil selenium fractionation, depth profiles and time trends in a vegetated site at Kesterson Reservoir. *Water, Air, and Soil Pollution* **57/58**: 31-41.

Tolu J., Le Hécho I., Bueno M., Thiry Y. and Potin-Gautier M. (2011). Selenium speciation analysis at trace level in soils. *Analytica Chimica Acta* **684**: 126-133.

Tomei F.A., Barton L.L., Lemanski C.L. and Zocco T.G. (1992). Reduction of selenate and selenite to elemental selenium by Wolinella succinogenes. *Canadian Journal of Microbiology* **38**: 1328-1333.

Uden P.C., Boakye H.T., Kahakachchi C. and Tyson J.F. (2004). Selective detection and identification of Se containing compounds - Review and recent developments. *Journal of Chromatography A* **1050**: 85-93.

Van Dael P., Lewis J. and Barclay D. (2004). Stable isotope-enriched selenite and selenate tracers for human metabolic studies: A fast and accurate method for their preparation from elemental selenium and their identification and quantification using hydride generation atomic absorption spectrometry. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **18**: 75-80.

Van Fleet-Stalder V., Chasteen T.G., Pickering I.J., George G.N. and Prince R.C. (2000). Fate of selenate and selenite metabolized by Rhodobacter sphaeroides. *Applied and Environmental Microbiology* **66**: 4849-4853.

Wang M.C. and Chen H.M. (2003). Forms and distribution of selenium at different depths and among particle size fractions of three Taiwan soils. *Chemosphere* **52**: 585-593.

Wang X. and Liu X. (2005). Sorption and desorption of radioselenium on calcareous soil and its solid components studied by batch and column experiments. *Applied Radiation and Isotopes* **62**: 1-9.

Watts C.A., Ridley H., Condie K.L., Leaver J.T., Richardson D.J. and Butler C.S. (2003). Selenate reduction by Enterobacter cloacae SLD1a-1 is catalysed by a molybdenum-dependent membrane-bound enzyme that is distinct from the membrane-bound nitrate reductase. *FEMS Microbiology Letters* **228**: 273-279.

Wen H. and Carignan J. (2007). Reviews on atmospheric selenium: Emissions, speciation and fate. *Atmospheric Environment* **41**: 7151-7165.

Weng L., Vega F.A., Supriatin S., Bussink W. and Van Riemsdijk W.H. (2011). Speciation of Se and DOC in soil solution and their relation to Se bioavailability. *Environmental Science and Technology* **45**: 262-267.

Weres O., Bowman H.R., Goldstein A., Smith E.C., Tsao L. and Harnden W. (1990). The effect of nitrate and organic matter upon mobility of selenium in groundwater and in a water treatment process. *Water, Air, and Soil Pollution* **49**: 251-272.

Whalin L.M. and Mason R.P. (2006). A new method for the investigation of mercury redox chemistry in natural waters utilizing deflatable TeflonÂ® bags and additions of isotopically labeled mercury. *Analytica Chimica Acta* **558**: 211-221.

Whanger P.D. (2004). Selenium and its relationship to cancer: An update. *British Journal of Nutrition* **91**: 11-28.

Wijnja H. and Schulthess C.P. (2000). Vibrational spectroscopy study of selenate and sulfate adsorption mechanisms on Fe and Al (hydr)oxide surfaces. *Journal of Colloid and Interface Science* **229**: 286-297.

Wright M.T., Parker D.R. and Amrhein C. (2003). Critical Evaluation of the Ability of Sequential Extraction Procedures To Quantify Discrete Forms of Selenium in Sediments and Soils. *Environment Science and Technology* **37**: 4709-4716.

Wrobel K., Kannamkumarath S.S. and Caruso J.A. (2003). Identification of selenium species in urine by ion-pairing HPLC-ICP-MS using laboratory-synthesized standards. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **377**: 670-674.

Wu L. (2004). Review of 15 years of research on ecotoxicology and remediation of land contaminated by agricultural drainage sediment rich in selenium. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **57**: 257-269.

Yamada H. and Hattori T. (1990). Determination of soluble selenium in soils. *Soil Science and Plant Nutrition* **36**: 163-166.

Yan R., Gauthier D., Flamant G., Peraudeau G., Dong Lu J.I. and Zheng C. (2001). Fate of selenium in coal combustion: Volatilization and speciation in the flue gas. *Environmental Science and Technology* **35**: 1406-1410.

Yang G.Q., Chen J.S., Wen Z.M., Ge K.Y., Zhu L.Z., Chen X.C. and Chen X.S. (1984). The role of selenium in Keshan disease. *Advances in nutritional research* **6**: 203-231.

Yang K.L. and Jiang S.J. (1995). Determination of selenium compounds in urine samples by liquid chromatography-inductively coupled plasma mass spectrometry with an ultrasonic nebulizer. *Analytica Chimica Acta* **307**: 109-115.

Yu C., Orlandini K.A., Cheng J.J. and Biwer B.M. (2001). Assessing the impact of hazardous constituents on the mobilization, transport, and fate of radionuclides in RCRA waste disposal units. *Environmental Assessment Division, Argonne National Laboratory*, Argonne (USA). **ANL/EAD/TM-93**.

Yudovich Y.E. and Ketris M.P. (2006). Selenium in coal: A review. *International Journal of Coal Geology* **67**: 112-126.

Zawislanski P.T. and Zavarin M. (1996). Nature and rates of selenium transformations: A laboratory study of Kesterson Reservoir soils. *Soil Science Society of America Journal* **60**: 791-800.

Zhang Y. and Moore J.N. (1996). Selenium Fractionation and Speciation in a Wetland System. *Environment Science and Technology* **30**: 2613-2619.

Zhang Y., Moore J. and Frankenberger Jr W.T. (1999) a. Speciation of soluble selenium in agricultural drainage waters and aqueous soil-sediment extracts using hydride generation atomic adsorption spectrometry. *Environment Science and Technology* **33**: 1652-1656.

Zhang Y. and Frankenberger Jr W.T. (2002). Fate of dimethyldiselenide in soil. *Journal of Environmental Quality* **31**: 1124-1128.

Zhang Y. and Frankenberger Jr. W.T. (2003). Determination of selenium fractionation and speciation in wetland sediments by parallel extraction. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* **83**: 315-326.

Zhang Y., Zahir Z.A. and Frankenberger Jr W.T. (2003). Factors Affecting Reduction of Selenate to Elemental Selenium in Agricultural Drainage Water by Enterobacter taylorae. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **51**: 7073-7078.

Zhang Y., Wang J., Amrhein C. and Frankenberger Jr W.T. (2005). Removal of selenate from water by zerovalent iron. *Journal of Environmental Quality* **34**: 487-495.

Zhang Y.Q., W.T. Frankenberger J. and Moore J.N. (1999) b. Effect of soil moisture on dimethylselenide transport and transformation to nonvolatile selenium. *Environmental Science and Technology* **33**: 3415-3420.

Zhao C., Ren J., Xue C. and Lin E. (2005). Study on the relationship between soil selenium and plant selenium uptake. *Plant and Soil* **277**: 197-206.

Zheng J., Ohata M., Furuta N. and Kosmus W. (2000). Speciation of selenium compounds with ion-pair reversed-phase liquid chromatography using inductively coupled plasma mass spectrometry as element-specific detection. *Journal of Chromatography A* **874**: 55-64.

Zheng J., Shibata Y. and Furuta N. (2003). Determination of selenoamino acids using two-dimensional ion-pair reversed phase chromatography with on-line detection by inductively coupled plasma mass spectrometry. *Talanta* **59**: 27-36.

Zieve R. and Peterson P.J. (1981). Factors influencing the volatilization of selenium from soil. *The Science of the Total Environment* **19**: 277-284.

ANNEXES

ANNEXE I.

Informations topographique, géologique et pédologique pour les sols Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I.)

Pour chaque sol de la collection Andra/RMQS étudiée au sein du Chapitre C, Partie 1 (article 2), les informations suivantes sont regroupées :

- **Localisation**
- **Situation topographique**
- **Matériau parental (géologie)**
- **Classe pédologique,** selon le « Référentiel Pédologique Français (RPF) » rédigé par Baize et al. (1995)
- **Drainage**
- **Occupation du sol**
- **Texture**

1. Sols de la zone de l'Observatoire Pérenne de l'Environnement (OPE, Andra) ou analogues

Observatoire Pérenne de l'Environnement (OPE) a été mis en place par l'Andra sur le site de Meuse/Haute-Marne afin d'assurer le suivi et la surveillance de l'environnement de l'état initial du site (avant stockage des déchets HAVL) jusqu'à un siècle, au moins, après le stockage. Sept sols provenant de cette zone, dont 3 sols de culture, 1 sol de prairie et 3 sols de forêt, ont été choisis pour l'étude du comportement de Se afin d'avoir un gradient de teneur en MO entre les sols. Cette collection Andra a été complétée par deux sols de prairie provenant du Jura, région montrée comme étant analogue, notamment en termes de topographie et géologie, à la région de Meuse/Haute-Marne (Maillant, 2005). Ces deux sols présentent des teneurs en MO plus élevées que les sept sols de l'OPE étudiés.

SOL ANDRA / 1B

Localisation	Commune de Bure, Meuse (55)
Situation topographique	Plateau
Matériau parental (géologie)	Calcaire du Portlandien
Drainage	Très rapide
Occupation du sol	Culture
Texture	Argilo-limoneux
Classes pédologiques RPF	RENDOSOL argilo-limoneux, caillouteux, de plateau, issu de calcaire dur

SOL ANDRA / 5A

Localisation	Commune de Gillaumé, Haute-Marne (52)
Situation topographique	Versant
Matériau parental (géologie)	Marnes (Kimméridgien supérieur et moyen)
Drainage	Imparfait (hydromorphie)
Occupation du sol	Culture
Texture	Argilo-limoneux
Classes pédologiques RPF	CALCOSOL argileux rédoxique de versant issu de marnes

SOL ANDRA / 6A

Localisation	Commune de Montiers-sur-Saulx, Meuse (55)
Situation topographique	Fond de vallon
Matériau parental (géologie)	Calcaire du Portlandien
Drainage	Favorable
Occupation du sol	Culture
Texture	Limono-argilo-sableux
Classes pédologiques RPF	COLLUVIOSOL argilo-limoneux, décarbonaté, de vallons secs

SOL ANDRA / 7A

Localisation	Commune d'Osne-le-Val, Haute-Marne (52)
Situation topographique	Fond de vallée
Matériau parental (géologie)	Alluvions du Quaternaire
Drainage	Favorable
Occupation du sol	Prairie permanente pâturée
Texture	Argilo-limoneux
Classes pédologiques RPF	FLUVIOSOL brunifié calcaire

SOL ANDRA / JC

Localisation	Commune de Mignovillard, Jura (39)
Situation topographique	Fond de combe

Matériau parental (géologie)	Calcaire du Portlandien
Drainage	Non renseigné
Occupation du sol	Prairie
Texture	Argilo-limoneux
Classes pédologiques RPF	LUVISOL dystrique stagnique, décarbonaté

SOL ANDRA / JM

Localisation	Commune de Montbenoît, Doubs (25)
Situation topographique	Replat dans pente
Matériau parental (géologie)	Marnes du Kimméridgien et calcaire cryptocristallin
Drainage	Non renseigné
Occupation du sol	Prairie
Texture	Argileux
Classes pédologiques RPF	LEPTOSOL eutrique

SOL ANDRA / F1

Localisation	Non renseigné
Situation topographique	Non renseigné
Matériau parental (géologie)	Non renseigné
Drainage	Non renseigné
Occupation du sol	Non renseigné
Texture	Non renseigné
Classes pédologiques RPF	Non renseigné

SOL ANDRA / F4

Localisation	Non renseigné
Situation topographique	Non renseigné
Matériau parental (géologie)	Non renseigné
Drainage	Non renseigné
Occupation du sol	Non renseigné
Texture	Non renseigné

Classes pédologiques RPF	Non renseigné

SOL ANDRA / F8

Localisation	Non renseigné
Situation topographique	Non renseigné
Matériau parental (géologie)	Non renseigné
Drainage	Non renseigné
Occupation du sol	Non renseigné
Texture	Non renseigné
Classes pédologiques RPF	Non renseigné

2. Sols de la collection RMQS

SOL RMQS / 431

Localisation	Commune de Saint-Cast-Le-Guildo, Côtes-d'Armor (22)
Situation topographique	Versant
Matériau parental (géologie)	Schistes séricito-chloriteux
Drainage	Modéré (phénomènes d'oxydo-réduction peu marqués)
Occupation du sol	Culture
Texture	Limono-argilo-sableux
Classes pédologiques RPF	BRUNISOL profond sur schistes cultivé moyennement caillouteux (faibles traces d'hydromorphie)

SOL RMQS / 449

Localisation	Commune de La Boissière-Ecole, Yvelines (78)
Situation topographique	Plateau
Matériau parental (géologie)	Sables éoliens sur formation résiduelle à meulière
Drainage	Faible (phénomènes d'oxydo-réduction nettement marqués ; l'aspect est bariolé)
Occupation du sol	Forêt de Pins sylvestres
Texture	Sablo-limoneux

Classes pédologiques RPF	PODZOSOL meuble rédoxique sableux à mor sous chênaie sessiliflore à Pin sylvestre

SOL RMQS / 679

Localisation	Commune de Sceaux-sur-Huisne, Sarthe (72)
Situation topographique	Cuvette
Matériau parental (géologie)	Alluvions sur argile sableuse
Drainage	Imparfait (phénomènes d'oxydo-réduction modérément marqués)
Occupation du sol	Prairie humide fauchée
Texture	Argileux
Classes pédologiques RPF	BRUNISOL alluvio-colluvial, rédoxique à horizon réductique profond, en position de cuvette

SOL RMQS / 709

Localisation	Commune de Stosswihr, Haut-Rhin (68)
Situation topographique	Versant
Matériau parental (géologie)	Granite
Drainage	Excessif (évacuation très rapide de l'eau dans le sol. Milieu très poreux)
Occupation du sol	Forêt (hêtraie sapinière)
Texture	Sablo-limoneux
Classes pédologiques RPF	PODZOSOL luvique sableux à hémimoder de versant issu de granite sous hêtraie sapinière

SOL RMQS / 736

Localisation	Commune de Coudrecieux, Sarthe (72)
Situation topographique	Versant
Matériau parental (géologie)	Altération d'argile sableuse
Drainage	Modéré (phénomènes d'oxydo-réduction peu marqués)
Occupation du sol	Culture

Texture	Limono-sableux
Classes pédologiques RPF	BRUNISOL leptique sur altération d'argile sableuse, en position de butte plate de bas de versant

SOL RMQS / 975

Localisation	Commune de Bief, Doubs (25)
Situation topographique	Fond de vallée
Matériau parental (géologie)	Alluvions anciennes caillouteuses à graviers calcaires
Drainage	Favorable (évacuation très rapide de l'eau dans le sol. Pas de phénomènes d'oxydo-réduction)
Occupation du sol	Culture
Texture	Argilo-limoneux
Classes pédologiques RPF	CALCISOL fluvique limono-argileux cultivé issu d'alluvions anciennes du Doubs

SOL RMQS / 1017

Localisation	Commune de Saône, Doubs (25)
Situation topographique	Plateau
Matériau parental (géologie)	Calcaire
Drainage	Favorable (évacuation très rapide de l'eau dans le sol. Pas de phénomènes d'oxydo-réduction)
Occupation du sol	Forêt caducifoliée
Texture	Argilo-limoneux
Classes pédologiques RPF	CALCISOL limono-argileux à rognons de calcite à eumull sur calcaire sous chênaie-charmaie mésophile

SOL RMQS / 1105

Localisation	Commune de Salins-les-Bains, Jura (39)
Situation topographique	Versant
Matériau parental (géologie)	Marnes dolomitiques du Keuper supérieur
Drainage	Imparfait (phénomènes d'oxydo-réduction modérément

	marqués)
Occupation du sol	Prairie naturelle fauchée
Texture	Argilo-limoneux
Classes pédologiques RPF	DOLOMITOSOL colluvionné, argileux de versant, issu de marnes du Keuper supérieur, sous prairie

SOL RMQS / 1185

Localisation	Commune de Laives, Saône-et-Loire (71)
Situation topographique	Plaine
Matériau parental (géologie)	Alluvions récentes argilo-sableuses à graviers calcaires
Drainage	Faible (phénomènes d'oxydo-réduction nettement marqués ; l'aspect est bariolé)
Occupation du sol	Culture
Texture	Limono-argileux
Classes pédologiques RPF	REDOXISOL luvique limono-argileux cultivé issu d'alluvions récentes argilo-sableux à graviers calcaires

SOL RMQS / 1313

Localisation	Commune d'Apremont, Ain (01)
Situation topographique	Relief résiduel karstique : colline rocheuse aux formes raides dominant des poljés ou des aplanissements karstiques
Matériau parental (géologie)	Marnes grises
Drainage	Favorable (évacuation très rapide de l'eau dans le sol. Pas de phénomènes d'oxydo-réduction)
Occupation du sol	Prairie permanente
Texture	Argileux
Classes pédologiques RPF	CALCOSOL limono-argileux, peu profond, issu de marne grise, sous prairie, de coteau

SOL RMQS / 1670

Localisation	Commune de Lacapelle-Barres, Cantal (15)

Situation topographique	Coulée de lave unie : ne présente pas d'aspérités notables
Matériau parental (géologie)	Basalte
Drainage	Favorable (évacuation très rapide de l'eau dans le sol. Pas de phénomènes d'oxydo-réduction)
Occupation du sol	Prairie pâturée
Texture	Limono-argilo-sableux
Classes pédologiques RPF	ALUANDOSOL humique issu de basaltes sous prairie pâturée

SOL RMQS / 1756

Localisation	Commune de Lagiole, Aveyron (12)
Situation topographique	Versant
Matériau parental (géologie)	Basalte
Drainage	Favorable (évacuation très rapide de l'eau dans le sol. Pas de phénomènes d'oxydo-réduction)
Occupation du sol	Forêt caducifoliée (hêtraie)
Texture	Argilo-limoneux
Classes pédologiques RPF	ALUANDOSOL limoneux caillouteux - pierreux à dysmoder issu de basalte sous hêtraie

SOL RMQS / 1778

Localisation	Commune de Sanguinet, Landes (40)
Situation topographique	Plaine
Matériau parental (géologie)	Sable des Landes
Drainage	Imparfait (phénomènes d'oxydo-réduction modérément marqués)
Occupation du sol	Forêt de conifères
Texture	Sableux
Classes pédologiques RPF	PODZOSOL durique rédoxique sableux à dysmoder issu de Sable des Landes, sous Pin maritime

SOL RMQS / 1977

Localisation	Commune de Sainte-Eulalie-de-Cernon, Aveyron (12)
Situation topographique	Doline (dépression karstique fermée et de taille décamétrique)
Matériau parental (géologie)	Calcaire
Drainage	Excessif (évacuation très rapide de l'eau dans le sol. Milieu très poreux)
Occupation du sol	Culture
Texture	Limono-sableux
Classes pédologiques RPF	CALCOSOL brunifié limono-sableux, de fond de doline

SOL RMQS / 2034

Localisation	Commune de Lauris, Vaucluse (84)
Situation topographique	Versant
Matériau parental (géologie)	Calcaire en banc du Lubéron
Drainage	Favorable (évacuation très rapide de l'eau dans le sol. Pas de phénomènes d'oxydo-réduction)
Occupation du sol	Forêt caducifoliée (chêne vert)
Texture	Argileux
Classes pédologiques RPF	CALCOSOL leptique caillouteux issu de calcaire en banc sous garrigue à chêne vert

SOL RMQS / 2104

Localisation	Commune de Noilhan, Gers (32)
Situation topographique	Versant à replats
Matériau parental (géologie)	Colluvions de l'Holocène
Drainage	Favorable (évacuation très rapide de l'eau dans le sol. Pas de phénomènes d'oxydo-réduction)
Occupation du sol	Culture
Texture	Argileux
Classes pédologiques RPF	CALCOSOL argilo-limoneux à argileux, issu de colluvions de l'Holocène, drainage favorable, cultivé

SOL RMQS / 2123

Localisation	Commune d'Arles, Bouches-du-Rhône (13)
Situation topographique	Levée de débordement : construite par les courants de débordements, passant par-dessus les abaissements des berges et se dirigeant vers la plaine inondable
Matériau parental (géologie)	Alluvions : Limons fluviatiles holocènes du Rhône
Drainage	Très pauvre (phénomènes d'oxydo-réduction très fortement marqués dès la surface)
Occupation du sol	Prairie naturelle
Texture	Argilo-limoneux
Classes pédologiques RPF	REDUCTISOL duplique calcaire salé issu d'alluvions limono-argileux du Rhône, pelouse à Limonium paturée

SOL RMQS / 2249

Localisation	Commune de Sost, Hautes-Pyrénées (65)
Situation topographique	Versant convexo-concave
Matériau parental (géologie)	Alluvions sableuses de l'Ourse
Drainage	Très pauvre (phénomènes d'oxydo-réduction très fortement marqués dès la surface)
Occupation du sol	Prairie naturelle
Texture	Limono-sableux
Classes pédologiques RPF	HISTOSOL soligène mésotrophe limono-sableux issu d'alluvions du Quaternaire, sous prairie pâturée

ANNEXE II.

Caractéristiques chimiques des sols Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I.)

Tableau 16. Caractéristiques chimiques des 9 sols de culture de la collection de sol Andra/RMQS

Nom	pH	CEC[(a)]	Fe_{total}	Fe_{ox}[(b)]	Fe_{DCB}[(c)]	Al_{total}	Al_{ox}[(b)]	Al_{DCB}[(c)]	Mn_{total}	OC_{total}	OC_{eau} ext.[(d)]		$OC_{phosphate}$ ext.[(d)]		OC_{NaOH} ext.[(d)]	
		$Cmol^{+}\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	% OC_{total}	$g\ kg^{-1}$	% OC_{total}	$g\ kg^{-1}$	% OC_{total}
Andra 1B	7,3	22	37	4,1	22	25	2,7	3,2	1,0	28	1,1	4	3,1	11	6,1	22
Andra 5A	8,1	14	22	1,5	13	42	1,1	1,5	0,5	20	2,2	11	2,2	11	3,2	17
Andra 6A	6,4	15	36	2,9	28	21	1,6	3,3	1,3	21	1,2	6	2,7	13	10,0	48
RMQS 431	6,9	8	26	2,8	16	49	0,7	1,8	0,4	13	1,9	14	3,5	27	7,2	54
RMQS 736	5,3	6	15	1,9	8	24	0,7	1,2	0,3	7	1,7	23	2,7	38	4,8	66
RMQS 975	7,2	35	48	5,3	33	49	3,0	3,5	1,4	47	3,0	6	5,6	12	13,3	28
RMQS 1185	5,7	28	34	8,9	15	76	2,1	1,7	0,4	30	2,9	10	6,0	20	14,2	48
RMQS 1977	7,9	30	36	3,5	25	57	6,7	3,6	1,5	58	3,0	5	4,0	7	9,3	16
RMQS 2104	8,3	19	33	1,7	16	61	1,0	1,7	0,7	11	2,6	23	2,6	23	3,3	29

(a) CEC : capacité d'échange cationique ; (b) Fe_{ox} et Al_{ox} : Fe et Al extraits par l'oxalate (méthode de Deb, 1950) = oxydes de Fe et Al amorphes + complexes Fe et Al-humus + pour Al, aluminosilicates peu ordonnés; (c) Fe_{DCB} et Al_{DCB} : Fe et Al extraits au Dithionite Citrate Bicarbonate (méthode de Mehra et Jackson, 1960) = Fe_{ox} et Al_{ox} + oxydes de Fe et Al cristallins libres

Tableau 17. Caractéristiques chimiques des 9 sols de prairie de la collection de sol Andra/RMQS

Nom	pH	CEC[(a)]	Fe_{total}	Fe_{ox}[(b)]	Fe_{DCB}[(c)]	Al_{total}	Al_{ox}[(b)]	Al_{DCB}[(c)]	Mn_{total}	OC_{total}	OC_{eau} ext.[(d)]		$OC_{phosphate}$ ext.[(d)]		OC_{NaOH} ext.[(d)]	
		$Cmol^{+}\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	% OC_{total}	$g\ kg^{-1}$	% OC_{total}	$g\ kg^{-1}$	% OC_{total}
Andra 7A	6,8	25	23	3,3	15	22	2,5	2,2	0,8	48	3,3	7	3,4	7	13	28
Andra JC	5,0	14	31	8,8	19	16	3,0	4,4	1,0	32	2,7	8	5,9	19	19	59
Andra JM	6,0	40	45	11,9	31	41	4,7	4,8	1,5	61	2,7	4	6,1	10	24	39
RMQS 679	7,2	64	61	4,9	10	52	1,1	0,8	0,3	72	5,9	8	9,6	13	13	18
RMQS 1105	6,9	28	36	5,1	18	66	2,3	2,2	1,4	31	1,8	6	4,8	16	11	35
RMQS 1313	7,7	43	35	5,0	21	65	1,9	2,4	0,9	55	2,9	5	6,6	12	15	27
RMQS 1670	5,2	9	83	0	37	59	0	2,8	1,6	133	3,4	3	21,0	16	94	71
RMQS 2123	8,2	13	29	3,5	9	58	0,7	0,8	0,8	12	1,7	14	3,5	30	3	25
RMQS 2249	5,5	19	20	6,4	9	55	2,7	2,2	0,2	90	4,2	5	9,0	10	53	59

(a) CEC : capacité d'échange cationique ; (b) Fe_{ox} et Al_{ox} : Fe et Al extraits par l'oxalate (méthode de Deb, 1950) = oxydes de Fe et Al amorphes + complexes Fe et Al-humus + pour Al, aluminosilicates peu ordonnés; (c) Fe_{DCB} et Al_{DCB} : Fe et Al extraits au Dithionite Citrate Bicarbonate (méthode de Mehra et Jackson, 1960) = Fe_{ox} et Al_{ox} + oxydes de Fe et Al cristallins libres

Tableau 18. Caractéristiques chimiques des 9 sols de forêt de la collection de sol Andra/RMQS

Nom	pH	CEC[(a)]	Fe_{total}	Fe_{ox}[(b)]	Fe_{DCB}[(c)]	Al_{total}	Al_{ox}[(b)]	Al_{DCB}[(c)]	Mn_{total}	OC_{total}	OC_{eau} ext.[(d)]		$OC_{phosphate}$ ext.[(d)]		OC_{NaOH} ext.[(d)]	
		$Cmol^{+}\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$g\ kg^{-1}$	$\%\ OC_{total}$	$g\ kg^{-1}$	$\%\ OC_{total}$	$g\ kg^{-1}$	$\%\ OC_{total}$
Andra F1	5,1	22	62	4,9	54	15	1,7	4,5	1,4	32	2,3	7	3,4	11	15	45
Andra F4	5,0	18	35	3,2	31	11	1,5	3,4	1,4	22	2,6	12	3,4	16	11	50
Andra F8	6,1	19	53	3,1	44	27	2,5	5,5	1,1	29	2,0	7	3,2	11	10	35
RMQS 449	4,0	4	3	0,9	2	8	0,5	0,6	0,02	30	7,1	24	11,4	38	27	90
RMQS 709	4,2	6	19	7,5	10	59	3,0	2,9	1,2	64	7,8	12	14,6	23	32	50
RMQS 1017	5,9	19	38	4,4	26	63	3,5	5,8	1,4	40	2,4	6	6,7	17	22	55
RMQS 1756	4,6	41	80	26,8	41	62	19,4	19,3	1,6	158	3,5	2	2,8	14	111	70
RMQS 1778	4,3	1	0,4	0,1	0,2	6	0,2	0,2	0,03	9	2,0	22	3,2	35	8	84
RMQS 2034	7,9	62	20	1,1	13	34	2,6	1,9	0,6	108	1,8	3	16,3	15	29	27

(a) CEC : capacité d'échange cationique ; (b) Fe_{ox} et Al_{ox} : Fe et Al extraits par l'oxalate (méthode de Deb, 1950) = oxydes de Fe et Al amorphes + complexes Fe et Al-humus + pour Al, aluminosilicates peu ordonnés; (c) Fe_{DCB} et Al_{DCB} : Fe et Al extraits au Dithionite Citrate Bicarbonate (méthode de Mehra et Jackson, 1960) = Fe_{ox} et Al_{ox} + oxydes de Fe et Al cristallins libres

ANNEXE III.

Rendements d’extraction et valeurs de Kd obtenus pour les sols Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I.)

Tableau 19. Rendements d'extraction et valeurs de Kd pour les 9 sols de culture de la collection de sol Andra/RMQS

Nom	Se_{total}	Se_{eau} ext.[(a)]	Se_{eau} rés.[(b)]	Se_{eau} ext.[(a)]	Kd	$Se_{phosphate}$ ext.[(a)]	$Se_{phosphate}$ rés.[(b)]	$Se_{phosphate}$ ext.[(a)]	Se_{NaOH} ext.[(a)]	Se_{NaOH} rés.[(b)]	Se_{NaOH} ext.[(a)]
	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}	L kg^{-1}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}
Andra 1B	313 ± 12	17 ± 1	297 ± 4	5,5 ± 0,4	590 ± 42	47 ± 5	291 ± 26	15 ± 1	108 ± 12	213 ± 30	34 ± 3
Andra 5A	233 ± 12	18 ± 1	187 ± 14	7,6 ± 0,2	332 ± 20	44 ± 2	208 ± 15	19 ± 1	70 ± 5	166 ± 19	31 ± 2
Andra 6A	256 ± 27	13 ± 1	242 ± 10	5,2 ± 0,3	600 ± 24	50 ± 1	210 ± 12	20 ± 1	115 ± 6	144 ± 34	45 ± 2
RMQS 431	490 ± 47	16 ± 2	443 ± 35	3,2 ± 0,3	868 ± 43	69 ± 11	432 ± 30	14 ± 2	136 ± 4	323 ± 11	28 ± 1
RMQS 736	202 ± 20	13 ± 1	168 ± 20	6,4 ± 0,3	447 ± 35	32 ± 3	141 V 3	16 ± 2	103 ± 5	99 ± 10	51 ± 3
RMQS 975	569 ± 55	23 ± 1	436 ± 35	4,0 ± 0,1	648 ± 12	95 ± 2	393 ± 23	17 ± 1	278 ± 18	314 ± 26	49 ± 3
RMQS 1185	394 ± 36	22 ± 3	396 ± 7	5,7 ± 0,9	522 ± 8	70 ± 6	325 ± 22	18 ± 1	159 ± 8	209 ± 20	40 ± é
RMQS 1977	815 ± 49	23 ± 1	850 ± 32	4,7 ± 0,1	841 ± 57	50 ± 4	760 ± 38	6,2 ± 0,5	166 ± 19	734 ± 70	20 ± é
RMQS 2104	198 ± 17	8,5 ± 0,1	173 ± 11	4,3 ± 0,1	674 ± 50	22 ± 5	145 ± 29	11 ± 2	39 ± 1	158 ± 6	20 ± 1

(a) ext. : extrait ; (b) rés. : résiduel

Tableau 20. Rendements d'extraction et valeurs de Kd pour les 9 sols de prairie de la collection de sol Andra/RMQS

Nom	Se_{total}	Se_{eau} ext.(a)	Se_{eau} rés.(b)	Se_{eau} ext.(a)	Kd	$Se_{phosphate}$ ext.(a)	$Se_{phosphate}$ rés.(b)	$Se_{phosphate}$ ext.(a)	Se_{NaOH} ext.(a)	Se_{NaOH} rés.(b)	Se_{NaOH} ext.(a)
	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}	L kg^{-1}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}
Andra 7A	769 ± 58	61 ± 6	691 ± 12	8,0 ± 0,6	335 ± 29	138 ± 8	574 ± 15	19 ± 1	283 ± 2	428 ± 28	36 ± 1
Andra JC	376 ± 37	17 ± 1	313 ± 26	4,5 ± 0,4	598 ± 34	50 ± 1	310 ± 16	13 ± 1	319 ± 6	65 ± 13	85 ± 2
Andra JM	482 ± 36	24 ± 2	472 ± 18	5,0 ± 0,1	641 ± 29	37 ± 2	396 ± 30	7,8 ± 0,4	292 ± 6	213 ± 18	61 ± 1
RMQS 679	1119 ± 71	59 ± 4	1100 ± 28	5,3 ± 0,4	632 ± 12	161 ± 9	995 ± 25	14 ± 1	476 ± 6	648 ± 66	43 ± 1
RMQS 1105	324 ± 16	15 ± 1	343 ± 18	4,5 ± 0,1	826 ± 49	93 ± 2	255 ± 22	27 ± 1	171 ± 14	233 ± 23	50 ± 4
RMQS 1313	419 ± 39	14 ± 1	355 ± 25	3,2 ± 0,1	853 ± 35	49 ± 5	350 ± 31	12 ± 1	138 ± 2	284 ± 11	33 ± 1
RMQS 1670	668 ± 69	17 ± 3	650 ± 21	2,5 ± 0,4	1156 ± 44	137 ± 17	561 ± 15	21 ± 3	486 ± 44	203 ± 22	73 ± 7
RMQS 2123	323 ± 43	19 ± 1	313 ± 22	5,9 ± 0,4	542 ± 21	96 ± 7	276 ± 22	30 ± 2	92 ± 7	257 ± 14	28 ± 2
RMQS 2249	516 ± 32	29 ± 1	544 ± 22	5,5 ± 0,1	619 ± 27	92 ± 15	398 ± 16	18 ± 3	450 ± 26	131 ± 18	87 ± 1

(a) ext. : extrait ; (b) rés. : résiduel

Tableau 21. Rendements d'extraction et valeurs de Kd pour les 9 sols de forêt de la collection de sol Andra/RMQS

Nom	Se_{total}	Se_{eau} ext.[(a)]	Se_{eau} rés.[(b)]	Se_{eau} ext.[(a)]	Kd	$Se_{phosphate}$ ext.[(a)]	$Se_{phosphate}$ rés.[(b)]	$Se_{phosphate}$ ext.[(a)]	Se_{NaOH} ext.[(a)]	Se_{NaOH} rés.[(b)]	Se_{NaOH} ext.[(a)]
	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}	L kg^{-1}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}	µg kg^{-1}	µg kg^{-1}	% Se_{total}
Andra F1	396 ± 43	16 ± 1	352 ± 38	4,0 ± 0,2	742 ± 64	47 ± 1	330 ± 39	12 ± 1	250 ± 11	180 ± 22	63 ± 3
Andra F4	425 ± 43	16 ± 2	369 ± 17	3,7 ± 0,4	736 ± 18	55 ± 6	348 ± 22	13 ± 1	281 ± 14	124 ± 3	66 ± 3
Andra F8	391 ± 50	17 ± 2	322 ± 22	3,3 ± 0,3	561 ± 13	62 ± 2	284 ± 10	12 ± 1	270 ± 16	134 ± 6	53 ± 3
RMQS 449	172 ± 15	10 ± 1	146 ± 14	6,0 ± 0,8	552 ± 32	56 ± 1	127 ± 12	33 ± 1	108 ± 1	55 ± 6	63 ± 1
RMQS 709	247 ± 24	13 ± 1	239 ± 42	5,4 ± 0,5	512 ± 23	119 ± 5	174 ± 21	48 ± 2	267 ± 28	< L.D.	108 ± 11
RMQS 1017	704 ± 60	25 ± 2	645 ± 21	3,6 ± 0,2	836 ± 82	93 ± 4	590 ± 54	13 ± 1	351 ± 13	347 ± 32	50 ± 2
RMQS 1756	1041 ± 47	26 ± 3	1007 ± 64	2,5 ± 0,3	1198 ± 50	225 ± 16	912 ± 91	22 ± 2	819 ± 25	308 ± 31	79 ± 2
RMQS 1778	82 ± 17	1,5 ± 0,4	78 ± 12	1,8 ± 0,5	2066 ± 184	31 ± 3	60 ± 3	38 ± 4	32 ± 8	68 ± 3	44 ± 6
RMQS 2034	563 ± 55	25 ± 1	480 ± 26	4,6 ± 0,2	585 ± 23	109 ± 23	408 ± 23	22 ± 1	308 ± 2	312 ± 24	55 ± 1

(a) ext. : extrait ; (b) rés. : résiduel

ANNEXE IV.

Spéciation de Se dans les sols

Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I.)

Tableau 22. Spéciation de Se dans les 6 sols de culture de la collection Andra/RMQS.

Nom	**Se extrait par l'eau**					**Se extrait par le tampon phosphate**		**Se extrait par NaOH**	
	Se(IV)	**Se(VI)**	**SeMet**	**MeSeOO**	**Se non détecté***	**SeIV**	**Se non détecté***	**SeIV**	**Se non détecté***
	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	**µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)**
Andra 1B	6,2 ± 0,2 (38 ± 1)	<L.D.	<L.D.	<L.D.	10 (62)	17 ± 1 (35 ± 4)	33 (65)	61 ± 3 (58 ± 5)	**45 (42)**
Andra 5A	6,4 ± 0,2 (36 ± 2)	<L.D.	<L.D.	<L.D.	11 (64)	43 ± 2 (30 ± 3)	30 (70)	30 ± 1 (42 ± 4)	**41 (58)**
Andra 6A	3,3 ± 0,1 (25 ±2)	<L.D.	<L.D.	<L.D.	10 (75	27 ± 2 (53 ±4)	24 (47)	43 ± 3 (37 ± 4)	**72 (63)**
RMQS 736	9 ± 1 (70 ± 8)	4,6 ± 0,4 (35 ±3)	<L.D.	<L.D.	0	33 ± 3 (104 ± 10)	0	57 ± 1 (55 ± 1)	**46 (45)**
RMQS 1185	3,4 ± 0,3 (15 ± 1)	4,1 ± 0,1 (18 ± 1)	<L.D.	<L.D.	15 (66)	57 ± 3 (82 ± 5)	13 (18)	142 ± 10 (49 ± 6)	**17 (11)**
RMQS 1977	4,5 ± 0,4 (28 ± 2)	2,0 ± 0,2 (12 ± 1)	<L.D.	<L.D.	10 (60)	27± 2 (55 ± 5)	23 (45)	91 ± 8 (55 ± 5)	**75 (45)**

* Se non détecté : calculé à partir de la quantité de Se total extrait (déterminé par ICP-MS) et la somme des quantités des espèces de Se (déterminés par HPLC-ICP-MS)

Tableau 23. Spéciation de Se dans les 6 sols de prairie de la collection Andra/RMQS.

Nom	Se extrait par l'eau					Se extrait par le tampon phosphate		Se extrait par NaOH	
	Se(IV)	**Se(VI)**	**SeMet**	**MeSeOOH**	**Se non**	**SeIV**	**Se non détecté***	**SeIV**	**Se non détecté***
	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)
Andra 7A	14 ± 1 (21 ± 2)	<L.D.	<L.D.	12 ± 1 (18 ± 2)	14 (61)	47 ± 1 (34 ±2)	91 (66)	135 ± 2 (48 ± 1)	147 (52)
Andra JC	4,2 ± 0,4 (18 ± 2)	<L.D.	8,6 ± 0,6 (38 ±3)	1,2 ± 0,1 (5,2 ± 0,1)	9 (39)	66 ± 3 (90 ± 11)	7 (10)	119 ± 3 (46 ± 3)	139 (54)
Andra JM	4,4 ± 0,4 (25 ±2)	<L.D.	4,8 ± 0,4 (27 ± 2)	0,59 ± 0,06 (3,3 ± 0,4)	8 (45)	40 ± 2 (104 ± 8)	0	124 ± 3 (51 ± 5)	121 (49)
RMQS 679	8,7 ± 0,7 (14 ± 1)	2,3 ± 0,1 (3,6 ± 0,3)	<L.D.	<L.D.	52 (83)	55 ± 5 (34 ± 3)	107 (66)	182 ± 19 (38 ± 4)	293 (62)
RMQS 1670	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	17 (100)	34 ± 1 (25 ± 1)	104 (75)	83 ± 1 (17 ± 1)	403 (83)
RMQS 2123	7,7 ± 0,1 (40 ± 1)	1,2 ± 0,1 (6,0 ± 0,6)	<L.D.	<L.D.	10 (54)	59± 5 (61± 5)	37 (39)	68 ± 1 (74 ± 1)	23 (26)

* Se non détecté : calculé à partir de la quantité de Se total extrait (déterminé par ICP-MS) et la somme des quantités des espèces de Se (déterminés par HPLC-ICP-MS)

Tableau 24. Spéciation de Se dans les 6 sols de forêt de la collection Andra/RMQS.

Nom	**Se extrait par l'eau**					**Se extrait par le tampon phosphate**		**Se extrait par NaOH**	
	Se(IV)	**Se(VI)**	**SeMet**	**MeSeOOH**	**Se non**	**SeIV**	**Se non détecté***	**SeIV**	**Se non détecté***
	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)	µg kg^{-1} (% $Se_{extrait}$)
Andra 7A	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	16 (100)	32 ±2 (70 ± 6)	14 (30)	92 ± 7 (37 ± 4)	158 (63)
Andra JC	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	16 (100)	33 ± 1 (60 ± 6)	22 (40)	107 ± 2 (38 ± 2)	174 (62)
Andra JM	<L.D.	<L.D.	<L.D.	<L.D.	17 (100)	28 ± 1 (46 ± 4)	33 (54)	92 ± 1 (34 ± 2)	178 (66)
RMQS 449	6,4 ± 0,4 (59 ± 4)	3,9 ± 0,3 (38 ± 3)	<L.D.	<L.D.	0	43 ± 3 (77 ± 5)	13 (23)	60 ± 1 (56 ± 4)	48 (44)
RMQS 709	<L.D.	3,3 ± 0,2 (24± 2)	<L.D.	<L.D.	10 (76)	55 ± 1 (46 ± 1)	64 (54)	71 ± 1 (27 ± 1)	196 (73)
RMQS 1756	<L.D.	4,3 ± 0,7 (18 ± 3)	<L.D.	<L.D.	19 (82)	47 ± 3 (21 ± 1)	177 (79)	162 ± 3 (20 ± 1)	657 (80)

* Se non détecté : calculé à partir de la quantité de Se total extrait (déterminé par ICP-MS) et la somme des quantités des espèces de Se (déterminés par HPLC-ICP-MS)

Annexe V.

Etude statistique de la distribution de Se natif dans la collection de sol Andra/RMQS (Chapitre C, Partie I) avec les rendements d'extraction calculés pour simuler un schéma d'extractions séquentielles

Une étude statistique a été menée pour améliorer la compréhension des facteurs affectant le comportement de Se dans les sols, à partir de la détermination de la distribution et de la spéciation de Se natif dans 29 sols (Andra/RMQS) présentant des caractéristiques contrastées et distribuées de manière homogène (Chapitre C, partie I). La distribution/spéciation de Se natif a été déterminée selon la méthodologie développée préalablement, basée sur des extractions simples spécifiques et l'analyse/quantification de Se total (ICP-MS) et des espèces séléniées (HPLC-ICP-MS) dans les extraits (Chapitre B, Partie I.). Cependant, les extractions spécifiques, « eau = Se lessivable, tampon phosphate = Se adsorbé aux minéraux et soude = Se associé à la MO », sont majoritairement utilisées dans la littérature en séquence, dans l'ordre 1) eau ; 2) tampon phosphate ; 3) soude. Nous avons calculé, à partir des rendements des extractions simples, les rendements qui pourraient être obtenus si ces extractions étaient réalisées en séquence. Pour ces calculs, les quantités de Se extraites ont été soustraites selon

- Se lessivable = Se_{eau}
- Se adsorbé aux minéraux = $Se_{phosphate}$ - Se_{eau}
- Se associé à la MO = Se_{NaOH} - $Se_{phosphate}$

Les rendements des extractions en séquence ont ensuite été recalculés à partir de la quantité de Se total du sol. Cette annexe présente les résultats de l'étude statistique menée à partir de ces rendements en mode « extractions séquentielles ». Elle permet de comparer les corrélations avec les caractéristiques des sols et les différences significatives entre les types d'utilisation des sols observées avec ce mode à celles obtenues avec le mode « extractions simples » (même présentation des résultats que dans l'article, Chapitre C, partie I). Elle met ainsi en évidence les mêmes tendances significatives amenant aux mêmes conclusions sur les facteurs affectant le comportement de Se dans les sols.

1. Caractéristiques physico-chimiques et mises en évidence d'associations organo-minérales

Les caractéristiques des sols restent inchangées (cf. Table 1 de l'article). Les corrélations « OC_{NaOH}-$OC_{phosphate}$ » / caractéristiques des sols (mode « extractions séquentielles » ; Tableau 25) suivent une tendance similaire à celle observée pour les corrélations entre « OC_{NaOH} »/ caractéristiques des sols (mode « extractions simples » ; Table 1 de l'article). Le mode « extractions séquentielles » permet donc de conclure également sur l'existence d'associations organo-minérales dans les sols et leur influence sur la quantité de carbone organique extraite (protection contre l'oxydation par NaOH par sorption/agrégation avec les minéraux). Les valeurs

P> sont cependant plus élevées, rendant les corrélations en mode « extractions séquentielles » moins significatives que celles obtenues en mode « extractions simples ».

Tableau 25. Matrice des corrélations de Spearman montrant l'existence d'associations organo-minérales dans les sols

	CEC[(a)]	pH	Fe_{total}	Mn_{total}	Al_{total}	OC_{total}	OC_{NaOH}-$OC_{phosphate}$[(b)]	Argile[(c)]	Limons fins[(d)]
CEC[(a)]	1								
pH	**+0,45**	1							
Fe_{total}	**+0,59**	-0,00	1						
Mn_{total}	**+0,45**	-0,04	**+0,76**	1					
Al_{total}	+0,25	+0,27	+0,22	+0,07	1				
OC_{total}	**+0,56**	-0,25	+0,33	+0,23	+0,26	1			
OC_{NaOH}-$OC_{phosphate}$[(b)]	-0,31	**-0,87**	-0,10	+0,22	-0,19	+0,27	1		
Argiles[(c)]	**+0,77**	**+0,47**	**+0,45**	+0,20	**+0,40**	+0,12	**-0,41**	1	
Limons fins[(d)]	+0,26	*+0,34*	+0,24	**+0,50**	-0,03	+0,02	*-0,17*	+0,11	1

(a) CEC : Capacité d'Echange Cationique ; (b) OC_{NaOH} : exprimé en % de OC_{total} ; ; (c) argile : taille <2 µm; (d) Limons fins : taille 2-20 µm;

Le style de la police utilisée pour les coefficients de corrélation détermine le seuil de significativité des corrélations selon :
Non significatif ; *significatif pour P <0.10* ; **significatif pour P <0.05**; **significatif for P <0.01**

Comme pour la variable « OC_{NaOH} », il existe des différences significatives pour « OC_{NaOH}-$OC_{phosphate}$ » entre les sols de culture, de prairie et de forêt (Tableau 26 ; valeurs/différences pour pH et OC_{total} inchangées, cf. Fig. 1 de l'article).

Tableau 26. Caractéristiques statistiques et différences significatives de la variable OC_{NaOH}-$OC_{phosphate}$ pour/entre les sols de culture, de prairie et de forêt

		Culture	Prairie	Forêt
Caractéristiques statistiques	Moyenne[(a)]	18	25	35
	Médiane	16	21	34
	Min[(b)]	6	0	11
	Max[(c)]	35	55	56
Test Mann-Whitney – seuil de significativité des différences	Culture	-	55 %	95 %
	Prairie	55 %	-	70 %
	Forêt	95 %	70 %	-

(a) Moyenne : moyenne arithmétique ; (b) Min : valeur minimale ; (c) Max : valeur maximale

Le mode « extractions séquentielles » permet donc également de conclure sur une relation entre le type d'utilisation des sols et la stabilité des associations organo-minérales (diminution de OC extrait).

2. Distribution de Se

- *Valeurs de Kd et importance de la phase minéral dans le contrôle de la capacité de Se à être lessivée*

Les valeurs de Kd (extraction à l'eau) et l'étude statistique menée à partir de ce coefficient d'intérêt pour les agences de sûreté nucléaires (paramètre global d'étude de la mobilité) reste identique en mode « extractions simples » (article) et mode « extractions séquentielles » puisque dans ce mode, l'eau est la première extraction, ses rendements sont donc égaux à ceux obtenus en mode extraction simple. Les rendements de cette extraction extractions simples ou séquentielles

- *Influence de la MO sur la stabilité de Se sorbé*

Comme pour $Se_{phosphate}$ (mode « extractions simples »), il existe, pour $Se_{phosphate} - Se_{eau}$ (mode « extractions séquentielles »), les corrélations négatives avec i) Fe_{total}, ($P<0,15$) ; ii) Fe_{DCB} ($P<0,1$) et la corrélation positive avec $OC_{phosphate}$-OC_{eau} ($P<0,01$) (Tableau 27). Le mode « extractions séquentielles » permet donc également de conclure à la non spécificité du tampon phosphate pour « Se adsorbé aux minéraux », mais à une influence de la MO sur l'extractabilité de Se par cet extractant.

Comme en mode « extractions simples » (corrélation Se_{NaOH}/OC_{NaOH}, $P<0,01$), il existe une corrélation positive entre Se_{NaOH} - $Se_{phosphate}$ et $OC_{NaOH} - OC_{TP7}$ ($P<0,01$), montrant également une relation entre la quantité de Se extraite par NaOH et la stabilité de la MO.

Tableau 27. Matrice des corrélations de Spearman entre « $Se_{phopshate}$- Se_{eau} », « Se_{NaOH} – $Se_{phosphate}$ » et les caractéristiques des sols

	$Se_{phosphate}$ - Se_{eau} (% Se_{total})	Se_{NaOH} - $Se_{phosphate}$ (% Se_{total})	OC_{total} (g kg^{-1})	$OC_{phosphate}$ - OC_{eau} (% OC_{total})	OC_{NaOH} - $OC_{phosphate}$ (% OC_{total})	Fe_{total} (g kg^{-1})	Mn_{total} (g kg^{-1})	Al_{total} (g kg^{-1})	$Fe_{oxalate}$ [a] (g kg^{-1})	Fe_{DCB} [b] (g kg^{-1})	$Al_{oxalate}$ [a] (g kg^{-1})	Al_{DCB} [b] (g kg^{-1})	pH
$Se_{phosphate}$ - Se_{eau} (% Se_{total})	1												
Se_{NaOH} -$Se_{phosphate}$ (% Se_{total})	+0,05	1											
OC_{total} (g kg^{-1})	+0,11	**+0,52**	1										
$OC_{phosphate}$ - OC_{eau} (% OC_{total})	**+0,60**	+0,17	+0,01	1									
OC_{NaOH} - $OC_{phosphate}$ (% OC_{total})	+0,20	**+0,72**	+0,27	***+0,34***	1								
Fe_{total} (g kg^{-1})	**-0,32**	+0,17	*+0,33*	-0,21	+0,10	1							
Mn_{total} (g kg^{-1})	-0,27	+0,20	+0,23	-0,16	+0,22	**+0,76**	1						
Al_{total} (g kg^{-1})	0,15	-0,18	+0,26	+0,12	-0,11	+0,22	0,07	1					
$Fe_{oxalate}$ [a] (g kg^{-1})	-0,08	**+0,41**	***+0,38***	-0,06	+0,16	+0,29	+0,20	*+0,34*	1				
Fe_{DCB} [b] (g kg^{-1})	***-0,36***	+0,29	+0,19	-0,28	*+0,30*	**+0,81**	**+0,87**	-0,01	+0,20	1			
$Al_{oxalate}$ [a] (g kg^{-1})	-0,20	**+0,40**	**+0,51**	-0,19	+0,19	+0,24	+0,37	+0,16	**+0,67**	*+0,34*	1		
Al_{DCB} [b] (g kg^{-1})	-0,26	**+0,56**	**+0,43**	-0,11	+**0,48**	**+0,70**	**+0,82**	+0,04	*+0,31*	**+0,88**	**+0,57**	1	
pH	-0,23	**-0,79**	-0,25	*-0,32*	**-0,87**	-0,00	-0,04	+0,27	-0,26	-0,15	-0,11	*-0,34*	1

(a) $Fe_{oxalate}$ and $Al_{oxalate}$: oxydes amorphes de Fe et Al libres et hydratés + complexes Fe et/ou Al - humus + pour Al, alumino-silicates faiblement ordonnés ; (b) Fe_{DCB} and Al_{DCB}: $Fe_{oxalate}$ and $Al_{oxalate}$ + oxydes cristallins libres de Fe and Al

Le style de la police utilisée pour les coefficients de corrélation détermine le seuil de significativité des corrélations selon :
Non significatif ; *significatif pour P <0.15 ;* ***significatif pour P <0.1***; **significatif pour P <0.05 ; significatif for P <0.01**

De plus, comme pour Se_{NaOH} (mode « extractions simples »), il existe, pour la variable Se_{NaOH}-$Se_{phosphate}$ (mode « extractions séquentielles »), des différences significatives entre les sols de culture, de prairie et de forêt (Tableau 28).

Tableau 28. Caractéristiques statistiques et différences significatives de la variable Se_{NaOH}-$Se_{phosphate}$ pour/entre les sols de culture, de prairie et de forêt

		Culture	Prairie	Forêt
Caractéristiques statistiques	Moyenne[(a)]	20	37	45
	Médiane	19	28	46
	Min[(b)]	8	0	31
	Max[(c)]	35	72	60
Test Mann-Whitney – seuil de significativité des différences	Culture	-	85 %	99,8 %
	Prairie	85 %	-	61 %
	Forêt	99,8 %	61 %	-

(a) Moyenne : moyenne arithmétique ; (b) Min : valeur minimale ; (c) Max : valeur maximale

Avec le mode « extractions séquentielles », il est donc également possible de conclure à une influence de la stabilité de la MO, via la formation d'associations organo-minérales qui dépend du type d'utilisation des sols, sur la capacité de Se à être extrait par NaOH et donc a être potentiellement remobilisé en solution.

RESUME

Les analyses de sûreté du stockage des déchets radioactifs HAVL nécessite une évaluation à long terme (≈ 10 000 ans) des risques, pour l'homme et l'environnement, associés à une contamination des sols par le sélénium. Une méthodologie a donc été développée pour déterminer les espèces séléniées (spéciation) présentes à l'état de traces dans les sols (µg kg^{-1} ; contexte radiologique) et estimer, leur capacité à être lessivées et leurs phases de rétention. Combinée à l'utilisation du traceur ^{77}Se(IV), l'existence de processus lents impliqués dans la rétention et la transformation chimique de Se dans les sols a été mise en évidence, suggérant l'étude de Se natif pour estimer et modéliser sa mobilité à long terme. L'investigation de Se natif dans 29 sols aux caractéristiques contrastées a montré l'influence de la matière organique sur la nature des espèces susceptibles d'être lessivées (organique et colloïdale) et sur sa mobilité (stabilisation de Se dans la phase solide via les associations organo-minérales).

ABSTRACT

A radioactive isotope of selenium was shown to be among the most critical radionuclide for safety assessment of high level and long lived nuclear waste repository in case of hypothetical soil contamination. A methodology was thus developed to determine Se species (speciation) present in soils at trace level (µg kg^{-1}; radiological context) in assessing their leaching and retention phases (distribution). Combined to a ^{77}Se(IV) tracer, kinetically limited processes were shown to be involved in Se retention and chemical transformations in soils, suggesting that native Se behavior is particularly relevant for its long term mobility assessment and modeling. The investigation of native Se speciation and distribution in 29 soils has finally highlighted that soil organic matter impact the nature of Se species susceptible to be leached (organic and colloidal compounds) and the Se mobility (Se stabilization in solid phase via organo-mineral associations).